

FISIOLOGIA ANIMAL: Mecanismos e Adaptação do Controle Interno, Reprodução e Defesa (BIF 214)

AULA PRÁTICA: OBSERVAÇÃO DE GLÂNDULAS ENDÓCRINAS

Para a confecção das lâminas que serão analisadas na aula prática foram adotados os procedimentos abaixo descritos.

Os animais foram anestesiados com benzocaína e em seguida foi realizada uma incisão antero-posterior na região abdominal para a retirada das gônadas. Para a retirada da hipófise, a parte superior da cabeça do animal foi aberta, o encéfalo foi rebatido e na seqüência, a hipófise, que é uma estrutura ventral ao hipotálamo foi retirada. Os tecidos foram imersos em solução de Bouin acético (ácido pícrico, formol e ácido acético glacial) onde foram mantidos por cerca de 20-24 horas. Em seguida, as peças foram transferidas para álcool etílico (70%) onde permaneceram até o processamento histológico.

1 – Protocolo de análises de histológica de gônadas (ovários e testículos) e hipófise.

1.1 – Inclusão do material biológico.

Para a inclusão do material biológico, os tecidos fixados passaram por imersão em uma bateria de álcool e xilol para a desidratação desse material e em seguida, todos os tecidos foram infiltrados e incluídos em *paraplast (Erv-Plast – Erviegas Instrumental Cirúrgico Ltda)*, para posterior secção no micrótomo.

Este procedimento foi realizado para a hipófise, ovários e testículos.

1.2 – Secção do material biológico.

A secção do material biológico foi realizada em micrótomo (Leica – RM/2155), equipado com lâminas descartáveis. As secções foram obtidas com 5µm de espessura. Os cortes obtidos foram montados em lâminas com poli-lisina (*Poly-Lysine Solution Sigma Diagnostics INS, St. Louis M.O. USA*) diluída em 1:5 (em água destilada). Esta solução auxilia a fixação dos cortes nas lâminas. Em seguida, iniciou-se o procedimento de coloração do tecido.

1.3 – Técnicas rotineiras de colorações segundo Behmer *et al.*, (1976).

1.3.1 – Hematoxilina e Eosina/Metanil-Yellow

As lâminas montadas com os tecidos passam por imersão em xilol e hidratação em concentrações decrescentes de álcool até chegar em água corrente. O material foi corado com hematoxilina-eosina ou metanil-yellow, desidratado e diafanizado e montado em lâmina com goma Damar.

2 – Protocolo de análises de imuno-histoquímica de hipófise.

2.1 – Inclusão e Secção do material biológico.

Este procedimento foi o mesmo descrito acima.

2.2 – Técnicas de Imuno-histoquímica.

Para as reações de imuno-histoquímicas, as secções histológicas seriadas obtidas da hipófise foram processadas de acordo com o método SABC (*Streptavidin-Biotin-peroxidase Complex*), que compreende a aplicação de um anticorpo secundário marcado com biotina, seguido da adição do complexo avidina-biotina-peroxidase. A revelação é feita com 3,3 – diaminobenzidina (DAB). Em seguida, os cortes foram desidratados e as lâminas montadas também com goma Damar.

Referência para consulta:

Behmer, O. A.; Tolosa, E. M. C. & Neto, A. G. F. 1976. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. EDART. São Paulo. Livraria Editora Ltda. 239p.