

ÇEŞİTLİ PATOLOJİK HALLERDE SERUM İYONİZE KALSİYUM SEVİYESİ (*)

Dr. İlder Güner (**)

İnsan organizmasında kalsiyumun önemi gün geçtikçe artmaktadır. Esasen organizmanın hastalıklar yönünden biyolojik sıvılarındaki değişiklikleri incelendikçe teşhise daha çok yardımcı ve yararlı olmağa başlamıştır.

Bugün tababet klinik kadar ve hatta ondanda ileri laboratuvar bulgularına dayanmaktadır. Hücre içi ve dışı sıvılarda erimiş veya kompleks teşkil etmiş maddelerin konsantrasyonları çeşitli patolojik hallerde çeşitli değişiklikler göstermekte ve bunların incelenmesi insan sağlığına yararlı önemli bulgular vermektedir. Bu bakımdan bizde Ca'un total ve iyonize fraksiyonlarının, inceleme fırsatı bulabildiğimiz hastalıklardaki konsantrasyonlarını araştırarak artık önemini kaybetmek durumunda olan total Ca' tayini yerine iyonize Ca'un değerini araştırdık.

Elimizde pratik bir iyonize kalsiyum tayini metodu bulunmaması nedeni ile bu tayinin şimdiye kadar neden tatbikat sahasına sokulamamış olduğunu bildiğimizden memleketimizde tatbiki mümkün olabilecek indirekt metodlarla sonuç almağa çalıştık. İncelediğimiz 70 vak'ada bizi iyonize kalsiyum tayinini gerektirecek ve onu değerlendirecek sonuçları elde ettik.

Bu arada iyonize kalsiyum için olanaklarımız sınırları içinde bir iki metod daha denedik. Misal omurilik sıvısını sadece iyonize kalsiyum ihtiva etmesinden yararlanarak likörde kalsiyum tayinine dayanan usulüde denedik. Fakat bunların hiçbirinden olumlu sonuç alamadık. Bize en güvenilir neticeleri yine Clark-Collip ve E.D.T.A. ile hazırlanan Sobel ve arkadaşlarının tekniklerine dayanan ve serum protein tayinini de içine alan formül verdi. Bizde bu teknik ile çeşitli patolojik tablolar gösteren 70 vak'a inceledik. Bunları vak'alar bölümünde ve en sonra vardığımız neticenin değerlendirilmesinde anlatacağız.

(*) Şişli Çocuk Hastanesi Biokimya Lab. Şef: Dr. Mürvet Bilen

(**) Şişli Çocuk Hastanesi Biokimya Lab. Baş Asistanı

Tezimizi Kalsiyum'un insan organizmasındaki rolü, metabolizmasındaki rolü, metabolizması ve tayin metodlarını kapsayan bölümlere ayırdıktan sonra incelenmesini yapıp vak'aların tahliline geçeceğiz.

-Ca Metabolizması-

İnsan vücudunda ortalama 1160 gr. Ca bulunmasına karşılık dolaşımdaki plazmada 0.3 gr. kadar vardır. Geri kalan Ca'un hemen hepsi erimeyen Fosfat ve Karbonat tuzları halinde kemiklerde kompleks teşkil eder. Kemiklerdeki bu büyük Ca deposuna rağmen plazmada bulunan o küçük miktar, normal vücut fonksiyonlarının oluşumunda çok büyük rol oynar. Hücre membranının permeabilitesini ve nöromusküler duyarlılığı azaltır. Sinir tenbihlerinin aktarılmasında ve kan pıhtılaşmasında pay sahibidir. Adenezin Tri Fosfat ve Süksinat dehydrogenase gibi enzimleri aktive eder. Vücutta Ca absorpsiyonu asit PH da artar, alkali de ise azalır. Erimiyen tuzlar husule getirir.

Ca ve P metabolizmaları bir çok nedenlerle birbirinin içine girmiş haldedir. Bunun içinde en önemlisi vücut sıvılarındaki pH derecesinde kalsiyum fosfat'ın büyük erimezliğidir. Bu hassa Ca ve P metabolizmalarının her safhasında göze çarpan en büyük faktördür. Barsaklardan Ca ve P'un fazla absorpsiyonunu önler. Kemik teşekkülünü ve rezorpsiyonunu sınırlar. Plazmadaki iyon konsantrasyonlarını etkiler. Patolojik kireçlenmelerde ve böbrekteki kalsiyum fosfat taşlarının teşekkülünden sorumludur. Barsaktan Ca absorpsiyonu için D vitamini şarttır. Bu vitaminin fazlalığı absorpsiyonu artırır, eksikliği ise azaltır.

İnsan vücudu için Ca şu fonksiyonlarda daha çok etkilidir.

1 — Kemik teşekkülünde büyük önemi vardır. Vücut Ca'nun %99'u buradadır. Kemik hastalıklarında bu metabolizma sık sık bozulur.

2 — Normal kan pıhtılaşmasını sağlar, protrombinin trombine dönmesi için gereklidir. Trombokinaz enzimi için bir Co-faktör olur.

3 — Membran permeabilitesini ayarlar, tesir şekli henüz aydınlanamamıştır.

4 — Normal kalp ritmini düzenler, burada K iyonları ile antogonist bir rol oynar. Ca artışı ve K azalışı kalp kontraksiyonunu artırır, eksikliği ise bu ritmi yavaşlatır. Burada iyonize Ca'un biyolojik sıvılardaki tayininin ne kadar önemli olduğunu anlatır.

5 — Sinir ve kasların duyarlılığını düzene koyar, Ca iyon aktivitesinin azalması kas ve sinirlerin eksitabilitesini artırır. Buna karşılık nöromüsküler uçlarını azaltır. Bu hadise tetani patolojisinin nede-nini anlatır.

6 — Normal kas kontraksiyonlarını sağlar, kaslardaki Ca'un ço-ğu uyarma esnasında bağlanır ve serbest kalır. Ca'un serbest kalması kas kontraksiyonu için gereklidir. Burada Mg iyonları ile kontra bir etki meydana getirir.

7 — Böbreklerde idrarın yoğunlaşmasını sağlar. Ca'un fazlası ve K azlığı böbreğin distal tübülleri ve toplayıcı kanallarda konsantras-yon kabiliyetini büyük ölçüde azaltır.

8 — Gebelikte fötüsün gelişmesini sağlar.

Ca Absorpsiyonu

Ca vücuda yukarı barsak yolundan bilhassa duodenumdan girer, bu giriş aşağıdaki faktörlere tabidir.

- 1 — Barsak Florasının asiditesine,
- 2 — Sitrat'a benzer maddelerin Ca'u nonionize fakat absorpsiyona elverişli bir halde tutmasına,
- 3 — Safra tuzlarının yeterli miktarda olmasına,
- 4 — Lipazların yeterli miktarda olmasına,
- 5 — Vücuttaki D vitamini durumuna,
- 6 — Serum inorganik P seviyesine,

Absorbe edilen Ca'un hemen hepsinin yukarı barsak yollarından girmesinin nedeni, mide suyu asiditesinin buralarda da etkisini sür-dürerek Florayı asit halde tutmasındandır. Duodenumda pH daima 5 civarındadır. Bu pH sınırları içinde Ca erimiş ve ionizedir. Daha aşağı barsak bölümlerinde pH yükselir. Ve kalsiyumda fosfat tuzları halin-de çökerek absorbe edilemez. Eğer besin yolu ile fazla laktoz alınır-sa bakteri fermentasyonu yüzünden laktik asit husule gelir. Bu da orta-mı asit yapacağından absorpsiyonda artar.

Ca'un iyi absorpsiyonu için yağlarında gerçek sindirimle absorp-siyonu şarttır. Aksi takdirde Ca ile barsaktaki yağlar erimeyen sabun-lar yaparlar. Mekanik sarılıklarda, pankreas yetersizliğinde bu hal görülür. Absorpsiyon için birinci faktör D vitaminidir. Bunun sebebi henüz anlaşılamamıştır. D vitamini dışkı ile Ca ıtrahını azaltır. Plaz-ma Ca seviyesini yükseltir. İdrarla Ca ıtrahını artırır.

Hububat Ca absorpsiyonunu azaltır. Buna sebep içlerinde çok miktar fitik asit bulunmasındandır. Bu da barsakta hiç erimeyen (Ca

Fitat) Ca tuzları yapar. Serum Ca seviyesine en çok fosfor tesir eder. Zira bu iki eleman kesinlikle anlaşılamiyan bir mekanizma ile serum Ca'un azalmasına yol açmaktadır. Buna en güzel örnek üremide fosforun böbrekte reaksiyonu ile asidozdan ileri geldiği de sanılmaktadır. Zira asidoz proteine bağlı Ca'un bir kısmının çözülmesine yol açar. Bu kısımda böbreklerde kolaylıkla itrah edilerek plazmadaki iyonize Ca fraksiyonunun sabit kalmasını sağlar.

Ca Dağılışı ve Akibeti

Ca'un normal insan plazma ve serumundaki konsantrasyonu ortalama %10 mg. (5 meq) dir.

Bu total kalsiyumdur. Kan hücrelerinde hemen hiç yoktur.

Plazmada iki ayrı şekilde bulunur.

1 — Proteine bağlı, non-diffuzibl şekil.

2 — Diffuzibl fraksiyon: Bu da tekrar bölünerek sitrat ve fosfatlarda kompleks Ca tuzlarını yapar. Bunun miktarı % 0.2-0.5 mg. dır. Diğeri de iyonize kalsiyumdur. Serum, kollodyum veya selofan gibi semipermeabl süzgeçten geçirilirse geçen bu ultrafiltrastaki kalsiyum konsantrasyonu %10 mg. olmayıp %5.5 mg. etrafındadır. Geri kalan 4.5 mg. kadarı ultrafiltrabil değildir. Proteinlerle kalsiyum proteinat halinde iyonize olmayan bir bileşik teşkil etmiştir.

Vücudun interstisyel sıvılarında sadece diffuzibl kalsiyum bulunur. İyonize kalsiyum vücuttaki kalsiyumun en aktif şeklidir. Bu fraksiyonunun önemli derecede azalması tetaniyi husule getirir. İyonize kalsiyum seviyesine en çok pH etkili olur. Kan pH sinin yükselmesi total serum kalsiyumuna aksetmeden iyonize kalsiyum seviyesini düşürür. Serum kalsiyumuna serum proteinleri tesir etmektedir. Burada globulinden ziyade albümin etkili rol oynar. Bu yüzden hipoproteinemilerde serum kalsiyum konsantrasyonu değişir. Gıdai ve nefrotik hipoalbüminürde total serum kalsiyumu %6,7 mg. kadar düşer. Fakat böyle vakalarda kalsiyum çok düşmez, asidoziste Ca artar. Alkoloz da azalır. Serum kalsiyumu düşük ve asidozlu hastalarda çok defa tetani arazları görülmemektedir. Fakat bu asidoz alkalilerle düzeltildiği zaman tetani meydana çıkar. Kalsiyumun vücutta oynadığı önemli rolde, en büyük hisse sahiplerinden biri de paratiroid bezidir.

Kalsiyum kompleksi yapan anyonlar idrarda plazmadakinden daha çok bulunur. İdrarda bulunan yüksek üre konsantrasyonu kalsiyumun solubilitesini artırır. Fakat bu denklem bozulunca kalsiyum iyonu anyonlarla erimeyen tuzlar yaparak taş teşekkülü için önemli bir faktör olur.

Kalsiyumun İtrah Yolu

Bunun için çeşitli yollar bulunmaktadır. Bunları şöyle sıralayabiliriz.

- 1 — En büyük kısım dışkı ile atılır.
- 2 — Çok daha az miktarı idrarla çıkar.
- 3 — Gebelerde plasenta yolu ile çok fazla bir kısım fötüse geçer.
- 4 — Emzirmede de sütle fazlaca çıkar.

Böbrek glomerülüslerinden günde 10 gr. kalsiyum filtre edildiği halde bunun ancak % 1 (100 mg.) idrarla itrah edilmektedir. Bu tübülülerden reabsorpsiyon mekanizması henüz iyice aydınlanamamıştır. Çünkü çok yüksek kalsemisi olan insanların bile günlük idrarla kalsiyum itrahi 500 mg.'ı geçmemektedir.

İdrarla kalsiyum itrahını çeşitli faktörler düzenler. Bunun birincisi dolaşımdaki kalsiyum seviyesidir. Bu seviye %7,5 mg.'ın altına düşerse idrarla kalsiyum itrahi hemen hemen yok olur. %11 mg. ın üzerinde ise bu itrah azami seviyeyi bulur. Bundan başka paratiroid hormonların artışında hiper kalsemi görülmeden de hiperkalsiüri meydana çıkar. Ve bu çıkış plazma kalsiyum seviyesine tesir etmez. Ağır fosfat eksikliklerinde normalin 10 misli fazla kalsiyum idrarla çıkar. Osmotik diürezlerde kalsiyum itrahi artar. Sitrat veya magnezyum tuzlarının infuzyon yolu ile verilmesinde de itrah artar. Bunların dışında metabolik asidozda ve paratiroid hormonları etkisile itrahın arttığı görülür. İdrarla kalsiyum alınmasından husule gelir. Fakat bu esnada plazmadaki kalsiyum konsantrasyonunda değişiklik olmaz.

Paratiroid hormonu normal seviyede olduğu zaman tübülireabsorpsiyonu artar. Ve idrarla itrah azalır. Hiper kalsemi yapacak miktarda hormon dolaşımla girerse idrarla itrahı artar.

Materyel:

Deneylerimiz 70 vak'a üzerinden yapılmıştır. Bunlardan 38'i kadın 32'si erkek ve ortalama yaşlar 42 dir. Vak'alarımızı muhtelif hastalık gurupları böbrek hastalığı, kalp yetmezliği, böbrek taşı, hipertroidi, paratiroid adenom üzerinden seçtik.

Metod:

Kan Serumunda Kalsiyum Tayin Metodları

- 1 — E.D.T.A. (Bachra-Dauer-Sobel Metod)

Prensip: Kalsiyum iyonu endikatör olarak Calred (Calcon) kullanılarak (Na EDTA) ile titrasyonla tayin edilebilir. İdrar ve ikterik veya hemolizli serumlu ise kalsiyum, önce oksalat tuzu haline getirilir.

Miyarlar:

A — Potasyum hidroksit 1.25 N: 70 gr. Potasyum hidroksit su da eritilir litreye tamamlanır. Polyetilen şişede saklanır.

B — EDTA Solüsyonu: 0.395 gr. disodium etilen diamin tetra asitat Di hidrat suda eritilir litreye tamamlanır. Polyetylenede saklanır.

C — Calred indikatör Solüsyonu: 1 gr. calred 50 ml.lik bir havana konur. 10 ml. su ilâve edilir. Meydana gelen homogen bir süspansiyon buzdolabında saklanır. Genellikle iki hafta kadar dayanır. Bununla beraber kesin bir reaksiyon sonu alınamıyorsa atılmalıdır. Endikatörün bazı denemeleri günlük yeni bir süspansiyonun hazırlanmasını gerektirebilir.

Ç — Sodyum Sitrat : 0.05 M

17.4 gr. sodyum sitrat suda eritilir ve litreye tamamlanır. Payreks veya polietilen şişede saklanır.

D — Kaprilik Alkol: (Caprylik Alkol)

E — Kalsiyum Standardı: (1 ml. — 100 mg. Ca)

Hassas terazide 0.2472 (Henry'de 250 mg.) kalsiyum karbonat tartılır. Litrelik behere konulur. Yavaşça 7 ml. sulu HCl (1 kısım keşif HCl - 9 kısım su) ilâve edilir. Kalsiyum karbonat tamamen eriyinceye kadar beklenir. Ve sonra 900 ml. su ilâve edilir.

pH % 50'lik amonyum asetat ile altıya ayarlanır, su ile litreye tamamlanır. Ve iyice karıştırılır. Payreks veya polietilen şişede saklanır.

F — Amonyum Oksalate : % 10

10 gr. madde (suda eritilir ve 100 sl. ye tamamlanır.) iyice karıştırılır. Polietilen şişede saklanır.

G — Hidroklorik Asit : 1 N

Bir lastik veya vakuma bağlı 10 ml.lik serolojik pipet kullanarak içinde 70 ml. su bulunan 100 ml.lik balona 8.4 ml. kesif HCL konur. Hacmi 100 ml. ye tamamlanır. Kesif asit ağızla pipetlenmez.

Ğ — Amonyum hidroksit : % 5

20 ml. kesif amonyum hidroksit (% 28 lik) 80 ml. su ile karıştırılır cam kapaklı şişede saklanır.

Teknik :

1 — Berrak konik dipli 12 veya 15 ml. lik santrifüj tüplerine standard (üç tüple çalışılır) için 0,50 ml. çalışma standardı teste 0.50 ml. serum ve pek küçük bir camla kaprilik alkol konur.

2 — Numuneler alkali ortamda 10 dakikadan fazla kalırsa reaksiyon sonu kesin olarak elde edilemediği için seri halde değilde bir tübe başlayınca sonuna kadar çalışılmalıdır.

3 — 2.5 ml. 2.25 N Potasyum hidroksit pipetlenir ve karıştırılır.

4 — Endikatör solüsyonu her seferinde kullanılmadan hemen önce çalkalanır, karıştırılır, tüpe 0.25 ml. endikatör solüsyonu ilâve edilir ve karıştırılır.

5 — EDTA solüsyonu ile derhal titre edilir, renk şarap kırmızısından maviye değişecektir. Renk değişimi parlak bir ışık altında takip edilir.

Hesabı :

$$\frac{\text{Testin Titrasyon Hacmi}}{\text{Standardın Titrasyon Hacmi}} \times 0,05 \times \frac{100}{0,5}$$
$$\frac{\text{Testin Titrasyon Hacmi}}{\text{Standardın Titrasyon Hacmi}} \times 10 \times q \text{ mg. Ca}$$

Veya,

$$\frac{\text{Testin Titrasyon Hacmi}}{\text{Standardın Titrasyon Hacmi}} \times 5 = \text{meq/L Ca}$$

Serumda İonize Ca Tayin Metodu :

Serumda Ca iki şekilde bulunur.

1 — Difuze olmıyan : Proteine bağlı kalsiyum halinde ve total kalsiyumun %40-50'sini teşkil eder. Ve bu da tali kısımlara bölünür.

2 — Difuze fraksiyon şeklinde : iki kısımda mütalaa edilebilir.

a) Kalsiyum sitrat ve kalsiyum fosfat halinde, takriben %0,2-0,5 mg. arasında değişir.

b) İonize kalsiyum halinde, bu da takriben %4,2-5,5 mg. arasında değişir. İonize Kalsiyum, kalsiyum seviyesine tesir eden faktörlerden biri pH dır. Kan pH'nın artmasından ionize kalsiyum seviyesi düşer. İonize kalsiyum seviyesi dekstarangel ile muameleden sonra ve evvel kalsiyum seviyelerini ölçmekle tayin edilir. Veya ultrafiltrasyonla tayin edilir. Aynı zamanda likör sereprospinaliste total kalsiyum seviyesi ionize kalsiyum için bir indeks olduğu tavsiye edilir.

Normal likör kalsiyum seviyesi %4.2-5,8 mg'dır. Likörde yapılan kalsiyum tayinleri diğer metodlarla serumda yapılan ionize kalsiyum tayin metodlarına uyar. Zira bu sıvı plazmanın ultrafiltratı olarak kabul edilir.

$$\% \text{ ionize Ca} = \frac{6 \times \text{Total kalsiyum mg/100} \left(\frac{\text{gr. Protein/100 cc}}{3} \right)}{\text{gr Protein/100 cc} - 6}$$

Bu formül pH = 7,35 25 C°'da kalsiyum ile protein arasındaki münasebete dayanarak realize edilmiştir.

Vak'a	Teşhis	Ortalama Üre-N % mg.	Ortalama TP % gr.	Ortalama P % mg.	Ortalama Total-Ca % mg.	Ortalama İonize-Ca % mg.
12	Nefropati	65	6,2	5	8,4	4
6	Raşitis	—	4,8	3,7	7,7	4,2
1	Paratiroid Adenom	—	7,4	2	14	6
1	Male Absorpsion	21	3,8	3,5	9	5,3
2	Hiper Tansiyon	60	6,5	3,4	9	4,2
1	Hemeroji Serebral	51	5,75	6	8,8	4,3
2	Koroner Skleroz	23	7,4	5,6	8,6	3,9
2	Meme C A	—	7,6	6,2	9,7	4,2
1	Plasmosytoma	—	6,5	4	9	4,2
12	Böbrek taşı	15	7,2	3,3	10,5	4,5
12	Üremi Kronik Nefrit	70	6,9	5	8	3,4
9	Hiper Tiroidi	14	7,4	3,5	10,1	4,7
5	Kalp yetmezliği	21	7,3	3,3	9,6	4,3
4	Pürülan Menenjit	—	6,6	3,5	10,5	4,6

Münakaşa

Çeşitli patolojik hallerde serumda ionize kalsiyum seviyesini incelemek için 70 vak'ada bu tayini yaptık.

Vak'alarımızın 12 tanesi böbrek taşı, 5 tanesi kalp yetmezliği, 12 tanesi kronik nefrit ve üremi, 9 tanesi hipertiroidi, 12 tanesi nefropati, 6 tanesi raşitis diğerleri de cetvelde görüldüğü gibi muhtelif klinik teşhislerle servislerden gelen vak'alardır.

Bu vak'aların hemen hepsinde ilgili yan analizleri de yaptık. Cetvelde görüldüğü gibi bunların ortalama Üre-N, Total Protein, P, Total kalsiyum, ionize kalsiyum) seviyelerini bir araya topladık. Böbrek taşı, hiperitiroidi, kalp yetmezliği, Pürülan menenjit, plazmacyton, meme kanseri, Hiper tansion... gibi vak'alarda ionize kalsiyum seviyeleri normal olarak bulunmuştur. İnceleme fırsatı bulduğumuz bir tek paratiroid adenoma vak'asında fosfor seviyesi düşük (% 2 mg) buna mukabil total kalsiyum seviyesi (% 14 mg) ve ionize kalsiyum % 6 mg olarak yükselmiş olduğunu gördük.

Raşitlik vak'alarda ortalama ionize kalsiyum seviyesi normal olmasına rağmen total kalsiyum seviyesi alt hudutta bulunmuştur. Bunun da sebebi besin ve ilaç tedavisinin erken başlaması ile ağır vak'aları yakalayamamış olmamızdır.

Nefropati ve üremiye giden kronik nefrit vak'alarından ionize kalsiyum seviyesinin total kalsiyum seviyesine nazaran daha fazla düştüğü görülmüştür. (% 3,4 mg.) Bundan da böbrek hastalığının gidiş ve pronostiği bakımından ionize kalsiyum tayininin çok değerli bir yardımcı olduğu kanaatine vardık.

Özet

Çeşitli patolojik 70 vak'a üzerinde yaptığımız total ve ionize kalsiyum tayinlerinden, ionize kalsiyum seviyesinin böbrek hastalığında düşük olarak bulduk (% 3,4 mg.) Bu durumda, ionize kalsiyum tayinini böbrek hastalığının gidiş ve pronostiği bakımından kıymetli bir yardımcı laboratuar aracı olduğu kanaatine vardık.

Summary

The levels of serum ionized calcium in various pathological conditions has been reviewed.

LİTERATÜR

1. Bethesda J. Clinical Chemistry. 1964
2. Görpe A. Klinik Endokrinoloji. 1964
3. Gradwohl. Clinical Laboratory Methods Diagnosis. 1963
4. Hoffman. The Biochemistry of Clinical Medicine. 1964
5. King. Biochemical Disorder. 1964
6. Kramer B. Sidney İnorganic Constituent of Blood. 1957
7. Lynch - Raphael - Mellor. Medical Lab. Technology. 1968
8. Norbert W. Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 1970
9. Richard Henry. Clinical Chemistry. 1964
10. Tağ T. Sayıl, T. Böbrek Fonksiyon testlerinin klinikteki yer ve değeri, V. Guraba Hast. 1965. Yıllık Bülteni.
11. White, Ericson Stevens. Clinical Biochemistry. 1970
12. Williams P. Endokrinologie 1968