

Técnica para obtenção do aparelho geniturinário e dosagem do PSA (Prostate Specific Antigen) no hamster sírio, *Mesocricetus auratus*¹

Technique for collecting blood for PSA (Prostate Specific Antigen) dosing and genitourinary system obtaining in syrian hamster, *Mesocricetus auratus*

Dimas José Araújo Vidigal², Alcino Lázaro da Silva³, Luiz Mauro Andrade da Fonseca⁴, Dilermando Fazito de Rezende⁵

1. Trabalho realizado no curso de Pós Graduação em Cirurgia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).
2. Membro Titular da Sociedade Brasileira de Urologia. Pós-Graduando em Cirurgia pela Faculdade de Medicina da UFMG.
3. Professor Titular de Cirurgia do Aparelho Digestivo da Faculdade de Medicina da UFMG.
4. Professor de Patologia da Faculdade de Medicina de Barbacena (FUNJOB).
5. Professor de Metodologia Científica, da Faculdade de Medicina de Barbacena (FUNJOB).

RESUMO

Objetivo: Expor a técnica utilizada na colheita de sangue para dosagem do PSA (*Prostate Specific Antigen*) e retirada do aparelho geniturinário no hamster sírio, *Mesocricetus auratus*, e correlacionar os achados do PSA com as alterações histológicas dos anexos sexuais desse roedor. **Métodos:** Foram usados no experimento trinta (n= 30) Hamsters: dez (n=10) animais considerados jovens com idade média no momento da morte de 47,5 dias e vinte (n=20) animais considerados adultos com idade superior à um ano. Após serem anestesiados com cloridrato de quetamina e diazepam, foi colhido diretamente da veia cava, em nível de abdome superior, cerca de 1,5mL a 2,0mL de sangue para dosagem do PSA total pelo método ELISA, com antígeno humano. Morriam após colheita do sangue. Constatado a morte do animal, fazia-se a laparotomia retirando-se em monobloco todo aparelho geniturinário para estudo histológico dos anexos sexuais. Correlacionou-se o PSA com as alterações histológicas encontradas. Resultados: Os animais após serem anestesiados com cloridrato de quetamina e diazepam intraperitonealmente, obteve-se um excelente plano anestésico, que possibilitou colher via trans-dérmica da veia cava inferior em abdome superior sangue para dosagem do PSA. O animal morria após colheita do sangue. Fazia-se a laparotomia, com retirada em monobloco do aparelho geniturinário para estudo histológico e comparação das alterações encontradas nos anexos sexuais com o PSA dosado. Entre os Hamsters Jovens a média do PSA encontrado foi de 0,252ng/mL. Desvio Padrão (DP) = 0,36. Entre os Hamsters adultos esta média foi de 0,325 ng/mL, DP= 0,12. Quando comparou-se as médias do PSA entre os dois grupos de jovens e adultos obteve-se p= 0,0427. Dentre os Hamsters jovens, três apresentaram PSA não detectado. A análise histológica mostrou que, entre os animais jovens, não foi identificada qualquer alteração das estruturas microscópicas da próstata, vesículas seminais e testículos. Observou-se nos Hamsters adultos (n=20), setenta por cento de alterações nos anexos sexuais a saber: um caso (5%) de processo supurativo das vesículas seminais, um caso (5%) de processo inflamatório isolado das vesículas seminais, um caso (5%) de Processo inflamatório das vesículas seminais, HBP e prostatite concomitante e um caso (5%) de infarto testicular e prostatite. Onze animais (55%), dos Hamsters adultos, apresentaram HBP (Hiperplasia Benigna da Próstata). **Conclusão:** A técnica cirúrgica descrita mostrou-se eficiente para a obtenção dos órgãos e estruturas do aparelho geniturinário, estudo histológico desses órgãos e dosagem do PSA no Hamster Sírio, *Mesocricetus auratus*.

Descritores: Hamster Sírio. *Mesocricetus*. Antígeno Prostático Específico. Vesículas Seminais. Testículos.

ABSTRACT

Purpose: To explain the available technique in collecting blood for PSA (Prostate Specific Antigen) dosing and the genitourinary system extracting from Syrian Hamster, *Mesocricetus auratus*, and correspond PSA findings to aneixed sexual histologic changes. **Methods:** Thirty (n=30) Hamsters were used in the experiment: ten (n=10) animals were on the average age of 47,5 days on the decease mourent, being qualified as young and twenty (n=20) animals over the age of one year were qualified as adults. After being under chetamina cloridate and diazepam anesthesia, on the superior abdomen level, c. 1,5mL to 2,0mL of blood were collected for total PSA dosing though ELISA method, with human antigen. They died after blood extracting. After verifying the animal death, laparatomy was carried out, extracting in complete monoblock the genitourinary system for a histologic study of sexual anexes. A PSA correlation was set with the found histologic changes. Results: An excellent anesthesian plan was obtained after shooting chetamina cloridate and diazepam intraperitoneum on the animals, that made possible to collect blood through the cava vein trans-derm via to the superior abdomen for the PSA dosing. The animal died after blood

collecting. Laparotomy was carried out with the complete monoblock extracting of the genitourinary system for a histologic study of sexual anexes and found changes to dosed PSA. Among young Hamsters the PSA found level was 0,252ng/mL, Pattern change (PC) = 0,36. Among adult Hamsters, the average was 0,325ng/mL, (PC)=0,12. When comparing these PSA averages between the young and adult groups, the obtained result was $p=0.0427$.

Among young Hamsters, three of them presented PSA no detectable and young animals did not present histologic changes in their checked sexual annexes, among adult Hamsters, fourteen (70) of them presented change in their sexual annexes such as: ten (50%) present only PBH (Prostate Benign Hiperplasia), one (5%) prostatitis and seminal vesicle inflammation and PBH, one (5%) seminal vesicle suppurative inflammation, one (5%) seminal vesicle inflammation and one (5%) presented testicle infarct and prostatitis. **Conclusion:** The depicted surgical technique has shown to be efficient in obtaining the genitourinary system with its organs and structures, even for a histologic study of those organs and PSA dosing in Syrian Hamster, *Mesocricetus auratus*.

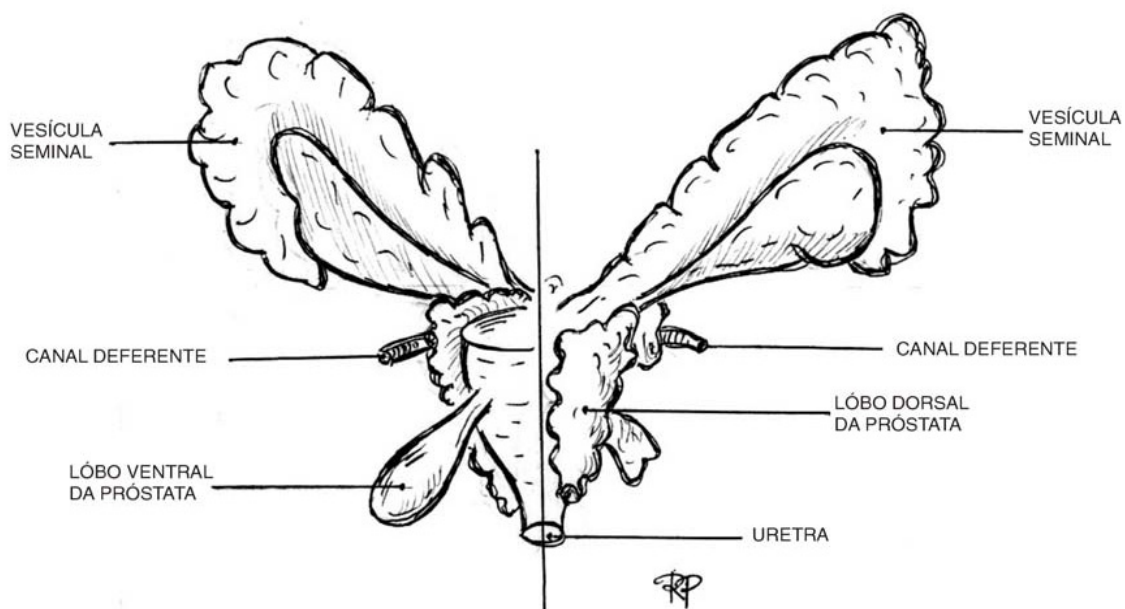
Key words: Mesocricetus. Prostate-Specific Antigen. Seminal Vesicles. Testis.

Introdução

O emprego da dosagem do *PSA-Prostate Specific Antigen*, Antígeno Prostático Específico, na rotina da clínica^{10,11}, revolucionou os conceitos de propedêutica e terapêutica em Urologia. Como o *PSA* passou a ser um marcador indispensável no diagnóstico de lesões especialmente prostáticas^{3,5,7,9,10,11}, ocorreu aos autores a pergunta sobre a sua presença e importância, também, nos animais de pequeno porte. Em literatura pesquisada não foram encontradas referências sobre o assunto.

Considerando que a experimentação animal é fundamental na orientação de novidades ou mudanças nos atos clínicos, resolveu-se realizar o estudo no Hamster Sírio, *Mesocricetus auratus*.

No início do estudo havia dificuldades técnicas por não encontrarmos em literatura descrições sobre o assunto. Havia dificuldades na colheita do sangue para análise do *PSA*, localização dos anexos sexuais e uma anatomia tanto macroscópica como microscópica, não descritas em textos ou revistas. A princípio tentou-se fazer cortes histológicos do colo da bexiga em sentido proximal para distal ao pênis no intuito de encontrar estruturas com características histológicas da próstata. Estas dificuldades foram resolvidas após leitura da descrição feita por Toma e Buzell¹² a respeito da anatomia e histologia normal dos anexos sexuais do *Mesocricetus auratus*, proporcionando-nos desenvolver o procedimento com segurança (Esquema 1).



ESQUEMA 1 - Esquema das glândulas sexuais acessórias do Hamster Sírio, *Mesocricetus auratus*. Visão da próstata ventral à esquerda e próstata dorsal à direita, retirado de TOMA, Jean G; Buzzell, Gerard R. *Fine Structure of Ventral and Dorsal Lobes of the Prostate in The Young Adult Syrian Hamster, Mesocricetus auratus*. The American Journal of Anatomy, Department of Anatomy and Cell Biology. University of Alberta Edmonton, Alberta T6G 2A1, Canada 1998; 181. p.133.

Modelos experimentais são escassos sobre o assunto, a técnica utilizada no experimento será útil para o enriquecimento da literatura e poderá ser aplicada em investigações futuras.

O objetivo do trabalho é mostrar a técnica utilizada na correlação dos valores do *PSA* encontrados no sangue do Hamster Sírio, *Mesocricetus auratus*, com as alterações histológicas dos anexos sexuais: próstata, vesículas seminais e testículo, e procedimento para retirada e obtenção dos mesmos.

Métodos

Foram utilizados no experimento trinta (n=30) animais, divididos em dois grupos: grupo um (n=10), de animais jovens, com idade média de 46,7 dias, idade entre 45 dias e 48 dias. Eram mantidos em biotério construído especialmente para observância cuidadosa da idade, com luz e temperatura ambiente, alimentação e água *ad libitum*. Grupo dois, animais adultos, com mais de um ano de idade, adquiridos de biotérios diferentes, sendo a idade desses animais informada pelos criadores e confrontadas as informações recebidas com o exame físico dos animais. Estes apresentavam peso superior à 90g, dentes amarelados, molares desgastados, manchas e falhas na pelagem, ausência de pêlos nas orelhas e testículos volumosos no escroto^{1,13}.

Após serem pesados, eram anestesiados, intraperitonealmente, com cloridrato de quetamina na dosagem de 250mg/kg (miligrama por quilograma)⁶, associado ao diazepam na dosagem de 2,5mg/kg² em seringas separadas.

Após atingir o plano anestésico, a veia cava foi puncionada em abdome superior, quando se aspirava cerca de 1,5mL (mililitro) a 2,0mL de sangue para dosagem do *PSA* total (Figura 1).



FIGURA 1 – Fotografia na qual se pode observar a colheita de sangue da veia cava inferior em abdome superior do Hamster para dosagem do *PSA*.

Nesta ocasião o animal morria.

O sangue aspirado foi colocado em tubo de ensaio e encaminhado ao laboratório de análises clínicas. O *PSA* foi

dosado pelo método *ELISA* (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)⁴. No experimento foi usado o teste *ELISA* fornecido pela USA Diagnóstica, Monobind, Inc.

Constatado o óbito do animal, era feita a laparotomia interessando pele e tela subcutânea que estendia - se do apêndice xifóide até o ânus. A incisão contornava o pênis (Figura 2).



FIGURA 2 – Desenho representando a linha da incisão realizada no Hamster

Abria-se o peritônio, exteriorizavam-se os testículos do escroto com facilidade, pois há comunicação direta dele com o peritônio. Liberavam-se os testículos até seu pedículo junto à base cranial da bexiga juntamente com os deferentes bilateralmente. Após este procedimento, incisivam-se os pedículos renais bilaterais e dissecavam-se os rins e ureteres do sentido cranial para distal, até a base da bexiga. Ficavam livres os rins os rins, ureteres, testículos, deferentes e vesículas seminais.

Após este tempo, dissecavam-se o pênis posteriormente até expor-se o reto terminal. Passava-se uma pinça de Kelly entre as faces posterior do pênis e anterior do reto. Existe aí um plano de clivagem que facilita liberar o pênis do reto e da base e face posterior da bexiga.

Para facilitar o acesso e a dissecação do restante do aparelho geniturinário incisava-se o reto liberando-se todo o intestino. Retornava-se com a pinça de Kelly retropúbica e com o movimento de abertura eram afastados os ossos púbicos, liberando anteriormente o pênis e a porção anterior e cervical da bexiga, ficando ambos presos lateralmente aos ossos púbicos. Com cuidado eram dissecados e liberados em monobloco para posterior estudo histológico (Figura 3). As partes do animal não usadas para estudo foram incinerados.

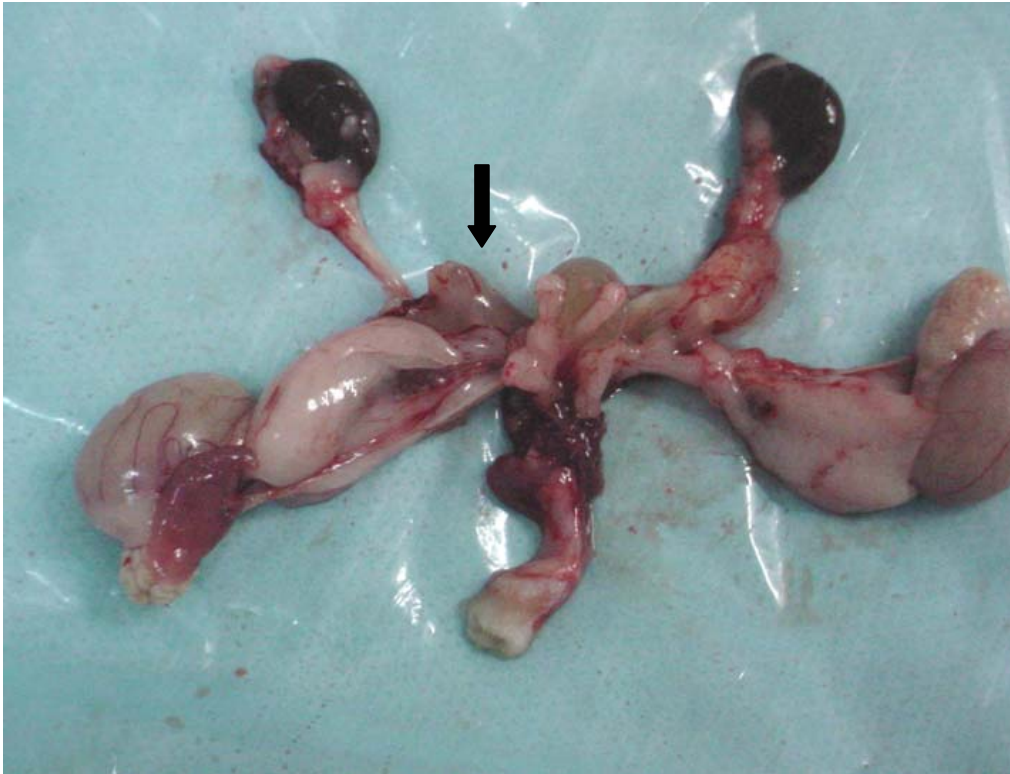


FIGURA 3 – Fotografia na qual pode-se observar o aparelho geniturinário do hamster retirado em monobloco, para estudo anatomopatológico. A seta indica os lobos ventrais da próstata tendo a bexiga atrás. Observa-se, também, lateralmente os testículos, superiormente os rins e inferiormente o pênis

O material foi fixado em formol a 10% para macroscopia e o estudo microscópico dos espécimes foi feito depois de serem corados com hematoxilina-eosina (HE). Foram feitos três conjuntos para cada animal: Conjunto 1 - próstata com lobos ventrais marcados com tinta Nanquim. Conjunto 2 - rim e testículo direito. Conjunto 3 – rim e testículo esquerdo, bexiga e pênis. A seguir o material foi repassado novamente para o formol a 10% antes de ser levado à histotécnica para processamento.

Para análise dos resultados utilizou-se dos recursos de processamento estatístico dos pacotes de programação EPIINFO, versão 6.04 e STATA versão 7.0. As diferenças entre os dois grupos de animais foram testadas através do método do qui-quadrado e através do teste de *Student*. Na comparação das médias, as diferenças foram aferidas pelo teste de H (KRUSKAL-WALLIS), quando o teste da homogeneidade de BARTLETT apresentou “p” inferior a 0,05. O nível de

significância adotado na análise dos resultados foi de 5%.

Resultados

Os animais em estudo após serem anestesiados com cloridrato de quetamina e diazepam intraperitonealmente, obteve-se um excelente plano anestésico, que possibilitou colher via trans-dérmica da veia cava inferior em abdome superior, sangue para dosagem do *PSA*. O animal tinha morte após colheita do sangue, quando era feita a laparotomia, com retirada em monobloco do aparelho geniturinário com facilidade para estudo histológico e comparação das alterações encontradas nos anexos sexuais com o *PSA* dosado.

Entre os Hamsters Jovens a média do *PSA* encontrado foi de 0,252 ng/mL, Desvio Padrão (DP) = 0,36. Entre os Hamsters adultos esta média foi de 0,325 ng/mL, DP= 0,12. Quando comparou-se as médias do *PSA* entre os dois grupos de jovens e adultos obteve-se $p=0,0427$ (Tabela 1).

TABELA 1 - Valores das médias do *PSA* encontrados entre hamsters jovens e adultos

Animais	Jovens	Adultos	H=3,885	p=0,0427
<i>PSA</i>	0,252ng/mL	0,325ng/mL		
	DP= 0,36	DP=0,12		

H= Kruskal - Wallis p= significância estatística (< 0,05)

A análise histológica mostrou que, entre os animais jovens, não foi identificada qualquer alteração das estruturas microscópicas da próstata, vesículas seminais e testículos. Observou-se nos Hamsters adultos (n=20), setenta por cento de alterações nos anexos sexuais a saber: um caso (5%) de processo supurativo das vesículas seminais, um caso (5%) de processo inflamatório isolado das vesículas seminais, um caso (5%) de Processo inflamatório das vesículas seminais, HBP e prostatite concomitante, e um caso (5%) de infarto testicular e prostatite. Cinquenta e cinco por cento (55%), onze animais, dos Hamsters adultos, apresentaram HBP (Hiperplasia Benigna da Próstata).

A tabela 2 mostra as alterações encontradas na próstata desses animais.

TABELA 2 - Comparação dos grupos jovens e adultos de Hamster quanto à frequência de alterações da próstata no exame histológico da glândula.

Alterações	Jovens		Adultos		X ²	P
	N	%	N	%		
Nenhuma	10	100,0	7	35,0	10	0,019
HBP**	0	0,0	11	55,0		
Prostatite	0	0,0	2	10,0		

** HBP - Hiperplasia Benigna da Próstata

X² = quiquadrado p= significância estatística (< 0,05)

Discussão

No presente trabalho, o cloridrato de quetamina associado ao diazepam nas dosagens empregadas, mostrou eficiente para anestesia no *Mesocricetus auratus* e pode também ser estendida a outros roedores. Quando os animais eram anestesiados e mantidos vivos, observou-se efeito anestésico eficaz em torno de 45 minutos. A associação de quetamina com o diazepam além de promover sinergismo, o diazepam atenua os efeitos alucinógenos da quetamina⁸ que é um anestésico dissociativo capaz de provocar alucinações.

Optou-se pela punção da veia cava em abdome superior, pelo fato de que nesse local esta veia é calibrosa facilitando sua punção e colheita de sangue. O sangue colhido para dosagem do *PSA* não pode ser hemolisado, orientação dada pelo fabricante do Kit usado para dosagem do *PSA* no experimento (*PSA* ELISA, Monobind, Inc. USA Diagnostic), pois, poderá interferir na leitura do *PSA* fornecendo resultados equivocados, e a punção da veia cava em nível escolhido, facilita a punção evitando a hemólise do sangue. Trabalhos têm demonstrado que a hemólise interfere em resultados de reações de enzimmunoensaios¹⁴. Optou-se também pela punção desse vaso por via trans-dérmica, com intuito de evitar manipulação

de estruturas intraperitoneal que, supostamente, poderia alterar os valores do *PSA*, embora não tenha sido encontrado em literatura menção a este respeito.

A incisão xifopubiana favorece a inspeção de todo conteúdo intraperitoneal, como também a dissecação do aparelho geniturinário em monobloco após rebater o intestino, quando se vê com clareza os rins, ureteres, bexiga e vesículas seminais, assim como os grandes vasos abdominal.

A próstata é facilmente identificada e possui quatro lobos: dois lobos anteriores (ventrais) e dois lobos posteriores (dorsais).

A tinta Nanquim foi útil, possibilitando identificar durante o estudo histológico, o lobo anterior (ventral) da próstata e diferenciá-lo dos lobos posteriores (dorsais)¹².

Os testículos, como os demais órgãos do aparelho geniturinário do Hamster, são fáceis de serem identificados. Existe comunicação do escroto para o peritônio, quando os testículos se fazem migrar para cavidade peritoneal com facilidade. São fixados por um *gubernaculum testis* que é muito comprido, talvez seja o que possa favorecer a torção testicular nesses animais. Foi encontrado entre os animais adultos um caso (5,0%) de infarto testicular, embora o presente estudo não possa afirmar que esta condição favoreça a torção testicular nesse animal e não foi encontrado em literatura descrições a respeito.

Analisando-se os achados do *PSA*, pode-se observar que há uma diferença do *PSA* entre o jovem e o adulto. Os Hamsters jovens apresentam dosagem do *PSA* com valores inferiores aos encontrados no Hamster adulto, de forma significativa (p = 0,0427).

Confrontando-se o *PSA* com a histologia, não houve significância na dosagem em qualquer das alterações descritas a saber: Prostatite, HBP, processo supurativo das vesículas seminais e infarto testicular. Sabe-se agora o padrão normal do *PSA* no *Mesocricetus auratus*. Esses roedores apresentam alterações microscópicas nos anexos sexuais e o *PSA* não se eleva nessas condições. Houve uma tendência na elevação do *PSA* na HBP, embora não se possa afirmar que exista correlação entre HBP e *PSA* no *Mesocricetus auratus*.

Com a técnica cirúrgica apresentada nesse experimento, foi possível uma anestesia eficiente no Hamster, colheita de sangue ideal para dosagem do *PSA*, que pode ser estendida para dosagem de outros elementos do sangue. É uma boa técnica para exposição dos órgãos intraperitoneal e retirada com facilidade dos órgãos geniturinário para estudo histológico e outras investigações que se propuser, contribuindo sobre maneira para o enriquecimento da literatura sobre o assunto.

Conclusão

A técnica cirúrgica descrita, mostrou-se eficiente para obtenção do aparelho geniturinário, estudo histológico dos seus anexos sexuais e da dosagem do *PSA* no hamster sírio, *Mesocricetus auratus*, como também, comparação dos níveis de *PSA* encontrados com os achados histológicos dos anexos sexuais desse animal.

Referências

1. Barrie A. Hamster. Lisboa: Editorial Presença; 1993.
2. Harkness JE; Joseph WE. Biologia e clínica de coelhos e roedores. 3ed. São Paulo: Roca; 1993.
3. Lechevallier E; Eghazarian C; Ortega JC; Andre M; Gelsi E; Roux F; Coulange C. Effect of digital rectal examination on serum complexed and free Prostate- Specific Antigen (PSA) and percentage of free prostate-specific antigen. Urology. 1999; 54(5): 857-61.
4. Setoguchi C, Matsumoto K, Samori T, Kimura E, Harukaze S. Enzyme-Linked immunosorbent Assay for serum Prostate Specific Antigen (PSA) using monoclonal antibodies. Rinsho Byor: 1998; 46(1): 79-82.
5. Oesterling JE. PSA leads the way for detecting and following, prostate cancer. Contemp Urol. 1993; 5: 60-81.
6. Paddlerford RR. Manual de anestesia em pequenos animais. 2ed. São Paulo: Roca; 2001.
7. Rhoden EL; Da Ros CT, Deyl R, Mello VP, Telöken C, Souto CAV. Valor do antígeno específico prostático e da densidade do PSA, em pacientes portadores de hiperplasia de próstata benigna e adenocarcinoma de próstata. J Bras Urol 1998; 24(3): 142-6.
8. Penildon S. Farmacologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.
9. Solto CAV. Marcadores em câncer de próstata. J Bras Urol 1999; 25(1):16-9.
10. Srougi M. Antígeno prostático específico. Rev Bras Med 1996;53:12.
11. Srougi M. Hiperplasia de próstata. Rio de Janeiro: Record; 1995.
12. Toma Jean G; Buzzell, Gerard R. Fine structure of the ventral and dorsal lobes of the prostate in the young adult syrian hamster, *Mesocricetus auratus*. Am J Anat 1998; 181: 132-40.
13. Vieira MIn. Hamster, criação e treinamento. São Paulo: Infotec; 1992.
14. Wenk Robert E. Mechanism of interference by hemolysis in immunoassays and requirements for sample quality. Clin Chem 1998; 44(12):2554.

Correspondência:

Dimas José Araújo Vidigal
Av. Augusto Justí, 74
36200-000 Barbacena - MG
Tels: (32)3331-0124 / 9983-1454
dimas@barbacena.com.br

Conflito de interesse: nenhum
Fonte de financiamento: nenhuma

Recebimento: 15/08/2004
Revisão: 21/09/2004
Aprovação: 05/10/2004

Como citar este artigo:

Vidigal DJA, Silva AL, Fonseca LMA, Rezende DF. Técnica para obtenção do aparelho geniturinário e dosagem do PSA (Prostate Specific Antigen) no hamster sírio, *Mesocricetus auratus*. Acta Cir Bras [serial online] 2004 Nov-Dez;19(6). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb> [também em CD-ROM].

*Figuras coloridas disponíveis em www.scielo.br/acb