

CHROM. 9350

Note

Chromatographie des stéroïdes gonadiques sur Sephadex LH-20

P. GERMEAU et J. DUVIVIER

Service de Chimie médicale, Université de Liège, B-4020 Liège (Belgique)

(Reçu le 2 avril 1976; manuscrit modifié reçu le 17 mai 1976)

Le radioimmunoessai des hormones stéroïdes permet une surveillance plus facile de la fonction gonadique tant chez la femme que chez l'homme. L'exploration hormonale de l'ovaire porte à la fois sur la fonction folliculaire, lutéale et les androgènes. Toutefois, certains stéroïdes, tel l'oestradiol, sont parfois présents en quantité tellement faible qu'il est nécessaire, compte tenu de la sensibilité du radioimmunoessai, d'extraire 2 à 3 ml de sérum ou de plasma, si on désire obtenir des résultats suffisamment fiables. Dès lors, dans ces conditions, le dosage simultané de plusieurs stéroïdes gonadiques (progestérone, androstènedione, testostérone, dihydrotestostérone, oestrone, oestradiol, oestriol) réalisé sur des prélèvements séparés, exige des quantités importantes de sang et rend difficile leur dosage répété dans un laps de temps relativement bref.

De nombreux papiers ont été publiés, qui présentent une séparation simultanée de plusieurs stéroïdes sur un échantillon unique de plasma¹⁻⁶. Shapiro et Peron¹ et Sippell *et al.*² ont présenté des modes de séparation de corticostéroïdes sur Sephadex LH-20. Carr *et al.*³ présentent de nombreux systèmes mais aucun ne donne une séparation commune des androgènes et des oestrogènes. Par contre, Parker *et al.*⁶ donnent une séparation jumelée d'androgènes et d'oestrogènes. Toutefois, la séparation est réalisée sur colonne de Célite, dont la manipulation est plus laborieuse que le Sephadex LH-20, ne fût-ce que par la pression d'azote qu'il réclame pour hâter l'élution.

Cette courte note présente une méthode originale de séparation des sept principaux stéroïdes gonadiques impliqués dans l'exploration biologique des hirsutismes. La méthode chromatographique proposée permet de les doser sur un échantillon de sang n'excédant pas 5 ml.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

On place 2 g de Sephadex LH-20 sur une colonne de chromatographie en verre (190 × 10 mm D.I.). Le solvant éluant utilisé est constitué d'un mélange de solvant isoocétane-benzène-méthanol dont les proportions varient au cours de l'élution; 90:3:3 entre 1-42 ml, 90:15:15 entre 43-72 ml, 90:40:40 entre 73-102 ml.

RÉSULTATS

Les stéroïdes hormonaux sont parfaitement fractionnés et peuvent être dosés

avec précision sur une seule prise de sang de 5 ml. Les stéroïdes sont élués de la colonne dans l'ordre repris au Tableau I.

Cette séparation chromatographique peut servir non seulement dans l'exploration hormonale de la grossesse et des hirsutismes pour lesquels elle fournit le fractionnement des principaux androgènes concernés, mais aussi pour séparer les différents androgènes pour établir leur taux de production. Chez l'homme, elle permet notamment une exploration aisée des troubles de la spermatogenèse.

TABLEAU I

ÉLUTION DES STÉROÏDES GONADIQUES SUR SEPHADEX LH-20

<i>Steroi</i> de	<i>Volume d'élu</i> tion (ml)
Progestérone	14-19
Androstènedione	23-29
Dihydrotestostérone	32-42
Testostérone	49-55
Oestrone	59-68
Oestradiol	73-78
Oestriol	85-91
Oestétrol	94-102

BIBLIOGRAPHIE

- 1 B. H. Shapiro et F. G. Péron, *J. Chromatogr.*, 65 (1972) 568.
- 2 W. G. Sippell, P. Lehmann et G. Hollmann, *J. Chromatogr.*, 108 (1975) 305.
- 3 B. R. Carr, G. Mikhail et G. L. Flincklinger, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 33 (1971) 358.
- 4 G. E. Abraham, D. Tulchinsky et S. G. Korenman, *Biochem. Med.*, 3 (1971) 365.
- 5 N. Nagai et C. Longcope, *Steroids*, 17 (1971) 631.
- 6 C. R. Parker, Jr., J. O. Ellegood et V. B. Mahesh, *J. Steroid Biochem.*, 6 (1975) 1.