

## MÉTABOLISME DES ŒSTROGÈNES CHEZ LA TRUIE GRAVIDE

### I. — LES ŒSTROGÈNES URINAIRES

M. TERQUI

avec la collaboration technique de Ginette LÉPINE et Sylvie LARA

*Station centrale de Physiologie animale,  
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,  
78 - Jouy-en-Josas*

---

### RÉSUMÉ

Chez la Truie gravide l'œstrone est le principal œstrogène dans l'urine ; cependant divers travaux montrent l'existence d'autres œstrogènes urinaires. Après injection intraveineuse d'œstrone-<sup>14</sup>C et d'œstradiol 17β-<sup>3</sup>H à une Truie gravide nous avons entrepris l'analyse des œstrogènes radioactifs dans l'urine à l'aide de deux méthodes :

- la première a été décrite par BREUER (1964) ;
- la seconde dérive de celle qui a été décrite par ADLERCREUTZ et LUUKAINEN (1967) (fig. 1 et 2).

Nous avons isolé et identifié par le test de cristallisation jusqu'à activité spécifique constante les œstrogènes suivants dans l'urine de Truie gravide: œstrone, 2-méthoxy-œstrone, 16α hydroxy-œstrone, 16 céto-œstradiol 17β, œstradiol 17α et 17β, et l'œstriol et ses 3 épimères ; tous ces composés sont marqués au tritium et au carbone-14 (tabl. 2 et 3). L'œstrone a été isolée en quantité suffisante pour être identifiée par son spectre infrarouge (fig. 3) et son point de fusion.

Une grande partie de l'œstrone (80 p. 100) n'est pas métabolisée (tabl. 4) ; l'œstradiol 17β injecté est complètement transformé, principalement en œstrone ; la 16α hydroxy-œstrone et le 16 céto-œstradiol 17β sont ensuite les principaux métabolites. Il y a très peu d'œstriol.

Bien que certaines transformations n'aient pas été démontrées chez la Truie gravide, nous avons établi un schéma du métabolisme des œstrogènes, schéma (fig. 4) qui est discuté.

---

### INTRODUCTION

Les œstrogènes, chez la Truie, sont exclusivement éliminés dans l'urine (TERQUI, ROMBAUTS, FÈVRE, 1968). Les travaux de FÈVRE (1968, 1970 *a* et *b*) ont montré d'une part le rôle essentiel de l'ensemble fœtus-placenta dans la biosynthèse des

œstrogènes, d'autre part la très faible utilisation des précurseurs stéroïdes d'origine maternelle. Le dosage des œstrogènes dans l'urine, au cours de la gestation chez la Truie, permet donc de déterminer la production d'œstrogène et d'apprécier ainsi l'activité foeto-placentaire.

Chez la Truie, l'œstrone est le principal œstrogène urinaire (VELLE, 1959) et son élimination par l'urine, au cours de la gestation, est bien connue (LUNAAS, 1962 ; ROMBAUTS, 1962 ; REASIDE, 1963). BREDECK et MAYER (1958), ROMMEL et ROMMEL (1962), KUBOMICHI (1966) ont trouvé de l'œstradiol et de l'œstriol dans l'urine de Truie ; VELLE (1959) pour sa part n'excluait pas la présence de ces deux composés cependant en faible quantité. Nous avons montré que l'œstrone et l'œstradiol ne représentent que 50 à 75 p. 100 de la radioactivité de l'urine après injection d'œstrone-4-<sup>14</sup>C et d'œstradiol 17 $\beta$ -6,7 <sup>3</sup>H à des Truies (TERQUI, ROMBAUTS, FÈVRE, 1968).

Ces différents résultats laissent supposer l'existence dans l'urine de Truie gravide d'autres composés radioactifs dont nous avons entrepris l'analyse et l'identification.

## I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

### A. — Matériel

#### I. — Animaux.

Nous avons utilisé des Truies de race *Large White*. L'œstrone <sup>14</sup>C et l'œstradiol <sup>3</sup>H 17 $\beta$  radioactifs furent administrés par voie intraveineuse à différents moments de la gestation.

#### II. — Stéroïdes.

Les stéroïdes standards ont été recristallisés par le mélange méthanol-eau ou méthanol-hexane. Les points de fusion et les spectres infrarouge ont été contrôlés. Les abréviations et les noms communs utilisés dans le texte sont définis dans le tableau 1.

TABLEAU I

Liste des abréviations et noms communs des œstrogènes

E <sub>1</sub>	Œstrone	3-hydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène-17-one
2 Me OE <sub>1</sub>	2 Méthoxy-œstrone	2-Méthoxy, 3-hydroxy-œstra 1,3,5 (10)-triène-17-one
16 $\alpha$ OHE <sub>1</sub>	16 $\alpha$ hydroxy-œstrone	3,16 $\alpha$ -dihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène-17-one
16 céto-E <sub>2</sub> 17 $\beta$	16 céto-œstradiol 17 $\beta$	3,17 $\beta$ -dihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène-16-one
E <sub>2</sub> 17 $\beta$	Œstradiol 17 $\beta$	3,17 $\beta$ -dihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène
E <sub>2</sub> 17 $\alpha$	Œstradiol 17 $\alpha$	3,17 $\alpha$ -dihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène
E <sub>3</sub>	Œstriol	3,16 $\alpha$ , 17 $\beta$ -trihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène
16 épi-E <sub>3</sub>	16 épi-œstriol	3,16 $\beta$ , 17 $\beta$ -trihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène
17 épi-E <sub>3</sub>	17 épi-œstriol	3,16 $\alpha$ , 17 $\alpha$ -trihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène
16, 17 épi-E <sub>3</sub>	16, 17 épi-œstriol	3,16 $\beta$ , 17 $\alpha$ -trihydroxy-œstra-1,3,5 (10)-triène

### B. — Méthodes

#### I. — Séparation des œstrogènes.

##### Aspect qualitatif.

Pour déterminer la nature des différents métabolites radioactifs nous avons utilisé la méthode décrite par BREUER (1964) qui consiste en une série de chromatographies sur papier.

*Aspect quantitatif.*

Pour mesurer la radioactivité dans les différents métabolites nous avons utilisé la technique suivante :

les échantillons de 20 ml d'urine ont été soumis à une hydrolyse enzymatique. Les premières étapes (extraction par l'éther éthylique, réaction de Girard et séparation en fractions polaire et non polaire) sont celles qui ont été décrites par ADLERCREUTZ et LUUKKAINEN (1967). Les quatre fractions ainsi obtenues ont été chromatographiées afin de purifier et de séparer les différents œstrogènes selon le protocole ci-dessous.

1. Fraction cétonique (fig. 1).

a) *Fraction cétonique non polaire.* Cette fraction contient l'œstrone et la 2 méthoxy-œstrone. Elle est chromatographiée horizontalement sur couches minces de gel de silice H (0,5 mm d'épaisseur) pendant une heure dans du dichlorométhane. L'œstrone (mobilité Mb = 2,6 cm/h) et la 2 méthoxy-œstrone (Mb = 5,8 cm/h) sont révélés par le mélange chlorure ferrique-ferricyanure. Les zones qui correspondent aux standards sont récupérées puis les stéroïdes sont élués par 10 ml de méthanol selon la technique d'ATTAL *et al.* (1967) ; le méthanol est évaporé.

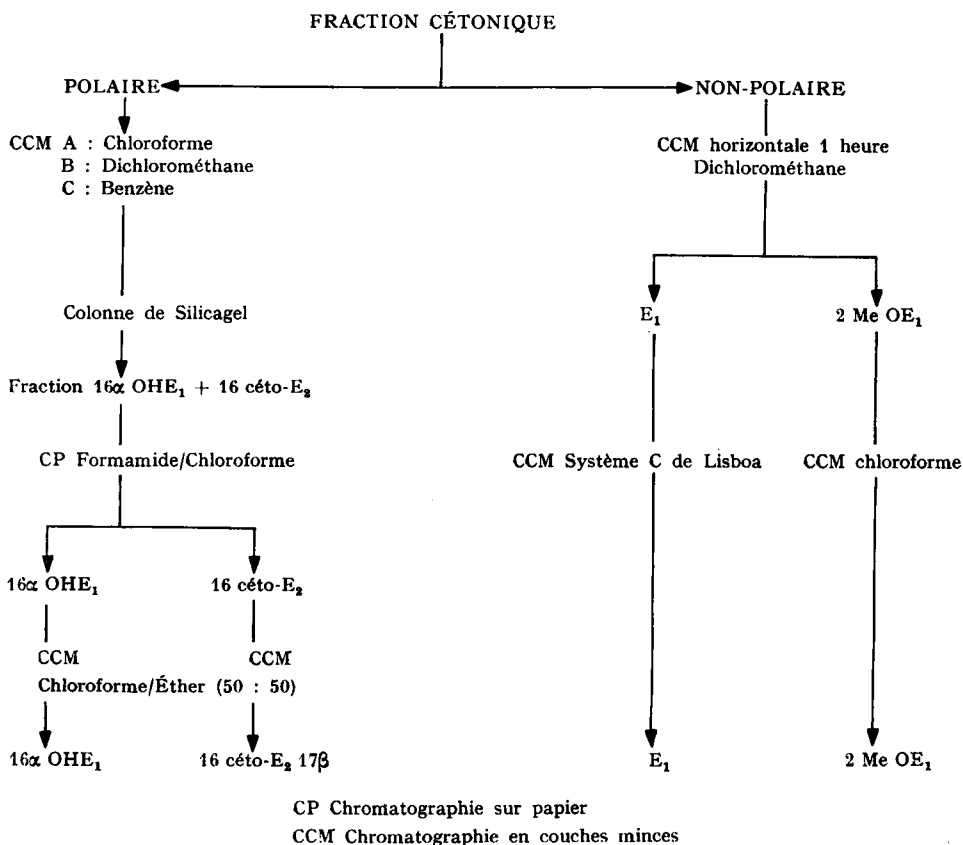


FIG. 1. — Schéma de séparation de la fraction cétonique

Les deux fractions sont ensuite rechromatographiées sur couches minces de silicagel G :  
 — la fraction 2 Me OE<sub>1</sub> dans le chloroforme (R<sub>F</sub> E<sub>1</sub> = 0,14 R<sub>F</sub> 2 Me OE<sub>1</sub> = 0,32) ;  
 — la fraction œstrone dans le système C de LISBOA (1962) (R<sub>F</sub> E<sub>1</sub> = 0,50).

Les zones correspondant respectivement à la 2-méthoxy-œstrone et à l'œstrone ont été récupérées et les stéroïdes élués.

Après évaporation du méthanol, 10 ml de benzène et 1 ml d'eau sont successivement ajoutés, puis centrifugés pour éliminer le gel de silice.

b) *La fraction cétonique polaire.* Elle est déposée sur couche mince de silicagel H et le chromatogramme est développé successivement dans le chloroforme, le dichlorométhane et le mélange de benzène et d'éther éthylique (50 : 50) ( $R_F$  16 $\alpha$  OHE<sub>1</sub>  $R_F$  16 céto-E<sub>2</sub> 17 $\beta$  = 0,45).

La zone des œstrogènes  $\alpha$  cétoniques est éluee par 10 ml de méthanol, puis chromatographiée sur colonne de gel de silice selon la technique de ECHAUTE *et al.* (1969). L'éluat qui renferme la 16 $\alpha$  hydroxy-œstrone et le 16 céto-œstradiol 17 $\beta$  est chromatographié sur papier Schlecher et Schull n° 2043 b Mgl. dans le système formamide/chloroforme (Mb 16 $\alpha$  OHE<sub>1</sub> = 2,5 cm/h ; Mb 16 céto-E<sub>2</sub> = 2 cm/h). Les zones correspondant aux deux œstrogènes sont éluées par le méthanol. Après évaporation les traces de formamide sont éliminées par une partition entre l'eau et l'éther éthylique. Les deux fractions sont ensuite chromatographiées sur couches minces de gel de silice H dans le système chloroforme-éther éthylique (50 : 50) ( $R_F$  16 $\alpha$  OHE<sub>1</sub> = 0,40  $R_F$  16 céto-E<sub>2</sub> = 0,38) ; les zones sont éluées par le méthanol. Le gel de silice est éliminé comme précédemment (seul le benzène est remplacé par de l'acétate d'éthyle).

## 2. La fraction non cétonique.

a) *La fraction non cétonique non polaire.* Elle est chromatographiée sur couche mince de silicagel H dans le système chloroforme-éther éthylique (60 : 40) ( $R_F$  E<sub>2</sub> 17 $\alpha$  =  $R_F$  E<sub>2</sub> 17 $\beta$  = 0,33), la zone œstradiol est éluee par du méthanol. Les deux isomères sont ensuite séparés par chromatographie sur papier Whatman n° 1 pendant 40 heures dans le système formamide/benzène hexane (55 : 45) (Mb E<sub>2</sub> 17 $\beta$  = 0,4 cm/h Mb E<sub>2</sub> 17 $\alpha$  = 0,5 cm/h). Les deux zones sont éluées par du méthanol ; les résidus de formamide sont éliminés comme pour la fraction cétonique non polaire.

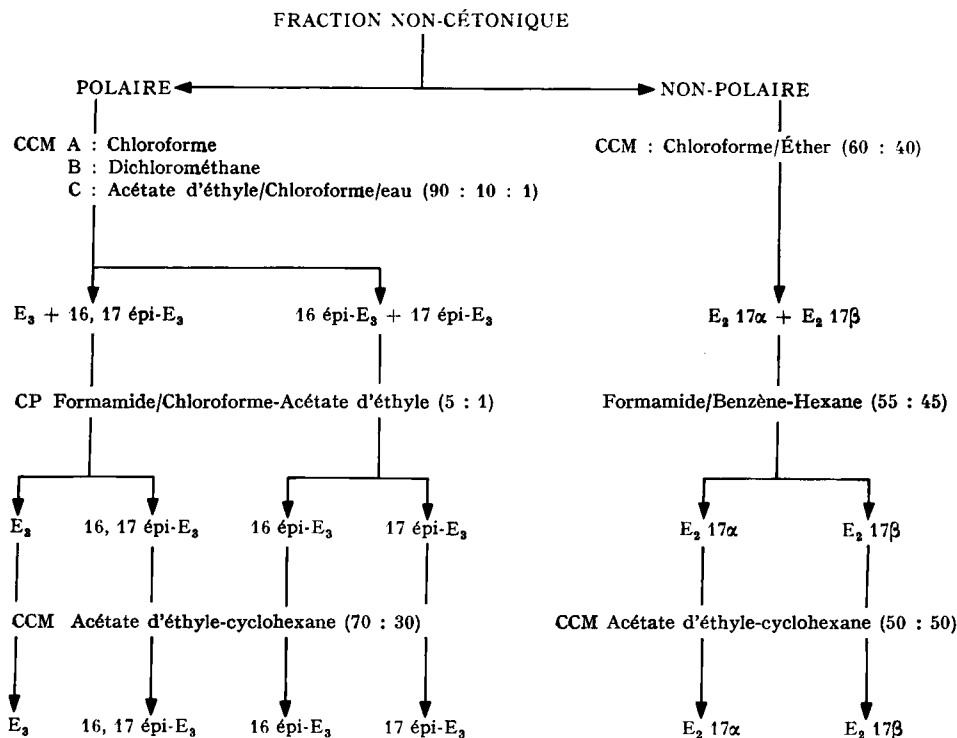


FIG. 2. — Schéma de séparation de la fraction non cétonique

b) *La fraction non cétonique polaire.* Elle est chromatographiée sur couches minces de silicagel H successivement dans les trois systèmes : chloroforme, dichlorométhane et dans le mélange acétate d'éthyle-chloroforme, eau (90 : 10 : 1). Deux zones sont éluées, l'une renferme l'œstriol et le 16, 17 épi-œstriol, l'autre le 16 et le 17 épimère ( $R_F E_3 = 0,25$ ;  $R_F 16, 17 \text{ épi-}E_3 = 0,30$ ;  $R_F 16 \text{ épi-}E_3 = 0,45$ ;  $R_F 17 \text{ épi-}E_3 = 0,50$ ).

Les deux fractions ont été chromatographiées sur papier dans le système formamide/chloroforme acétate d'éthyle (5 : 1). Cette chromatographie permet, d'une part la séparation entre l'œstriol et le 16, 17 épi-œstriol et d'autre part, la séparation entre le 16 épi-œstriol et le 17 épi-œstriol. Les quatre fractions sont éluées par le méthanol.

Après évaporation les résidus de formamide sont éliminés selon le même procédé que pour la fraction cétonique polaire. Une fois l'éther évaporé les 4 fractions sont chromatographiées sur couches minces de silicagel G dans le système acétate d'éthyle-cyclohexane (70 : 30) ( $R_F E_3 = 0,13$ ;  $R_F 16, 17 \text{ épi-}E_3 = 0,20$ ;  $R_F 16 \text{ épi-}E_3 = 0,37$ ;  $R_F 16, 17 \text{ épi-}E_3 = 0,37$ ). Les éluations sont effectuées par 10 ml de méthanol, le gel de silice est éliminé comme il est indiqué pour la fraction cétonique polaire.

Le dixième ou la moitié de chaque fraction a été utilisé pour mesurer la radio activité.

## II. — *Cristallisation jusqu'à activité spécifique constante.*

Les cristallisations ont été effectuées dans le méthanol et l'eau.

Les cristaux et la liqueur-mère sont séparés par filtration ; les cristaux sont dissous sur le filtre par le mélange benzène-méthanol (90 : 10) ou (50 : 50) selon la polarité des stéroïdes. Après pesée des cristaux et de la liqueur-mère les mesures de radioactivité sont effectuées sur 1/10 ou 1/5 pour les cristaux et sur la totalité pour les liqueurs-mères.

III. — *Les spectres infrarouges,* enregistrés au moyen d'un spectrophotomètre infrarouge Perkin-Elmer model 457 sont obtenus à partir de micropastilles de bromure de potassium ou d'iodure de césium.

Les spectres des œstrogènes standards sont identiques à ceux qui ont été décrits dans la littérature (DOBRINER, 1963 ; WEINMAN et WEINMAN, 1965 ; NEUDERT et ROPKE, 1965).

## II. — RÉSULTATS

### 1. — *Nature des différents œstrogènes radioactifs*

La première méthode a permis de séparer et d'isoler les différents œstrogènes radioactifs de l'urine de Truie gravide qui a reçu par voie intraveineuse de l'œstrone-4-<sup>14</sup>C et de l'œstradiol 17 $\beta$ -6,7 <sup>3</sup>H.

Dans la fraction cétonique non polaire, trois pics de radioactivité ont été distingués :

— le premier pic avait le même comportement chromatographique que la 2-méthoxy-œstrone dans divers systèmes et il a été identifié à cette substance par le test de cristallisation jusqu'à activité spécifique constante (tabl. 2) ;

— le deuxième pic, qui est très important, a été identifié à de l'œstrone par le même test (tabl. 2) ;

— le troisième pic correspond à une ou des substances plus polaires que les précédentes et qui n'ont pu être identifiées jusqu'ici.

Au sein de la fraction cétonique polaire deux zones radioactives ont pu être observées ; l'une est identique à la 16 $\alpha$  hydroxy-œstrone, l'autre au 16-céto-œstradiol 17 $\beta$ , selon les mêmes critères : comportement chromatographique et cristallisation jusqu'à activité spécifique constante (tabl. 2).

La fraction non-cétonique non-polaire n'a recelé après analyse que deux substances radioactives : l'œstradiol 17 $\beta$  et l'œstradiol 17 $\alpha$  (tabl. 3).

La fraction non-cétonique polaire s'est avérée la plus complexe, l'œstriol et le

TABLEAU 2

*Cristallisation jusqu'à activité spécifique constante  
des œstrogènes radioactifs de l'urine de Truie gravide-Fraction cétonique*

Substance	N° cristallisation	Radioactivité spécifique (dpm/mg)			
		Cristaux		Liquueur-mère	
		<sup>3</sup> H	<sup>14</sup> C	<sup>3</sup> H	<sup>14</sup> C
œstrone	1	34 505	2 167	33 465	2 044
	2	35 814	2 221		
	3	34 125	2 187		
2 méthoxy-œstrone	1	10 795	632	11 261	552
	2	10 099	453		
	3	11 281	471		
	4	11 755	510		
16 $\alpha$ hydroxy-œstrone	1	412	71		
	2	415	61		
	3	429	70		
16 ceto-œstradiol 17 $\beta$	1	18 121	815		
	2	19 121	868		
	3	20 200	865		

TABLEAU 3

*Cristallisation jusqu'à activité spécifique constante  
des œstrogènes radioactifs de l'urine de Truie gravide-Fraction non cétonique*

Substance	N° cristallisation	Radioactivité spécifique (dpm/mg)			
		Cristaux		Liquueur-mère	
		<sup>3</sup> H	<sup>14</sup> C	<sup>3</sup> H	<sup>14</sup> C
œstradiol 17 $\beta$	1	3 716	140	4 028	123
	2	3 544	130		
	3	3 730	110		
œstradiol 17 $\alpha$	1	6 211	177		
	2	6 000	220		
	3	5 765	210		
œstriol	1	620	71	564	59
	2	859	70	637	63
	3	790	69	597	69
16 épi-œstriol	1	837	95	726	76
	2	859	70		
	3	988	81		
17 épi-œstriol	1	1 834	135		
	2	1 632	105		
16, 17 épi-œstriol	1	3 752	233	4 000	293
	2	3 950	308		

16-épi-œstriol ont été identifiés par le test de cristallisation jusqu'à activité spécifique constante (tabl. 3) ; le 17-épi-œstriol et le 16, 17-épi-œstriol sont aussi présents, mais ils n'ont pu être identifiés avec certitude ; en effet, les cristallisations n'ont pas été poursuivies au-delà de la deuxième, faute de matériel en quantité suffisante (tabl. 3).

Dans cette analyse, les différents métabolites n'ont pas été isolés à partir de la même urine, on ne peut donc pas comparer les rapports tritium sur carbone des divers métabolites.

Il existe donc, dans l'urine de Truie gravide, à côté de l'œstrone, plusieurs autres métabolites : 2-méthoxy-œstrone, 16 $\alpha$  hydroxy-œstrone, 16-céto-œstradiol 17 $\beta$ , œstradiol 17 $\beta$ , œstradiol 17 $\alpha$ , œstriol et ses trois épimères. Dans l'urine tous ces composés sont sous les formes libre, sulfoconjuguée et glycuco-conjuguée comme l'ont montré des essais de séparations de ces trois fractions.

A partir de plusieurs litres d'urine de Truie en fin de gestation, de l'œstrone a pu être isolée en quantité suffisante pour effectuer :

— un spectre infrarouge (fig. 3 a) qui est identique à celui de l'œstrone standard (fig. 3 b) ;

— un point de fusion 250-251°C (température non-corrigée) qui est identique à celui de l'œstrone de référence.

## 2. — Importance des différents métabolites

L'analyse, selon la méthode II décrite plus haut, de la radioactivité des différents métabolites a été effectuée à partir des urines qui ont été obtenues 24 et 48 h après l'administration, au 100<sup>e</sup> jour de gestation, d'œstrone 4-<sup>14</sup>C et d'œstradiol 17 $\beta$ -<sup>3</sup>H à une Truie (TERQUI, ROMBAUTS, FÈVRE, 1968). Les valeurs indiquées dans le tableau 4

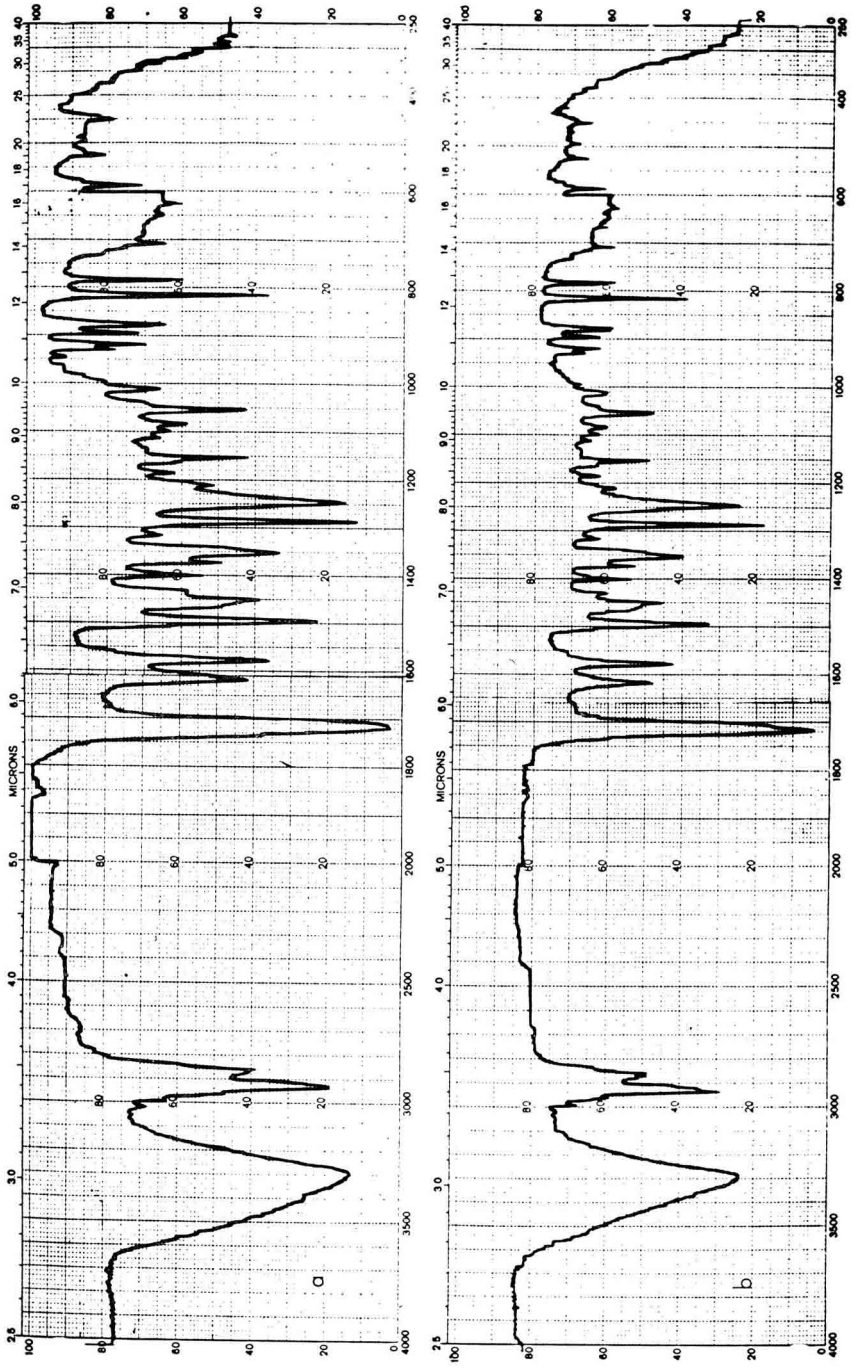
TABLEAU 4

Pourcentage de radioactivité dans les différents métabolites de l'urine de Truie en p. 100 de la radioactivité retrouvée dans les métabolites

Métabolites	<sup>3</sup> H	<sup>14</sup> C
Fraction cétonique non identifiée	4,8	1,8
E <sub>1</sub>	80,2	75,8
2 Me OE <sub>1</sub>	1,7	1,5
16 $\alpha$ OH E <sub>1</sub>	5,6	11,1
16 céto-E <sub>2</sub> 17 $\beta$	2,7	5,1
E <sub>2</sub> 17 $\alpha$	0,16	0,1
E <sub>2</sub> 17 $\beta$	0,5	0,5
E <sub>3</sub>	1,7	1,8
16 épi-E <sub>3</sub>	2,8	2,2
17 épi-E <sub>3</sub>	0,9	1

ne sont pas corrigées pour les pertes survenues au cours des purifications et séparations, et sont exprimées en pourcentage de la radioactivité totale retrouvée dans l'ensemble des métabolites. La pureté radiochimique des différents métabolites

FIG. 3. — Spectres infrarouges  
 a) de l'œstrone isolée à partir de l'urine de Truie gravide  
 b) de l'œstrone standard





isolés par cette méthode a été contrôlée par cristallisation jusqu'à activité spécifique constante. Le 16, 17-épi-œstriol en faible quantité n'a pas été mesuré.

Il ressort du tableau 4 que tous les métabolites identifiés sont marqués à la fois au tritium et au carbone  $^{14}\text{C}$ . Les deux tiers du tritium et du carbone 14 sont retrouvés dans la fraction œstrone ; une grande partie de l'œstrone administrée n'est pas transformée et l'œstrone est le principal produit de transformation de l'œstradiol 17 $\beta$ .

La 16 $\alpha$  hydroxy-œstrone et le 16-céto-œstradiol 17 $\beta$  sont ensuite les composés les plus importants. Il existe une différence entre les rapports tritium sur carbone 14 de ces deux composés et ceux de l'œstrone et des autres métabolites. La confirmation de ces résultats, par d'autres expériences, est indispensable avant de conclure à une formation préférentielle de ces deux composés, à partir de l'œstrone.

La 2-méthoxy-œstrone, l'œstriol, le 16-épi-œstriol, le 17-épi-œstriol, représentent chacun de 1 à 2,5 p. 100 de la radioactivité récupérée.

L'œstradiol 17 $\alpha$  est en très petite quantité et est marqué par les deux radioisotopes ; on peut donc éliminer l'hypothèse d'une impureté d'œstradiol 17 $\alpha$  dans l'œstradiol 17 $\beta$  6,7  $^3\text{H}$  administré.

L'œstradiol 17 $\beta$  ne représente que 0,5 p. 100 de la radioactivité retrouvée ; il est donc complètement transformé ; il se forme cependant un peu d'œstradiol 17 $\beta$  à partir de l'œstrone 4- $^{14}\text{C}$  injectée.

### III. — DISCUSSION

L'œstrone prédomine dans l'urine au cours de la gestation chez la Truie parce que c'est probablement le principal œstrogène synthétisé par le complexe foeto-placentaire, mais aussi parce qu'il est moins métabolisé que l'œstradiol 17 $\beta$  si l'on ne tient pas compte des sulfo- et glycuco-conjugaisons.

Si l'œstradiol 17 $\beta$  est produit *in vivo* par le complexe foetus-placenta de Truie, comme le laissent supposer les travaux *in vitro* d'AINSWORTH et RYAN (1966), il est très rapidement transformé puisque dans le sang périphérique maternel il est en très faible quantité (ATTAL, 1968). Le foie semble jouer un rôle important dans cette conversion selon les travaux de LYGSET et VELLE (1968). Toutefois, les pourcentages de l'interconversion  $\text{E}_1 \rightleftharpoons \text{E}_2$  17 $\beta$  observés par ces auteurs, *in vitro*, avec des coupes de foie, diffèrent de nos résultats ; il y a bien *in vivo* chez la Truie gravide cette interconversion mais son bilan, au niveau de l'urine, est très en faveur de l'œstrone.

La formation d'œstradiol 17 $\alpha$  chez la Truie gravide est à rapprocher de l'obtention *in vitro* d'œstradiol 17 $\alpha$ , à partir de déhydroépiandrostérone, par une préparation de placenta de Truie (AINSWORTH et RYAN, 1966). Sans nier la possibilité d'une biosynthèse d'œstradiol 17 $\alpha$  à partir d'androgène, il y a aussi une faible synthèse à partir de l'œstrone et de l'œstradiol 17 $\beta$  administrés. Cependant, il ne nous est pas possible de préciser si cette transformation s'effectue à partir de l'œstrone ou de l'œstradiol 17 $\beta$  directement (fig. 4).

La 16 $\alpha$  hydroxy-œstrone et le 16-céto-œstradiol 17 $\beta$  sont les principaux métabolites de l'œstrone chez la Truie gravide. Ces deux composés sont détruits en milieu alcalin ; ce fait explique peut-être que certains auteurs ne les ont pas détectés. Les

rappports tritium sur carbone 14 de ces deux composés sont très voisins, ce qui rend vraisemblable l'hypothèse d'une interconversion  $16\alpha$  hydroxy-œstrone  $\rightleftharpoons$  16-céto-œstradiol 17 $\beta$  (fig. 4). La formation d'œstriol à partir de l'œstrone et de l'œstradiol confirme les travaux cités précédemment et il est probable que sa formation et celle de ses épimères s'effectuent à partir des couples  $16\alpha$  hydroxy-œstrone et 16-céto-œstradiol 17 $\beta$  (fig. 4). La formation des 16-épi-œstriol implique une  $16\beta$ -stéroïde déshydrogénase qui a été observée par CHRISTIE (1968) au niveau du trophoblaste de Truie.

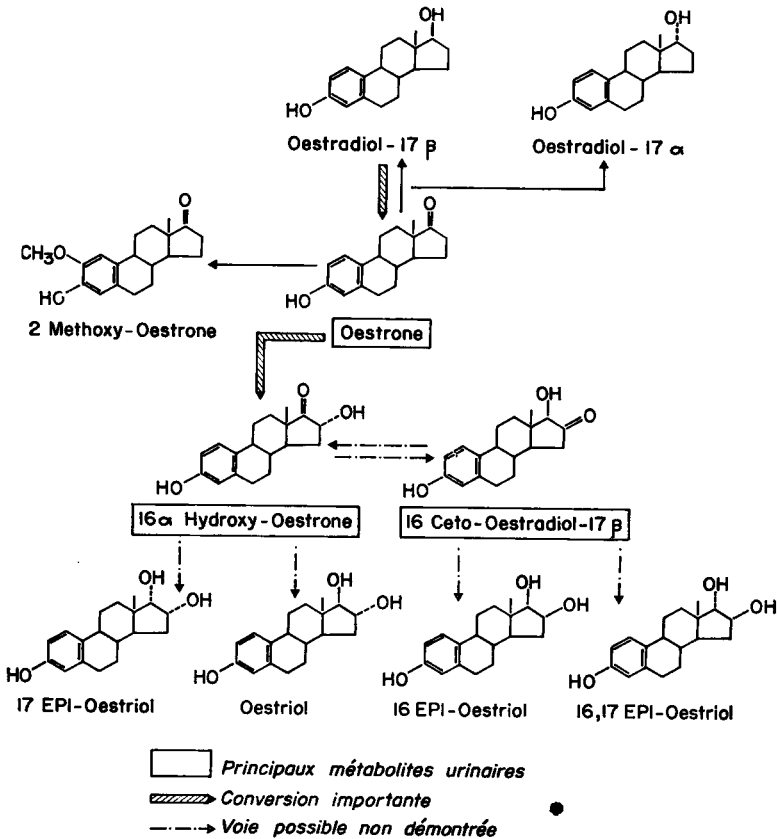


FIG. 4. — Schéma du métabolisme des œstrogènes chez la Truie gravide

Nos résultats permettent d'établir chez la Truie un schéma préliminaire du métabolisme des œstrogènes (fig. 4), dont certaines étapes sont à préciser. En outre, il apparaît nécessaire de déterminer l'excrétion de ces nouveaux composés principalement celle du couple  $16\alpha$  hydroxy-œstrone et 16-céto-œstradiol 17 $\beta$  au cours de la gestation chez la Truie.

Reçu pour publication en mai 1971.

## SUMMARY

## ŒSTROGEN METABOLISM IN THE PREGNANT SOW

## I. — URINARY ŒSTROGENS

In the pregnant sow oestrone is the main oestrogen in the urine ; however, various studies appear to show the existence of other urinary oestrogens. After intravenous injection of oestrone- $^{14}\text{C}$  and oestradiol  $17\beta$ - $^3\text{H}$  to a pregnant sow we undertook to analyze radioactive urinary oestrogens using two methods :

— the first, for analytical purpose had been described by BREUER (1964) ;

— the second, for quantitative determination, derived from those described by ADLERCREUTZ and LUUKAINEN (1967) (fig. 1 and 2).

We isolated and identified the following oestrogens in the pregnant sow urine, using the constant specific activity crystallisation test : oestrone, 2-methoxy-oestrone,  $16\alpha$  hydroxy-oestrone,  $16$  keto-oestradiol  $17\beta$ , oestradiol  $17\alpha$  and  $17\beta$ , and oestriol and its three epimers, all labelled by  $^3\text{H}$  and  $^{14}\text{C}$  (table 2 and 3). Oestrone was isolated in sufficient quantity to be identified by its infrared spectrum (fig. 3) and melting point.

A large portion of oestrone (80 p. 100) is not metabolized (table 4). The injected oestradiol  $17\beta$ - $^3\text{H}$  is almost completely transformed and especially into oestrone.  $16\alpha$  hydroxy-oestrone and  $16$  keto-oestradiol  $17\beta$  are thus the main metabolites. There is a little oestriol.

Although some transformation had not been demonstrated in the pregnant sow we worked out the figure 4 which is discussed.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADLERCREUTZ H., LUUKAINEN T., 1967. New methods for estimation of oestrogens in urine of non pregnant individuals. In *Chromatographie en phase gazeuse des stéroïdes hormonaux appliquée aux liquides biologiques*. C. R. *Table Ronde Paris*, mai 1969, Dunod.
- AINSWORTH L., RYAN K. J., 1966. Steroid hormone transformations by endocrine organs from pregnant mammals. I. Estrogen biosynthesis by mammalian placental, preparations *in vitro*. *Endocrinology*, **79**, 875-883.
- ATTAL J., HENDELES S. M., ENGELS J. A., EIK-NES K. B., 1967. Elution of steroids after thin layer chromatography. *J. Chromatog.*, **27**, 167.
- ATTAL J., 1968. Communication personnelle.
- BREDECK H. E., MAYER D. T., 1958. Estrogenic steroids in swine pregnancy urine. *Reproduction and infertility*. III. *Symposium*, 157-166, Pergamon Press, Paris.
- BREUER H., 1964. Occurrence and determination of the newer oestrogens in Human urine. In *Research on steroids. Transactions of the first meeting of the International study Group for steroid hormones*, Rome, Italy, **1**, 138-148.
- CHRISTIE G. A., 1968. Distribution of hydroxysteroid dehydrogenase in the placenta of the pig. *J. endocr.*, **40**, 285-291.
- DOBRINER K., KATZENELLENBOGEN E. R., NORMAN JONES R., 1963. In *Infrared absorption spectra of steroids*. An Atlas. Interscience Publishers Inc. New York.
- ECHAUTE W., DEMEESTER G., LEUSEN I., 1969. A practical method for the fractionated fluorimetric estimation of estrogens in pregnancy urine. *Steroids*, **13**, 101-120.
- FÈVRE J., LÉGLISE P. C., ROMBAUTS P., 1968. Du rôle de l'hypophyse et des ovaires dans la biosynthèse des œstrogènes au cours de la gestation chez la Truie. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 225-233.
- FÈVRE J., 1970 a. Conversion en œstrone de quelques stéroïdes  $\text{C}_{19}$  chez la Truie gestante. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 25-35.
- FÈVRE J., 1970 b. *Rôle des surrénales maternelles dans la production d'œstrogènes chez la Truie gravide* (en préparation).
- KUBOMICHI M., 1966. Studies of the urinary estrogens of the pregnant sow. *Nat. Inst. anim. Health Quart.*, **6**, 33-42.
- LISBOA B. P., DICZFALUSY E., 1962. Separation and characterization of steroid estrogen by mean of thin layer chromatography. *Acta Endocr.*, **40**, 60-81.

- LUNAAS T., 1962. Urinary oestrogen level in the sow during oestrous cycle and early pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, **4**, 13-20.
- LYNGSET O., VELLE W., 1968. *In vivo* metabolism of oestrogens in liver tissues from domestic animals. *Acta. Endocr.*, **59**, 682-688.
- NEUDERT W., ROPKE H., 1965. *Steroid Spektrenatlas*. Springer Verlag, Berlin.
- REASIDE J. I., 1963. Urinary oestrogen excretion in the pig during pregnancy and parturition. *J. Reprod. Fert.*, **6**, 427-431.
- ROMBAUTS P., 1962. Excrétion urinaire des oestrogènes chez la Truie pendant la gestation. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **2**, 151-156.
- ROMMEL P., ROMMEL W., 1962. Quantitativ chemisch untersuchungen über die Östrogenausscheidung im Urin des Schweines während Brunstzyklus, Trachtigkeit und Frühpuerperium. *Zuchthyg. Fortpfl. StörBesam. Haustiere*, **6**, 224-239.
- TERQUI M., ROMBAUTS P., FÈVRE J., 1968. Répartition urinaire et fécale de l'excrétion des oestrogènes chez la Truie et la Brebis. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 339-348.
- VELLE W., 1959. Isolation of oestrone from the urine of the pregnant sow. *Acta. Vet. Scand.*, **1**, 19-26.
- WEINMAN S., WEINMAN J., 1965. Spectres infrarouges région 1 300-450 cm. *Analyse des stéroïdes hormonaux*. Tome III, Masson C<sup>ie</sup> éd., Paris.
-