

ciación

Efecto de la orquidectomía

sobre el tamaño y el peso
de las vesículas seminales de la rata

rales

Colección manuales uex - 89



Antonio
González Mateos

Ginés
Salido Ruíz

Patricia
Santofimia Castaño

89

**EFFECTO DE LA ORQUIDECTOMÍA SOBRE EL TAMAÑO
Y EL PESO DE LAS VESÍCULAS SEMINALES DE LA RATA**

MANUALES UEX

89

ANTONIO GONZÁLEZ MATEOS
GINÉS SALIDO RUIZ
PATRICIA SANTOFIMIA CASTAÑO

EFFECTO DE LA ORQUIDECTOMÍA SOBRE EL TAMAÑO
Y EL PESO DE LAS VESÍCULAS SEMINALES DE LA RATA



2013



© Los autores

© Universidad de Extremadura para esta 1ª edición

Edita:

Universidad de Extremadura. Servicio de Publicaciones

C/ Caldereros, 2 - Planta 2ª. 10071 Cáceres (España)

Tel. 927 257 041 ; Fax 927 257 046

E-mail: publicac@unex.es

<http://www.unex.es/publicaciones>

ISSN 1135-870-X

ISBN de méritos: 978-84-695-6414-1

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra sólo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley. Dirijase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos, www.cedro.org) si necesita fotocopiar o escanear algún fragmento de esta obra.

PREFACIO

El objetivo principal del nuevo marco del Espacio Europeo de Educación Superior (EEES) es mejorar la competitividad internacional de las universidades de la Unión Europea. El alumno es el principal protagonista en este nuevo escenario de educación, basada en el aprendizaje, en oposición a la educación tradicional basada en la enseñanza del profesor.

La implantación del EEES persigue varios objetivos, entre los que destaca formar a nuestros estudiantes en competencias. Con esta nueva dimensión de los planes de estudio en el EEES, los materiales necesarios para la actividad docente deben estar pues diseñados para permitir a los alumnos desarrollar las competencias del título que estudian, entre las que se encuentra el saber hacer.

La enseñanza de la Fisiología tiene como objetivo general el conocimiento de las funciones del organismo, la adquisición de la metodología necesaria para su estudio y el desarrollo de actitudes frente al mantenimiento de la salud y el tratamiento de la enfermedad. Por tanto, en este contexto, la Fisiología ha de contribuir a la adquisición por parte del alumno tanto de competencias genéricas o transversales como de competencias más específicas de su titulación o grado. En concordancia con los objetivos del EEES, la Fisiología se debe plantear en qué medida ha de contribuir a la adquisición de competencias por parte del estudiante. En nuestro caso concreto, la Fisiología, al igual que otras áreas de conocimiento o disciplinas, debe contribuir a la consecución de los objetivos establecidos en el Plan de Estudios del Grado en Veterinaria mediante la impartición de unos conocimientos, y también debe promover la adquisición por parte del estudiante de unas determinadas habilidades y actitudes.

Paralelamente, el profesorado universitario tiene la posibilidad de innovar, elaborando materiales de enseñanza que le permitan realizar una actividad docente de calidad, en la que se fomente la participación del alumno y que haga atractiva la actividad del aprendizaje, con la mira puesta en su formación como profesional.

La actividad que pretendemos desarrollar en esta práctica se centra en la implicación del alumno de Veterinaria en la utilización de animales vivos, en la toma de contacto con ellos, y en la iniciación en el uso de técnicas quirúrgicas básicas. Esta práctica va dirigida a los estudiantes de Veterinaria de primero o segundo curso.

Los contenidos que se imparten con esta enseñanza práctica se encuadran dentro del bloque de conocimientos de la Fisiología correspondientes al sistema endocrino. En la Universidad de Extremadura (UEx), esta práctica se puede impartir bien dentro del programa de prácticas de la asignatura “Endocrinología y Regulación Metabólica” o del de “Fisiología

Animal”, asignaturas del módulo de Formación Básica Común que, junto con “Bioquímica”, conforman la materia denominada “Bases Moleculares y Funcionales de los Procesos y Sistemas Biológicos”, de 18 créditos ECTS. Cada una de las asignaturas mencionadas consta de 6 créditos ECTS en el Plan de Estudios del Grado en Veterinaria de la UEx (D.O.E. de 17 de febrero de 2010 y B.O.E. de 8 de marzo de 2010, de acuerdo con la ORDEN ECI/333/2008, de 13 de febrero, por la que se establecen los requisitos para la verificación de los títulos universitarios oficiales que habiliten para el ejercicio de la profesión de Veterinario).

La práctica se enfoca al estudio del efecto de las hormonas sexuales masculinas en el desarrollo y función de glándulas sexuales secundarias, con el objetivo de estudiar la relación existente entre órganos sexuales primarios y glándulas sexuales accesorias, y el papel regulador de la testosterona.

Es una práctica que tradicionalmente ha formado parte del programa de prácticas de Fisiología Animal en los antiguos planes de estudio, pero que se dejó de impartir por el bajo interés que empezó a despertar en el alumno, por su poca viabilidad económica (resulta cara), y por la nueva reglamentación referente al manejo de animales de experimentación, que obligaba a una adaptación del laboratorio de prácticas de la Unidad de Fisiología de la Facultad de Veterinaria que resultaba muy costosa. Por ello, esta práctica se retiró del programa práctico por las necesidades de reajuste del programa de la asignatura que implicaba.

Pero con el paso del tiempo, la solicitud por parte de los alumnos de este tipo de prácticas, junto con las observaciones recibidas tras la última evaluación de nuestra Facultad que ha realizado la Asociación Europea de Centros de Enseñanza de Veterinaria (EAEVE), en las que pone de manifiesto la necesidad de que los alumnos hagan prácticas con animales ya en el primer curso de sus estudios de Veterinaria, nos ha motivado a impartir de nuevo esta actividad práctica. A ello se suma la disponibilidad de un espacio con instalaciones adecuadas en el Servicio de Animalario de la UEx.

Con este guión adaptado, contribuimos al cumplimiento de los requerimientos establecidos por la EAEVE y, además, permitimos que los estudiantes entren en contacto con las actividades de investigación para que, de manera autónoma, aunque guiados por el profesor, encuentren la respuesta a una pregunta mediante el desarrollo del método científico. Al término de la experiencia, los alumnos deberán elaborar una memoria de la actividad práctica, que abarque todos los pasos que han seguido, y expondrán su trabajo.

Consideramos importante que el alumno que curse la asignatura tenga las siguientes aptitudes:

- a. Aprecio hacia los animales en su medio.
- b. Compromiso ético y preocupación por la calidad de vida.
- c. Destreza manual.
- d. Capacidad de aplicar conocimientos teóricos a la práctica.
- e. Capacidad de resolución de problemas.

- f. Capacidad de análisis y síntesis.
- g. Habilidades de gestión de la información.
- i. Capacidad de comunicación.

Adicionalmente, el alumno matriculado en la asignatura deberá mantener las siguientes actitudes:

- a. Demostrar inquietud por el aprendizaje.
- b. Asimilar el método y la metodología científica.
- c. Utilizar las fuentes de información.
- d. Ser consciente de la necesidad de mantener actualizados los conocimientos y habilidades adquiridos con el estudio de la Fisiología Animal.
- e. Ser disciplinado y observar las normas de buena conducta y tolerancia.

Finalmente, con la superación del programa teórico y práctico se pretende que el alumno sea capaz de alcanzar los siguientes objetivos:

- a. Identificar la función de órganos, sistemas y del organismo animal completo.
- b. Conocer y comprender los mecanismos de regulación de las funciones de los sistemas.
- c. Comprender la importancia de la coordinación de las funciones de todos los sistemas y aparatos para mantener la homeostasis del organismo.
- d. Adquirir una comprensión racional, completa e integrada de los mecanismos de funcionamiento del organismo animal, con énfasis en la fisiología a niveles subcelular y de sistemas,
- e. Aplicar los conocimientos teóricos a la resolución de problemas fisiológicos en medicina y producción animales.
- f. Capacidad de análisis y síntesis.
- g. Buscar y gestionar información para mantener actualizados los conocimientos, habilidades y actitudes mediante un proceso de formación continuada.

Tradicionalmente, los contenidos de la Fisiología han sido considerados por el alumnado, en general, muy amplios y de un alto grado de complejidad. Pese a lo planteado hacia el alumno por el profesorado al inicio de cada curso académico, con el paso del tiempo el alumno puede manifestar una cierta pasividad participativa, lo que nos induce a modificar la estrategia del profesor para fomentar la formación participativa y, sobre todo, a mejorar las tasas de éxito de los alumnos.

Con todo ello, esperamos que los alumnos, cumpliendo los objetivos de la enseñanza de Fisiología, adquieran las competencias propias de la enseñanza de esta materia, que quedan recogidas en el Plan de Estudios del Grado en Veterinaria de la UEx.

Por último, pero no por ello menos importante, no debemos olvidar la serie de consideraciones publicadas por la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (<http://www.seccff.org/>) bajo los auspicios del Ministerio de Educación, en las que se aborda la “Contribución de la Fisiología a la Adquisición de Competencias en el contexto del EEES” (http://www.seccff.org/archivos/Fisiol_Grados_Salud.pdf).

ÍNDICE GENERAL

Í N D I C E

	PREFACIO	7
1.	INTRODUCCIÓN	13
2.	FUNDAMENTO	13
3.	MATERIALES	14
4.	SUJETOS EXPERIMENTALES	15
5.	DISEÑO EXPERIMENTAL	15
6.	TÉCNICA QUIRÚRGICA	16
	6.1. Protocolo de anestesia	16
	6.2. Procedimiento quirúrgico	17
7.	PROCEDIMIENTO DE SACRIFICIO	19
8.	EXTIRPACIÓN DE LAS VESÍCULAS SEMINALES	19
9.	ELIMINACIÓN DEL MATERIAL UTILIZADO Y CADÁVERES	20
10.	AGRADECIMIENTOS	20
11.	BIBLIOGRAFÍA	20

1. INTRODUCCIÓN

Los órganos reproductores en los animales domésticos machos comprenden los testículos (formados por los túbulos seminíferos), que se continúan con el epidídimo, el cual conecta con el conducto deferente que, a su vez, transporta los espermatozoides hasta la próstata. Relacionado con la próstata están las vesículas seminales.

Las funciones del aparato reproductor del macho son:

1. La espermatogénesis o formación de espermatozoides.
2. La regulación de las funciones sexuales del macho mediante la elaboración de hormonas sexuales masculinas.

La gametogénesis, en el caso del macho la formación de los espermatozoides, depende en buena medida de la producción de andrógenos por los testículos y, todo el proceso en conjunto, está controlado por hormonas del eje hipotálamo-adenohipófisis.

La testosterona es la hormona masculinizante por excelencia, y es la que causa las características distintivas del macho. Es la principal hormona elaborada y liberada por los testículos; concretamente esta producción tiene lugar en las células de Leydig del tejido intersticial. Esta hormona es fundamental en la regulación de la actividad reproductora de los machos de todas las especies animales, y es responsable de la correcta funcionalidad de las glándulas accesorias sexuales (vesículas seminales) y, como hemos mencionado, de la espermatogénesis.

La testosterona también participa en el comportamiento sexual, y en la aparición de los caracteres sexuales secundarios típicos del sexo masculino. Los esteroides con actividad androgénica tienen una importante actividad miotrófica, con aumento de la retención de nitrógeno, con lo que en definitiva conduce a un depósito de proteínas, que implica el aumento de la masa muscular que se observa en el macho; esto hace que el macho tenga mayor volumen corporal que la hembra. Además, es necesaria para el desarrollo y el mantenimiento funcional de una serie de estructuras del aparato reproductor, entre ellos las glándulas accesorias.

En esta práctica vamos a poner de relieve la función androgénica de los testículos, esto es, su papel liberador de la hormona testosterona, y la importancia que ello tiene en la regulación de la función sexual masculina.

2. FUNDAMENTO

La orquidectomía o extirpación de los testículos, origina en el adulto una marcada reducción del tamaño de las glándulas accesorias al aparato reproductor, como la próstata o las vesículas seminales. Sin embargo, la administración de testosterona exógena en el animal castrado anula este efecto al sustituir a la endógena. Si la testosterona se administra a un animal no castrado, aparece hipertrofia de estas glándulas debido al exceso de testosterona en plasma.

3. MATERIALES

Para la realización de la práctica haremos uso del quirófano y del laboratorio experimental del Servicio de Animalario de la UEx. En cualquier caso, se podrá realizar en un laboratorio de prácticas debidamente equipado, conforme a la legislación vigente.

El material que hemos utilizado en esta práctica es el siguiente:



Figura 1. Equipamiento personal para entrada en las instalaciones del Servicio de Animalario de la UEx.

1. Indumentaria/equipamiento personal (Figura 1):

- calzas.
- pijama quirúrgico.
- guantes.
- mascarilla.
- gorro.

2. Quirófano, debidamente equipado (mesa, máquina de anestesia, lámpara quirúrgica,...).

3. Instrumental:

- Gasas.
- Tijeras.
- Bisturí.
- Pinzas.
- Mosquitos.
- Porta agujas.
- Sutura de seda (Silkam grosor 3/0).
- Solución salina.

4. Farmacología.

- Antiséptico: betadine.
- Buprenorfina (Buprex): 0.03 mg / Kg p.v.
- Pomada cicatrizante: blastoestimulina.
- Enrofloxacino (Hipralona ENRO-I).
- Pomada oftálmica (Oculos epitelizante).

4. SUJETOS EXPERIMENTALES



Figura 2. Sujetos experimentales.

Los estudios los realizaremos en ratas *Wistar* machos adultos (Figura 2), que se obtendrán del proveedor correspondientemente autorizado; en nuestro caso los obtendremos del Servicio de Animalario de la UEx.

Los animales empleados en el presente estudio serán tratados de acuerdo a lo dispuesto en la normativa legal vigente y en particular en la Ley 32/2007 de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio y el Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

La práctica se realizará en el quirófano experimental de que dispone el Servicio de Animalario de la Universidad de Extremadura (Figura 3). Está previsto la utilización de seis animales por cada grupo de estudiantes (número final de animales previsto: 60 ratas -10 grupos de prácticas-).

Tanto el profesor, como los alumnos y demás personal de apoyo presente en el quirófano, deberá vestir la indumentaria y equipamiento de protección necesarios para estar en una zona quirúrgica (calzas, bata, gorro, mascarilla, guantes).



Figura 3. Quirófano experimental del Servicio de Animalario de la UEx.

5. DISEÑO EXPERIMENTAL

Cada grupo de prácticas tendrá a su disposición 6 animales. Para comprobar el efecto que tiene la testosterona sobre el tamaño y peso de las vesículas seminales, estableceremos tres grupos de dos animales cada uno: el primero es el grupo control (animales intactos), no será sometido a la extirpación de los testículos, y las ratas se utilizarán como control de referencia; los otros dos grupos son animales a los que se les extirparán los testículos (orquidectomizados). De estos dos últimos grupos, a uno se les aplicará una terapia de reemplazo hormonal con testosterona durante una semana (será el grupo dos); el otro grupo, el grupo número tres, no recibe tratamiento hormonal.

Transcurrido este período de tiempo, se extirparán las vesículas seminales a todos los grupos, tomaremos nota de su peso, y analizaremos las diferencias que se observen. Es de esperar que el peso de las vesículas de los animales orquidectomizados y no tratados (grupo tres) sea menor que el de las del grupo control (grupo uno), y también menor que las del grupo que recibió testosterona (grupo dos). En el caso del grupo dos, el peso de las vesículas será similar al de las del grupo uno.

6. TÉCNICA QUIRÚRGICA

6.1. Protocolo de anestesia



Figura 4. Equipo, y cámara de inducción y anestesia.

Utilizaremos el protocolo de anestesia inhalatoria PM5 proporcionado por el Servicio de Animalario de la UEx. La anestesia inhalatoria es la técnica que utiliza como agente principal para el mantenimiento de la anestesia un gas anestésico, que puede ser también utilizado como agente inductor. Las propiedades farmacocinéticas de los anestésicos inhalatorios, caracterizadas por una captación y eliminación rápidas,

permiten un control fácil del plano anestésico. La introducción de nuevos anestésicos halogenados con propiedades físicas de baja solubilidad ha impulsado su utilización y el desarrollo de las técnicas de bajo flujo. Para el procedimiento de anestesia utilizaremos un anestésico halogenado, el isoflurano, administrado al animal en cámara de inducción (Figura 4). El mantenimiento de la anestesia se llevará a cabo mediante el uso de mascarilla (Figura 5). En todo momento monitorizaremos el plano de anestesia, mediante la evaluación de diferentes reflejos como por ejemplo el reflejo palpebral/corneal, deglutorio, o el pinzamiento podal o de la cola, y el uso de

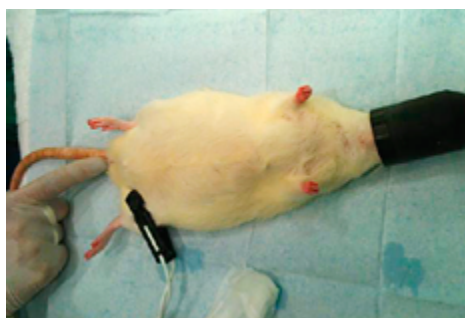


Figura 5. Colocación de la mascarilla para el mantenimiento de la anestesia, e instrumento para monitorización.

un oxímetro (Figura 5) que nos dará información de la frecuencia cardíaca y la saturación de oxígeno en todo momento y en tiempo real.

Para iniciar el procedimiento de administración de la anestesia cogeremos la rata por la cola y, con cuidado pero con decisión, la introduciremos en la cámara de inducción hasta que se duerma. Extraemos la rata de la cámara de anestesia y la trasladamos con suavidad a la mesa de quirófano, colocándole la mascarilla para el mantenimiento de la anestesia y el instrumental de monitorización (Figura 5). En este momento se procederá a administrar vía subcutánea (en el dorso del animal) un analgésico intraoperatorio (Buprenorfina, "Buprex": 0.03 mg / Kg p.v.). Su finalidad es la de reducir el dolor que pueda causarle la intervención quirúrgica. También le pondremos en los ojos una pomada oftálmica protectora (Oculos epitelizante), ya que la rata no cerrará los ojos durante la operación, por lo que es preciso minimizar al máximo posibles daños corneales.

6.2. Procedimiento quirúrgico

Finalizados todas las preparaciones, colocaremos la rata en posición decúbito supino sobre la mesa, ya preparada para la intervención. Se localizarán los testículos en la bolsa escrotal. Si estuvieran en la cavidad abdominal (en la rata el músculo cremáster puede retraerlos hasta su interior), presionaremos ésta caudalmente para hacerlos descender hasta la bolsa escrotal.



Figura 6. Fotografía de la incisión practicada en el escroto y detalle de uno de los testículos.

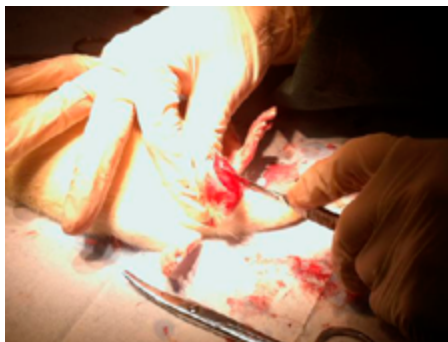


Figura 7. Fotografía de la incisión practicada en las túnicas que envuelven el testículo.

A continuación esterilizamos la zona, con una gasa impregnada en un antiséptico (por ejemplo, betadine). Con unas tijeras curvas eliminaremos (cortaremos) lo mejor que podamos el pelo que recubre el escroto. Limpiamos la zona nuevamente con antiséptico, para eliminar restos de pelo y dejar más limpia la zona. A continuación, utilizando un bisturí, se procederá a practicar una incisión longitudinal en el escroto (siguiendo la línea media o rafe), observando los testículos cada uno a un lado de la incisión (Figura 6).

Sujetando con cuidado uno de ellos, se cortan las túnicas de tejido conectivo que los envuelven, hasta que quede el testículo totalmente libre (Figura 7). Seguidamente se pasa hilo

de sutura de seda (grosor 3.0), con la finalidad de ligar los vasos sanguíneos y el conducto deferente (Figura 8). Por el polo opuesto a esta primera, se pasa otra ligadura doble con el fin de cerrar los vasos conectados con el testículo a este nivel. Como la ligadura será doble, cortaremos entre las dos, extirpando así el testículo. Repetimos la operación con el otro testículo.

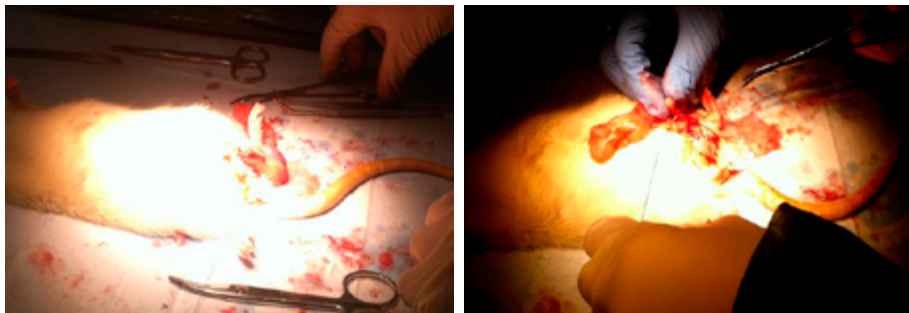


Figura 8. Fotografía de la ligadura realizada.

Finalmente se procederá a cerrar el escroto con sutura (seda grosor 3.0; Figura 9); los puntos se darán "por medios" y, una vez dados los puntos (no serán necesarios más de tres), se aplicará un antiséptico local (por ejemplo, betadine) para evitar infecciones.

Seguidamente aplicamos una pomada cicatrizante (Figura 10) por encima de la herida y de los puntos (Blastoestimulina). A continuación, y para finalizar, se administrará un antibiótico (Enrofloxacino, "Hiralona ENRO-I": 0.16 ml) vía subcutánea.



Figura 9. Sutura de la piel del escroto.

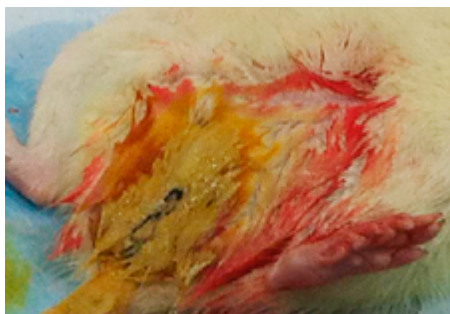


Figura 10. Detalle de la sutura del escroto finalizada.

Pondremos la rata en su jaula, donde previamente y encima de las virutas habremos puesto un poco de papel. La rata la ponemos encima del papel, para evitar que se ensucie la herida y que los ojos se llenen de virutas. La rata se recuperará pasadas unas horas, y se le permitirá libre acceso a comida y agua.

De acuerdo con el protocolo experimental, aquellos animales que reciben tratamiento sustitutivo de testosterona recibirán la dosis recomendada siguiendo las directrices del proveedor.

7. PROCEDIMIENTO DE SACRIFICIO

Transcurrida una semana desde la orquidectomía, los animales serán sacrificados mediante eutanasia en cámara de CO₂. Las instalaciones, material y equipo necesario están disponibles en el Servicio de Animalario de la UEx.

8. EXTIRPACIÓN DE LAS VESÍCULAS SEMINALES

Se realiza una laparotomía media (abertura de la cavidad abdominal en la línea medial) comenzando en la zona caudal del abdomen, y siguiendo a lo largo de la línea alba (Figura 11). En posición craneal a la vejiga de la orina localizaremos las dos vesículas seminales, cada una a un lado (Figura 12). Tras pasar hilo de sutura, hacemos una ligadura doble por la base, y seccionamos entre las dos ligaduras, extrayendo las vesículas (Figura 13).

Las depositamos en una placa de Petri y las pesamos en una balanza analítica.

Una vez extraídas y pesadas, se compararán los pesos de las vesículas, estableciendo la diferencia que hay entre los pesos de las vesículas de animales controles no castrados, los castrados con terapia de sustitución con testosterona, y los castrados sin terapia de administración de testosterona (Figura 14).



Figura 11. Laparotomía media. Abertura de la cavidad abdominal de la rata.

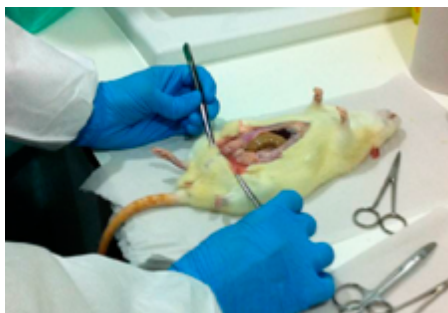


Figura 12. Localización de las vesículas seminales.



Figura 13. Ligadura de las vesículas seminales.



Figura 14. Detalle de las vesículas seminales.

9. ELIMINACIÓN DEL MATERIAL UTILIZADO Y CADÁVERES

Todo el material utilizado, así como aquel de tipo biológico, se recogerá convenientemente, y se eliminará siguiendo el protocolo establecido en la normativa correspondiente.

10. AGRADECIMIENTOS

La elaboración de este material se ha realizado con una ayuda económica obtenida bajo la Convocatoria para el año 2012 de Acciones para la Innovación Docente y la Mejora de la Calidad del Vicerrectorado de Calidad e Infraestructuras de la UEx. También queremos agradecer la disposición, apoyo y colaboración del personal del Servicio de Animalario de la UEx en Cáceres.

El material fotográfico mostrado en este guión se ha tomado durante el desarrollo normal de las sesiones de la práctica, en la que han participado alumnos de la Facultad de Veterinaria de la UEx, matriculados en la asignatura Endocrinología y Regulación Metabólica. Para su utilización contamos con el consentimiento del Profesor responsable de la asignatura (quien ha elaborado este guión), de los alumnos que participaron, así como del personal del Servicio de Animalario que nos acompañó durante el desarrollo de las prácticas.

11. BIBLIOGRAFÍA

- *Fisiología Veterinaria*. García Sacristán. Interamericana.
- *Fisiología Veterinaria*. Cunningham. Elsevier.
- *Fisiología de los animales domésticos*. Dukes. Aguilar.
- *Fisiología Veterinaria*. Kolb. Acribia.
- *Elementos de Fisiología*. Langley. Acribia.
- *Fisiología Dinámica*. A. Córdova. Masson.
- *Fisiología*. Selkurt. Ateneo.
- *Fundamentos de Fisiología*. E. Martín Cuenca. Thomson.
- *Endocrinología Veterinaria*. McDonald. Interamericana.
- http://www.seccff.org/archivos/Fisiol_Grados_Salud.pdf.