

Vörösvértest kalium- és natrium-meghatározása

Írta: ifj. Elek Sándor dr. és Büky Péter dr.

A vérplazma elektrolit és ozmotikus változásai nem mindig tükrözik a szervezet só-vízháztartása intracelluláris viszonyait is. Pl., a csecsmőkori hipernatrémiák hátterében Boda szerint (1) igen gyakran intracelluláris hiponatrémia áll. Hänze adatai alapján (2) veseelégtelenségben a vörösvértest (vvs.) magnezium tartalma olyankor is fokozott, ha az ion koncentrációja a plazmában normális. Ismeretes továbbá, hogy a plazma normokalémiás állapotával egyidőben az intracelluláris folyadékban súlyos hipokalémia lehet jelen: erről számol be László (3) idős, dekompenzált, tudigitalizált betegek vizsgálata alapján. Mi magunk hasonló elváltozást láttunk a per os kalium szubsztitúció mellett Aldactonnal és Hypothiaziddal kezelt aszciteszes májbeteg vizsgálatokor.

Egyre szaporodó közlések szerint a vvs. vizsgálata kielégítő tájékoztatást nyújt az intracelluláris rendszer egészének só-vízháztartási viszonyairól (4, 5, 6). A gyakorlatban ma a vvs.-natrium (Na.) és kalium (K.) meghatározása jön szóba; ez történhetik: teljes vérből, vagy közvetlenül az ülepitett vörösvértest-maszából (vvm.). Utóbbit előnyösebbnek tartják, mert kiküszöböli a vvs.-ek egyenlőtlen eloszlásából eredő hibalehetőséget.

A vizsgálandó vér ülepitése során a sejtek között rekedő ún. „trapped plasma” (tp.) mennyisége kihat a hematokrit értékére. Iontartalma hozzáadódik a vvs.-ionmeghatározás eredményéhez és ezért pl. a plazmában kb. tízszer nagyobb mennyiségben jelenlevő natriumot is a vvs.-ek natrium tartalmának tudjuk be, — ha a tp. mennyiségét számításon kívül hagyjuk. A trapping hiba mértéke ezenfelül nem is azonos a különböző vérpróbákban és nemcsak az ülepitési körülményektől függ (5,7—13). Amint 1. táblázatunkból megállapítható, értéke azonos ülepitési körülmények között még normál esetekben is változó.

A vvs. ionmeghatározások adatai ezért csak akkor felelnek meg a tudományos pontosság és értékelhetőség feltételeinek, ha azokat a mindenkori

Vizsgálat		Eredmények		Eltérések	
Neme	Száma	Határértékek	Átlag és SD.	Határértékek	Átlag és SD.
Tp.	20	1,46 – 3,93	2,4 ± 0,491	0,0 – 0,30	0,131 ± 0,10
			%		
K.	20	83,0 – 92,5	86,9 ± 2,467	0,0 – 4,0	1,10 ± 1,349
			mval./l kg. vvs.		
Na.	20	8,45 – 12,30	10,39 ± 1,065	0,0 – 0,45	0,152 ± 0,124
			mval./l kg. vvs.		

1. Táblázat: Normál vérpróbák tp.-, vvs. K-, és Na-tartalma, valamint a párhuzamos meghatározások eredményeiben észlelt eltérések.

trapping hiba ismeretében számítjuk ki. A továbbiakban ismertetjük az ilyen szempontok szerint kidolgozott vvs.-kalium és natrium meghatározás menetét, ill. értékelését.

Módszer

Megállapítjuk az ülepített vvm. ionkoncentrációját és az eredményt a vvm. tp.-tartalmának és ionkoncentrációjának megfelelően módosítjuk.

Az eljárás kivitele: mérsékelt leszorítás mellett karvénából kb. 6,0 ml. éhomi vért veszünk heparinos csőbe (Chinoin gyártmányú Heparint desztillált vízzel kb. kétszeresére hígítottuk, ennek egy cseppjét szárítottuk be a vérvételi csőbe). Azonnal a levétel után mintegy 3,0—3,0 ml. vért centrifuga csövekbe öntünk. Azonos méretű és lehetőleg 3,0—4,0 mm. belső átmérőjű csöveket használunk, mert ezekben az ülepített vvm. magassága nagyobb lesz. Az egyik csőbe 0,5 m. 0,3%-os Evans kék oldat kerül (fiziológiás sóoldattal készült). A festéket a vérrel óvatosan összekeverjük. Az anyagokat ezután kb. 1500—2000 g.-vel 5—10 percig centrifugáljuk. Mindegy különben, hogy milyen típusú centrifugával dolgozunk, fontos azonban, hogy az egy vérpróbához tartozó vérek egyszerre forogjanak, tehát azonos feltételek között. Az ülepítés után előbb meghatározzuk a próba tp.-tartalmát. Ez az általunk kidolgozott módszerrel (13), ill. annak kisebb módosításával történik: a festéket tartalmazó cső felülúszójából 100-szoros hígítást készítünk (0,1 ml.-t mérünk 9,9 ml. fiziológiás sóoldatba és az elegyet összekeverjük). Ezután egy vízszívóra illesztett Pasteur pipettával a felülúszót leszívjuk, de úgy, hogy a vvm. felületén levő fehérvérsejt korong lehetőleg sértetlen maradjon. Leszívás után a cső belsejét, ill. a fehérvérsejt korong felületét óvatosan 3-szor mossuk fiziológiás sóoldattal. A továbbiakban a fehérvérsejt korongot is leszívjuk, majd a negyedik mosás után a vvm. kb. felső egyhatodát is eltávolítjuk. Üvegbot köré tekert szűrőpapírcsíkkal a cső faláról és a vvm. felületéről a sóoldat maradékát eltávolítjuk és azonnal lemérjük a cső súlyát; az üres cső súlyából és az utóbbi mérés eredményéből a vvm. súlya kiszámítható: „Vms”. (Méréseink alkalmával ez 0,8—1,5 g. között változott.) Ezek után a vvs.-ket óvatosan 2,0 ml fiziológiás sóoldatban szuszpendáljuk, majd centrifugáljuk; a felülúszót Wassermann csőbe pipettázzuk. Meghatározzuk a festett plazma, valamint a szuszpendáló folyadék extincióját. Előbbi értékét 100-al szorozzuk, mivel a festékes felülúszó 100-szoros hígítását fotometrizáljuk.

A méréseket Pulfrich-fotométerrel, mikro küvettában, S_{61} színszűrővel végezzük. Az ülepített vvm.-ban rekedt plazma mennyiségét (V_{mtp}) a következő egyenlet segítségével számítjuk ki:

$$V_{mtp} = \frac{m \cdot e}{E - e} \quad \text{I.,}$$

ahol m a szuszpendáló folyadék mennyiségét jelenti ml.-ben. E a festett plazma, e a szuszpendáló oldat extinciója.

A V_{mtp} ismeretében a vérpróba tp. tartalmát a vvm.-ra vonatkoztatott százalékban számítjuk ki, ill. adjuk meg.

A festéket nem tartalmazó csövekről leszívjuk a plazmát, amelyből a későbbiekben K-, ill. Na meghatározás történik. Egyébként ugyanúgy járunk el, mint a festékes csövek esetében, azonban nem fiziológiás sóoldattal, hanem fiziológiás glukóze oldattal mosunk. Ezt követően üvegbottal a vvm.-t alaposan összekeverjük, majd bizonyos mennyiséget csepegtetünk belőle egy ismert súlyú, 10—15 ml-es centrifugacsőbe. A cső súlyát analitikai mérleglen lemér-

ve, megkapjuk a kicsepegetett vvm. súlyát (meghatározásaink során 0,8—1,1,0 g-ot). A lemért vvm-t 6 rész vízzel hemolizáljuk; a hemolizátumhoz 3 rész 20%-os triklórecetsav kerül. A képződött csapadék-folyadék elegyet üvegbottal alaposan elkeverjük, majd 3000 ford./perc mellett 10—15 percig centrifugáljuk. 5,0 ml. felülúszót pipettázunk 20,0 ml. desztillált vízhez, így az eredeti vvm. mennyiség 50-szeres hígítását kapjuk; ezt megfelelő összehasonlító oldatok ellenében Zeiss-féle láng fotométerben analizáljuk.

A tp., a vvm.-ion (Vm_i) és a vérpróba plazma K-, és Na tartalma (P_i) ismeretében a vvs. valódi K-, ill. Na koncentrációja (Vvs_i) az alábbi képlet segítségével számítható ki (az eredmény mval. pro 1 kg. vvs-re vonatkozik):

$$Vvs_i = \frac{100 \cdot Vm_i - (tp \cdot P_i)}{100 - tp} \quad \text{II.}$$

Megemlítjük, hogy az ionok meghatározása mind a vvm-ban, mind a plazmában azonos módszerrel történt és minden meghatározást két párhuzamos próbában végeztünk. Ion analíziseink során desztillált vizet használtunk. Az üvegneműek tisztítása 10%-os sósav oldatban történt. Csak olyan pipettákat használtunk, amelyek gyári kalibrációját magunk is ellenőriztük, ill. korrigáltuk. A szükséges vvm. mennyiségeket nem volumetriás, hanem gravimetriás úton mértük le.

Eredmények

Eredményeinket és a párhuzamos meghatározások eredményeiben észlelt eltéréseket 1. táblázatunk szemlélteti. Eszerint a mérések reprodukálhatósága eléri a plazmából történő láng-fotometriás ionmeghatározásokét, azaz a párhuzamos meghatározások eredménye között 0—5% különbség volt. A módszer pontosságát egyébként az alábbi megfontolás szerint értékeltük. Mivel a tp. és az ionmeghatározások nem történhetek ugyanazon vvm-próbában (az Evans-kék ui. a festék Na sóját tartalmazza, de mindig szennyezett K-, ill. egyéb sóktól is), a párhuzamos vérpróbákat a tp., ill. az ionmeghatározás pontjáiig ugyanazon feltételek között kezeltük. Egy-egy adott vérpróbán belül a csövek tp. tartalmában így legfeljebb annyi különbséget tételvezhetünk fel, mint a párhuzamos tp. meghatározások eredményeiben. A vvs.—Na analízisek pontosságát ezért úgy becsültük, hogy kiszámítottuk, mennyire tér el egymástól a paralell tp-meghatározások különbségének megfelelő Na tartalom és a párhuzamos vvm. Na meghatározások eredményében észlelt eltérés.

A vvs. K meghatározásaink pontosságát a párhuzamos vvm. próbákban mért különbségek alapján becsülünk; normál körülmények között ui. a trap-ping hiba nem befolyásolja a vvs. K tartalmát olyan mértékben, hogy szignifikáns különbséget hozzon létre.

Megbeszélés

Az ismertetett, akár kisebb klinikai laboratórium számára is elérhető eljárás megfelel a bevezetőben említett tudományos követelményeknek. Reprodukálhatósága eléri a plazma analízisekét; a párhuzamos meghatározások során észlelt eltérések kisebb mértékűek, mint a korszerűbb, de költséges izotóp technikát felhasználó módszerek esetében (14). Utóbbiakkal szemben hátrány viszont, hogy a tp. és az ionok meghatározása nem történhetik ugyanazon csőben levő vérpróbából.

Ki kell emelnünk, hogy normál vérpróbáink tp. tartalmában még azonos ülepítési körülmények között is, szignifikáns különbségek mutatkoznak (1. táblázat). Ha a vvs. Na koncentráció kiszámításakor eltekintettünk volna az aktuális tp. mennyiség ismeretétől, úgy a vvs-. Na tartalmára vonatkozó adataink megegyeznének azokkal a magasabb és szélesebb határok közé eső értékekkel, amelyeket a korábbi irodalom a tp. mennyiség figyelmen kívül hagyása, ill. annak pusztán hozzávetőleges becslése alapján közöl (6, 15—20); pl. 3—4%-nyi tp. elhanyagolása kb. 4,5—5,5 mval-el emelné 1 kg. vv. Na-tartalmát. Még 1% tp. is kb. 10% eltérést eredményezhet a vvs. Na koncentrációjában.

Összefoglalás

20 egészséges férfi, ill. nő vvs. Na és K. tartalmát határoztuk meg. A meghatározásokat közvetlenül az ülepített vvm-ből, hemolízis és triklórecetsavas fehérjementesítés után végeztük és az ionkoncentráció végeredményét az ülepített vvs-ek között maradt plazma mennyiség, ill. a vvm., valamint a plazma ion-koncentráció ismeretében számítottuk ki.

A tp. mennyisége az egészséges egyének vérében szignifikáns eltéréseket mutatott, még azonos ülepítési feltételek mellett is. Értékének pontos ismeretében, a megfelelő korrekció után a vvs. normál Na koncentrációja alacsonyabb és lényegesen szűkebb értéktartományban van ($10,39 \pm 1,065$ mval. pro 1 kg. vvs.), mint az irodalomban korábban közölt értékek. A vizsgálatainkban mért vvs. K mennyisége nem tér el az irodalomban közölt értékektől ($86,9 \pm 2,46$ mval. pro 1 kg. vvs.).

IRODALOM

1. Boda, D.: Orvosi Hetilap, 105:337, 1964. — 2. Hänze, S.: Klin. Wschr. 38:767, 1960. — 3. László, B.: Orvosi Hetilap, 105:65, 1964. — 4. Riecker, G.: Klin. Wschr. 35:1158, — 5. Riecker, G.: Bubnoff, M.: Klin. Wschr. 36:556, 1958. — 6. Kessler, E.: és mtsai: J. Lab. Clin. Med., 57:32, 1961. — 7. Maizels, M.: Quart. J. Exper. Physiol. 33:129, 1944—46. — 8. Vazquez, O. N. és mtsai: J. Lab. Clin. Med., 39:595, 1952. — 9. Hlad, C. J., Holmes, J. H.: J. Appl. Physiol., 5:457, 1953. — 10. Keitel, H. G. és mtsai: Blood, 10:370, 1955. — 11. Chaplin, H., Mollison, P. L.: Blood, 7:1227, 1952. — 12. Elek, S. és mtsai: Honvéderorvos, 1965, közlés alatt. — 13. Büky, P., Elek, S.: Honvéderorvos, 1965, közlés alatt. 14. Czaczkes, J. W. és mtsai: J. Lab. Clin. Med. (1:873, 1963. — 15. Bálint, P.: Klinikai laboratóriumi diagnosztika (Medicina, 1964.) — 16. Herbinger, W.: Arztl. Lab., 8:268, 1962. — 17. Geigy Wissenschaftliche Tabelle, 1960. — 18. Gessler, U.: Kongr. Inn. Med., 1950, 621. — 19. Gessler, U.: Klin. Wschr., 39:232, 1961. — 20. Losse, H. és mtsai: Zschr. f. Kreislaufforsch., 51:43, 1962.

Д-р Алек Ш., д-р Бюки П.:

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛИЯ И НАТРИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Мы определили содержание калия и натрия эритроцитов 20 здоровой мужчины и женщины. Определение проводили из осажденных эритроцитов после гемолиза и удаления белков трихлоруксусной кислотой. Конечный результат концентрации ионов определили на основе плазмы остающейся среди осажденных эритроцитов и на основе ионной концентрации плазмы. Количество остающейся плазмы в крови здоровых лиц показывает статистическую разницу даже при равных условиях осаждения. Зная точную величину ее после необходимой коррекции концентрация натрия нормальных эритроцитов ниже и находится в более значительном масштабе. ($10,39 \pm 1,065$ мвал/1 кг). Количество калия не отличается от известных величин. ($86,9 \pm 2,46$ мвал/1 кг).

Dr. S. Elek jr., dr. P. Büky:

BESTIMMUNG DES KALIUM- UND NATRIUMGEHALTES IN DEN ERYTHROZYTEN

Es wurde der Gehalt an Kalium und Natrium der Erythrozyten bei 20 gesunden Frauen, bzw. Männern bestimmt. Die Bestimmungen sind unmittelbar aus den sedimentierten Erythrozytenmassen, nach Hämolyse und Enteiweissung mit Trichloressigsäure durchgeführt worden. Das Endergebnis der Ionenkonzentration liess sich in Kenntnis der Plasmamenge, die zwischen den sedimentierten Erythrozyten zurückgeblieben war, bzw. der Ionenkonzentration der Erythrozytenmasse, sowie des Plasmas errechnen. Die Quantität vom Trapped Plasma im Blute gesunder Leute wies sogar unter identischen Sedimentierungsbedingungen signifikante Differenzen auf. In genauer Kenntnis dessen Wertes und nach einer geeigneten Korrektur liegt der normale Natriumspiegel der Erythrozyten in einem niedrigeren und engeren Bereich als die in der Fachliteratur bisher mitgeteilten Werte ($10,39 \pm 1,065$ Mval. pro 1 kg Erythrozyten). Der in diesen Versuchen gemessene Kaliumspiegel weist im Gegenteil keine Differenz zu Werten der Fachliteratur auf ($86,9 \pm 2,46$ Mval. pro 1 kg Erythrozyten).