

Excreção Urinária de 17-Cetoesteroides Neutros no Cavalo Normal e no Cavalo Castrado (*)

por

FERNANDO UBATUBA

O estudo da excreção urinária de esteróides em várias espécies animais, tem revelado aspectos curiosos do metabolismo dessas substâncias. Verificou-se assim que o touro excreta quantidades elevadas de pregnandiol (MARKER, 1938), catabolito típico da progesterona de origem ovariana (femea) e corticoadrenal (macho e femea); o garanhão apresenta ainda anomalia mais curiosa: excreção urinária de quantidade de estrogênicos ainda muito mais elevadas das encontradas na urina da égua prênhe (ZONDEK, 1934). DEULOFEU & FERRARI em 1934 isolaram de 50 litros de urina de garanhão, 75 mg de estrona (identificada pelo ponto de fusão e pelo de seu benzoato). HAUSSLER (1934) em trabalho mais minucioso, isolou e identificou a estrona de um concentrado de 130 litros de urina de cavalo normal, por meio das reações coradas dessa substância e de alguns de seus derivados (semicarbazona, oxima). Em 1935 CARTLAND também confirmou a presença de estrona na urina do garanhão, concluindo, entretanto, que somente 60% do material estrogênico isolado devesse ser estrona, sugerindo assim a possibilidade da ocorrência, nessa urina, de outros estrogênicos naturais. Recentemente (LEVIN, 1945) confirmou essa hipótese, isolando de uma amostra mista de urina de varios garanhões, um esteroide alcoólico cristalino, estrogênico, identificado como α -estradiol (atualmente corrigido para β -estradiol) pela análise elementar e alguns derivados (di- α -naftoato); segundo LEVIN a urina do cavalo normal é a fonte mais rica de β -estradiol até hoje encontrada. Recentemente JENSEN e col. (1945) demonstraram que, tal como se dá com a espécie humana, a excreção de estrona pela urina do cavalo normal se dá sob a forma de sulfato, pelo menos em parte.

Se bem que o próprio ZONDEK tivesse demonstrado em 1934 que a urina do cavalo castrado não possui atividade estrogênica, a importância do testículo em relação a esse particular só teve comprovação direta em 1940. Nessa data BEAL isolou a estrona pelo fracionamento de um extrato de testículo de cavalo com o reativo de Girard (identificada pelo seu 3:5-dinitrobenzoato) e o estradiol (identificado pelo seu di- α -naftoato). Segundo esse autor o testículo do cavalo é cerca de 20 vezes mais rico em material estrogênico do que o ovário da porca, tendo obtido, por quilo de órgão fresco, 210 mg de estradiol e 360 mg de estrona cristalina.

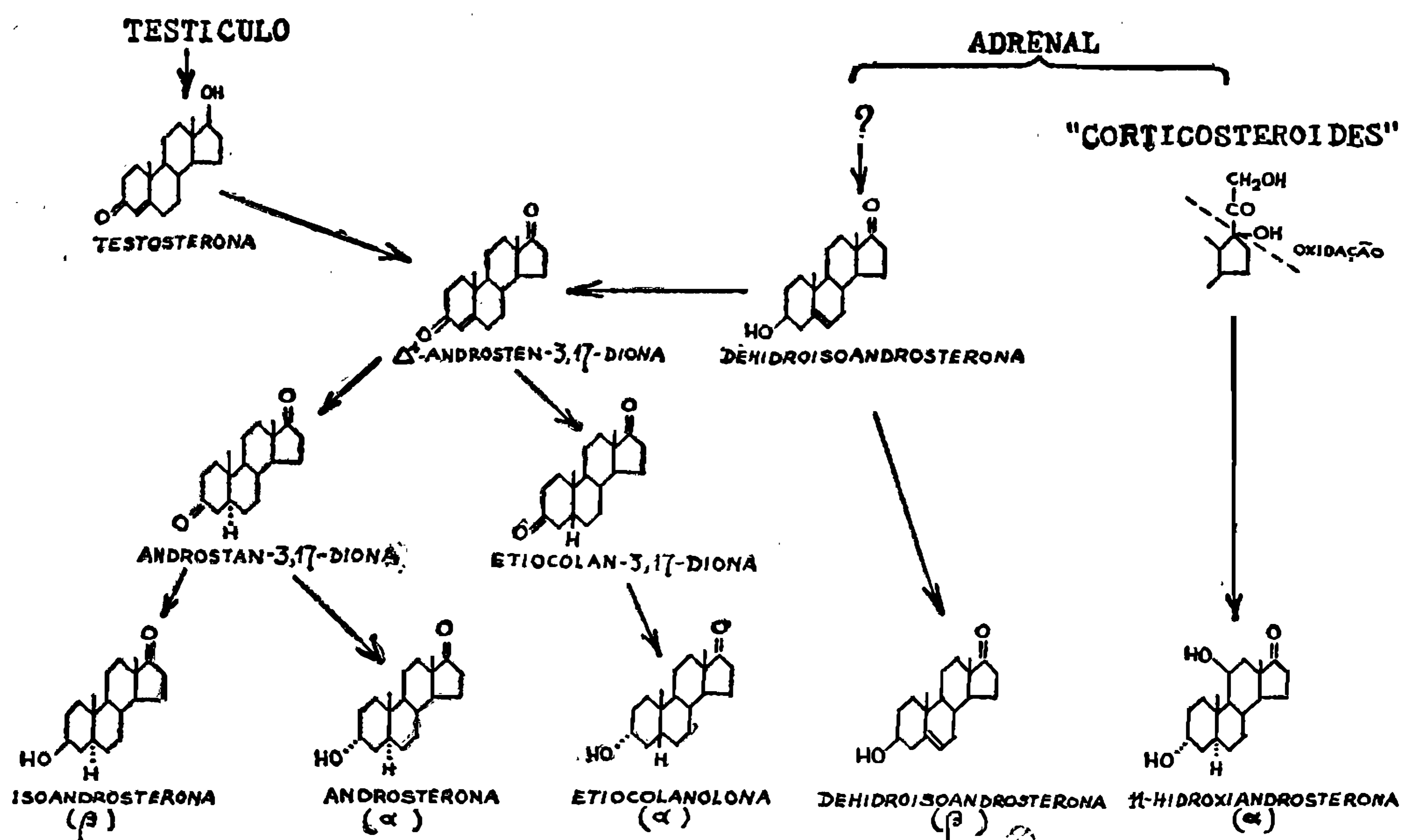
(*) Trabalho apresentado como tese de concurso para a Escola Nacional de Veterinária da Universidade Rural (1951).

É interessante assinalar que o centro de interesse das pesquisas sobre o metabolismo dos esteróides hormonais nessa espécie, foi sempre os esteróides estrogênicos. Não encontramos na literatura nenhuma referência à eliminação de pregnandiol e, em relação aos esteróides androgênicos, a literatura é particularmente escassa. O único trabalho a respeito, de que temos conhecimento, é o de GUSTAVSON (1939), onde aparece, em uma tabela o valor de 8 u.i. para o garanhão, sem maiores esclarecimentos sobre a natureza e condições do teste biológico empregado.

A excreção de pequenas quantidades de material androgênico em animal cujos testículos são particularmente ricos em testosterona (TAGMAN, 1946) faz pensar na revisão dos dados de GUSTAVSON; pode acontecer também, e esse fato seria muito curioso, que a baixa excreção de material biologicamente ativo corra a conta de uma metabolização particular da testosterona, havendo nessa espécie, uma linha de degradação metabólica diferente daquela já parcialmente verificada em outros animais. A discrepância entre os valores obtidos com os testes biológicos e os testes químicos pode correr a conta de uma diferença qualitativa, os metabolitos urinários ricos em esteróides biologicamente inativos, como a eticolanolona, justificando valores altos para os testes químicos que empregam a reação de ZIMMERMANN com o m-dinitrobenzeno.

De qualquer modo, o "pattern" metabólico dos esteróides sexuais no cavalo é original, e os estudos do metabolismo dos esteróides androgênicos talvez nos permitam lançar um pouco de luz na aventada transformação de androgênicos em estrogênicos, utilizando essa espécie animal.

ESQUEMA 1



Não encontramos dados sobre a excreção de 17-cetoesteróides no cavalo, seja normal seja castrado. Se nessa espécie a testosterona de origem testicular é metabolizada para 17-cetoesteróides neutros, como se admite para outras espécies (KOCH, 1942; LIEBERMAN & DOBRINER, 1948; SAMUELS, 1949; MASON & KEPLER, 1945; CLARK & KOCHAKIAN, 1947; KOCHAKIAN, 1949) pode acontecer que a pequena excreção de material androgênico seja devida à predominância de metabolitos biologicamente inativos (etiocolanona?). O primeiro ponto a ser verificado, então, é a excreção de 17-cetoesteróides neutros, tanto no cavalo normal, quanto no castrado. Impõe-se, a seguir, a análise qualitativa dos esteróides neutros normalmente excretados e o estudo dos metabolitos após administração artificial dos precursores já conhecidos.

MATERIAL E MÉTODOS

a) COLHEITA

Empregamos neste trabalho 12 cavalos de um lote de 15 animais adquiridos pelo Instituto para os seus serviços de produção de sôros, os quais foram separados e aclimatados às condições particulares de cativeiro. A ração básica administrada constou sempre de alfafa, milho e gramíneas frescas, a água administrada "ad libitum" exceto durante os períodos de colheita da urina (restrição a uma ingestão apenas em 24 horas). O lote de 6 animais castrados foi composto de animais com 260 a 340 quilos (7.5 a 12 anos) e o lote de normais, com pesos entre 250 e 300 quilos (4 a 9 anos). Para a colheita da urina usamos uma baia cimentada, com inclinação adequada para que a urina fosse toda coletada numa manilha vidrada, despejando diretamente num garrafão de vidro com o conservador; a construção do piso foi feita de modo a formar-se um degrau ao nível do trem posterior do animal, com o que as fezes foram praticamente eliminadas por separação mecânica. O controle obtido pela aspersão de 1 litro de água sobre o piso nos mostrou ser possível uma recuperação de 97% dos volumes despejados. Experiências prévias nos mostraram que a urina recém emitida tem pH entre 6.8-7.4 (amostras de 4 animais diferentes) mas que, mesmo com 20 ml de clorofórmio e 30 ml de álcool absoluto adrede colocados no garrafão, a alcalinidade sobe para pH 8.0-8.5. Passamos a usar, então, sistematicamente, o mesmo conservador adicionado de 50 a 100 ml de HCl concentrado. Nestas condições, a urina coletada por 18-24 horas teve sempre pH entre 3 e 5. A urina teve o seu volume medido e conservado a seguir a +5°C. Os diferentes volumes urinários variaram de 3.2 litros a 8.6 litros, com a restrição de água durante o dia da colheita. Aliquotas de 1 litro foram imediatamente submetidas à hidrólise ácida.

b) HIDRÓLISE E EXTRACÇÃO

A hidrólise foi feita por refluxo com HCl concentrado (10% v/v) e a extração com eter praticada em funis separadores. Toda a vidraria empregada tem juntas esmerilhadas, eliminando-se assim o contato com rolhas de cortiça ou borracha; as torneiras foram lubrificadas com agar a 1% (DIFCO). O eter foi purificado dos peróxidos pela agitação com solução de sulfato ferroso a 2% e a seguir lavado com água e conservado gelado até o seu emprego (dentro de 24 horas). Os esquemas 2 mostra a marcha das extrações e purificação das frações que empregamos.