

Dosaggio dei corticoidi totali in un frammento di ghiandola surrenale umana

In un precedente lavoro¹ avevamo descritto un metodo per determinare gli steroidi contenuti in piccole quantità di tessuto surrenale. Descriviamo in questa breve nota una applicazione del procedimento all'analisi di un frammento di una ghiandola surrenale prelevata in una paziente nel corso di un intervento chirurgico.

Il frammento ghiandolare appena prelevato è stato portato a -20°C e conservato in tali condizioni per circa 24 ore prima dell'estrazione. L'estrazione dei lipidi e degli steroidi è stata effettuata mediante una metodica derivata da quella di FOLCH, LEES & SLOANE-STANLEY². Il frammento, liberato dai tessuti circostanti e pesato (g 1,9), è stato triturato in mortaio con sabbia di quarzo lavata ed estratto con 4 aliquote successive di 50 ml di cloroformio-metanolo 2:1 per agitazione a freddo nel medesimo recipiente per circa 5 minuti.

Dopo filtrazione su setto G3, l'estratto è stato lavato col 20 % di acqua e poi lasciato in riposo. Avvenuta la separazione delle fasi, si evaporava sotto vuoto la fase cloroformica per eseguire la pesata del residuo.

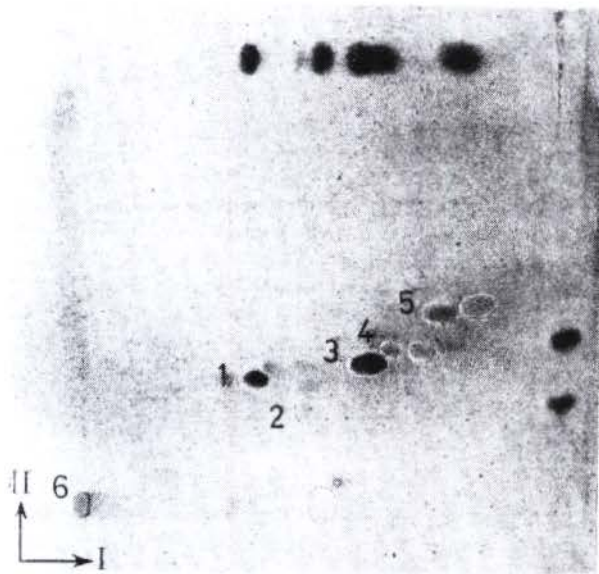


Fig. 1. — Cromatografia bidimensionale dell'estratto di ghiandola surrenale umana. Esame alla luce U. V. (zone cerchiata) e rivelazione con reattivo al BT.

1: idrocortisone - 2: aldosterone - 3: corticosterone - 4: composto S - 5: composto A (?) - 6: origine.

Le frecce indicano i successivi sensi di migrazione.

Il residuo è stato disciolto in benzina-etero 80:20 e cromatografato, secondo il metodo già descritto¹, in colonna di gel di silice con le seguenti caratteristiche: diametro interno 18 mm, altezza 350 mm, carico 13,5 g di gel di silice attivato, altezza

del materiale adsorbente circa 100 mm. Le fasi eluenti erano: benzina-etero 80:20 ml 200; acetone ml 150.

Dopo evaporazione della frazione acetonica, il residuo è stato pesato (mg 4,4, pari allo 0,7 % dell'estratto cromatografato), poi ripreso con etanolo puro per spettrofotometria.

Su di una aliquota pari ad 1/30 dell'estratto è stata effettuata la reazione al blu di tetrazolio, con un micrometodo da noi descritto³.

La rimanente aliquota è stata sottoposta a cromatografia bidimensionale su strato sottile¹, con i seguenti solventi: 1) cloroformio-metanolo-acqua 90:10:0,8; 2) acetone-benzene-acido acetico 50:50:0,5; dopo lo sviluppo la cromatografia è stata esaminata alla U.V. e poi spruzzata con reattivo al blu di tetrazolio alcalino, per la rivelazione dei vari componenti.

I risultati quantitativi dell'analisi sono: lipidi totali mg 626, pari al 32,8 % con riferimento all'organo fresco. Per la ghiandola surrenale umana normale, ADAMS & BAXTER⁴ danno valori di lipidi totali intorno al 20 % del peso dell'organo fresco, quindi alquanto inferiori.

Il contenuto di sostanze tetrazolio riducenti totali è stato nel nostro caso di 6,6 mg per 100 g di organo fresco, paragonabile al valore normale di 5,5 mg per 100 g di organo fresco riportato da KLOOS & STAEMMLER⁵.

La cromatografia in strato sottile ha fornito un panorama qualitativo del contenuto steroideo della ghiandola: sono nettamente distinguibili i due corticoidi predominanti nel surrene umano, cioè idrocortisone e corticosterone⁶, accanto a quantità minori di aldosterone, composto S ed altri componenti minori (Fig. 1).

Si ringrazia il prof. V. Stipa della 1^a Clinica Chirurgica dell'Università di Roma per la collaborazione fornita nel prelievo del materiale operatorio.

14 marzo 1969

GIUSEPPE GIOCOLI, GUIDO CAVINA
e MARIA ESTER SEMPRINI (*)
Laboratori di Biologia

¹ CAVINA, G. & G. GIOCOLI. *Ann. Ist. Super. Sanità*, **4**, 53 (1968).

² FOLCH, J., M. LEES & G. H. SLOANE-STANLEY. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).

³ CAVINA, G., G. GIOCOLI & D. SARDINI. *Ann. Ist. Super. Sanità*, **3**, 579 (1967).

⁴ ADAMS, W. & M. BAXTER. *A.M.A. Arch. Pathol.*, **48**, 13 (1949).

⁵ KLOOS, K. & H.J. STAEMMLER. *Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.*, **324**, 285 (1953).

⁶ LIEBENMANN, R. E. *Schweiz. Med. Wochschr.*, **39**, 837 (1959).

(*) Ospite dei Laboratori di Biologia.