

O ROLI HORMONÓW W MIKROSKOPOWO-CHEMICZNEJ METODZIE ROZPOZNAWANIA CIAŻY

Z Zakładu Fizjologii Akademii Medycznej w Poznaniu

Kierownik: prof. dr E. Czarnecki

i z Zakładu Fizjologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

Kierownik: doc. dr E. Miętkiewski

W roku 1946 *Piotr Masłowski* opisał własną metodę rozpoznawania ciąży. Ta empirycznie wypracowana próba ciążowa wymaga jednak wielu jeszcze badań, które pozwolą obiektywnie osądzić jej wartość kliniczną i wyczerpująco uzasadnić jej podstawy teoretyczne. Dotychczas bowiem wiadomo w tej sprawie niewiele ponad to, że pod wpływem moczu kobiety ciężarnej kwas borny wypada z roztworu w postaci typowych zespołów krystalicznych, które są na tyle charakterystyczne, że na podstawie ich morfologicznej oceny można stwierdzić lub z dużym prawdopodobieństwem wykluczyć ciążę.

Sama zasada ciążowej próby Masłowskiego jest bardzo prosta i pozwala przypuszczać, że próba ta znaleźć może szerokie zastosowanie, mimo istnienia bardzo wielu sposobów laboratoryjnego wykrywania ciąży. Wszystkie one bowiem muszą mieć pewne braki, skoro nadal istnieje potrzeba poszukiwania nowych. Główną zaletą omawianej próby jest prostota jej metodyki, a przede wszystkim niezwykle krótki czas potrzebny do uzyskania odpowiedzi na pilne często pytanie, czy badana kobieta istotnie jest w ciąży.

Do wykonania tej próby potrzebne są jedynie: mikroskop, szkiełka podstawowe oraz bardzo łatwe do nabycia i tanie odczynniki chemiczne. Z tego już powodu metodą tą posługiwać się może codziennie każdy lekarz nie tylko w małych zakładach leczniczych, ale nawet na każdej placówce lecznictwa otwartego, gdzie trudno byłoby posługiwać się innymi metodami opartymi przeważnie o badania biologiczne na zwierzętach.

Wiele dotychczas znanych i z różnym powodzeniem stosowanych prób ciążowych daje wyniki dopiero po kilku dniach, a przynajmniej po wielu godzinach od rozpoczęcia badania, podczas gdy mikroskopowo-chemiczna próba ciąży wymaga w tym celu zaledwie kilkunastu minut. Mimo to jednak zainteresowanie mikroskopowo-chemiczną próbą ciążową jest tak niewielkie, że prawie nie stosuje się jej w praktyce, a teoretycznie wypowiedzi na jej temat zaledwie kilku autorów (*Ber, Chwojnowski, Masłowski, Ożegowski, Runge, Wrzosek*). Przyczyną tego braku zainteresowania może być mała czułość próby, którą dla wczesnych ciąży oceniał dotychczas na niewielkim materiale *Ożegowski* jedynie na 53%, podczas gdy w późniejszych okresach ciąży ma ona, zdaniem tego autora, wynosić

95%. Wydaje się też możliwe, że ta nowa metoda nie budzi szczególnego zainteresowania dlatego również, że jest ona z jednej strony przesadnie prosta, z drugiej zaś — bardzo słabo uzasadniona teoretycznie i wciąż jeszcze jest przez samego autora zmieniana i modyfikowana.

Biorąc pod uwagę, że odrzucenie lub uznanie każdej nowej metody badań wymaga obiektywnego i szczegółowego uzasadnienia, należałoby na dostatecznie dużym materiale określić czułość próby Masłowskiego w różnych okresach ciąży. Trzeba by po prostu sprawdzić tę próbę, ocenić jej wartość rozpoznawczą i przydatność w klinice. Z drugiej strony bardzo ważnym wydaje się zagadnienie naukowego uzasadnienia tej metody, czyli wykazanie przyczyn, od których bezpośrednio zależy pozytywny wynik próby, aby móc stwierdzić, jak ściśle te przyczyny związane są z ciążą, którą metoda ma wykrywać.

Skoro kwas borny wypada z roztworu po dodaniu moczu kobiety ciężarnej w postaci innych zespołów krystalicznych niż po dodaniu moczu męskiego lub moczu zdrowej kobiety nie będącej w ciąży, to bezspornie w moczu kobiet ciężarnych są jakieś czynniki warunkujące pozytywny wynik próby Masłowskiego. Czy występują one w moczu jedynie w czasie ciąży, w jakich jej okresach najobficiej, a zwłaszcza jakiej natury są te warunki zmieniające krystalizację kwasu bornego — dzisiaj z pewnością nie wiadomo.

Można przypuszczać jedynie, że w moczu kobiety ciężarnej gromadzą się w większej ilości znane hormony matki i płodu, które zmieniają krystalizację kwasu bornego w tak typowy sposób, że na tej podstawie rozpoznać można ciążę. Niekoniecznie jednak muszą to być znane hormony płciowe.

Może przecież chodzić o wydalanie z moczem podczas ciąży jakichś niepoznanych dotychczas ciał, powstających w gruczołach dokrewnych czynnościowo związanych z rozwojem ciąży. Równie dobrze sam skład i fizykochemiczne własności moczu ciężarnej tak mogą zmieniać się w wyniku przystosowania ustroju matki do nowych warunków bytu, jakim jest dla niej ciąża, iż bez istnienia specjalnych ciał hormonalnych zmienić się musi krystalizacja jako zjawisko wybitnie zależne od wpływów środowiskowych. Rozumie się również, że przyczyną pozytywnego wyniku próby ciążowej może być nie tylko wystąpienie w moczu podczas ciąży jakichś ciał wyzwalających, ale tak samo można przyjąć, że w moczu kobiety ciężarnej brakuje jakichś własności hamujących i to umożliwia typową dla tej próby krystalizację kwasu bornego.

Zarówno z pobudek praktycznych, jak też z uwagi na pewne perspektywy teoretyczne postanowiliśmy przyczynić się do częściowego wyjaśnienia tego bezspornie niełatwego problemu. W szeregu przedstawianych tu doświadczeń chodzi nam o wykazanie, jak wypadnie mikroskopowo-chemiczna próba ciążowa z moczem kobiety ciężarnej, jeżeli z tego moczu wyeliminuje się znane hormony obficie z moczem wydalane w czasie ciąży.

W szczególności chodzi o wykazanie, czy pozytywny wynik w ciążowej próbie Masłowskiego zależy od zwiększonej ilości hormonów gonadotropowych lub naturalnych ciał estrogennych w takiej postaci, w jakiej są one wydalane z moczem podczas ciąży. Jasno zdajemy sobie sprawę z tego, że jest to zaledwie wstęp do badań, które rzeczywiście mogą wyjaśnić istotną przyczynę pozytywnych wyników w ciążowej próbie Masłowskiego, a w przyszłości dać mogą podstawę do rozpoznawania płci płodu przed jego urodzeniem, jeżeli metabolizm płodu i jego funkcja wewnątrzwydzielnicza dostatecznie zmieniły może własności moczu matki.

METODYKA

Badania nasze polegały na tym, że różnymi sposobami wyosobnialiśmy z moczu kobiet ciężarnych ciała gonadotropowe lub estrogenne, sprawdzając zawsze skuteczność dokonanego wyosobnienia, a następnie metodą Masłowskiego stwierdzaliśmy, czy tak przygotowany mocz dawać będzie nadal wyniki zgodne z tymi, jakie uzyskaliśmy z tego samego moczu przed wyosobnieniem badanych ciał hormonalnych.

W innych doświadczeniach używaliśmy moczu kobiet nieciężarnych, do którego dodawaliśmy hormonów obficie występujących w moczu podczas ciąży i badaliśmy, czy na tej drodze uzyska się dodatni wynik w omawianej próbie, jak gdyby mocz pochodził od kobiety ciężarnej. Skuteczność dodawanych ciał gonadotropowych sprawdzaliśmy biologicznie w kontrolnych doświadczeniach na zwierzętach.

Badania mikroskopowo-chemiczne wykonywał autor próby w zalecany przez siebie ostatnio sposób.

Świeży, cewnikiem pobrany mocz doprowadza się do ciężaru wł. 1011, określając go w temperaturze $+22^{\circ}$ za pomocą areometru pozwalającego na dokładne odczytywanie w okolicy podziałek 1005—1015. Mocz o niższym c. wł. zagęszcza się przez odparowanie, a bardziej stężony rozcieńcza się wodą destylowaną. Mocz powinien być lekko kwaśny lub najwyżej obojętny, mocze alkaliczne nie nadają się do zwykłych badań tą metodą.

Do małej parowniczkowej porcelanowej odmierza się pipetką, np. zakraplaczem ocznym, 8 kropeł tak przygotowanego moczu, 2 krople ogrzanego uprzednio do rozpuszczenia, zalegającego na dnie kryształów, 24% wodnego roztworu kw. bornego, 3 krople 10% jodiny oraz 1 kroplę 0,25% prontosilu używanego do wstrzykiwań. Wymieszaną zawartość parowniczkowej przynosi się na szkiełko podstawowe z oszlifowanymi krawędziami w ten sposób, aby płyn rozlał się równomiernie na przestrzeni o wymiarach ok. 6×2 cm, poczynając od jednej z krótkich krawędzi szkiełka. Trzymając za niepokrytą płynem część szkiełka lub umieściwszy je na odpowiednim statywie, ogrzewa się od spodu małym płomieniem palnika w krótkich odstępach czasu celem wyparowania płynu do możliwie cienkiej warstwy. Od tej chwili pozostawia się preparat w temperaturze pokojowej aż do wyparowania wody, czyli wyraźnego ustąpienia kryształów. Aby uniknąć rozlewania się płynu na całą powierzchnię szkiełka, należy je umieścić poziomo z lekko uniesionym końcem, który nie jest pokryty badaną mieszaniną. Gotowy preparat ogląda się w 50-krotnym powiększeniu przez mikroskop lub nawet makroskopowo.

Pozytywny wynik tej próby ciążyowej polega na stwierdzeniu w cienkich partiach preparatu przewagi agregatów z różowo podbarwionych kryształów, które są mocno rozgałęzione na podobieństwo krzewów, złożonych ze smukłych, wydłużonych, jak gdyby popękanych gałązek. Oddzielnych tworów pałeczkowatego kształtu lub samotnych kryształów 6-bocznych nie spotyka się wówczas w preparacie w ogóle lub też występują one tylko sporadycznie.

W preparatach otrzymanych z moczu kobiety w pierwszej połowie ciąży kryształki cieńszej warstwy są bardziej wydłużone i rozkrzewione, co daje się niekiedy zauważyć nawet okiem nieuzbrojonym.

W preparatach uzyskanych z moczu kobiety w drugiej połowie ciąży wszystkie kryształki ulegają znacznemu wydłużeniu i rozkrzewieniu się. Daje to możliwość odróżnienia w większości przypadków preparatów z drugiej połowy ciąży od preparatów z moczu kobiety nieciężarnej na podstawie badania wyłącznie makroskopowego.

Gdyby dla kontroli użyć tych samych odczynników, ale zamiast moczu kobiety ciężarnej zastosować odpowiednie ilości wody, to w tak przygotowanym preparacie zabaczy się liczne 6-boczne kryształy oraz zespoły krystaliczne o kształcie pojedynczych lub najwyżej nieznacznie rozgałęzionych pałeczek.

Również mocz kobiet nieciężarnych, choć daje inny wynik niż opisany poprzednio — po zastosowaniu czystej wody i odczynników, przedstawia obraz wyraźnie różny od pozytywnego, czyli typowego w przypadku użycia moczu kobiety ciężarnej. W preparatach z moczu

kobiety nieciążarnej występują różne ilości kryształów w kształcie pałeczek prostych lub nieznacznie rozgałęzionych oraz zespoły kryształów krzewiastych, jednak o krótkich wypustkach i ostrych zarysach. Cechą charakterystyczną dla braku ciąży jest tu obecność drobnych i mało rozkrzewionych zespołów krystalicznych, widocznych w cieńszych warstwach preparatu nawet makroskopowo.

Kilkakrotne uważne porównanie preparatu przygotowanego z moczu zdrowej kobiety nieciążarnej z takimże preparatem przygotowanym z moczu kobiety będącej napewno w ciąży — wystarczy, aby każdy sam nauczył się odczytywać wyniki w mikroskopowo-chemicznej metodzie rozpoznawania ciąży, przynajmniej na początek w późniejszych jej okresach.

Można by wprawdzie mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej zarzucać pewną dowolność w odczytywaniu wyników. To jest prawda, gdyż w próbie tej nie posługujemy się żadną bezwzględną jednostką pomiarową, lecz ogólnym obrazem zespołu kryształów w ocenianym preparacie. Jednak — czy którakolwiek inna próba ciążowa nie wymaga wprawy i doświadczenia w odczytywaniu wyników? Zawsze są one też tylko wysoce prawdopodobne, a nie matematycznie ścisłe, mimo że próby te są poza tym daleko trudniejsze do wykonania, długotrwałe i mogą być stosowane jedynie w jako tako urządzonych pracowniach klinicznych.

WYNIKI DOŚWIADCZEN

1. Już na podstawie samego sposobu przygotowania preparatów w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej można przypuszczać, że przyczyną pozytywnego wyniku tej próby nie mogą być ciała gonadotropowe, przynajmniej w takiej postaci, w jakiej są one zawsze zawarte w moczu, gdyż białkowa ich natura nie wytrzymałaby gotowania stosowanego w omawianej metodzie rozpoznawania ciąży. To przypuszczenie mogliśmy stwierdzić w szeregu następujących doświadczeń:

a) Z 500 ml moczu kobiety ciężarnej w końcowym okresie ciąży wyosabniano gonadotropiny na drodze strącania ich poczwórną objętością 96% alkoholu etylowego i przemywania na sączku eterem dwuetylowym. Kilkakrotnie rozpuszczony w wodzie destylowanej i ponownie strącony alkoholem osad suszono na sączku i dzielono na 5 równych części. Każda z tych porcji zawierała oczyszczone z grubsza gonadotropiny wydobyte ze 100 ml moczu. Przypuszczając możliwość nieuniknionych strat ilościowych podczas całego procesu wyosabniania przyjęto w przybliżeniu, że w każdej porcji pozostała ilość gonadotropin odpowiadająca przynajmniej 50 ml użytego moczu.

Taką porcję gonadotropin dodawano do 50 ml moczu pobieranego od kobiet nieciążarnych. Próbkę tego moczu zbadano uprzednio na ciążę metodą mikroskopowo-chemiczną i skontrolowano biologicznie próbą Friedmanna. Obie próby wypadły, rzecz prosta, negatywnie.

Po dodaniu gonadotropin każdą próbkę moczu kobiet nieciążarnych ponownie zbadano na ciążę próbą Masłowskiego i Friedmanna. Tym razem wszystkie próbki moczu kobiet nieciążarnych, sztucznie zasilonych gonadotropinami, dały wyraźnie pozytywny wynik w próbie Friedmanna, ale wynik w mikroskopowo-chemicznej metodzie rozpoznawania ciąży pozostał ujemny.

Na tej podstawie mamy prawo wnioskować, że mocz kobiety nieciążarnej *in vitro* zasilony gonadotropinami w takiej ilości, że ciążowa próba Friedmanna wypada silnie dodatnio, nie wykazuje objawów ciążowych w próbie Masłowskiego, czyli gonadotropiny nie stanowią przyczyny swoistej kryształizacji w mikroskopowo-chemicznej metodzie rozpoznawania ciąży.

b) 10 próbek moczu kobiet ciężarnych, w tym dwie próbki z moczu z pierwszego dnia po porodzie, a jedną z pierwszego okresu ciąży, naświetlano lampą kwarcową w czasie 30—120 minut. Wszystkie próbki moczu dawały przed naświetlaniem wyraźnie dodatni wynik ciążyowy w próbach Friedmanna i Masłowskiego. Te same próbki moczu, po naświetleniu lampą kwarcową, dawały nadal dodatnie wyniki w próbie Masłowskiego, inimo że próba Friedmanna wypadła wtenczas w 50% negatywnie, gdyż gonadotropiny uległy zniszczeniu pod działaniem promieni pozafioletowych.

Wyniki tej grupy doświadczeń potwierdza poprzednio wysnuty wniosek, że gonadotropiny nie mogą być samodzielnym czynnikiem, od którego zależy pozytywny wynik w mikroskopowo-chemicznej metodzie rozpoznawania ciąży, skoro zniszczenie ciał gonadotropowych, tym razem promieniami ultrafioletowymi, nie zmienia swoistej krystalizacji kwasu bornego w moczu kobiety ciężarnej.

c) W pięciu próbkach moczu kobiet ciężarnych określono ciężar właściwy, oddziaływanie kwasowo-zasadowe, i we wszystkich stwierdzono dodatni wynik ciążyowych prób Friedmanna i Masłowskiego. Następnie 90 ml każdego moczu mieszało z 10 g kaolinu i wstrząsano przez 10 minut. Każdą porcję przesączono po uprzednim odstaniu i zdekantowaniu.

Wszystkie w ten sposób uzyskane przesącze adsorbowanego moczu nie zmieniły wyraźnie koloru, ciężaru właściwego i oddziaływania kwasowo-zasadowego. W przesączach tych ujemną stała się próba Friedmanna, ale pozytywnym pozostał wynik ciążyowej próby Masłowskiego.

Z tej grupy doświadczeń przekonaliśmy się, że czynniki odpowiedzialne za dodatni wynik omawianej próby ciążyowej nie adsorbują się na kaolinie i przechodzą do przesączu, podczas gdy gonadotropiny ulegają w tych warunkach adsorpcji, gdyż próba Friedmanna wypada ujemnie. Gonadotropiny nie są przeto przyczyną swoistej krystalizacji w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej.

d) Pięć próbek moczu kobiet w ostatnim miesiącu ciąży zbadano pod względem ciężaru właściwego i oddziaływania kwasowo-zasadowego oraz wykazano w nich pozytywny wynik w próbie Friedmanna i Masłowskiego. Do 90 ml każdego moczu dodano po 10 g węgla (*carbo medicinalis*) i wstrząsano w czasie 10 minut. Po odstaniu i zdekantowaniu każdą adsorbowaną porcję moczu przesączono.

Uzyskano przesącze bezbarwne, których pH, określane kolorymetrycznie nie uległo wyraźnej zmianie, ale zmniejszył się ich ciężar właściwy średnio o cztery podziałki areometru. Przesącze moczu po adsorpcji węglem aktywowanym dawały ujemny wynik zarówno w biologicznej próbie Friedmanna, jak i w mikroskopowej chemicznej próbie Masłowskiego.

Adsorpcja węglem aktywowanym pozbawia przeto mocz kobiety ciężarnej tych czynników, od których zależy pozytywny wynik w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej. Również gonadotropiny, warunkujące dodatni wynik próby Friedmanna, adsorbują się na węglu aktywowanym. Wydaje się, że bliższe poznanie tych składników moczu kobiety ciężarnej, które zatrzymały się na węglu użytym do adsorpcji, pozwoliłoby poznać czynniki, od których zależy pozytywny wynik mikroskopowo-chemicznej próby ciążyowej.

e) Pięć próbek moczu kobiet w drugiej połowie ciąży użyto do ciążyowych prób Friedmanna i Masłowskiego. W obu przypadkach uzyskano, rzecz prosta, wyniki dodatnie. Mocz ten gotowano następie przez 5 minut i ponownie badano obu wymienionymi metodami rozpoznawania ciąży. Tym

razem próba Friedmanna wypadła negatywnie, ale próba Masłowskiego dawała nadal wyniki dodatnie.

Zdenaturowanie gonadotropin w moczu kobiety ciężarnej nie wpływa na wynik mikroskopowo-chemicznej metody rozpoznawania ciąży, gdyż gonadotropiny nie stanowią swoistej przyczyny typowej krystalizacji w tej metodzie.

f) W ciągu ostatnich dwóch lat zbadano metodą mikroskopowo-chemiczną kilkanaście próbek moczu pobranego od nieciążarnych kobiet chorych, u których stwierdzono nabłoniak kosmkowy lub zaśniad groniasty. Wiadomo, że w obu tych schorzeniach mocz zawiera znaczne ilości gonadotropin pochodzenia łożyskowego, a mimo to wynik próby ciążyowej Masłowskiego wypadł we wszystkich tych badaniach negatywnie.

Na podstawie około 3000 badań wykonanych metodą mikroskopowo-chemiczną doszliśmy do wniosku, że krystalizacja kwasu bornego pod wpływem moczu kobiet ciężarnych staje się bardzo typowa począwszy od trzeciego miesiąca ciąży i nasila się do jej końca. Znacznie mniej zróżnicowane są te kryształy i słabiej rozkrzewione są ich agregaty pod wpływem moczu kobiet w pierwszych dwóch miesiącach ciąży. Jeśliby przyjąć, że stopień rozkrzewienia zespołów krystalicznych w próbie Masłowskiego zależy od gonadotropin, to właśnie w początkowych okresach ciąży powinno to rozkrzewienie być najsilniejsze, gdyż w tym okresie mocz zawiera największą ilość ciał gonadotropowych. W późniejszych okresach ciąży zawartość gonadotropin w moczu zmniejsza się i utrzymuje się do końca ciąży na równym poziomie, to znaczy wynosi mniej więcej 80% największej wartości początkowej. Wobec tego w późniejszych okresach ciąży próba Masłowskiego powinna wypadać mniej wyraźnie.

Uwzględniając odwrotne wyniki doświadczeń utwierdzamy się w przekonaniu, że charakterystyczna krystalizacja kwasu bornego, jako podstawa mikroskopowo-chemicznej próby ciążyowej, nie zależy bezpośrednio od ciał gonadotropowych, zawartych w moczu kobiet ciężarnych.

2. Uznając za udowodnione, że gonadotropiny nie są przyczyną swoistego sposobu krystalizacji kwasu bornego w ciążyowej próbie Masłowskiego, usiłowaliśmy z kolei wykazać, czy roli tej nie spełniają naturalne estrogeny wolne albo związane, jakie w większej ilości wydalają się z moczem kobiet podczas ciąży.

Na podstawie szeregu następujących doświadczeń mogliśmy się przekonać, że folikulina wolna, którą można z moczu wyosobnić przez ekstrakcję eterem lub oliwą, nie jest przyczyną pozytywnego wyniku w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej. Natomiast nie mogliśmy dowieść tego co do ciał estrogennych, jakie wywołują w moczu w formie zeszktyfikowanej kwasem siarkowym lub glikoronowym. Zbieżność ilościowej zawartości estrogenów w poszczególnych okresach ciąży i porodu z nasileniem krystalizacji w próbie Masłowskiego podczas tych okresów zdaje się jednak przemawiać za tym, że czynnikiem warunkującym pozytywny wynik w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej mogą być właśnie te związane formy estrogenne.

a) Próbkę moczu od pięciu kobiet w końcowych okresach ciąży sprawdzono do ciężaru właściwego 1011 w temp. + 22° i stwierdzono w nich dodatni wynik za pomocą mikroskopowo-chemicznej próby ciążyowej. Próbkę tę zlano do jednego naczynia, zadano połową objętości eteru dwuetylowego i wstrząsano przez 30 minut. Ekstrahowaną mieszaninę moczu z eterem pozostawiono na dwie godziny w rozdzielaczu. Po upływie tego czasu przy-

gotowano dwa preparaty. Jeden z moczu pozbawionego wolnych estrogenów przez wyciąganie eterem, a drugi — z eteru, który powinien zawierać wyciągnięte z moczu estrogeny niezestryfikowane.

Preparaty z moczu kobiety ciężarnej pozbawionego wolnych estrogenów przez ekstrakcję eterem dawały nadal dodatni wynik w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej, a krystalizacja odbywała się tak samo, jak przed dokonaniem ekstrakcji. Nie od wolnych przeto estrogenów zawartych w moczu kobiety ciężarnej zależeć musi swoista krystalizacja w próbie Masłowskiego.

Do przygotowania drugiego rodzaju preparatów użyto 2 ml eteru z nad powierzchni ekstrahowanego moczu. Eter odparowano do 8 kropli pozostałości, której używano do badania na ciążę metodą mikroskopowo-chemiczną. W tym zagęszczonym wyciągu powinny znajdować się znaczne ilości wolnych estrogenów wydobytych z moczu kobiety ciężarnej i powinny one dawać typową dla ciąży krystalizację kwasu bornego.

Wynik próby Masłowskiego pozostał jednak w tym przypadku negatywny, co potwierdza poprzedni wniosek, że wolna folikulina nie jest przyczyną typowej krystalizacji w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążyowej.

Na podstawie tej serii doświadczeń próbujemy wyciągnąć wniosek, że ekstrahowanie moczu eterem nie wpływa na wynik mikroskopowo-chemicznej próby ciążyowej, a czynniki odpowiedzialne za jej pozytywny wynik nie przechodzą do wyciągu eterowego i tym samym nie należą do wolnych ciał estrogennych.

b) Mocz kobiet ciężarnych, pozbawiony w poprzednich doświadczeniach wolnych estrogenów przez wyciąganie eterem, mogący zawierać już tylko folikulinę związaną w formie siarczanów lub glikoronianów, poddano hydrolizie kwaśnej, aby zwiększyć w nim ilość wolnych estrogenów i umożliwić następnie całkowitą ich ekstrakcję eterem. W tym celu 100 ml moczu zakwaszono stężonym kwasem siarkowym do pH 1 i gotowano pod chłodnicą zwrotną przez 30 minut. Użyty do hydrolizy kwas siarkowy zobojętniano wodorotlenkiem baru. Po wytrąceniu i opadnięciu siarczanu baru, płyn z nad osadu dekantowano i sączono. Przesącz powinien zawierać dużą ilość wolnych estrogenów, uwolnionych przez hydrolizę związków folikulin. Preparat przygotowany z przesączu zhydrolizowanego moczu kobiety ciężarnej wykazuje zespoły kryształów nie pozwalające rozpoznać ciąży, mimo, że zawiera zwiększoną ilość wolnych estrogenów.

Zwiększenie ilości wolnej folikulin przez kwaśną hydrolizę moczu kobiet ciężarnych nie stwarza lepszych warunków krystalizacji w mikroskopowo-chemicznej próbie rozpoznawania ciąży, ale zmienia wygląd kryształów, najwidoczniej z powodu zmian, jakie zająć musiały w składzie i własnościach moczu pod wpływem samej hydrolizy.

c) Mocz kobiet ciężarnych, w którym przez hydrolizę usiłowano rozłożyć związane formy estrogenów, poddano ekstrakcji eterem, aby w ten sposób pozbawić go reszty estrogenów, jakie do momentu zhydrolizowania były jeszcze związane i nie poddawały się wyciąganiu eterem.

W tym celu 100 ml zhydrolizowanego moczu zadawano 50 ml eteru dwuetylowego i wstrząsano przez 30 minut. Mieszaninę zostawiono na dwie godziny w rozdzielaczu, po czym przygotowano dwa preparaty: jeden z moczu zhydrolizowanego i wyciąganego eterem, a drugi — z eteru użytego do wyciągania uwolnionych przez hydrolizę estrogenów.

Pierwszy preparat wykazuje kryształy nie typowe ani dla ciąży, ani dla moczu kobiet nieciężarnych. Widocznie sama hydroliza zmieniła właściwości

moczu w ten sposób, że stworzyła zupełnie nowe warunki krystalizacji kwasu bornego. Negatywny wynik próby Masłowskiego należy w tym przypadku wiązać nie z brakiem ciał estrogennych wolnych i związanych, całkowicie usuniętych z moczu, ale raczej z destrukcyjnym działaniem samej hydrolizy.

Drugi preparat przygotowywano z eteru użytego do wyciągania estrogenów uwolnionych w badanym moczu przez kwaśną hydrolizę. W tym celu pobierano 2 ml eteru z nad powierzchni ekstrahowanego moczu i oparowywano go do objętości 8 kropel. Tę pozostałość używano do badania na ciążę metodą mikroskopowo-chemiczną. Wynik próby pozostał w tym przypadku zawsze ujemny, mimo, że używano materiału wyciągowego zhydrolizowanego moczu kobiet ciężarnych, a więc ekstraktu, który winien zawierać znaczne ilości wolnych ciał estrogennych.

Znów potwierdza się poprzedni wniosek, iż wolna folikulina nie jest chyba przyczyną pozytywnego wyniku w mikroskopowo-chemicznej metodzie rozpoznawania ciąży. Kwaśna hydroliza moczu kobiet ciężarnych tak zmienia jego właściwości, że omawiana próba wypada wówczas ujemnie, dając jednak zupełnie inny obraz kryształów niż w przypadku użycia moczu kobiet nieciążarnych.

Opisane w punktach a), b), c) drugiej części tego referatu badania nad wpływem estrogenów na wynik mikroskopowo-chemicznej próby ciążowej dokładnie powtórzono z tą tylko różnicą, że do ekstrahowania folikuliny wolnej, jak również estrogenów uwolnionych przez hydrolizę, używano tym razem oliwy zamiast eteru. Wyniki tej grupy doświadczeń pokrywają się w zasadzie z poprzednimi, z tą tylko różnicą, iż z wyciągu olejowego nie udało się otrzymać preparatów metodą Masłowskiego.

Czynniki warunkujące pozytywny wynik w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążowej nie pozwalają wyosobnić się przez wyciąganie moczu kobiet ciężarnych eterem ani olejem. Tak samo wzbogacenie moczu w wolne estrogeny na drodze kwaśnej hydrolizy nie tylko nie ułatwia typowej dla ciąży krystalizacji kwasu bornego, ale krystalizacja ta zmienia się wówczas wyraźnie jakościowo.

Na podstawie całej drugiej grupy powyższych rozważań mamy prawo przypuszczać, że wolne formy estrogenów naturalnych wydalone z moczem kobiet ciężarnych nie decydują o typowej dla ciąży krystalizacji kwasu bornego, na której opiera się mikroskopowo-chemiczna próba ciążowa. Natomiast trudniej na tej podstawie osądzić, jaki wpływ wywierają pod tym względem estrogeny zestryfikowane; usunięcie ich znosi wprawdzie dodatni wynik tej próby, ale może to być równie dobrze skutkiem zmian ogólnych, jakie zachodzą niewątpliwie w fizykochemicznych właściwościach moczu pod wpływem samej hydrolizy, stosowanej przez ekstrakcję do uwolnienia związanych ciał estrogennych. Badania nad znaczeniem związanych estrogenów dla mikroskopowo-chemicznej próby ciążowej trwają, a wyniki ich zostaną podane w oddzielnym doniesieniu.

Biorąc jednak pod uwagę zbieżność intensywności typowej krystalizacji w próbie Masłowskiego z poziomem naturalnych estrogenów w moczu podczas pierwszych 2 miesięcy ciąży, w późniejszych jej okresach i wreszcie w pierwszych dniach po porodzie, można z pewnym prawdopodobieństwem mniemać, że przyczyną pozytywnego wyniku w mikroskopowo-chemicznej próbie ciążowej może być, jeżeli nie na pewno, to przypuszczalnie — hormon pęcherzykowy w postaci estrogenów związanych.

W pierwszych dwóch miesiącach ciąży poziom folikuliny w moczu zwiąk-

sza się powoli i stosunkowo nieznacznie. Poziom ten zaczyna szybko wzrastać w trzecim miesiącu ciąży i utrzymuje się w zakresie dużych wartości aż do jej końca. Po odbytych porodzie zawartość estrogenów w moczu szybko maleje i w przeciągu kilku dni spada do wartości spotykanych u kobiet nieciążarnych.

Badanie preparatów otrzymanych metodą mikroskopowo-chemiczną z moczu kobiet w różnych okresach ciąży i w poszczególnych dniach po porodzie wykazuje, że czynniki warunkujące pozytywny wynik tej próby ciąży zachowują się ilościowo analogicznie do poziomu naturalnych estrogenów w wymienionych okresach ciąży i porożu.

Trzecim wreszcie hormonem, który należałoby w tym miejscu wziąć pod uwagę, jest progesteron; jego ilość we krwi i moczu bowiem zwiększa się również podczas ciąży. Hormon ten jest wydalany z moczem głównie w postaci pregnandiolu. W pierwszych dwóch miesiącach ciąży ocenia się zawartość pregnandiolu w dobowej ilości moczu na 4—10 mg. Z postępem ciąży ilość ta zwiększa się i w 38. tygodniu ciąży wynosi 70—80 mg na dobę. Następnie aż do końca ciąży zawartość jego maleje i przed porodem wynosi już tylko około 12,5 mg na dobę. Po porodzie trwa jeszcze przez pewien czas dalszy spadek pregnandiolu.

W przeciwieństwie do pregnandiolu czynniki warunkujące pozytywny wynik próby Masłowskiego gromadzą się coraz obficie w moczu od samego początku ciąży aż do porodu, a spadek ich zawartości następuje dopiero po odbytych porodzie.

Można by na tej podstawie przypuszczać, że hormon ciała żółtego nie jest przyczyną pozytywnego wyniku w mikroskopowo-chemicznej metodzie rozpoznawania ciąży.

WNIOSKI

1. Pozytywny wynik mikroskopowo-chemicznej próby ciąży nie zależy od gonadotropin zawartych w moczu kobiet ciężarnych.

2. Wolne związki hormonu pęcherzykowego zawarte w moczu kobiet ciężarnych nie stanowią przyczyny typowej w tej próbie krystalizacji kwasu borowego.

3. Czynniki warunkujące pozytywny wynik ciąży próby Masłowskiego nie dają wyosobnić się przez ekstrakcję moczu kobiet ciężarnych eterem lub oliwą.

4. Adsorpcja moczu kobiet ciężarnych kaolinem nie znosi pozytywnego wyniku w mikroskopowo-chemicznej próbie ciąży.

5. Czynniki warunkujące pozytywny wynik próby ciąży Masłowskiego można wyosobnić z moczu kobiety ciężarnej przez adsorpcję na węglu aktywowanym.

6. Istnieje zastanawiająca zbieżność między intensywnością typowej dla ciąży krystalizacji kwasu borowego w mikroskopowo-chemicznej próbie ciąży i poziomem naturalnych estrogenów, wydalanych z moczem w różnych okresach ciąży i porożu.

П. Масловски и Е. Менткевски

РОЛЬ ГОРМОНОВ В МИКРОСКОПИЧЕСКИ - ХИМИЧЕСКОМ МЕТОДЕ РАСПОЗНАВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Содержание

Микроскопически-химическая проба Масловского основывается на свойствах растворов борной кислоты, которая в присутствии мочи беременных выпадает

из раствора в виде типичных кристаллических скоплений, так что на основании их микроскопической оценки можно легко и скоро распознать беременность. На основании произведенных опытов авторы пришли к заключению, что гормоны выступающие в избытке в моче беременных женщин, как гонадотропины — прогестерон и свободный фолликулин не являются причиной положительного результата микроскопически-химической пробы Масловского. Существует однако яркое совпадение между количеством тел эстрогенных в мочи женщин в разных месяцах беременности, и отчетливостью пробы.

Факторы обуславливающие положительный результат этой пробы нельзя выделить из мочи ни при помощи извлечения её эфиром ни растительным маслом ни также адсорбцией каолином. Активированный уголь адсорбирует все вещества, которые оказывают влияние на положительный результат пробы Масловского.

P. Masłowski, E. Miętkiewski

RÔLE DES HORMONES DANS LA MÉTHODE MICROSCOPIQUE-CHIMIQUE POUR CONSTATER LA GROSSESSE

D'après la méthode microscopique-chimique de Masłowski l'acide borique, en présence de l'urine des femmes enceintes, se dégage de la solution en forme des agrégats des cristaux si typiques que sur la base morphologique de leur appréciation on peut constater la grossesse.

On a aussi constaté, en s'appuyant sur des expériences décrites dans ce travail, que ni les gonadotropines, ni l'hormone vésiculeux, ni le progesteron, malgré leur dégagement plus abondant pendant la grossesse, ne causent pas l'effet positif dans la méthode microscopique-chimique de Masłowski.

Le fait le plus étonnant est la convergence entre le contenu des corps estrogènes et l'intensité de la cristallisation typique pour la méthode de Masłowski dans les différentes périodes de la grossesse et de l'accouchement.

On ne parvient pas à isoler les agents qui stipulent l'effet positif de la méthode par l'extraction à l'éther ou à l'huile ni par l'adsorption sur la caoline. C'est l'adsorption par le carbon actif qui sépare de l'urine d'une femme enceinte ces substances desquelles dépend le résultat positif de l'essai.

PIŚMIENICTWO

1. Ber A.: Endokrynologia. Warszawa 1947. — 2. Chwojnowski A.: Porównawcza ocena wartości badania przez pochwę i prostnicę oraz badania na drodze chemicznej metodą Cu-boniego i mikroskopową metodą Masłowskiego. Rocznik Wydz. Rolnego U. P. 1948 r. — 3. Masłowski P.: Metoda chemiczno-mikroskopowego rozpoznawania ciąży. „Nowiny lekarskie“, nr 9, 1946. — 4. Masłowski P.: Zmodyfikowana metoda mikroskopowo-chemicznego rozpoznawania ciąży oraz kilka uwag o własnościach substancji mającej wpływ na tworzenie się kryształów. „Nowiny Lekarskie“, nr 6, 1948. 5. Masłowski P.: Dalsze badania nad rozpoznawaniem ciąży chemiczno-mikroskopowym. Sprawozdanie Pol. Akad. Umiej. T. L. 6, 1949. — 6. Masłowski P.: Rozpoznawanie ciąży na podstawie kryształów otrzymanych metodą mikroskopowo-chemiczną. Pol. Tyg. Le., nr 25, 1950. — 7. Ożegowski P.: W sprawie próby ciążyowej Masłowskiego. „Nowiny Lek.“, nr 17/18, 1950. — 8. Ożegowski P.: Próba Masłowskiego w rozpoznawaniu ciąży wczesnych (rękopis.) — 9. Ożegowski P.: Wpływ elektrolizy moczu na wynik ciążyowej próby Masłowskiego. Polski Tygodnik Lek., nr 40, 1950. — 10. Runge St.: Przejawy płodności i niepłodności u bydła. Poznań 1949., str. 125 i inne. — 11. Wrzosek A.: Kilka uwag o metodzie Masłowskiego. „Nowiny Lekarskie“, nr 9, Poznań 1946.

„Otrzymano 20. IX. 1953.“