

EFEITO DA LESÃO ELETROLÍTICA NO NÚCLEO MEDIANO DA RAFE (NMR) SOBRE A HISTOLOGIA DO DUCTO EPIDIDIMÁRIO DE RATOS ADULTOS.

Bruna Rippe Marques, Isabel Cristina Cherici Camargo, Carolina Casagrande Bedani, Telma Gonçalves Carneiro Spera de Andrade. – Inter-áreas – Ciências Biológicas – Departamento de Ciências Biológicas – Faculdade de Ciências e Letras – Campus de Assis.

Vários estudos vêm evidenciando a importância do sistema serotoninérgico, não somente na manutenção da saúde mental através da modulação de funções cerebrais, como também associam o papel desse sistema na modulação de várias funções orgânicas (SOUBRIÉ, 1986). Sabe-se que os núcleos dorsal (NDR) e mediano da rafe (NMR) são as principais fontes de neurônios serotoninérgicos que se projetam por vias ascendentes e ambos estão envolvidos na gênese de transtornos emocionais, tais como, ansiedade e depressão. Os núcleos da rafe exercem papéis diferentes e até mesmo paradoxais em relação à modulação da atividade endócrina hipotalâmica. Por exemplo, nas fêmeas, enquanto o NDR facilita a liberação de LH no proestro, o NMR inibe esta resposta, ou seja, parece que o NMR exerce um papel inibitório, enquanto o NDR tem um papel facilitatório sobre a secreção de LH e indiretamente sobre a ovulação (MEYER, 1978; MORELLO *et al.*, 1989; KORDON *et al.*, 1994). Assim, é possível perceber uma intrínseca relação entre o sistema serotoninérgico e hormônios da reprodução. Como a maioria dos estudos tem dado ênfase às fêmeas animais como modelo experimental, entendemos a importância de se estudar essa relação neuroendócrina em machos. Nossa hipótese mais abrangente é que o estilo de vida do homem moderno, exposto constantemente a estímulos estressores, poderia afetar a funcionalidade do sistema serotoninérgico, principalmente do NMR, núcleo relacionado com a resistência ao estresse crônico e, conseqüentemente, ocasionar alterações hormonais, culminando em comprometimento estrutural do sistema reprodutor.

Cada epidídimo constitui-se de um túbulo altamente contorcido, fino e longo que é pregueado na região posterior do testículo e pode ser dividido em três regiões: cabeça, corpo e cauda. Este órgão exibe várias funções como armazenamento, transporte, maturação e estocagem de espermatozóides, porém, sabe-se que a função primária do epidídimo é transportar os espermatozóides dos testículos para a uretra, permitindo assim que os gametas imaturos recém-produzidos nos testículos adquiram, progressivamente, a capacidade de fertilização. A maturação dos espermatozóides ocorre principalmente nas regiões da cabeça e corpo do ducto epididimário, enquanto a região caudal serve como um local de armazenamento (BROOKS, 1983). O epidídimo é um órgão andrógeno-dependente (DUFRESNE *et al.*, 2005) e os andrógenos promovem a maturação dos gametas através da regulação da síntese de proteínas no tecido epididimário e também são requeridos para manter a capacidade fecundante dos gametas maduros armazenados na cauda do epidídimo (BROOKS, 1983). Assim, o objetivo fundamental do estudo é avaliar o efeito da inativação do NMR, através da lesão eletrolítica, sobre a estrutura histológica epididimária de ratos adultos, em diferentes intervalos de tempo entre o procedimento cirúrgico e o sacrifício dos animais.

Os animais foram pesados e casualmente distribuídos em 4 grupos experimentais (5 animais por grupo): 2 grupos controle falso-operado, onde os animais foram submetidos ao procedimento anestésico-cirúrgico, mas não foi aplicada a corrente elétrica, sendo sacrificados 7 e 15 dias após o procedimento; 2 grupos lesados eletroliticamente no núcleo mediano da rafe, onde os animais foram sacrificados 7 e 15 dias após a lesão. As lesões eletrolíticas do NMR foram realizadas com a utilização de um lesionador eletrônico, empregando-se um eletrodo unipolar de aço inoxidável isolado com esmalte, para passagem de uma corrente com 3 mA, durante 10 segundos. Esse procedimento foi efetuado em animais anestesiados com tiopental sódico - 50 mg/kg - administrado por via intraperitoneal e fixados a um aparelho estereotáxico, pelo rochedo temporal e incisivos superiores. Após tricotomia na região da cabeça, antissepsia com polivinilpirrolidona-iodo a 1% (PVPI) e injeção subcutânea de lidocaína 2% com vasoconstritor (0,2 ml), foi realizada incisão de 1,5 cm removendo pele, tecido subcutâneo e periosteio. Com a superfície craniana exposta e ajustada em posição horizontal, foi efetuado um orifício no osso parietal esquerdo para passagem de eletrodo. Após remoção do eletrodo (por onde passou corrente elétrica, no caso do grupo tratado), o orifício ósseo foi ocluído com resina autopolimerizante e a pele suturada com fio-algodão 2,0. Após intervalos de 7 e 15 dias da realização da lesão, os animais foram

sacrificados com éter para realização de perfusão encefálica com solução salina e solução de formol a 10% injetadas no ventrículo cardíaco esquerdo. Posteriormente à perfusão, os cérebros foram dissecados e armazenados em formol a 10% em temperatura de 0 a 4°C, e sequencialmente seccionados para identificação dos sítios de lesão. Os epidídimos foram separados dos testículos correspondentes e pesados. Em seguida, foram fixados em solução de Bouin, desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em resina plástica. As secções histológicas de 5 µm de espessura, foram coradas em hematoxilina – eosina.

Tanto o grupo controle quanto o grupo lesado não apresentaram alterações morfológicas na estrutura ductular epididimária, aos 7 e 15 dias após o procedimento cirúrgico. O segmento inicial, em ambos os grupos (Figs. 1A, 1B), exibiu um epitélio alto, com longos estereocílios e lúmen estreito. No segmento médio (Figs. 2A, 2B), observou-se epitélio mais baixo do que o primeiro, estereocílios mais curtos e lúmen amplo. O segmento terminal (Figs. 3A, 3B), apresentou epitélio delgado com amplo lúmen e estereocílios curtos. Os três segmentos apresentaram densidade normal de espermatozóides (Figs. 1A, 1B, 2A, 3A), sendo que o segmento terminal exibiu uma quantidade muito maior de gametas no lúmen por ser o local de estocagem. Observou-se que os tipos celulares apresentaram aparência normal (Figs. 1A, 1B, 2B, 3B). As células principais, basais, halo, claras e delgadas também mostraram frequência normal de acordo com cada segmento. O espaço interductular exibiu um aspecto caracteristicamente frouxo e ricamente vascularizado (Figs. 1B, 3A).

Portanto, pode-se concluir que a lesão eletrolítica no núcleo mediano da rafe não foi capaz de promover alterações morfofisiológicas no ducto epididimário. Desta forma, evidenciou-se que a estrutura ductular apresentou-se íntegra e, conseqüentemente, manteve as funções de secreção e armazenamento de espermatozóides.

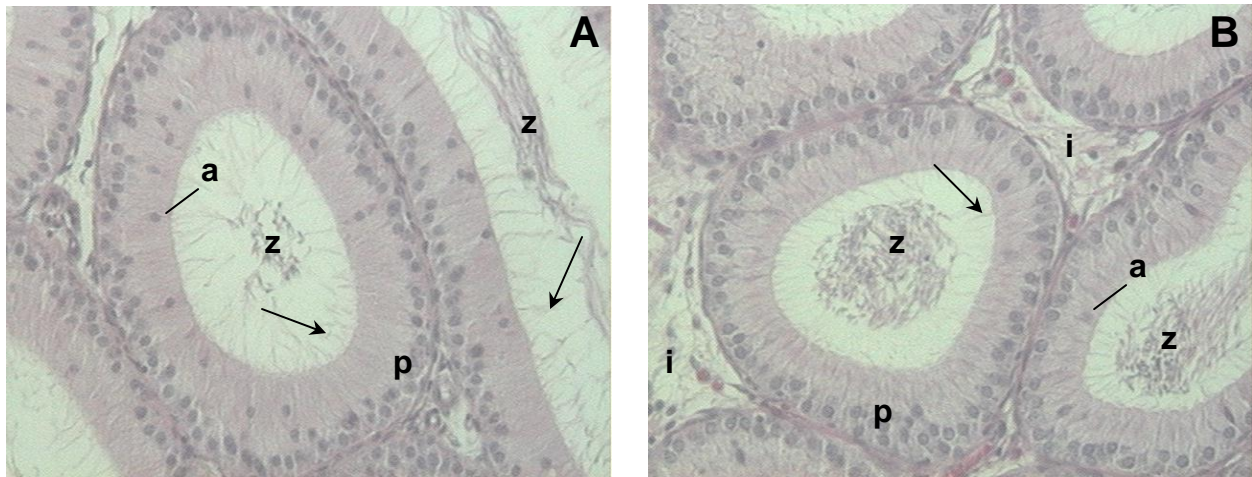


Fig. 1 – Segmento inicial do epidídimo de rato controle (A) e lesado no NMR (B). São evidenciadas células principais (p), células apicais (a), espermatozóides (z) na luz e estereocílios na porção apical das células (setas). Interstício ductular (i) constituído de tecido conjuntivo frouxo. H.E. (obj. 20X).

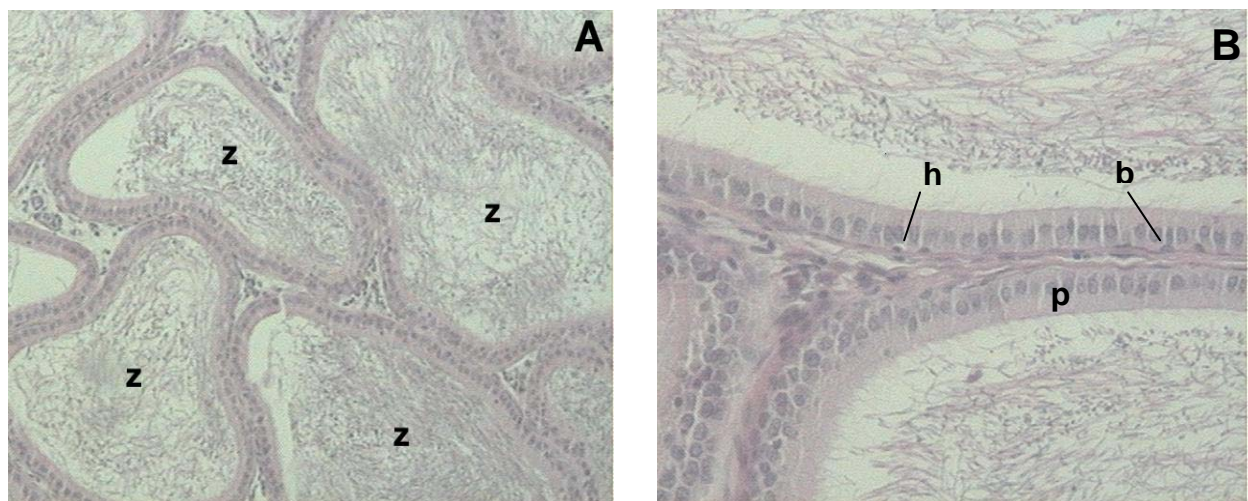


Fig.2 – Segmento médio do epidídimo de rato controle (A, obj. 10X) e lesado no NMR (B, obj. 20X). Observar em A, a presença de muitos espermatozóides no lúmen ductular. Em B, observar as células principais (p), basais (b) e célula halo (h). H.E.

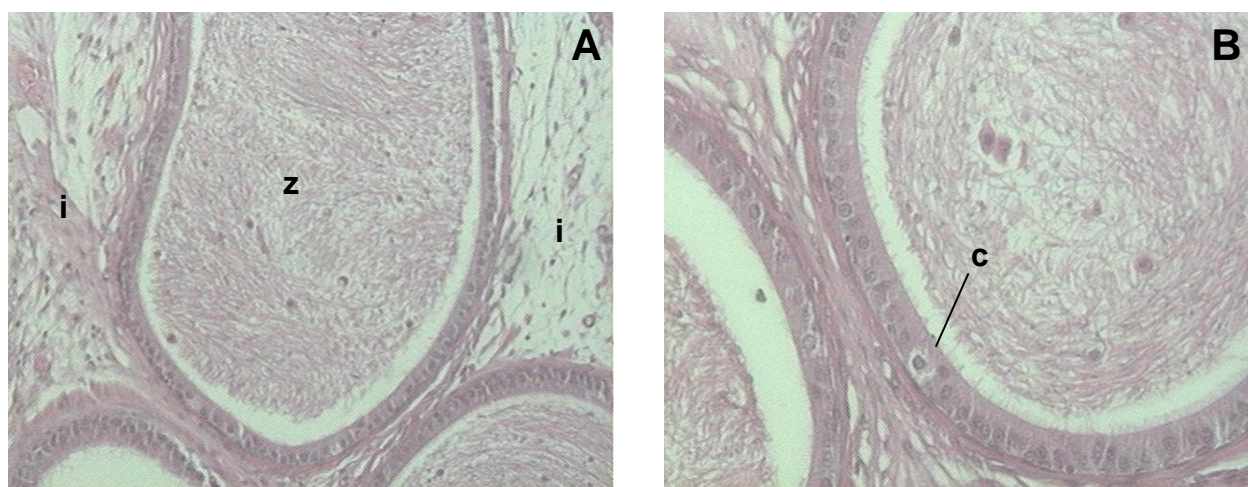


Fig. 3 – Segmento terminal do epidídimo de rato controle (A, obj. 10X) e lesado no NMR (B, obj. 20 X). Observar em A o epitélio ductular delgado, lúmen repleto de espermatozóides (z) e interstício (i) de aspecto frouxo. Em B, é dado destaque para a célula clara (c). H.E.

Referências bibliográficas

BROOKS, D.E. Epididymal Functions and Their Hormonal Regulation. *Aust. J. Biol. Sci.* 36:205-21, 1983.

DUFRESNE, J.; ST-PIERRE, N.; VIGER, R.S.; HERMO, L., CYR, D.G. Characterization of a novel rat epididymal cell line to study epididymal function. *Endocrinology*. 146(11):4710-20, 2005.

KORDON, C. et al. Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of luteinizing hormone and prolactin. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. *The Physiology of reproduction*. 2^a ed. New York, Raven Press,. Cap 27, p 1621-1681, 1994.

MEYER, D.C. Hypothalamic and raphe serotonergic systems in ovulation control. *Endocrinology*, 103(4): 1067-1074, 1978.

MORELLO, H. et al. Inhibition of proestrous LH surge and ovulation in rats evoked by stimulation of the medial raphe nucleus involves a GABA-mediated mechanism. *Neuroendocrinology*, 50: 81-87, 1989.

SOUBRIÉ, P. Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior. *The Behavioral and Brain Sciences*, 9: 319-364, 1986.