

Mineral- und Wasserhaushaltstörungen bei Nierenkrankheiten

I. Teil: Methoden¹⁾

Von

U. GESSLER

Aus der medizinischen Poliklinik Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. H. Sarre)

(Der Schriftleitung zugegangen am 11. Januar 1963)

Es wird eine Darstellung bewährter Untersuchungsmethoden zur Bestimmung von Elektrolyten gegeben. Da eine zutreffende Beurteilung der Situation im Mineralstoffwechsel neben der Kenntnis der Harn- und Plasmakonzentrationen auch die Bestimmung zellulärer Elektrolyte erfordert, wird eine Methode zur Analyse von Kalium, Natrium und Chlorid in probeexciertem Gewebe nach HOLLIDAY angegeben. Gewebentnahmen können jedoch nur ausnahmsweise vorgenommen werden, weshalb eine Methode zur Elektrolytbestimmung nach RIECKER mit einem Plasmafehler von etwa 2,5% angegeben wird. Obwohl sich Erythrocyten in ihrem Elektrolytaustausch träger verhalten als andere Körperzellen, können Veränderungen ihrer Kalium- und Natriumkonzentrationen zur Feststellung von Kationenverteilungsstörungen herangezogen werden.

Proved methods for the determination of electrolytes are presented. A valid examination of mineral metabolism necessitates the measurement of cellular electrolytes as well as a knowledge of urine and plasma concentrations. A method (HOLLIDAY) is therefore given for the analysis of potassium, sodium and chloride in excised tissue samples. Since tissue samples can only be taken under exceptional conditions, an electrolyte determination with a plasma error of approx. 2.5% is given (RIECKER). Although electrolyte exchange in erythrocytes is slower than in other body cells, changes in their potassium and sodium concentrations can be used to determine disturbances in cation-distribution.

Die Nieren filtrieren täglich etwa das 16-fache Volumen des Extrazellulärraumes und resorbieren diese Menge nahezu vollständig. Sie werden dadurch instand gesetzt, die Ionenkonzentrationen der extrazellulären Flüssigkeit laufend zu kontrollieren. Indirekt sind sie auch an der Erhaltung der Konstanz zellulärer Elektrolytkonzentrationen beteiligt, da zwischen Zellen und Extrazellulärraum ein ständiger Elektrolytaustausch erfolgt. Eine zutreffende Beurteilung der Gesamtsituation im Wasser- und Mineralhaushalt setzt daher die Kenntnis intra- und extrazellulärer Elektrolytkonzentrationen voraus. Während die Ionenkonzentrationen im Plasma nach Berücksichtigung des *Donnan*-Faktors die extrazellulären Elektrolytverhältnisse wiedergeben, können wir über die intrazellulären Elektrolyte nur Aufschluß erhalten durch Bilanzversuche oder durch direkte Untersuchungen geeigneter Gewebe z. B. von Muskel oder Erythrocyten. Dabei entsteht ein Fehler durch miterfaßte Anteile extrazellulärer Flüssigkeit. Außerdem ist zu prüfen, in welchem Umfang die untersuchten Zellen den gesamten zellulären Raum des Organismus repräsentieren. Im folgenden werden die an unserer Klinik üblichen Methoden zur Untersuchung des Elektrolyt- und Wasserhaushalts dargestellt.

Extrazelluläre Flüssigkeit und Harn

Kationen. Zur Bestimmung von *Natrium*, *Kalium* und *Calcium* benutzen wir das Flammenphotometer Eppen-

dorf. Die tägliche Harnmenge wird gemessen und eine Probe zur Analyse durch ein aschefreies Filter (Selecta Blauband Nr. 589) filtriert. Mit geeichten Pipetten und 20 ml Meßkolben werden die Verdünnungen 1:200 für die Natrium- und Kalium- und 1:20 für die Calcium-Bestimmung hergestellt. Die Tagesausscheidung wird in mVal berechnet. — Gegenüber dem Serum bevorzugen wir *Plasma*. Auf die Wand eines Zentrifugenröhrchens werden unter langsamen Drehen einige Tropfen einer 0,1 proz. Heparinlösung (Natrium- bzw. Calciumheparin) verteilt und im Brutschrank bei 37° angetrocknet. Mit diesen Röhrchen wird das Blut aus der Cubitalvene aufgefangen und innerhalb von 15 Min. zentrifugiert. Für Natrium wird auf 1:200, für Kalium und Calcium auf 1:20 verdünnt. Jede Bestimmung wird doppelt ausgeführt.

Fehlerquellen: Korken als Verschuß der Zentrifugenröhrchen (als Verschuß eignet sich sehr gut Parafilm), hämolytisches Serum, zu lange Wartezeit bis zur Trennung von Plasma und Erythrocyten, ungenaue Verdünnungen, unsaubere Vorspültöpfchen, falsche Eichlösungen, verstopfte Ansaugleitungen (besonders bei ungefiltertem Harn).

Magnesium bestimmen wir nach ORANGE und RHEIN (1). Bei Anwesenheit von Magnesiumionen und Titangelb bildet sich eine rote Lackfarbe, die durch Zusatz von Polyvinylalkohol oder Gummiarabikum stabilisiert wird.

Reagentien: 10 proz. Trichloressigsäure, 1 proz. Gummiarabikumlösung (oder 1 proz. Polyvinylalkohol), 7,5 proz. Natronlauge, Titangelb (in 1000 ml dest. Wasser werden 75 mg Titangelb gelöst und kühl und dunkel aufbewahrt. Etwa 14 Tage haltbar).

¹⁾ Techn. Assistenz: B. HOWALDT.

Ausführung: 0,1 ml Plasma werden mit 1,1 ml Trichloressigsäure zentrifugiert und durch ein aschefreies Filter (Nr. 589) filtriert. Zu 1 ml eiweißfreiem Filtrat werden 1 ml Gummiarabikum (oder 1 ml Polyvinylalkohol), 1 ml Titangelb und 2 ml Natronlauge in einen 5 ml Meßkolben pipettiert und anschließend bei 560 m μ photometriert. Die Bestimmung ist auch im Harn (0,1 ml) ausführbar. Zur Herstellung einer Eichkurve geht man von einer Standardlösung (10,0935 g MgNH₄PO₄ · 6 H₂O in 1000 ml 0,1 n HCl) aus, die 1 mg Magnesium in 1 ml enthält, und stellt Verdünnungen von 1–5 mg% her, die photometriert werden. — **Fehlerquellen:** Ungenaue Pipetten, zu altes Titangelb, zu spätes Ablesen am Photometer (Farbintensität etwa 3 Stdn. konstant).

Anionen. Zur *Chlorid*-Bestimmung nach LANG (2) wird einer chloridhaltigen Lösung Quecksilber-II-nitrat zugesetzt. Es bildet sich undissoziiertes HgCl₂. Erst wenn alle Cl-Ionen verbraucht sind, treten freie Quecksilberionen auf, die in Anwesenheit von Diphenylcarbazon als Indikator zu einem blauvioletten Farbumschlag führen.

Reagentien: 0,02 n Quecksilbernitrat (1,853 g rotes Quecksilberoxyd in einigen Tropfen konz. HNO₃ gelöst, mit dest. Wasser auf 1000 ml aufgefüllt), 0,1 proz. alkohol. Diphenylcarbazon-Lösung als Indikator, 10 proz. Natriumwolframat, 0,66 n H₂SO₄.

Ausführung: 1 ml Plasma, 1 ml Natriumwolframat und 1 ml 0,66 n Schwefelsäure werden mit dest. Wasser auf 10 ml aufgefüllt, 10 Min. geschüttelt und danach durch ein Selecta Blaubandfilter Nr. 605 h filtriert (Enteweißung nach FOLIN-WU). 2 ml Filtrat mit 3 Tropfen Indikator werden mit 0,02 n HgNO₃ bis zum Farbumschlag ins zarte Blauviolett titriert.

Berechnung: Titrierter Wert mal 5 (= 1 ml) mal 0,0172 (Faktor zur Umrechnung von NaCl in mg auf Cl⁻ in mVal) mal 1000 = mVal/l Cl⁻. Da 1 ml HgNO₃ einem mg NaCl entspricht, muß der erhaltbare Wert mit einem Faktor korrigiert werden, der sich bei der Eichtitration von 1 mg NaCl ergibt.

Harnanalyse: 0,25 ml Harn werden 2 Tr. Indikator und tropfenweise 0,1 n H₂SO₄ zugesetzt bis zur Gelbfärbung. Danach werden 5 ml Puffer (0,1 n HNO₃ + 0,1 n Na-citrat — etwa zu gleichen Teilen; pH = 1,5–2,0) zugefügt und wie oben titriert. Titrierter Wert mal 4 (= 1 ml) mal 0,0172 (Faktor wie oben) mal 1000 = mVal/l Cl⁻. Umrechnen auf die Tagesmenge.

Standardbikarbonat und pH-Wert

Zur pH-Bestimmung benutzen wir das pH-Meter 22 der Firma Radiometer Kopenhagen (nach ASTRUP (3, 4, 5)). Seine Meßgenauigkeit beträgt nach vergleichenden Untersuchungen von SCHWAB (6) 0,01 pH. Beim pH-Meter 22 befindet sich die Kalomelektrode in einem Glasmantel, der auf 38° gebracht wird und konstante Temperaturbedingungen für die Messung schafft.

Ausführung: Unter Vermeidung von Luftzutritt Entnahme von 0,025 ml Blut aus Fingerbeere oder Ohr läppchen mit einer Glaskapillare, die mit Heparin präpariert wurde. Verschuß der Kapillare mit Kitt bis zur Messung, die möglichst rasch erfolgen soll. Bestimmung des aktuellen pH. Zur Ermittlung des Standardbikarbonats sind zwei weitere Blutproben erforderlich, die mit 30 bzw. 60 mmHg CO₂-Druck 3 Min. äquilibriert werden. Anschließend wird das pH gemessen und zusammen mit dem aktuellen pH in ein Nomogramm eingetragen (s. Abbildung 1). Die 3 Werte ergeben eine Gerade, aus welcher nach der HENDERSON-HASSELBALCHSchen Gleichung (7) das Standardbikarbonat errechnet wird. Mit Hilfe dieser Gleichung läßt sich auch der CO₂-Druck ermitteln.

Fehlerquellen: Luftzutritt bei der Blutentnahme, zu lange Wartezeit bis zur pH-Bestimmung, ungenauer CO₂-Druck beim Äquili-

brieren, beschädigte Elektroden, besonders bei unsachgemäßer Aufbewahrung. Doppelbestimmungen sind zweckmäßig.

Diese Methode erfordert relativ viel Zeit, weshalb wir zur raschen Orientierung und als Routinemethode in der Klinik ein titrimetrisches Verfahren zur Bestimmung des *Standardbikarbonats* nach SCRIBNER (8) benutzen. Aus Plasma wird durch einen Überschuß von Säure CO₂ aus HCO₃⁻ freigesetzt und danach mit Lauge zurücktitriert.

Reagentien: 0,1 n HNO₃, 0,1 n NaOH, 0,04 proz. Phenolrot als Indikator.

Ausführung: Unter 1 ml Plasma (geeichte Pipette) wird mit einer Tuberkulinspritze genau 0,7 ml 0,1 n HNO₃ gespritzt und nach Zugabe von 5 Tropfen Indikator 3 Min. vorsichtig geschüttelt. Darauf wird aus einer zweiten Tuberkulinspritze mit 0,7 ml 0,1 n NaOH (Kanüle Nr. 12) zurücktitriert bis zum Farbumschlag. Die in der Spritze verbliebene Menge NaOH (z. B. 0,30) wird mit 100 multipliziert und ergibt das Standardbikarbonat in mVal/l.

Fehlerquellen: Zu lange Wartezeit bis zur Analyse. Die Bestimmung soll sofort erfolgen. Weitere Methoden bei SCHWAB und WISSER (9).

Bestimmung zellulärer Elektrolyte

Gewebsanalysen (modif. nach HOLLIDAY (10)) sind in der Klinik nur selten möglich. Im Prinzip lassen sich die folgenden Methoden jedoch nicht nur im Tierversuch anwenden. Frisches Gewebe wird getrocknet, fettfrei gemacht und mit Salpetersäure extrahiert.

Reagentien: Petroläther, 0,75 n HNO₃.

Ausführung: 200 bis 500 mg frisches Gewebe wird genau gewogen, bei 90° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, pulverisiert und dreimal mit Petroläther ausgeschüttelt. Der fettfreie Rest wird erneut getrocknet und 50 (bzw. 100) mg abgewogen und mit 3 ml 0,75 n HNO₃ 3 Tage extrahiert. Darauf wird durch ein aschefreies Filter (Nr. 589) filtriert, mit dreifach dest. Wasser nachgespült und im Meßkolben auf 10 (bzw. 20) ml aufgefüllt. Es resultiert eine Verdünnung 1:200, aus der Natrium bestimmt wird. Für Kalium wird auf 1:2000 weiterverdünnt (abgelesener Wert bei der Flammenphotometrie ist mit 100 zu multiplizieren). Aus der gleichen Lösung kann nach der oben angegebenen Methode nach LANG Chlorid bestimmt werden.

Zuverlässiger ist die *direkte Chloridbestimmung* aus frischem Gewebe nach SUNDERMANN und WILLIAMS (11). Gewebe wird mit Kalilauge verseift, neutralisiert und danach Chlorid nach VOLHARD titriert.

Reagentien: 1 n KOH, 1 proz. wäbr. Methylorange, 6 n HNO₃, konz. HNO₃, 0,02 n AgNO₃, 0,02 n NH₄SCN, 5 proz. Eisenammoniumsulfat.

Ausführung: Bei jeder Serie wird ein Leerversuch angesetzt. Etwa 500 mg frischen Gewebes werden im 125 ml Erlenmeyerkolben mit 15 ml 1 n KOH bedeckt und 1 Std. bis zur Verseifung im Wasserbad gekocht. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur und Zusatz von 3 Tropfen Methylorange wird mit 6 n HNO₃ bis zum Farbumschlag rot neutralisiert. Zusatz von 3 ml wärr. 0,02 n AgNO₃ und 5 ml konz. HNO₃. Kochen im Wasserbad bis AgCl ausfällt und die Flüssigkeit klar wird (1–2 Stdn.), filtrieren durch aschefreies Filter, mit dreifach dest. Wasser nachspülen und auf Zimmertemperatur abkühlen. Zusatz von 4 ml Eisenammoniumsulfat als Indikator, Titrieren mit 0,02 n Ammonrhodanid bis zum rosabraunen Farbumschlag (Ausfall von Eisenrhodanid).

Berechnung: Die Titrationszahl wird durch Abzug von 0,03 korrigiert und darauf vom Leerwert abgezogen. Das Ergebnis wird mit 0,02 multipliziert (Faktor zur Umrechnung in mVal Cl⁻) und

durch das Netto-Wassergewicht dividiert = $m\text{Val Cl}^-/\text{g Feuchts-}$ substanz. Die Chloridbestimmung erlaubt eine Berechnung der zellulären Kationen auf Grund der Chloridvoraussetzung (CONWAY 1947), wonach sich innerhalb der Zellen praktisch kein Chlorid befindet. Allerdings trifft diese Voraussetzung nicht immer zu, so daß der mögliche Fehler berücksichtigt werden muß. Die Berechnungsmethode findet sich bei MANERY u. HASTINGS (12, 13, 14) und bei GESSLER u. BASS (15) angegeben. Kritische Bemerkungen zur Verwendbarkeit des Chloridraumes finden sich bei FISCHER (16) und bei GESSLER und Mitarbeiter (17, 18, 19).

nach der von RIECKER (23) angegebenen Methode, bei welcher durch hohe Flichkraft beim Zentrifugieren ein geringer Plasmafehler von etwa 2,5% erreicht wird (17, 24).

Ausführung: Aus der leicht gestauten Cubitalvene werden zwei Blutproben von je 15 ml entnommen und in Plastikzentrifugenröhrchen (30 ml) aufgefangen, deren Wand mit Calciumheparin vorbehandelt wurde. Spätestens nach 15 Min. werden beide Proben

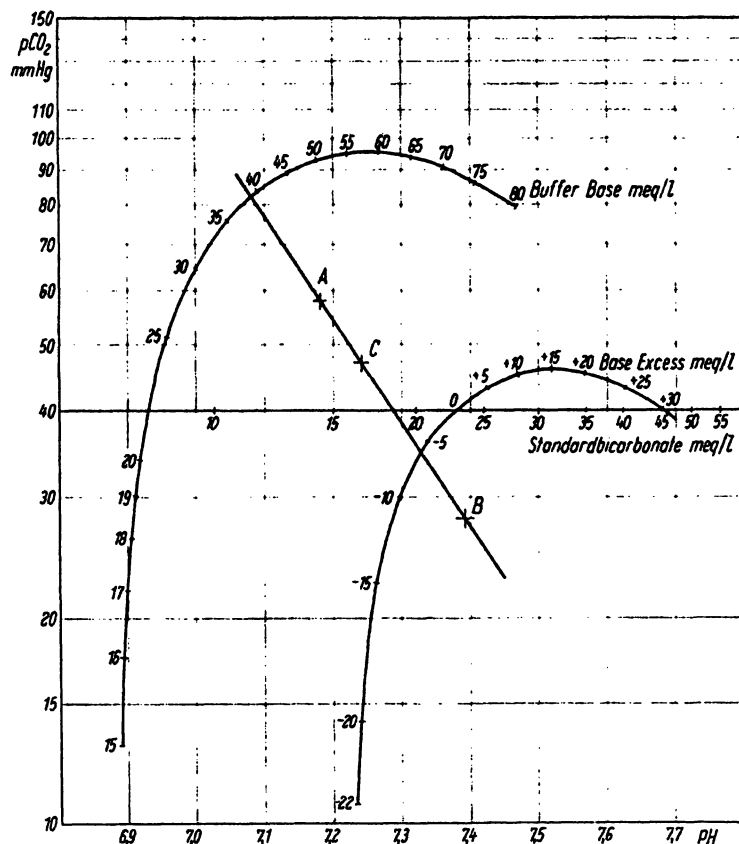


Abb. 1

Nomogramm (Radiometer Kopenhagen) zur Bestimmung von Standardbikarbonat und CO_2 -Druck nach ASTRUP. A = pH nach Äquilibration des Blutes mit CO_2 -Druck 60 mm Hg. B = pH nach Äquilibration mit CO_2 -Druck von 30 mm Hg. C = aktuelles pH. Es ergibt sich ein Standardbikarbonat von 18,5 mVal/l und ein aktueller CO_2 -Druck von 47 mm Hg (nach Radiometer, Emdrupvej. Kopenhagen)

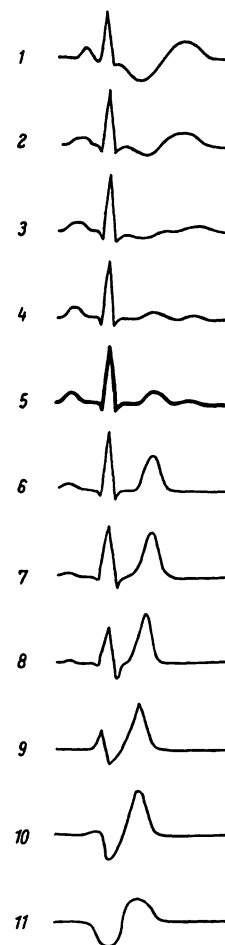


Abb. 2

Elektrokardiogramm bei Kaliumstoffwechselstörungen (GESSLER 1960). 5 = normal, darüber Kaliummangel, darunter Kaliumintoxikation (schematisch)

Erythrocytenbestimmungen

Da Gewebsanalysen klinisch nur in Ausnahmefällen in Betracht kommen, wurde schon vor Jahrzehnten versucht, den Elektrolytgehalt von Erythrocyten zu untersuchen (20). Rote Blutkörperchen haben allerdings einen etwa 60 mal trägeren Elektrolytstoffwechsel als z. B. Muskelzellen (21, 22), und es muß in jedem Fall geprüft werden, ob ihre Elektrolytkonzentrationen die anderer Körperzellen repräsentieren. Nur die Kationen kommen in Betracht, da der Chloridgehalt von Erythrocyten etwa 50% der Plasmakonzentration beträgt. — Wir verfahren

bei 7000 U/Min. 10 Min. in der Kühlzentrifuge mit einer Flichkraft von 5480 g im Bereich des zu untersuchenden Erythrocytensedimentes geschleudert. Das Plasma wird abgehoben, die Grenzschicht verworfen und beide Sedimente werden erneut gemeinsam 10 Min. mit 5480 g zentrifugiert. Nach Abheben des Plasmas und Verwerfen der Grenzschicht wird vom Boden 1 ml Sediment in einen 20 ml Meßkolben pipettiert, mit dreifach destilliertem Wasser nachgespült und aufgefüllt. Nach vollendeter Hämolyse wird durch ein aschefreies Filter (Nr. 589) filtriert und eine Verdünnung von 1:200 für die Kalium- und Natriumbestimmung hergestellt. (Wert für Kalium mit 10 multiplizieren.)

Chlorid im Erythrocyten: 1 ml Erythrocytensediment wird in 20 ml Meßkolben pipettiert, mit dest. Wasser nachgespült, es werden 2 ml 10proz. Natriumwolframat und 2 ml 0,66 n HNO_3 zugefügt

und auf 20 ml mit dest. Wasser aufgefüllt. Filtration durch asche-freies Filter. Das eiweißfreie Filtrat wird nach LANG weiter-behandelt.

Auf die *Ekg-Veränderungen* bei Elektrolythaushaltstörungen kann hier nur kurz eingegangen werden. Obwohl gleichartige Veränderungen auch durch andere Ursachen ausgelöst sein können, hat besonders die Verlaufsbeobachtung klinische Bedeutung. Calciummangel führt zur Verlängerung, Calciumüberschuß zur Verkürzung der QT-Dauer. Kaliummangel bewirkt Abflachung von T, ST-Senkung und Auftreten bzw. Verstärkung der U-Welle. Eine QT-Verlängerung kann hierdurch vorgetäuscht sein. Kaliumintoxikation führt umgekehrt zu spitzen hohen zeltförmigen T-Wellen und verkürzter QT-Dauer (vgl. Abbildung 2). Nach experimentellen Untersuchungen ist anzunehmen, daß die Ekg-Veränderungen bei Kaliumstoffwechselstörungen das Resultat von Änderungen des Quotienten aus zellulärem durch extrazelluläres Kalium (K_i/K_e) sind (25, 26, 27), woraus sich immer wieder beobachtete

Differenzen zwischen Plasmakalium und Ekg-Veränderungen erklären.

Wasserhaushalt

Da Wasser die Zellmembranen frei passiert und seine Anwesenheit von der Verteilung der Elektrolyte und der Eiweißkörper bzw. vom onkotischen Druck abhängt, ist die Kenntnis der Elektrolytkonzentrationen für die Beurteilung des Wasserhaushaltes vordringlich. Daneben sind routinemäßig Flüssigkeitsein- und -ausfuhr, Körpergewicht, Hämatokrit, Hämoglobin u. Erythrocytenzahl zu prüfen. In der Regel reichen diese Daten zusammen mit dem klinischen Befund zur Beurteilung aus. Für spezielle Probleme kann der Wassergehalt von Plasma und Erythrocyten durch Trocknung bis zur Gewichtskonstanz bei 90° bestimmt werden oder das physiologisch aktive Extrazellulärvolumen (28), welches sich aus der Ermittlung des Inulinverteilungsraumes ergibt.

Literatur

1. ORANGE, M. und H. C. RHEIN, J. biol. Chemistry 189, 379 (1951). — 2. LANG, J., Biochem. Z. 290, 289 (1937). — 3. ASTRUP, P., Scand. J. Clin. Laborat. Invest. 8, 33 (1956). — 4. ASTRUP, P., Klin. Wschr. 35, 749 (1957). — 5. ASTRUP, P. und S. SCHRÖDER, Scand. J. Clin. Laborat. Invest. 8, 30 (1956). — 6. SCHWAB, M., Klin. Wschr. 36, 349 (1958). — 7. HASSELBALCH, K. A., Biochem. Z. 78, 112 (1916). — 8. SCRIBNER, B. H., J. Amer. Med. Ass. 155, 644 (1954). — 9. SCHWAB, M. und H. WISSER, Klin. Wschr. 36, 741 (1958). — 10. HOLLIDAY, M. A., J. Clin. Invest. 34, 428 (1955). — 11. SUNDERMAN, W. und B. WILLIAMS, J. biol. Chemistry 102, 279 (1933). — 12. MANERY, J. F. und A. B. HASTINGS, J. biol. Chemistry 102, 279 (1933). — 13. MANERY, J. F., J. S. DANIELSON und A. B. HASTINGS, J. biol. Chemistry 124, 359 (1938). — 14. MANERY, J. F., A. B. HASTINGS und J. S. DANIELSON, J. biol. Chemistry 127, 657 (1939). — 15. GESSLER, U. und L. BASS, Zschr. exper. Med. 133, 18 (1960). — 16. FISCHER, E., Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen u. Tiere 255, 1 (1952). — 17. GESSLER, U., Intra- und extrazelluläre Elektrolytveränderungen bei experimenteller und klinischer metabolischer Azidose Habilitationsschrift, Freiburg (1960). — 18. GESSLER, U. und W. CALIBE, Zschr. exper. Med. 134, 139 (1961). — 19. GESSLER, U. und M. NEUHAUS, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Path. 244, 63 (1962). — 20. HOFFMANN, W. S. und H. R. D. JAKOBS, J. Laborat. Clin. Med., S. Louis 19, 633 (1934). — 21. CALKINS, E., J. M. TAYLOR und A. B. HASTINGS, Amer. J. Physiol. 177, 211 (1954). — 22. RAKER, J. W., J. M. TAYLOR, J. M. WELLER und A. B. HASTINGS, J. Gen. Physiol. 33, 691 (1950). — 23. RIECKER, G., Klin. Wschr. 35, 1158 (1957). — 24. RIECKER, G. und M. v. BUBNOFF, Zschr. exper. Med. 132, 102 (1959). — 25. KÜHNS, K., Zschr. Kreislforsch. 44, 4 (1955). — 26. GESSLER, U. und E. KUNER, Zschr. exper. Med. 134, 394 (1960). — 27. GESSLER, U., Zschr. Kreislforsch. 50, 125 (1961). — 28. MERTZ, D. P., Die extrazelluläre Flüssigkeit, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1962).

Dozent Dr. med. U. Gessler
Medizinische Universitäts-Poliklinik
78 Freiburg/Br.
Hermann-Herder-Str. 6