

Un índice de la función suprarrenal en la rata

E. Rodríguez

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad de Granada
(España)

(Recibido el 8 de mayo de 1971)

E. RODRIGUEZ. *An Index of Adrenal Function in the Rat*. R. esp. Fisiol., 27, 293-296. 1971.

A simple method to measure steroids in rats'urine is described. Steroids in rats'urine do not change after gonadectomy, they increase after ACTH administration. They decrease and resappear after adrenalectomy or after dexametasone administration. Urine steroids as measured by this method could be a good index of the adrenal cortex activity in the rat.

En la especie humana es indiscutible la utilidad de la determinación de esteroides en orina como prueba de la actividad suprarrenal, así como la respuesta a ACTH de esta glándula.

Entre las técnicas empleadas actualmente para determinar esteroides en orina, el método de Zimmerman adolece de una gran falta de especificidad, ya que es sensible a todos aquellos metabolitos de esteroides con un grupo cetogénico en el C-17.

En la rata la vía de formación de cortisol es una vía pasiva, mientras que la corticosterona es la vía activa (4). Elimina gran parte de sus esteroides por heces y bilis, no obstante, por orina, elimina también una serie de catabolitos: androsterona; eticolanona; 17-hidroxiesticolanona; 11-cetoeticolanona; 11-hidroxiandrosterona; 11-cetoandrosterona; 3-hidroxi-5-ene-17-diona; 5-androstano-3-11-17-

triona-dehidroepiandrosterona (11). Gran parte de ellos se eliminan como 17 y 21-cetosteroides medibles por la técnica de Zimmerman.

Se intenta en este trabajo ver si esta falta de especificidad de la técnica de Zimmerman puede ser aprovechada para medir en la rata los catabolitos de los esteroides que se eliminan por la orina y, de esta manera, establecer un índice de función suprarrenal cuya simplicidad de realización compensaría el margen de error.

Material y métodos

Ratas machos de la raza Nestle, entre 180 y 200 g de peso, con dieta equilibrada, se aíslan en jaulas metabólicas donde se recogen la totalidad de la orina eliminada durante veinticuatro horas. En nuestras jaulas metabólicas se recoge la orina sin contaminarse con las heces; esto es

importante, ya que su mezcla introduce un grave error de valoración.

En las bateas de recogida de orina se añade CIH para evitar la proliferación de gérmenes.

Se mide el volumen de orina y se filtra. En el filtrado se hace la hidrólisis, extracción y reacción de Zimmerman. La extracción se hizo con dicloretileno, siguiendo después la reacción de Zimmerman para la valoración de esteroides.

Prueba de ACTH. Se realiza una determinación basal de esteroides, seguida de la administración de 1 U.I. de ACTH por vía intraperitoneal durante 3 días seguidos. Cada 24 horas, a partir del primer día de la inyección, se determinan los esteroides en orina.

Prueba de la dexametasona. Se hace determinación de esteroides basales y se administran dos inyecciones diarias de 0,005 mg de dexametasona y durante tres días se miden los esteroides en orina, cada 24 horas.

Suprarrenalectomía. Se sigue la técnica quirúrgica descrita por POUMEAU DELILLE (10) y se determinan esteroides en orina 24 horas antes y 24, 48 y 72 horas después de la intervención quirúrgica.

Gonadectomía. Técnica quirúrgica de POUMEAU DELILLE (10) y determinación de esteroides 24 horas antes y 24, 48 y 72 horas después de la operación.

Extracto de suprarrenales. Se trituran dos suprarrenales y se maceran con un homogenizador. En este macerado se realiza la técnica de Zimmerman antes mencionado.

Peso de suprarrenales. Después de extraerlos quirúrgicamente, se pesa en una balanza de torsión con una sensibilidad de 0,01 mg.

Resultados

En la determinación de esteroides en orina, en el grupo de ratas controles, se encuentran unas cifras comprendidas entre 120-170 μg (tabla I) a las 24 horas, con una media de 155. El peso de suprarrenales oscila de 12 a 18 mg y una media de 15,7 mg.

Tras la administración de ACTH estos valores se incrementan notablemente con cifras de 420 a 560 μg a las 24 horas (media, 496 μg). El peso de suprarrenales se incrementa paralelamente con valores de 24 a 36 mg (media de 29,2).

Tras la gonadectomía, los valores de esteroides y suprarrenales no sufren apenas modificación alguna, pues los resul-

Tabla I. Efecto de la gonadectomía, suprarrenalectomía, ACTH y dexametasona sobre el peso de las suprarrenales (mg) y la eliminación de esteroides ($\text{mg} \times 10^{-2}/24 \text{ h}$) por la orina.

Se encuentran diferencias significativas entre los grupos controles y las inyectadas con ACTH ($P = 0,05$). En el peso de suprarrenales hay también diferencias significativas entre los grupos controles y las inyectadas con ACTH ($P = 0,05$). No hay diferencias significativas entre las ratas controles y gonadectomizadas. La cifra de esteroides en orina es indetectable después de la suprarrenalectomía o inyección de dexametasona.

	Esteroides $\text{mg} \times 10^{-2}/24 \text{ h}$		Peso suprarrenales mg		
Controles	15,50 \pm 1,43		15,70 \pm 2,22		
Respuesta a ACTH IU	49,60 \pm 3,90		29,20 \pm 3,28		
Gonadectomía	14,90 \pm 1,13		14,70 \pm 1,26		
Días: 0	1	2	3	4	
Esteroides $\text{mg} \times 10^{-2}/24 \text{ h}$					
Suprarrenalectomía					
	15 \pm 0,77	4,83 \pm 0,30	3,50 \pm 0,40	1,33 \pm 0,50	0,33 \pm 0,46
Dexametasona					
	15 \pm 0,80	6,80 \pm 0,58	5,20 \pm 0,34	3,30 \pm 0,66	0,50 \pm 0,70

tados oscilan entre 130 a 170 μg (media 149 μg), y el peso de las suprarrenales presenta unos valores de 13 a 17 mg (media, 14,7 mg). Tras la suprarrenalectomía los valores van descendiendo paulatinamente hasta hacerse indosificables a los cuatro días.

Tras la prueba de dexametasona se obtienen los mismos resultados que después de la suprarrenalectomía, apreciándose un descenso y desaparición en las cifras de esteroides tras su administración.

En extractos de suprarrenal se obtienen cifras de 120, 110 y 130 μg de esteroides.

Discusión

La valoración de esteroides en orina de rata presenta, como principal dificultad, la presencia de cromógenos que interfieren con el color de la reacción. Para la eliminación de éstos se han ensayado distintos métodos con resultados poco satisfactorios (1): colorimetría en distintas longitudes de onda (2, 5); adsorción con carbón (8); reactivos especiales (6); etc.

Esta dificultad puede eludirse estandarizando la dieta de los animales de experimentación (1), por variar con la dieta los pigmentos urinarios. Además, el uso del dicloroetileno como extrayente de esteroides tiene ventajas sobre los otros empleados por arrastrar menos pigmentos (9).

La coloración debida a los catabolitos de los 20-cetosteroides (pregnenolona, pregnanodiona, etc.), que produce un compuesto coloreado con absorción máxima a 490 $m\mu$, es sólo un 20% de la absorción correspondiente a la concentración normal de 17-cetosteroides (3).

Con la técnica propuesta por nosotros los valores de esteroides, 17-cetogénicos, en ratas controles oscilan entre 150 y 170 μg en las 24 horas. En la literatura no son numerosos los trabajos sobre valores normales. DEL GRECO *et al.* (3), dan una media de 190 μg .

KOLLIER y DE GUIUSEPE encuentran valores de 250 a 350 μg . pero no dan detalles del método seguido (7).

Como se observa en nuestros resultados, los esteroides medidos en la orina de rata, mediante esta técnica, están presentes en la glándula suprarrenal, desaparecen mediante la suprarrenalectomía y tratamiento con dexametasona, aumentan a consecuencia de la administración de ACTH y no se afectan por la gonadectomía. Todo ello parece indicar que pueden utilizarse como índice adecuado de la actividad de la corteza de la glándula suprarrenal.

Resumen

Se describe un método sencillo y fiable de determinación de esteroides en orina de rata. Los esteroides medidos por este método no varían por la gonadectomía y aumentan tras la inyección de ACTH; disminuyen hasta desaparecer tras la adrenalectomía bilateral o la administración de dexametasona. Los resultados obtenidos hacen suponer que la eliminación de esteroides en orina medidos por este método puede ser un buen índice de la actividad suprarrenal en la rata.

Bibliografía

1. BURSTEIN, S.: *Endocrinol.*, **50**, 412, 1952.
2. BURSTEIN, S. G., JACOBSON y LIEBERMAN, S.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **82**, 1226, 1960.
3. DEL GRECO, F., MASSON, G. M. C. y GARCORAN, A. C.: *Proc. Exp. Biol. Med.*, **80**, 354, 1952.
4. DORFMAN, R. I. y UNGAR, F.: «The metabolism of steroid hormones». Academic Press, New York, 1965.
5. DREKTER, I. J., HEISLER, A. J., SCIEM, G. R., STERN, S., PEARSON, S. y MAGGAVACH, T. M.: *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **12**, 55, 1952.
6. ESPOSITO, L. y BONOMOIE, A.: *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, **32**, 1188, 1856.
7. KOLLIER, M., DE GUISEPPE, L.: *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **29**, 546, 1953.

8. LOMBARDO, M. E., WISCELI, T. A., MITTERLMAN, A. y HUDSON, P. B.: *J. Biol. Chem.*, 212, 353, 1953.
9. NORIMBESKI, J. K., STUBBS, R. D. y WEST, N. F.: *Lancet*, 1, 1276, 1953.
10. POUMEAN DELILLE, G.: «Techniques biologiques en Endocrinologie experimental chez la rat». Masson et Cie, París, 1953.
11. SCHUBERT, K. y WENBERGER, S.: *Physiol. Chem.*, 328, 173, 1962.