

Comparação da imunomarcção dos receptores endometriais de estrógeno e progesterona em éguas acíclicas tratadas com progesterona utilizando métodos subjetivo e objetivo de avaliação

Luciana França Smith Maciel^[a], Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva^[b], Josiane Adelaide Camargo Lourenção^[a], Cezinande Meira^[a]

^[a] Universidade Estadual Paulista(UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^[b] Centro Universitário do Triângulo (UNITRI), Uberlândia, MG, Brasil

*Autor correspondente

e-mail: lucianafsmith@hotmail.com

Resumo

A administração de progesterona (P4) após o estradiol é comumente realizada para preparar éguas receptoras acíclicas como receptoras de embrião. No entanto, existem relatos de gestação em receptoras acíclicas utilizando somente a P4. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de P4 de longa ação (P4LA) sobre a imunomarcção dos receptores de estrógeno alfa (ER α), beta (ER β) e progesterona (PR) no endométrio de éguas acíclicas, por meio da imunohistoquímica (IHQ), comparando os resultados por uma avaliação subjetiva, por meio do método de escores, com avaliação objetiva, pelo programa de análises de imagens Image J. Foram utilizadas oito éguas em anestro sazonal, nas quais foram realizadas biópsias uterinas imediatamente antes e cinco dias após a administração de 1,5g de P4LA. As amostras foram acondicionadas em formol tamponado 10% por 24h e depois transferidas para álcool 70 até o processamento da amostra. Para a realização da IHC foram utilizados anticorpos primários para detecção dos PR (diluição - 1:100, mouse monoclonal PR-2C5, Invitrogen), ER α (diluição - 1:100, mouse monoclonal SC-311, Santa Cruz Biotechnology) e ER β (diluição 1:100, mouse monoclonal PPG5-10, Abcam), pelo método da peroxidase e DAB. A avaliação subjetiva da intensidade de imunomarcção dos receptores no endométrio foi realizada por três pesquisadores, independentes, sem a identificação dos momentos. Os escores de imunomarcção foram classificados em: 0 (imunomarcção ausente), 1 (fraca), 2 (moderada) e 3 (forte). A avaliação objetiva foi realizada utilizando o software de análise e processamento de imagem Image J (Wayne Rasband, National Institute of Mental Health, USA), o qual realiza a contagem dos pixels da área imunomarcada selecionada. O teste de postos sinalizados de Wilcoxon foi utilizado para comparar os escores de imunomarcção e porcentagem de células imunomarcadas no Image J para os ER α , ER β e PR. Os ER α apresentaram aumento na imunomarcção (P < 0,05) após a administração de P4LA pela avaliação subjetiva e objetiva. Quanto



aos ER β , foi observada diminuição da imunomarcção ($P < 0,05$) após o tratamento pela análise subjetiva e tendência à diminuição ($P = 0,07$) pela análise objetiva. Já os PR não apresentaram alteração utilizando ambas as análises ($P > 0,05$). Considerando que a imunohistoquímica é uma análise semiquantitativa e que a avaliação subjetiva por meio de escores de imunomarcção é algumas vezes inaceitável para publicação, um método que permita os cientistas a comparar estatisticamente a intensidade de imunomarcção é muito desejável. A partir do exposto, foi possível observar que os resultados de imunomarcção dos receptores após o tratamento, utilizando ambos os métodos, foram similares. Como conclusão, a utilização do programa de análise de imagens Image J para a avaliação objetiva da intensidade de imunomarcção pode ser uma alternativa à análise subjetiva por meio de escores.

Palavras-chave: Equinos. Imunohistoquímica. Progesterona.