

## Efecto de la administración de ACTH sobre la liberación de testosterona de la célula de Leydig

A. Aznar M., A. Romero Z., E. Herrera Justiniano, M. Díaz G.  
y A. Aznar R.

Servicio de Endocrinología  
Departamento de Medicina Interna  
Hospital Universitario  
Sevilla

(Recibido el 12 de julio de 1977)

A. AZNAR-M., A. ROMERO-Z., E. HERRERA-JUSTINIANO, M. DIAZ-G. and A. AZNAR-R.  
*Effect of ACTH Administration on Liberation of Testosterone by the Leydig Cell.*  
Rev. esp. Fisiol., 34, 97-102. 1978.

The possible rôle of the Leydig cells in the changes of testosterone levels induced by ACTH administration is studied. 14 male Wistar rats weighing about 300 g were separated in two groups. One was treated with 1 mU.I./100 g/day of ACTH i.m. for 6 days and the other with saline solution as control. Rats, testes and adrenal glands were weighed and plasma testosterone levels were measured. The Leydig cells dispersed collagenase was incubated for 120 min at 37° C in the presence and in the absence of 10 mU.I. of HCG. The weight of adrenal glands in the treated rats was greater than in the control group. Treated rats had lower plasma values than the controls. Testosterone secretion by the Leydig cells, in basal situation and after stimulation with HCG, was lower in the treated group.

Leydig cells of untreated rats were incubated with 12.5, 6.2, 3.1, 1.5 mU.I. of ACTH and supplemented with 2.5 pU.I. of HCG. No difference in testosterone secretion in either groups was observed.

Dentro del capítulo de las interacciones hormonales se ha venido recogiendo una serie de datos obtenidos en la experimentación animal (2, 3, 7, 8, 10) y que hablan de la posible influencia del ACTH sobre los niveles de testosterona circulante, quedando por determinar si su modificación se debe a alteraciones en cualquiera de los órganos productores de esta hormona (suprarrenales o testes), o en la

transformación tisular periférica de otros compuestos a testosterona. En el presente trabajo hemos estudiado si el tratamiento con ACTH en la rata adulta macho origina un descenso de los niveles de testosterona plasmática circulante, así como el papel desempeñado por las células intersticiales testiculares en el citado descenso. Para ello se midió la capacidad de liberación de testosterona de células de

Leydig aisladas procedentes de los testes de las ratas sometidas a terapia con ACTH.

### Material y métodos

Se han utilizado ratas *Wistar* machos, adultas, de 200-300 g de peso, con período día-noche de 10 horas y 20-25° C de temperatura ambiental. Dieta *ad libitum*.

De un grupo de 14 ratas, 7 animales fueron inyectados i.m. durante 6 días con 1 U.I./100 g de peso/día de ACTH depot (Nuvacthen® depot. CIBA). Los animales restantes considerados controles fueron tratados con solución salina fisiológica, siguiendo la pauta anterior.

Se sacrificaron con éter, pesándose, así como sus testes y suprarrenales, tomándose una muestra sanguínea para valoración de testosterona plasmática.

Células intersticiales procedentes de los testes de las ratas fueron dispersadas con colagenasa a 37° C e incubadas durante 120 min con y sin 10 mU.I. de gonadotrofina coriónica (HCG), según la técnica de DUFAY *et al.* (4).

A su vez, en otros experimentos, las células intersticiales procedentes de ratas no tratadas se incubaron según la misma técnica, con dosis crecientes de ACTH (3,1, 6,25, 12,5 mU.I.) y, paralelamente, con ACTH a las mismas dosis suplementadas con 2,5 mU.I. de HCG.

**Análisis radioinmunológico.** Tanto las determinaciones de testosterona plasmática como la testosterona liberada al medio de incubación fueron realizadas por análisis radioinmunológico (5).

La hormona marcada ( $\Delta_4$ -androstano-17  $\beta$ -ol-3 one) 1A 2A-<sup>3</sup>H fue obtenida de Radiochemical Center Ltd. (Amersham); la hormona standard de Sigma (St. Louis) y las hormonas empleadas como estímulo del sistema celular de Sero Immuno Chemicals (HCG humana) y Ciba (ACTH depot). El anticuerpo, anti-testosterona 3-oxima BSA, procede de Endocrine Sciences.

Para los estudios estadísticos, en cuanto a la significatividad de diferencias entre los datos de los diferentes grupos de animales e incubaciones, se usó la *t* de Student.

### Resultados

**Efectos del tratamiento con ACTH sobre el peso de órganos.** Los efectos de la administración intramuscular de 1 U.I. por 100 g peso/día, durante 6 días, sobre el peso del animal, peso de testes y de ambas suprarrenales, no muestran diferencias estadísticas respecto del grupo control (tabla I).

A su vez, con respecto al peso de suprarrenales, la diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ( $p < 0,02$ ), siendo muy superior el peso

Tabla I. Pesos de animales, testes y ambas suprarrenales en ratas adultas machos ( $M \pm sd$ ) tratadas con 1 U.I./100 g peso/día durante 6 días con ACTH depot.  
Número de animales por grupo, 7.

Tratamiento	Peso (g)			Relación peso suprarrenales/animal
	Animal	Suprarrenales	Testes	
Salino fisiol.	316,71 $\pm$ 9,304	0,0521 $\pm$ 0,009	3,2354 $\pm$ 0,383	0,1595 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,027
ACTH 1 U.I.	319 $\pm$ 15,853	0,0865 $\pm$ 0,031	3,0416 $\pm$ 0,272	0,2780 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,104
P	NS	<0,02	NS	<0,02

NS = No significativo.

de dichas glándulas en las ratas tratadas con ACTH; efecto que sigue objetivándose al considerar el peso del animal ( $p < 0,02$ ).

*Efectos del tratamiento con ACTH sobre los niveles plasmáticos de testosterona.* Tras los 6 días de tratamiento los niveles de testosterona circulante en las ratas tratadas con ACTH fueron inferiores.

De los niveles de testosterona plasmática circulante en el momento de la muerte en ambos grupos de animales destaca el menor valor medio ( $205,71 \pm 111,25$ ) del grupo de las ratas tratadas, frente al del grupo control ( $327,62 \pm 116,96$ ), siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) (fig. 1).

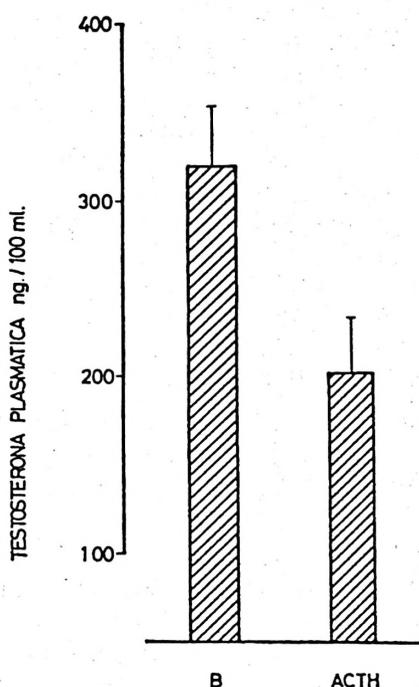


Fig. 1. Estudio comparativo entre los niveles de testosterona circulante ( $M \pm sd$ ) en siete ratas adultas tras la administración de ACTH depot (1 U.I./100 g peso/día) durante 6 días y los de un grupo considerado control (B) que recibieron suero salino fisiológico ( $P < 0,05$ )

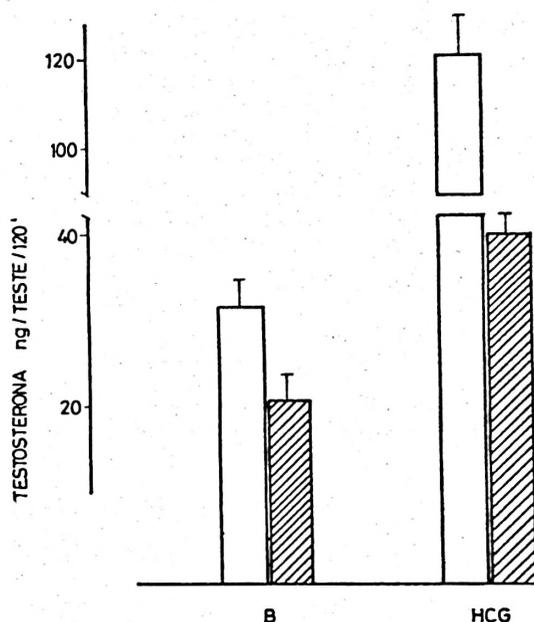


Fig. 2. Testosterona liberada ( $M \pm sd$ ) al medio de incubación por células intersticiales testiculares procedentes de ratas tratadas con ACTH (barra rayada) y ratas controles (barra clara) y tanto en presencia de (HCG) como en ausencia (B) de gonadotrofina coriónica. Cada barra representa el valor medio de cinco incubaciones independientes, siendo valorada posteriormente la testosterona por triplicado en cada una de ellas.

*Incubación de células intersticiales. Efecto del tratamiento con ACTH sobre la liberación de testosterona.* La testosterona liberada por las células intersticiales de las ratas tratadas, tanto en situación basal como tras estimulación con 10 mU.I. de HCG, fue inferior ( $p < 0,01$ ) a la testosterona liberada por las células intersticiales procedentes de las ratas controles (fig. 2, tabla II).

*Incubación de células intersticiales. Efecto del ACTH y de ACTH y HCG en su liberación de testosterona.* La liberación de testosterona por las células incubadas con ACTH a distintas dosis (fig. 3) no difirió estadísticamente al ser comparada entre sí y con aquellas incubadas en ausencia de hormona.

Tabla II. Testosterona liberada al medio de incubación ( $M \pm sd$ ) por células intersticiales tratadas con 1 U.I./100 g peso/día durante 6 días con ACTH depot.

Grupo	Testosterona ng/teste/min
I. Tratadas con salino fisiológico	
Blanco (PBS)	32,288 $\pm$ 3,279 *
HCG (10 mU.I.)	123,244 $\pm$ 11,898 **
II. Tratadas con ACTH	
Blanco (PBS)	20,865 $\pm$ 3,249 *
HCG (10 mU.I.)	40,606 $\pm$ 6,806 **

\*  $p < 0.01$ ; \*\*  $< 0.01$ .

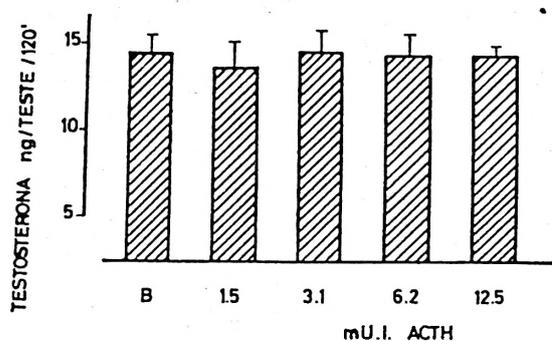


Fig. 3. Estudio comparativo de la testosterona liberada al medio ( $M \pm sd$ ), por células intersticiales procedentes de ratas no tratadas, cuando se incubaron con solución tampón fosfosalino (B) y diferentes dosis de ACTH.

No existió diferencia significativa al comparar los distintos grupos entre sí. Cada barra es el valor medio resultante de cinco incubaciones individuales y de la valoración de testosterona por triplicado en cada una de ellas.

Similares resultados ofrecieron células intersticiales incubadas en idénticas condiciones a las antes expuestas, pero adicionadas a su vez con 2,5 mU.I. de HCG. La producción de testosterona fue mayor en todos los grupos, aunque sin diferencias significativas entre ellas (fig. 4).

### Discusión

Los niveles de testosterona plasmática obtenidos para ambos grupos de ratas

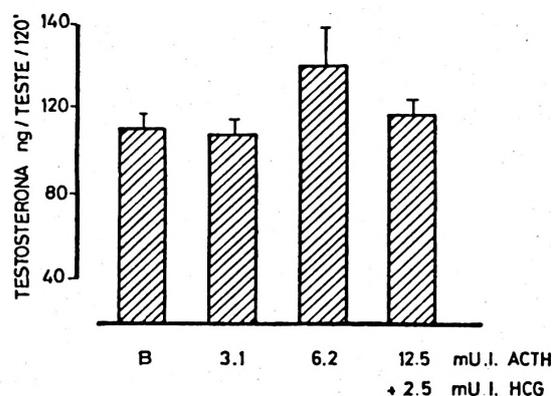


Fig. 4. Estudio comparativo de la testosterona liberada al medio ( $M \pm sd$ ) por las células intersticiales procedentes de ratas no tratadas incubadas todas ellas con 2,5 mU.I. de HCG.

B con solución tampón fosfosalino y los otros grupos con distintas concentraciones de ACTH. La comparación de los distintos grupos entre sí no ofreció diferencia estadísticamente significativa. Cada barra es el valor medio resultante de cinco incubaciones individuales y de la valoración de testosterona por triplicado en cada una de ellas.

muestran que, en las condiciones experimentales usadas, la administración de ACTH indujo a un descenso de la testosterona plasmática circulante en las ratas tratadas. Este hallazgo contrasta con el presentado por VERJANS y EIK-NESS (12), que, tras tratar cuatro ratas, durante 7 días, con 6 U.I./día de ACTH de acción corta, no observaron cambios en los niveles de testosterona. La razón para dicha discrepancia podía hallarse en la menor actividad biológica presente en el ACTH de acción corta utilizado por dichos autores. También han sido descritos descensos de testosterona circulante, en clínica humana, tras la administración de ACTH por BEITTINS *et al.* (1), ROSENFELD *et al.* (11) y PIZARRO *et al.* (9).

Paralelamente resultó muy evidente la menor liberación de testosterona, con y sin HCG, objetivada en la incubación de las células intersticiales testiculares de las ratas tratadas con ACTH, sugiriendo que

dichas células jueguen un papel fundamental en los menores niveles circulantes de testosterona objetivados.

Finalmente, lo anteriormente expuesto plantea a nuestro juicio si la afectación ACTH-inducida registrada es producida por la propia corticotrofina o por un producto secundario relacionado de alguna forma con ella. La falta de descenso en la liberación de testosterona al incubar células intersticiales de las ratas del grupo control directamente con diversas dosis crecientes de ACTH y ACTH junto con HCG hacen poco probable un efecto primario de esta hormona sobre la célula de Leydig, sugiriendo un efecto secundario: aumento de glucocorticoides, estrógenos, etcétera.

### Resumen

Se estudia el comportamiento de la célula de Leydig en las modificaciones que sufren los niveles circulantes de testosterona tras el tratamiento durante 6 días, con 1,5 U.I./100 g/día de ACTH de acción prolongada, en un grupo de ratas Wistar machos.

Tras el sacrificio y peso de los animales, testes y suprarrenales se valoró testosterona plasmática, incubándose seguidamente las células intersticiales testiculares dispersadas con colagenasa a 37° C durante 120 minutos con y sin 10 mU.I. de HCG.

El peso de las suprarrenales de los animales tratados fue muy superior a los del grupo control (tratados con solución fisiológica). Los niveles de testosterona circulante fueron inferiores en las ratas tratadas, así como la testosterona liberada por las células de Leydig tratadas, tanto en situación basal como con HCG.

Paralelamente, células de Leydig procedentes de ratas sin tratar se incubaron con 12,5, 6,2, 3,1 y 1,5 mU.I. de ACTH y las mismas dosis de ACTH adicionadas con 2,5 mU.I. de HCG. No se observaron diferencias en la liberación de testosterona en ambos grupos de células.

### Bibliografía

1. BEITINS, I. Z., BAYARD, F., KOWARSKI, A. y MIGEON, C. J.: *Steroids*, 21, 553-561, 1973.
2. CHRISTIAN, J. J., LLOYD, J. A. y DAVIS, D. E.: *Recent Prog. Horm. Res.*, 21, 501-508, 1964.
3. CLARK, A. F., RAESIDE, J. I. y SOLOMON, S.: *Endocrinology*, 76, 42-433, 1965.
4. DUFAY, M. H., MENDELSON, C. R. y CATT, K. J.: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 39, 610-613, 1974.
5. FURUYAMA, S., MAYES, D. M. y NUGENT, C. A.: *Steroids*, 16, 416-428, 1970.
6. KIRSCHNER, M. A., LIPSETT, M. B. y COLLINS, D. R.: *J. Clin. Invest.*, 44, 657-665, 1965.
7. LIPTRAP, R. M. y RAESIDE, J. J.: *J. Endocr.*, 42, 33-43, 1968.
8. LIPTRAP, R. M. y RAESIDE, J. J.: *J. Endocr.*, 66, 123-131, 1975.
9. PIZARRO, M. A., ARREDONDO, R., KOLANOWSKI, J. y THOMAS, K.: En «Research on Steroids», vol. 4 (CASSANO, C., FINKELSTEIN, M., KLOPPER, A. y CONTI, C., ed.), North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1970 p. 303.
10. RAESIDE, J. J.: *Acta Endocrinologica*, 50, 611-616, 1965.
11. ROSENFELD, R. L., EBERLEIN, W. R. y BONGIOVANNI, A. H.: *J. Endocr. Metab.*, 29, 854-859, 1969.
12. VERJANS, A. L. y EIK-NESS, K. B.: *Acta Endocrinologica*, 81, 198-207, 1975.

