

Emprêgo do teste químico para o estudo da eliminação das gonadotropinas durante o ciclo menstrual

por

Maria Isabel Mello

(Com três gráficos)

O conhecimento da eliminação normal das gonadotropinas durante o ciclo menstrual, ainda que de grande interêsse ginecológico, pouco tem sido estudado. Razões de ordem técnica e dificuldade na obtenção do material (urina de 24 horas durante um ciclo completo) tem dificultado tal empreendimento. Em geral os métodos, para isolamento e concentração das gonadotropinas, mesmo os mais simples, são demorados e dispendiosos. O número de camodongas necessário para a dosagem dos hormônios gonadotrópicos eliminados em um ciclo menstrual completo, é de quinhentas aproximadamente. Acresce ainda que a excreção de gonadotropinas é em alguns dias do ciclo, quase nula, e mesmo concentrando ao máximo o volume de urina das 24 horas, não se obtém uma resposta biológica satisfatória. Assim, é possível que sejam êstes os motivos responsáveis pelo pequeno número de trabalhos concernentes à eliminação das gonadotropinas durante o ciclo menstrual.

Quando estudámos o teste químico para o diagnóstico da gravidez, baseado na determinação química dos hormônios gonadotrópicos da urina (1), verificámos que as urinas de mulheres e homens normais quando concentradas e tratadas pelo mesmo método que as urinas grávidas, continham também substâncias redutoras, o que nos levou a crer que o caolin adsorve também as gonadotropinas hipofisárias. Observámos, outrossim, que os resultados obtidos variam com urina de mulheres normais de um dia para outro. Relacionámos êste fato com o ciclo menstrual e passámos a estudá-lo cuidadosamente.

A técnica empregada neste trabalho difere em alguns detalhes daquela já descrita para o diagnóstico da gravidez: 1) A urina de 24 horas é coletada com 1 ml. de ácido acético glacial e conservada na geladeira; 2) Para adsorção das gonadotropinas tomam-se 100 ml. de volume total da urina em vez

* Recebido para publicação a 2 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1943.

dos 10 ml. usados para a urina gravídica; 3) O adsorbato é eluído em 5 ml. da solução de soda 0,1N, em vez de 10 ml.; 4) Quando a eliminação hormonal é quase nula e não há redução de substância oxidante, trabalha-se com o volume total do eluato; 5) Os resultados são expressos em ml. de tiosulfato gastos, porque não nos foi possível relacionar o número da ml. de tiosulfato consumidos com as unidades biológicas trabalhando com o mesmo material. Estamos presentemente estudando um meio para obter com o teste químico a relação em unidades biológicas nos casos de eliminação normal das gonadotropinas.

A presente nota é baseada na determinação diária das gonadotropinas em 45 ciclos de 32 mulheres normais entre 21 e 39 anos (um mês antes e durante o tempo do ciclo em que coletaram a urina abstiveram-se de qualquer terapêutica hormonal ou vitamínica): A duração dos ciclos variou de 24 a 31 dias. Os estrogênios totais foram determinados em todos os ciclos no período intermenstrual. Empregámos para a extração dos estrogênios a técnica de LEIBOFF e TAMIS (2) e para dosagem o já clássico teste de ALLEN e DOISY em camundongas castradas. Os valores encontrados para os estrogênios totais oscilaram entre 14 e 250 unidades camundonga. Dêstes ciclos, apenas 11 foram normais e com as médias das frequências acumuladas dos resultados obtidos traçámos o gráfico I.

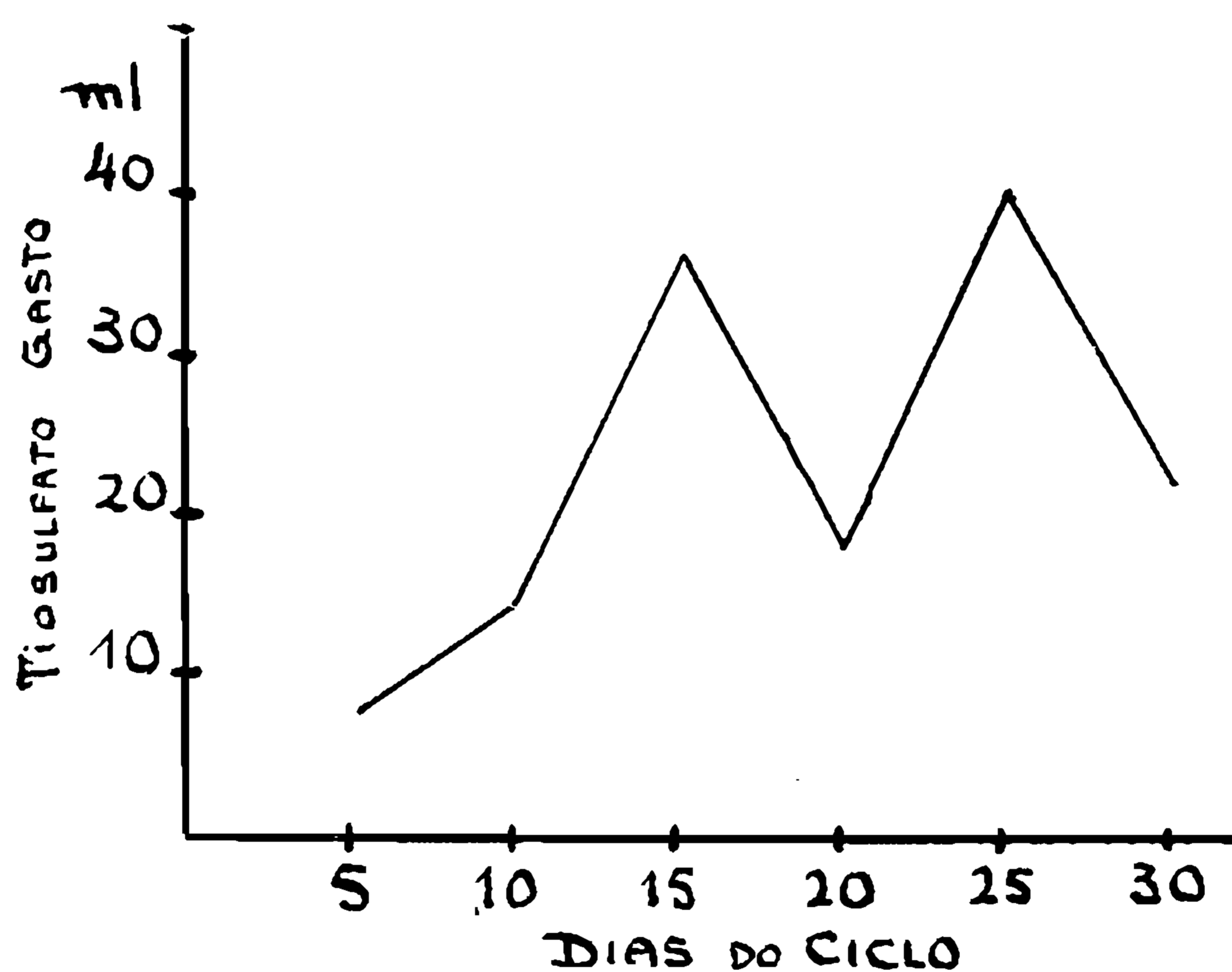


GRAFICO I

Eliminação de gonadotropinas no ciclo menstrual normal

Como se pode observar no gráfico I houve 2 máximos de eliminação. Isto levou-nos a aventar a hipótese da ocorrência de 2 ovulações por ciclo,

hipótese esta já formulada por D'AMOUR, FUNK e LIVERMAN (3). Admitem êles que "ou a ovulação ocorre mais de uma vez durante o ciclo menstrual ou ela não depende diretamente do estímulo hipofisário".

Procurámos então verificar se os máximos obtidos nas nossas determinações correspondiam á ovulação, á excreção das gonadotropinas ou á presença de substâncias redutoras outras contidas na urina e que pudessem ser adsorvidas com os hormônios.

Os eluatos preparados das urinas nos dias de excreção máxima, foram injetados em lotes de 20 camondongas normais infantís em doses crescentes e assim testados pelo método de ASCHHEIM e ZONDEK. Os animais tratados com os eluatos de urinas de 8º ao 12º dia do ciclo apresentaram aumento do útero, acentuada hiperemia das trompas e ligeiro aumento dos ovários. As camondongas injetadas com eluatos das urinas do 18º ao 23º dia do ciclo mostraram o trato genital, útero e trompas praticamente normais, e os ovários aumentados com folículos bem desenvolvidos e presença de corpo amarelo.

A observação destas respostas biológicas permite-nos supor que as frações folículo-estimulante e folículo-estimulante da célula intersticial ou fração luteinizante, são excretadas em dois períodos diferentes. Pesquisas ulteriores para a confirmação dêstes dados serão publicadas a seguir.

Os valores encontrados para os estrogênios eliminados no intermenstruo dos ciclos acima descritos foram tabelados no quadro I.

QUADRO I

Estrogênios totais eliminados no intermenstruo dos ciclos normais

N. de ciclos	Procedência da urina	Idade	Unidades camondonga em 24 horas
1	solteira	26	200
2	solteira	30	200-250
1	primípara	29	240
2	solteira	27	190-200
1	solteira	23	210
2	solteira	25	175-210
1	solteira	34	150
1	solteira	29	235

Em 28 ciclos a curva de excreção das gonadotropinas elevou-se entre o 6.º e 8.º dia, mantendo-se relativamente constante até o 17.º dia; do 18.º ao 19.º dia decresceu apresentando ligeiro aumento do 22.º ao 24.º dia. Êstes ciclos foram de 24-27 dias. O gráfico II, resultante das medias das frequências acumuladas de 17 destes ciclos põe em evidência os valores encontrados.

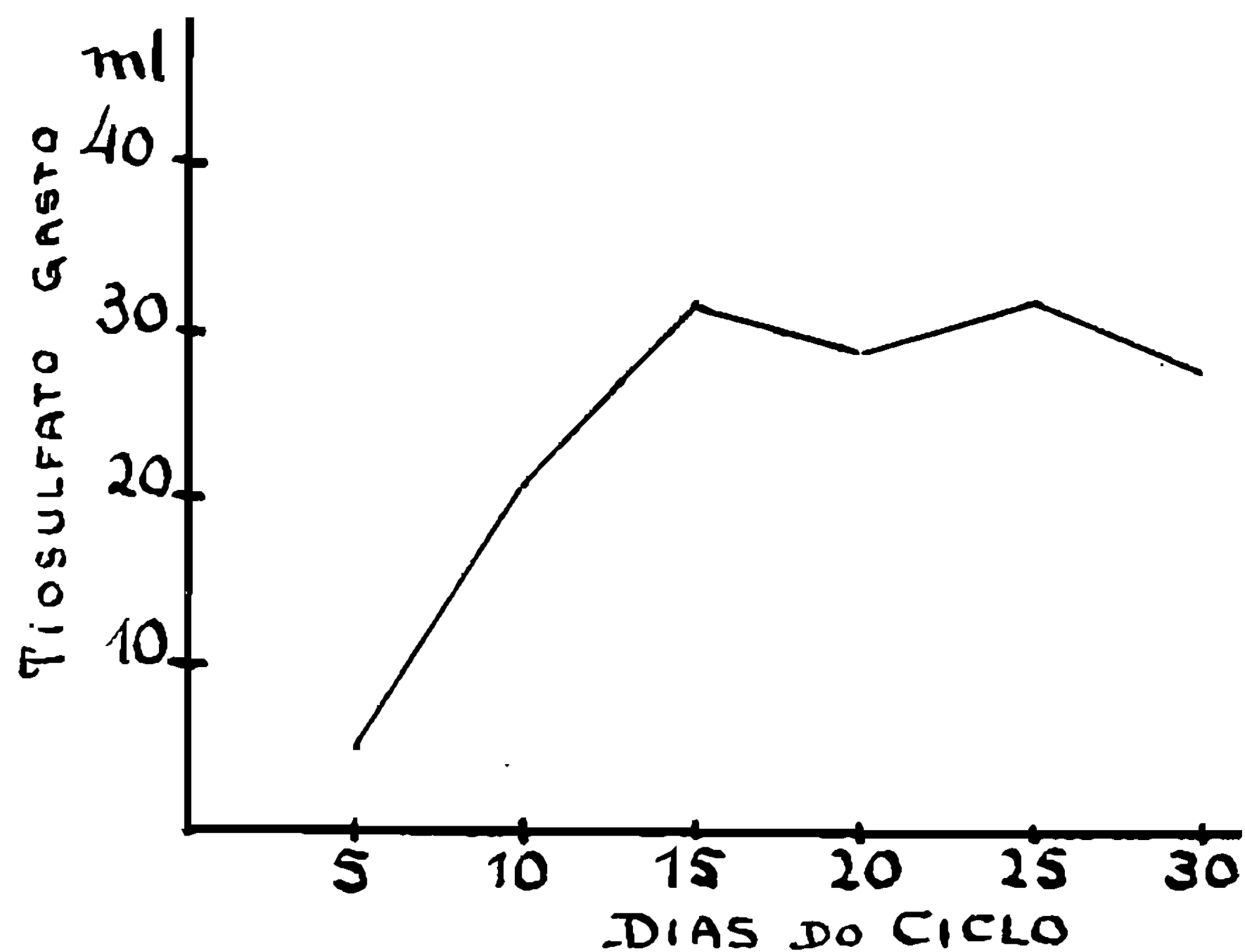
Eliminação das gonadotropinas nos ciclos menstruais anormais

GRAFICO II

Uma eliminação maior e constante de gonadotropinas determinada pelo nosso método, foi encontrada em urina de mulher castrada. Relacionando este fato com os casos acima descritos fomos levados a supor, que, provavelmente quando há uma insuficiência ovariana, não havendo substâncias estrogênicas suficientes, a fração foliculo-estimulante se elimina em maior quantidade por não ser aproveitada.

Faz-se necessário assinalar que nesses ciclos a eliminação dos estrogênios no período inter-menstrual foi muito pequena, o que se pode verificar no quadro abaixo.

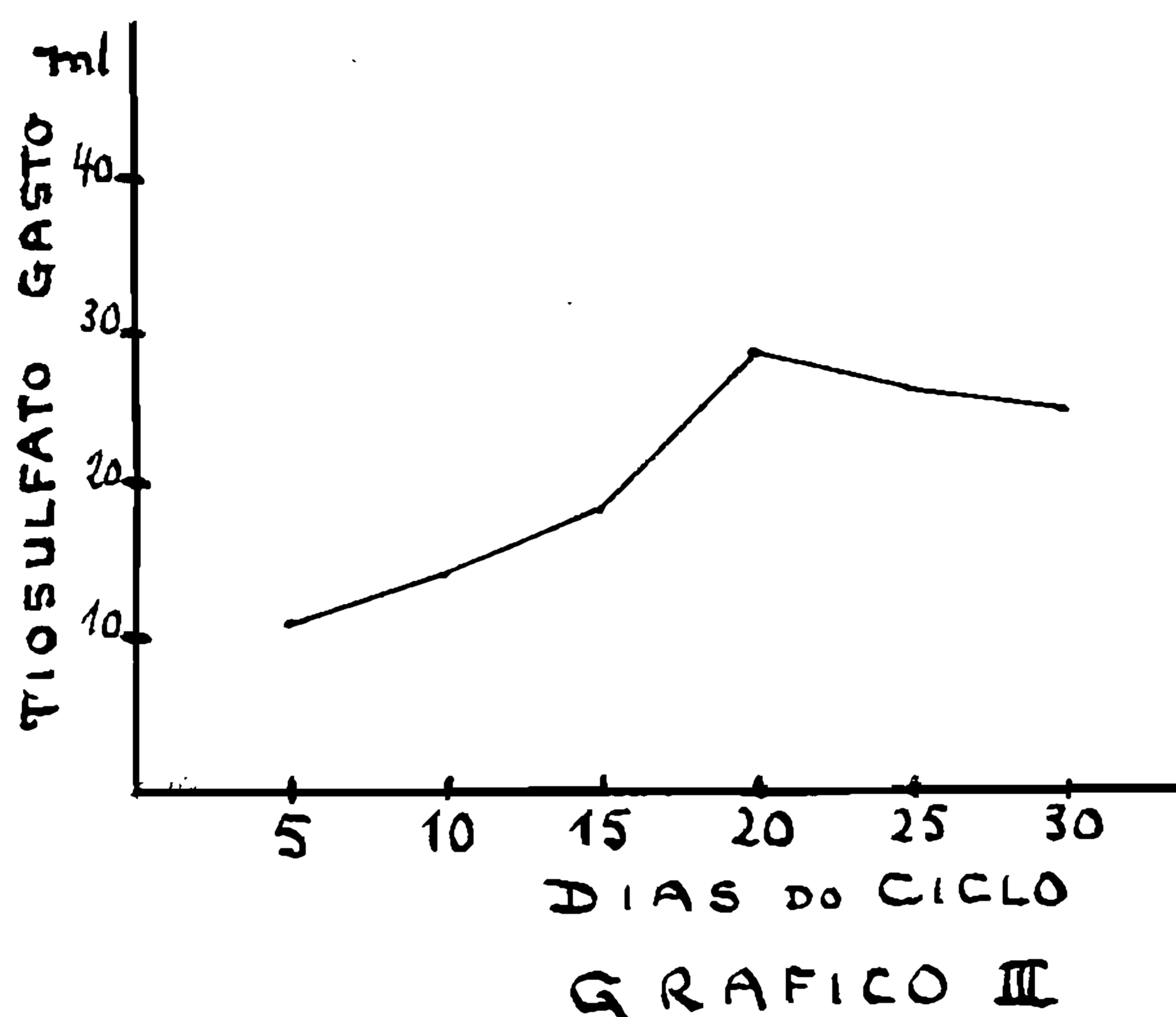
QUADRO II

Substâncias estrogênicas eliminadas em 24 horas no período inter-menstrual

N. de ciclos	Procedência da urina	Idade	Unidades camondonga em 24 horas
2	nulipara	30	14 e 20
1	solteira	39	16
2	primípara	24	16-25
2	primípara	27	25-32
1	solteira	29	14
1	solteira	26	33
4	solteira	30	19-14-20-45
2	solteira	25	30
2	solteira	21	16

Em seis ciclos de três mulheres casadas e nulíparas a eliminação das gonadotropinas foi relativamente constante durante todo o período. Entretanto, tôdas tiveram o fluxo menstrual em períodos de 30 a 32 dias. As medias das frequências acumuladas da excreção das gonadotropinas acham-se indicadas no gráfico III.

Gonadotropinas nos casos de eliminação constante



As taxas dos estrogênios excretados nestes ciclos encontram-se no Quadro III.

QUADRO III

Substâncias estrogênicas da urina no inter-menstruo nos casos de eliminação constante das gonadotropinas

N. de casos	N. de ciclos	Procedência	Idade	Unidades camundongas em 24 horas
1	2	nulípara	39	65-98
2	2	nulípara	30	40-75
3	2	nulípara	32	95-120

No caso II além dos estrogênios foi também determinada a progesterona pela técnica de ASTWOOD e JONES (4). A eliminação total do 18.º ao 31.º dia do ciclo foi de 12 mg de glicuronato pregnandiól sódico.

ABSTRACT

Gonadotropin elimination during menstrual cycle studied by a chemical test.

A chemical test previously described for the diagnosis of pregnancy was applied to the study of the excretion of gonadotropin in the urine during menstrual cycle. The chemical test is based on the selective adsorption by kaolin of the reducing substances biologically related to urinary gonadotropin. The active substance when acidified to pH 4.0 is adsorbed by the kaolin and eluted with 0.1N sodium hydroxide.

The alkaline solution is treated by Somogyi's copper reagent and the excess not reduced is titrated by 0.005 N sodium thiosulfate. Gonadotropin is quantitatively adsorbed by kaolin at pH 4.0 and eluted by alkaline solution as previously demonstrated by the A. (1).

In the present paper the complete menstrual cycle was studied daily. It was observed that normally there are two distinct maxima of excretion. This study is based on 11 normal cycles (24-30 days) and 34 abnormal ones.

Normal cycles showed a intramenstrual estrogens elimination from 200 to 260 mice units determined by the Allen — Doisy full estrus smear test. The abnormal cycles belonging also to normal women showed much less estrogen excretion (14 to 25 mice units) (Table II). In those cases with decreased estrogen excretion no fall in the curve after the 14 th. day was observed. The A. suggest that the peaks of gonadotropin excretion is not related to the ovulation but possibly due, the first one, to the follicle stimulating hormone and the second to the luteinizing hormone or hormone stimulating of the interstitial tissue.

BIBLIOGRAFIA

1. MELLO (M. I.)
1943. Novo método para o diagnóstico da gravidez baseado na determinação química do hormônio gonadotrópico da urina — Rev. Bras. Biol. 3, (1), 119-125.
2. LEIBOFF (S. L.) e TAMIS (A. B.)
1938. A rapid and simplified method of extracting urinary estrogen.
Jour. Lab. Clin. Med. 24, (2), 178-180.
3. D'AMOUR (F. E.) FUNK (D) e LIVERMAN (H).
1939. Daily gonadotropic hormone tests during fifty complete menstrual cycles.
Am. Jour. Obst. Gyn. 37, (6), 940-946.
4. ASTWOOD (E. B.) e SEEGAR JONES (G. E.)
1941. A simple method for the quantitative determination of pregnanediol in human urine. Jour. Biol. Chem. 137, (1), 397-407.