

навіть при нормальному їх вмісті в добовій сечі співвідношення індивідуальних кетостероїдів іноді може бути сильно змінене.

Велике діагностичне значення має поділ 17-кетостероїдів на α - і β -фракції за допомогою дигітоніну. Проте методика ця порівняно складна і не завжди може бути застосована [1]. Тепер дедалі більший інтерес привертає метод хроматографічного функціонування 17-кетостероїдів, який дозволяє поділити їх на 4—8 і більше фракцій [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9], проте багато із запропонованих варіантів цього методу дуже складні і не можуть бути використані в клінічній практиці; в інших варіантах деякі етапи настільки спрощені, що створюється можливість одержання наближених даних. Ми [10] застосовуємо хроматографічне фракціонування 17-кетостероїдів за модифікованою методикою Дінгеманз [4]. В оригінальному прописі цю методику не можна застосовувати в клінічних умовах в зв'язку з її складністю і громіздкістю. Так, тривалість одного лише аналізу сечі становить понад десять днів, витрата бензолу дорівнює близько п'яти літрам. Ми прагнули усунути або принаймні змінити ряд прийомів, що перешкоджають використанню цієї методики, і зробити її більш практичною. Наш варіант, який був викладений на конференції Інституту біологічної і медичної хімії АМН СРСР, присвяченій біохімії кортикостероїдів і їх застосуванню в клінічній медицині в 1959 р., полягає ось у чому.

Р е а к т и в и: 1. Соляна кислота, концентрована, хімічно чиста. 2. Бензол для креоскопії, без тіофену, перегнаний. 3. Однонормальний їдкий натрій. 4. Натрій сірчаноокислий безводний. 5. Окис алюмінію (Al_2O_3) для хроматографії, стандартизований за Брокманом (прожарити і витримати не менше як сім днів в ексікаторі над 58%-ною сірчаною кислотою). 6. Стандартні розчини дегідроепіандростерону або андростерону і реактиви для реакції Циммермана [11].

Г і д р о л і з і е к с т р а к ц і я. 150 мл сечі (кислої реакції) екстрагують 50 мл бензолу в колбі із зворотним холодильником на водяній бані протягом однієї години при 85—90°. Охолоджують, переносять у ділильну лійку на 0,5 л, легко струшують протягом 3 хв., дають відстоятися, після чого бензол відділяють. Додають до сечі 15 мл соляної кислоти + 50 мл бензолу і в тій самій колбі на водяній бані продовжують екстракцію при одночасному гідролізі протягом двох годин. Потім бензол відділяють, а екстракцію продовжують з новою порцією бензолу. Всі три бензольних екстракти об'єднують, тричі промивають по 15 мл розчином їдкого натрію, тричі водою і висушують невеликою кількістю сірчаноокислого натрію (3—4 г). Екстракт кількісно переносять у колбу Вюрца і випарюють досуха під вакуумом при 60—70°.

Х р о м а т о г р а ф і я. Хроматографічну колонку (скляну трубку діаметром 5—6 мм, довжиною 23 см) в нижній звуженій частині закривають попередньо промитою і висушеною ватою. Приготовлену суспензію з 2 г окису алюмінію і 5 мл бензолу переносять у колонку та ущільнюють. Сухий залишок бензольного екстракту розчиняють у 10 мл бензолу, 2 мл якого обережно переносять у колонку. Ущільнення окису алюмінію та регуляція швидкості елюції здійснюються за допомогою вакуума або тиску повітря у камері футбольного м'яча. Стероїди елюються бензолом і етиловим

Фракції	№ елюатів	Назва найголовніших 17-кетостероїдів (за Дінгеманз)	Походження
I	1—2	Δ 2-андростен 3-Cl— Δ 5-андростен Δ 3:5-андростадиен	Утворюються при гідролізі з інших кетостероїдів в результаті неминучої дегідратації
II	3—4	<i>i</i> -андростен-6-ол	Кора надниркових залоз
III	5—8	Дегідроепіандростерон Епіандростерон	Кора надниркових залоз
IV	9—13	Андростерон	З дегідроепіандростерону, статевих гормонів, 11-дезоксид-17-оксикортикостероїдів
V	14—16	Етіохоланолон	
VI	17—18	11-Гідрокси-(11-кето)-андростерон 11-гідрокси-(11-кето)-етіохоланолон	Метаболіти кортикостероїдів, які мають кисневу функцію в положенні II
VII	19—20	неідентифіковані	

спиртом за такою схемою: бензол — 3 рази по 10 мл; бензол + 0,1 об. % етилового спирту — 10 разів по 10 мл; бензол + 0,5 об. % етилового спирту — 5 разів по 10 мл; спирт етиловий — 2 рази по 10 мл. Одержані 20 елюатів випарюють на водяній бані досуха. З сухими рештками, провадять реакцію Ціммермана з *m*-динітробензолом [11].

Якщо на осі абсцис позначити номери елюатів, а на ординаті — вміст в них кетостероїдів, то утворюється крива, яка звичайно має сім піків, кожний з яких відповідає певній групі стероїдів, (див. першу таблицю)

О. Кезер і співробітники [12] запропонували деякі з цих фракцій об'єднати і поділити всі 17-кетостероїди на чотири групи, які мають певне діагностичне значення, а саме: А — включає I і VII фракції (артефакти і неідентифіковані), Б — включає II і III фракції (кортикального походження), В — включає IV—V фракції і Г — VI фракцію. Більш детальні дані про походження і біологічне значення можна знайти в монографіях Н. А. Юдаєва [13, 14] і в ряді інших праць [4, 5, 9, 12].

Чисті препарати дегідроепіандростерону й андростерону, з якими провадили контрольні дослідження, відкривалися на 90—97% і їх вихід повністю відповідав елюатам III і IV фракцій. Нижче наводимо середні дані розподілу 17-кетостероїдів по фракціях у сечі здорових людей.

Автор	Стать	мг на добу	в мг фракції				в % фракції			
			А	Б	В	Г	А	Б	В	Г
Дінгеманз	жін.	10,86	2,31	1,82	5,28	1,45	21,3	16,8	48,6	13,3
»	чол.	19,53	1,74	5,15	9,44	2,50	12,5	26,4	48,3	12,8
Шпанар	»	18,29	2,39	4,65	9,55	1,70	13,1	25,4	52,2	9,3
Наші дослідження	жін.	10,0	1,94	1,86	5,24	0,96	19,4	18,6	52,4	9,6

На закінчення наводимо деякі практичні вказівки.

1. Щоб запобігти підвищеній дегідратації, необхідно гідроліз проводити в умовах максимального щадіння. Для цього потрібно до проведення кислотного гідролізу екстрагувати вільні кетостероїди, а самий гідроліз провадити при одночасному екстрагуванні, чим досягається вилучення звільнених стероїдів із сфери впливу кислоти. Останнім часом рекомендують провадити ферментативний гідроліз з β -глюкуронідазою, який має передувати кислотному гідролізу.

2. Всі етапи дослідження треба провадити в строго постійних умовах. Зокрема, велике значення має стандартизація окису алюмінію, що забезпечує постійність виходу фракцій у певних елюатах. Слід також урахувати адсорбційні можливості окису алюмінію (2 г Al_2O_3 можуть адсорбувати до 0,7—0,8 мг кетостероїдів).

3. При налагоджуванні і перевірці методики рекомендується збирати елюати не по 10, а по 5 мл. Отже, всього буде 40 елюатів, що дає можливість краще уточнити границі окремих фракцій і тільки після одержання відтворних результатів можна відповідно скоротити кількість елюатів до 20.

ЛІТЕРАТУРА

1. Уваровская О. М., Клин. медицина, № 3, 1951, с. 57.
2. Pond M. H., Lancet, 261, N 6690, 1951, p. 906.
3. Zygmuntowicz A. S., Wood M., J. Clin. Endocrin., v. 11, 1951.
4. Dingemans E., J. Clin. Endocrin., v. 12, N 1, 1952, p. 66.
5. Spanar E., Kellen, J. Casopis lek. ceskych., 92, N 30—31, 1953.
6. Johnsen S. G., Acta endocrin., 21, 1956, S. 127.
7. Staib W., Schild W., Klin. Wsch., Bd. 36, N 4, 1958, S. 166.
8. Zimmermann H., Staib W., Pelzer H., Klin. Wsch., N 20, 1958, S. 982.
9. Какушкина Е. А., Орлова В. Г., в кн. «Гормональные исследования в гинекологии», Медгиз, 1960, с. 140.
10. Зелінський С. П., Журн. невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова, № 8, 1956, с. 622.
11. Афиногенова С. А., Пробл. эндокринол. и гормонотерап., 5, 1955.
12. Käser O., Schweiz med. Wochenschr., N 16, 1959.
13. Юдаев Н. А., Биохимия стероидных гормонов, Медгиз, 1956.
14. Юдаев Н. А., Хим. методы определения стероидных гормонов в биол. жидкостях, Медгиз, 1961.

Надійшла до редакції
26. XII 1961 р.

Р. О. Фаї

Видання м
всмоктування, з
відсутність мов
відношенні про
Монографії
заключної част
1200 праць вітч
Спинаючи
етапах її розро
всмоктування. Д
і, нарешті, в ос
ції всмоктувань
У розділі
зумовлюють пер
прикладів довед
конами, а відбу
описана участь
Висвітлюю
всмоктуватись у
а також резуль
те, що шлунку
чували той фак
Викладаю
води в кишені
тування води в
У цьому
слизову оболон
підкреслюється
яльність шлун
Далі авто
між швидкістю
залежність. На
робітників про
фосфору, спол
Надзвичай
вплив середови
солей. Підкрес
відзначає, що р
Це питання по
З необхід
основі власних
лова, автор пе
Слід підкресли
у шлунку. Опи
вання відбуває
що всмоктуван
з автором в то
всмоктування
відповідних по
мальному ліку
Автор спр
всмоктування