<https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n11a686.1-11>

Avaliação clínica da técnica operatória de tireoidectomia total em ratos da linhagem Wistar

Yan Cesar-Moreira¹ , Daniela Gomes de Araújo² , Maria Eduarda Monteiro Silva³ , Marcel Vasconcellos^{4*}

¹Discente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO. Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil.

²Discente do Curso de Graduação em Medicina, Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO. Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil.

³Docente da Faculdade de Medicina Veterinária, Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO. Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil.

⁴Docente da Faculdade de Medicina, Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO. Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: marcelvasconcellos@unifeso.edu.br

Resumo. A técnica operatória de tireoidectomia total pode ser fatal em modelos murinos, e fatores como tempo operatório prolongado, hemorragias e lesões iatrogênicas no nervo laríngeo recorrente estão comumente associados à uma significativa mortalidade trans e pós-operatória. Com objetivo de reduzir perdas e consequentemente, o número de animais em experimentação, o presente estudo buscou estabelecer parâmetros clínicos para a indução cirúrgica do hipotireoidismo em roedores. Foram utilizados 10 ratos (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar, distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Controle (GC, n = 5), sem procedimento cirúrgico e Hipotireoidismo (GHT, n = 5), ratos submetidos à tireoidectomia total. No início do período experimental e aos 60 dias, foram colhidas amostras de sangue para determinação das concentrações séricas de T3 total, T4 Livre, TSH e cálcio total. O tempo médio operatório, sinais algícos pós-operatórios e temperatura retal foram avaliados. A técnica operatória se mostrou segura, sem a ocorrência de óbitos. Não foram observados sintomas algícos nos animais durante o período pós-operatório. Da mesma forma, não houve a ocorrência de hipoparatiroidismo iatrogênico, atestado pela normocalcemia dos animais operados aos 60 dias. O tempo médio operatório inicial foi reduzido de 75, 0 ± 1,57 para 33,3 ± 6,04 minutos. Todos os animais tireoidectomizados desenvolveram hipotireoidismo, caracterizado pelo aumento estatisticamente significativo das concentrações séricas de TSH e redução das concentrações de T3 total e T4 livre (P < 0,05). Concluiu-se que a tireoidectomia total em ratos Wistar é um método seguro, reprodutível e de baixo custo. Reitera-se, no entanto, a necessária capacitação cirúrgica com objetivo de reduzir perdas e consequentemente, o número de animais em experimentação.

Palavras chave: hipotireoidismo, ratos Wistar, tireoidectomia

Clinical evaluation of the operative technique of total thyroidectomy in Wistar rats

Abstract. The total thyroidectomy operative technique can be fatal in murine models, and factors such as prolonged operative time, hemorrhages and iatrogenic injuries to the recurrent laryngeal nerve are commonly associated with significant trans and postoperative mortality. In order to reduce losses and, consequently, the number of animals being tested, the present study sought to establish clinical parameters for the surgical induction of hypothyroidism in rodents. Ten Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were used, randomly distributed in two groups: Control (CG, n = 5), without surgical procedure and Hypothyroidism (HTG, n = 5), rats submitted to total thyroidectomy. At the beginning of

the experimental period and at 60 days, blood samples were taken to determine serum concentrations of total T3, free T4, TSH and total calcium. The mean operative time, postoperative pain signs and rectal temperature were evaluated. The operative technique proved to be safe, without the occurrence of deaths. No pain symptoms were observed in the animals during the postoperative period. Likewise, there was no occurrence of iatrogenic hypoparathyroidism, attested by the normocalcemia of animals operated on at 60 days. The average initial operative time was reduced from 75.0 ± 1.57 to 33.3 ± 6.04 minutes. All thyroidectomized animals developed hypothyroidism, characterized by a statistically significant increase in serum TSH concentrations and a reduction in the concentrations of total T3 and free T4 ($P < 0.05$). It was concluded that total thyroidectomy in Wistar rats is a safe, reproducible and low-cost method. It is reiterated, however, the necessary surgical training in order to reduce losses and, consequently, the number of animals being tested.

Keywords: hypothyroidism, Wistar rats, thyroidectomy

Evaluación clínica de la técnica operatoria de la tiroidectomía total en ratas Wistar

Resumen. La técnica operatoria de la tiroidectomía total puede ser fatal en los modelos murinos, y factores como el tiempo quirúrgico prolongado, las hemorragias y las lesiones iatrogénicas del nervio laríngeo recurrente se asocian comúnmente con una mortalidad trans y postoperatoria significativa. Con el fin de reducir las pérdidas y, en consecuencia, el número de animales en experimentación, el presente estudio buscó establecer parámetros clínicos para la inducción quirúrgica del hipotiroidismo en roedores. Se utilizaron diez ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), distribuidas aleatoriamente en dos grupos: Control (CG, $n = 5$), sin procedimiento quirúrgico e Hipotiroidismo (GHT, $n = 5$), ratas sometidas a tiroidectomía total. Al comienzo del período experimental y a los 60 días, se tomaron muestras de sangre para determinar las concentraciones séricas de T3 total, T4 libre, TSH y calcio total. Se evaluó el tiempo quirúrgico medio, los signos de dolor postoperatorio y la temperatura rectal. La técnica operativa demostró ser segura, sin la ocurrencia de muertes. No se observaron síntomas de dolor en los animales durante el postoperatorio. Asimismo, no se produjo hipoparatiroidismo iatrogénico, atestiguado por la normocalcemia de animales operados a los 60 días. El tiempo quirúrgico inicial promedio se redujo de $75,0 \pm 1,57$ para $33,3 \pm 6,04$ minutos. Todos los animales tiroidectomizados desarrollaron hipotiroidismo, caracterizado por un aumento estadísticamente significativo en las concentraciones séricas de TSH y una reducción en las concentraciones de T3 total y T4 libre ($P < 0,05$). Se concluyó que la tiroidectomía total en ratas Wistar es un método seguro, reproducible y de bajo costo. Sin embargo, se reitera el entrenamiento quirúrgico necesario para reducir las pérdidas y, en consecuencia, el número de animales en experimentación.

Palabras clave: hipotiroidismo, ratas Wistar, tiroidectomía

Introdução

Modelos experimentais, particularmente ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), são amplamente utilizados no estudo da fisiopatologia e terapêutica medicamentosa do hipotireoidismo, visando benefícios para a saúde humana e animal (Friedrich et al., 2007). Nas últimas décadas, diversos métodos de indução do hipotireoidismo foram desenvolvidos em modelos murinos. Entre esses, a tireoidectomia total apresenta resultados discrepantes, possivelmente pela subjetividade utilizada na avaliação do método.

A tireoidectomia total em roedores pode ser realizada por ablação radioativa que, embora não seja uma técnica invasiva, é limitada por uma rigorosa legislação e pela necessidade de estrutura e equipe especializada. A técnica operatória de tireoidectomia total pode ser letal em roedores, e fatores como

tempo operatório prolongado, hemorragias e lesões iatrogênicas no nervo laríngeo recorrente estão comumente associados à uma significativa mortalidade trans e pós-operatória.

Com objetivo de reduzir perdas e consequentemente, o número de animais em experimentação, o presente estudo busca estabelecer parâmetros clínicos para a indução cirúrgica do hipotireoidismo em roedores.

Material e métodos

Caracterização da amostra e desenho do estudo experimental

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Serra dos Órgãos (CEUA/UNIFESO) sob o n.º de referência 509/19 e encontra-se de acordo com a Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008 (Brasil, 2008), bem como em conformidade com os princípios adotados internacionalmente, sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório.

Todas as seções do estudo aderem às Diretrizes ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*), para publicação de pesquisas utilizando animais (Kilkenny et al., 2010).

Amostra

Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados dez ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, machos, com média de idade de 3 meses e peso de 300 ± 20 g. Os animais foram alojados no Laboratório de Ciência Animal do Centro Universitário Serra dos Órgãos - UNIFESO, em gaiolas de polipropileno (43 x 23 x 16 cm), com cama de maravalha autoclavada, e mantidos sob ciclo circadiano (12 horas claro e 12 horas escuro), temperatura ambiente controlada (22 ± 2 °C), umidade relativa do ar entre 45% - 60%, exaustão de ar de 10 - 15 trocas de ar/hora, além de ração comercial para roedores e água potável *ad libitum*.

Delineamento experimental

Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em dois grupos: Grupo Controle (GC, n = 5), sem procedimento cirúrgico e Grupo Hipotireoidismo (GHT, n = 5). Os animais do GHT foram submetidos ao acesso cirúrgico da região cervical ventral na linha média, com tireoidectomia total e síntese da ferida cirúrgica mediante sutura contínua do plano muscular com fio de Vicryl™ 2-0 (Ethicon, Inc.) e da fáscia e pele em plano único, em pontos simples interrompidos com fio mononáilon 3-0 (Technofio®).

Em ambos os grupos, a colheita de sangue total foi realizada no início do estudo (D0) e ao término do período experimental (D60) (Figura 1).

Figura 1. Linha do tempo

Tireoidectomia total

Técnica operatória

A indução anestésica foi realizada nos animais do GHT em uma câmara de indução por meio do método *open-drop*, onde uma gaze estéril embebida em 0,5 ml de isoflurano 10% (Isoforine®, Cristália, BR), foi posicionada no piso da câmara (Risling et al., 2012). O método foi escolhido por ser efetivo e seguro em roedores, reduzindo o estresse nos animais. Após a perda de reflexos de propriocepção, os animais foram pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal no quadrante abdominal inferior

direito da associação de 100 mg/kg de cloridrato de cetamina a 10% (Cetamin[®], Syntec, BR) e 10 mg/kg de cloridrato de xilazina a 2% (Sedalex[®], Rhobifarma, BR). Em seguida, realizou-se a tricotomia da região infraíóidea, e após cuidados de assepsia e antissepsia com uso de solução degermante de digluconato de clorexidina a 2% (Riohex[®]), procedeu-se a infiltração na pele e no tecido subcutâneo da área a ser incisada, com 5 mg/kg de cloridrato de lidocaína a 2% (Lidovet[®]). O procedimento de tireoidectomia total foi realizado conforme descrito originalmente por Waynforth & Flecknell (1992).

Analgesia preemptiva e pós-operatória

O termo “analgesia preemptiva” implica em uma forma de analgesia que, iniciada antes do estímulo doloroso ser gerado, previne ou diminui a dor subsequente, comumente observado na fase pós-operatória.

Como analgesia preemptiva, foi administrada 30 minutos antes do procedimento, a associação de 10 mg/kg de sulfato de morfina (Dimorf[®]) e 150 mg/kg de metamizol (Novalgina[®]) por via subcutânea, repetida 30 minutos após o procedimento. Após 24 horas, a referida associação foi administrada nos animais operados, uma vez ao dia, durante três dias.

Cuidados pós-operatórios

Após o procedimento, os animais foram aquecidos com uso de lâmpada incandescente de 40W em gaiola individual, até o retorno dos reflexos de propriocepção e recuperação anestésica, quando então retornaram ao seu grupo.

Avaliação da dor pós-operatória

Após 24 horas, antes de uma nova administração de analgésicos, utilizou-se a escala “*Rat Grimace Scale*”, proposta por Sotocina et al. (2011) cuja pontuação se baseia numa análise objetiva dos sinais algícos em roedores. Cada parâmetro foi avaliado numa escala de 0 – 2 pontos; onde (0) indicava ausência de dor; (1) presença de dor moderada; e (2) presença de dor intensa.

Parâmetros avaliados

1. Contração orbital. Os ratos com dor exibem um estreitamento da área orbital, manifestando-se como fechamento (parcial ou completo) dos olhos ou contraindo os olhos;
2. Achatamento do nariz / bochecha. Os ratos com dor exibem sucessivamente um menor abaulamento do nariz e bochecha, com eventual ausência do vinco entre as bochechas e as vibrissas;
3. Alterações auriculares. As orelhas dos ratos com dor tendem a dobrar, enrolar e inclinar para frente ou para fora, resultando em uma forma pontiaguda. O espaço entre as orelhas pode parecer maior.
4. Mudança das vibrissas. As vibrissas dos ratos com dor avançam (afastam-se do rosto) da posição inicial e tendem a se aglomerar, dando a aparência de vibrissas em “pé”.

Exames laboratoriais

Determinação das concentrações séricas de T3 total, T4 Livre, tirotrofina (TSH) e cálcio total

As amostras foram imersas em banho maria a 37° C, por 30 minutos, para que ocorresse a retração do coágulo e, em seguida, centrifugadas a 3.200 rpm, por 10 minutos. Os tubos contendo soro foram identificados e enviados, sob refrigeração (4 - 8° C), para análise laboratorial. Foram determinadas as concentrações séricas de T3 total (ng/dL), T4 livre (ng/dL) e tirotrofina (TSH, mUI/L) pelo método de eletroquimioluminescência. O cálcio total (mg/dL) foi determinado pelo método cinético automatizado.

Eutanásia

De acordo com as Diretrizes para a Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), todos os animais que participaram do experimento, foram eutanasiados em D60, por meio de uma sobre dose de cinco vezes a associação anestésica citada, administrada por via intraperitoneal. O óbito foi confirmado pela ausência de movimentos respiratórios, batimentos cardíacos, mucosas hipocoradas e ausência de resposta nos reflexos digitais.

Análises estatísticas

Após a coleta de dados laboratoriais, as análises estatísticas foram realizadas no software Prism® versão 8.4.1. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP), e para cada teste a unidade experimental foi a de um animal.

A probabilidade de distribuição normal das variáveis (concentrações séricas de TSH, T3 total, T4 livre e cálcio total) foi analisada pelo teste não-paramétrico de Kolmogorov-Smirnov, demonstrando normalidade de distribuição apenas para o cálcio total, que foi analisado pelo teste T de Student pareado, enquanto as demais variáveis foram analisadas pelo teste U de Mann-Whitney. As curvas de sobrevivência dos animais estudados foram comparadas pelo teste log-rank de Kaplan-Meier. Para todas as análises foi utilizado um nível de significância estatística de 5% ($P < 0,05$).

Resultados

Tempo médio operatório

Durante a curva de aprendizado, o tempo médio operatório foi reduzido de $75,0 \pm 1,57$ para $33,3 \pm 6,04$ minutos (redução de 44,4%). A variável pode ser reduzida mediante o treinamento da técnica operatória em cerca de 10 carcaças de animais provenientes do descarte sanitário do biotério, totalizando 8h de capacitação. Há que se considerar que na espécie, um tempo operatório prolongado associa-se a hipotermia, hipotensão severa e maior incidência de óbitos.

Controle da temperatura

Durante o procedimento operatório foi utilizada uma manta de aquecimento coberta por pano de campo cirúrgico estéril, e a temperatura corpórea dos animais foi monitorada com uso de termômetro analógico, com variação de $37,5 \pm 1,1^\circ \text{C}$.

Hemorragia transoperatória

Em 3/5 animais houve a ocorrência de hemorragia venosa, controlada com uso de compressão com gaze estéril por 30 segundos. Em todos os casos, a hemorragia ocorreu durante a dissecação dos lobos tireoidianos.

Lesões nervosas

Durante o período de capacitação, foram observadas lesões iatrogênicas nos nervos laríngeo recorrentes em 6/10 carcaças. No procedimento operatório, a integridade dos nervos laríngeos recorrentes pode ser constatada após a exérese da glândula tireoide, bem como a preservação das glândulas paratireoides.

Concentração sérica hormonal

As concentrações séricas de TSH, T3 total, T4 livre e cálcio total foram determinadas em todos os animais no início do experimento (D0) e em D60 (Tabela 1) e representadas em gráficos *boxplot* (Figura 2).

Tabela 1 Concentrações de cálcio total, TSH, T3 total e T4 livre entre os grupos experimentais

Parâmetros	D0		D60	
	GC	GHT	GC	GHT
Cálcio total (mg/dL)	$5,43 \pm 3,23$	$6,42 \pm 2,53$	$7,39 \pm 0,66$	$7,41 \pm 0,73$
TSH (mUI/L)	$1,78 \pm 1,01$	$1,76 \pm 1,26$	$1,76 \pm 0,12$	$5,76 \pm 0,60^*$
T3 total (ng/dL)	$62,36 \pm 1,81$	$64,19 \pm 3,54$	$59,62 \pm 2,28$	$38,53 \pm 7,68^*$
T4 livre (ng/dL)	$2,82 \pm 0,57$	$2,19 \pm 0,76$	$2,61 \pm 0,58$	$0,04 \pm 0,03^*$

D0: início do experimento; D60: 60º dia pós-operatório. Dados apresentados como média $\pm$ DP. DP: Desvio padrão da média.

* $P < 0,05$ comparado ao GC.

Figura 2 Gráficos *boxplot* das concentrações séricas de cálcio total, TSH, T3 total e T4 livre nos grupos experimentais ao D60. A) Não houve diferença estatisticamente significativa entre a concentração de cálcio nos grupos ($p > 0,05$). B) Houve um aumento significativo do TSH do GHT em relação ao GC ($p < 0,05$). C) Houve redução da concentração de T3 total no GHT, se comparado ao GC. D) Houve redução significativa entre a média dos valores obtidos de T4 livre do GHT, quando comparado ao GC.

Avaliação comportamental

Os animais foram observados ao longo de todo o período experimental. Constatou-se que os animais submetidos à tireoidectomia total (GHT), apresentaram reduções nas atividades físicas, evidenciadas pela menor utilização dos tubos de enriquecimento ambiental dispostos nas gaiolas, quando comparados aos animais do GC.

Avaliação dos sintomas algícos

A avaliação de sintomas algícos nos animais operados foi realizada após a total recuperação anestésica e repetida 24 horas da administração da associação analgésica. Concluiu-se, com base no registro da pontuação da escala de dor, que nenhum dos animais operados (GHT) apresentou dor de intensidade moderada ou grave durante o pós-período operatório (*Tabela 2*).

Tabela 2. Escala algíca nos animais do GHT após a recuperação anestésica

Animal (GHT)	Cerramento ocular	Achatamento da protuberância nasal/bochechas	Posicionamento das orelhas	Posicionamento das vibrissas
1	0	0	0	0
2	1	0	1	0
3	0	0	0	0
4	0	0	1	1
5	0	0	0	0
Média	0,25	0	0,5	0,25

Discussão

Em 1959, Russell & Burch propugnaram o Princípio dos 3 Rs, que incluíam a redução, substituição e refinamento (do inglês *Reduction, Replacement and Refinement*) no uso de animais. Estes princípios foram amplamente utilizados e incorporados à diversas legislações que regulamentam a utilização de animais de laboratório para fins de pesquisa ou ensino (*Tréz, 2018*).

O refinamento de protocolos experimentais objetivando minimizar a dor e/ou estresse nos animais é um destes princípios, assim como a redução, que engloba, entre outros conceitos, o estabelecimento de valores de referência para a espécie (Kilkenny et al., 2010). De acordo com tais princípios, o presente estudo propugnou o refinamento da técnica operatória de tireoidectomia total em roedores, objetivando reduzir o uso de animais em experimentação. Ademais, o estudo contribuiu com valores de referência para TSH, T3 total, T4 Livre e cálcio total em ratos da linhagem Wistar.

A espécie foi escolhida por sua ampla utilização em testes pré-clínicos para a o desenvolvimento e validação de novos fármacos e para o estudo da fisiopatologia, ainda não inteiramente elucidada, do hipotireoidismo, assim como por aspectos de disponibilidade, baixo custo e homogeneidade genética e sanitária (Bianco et al., 2014; Tsujio et al., 2008).

O tamanho amostral foi calculado com base em dados obtidos em estudo piloto, e estimado em 5 animais por grupo, totalizando 10 animais ($\delta = \mu_1 - \mu_2$), para a obtenção de um $\alpha = 0,15$ e um poder amostral de 0,93.

O refinamento da técnica operatória incluiu a capacitação dos pesquisadores para a realização do procedimento cirúrgico. Como citado, o treinamento em carcaças de animais provenientes do descarte sanitário reduziu o tempo médio operatório inicial de $75,0 \pm 1,57$ para $33,3 \pm 6,04$ minutos no estudo definitivo (redução de 44,4%).

Algumas das consequências de tempos cirúrgicos prolongados em animais de laboratório incluem hipotensão arterial, hipotermia severa, perda de fluidos e eletrólitos, além de complicações na recuperação anestésica, que podem elevar os índices de mortalidade (Pritchett-Corning et al., 2011).

No que tange às principais complicações associadas com a tireoidectomia total, estas incluem hemorragia de origem venosa ou arterial, infecção, formação de seromas e/ou hematomas, hipocalcemia por lesão iatrogênica nas glândulas paratireoides e lesões bilaterais nos nervos laríngeos recorrentes, como descritas em cães (*Canis lupus familiaris*) (Reagan et al., 2019), ratos (*Rattus norvegicus*) (Waynforth & Flecknell, 1992) e em *anima nobile* (Efremidou et al., 2009).

No presente estudo foram observadas diferenças topográficas no trajeto dos nervos laríngeos recorrentes, como descrito em cães (Reagan et al., 2019) e humanos (Zakaria et al., 2011). Tais diferenças geram maior dificuldade técnica e aumentam consideravelmente o tempo e risco cirúrgico. Lesões nestes nervos podem ocasionar paralisia laríngea e insuficiência respiratória grave em cães, humanos e modelos experimentais (Martin et al., 2005; Reagan et al., 2019; Zakaria et al., 2011).

Quanto ao instrumental cirúrgico, Martin et al. (2005) indicaram uma correlação entre a utilização de afastadores durante a tireoidectomia total e lesões nos nervos laríngeos recorrentes de chinchilas (*Chinchilla laniger*). Com base na observação, a musculatura infrahióidea foi afastada com uso de um blefarostato Barraquer, que se mostrou menos traumático que os afastadores comumente utilizados (i.e., Farabeouf ou Weitlaner), conferindo maior segurança e aplicabilidade.

A descrição original da técnica de tireoidectomia total em roedores citou a utilização de tesoura íris durante a dissecação da glândula tireoide (Waynforth & Flecknell, 1992). Observou-se, durante o estudo piloto, que seu uso apresentava como principal desvantagem o risco potencial de lesão iatrogênica nas glândulas paratireoides, observação esta corroborada por outros autores (Martin et al., 2005; Zakaria et al., 2011). O refinamento proposto no presente estudo inclui a utilização de uma lâmina de bisturi n.º 11 para a dissecação da tireoide, como descrito em cães (Fukui et al., 2015). Esta se mostrou útil em preservar as glândulas paratireoides, como comprovado pela normocalcemia em 5/5 dos animais operados, sem diferença estatisticamente significativa quando comparados ao GC.

Alguns autores relataram a necessidade da utilização de microscópio cirúrgico para a realização da tireoidectomia total em modelos animais (Ono et al., 2016). No entanto, foi possível realizar o procedimento de modo seguro sem necessidade de magnificação do campo operatório.

Não foram encontrados, na literatura pesquisada, estudos envolvendo a avaliação e descrição de sintomas álgicos em roedores ou outras espécies submetidas à tireoidectomia total. O uso da escala *Rat Grimace Scale* (Sotocina et al., 2011), em nosso estudo, se mostrou viável em aferir a eficácia do protocolo analgésico utilizado. Não houve evidência de dor moderada ou grave nos animais operados.

A alopecia, comumente presente em cães e humanos com hipotireoidismo ([Chaker et al., 2017](#); [Mooney, 2011](#)) não foi observada nos animais do GHT ao longo do período experimental. Porém, foi constatado um atraso no tempo de crescimento dos pelos da região infrahióidea, tricotomizada nos animais operados, corroborando observações prévias ([Tsujo et al., 2008](#)).

Os animais do GHT se mostraram letárgicos quando comparados aos animais do GC. A conclusão foi embasada pela observação de menor atividade nos túneis de enriquecimento ambiental, corroborando com outros autores ([Schull et al., 1988](#); [Tsujo et al., 2008](#); [Van Wijk et al., 2008](#)).

O índice de mortalidade onde a técnica de tireoidectomia total foi utilizada variou entre 20-25% dos casos ([Karaman et al., 2012](#); [Martin et al., 2005](#)), embora, na maioria dos estudos consultados, o índice não foi relatado ([Zimmermann et al., 2009](#)). No presente estudo não ocorreram óbitos durante todo o período experimental. O resultado pode ser atribuído à utilização dos protocolos anestésicos e analgésicos recomendados, assim como ao emprego de técnica asséptica rigorosa. No entanto, há que se considerar o número reduzido de animais tireoidectomizados, quando comparado a estudos com maior tamanho amostral.

A técnica operatória de tireoidectomia descrita no presente trabalho se mostrou eficaz em induzir o *status* de hipotireoidismo em 5/5 dos animais operados, como demonstrado pelo aumento estatisticamente significativo das concentrações séricas de TSH e reduções das concentrações séricas de T4 livre e T3 total ($P < 0,05$). No entanto, ressalta-se que as concentrações de TSH se mostram elevadas em roedores com hipotireoidismo independentemente do método de indução e análise clínica empregada. Como inexistem dados suficientes que suportem comparações entre estudos utilizando apenas o TSH como marcador primário do status tireoidiano em ratos ([Bianco et al., 2014](#)), as concentrações séricas de T3 total e T4 livre foram determinadas para confirmação do estado de hipotireoidismo.

A concentração sérica de TSH no GC foi similar a observada em outros estudos ([Marassi et al., 2007](#)). No GHT, estas concentrações apresentaram elevações estatisticamente significantes após a tireoidectomia total, compatíveis com outras publicações ([Karaman et al., 2012](#); [Zimmermann et al., 2009](#)).

No presente estudo, os animais do GC apresentaram níveis séricos de T3 total inferiores aos descritos por [Silvestri et al. \(2008\)](#); porém, condizentes com outros pesquisadores ([Glatte et al., 2001](#); [İşman et al., 2003](#); [Marassi et al., 2007](#)) (Tabela 2). Em relação aos níveis séricos de T4 livre dos animais do GC, estes se mostraram elevados se comparados a outros estudos ([Silvestri et al., 2008](#); [Tsujo et al., 2008](#)) e reduzidos em relação ao estudo de [İşman et al. \(2003\)](#). No entanto, os valores se assemelharam aos encontrados por outros pesquisadores ([Zimmermann et al., 2009](#)) (Tabela 3).

Tabela 3. Concentração de T3 total e T4 livre de ratos Wistar hígidos em diferentes estudos

Referências	T3 total (ng/dL)	T4 livre (ng/dL)
Estudo atual	59,62 ± 2,28	2,61 ± 0,58
Glatte et al. (2001)	59,88 ± 14,32	-
İşman et al. (2003)	54,75 ± 0,75	6,48 ± 0,46
Marassi et al. (2007)	50,82 ± 5,58	-
Silvestri et al. (2008)	96,40 ± 11,80	1,30 ± 0,11
Tsujo et al. (2008)	-	1,82 ± 0,23
Zimmermann et al. (2009)	-	2,50

Assim como observado nos níveis de TSH, as diferenças podem ser atribuídas a diferentes métodos de análise das amostras, além da diferença entre idades e linhagens, que alteram as concentrações séricas deste hormônio em roedores ([Doong et al., 1997](#)). Os níveis séricos de T3 total e T4 livre são reduzidos em ratos com hipotireoidismo, independentemente do método de indução, embora o método cirúrgico sugira maiores e mais consistentes reduções nas concentrações de T4 livre, quando comparado ao método de indução farmacológica.

Em relação ao cálcio total, os valores de referência descritos para ratos Wistar machos, aos 3 meses de idade, foram de 10,4 ± 0,5 mg/dL ([Giknis & Clifford, 2008](#)). O valor é mais elevado que os

identificados em nosso estudo (Tabela 2). Tais diferenças podem ser atribuídas às alterações nas concentrações séricas de cálcio observadas durante o ciclo circadiano, além de variações na composição bromatológica das rações comerciais (Hirsch & Hagaman, 1982).

Na literatura pesquisada não foi encontrada nenhuma evidência acerca da superioridade de um método de indução do hipotireoidismo em relação a outro. Entretanto, foi sugerido que métodos de indução minimamente invasivos, como dietas com restrição de iodo, envolvam menores riscos quando comparados a procedimentos invasivos, como a tireoidectomia total ou a administração de compostos químicos ou radioativos (Hasebe et al., 2008; Isman et al., 2003; Torlak et al., 2007).

O método de indução do hipotireoidismo em ratos por meio da tireoidectomia total se mostrou simples, factível e de baixo custo. A uniformidade da amostra e ausência de perdas de animais nos grupos estudados pode ser garantida pela utilização de ratos da linhagem Wistar, genética e sanitariamente homogêneos, sob variáveis ambientais controladas.

Pesquisas futuras objetivando a padronização de protocolos para a determinação das concentrações séricas de TSH e dos hormônios tireoidianos em *Rattus norvegicus* poderão permitir uma análise comparativa entre os métodos de indução experimental do hipotireoidismo e uniformidade na publicação de resultados.

Conclusão

A tireoidectomia total em ratos Wistar é um método seguro, reprodutível e de baixo custo. Enfatiza-se a necessária capacitação cirúrgica com objetivo de reduzir perdas e consequentemente, o número de animais em experimentação.

Referências bibliográficas

- Bianco, A. C., Anderson, G., Forrest, D., Galton, V. A., Gereben, B., Kim, B. W., Kopp, P. A., Liao, X. H., Obregon, M. J., & Peeters, R. P. (2014). American Thyroid Association guide to investigating thyroid hormone economy and action in rodent and cell models. *Thyroid*, 24(1), 88–168. <https://doi.org/10.1089/thy.2013.0109>
- Brasil. Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União Brasília; 2008 p. 1.
- Chaker, L., Bianco, A. C., Jonklaas, J., & Peeters, R. P. (2017). Hypothyroidism. *Lancet*, 390(10101), 1550–1562. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)30703-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)30703-1)
- Doong, M.-L., Wang, J. W.-C., Chung, S.-C., Liu, J.-Y., Hwang, C., Hwang, C.-Y., Day, C. H., Liu, Y.-F., Young, T.-K., & Ho, L. L.-T. (1997). Regulation of thyroid hormones in the secretion of insulin and gastric inhibitory polypeptide in male rats. *Metabolism*, 46(2), 154–158. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(97\)90294-8](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(97)90294-8)
- Efremidou, E. I., Papageorgiou, M. S., Liratzopoulos, N., & Manolas, K. J. (2009). The efficacy and safety of total thyroidectomy in the management of benign thyroid disease: a review of 932 cases. *Canadian Journal of Surgery*, 52(1), 39.
- Friedrich, K., Delgado, I. F., Santos, L. M. F., & Paumgarten, F. J. R. (2007). Assessment of sensitization potential of monoterpenes using the rat popliteal lymph node assay. *Food and Chemical Toxicology*, 45(8), 1516–1522. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.02.011>
- Fukui, S., Endo, Y., Hirayama, K., Taniyama, H., & Kadosawa, T. (2015). Identification and preservation of the parathyroid gland during total thyroidectomy in dogs with bilateral thyroid carcinoma: a report of six cases. *Journal of Veterinary Medical Science*, 77(6), 13–488. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0488>
- Giknis, M. L. A., & Clifford, C. (2008). Clinical laboratory parameters for Crl: WI (Han). *Charles River Laboratories*, 14.
- Glatte, E., Eybl, V., Kotyzova, D., Mihajlevic, M., Pikner, R., & Topolcan, O. (2001). Blood serum level of TSH and thyroid hormones and thyroid tissue content of iodine in rats under restricted

- selenium and iodine supply. *Norsk Epidemiologi*, 11(2), 201–204. DOI: <https://doi.org/10.5324/nje.v11i2.558>
- Hasebe, M., Matsumoto, I., Imagawa, T., & Uehara, M. (2008). Effects of an anti-thyroid drug, methimazole, administration to rat dams on the cerebellar cortex development in their pups. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 26(5), 409–414. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2008.03.007>
- Hirsch, P. F., & Hagaman, J. R. (1982). Feeding regimen, dietary calcium, and the diurnal rhythms of serum calcium and calcitonin in the rat. *Endocrinology*, 110(3), 961–968. DOI: <https://doi.org/10.1210/endo-110-3-961>
- Işman, C. A., Yeğen, B. C., & Alican, I. (2003). Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis. *The Journal of Endocrinology*, 177(3), 471–476. DOI: <https://doi.org/10.1677/joe.0.1770471>
- Karaman, M., Tuncel, A., Sheidaei, S., Karabulut, M. H., & Tatlıpınar, A. (2012). Functional capacity of the thyroid autograft and heterograft: an experimental study. *Head & Neck*, 34(5), 702–708. DOI: <https://doi.org/10.1002/hed.21811>
- Kilkenny, C., Browne, W. J., Cuthill, I. C., Emerson, M., & Altman, D. G. (2010). Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*, 8(6), e1000412. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>
- Marassi, M. P., Fortunato, R. S., Silva, A. C. M., Pereira, V. S., Carvalho, D. P., Rosenthal, D., & Costa, V. M. C. (2007). Sexual dimorphism in thyroid function and type 1 iodothyronine deiodinase activity in pre-pubertal and adult rats. *Journal of Endocrinology*, 192(1), 121–130. DOI: <https://doi.org/10.1677/joe.1.06901>
- Martin, L. B., Chidambaram, R. M., Schroeder, K. E., & Mcfadden, S. L. (2005). Thyroparathyroidectomy procedures and thyroxine levels in the chinchilla. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 44(6), 31–36.
- Mooney, C. T. (2011). Canine hypothyroidism: a review of aetiology and diagnosis. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(3), 105–114. DOI: <https://doi.org/10.1080/00480169.2011.563729>
- Ono, Y., Fujita, M., Ono, S., Ogata, S., Tachibana, S., & Tanaka, Y. (2016). A rabbit model of fatal hypothyroidism mimicking “myxedema coma” established by microscopic total thyroidectomy. *Endocrine Journal*, 63(6), 523–532. DOI: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ16-0005>
- Pritchett-Corning, K. R., Mulder, G. B., Luo, Y., & White, W. J. (2011). Principles of rodent surgery for the new surgeon. *Journal of Visualized Experiments*, 47, e2586. DOI: <https://doi.org/10.3791/2586>
- Reagan, J. K., Selmic, L. E., Fallon, C., Sutton, B., Lafferty, M., Ben-Aderet, D., Culp, W. T. N., Liptak, J. M., Duffy, D., & Simons, M. (2019). Complications and outcomes associated with unilateral thyroidectomy in dogs with naturally occurring thyroid tumors: 156 cases (2003–2015). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 255(8), 926–932. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.255.8.926>
- Risling, T. E., Caulkett, N. A., & Florence, D. (2012). Open-drop anesthesia for small laboratory animals. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(3), 299–302.
- Schull, J., McEachron, D. L., Adler, N. T., Fiedler, L., Horvitz, J., Noyes, A., Olson, M., & Shack, J. (1988). Effects of thyroidectomy, parathyroidectomy and lithium on circadian wheelrunning in rats. *Physiology & Behavior*, 42(1), 33–39. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(88\)90256-9](https://doi.org/10.1016/0031-9384(88)90256-9)
- Silvestri, E., Lombardi, A., Lange, P., Schiavo, L., Lanni, A., Goglia, F., Visser, T. J., & Moreno, M. (2008). Age-related changes in renal and hepatic cellular mechanisms associated with variations in rat serum thyroid hormone levels. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(6), E1160–E1168. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00044.2008>
- Sotocina, S. G., Sorge, R. E., Zaloum, A., Tuttle, A. H., Martin, L. J., Wieskopf, J. S., Mapplebeck, J. C. S., Wei, P., Zhan, S., & Zhang, S. (2011). The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*, 7, 1744–8069. DOI: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-55>

- Torlak, V., Zemunik, T., Modun, D., Capkun, V., Pesutic-Pisac, V., Markotic, A., Pavela-Vrancic, M., & Stanicic, A. (2007). 131I-induced changes in rat thyroid gland function. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(8), 1087–1094. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006005000127>
- Tréz, T. A. (2018). Considerações sobre o conceito dos 3Rs e o potencial conflito com novas compreensões do animal experimental. *Revista Brasileira de Zoociências*, 19(2). DOI: <https://doi.org/10.34019/2596-3325.2018.v19.24741>
- Tsujio, M., Yoshioka, K., Satoh, M., Watahiki, Y., & Mutoh, K. (2008). Skin morphology of thyroidectomized rats. *Veterinary Pathology*, 45(4), 505–511. DOI: <https://doi.org/10.1354/vp.45-4-505>
- Van Wijk, N., Rijntjes, E., & Van De Heijning, B. J. M. (2008). Perinatal and chronic hypothyroidism impair behavioural development in male and female rats. *Experimental Physiology*, 93(11), 1199–1209. DOI: <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2008.042416>
- Waynforth, H. B., & Flecknell, P. A. (1992). Thyroidectomy (thyroparathyroidectomy). In W. J. Jones (Ed.), *Experimental and Surgical Technique in the Rat* (pp. 310–312). Academic Press, Inc.
- Zakaria, H. M., Al Awad, N. A., Al Kreedes, A. S., Al-Mulhim, A. M. A., Al-Sharway, M. A., Hadi, M. A., & Al Sayyah, A. A. (2011). Recurrent laryngeal nerve injury in thyroid surgery. *Oman Medical Journal*, 26(1), 34–38. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1445-2197.2012.06247.x>
- Zimmermann, E., Ribas-Filho, J. M., Malafaia, O., Ribas, C. A. P. M., Nassif, P. A. N., Stieven Filho, E., & Przysiezny, P. E. (2009). Tracheal suture in rats with hypothyroidism: wound healing study. *Acta Cirurgica Brasileira*, 24(4), 282–289. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502009000400007>

Recebido: 3 de julho, 2020.

Aprovado: 8 de setembro, 2020.

Disponível online: 23 de outubro, 2020.

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.