

# *Avaliação da dinâmica da expressão de receptores para Hormônio Luteinizante no endométrio da égua*

PAULA PREUSSLER DOS SANTOS<sup>1</sup>  
LUISIANE DE OLIVEIRA SANTARÉM<sup>2</sup>  
ANAMARIA TELLES ESMERALDINO<sup>3</sup>  
EDUARDO MALSCHITZKY<sup>4</sup>

## RESUMO

*A influência dos hormônios reprodutivos no ciclo estral e nas estruturas gonadais das fêmeas já é bem conhecido, porém a descoberta de Receptores para Hormônio Luteinizante (RLH) no trato extra-gonadal abriu novos questionamentos sobre a função deste hormônio no trato reprodutivo nas diferentes espécies. Assim, este trabalho objetivou observar, através de marcadores imunohistoquímicos contra os RLH, a atividade dos receptores para o Hormônio Luteinizante no endométrio de seis éguas que encontravam-se no período da luteólise e seis horas após a administração de Hormônio Liberador de Gonadotrofinas.*

**Palavras-chave:** receptor LH, endométrio, égua, imunohistoquímica.

## ABSTRACT

*The influence of reproductive hormones in the estrous cycle and gonadal structures in the females is already well known, but the discovery of receptors for luteinizing hormone (RLH) in extra-gonadal tract opened new questions about the role of this hormone in the reproductive tract in different species. This study aimed to observe, through*

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA – Bolsista PROICT/ULBRA

<sup>2</sup> Aluna do Curso de Pós Graduação em Patologia Veterinária/ULBRA

<sup>3</sup> Professora – Orientadora do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA (atelles@portoweb.com.br)

<sup>4</sup> Professor do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA

*immunohistochemical markers against RLH, the activity of luteinizing hormone receptors in the endometrium of six mares that were in the period of luteolysis and six hours after administration of Gonadotropin Releasing Hormone.*

**key words:** LH receptor, endometrium, mare, imunohistochemistry.

## INTRODUÇÃO

Além de controlar a atividade dos ovários e suas estruturas (folículos e corpo lúteo), as gonadotrofinas podem desempenhar outras funções em tecidos diferentes daqueles tradicionalmente conhecidos (SHEMESH, 2001). Sítios de ligação para receptores de hormônio luteinizante (RLH) têm sido demonstrados no útero de bovinos, suínos e humanos. Em todas as espécies estudadas, a expressão de RLH está associada à fase do ciclo estral (SHEMESH, 2001). Em estudo feito por Ziecik et al. (2007), fêmeas suínas ovariectomizadas foram tratadas com estradiol e progesterona e testadas para avaliar a presença de RLH no útero. Os resultados obtidos sugeriram que o estradiol estimula e a progesterona, atuando no tecido sensibilizado pelo estrógeno, aumenta a quantidade de receptores para LH, tanto no endométrio quanto no miométrio.

A ativação de receptores de LH no endométrio é também associada a um aumento na secreção de prostaglandina F, o hormônio responsável pela luteólise, através da ativação da enzima Cicloxi-genase (COX) (SHEMESH, 2001). O mecanismo de luteólise na égua não está completamente compreendido. Para a secreção de  $PgF2\alpha$  pelo endométrio, é necessária uma sensibilização prévia pela progesterona, além de níveis mínimos de estrógeno circulante (GINTHER, 1992).

Em estudo realizado no trato reprodutor de éguas, foram observados Receptores para Hor-

mônio Luteinizante no oviduto, útero e cérvix (ESMERALDINO et al., 2010). Malschitzky et al. (2007) avaliando o perfil protéico da secreção uterina de éguas em estro e diestro, sugerem que as gonadotrofinas podem ter influência sobre o útero da égua, de maneira semelhante ao que vem sendo sugerido em outras espécies. O estudo da resposta destes receptores aos hormônios reprodutivos pode auxiliar a compreender melhor o papel por elas desempenhado.

O objetivo deste trabalho é determinar a dinâmica da expressão do RLH no endométrio da égua no período da luteólise e em resposta à administração de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas biópsias endometriais de 06 éguas na fase de diestro, em dois momentos: antes da administração de GnRH (40mcg, IV, dose única) e 6 horas após esta aplicação. As amostras foram colhidas através de biópsia endometrial descrita por Kenney (1975).

Logo após a coleta, as amostras de endométrio foram mantidas em formalina tamponada a 4%. Depois de fixados, os tecidos foram processados para a confecção de lâminas.

Primeiramente foi realizada a coloração H&E para classificação das biópsias endometriais e a

escolha da área a ser corada para a técnica de imunohistoquímica.

Após a realização destes procedimentos os cortes foram submetidos à técnica de imunohistoquímica (P.A.P) para que a presença dos receptores fosse analisada. Utilizou-se, como anticorpo primário, o anticorpo de camundongo contra RLH humano.

Foram avaliadas duas regiões de cada amostra de endométrio, sendo estas o epitélio luminal (Figura 1) e epitélio glandular (do ducto e da porção basal das glândulas, Figura 2)). A expressão dos receptores foi classificada levando em consideração o número de células coradas e a intensidade de coloração, onde 0 = Negativo; 1 = Fraco; 2 = Moderado; e 3 = Forte.

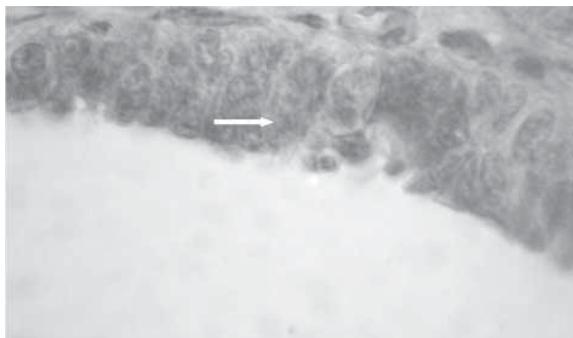
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostras analisadas não houve diferença significativa no grau de expressão dos RLH no endométrio, antes e após a administração de GnRH. Os escores de receptores para LH observados no epitélio luminal e glandular estão descritos na Tabela 1.

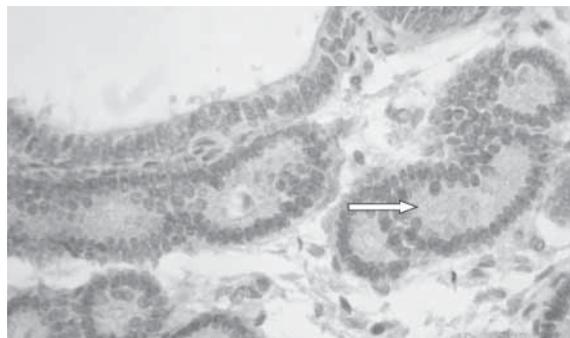
É possível que a sensibilidade da técnica de P.A.P não seja suficiente para observarmos pequenas alterações na expressão destes receptores. Em outros estudos a técnica de imunohistoquímica foi associada a outras técnicas de detecção, como Western Blot e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (DERECKA et.al., 1995).

**Tabela 1.** Escores de RLH observados nos epitélios luminal e glandular

Amostra	Antes da Administração do GnRH		Após a Administração do GnRH	
	Epitélio Luminal	Epitélio Glandular	Epitélio Luminal	Epitélio Glandular
Égua 1	0	0	1	0
Égua 2	1	0	1	0
Égua 3	2	0	2	0
Égua 4	2	0	3	0
Égua 5	1	0	2	1
Égua 6	1	1	2	0



**Figura 1.** Seta indica presença de RLH no citoplasma das células do epitélio luminal do endométrio da égua



**Figura 2.** Seta indicando presença de RLH no citoplasma do epitélio glandular do endométrio da égua

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos são insuficientes para que se chegue à conclusão sobre a influência do GnRH na expressão de RLH. Mais estudos devem ser realizados, utilizando-se outras técnicas para chegarmos a conclusão se não há alteração na expressão de receptores para LH com a administração do GnRH, ou se a técnica utilizada não tem sensibilidade suficiente para detectar estas alterações.

## REFERÊNCIAS

- DERECKA, K. et al. Cycle dependent LH/HCG receptor gene expression in porcine non gonadal reproductive tissues. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 46, p. 77-85, 1995.
- ESMERALDINO, A.T. et al. Immunohistochemical identification of luteinizing hormone receptors in the extra-gonadal reproductive tract of the mare. **Animal Reproduction Science**, v. 121, p. 38-39, 2010.
- GINTHER, O. J. **Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects**. 2. ed. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, 1992.
- KENNEY, R.M. Prognostic value of endometrial biopsy of the mare. **J. Reprod. Fertil.**, v. 23 (supl.), p. 347-348, 1975.
- SHEMESH, M. Actions of gonadotrophins on the uterus. **Reproduction**, v. 121, p. 835-842, 2001.
- ZIECIK, A.J. et al. Novel biological and possible applicable roles of LH/hCG receptor. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 269, p. 51-60, 2007.
- MALSCHITZKY, E. et al. **Perfil proteico da secreção endometrial pura em éguas resistentes e susceptíveis à endometrite persistente pós-cobertura**. In: MALSCHITZKY, E. Artigo 4. **Avaliação do perfil proteico da secreção endometrial da égua**. Tese (doutorado em Ciências Veterinárias), UFRGS, 2007.