

# Bestimmung des Bromidindexes bei Mukoviszidose mit ionselektiver Membranelektrode

Von

K. GYURKOVITS und Aranka LÁSZLÓ

Kinderklinik der Medizinischen Universität Szeged

(Eingegangen am 11. Oktober 1973)

In verifizierten Fällen von Mukoviszidose wurden die zur Untersuchung des Bromid-Tests erforderlichen Schweiß- und Blut-Bromidbestimmungen mit einer ionselektiver Membranelektrode durchgeführt. Da in bezug auf den Bromid-Index (Bromid-Verteilung in Blut und Schweiß) zwischen Normalfällen und Homozygoten bzw. Heterozygoten ein deutlich feststellbarer Unterschied besteht, liefert der Test wertvolle Angaben zur Differentialdiagnostik der betreffenden Fälle.

Anhand des hohen Schweißelektrolytgehalts der an Mukoviszidose leidenden Patienten dürfte angenommen werden, daß den Chlorid-Ionen ähnlich auch die Bromid-Ionen die Zellmembran leichter passieren. Diese Hypothese scheinen auch die Untersuchungen von HAGER-MALECKA und SZCZEPANSKI [9, 4] zu unterstützen, in denen die bei Normalpersonen und bei an Mukoviszidose leidenden Patienten nach peroraler NaBr-Belastung ermittelten Bromid-Indexwerte (Verteilung der Bromidkonzentration in Serum und Schweiß) verglichen wurden. Als Vorteil des Tests bezeichneten Verfasser die Möglichkeit des Nachweises von Heterozygoten. Der weitläufigen Anwendung des Verfahrens standen bisher die Schwierigkeiten der Methode im Wege.

Durch Anwendung einer bromidselektiven Membranelektrode bietet sich die Möglichkeit zur direkten Mikro-Bromidbestimmung, die eine

sowohl klinisch als auch laboratoriumstechnisch einfache Untersuchungsmethode darstellt. Unter Anwendung dieses Verfahrens setzten wir bei unserem Krankenmaterial Bromid-Index-Untersuchungen in Gang. Das Ziel unserer Untersuchungen war, die von SZCZEPANSKI [8] 1972 veröffentlichten Ergebnisse durch die von uns bei Mukoviszidose Homozygoten und Heterozygoten ermittelten Resultate zu bekräftigen und gleichzeitig die Anwendbarkeit sowie die Vorteile der Methode zu erläutern.

## MATERIAL UND METHODIK

Der Bromid-Index wurde bei insgesamt 30, an Mukoviszidose leidenden Patienten — 6 Homozygoten und 24 Heterozygoten — sowie bei 10 Normalpersonen (Kontrollen) bestimmt. Die Homozygoten waren klinisch positive Fälle, bei denen die Mukoviszidose durch Schweißelektrolyt- und Duodenumsaft-Untersuchungen bestätigt wurde. 20 der Heterozygoten wurden aus verifizierten Eltern bzw. Verwandten

der Homozygoten selektiert. In 4 Fällen konnte die Heterozygotie — ohne bekannte homozygote Familienmitglieder — anhand klinischer Daten vorausgesetzt werden. Die Untersuchungen wurden mit Schweiß  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ - sowie Stuhl-Enzymbestimmungen ergänzt. In die Kontrollgruppe wurden klinisch symptomfreie Kinder eingereiht, deren Schweißelektrolyt- und Stuhl-Enzymbestimmungen normale Werte ergaben.

Die NaBr-Lösung wurde den Patienten nach den Vorschriften von SZCZEPANSKI [8] verabreicht. Die Schweißmessung erfolgte mit der Filterpapiermethode: Ein Stückchen Filterpapier mit bekanntem Gewicht wurde auf den mit Benzin abgewischten Rücken des Patienten gelegt, mit einer Kunststoff-Folie bedeckt und unter Erwärmung solange dort belassen, bis es augensichtlich feucht wurde. Nach Ermittlung der Schweißmenge wurden mit destilliertem Wasser 5–10fache Verdünnungen hergestellt. Blut wurde in heparinierte Kapillarröhrchen aus der Fingerbeere entnommen.

Zu den Bromidbestimmungen kam eine  $\text{Br}^-$ -selektive Membranelektrode Typ Radelkis OP-711 und als Referentelektrode ein Typ Radelkis OP-820 zur Anwendung. Je 10  $\mu\text{l}$  (etwa 2 Tropfen) der wäßrigen Schweißlösung und des Blutes wurden auf die Membranoberfläche der Elektrode getropft. Zur Ablesung des Membranpotentials diente ein biologisches pH-Meßinstrument (Radelkis Typ OP-203). Die Meßmethode stimmte mit der früher veröffentlichten Jodidbestimmung überein [3]. Der mV-Wert des Membranpotentials wurde mit Hilfe einer Kalibrationskurve in mval/l-Konzentration umgerechnet. Wenn die zwischen den beiden Ionen bestehende Proportion mehr als 1:100 ausmacht, können die  $\text{Cl}^-$ -Ionen auf die  $\text{Br}^-$ -Bestimmung störend einwirken.

### ERGEBNISSE

Die ermittelten Werte des Bromidverteilungsquotienten (Bromid-In-

dex) in Schweiß und Blut sowie die Ergebnisse von SZCZEPANSKI [8] veranschaulicht Tabelle I.

Der Unterschied, der zwischen den Durchschnitten der Bromidindexe der drei Gruppen (Normalpersonen, Homozygoten, Heterozygoten) besteht, weist auf eine offensichtliche Signifikanz ( $p < 0,001/\text{min}$ ). Unsere Ergebnisse stimmen mit den Angaben des zitierten Verfassers überein, obwohl in unserem Material die durchschnittlichen Streuungen der Heterozygotengruppe größer sind. Hierzu sei erwähnt, daß der klinische Zustand und die Befunde anderer Untersuchungen der Heterozygoten ebenfalls bedeutende Abweichungen erkennen ließen. Was die absoluten Werte anbelangt, schwankten die Blut-Bromidkonzentrationen zwischen 1,5 und 10,0 mval/l; der maximale  $\text{Br}^-$ -Index betrug in der Normalgruppe 10%, während der niedrigste Wert unter den Heterozygoten 14% ausmachte, so daß von einer Überlappung nicht die Rede sein kann. Unter den heterozygoten Eltern fand sich ein Fall mit einem extrem hohen Bromid-Index (100%); interessanterweise war aber die niedrigste Blut- $\text{Br}^-$ -Konzentration ebenfalls in diesem Fall zu registrieren (1,5 mval/l).

### BESPRECHUNG

Bei der klinischen Diagnose der Mukoviszidose spielt die Bestimmung der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Konzentration im Schweiß eine entscheidende Rolle. Die Konzentration dieser Ione ist aber — selbst wenn man die metho-

TABELLE I

Bromidindex der Homo- und Heterozygoten bei Mukoviszidose

	Anzahl der Kontrollfälle	Mukoviszidose	
		Heterozygoten	Homozygoten
Anzahl der Fälle (Szczepanski)	34	47	15
Bromid-Index (%)	7,7 SD: 9,7	30,5 7,5	62 27,1
Anzahl der Fälle (eigenes Material)	10	24	6
Bromid-Index (%)	5,9 SD: 2,2	31,0 19,7	81,0 23,7

dologischen Fehlermöglichkeiten außer acht läßt — nicht dermaßen konstant, daß sich normale und pathologische Fälle bzw. Heterozygoten und Homozygoten scharf voneinander abgrenzen ließen. Die Permeabilitätsverhältnisse der Zellmembran ändern sich mit dem Lebensalter (die  $\text{Na}^+$ -Konzentration beträgt im Schweiß eines 1-tägigen Neugeborenen im Durchschnitt 50,8 mval/l) [5], sie stehen aber auch unter dem Einfluß verschiedener Faktoren, wie der aktuelle Zustand des Flüssigkeits- und Elektrolythaushalts, sowie nebst der Mukoviszidose noch zahlreiche andere Krankheitsbilder, durch die der Membrantransport von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Mg}^{++}$ , usw. auf direktem oder indirektem Weg beeinflußt wird.

Der Mangel der Pankreasenzyme ist kein unbedingt sicheres diagnostisches Zeichen, da in einem Teil der Fälle entweder keine, oder nur eine partielle Pankreasinsuffizienz besteht. Die Malabsorptionssymptome manifestieren sich klinisch nur dann, wenn

sich die Kapazität der Pankreasfunktion auf 1/8 ihrer ursprünglichen Leistungsfähigkeit beschränkt hat. Die neueren Untersuchungen streben eher den Nachweis einer Membrantransport-Störung an: Die Untersuchung der Nägel und des Haares scheint vielversprechend zu sein [1, 6, 7], die Methode hat aber noch keinen einwandfrei bewiesenen Wert, da ihre Resultate nicht in jedem Fall mit den Daten der Schweißbestimmungen übereinstimmen [2]. HAGERMALECKA und SZCZEPANSKI [4] haben zur Untersuchung als erste eine körperidentische Substanz (Bromid) angewendet und dabei festgestellt, daß die Verteilung der  $\text{Br}^-$ -Ionen nicht passiv der  $\text{Cl}^-$ -Ionen folgt, wie man das aufgrund theoretischer Erwägungen annehmen könnte; in der Schweißabsonderung scheint die Membranfunktion im Falle von  $\text{Br}^-$  in bedeutenderem Maße differenziert zu sein, als gegenüber  $\text{Cl}^-$ . Auf diese Weise kann der Grenzfall von Normalen und der Homozygot vom He-

terozygot differenziert werden [8]. Durch Anwendung der potenziometrischen direkten Bromidbestimmung vermochten wir die Schwerfälligkeit der Methode gegenüber die  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Bestimmung zu eliminieren und die ermittelten Ergebnisse stimmten mit den von den zitierten Verfassern publizierten Daten überein. Die Einführung der Bromid-Index-Bestimmung hat uns auf dem Weg zum Nachweis der Heterozygoten und der Differenzierung der Fälle, deren Schweiß  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Konzentration an der Grenze des Normalen und Pathologischen schwankt, einen Schritt weiter verholfen; beim gleichzeitigen Vorkommen der hohen Schweißelektrolyt-Konzentration + klinischer Symptome (Homozygot? Heterozygot?) konnte aber ihr Wert theoretisch noch nicht bewiesen werden. Inbezug auf die Frage, ob die in gewissen Fällen beobachtbare Korrelation zwischen der Größe des Bromid-Indexes und dem Schweregrad der Krankheit eine allgemeine Erscheinung ist, kann mangels entsprechend vielzähliger Untersuchungsergebnisse keine endgültige Entscheidung getroffen werden.

DR. K. GYURKOVITS  
Gyermekklinika  
H-6725 Szeged, Ungarn

## LITERATUR

1. ANTONELLI, M., BALLATI, G., ANNIBALDI, L.: Simplified nail-clipping test for diagnosis of cystic fibrosis. Arch. Dis. Childh. **44**, 218 (1969).
2. GÜRSON, C. T., SERTIL, H., GÜRKAN, M., PALA, S.: Newborn screening for cystic fibrosis with chloride electrode and neutron activation analysis. Helv. paediat. Acta. **28**, 165 (1973).
3. GYURKOVITS, K., BODA, D.: Ionszelektív elektróda használata a zsírfelszívódás vizsgálatára Lipiodol próbában. Orv. Hetil. **114**, 1547 (1973).
4. HAGER-MALECKA, B., SZCZEPANSKI, Z., SLIWA, F., MUSIALOWICZ, J.: Chloride and bromide excretion in the sweat of children after oral administration of sodium bromide. Pol. med. J. **6**, 1502 (1967).
5. HARDY, J. D., DAVISON, S. H. H., HIGGINS, M. U., POLYCARPOU, P. N.: Sweat test in newborn period. Arch. Dis. Childh. **48**, 316 (1973).
6. KOPITO, L., ELIAN, E., SHWACHMAN, H.: Hair and amniotic fluids in cystic fibrosis. Pediatrics **49**, 620 (1972).
7. LEONARD, P. J., MORRIS, W. P.: Sodium, calcium and magnesium levels in nails of children with cystic fibrosis of the pancreas. Arch. Dis. Childh. **47**, 495 (1972).
8. SZCZEPANSKI, Z.: Sweat bromide test — a diagnostic tool for mucoviscidosis. Z. Kinderheilk. **113**, 297 (1972).
9. SZCZEPANSKI, Z., HAGER-MALECKA, B.: Determination of bromide in the sweat after oral administration of bromide preparations. Pol. med. J. **6**, 1508 (1967).