

Винахід відноситься до медицини, а саме до клінічної лабораторної діагностики і може бути використаний в діагностиці овуляції, кількісній оцінці функції жовтого тіла та в діагностиці ранніх термінів вагітності.

Відомий спосіб діагностики функції жовтого тіла за визначенням екскреції з сечею прегнандіолу в лютеїнову фазу циклу.

Відомий спосіб не дає змоги об'єктивно діагностувати функцію жовтого тіла за одноразовим визначенням екскреції прегнандіолу, визначення слід проводити на протязі циклу, показники екскреції вказують не тільки на функціональну активність жовтого тіла, а можуть підвищуватися і при патології кори надниркових залоз.

В основу винаходу поставлене завдання вдосконалити спосіб діагностики функції жовтого тіла, в якому проводять оцінку міжгормональних відношень складових 17-кетостероїдів, що забезпечує кількісну оцінку повноцінності жовтого тіла і по цій ознаці у випадку відсутності очікуваної менструації більш об'єктивно діагностують вагітність, що дає можливість направленої (доцільної) медикаментозної терапії, направленої на стимуляцію функції жовтого тіла.

Поставлена задача досягається тим, що в способі діагностики функції жовтого тіла, що включає забор сечі і визначення гормональної насиченості згідно винаходу визначають загальну кількість в сечі 17-кетостероїдів, проводять їх розподіл на окремі складові методом тонкошарової хроматографії, розраховують концентрацію окремих фракцій і виводять Індекс андрогенності 17-КС за формулою:

$$1A\ 17\text{-КС} = \frac{AD + 4 - AD + A + E}{11 - OA + 11 - OE}$$

де: 1A 17-КС - індекс андрогенності 17-кетостероїдів;

AD - андростандіон в мкмоль/добу;

4-AD - андростендіон в мкмоль/добу;

A - андростерон в мкмоль/добу;

E - етіхоланолон в мкмоль/добу;

11-OA - 11-оксиандростерон в мкмоль/добу;

11-OE - 11-оксietiхоланолон в мкмоль/добу;

одночасно визначають процентний вміст дегідроепіандростерону у складі 17-КС і при значенні індексу андрогенності 0,38-0,68 і дегідроепіандростерону 25-28% діагностують овуляторний менструальний цикл; при значенні Індексу андрогенності вище одиниці і дегідроепіандростерону нижче 20% діагностують ановуляторний менструальний цикл; при значенні Індексу андрогенності нижче одиниці і дегідроепіандростерону вище 30% і при відсутності очікуваної менструації діагностують вагітність,

Загальні ознаки з прототипом гормони досліджують в сечі і визначають в лютеїнову фазу менструального циклу, характеризують функцію жовтого тіла.

Винахідницький рівень заключається в не-очевидності змін міжгормональних відношень похідних андростероїдогенезу до глюко-кортикоїдів і сумарних 17-кетостероїдів.

Сукупність вказаних ознак приводить до досягнення можливості діагностувати функцію жовтого тіла і вагітність.

Спосіб здійснюється наступним чином: із добової сечі відбирають 30 мл сечі, додають 9 мл концентрованої HCl, 0,6 мл розчину формаліну (розведення 40% розчину у співвідношенні 1:5) і ставлять у кип'ячу водяну баню на 10 хв для гідролізу. Після гідролізу охолоджують і переносять у ділильну лійку, додають 30 мл диетилового ефіру (ефір для наркозу) і на протязі 3 хв. струшують для екстракції гормонів. Після розшарування ефірного екстракту і сечі, нижній шар (сечу) удаляють, а ефірний екстракт промивають один раз дистильованою водою (20 мл) і два рази 3 н розчином гідроксиду натрію. Очищений ефірний екстракт переносять у пробірку і на водяній бані (36-40°C) випарюють ефір. Сухий залишок розчиняють у 3 мл 96° етилового спирту і розділяють порівну (по 1 мл) у три хімічні пробірки для визначення сумарних 17-КС, дегідроепіандростерону і хроматографічного розподілу.

Визначення сумарних 17-КС проводять за допомогою кольорової реакції з 2% спиртовим розчином метадінітробензолу у лужному середовищі (3 н розчин KOH) за реакцією Ціммермана (1950).

Дегідроепіандростерон визначають за допомогою реакції із сірчаноокисно-спиртовим розчином (співвідношення 4:1) за Алленом і співавт. (1950).

Сухий залишок третьої пробірки розчиняють у 0,4 мл хлороформу і 0,1 мл розчину наносять на стартову лінію пластини із селу-фолом, яку поміщають у хроматографічну камеру і проводять розподіл у суміші бензолу з ацетатом у співвідношенні 4:1. Після досягнення фронту розчинників 14 см від стартової лінії пластину висушують на повітрі і наносять на поверхню селуфолу пульверизатором 10% спиртовий розчин фосфорномолібденової кислоти. Пластину витримують у сушильній шафі при температурі 103°C 3-5 хв. до візуалізації на пластині плям відповідних гормонів, ідентифікацію плям здійснюють за допомогою відповідних стандартів гормонів. За допомогою денситометрії (де-нситометер АФ-1 ВО "Львівприлад" чи "Еспрайз юніор" фірми "Бекман" (США). На денситограмі отримують процентний вміст кожного гормону, абсолютний показник (в мкмоль/добу) вираховують із сумарної кількості 17-КС.

Приклад 1. Хвора Н., 1969 р.н., поступила в гінекологічне відділення зі скаргами на неплідність на протязі трьох років.

З анамнезу: менструації почалися з 13 років, встановилися на протязі року, по 3-4 дні через 28 днів, регулярні, неволючі з помірною кількістю кров'янистих виділень. Замужем на протязі трьох років. Від вагітності не застерігалася. З приводу неплідності обстежується вперше. Об'єктивно: нормостенічної конструкції, оволошіння по жіночому типу. З боку серцево-судинної, дихальної, сечовидільної систем та органів травлення патології не виявлено.

Гінекологічний статус: зовнішні статеві органи розвинуті правильно, вхід в піхву вільний, шийка матки в дзеркалах чиста, зовнішнє вічко закрите, матка розміщена в нормальному положенні, правильних розмірів, рухома, неволюча при пальпації, додатки матки без особливостей. Склепіння вільні, неволючі. Виділення слизові, помірні.

Діагноз: первинна неплідність.

Проведенням досліджень запропонованим способом виявлено: 17-кетостероїди -56,1 мкмоль/добу, в їх складі: андростандіон - 4,2 мкмоль/добу, андростендіон - 0,3 мкмоль/добу, андростерон -9,2 мкмоль/добу, етіохоланолон - 1,4 мкмоль/добу, 11-ок-сиандростерон - 19,2 мкмоль/добу, 11-оксиетіохоланолон - 21,8 мкмоль/добу. Індекс андрогенності - 0,36. Екскреція дегідроепіандростерону становила - 1,5,7 мкмоль/добу, що складає 28% від сумарних 17-КС. Отримані дані дають підстави заключити, що функція жовтого тіла задовільна.

Діагноз: Менструальний цикл овуляторний, функція жовтого тіла задовільна.

Дане заключення підтверджено підвищенням на 1°C базальної температури, підвищенням рівня в крові прогестерону-38,9 нмоль/л/прегнандіолувсечі-14,1 мкмоль/добу.

Аналогічна хвора Д., 1970 р.н., поступила в гінекологічне відділення для проведення метросальпінгографії.

Проведено дослідження запропонованим способом на 16 день менструального циклу.

Отримано наступні дані: 17-кетостероїди -37,1 мкмоль/добу, в їх складі: андростандіон -5,6 мкмоль/добу, андростендіон - 0,4 мкмоль/добу, андростерон - 7,9 мкмоль/добу, етіохоланолон - 1,6 мкмоль/добу. 11-оксиандростерон - 9,4 мкмоль/добу, 11-оксиетіохоланолон - 12,2 мкмоль/добу. Індекс андрогенності - 0,68. Екскреція дегідроепіандростерону становила - 9,28 мкмоль/добу, що складає 25% від сумарних 17-КС.

Діагноз підтверджений даними УЗД, дослідженням в крові прогестерону - 139,2 нмоль/л та в сечі прегнандіолу - 114,5 мкмоль/добу, підвищенням базальної температури на 0,8°C.

Приклад. Пацієнтка Р., 1970 р.н., поступила в гінекологічне відділення зі скаргами на неплідність на протязі двох років.

В анамнезі: менструації почалися з 14 років, нерегулярні, через 31—38 днів, по 7 днів із збільшеною кількістю кров'янистих виділень. Заміжня на протязі двох років, вагітностей не було, остання менструація 5.04.94 р.

Об'єктивно: ознаки підвищеної ваги тіла (на 10%), ознаки гірсутизму, що характеризуються ростом волосся по білій лінії живота, в ареолярній ділянці та між молочними залозами. З боку серцево-судинної, дихальної, сечовидільної систем та органів травлення патології не виявлено.

Гінекологічний статус: зовнішні статеві органи розвинуті правильно, вхід в піхву вільний, шийка матки в дзеркалах чиста, зовнішнє вічко закрите, матка нормальних розмірів і в правильному положенні, рухома, неболіюча, яєчники дещо побільшені. Склепіння вільні, неболючі. Виділення слизові, помірні.

Діагноз: первинна неплідність, гірсутний синдром, ожиріння І ступ.

За результатами запропонованими гормональними дослідженнями встановлено: екскреція сумарних 17-КС - 48,4 мкмоль/добу, їх склад: андростандіон - 7,5 мкмоль/добу андростендіон - 4,5 мкмоль/добу, андростерон - 11,4 мкмоль/добу, етіохоланолон - 3,3 мкмоль/добу, 11-оксиандростерон - 6,1 мкмоль/добу, 11-оксиетіохоланолон - 15,6 мкмоль/добу. Індекс андрогенності - 1,26. Екскреція дегідроепіандростерону становила 7,8 мкмоль/добу, що складає 16,1% від сумарних 17-КС.

Діагноз: Менструальний цикл ановуляторний, відсутні ознаки функції жовтого тіла.

Діагноз підтверджений даними УЗД, дослідженням в крові прогестерону-2,5 нмоль/л та в сечі прегнандіолу- 4,6 мкмоль/добу.

Приклад. Пацієнтка П., 1971 р.н., звернулася в жіночу консультацію зі скаргами на затримку менструації на протязі п'яти днів.

В анамнезі: менструації з 12 років, встановились відразу, по 4-5 днів через 27-28 днів, регулярні, неболючі з помірною кількістю виділень. Замужем на протязі трьох років. Вагітність в анамнезі заперечує.

Об'єктивно: нормостенічної конституції. З боку серцево-судинної, дихальної, сечовидільної систем та органів травлення патології не виявлено.

Гінекологічний статус: зовнішні статеві органи розвинуті правильно, вхід в піхву вільний, шийка матки в дзеркалах чиста, зовнішнє вічко закрите, матка нормальних розмірів, в звичайному положенні, рухома, неболюча. Додатки без особливостей, склепіння вільні, не болючі, виділення слизові, помірні. За даними вагінального дослідження ознак вагітності виявити не вдалося.

Проведено дослідження за запропонованим способом: екскреція 17-кетостероїдів становила 45,6 мкмоль/добу, їх склад: андро-стандіон - 8,7 мкмоль/добу, андростендіон -1,4 мкмоль/добу, андростерон - 4,3 мкмоль/добу, етіохоланолон - 2,4 мкмоль/добу, 11-оксиандростерон - 10,2 мкмоль/добу, 11-оксиетіохоланолон - 18,6 мкмоль/добу. Індекс андрогенності становив 0,58. Екскреція дегідроепіандростерону дорівнювала 17,4 мкмоль/добу, що складало 38,1 % від сумарних 17-КС.

Наведені результати дали підставу діагностувати вагітність.

Наявність вагітності підтверджено при спостереженні за пацієнткою в майбутньому: через три тижні при ультразвуковому скануванні виявлено вагітність терміном 4-5 тижнів,

Обстежено 72 здорові жінки у віці від 19 до 38 років на протязі менструального циклу, дані статистичної обробки наведені в табл.1.

З наведених даних таблиці 1 витікає, що у ранній лютеїновій фазі менструального циклу спостерігається різке зниження Індексу андрогенності 17-КС та підвищення процентного вмісту ДЕА в сумарних 17-КС, що є ознакою овуляції і задовільної функції жовтого тіла.

У таблиці 2 наведені дані обстеження вагітних жінок у першому триместрі вагітності (32 жінки у віці від 21 до 36 років).

Дані обстеження показали, що у жінок з фізіологічною вагітністю Індекс андрогенності утримується на низьких показниках при паралельному зростанні процентного вмісту ДЕА в сумарних 17-кетостероїдах.

Перевагою запропонованого способу є наступне: комплексний підхід до діагностики функції жовтого тіла та ранніх термінів вагітності на підставі міжгормональних відношень значної кількості гормонів, що дає змогу об'єктивно оцінити функцію жовтого тіла з кількісною характеристикою.

Таблиця 1

Екскреція 17-кетостероїдів (17-КС), зміна Індексу андрогенності (ІА) та екскреція дегідроепіандростерону на протязі менструального циклу здорових жінок

Дослід- жувані показни- ки	Екскреція (мкмоль/добу) в дні менструального циклу						
	3-й	5-й	9-й	11-й	15-й	19-й	23-й
17-КС	$37,8 \pm 6,1$	$44,4 \pm 4,2$	$38,5 \pm 3,3$	$39,4 \pm 3,7$	$56,4 \pm 5,5$	$42,3 \pm 3,5$	$55,9 \pm 5,1$
ІА 17-КС	$0,91 \pm 0,1$	$1,18 \pm 0,2$	$1,32 \pm 0,1$	$2,79 \pm 0,3$	$0,37 \pm 0,04$	$0,38 \pm 0,04$	$1,15 \pm 0,1$
ДЕА	$6,6 \pm 0,59$	$7,5 \pm 0,71$	$6,3 \pm 0,54$	$8,6 \pm 0,91$	$15,7 \pm 1,20$	$12,3 \pm 1,40$	$11,6 \pm 1,20$
% ДЕА в 17-КС	$17,6 \pm 1,66$	$16,5 \pm 1,61$	$16,2 \pm 1,60$	$21,8 \pm 2,23$	$28,0 \pm 2,91$	$28,0 \pm 2,89$	$20,7 \pm 2,14$

Таблиця 2

Екскреція 17-КС, Індекс їх андрогенності І екскреція ДЕА у 32 жінок в І триместрі вагітності

Обстежені	Екскреція в мкмоль/добу та Індекс андрогенності			
	17-КС	ІА 17-КС	ДЕА	%ДЕА в 17-КС
Вагітні жінки у І триместрі	$40,5 \pm 5,1$	$0,73 \pm 0,07$	$15,9 \pm 2,3$	$39,3 \pm 5,6$
Контроль (здорові жінки у лю- теїновій фазі циклу)	$51,9 \pm 4,7$	$1,54 \pm 0,14$	$13,2 \pm 0,15$	$25,6 \pm 2,6$