

혈장 이온화칼슘 농도의 측정*

계명대학교 의과대학 병리학교실

노 락 균 · 장 은 숙

= Abstract =

Determination of Ionized Calcium in Plasma

Rac Kyun Ro · Eun Sook Chang

Department of Pathology, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea

The accurate diagnosis of disorders of calcium homeostasis requires the direct determination of ionized calcium. The major problem in the direct measurement of ionized calcium with a calcium selective electrode is the dependance on an anaerobic enviroment.

Authors measured plasma ionized calcium from 102 hospitalized patients without calcium metabolic disorders.

Mean values were 1.16 ± 0.24 m mol/L and 53.0% of total calcium. Within batch precision for the ICA 1 were 1.28 ± 0.01 (n=20) and coefficient of variation was 1.44%.

Authors report 6 months' experiences with ICA 1 ionized calcium analyzer.

서 론

혈중 이온칼슘의 농도는 인체의 칼슘상태를 가장 잘 반영하여 주는 지표로 알려져 있으나 아직까지는 상용검사법으로 널리 이용되지는 못하고 있다. 1967년 Ross 씨가 칼슘이온 전극법을 개발한 이래 최근에는 각종 장비가 시판됨으로 앞으로는 각 검사실마다 이온화칼슘측정이 널리 보급되리라 본다.

이온화칼슘의 농도는 전혈이나 혈장 또는 혈청의 산도에 따른 변이가 크므로 산도를 잘 조정해야 한다. 검체를 공기중에 노출되지 않도록 하여 검체의 pH와 이온화칼슘농도($[Ca^{++}]$)를 동시에 측정하여 이를 표준 정맥혈 pH 7.40으로 보정하여야 한다($[cCa^{++}]$). 또 다른 문제점은 이온전극이 혈장담백으로 오염되거나 또는 적혈구 용적의 변화에 따른 큰 영향을 받는다는 점이다.

저자는 이온화칼슘 농도와 pH를 동시에 측정할 수 있는 Radiometer ICA 1을 이용하여 hypocalcemia 증상이 없는 입원환자의 혈장칼슘의 분획상을

보고하는 바이다.

재료 및 방법

장비 : ICA 1²⁾은 이온화칼슘을 측정하는 selectrode, pH를 측정하는 glass electrode 및 reference electrode로 구성되어 있고, 37°C에서 Ca^{++} 과 pH를 동시에 측정하여 Ca^{++} 을 pH 7.4의 수치로 보정한다($[cCa^{++}]$). 이런 모든 조작은 내장되어 있는 microcomputer에 의하여 이루어진다. calibration은 $[cCa^{++}]$ 가 1.25 ± 0.012 m mol/L, pH가 2.38 ± 0.010 인 제1용액과 $[cCa^{++}]$ 가 2.50 ± 0.025 m mol/L, pH가 6.84 ± 0.010 인 제2용액을 사용하며, 정도관리용으로는 low Ca^{++} , high pH와 high Ca^{++} , low pH인 두 가지의 Qualichek을 사용한다.

측정범위는 cCa^{++} 은 0.20-5.00 m mol/L이며, pH는 6.00-8.80이나 $pH 7.4(7.2 > pH > 7.6)$ 에서의 cCa^{++} 의 측정범위는 0.18-5.53 m mol/L이다.

재료 : 1983년 6월부터 1983년 11월에 이르는 6개

* 본 논문은 1983년도 계명대학교 동산의료원 임상연구 보조비로 이루어졌음.

일간 Ca⁺⁺측정을 의뢰한 가검물 중 hypocalcemia의 증상이 없는 2-80세의 남녀 102례를 분석대상으로 하였다. 검체는 sodium heparin을 전혈 ml당 1000단위씩 첨가한 plastic 주사기로 가능한 한 anaerobic 상태를 유지하면서 채혈하였으며 소아는 heparinized capillary tube를 사용하였다. 분석에 제공된 검체는 채혈 즉시 500g로 10분간 원심하여 혈장을 분리한 직후 Ca⁺⁺을 측정하였다.

방법: 총칼슘은 SMA II C를 사용하여 cresolphthalein complexone^{3,4)}법으로 측정하였으며, 이온화칼슘농도는 ICA 1의 사용방법에 의거 측정하였다.

성적

참고치: 혈장 총칼슘치(mean±2 SD)는 2.19±0.89m mol/L이었고 혈장의 이온화칼슘치는 1.16±0.29m mol/L였다. 총칼슘치에 대한 이온화칼슘의 농도는 53.0%였다(Table 1). 이온화 칼슘의 분

Table 1. Reference ranges (mean±2 SD) for plasma 102 hospitalized patients.

	n	Total Ca(m mol/L)	cCa ⁺⁺ (m mol/L)
Plasma	102	2.19±0.89	1.16±0.24

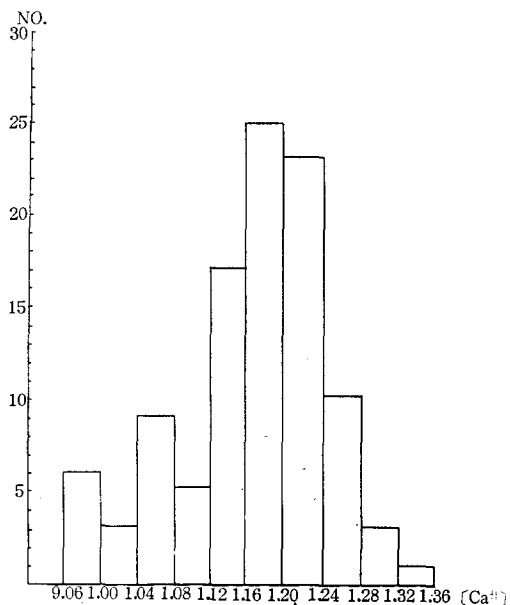


Fig. 1. Histogram showing the plasma Ca⁺⁺ at pH 7.40 for 102 hospitalized patients without disorders of calcium metabolism.

포는 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

precision: ICA 1의 within batch precision은 1.28±0.02(mean±2 SD)m mol/L였으며 CV는 1.44%였다(Table 2).

Table 2. Within batch precision for the ICA 1 ionized calcium analyzer.

	n	cCa ⁺⁺ (mean±SD)m mol/L	CV
Plasma	20	1.28±0.01	1.44%

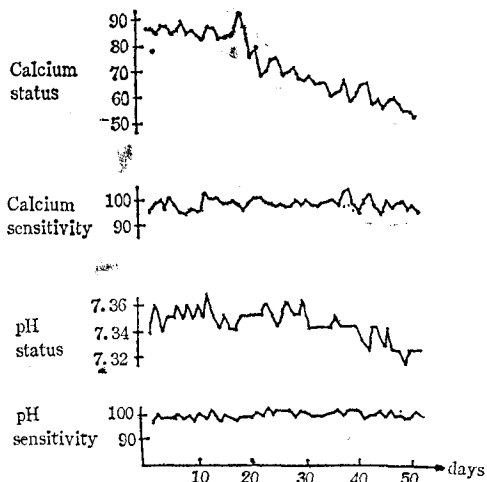


Fig. 2. Performance of the calcium and pH electrodes over a period of 53 days.

칼슘과 pH 전극의 performance: two-point calibration 방법으로 53일간에 걸쳐 각 전극의 status와 sensitivity를 점검한 성적은 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 칼슘전극의 sensitivity의 변이는 0.93-1.03 사의였고, pH 전극의 sensitivity의 변이는 0.95-1.01 사의였으며, 또한 칼슘전극의 status는 20일부터 그리고 pH 전극의 status는 30일부터 하강되는 경향을 보였다.

고찰

이온화칼슘의 농도는 pH가 저하되면 증가한다. 이는 pH가 낮아지면 혈청탐백이 Ca⁺⁺과의 결합능이 떨어지기 때문이다. 이와같은 pH 변화의 영향을 감소시키기 위해 anaerobic 상태로 채혈하여 CO₂소실로 인한 pH 증가를 억제한다. 그러나 Smith 등⁵⁾에 의하면 calcium heparin을 항응고제로 사용할 때 lactate 형성이 안되도록 신속히 분석하면 전혈을 반드시 anaerobic 상태로 채혈하지 않아도 된다

고 한다. 그러나 Fig. 3에서 보는 바와 같이 pH 7.40 이하에서는 negative skewness를 보이거나 pH \geq 7.50이 11명으로 본 실험에서 나타났다. 이는 채혈시의 불안정한 anaerobic 상태를 의미한다.

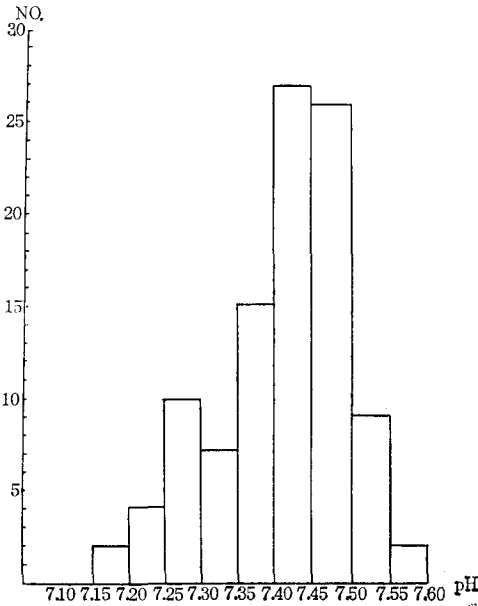


Fig. 3. pH distribution for 102 routine plasma samples anaerobically collected in 5 ml plastic syringes with sodium heparin.

혈장의 총칼슘(2.5m mol/L)은 여러 분획으로 구성되어 있다. albumin이나 globulin과 결합된 단백결합칼슘(1.0m mol/L)과 ultrafiltrable 칼슘(1.5m mol/L)등 두가지로 크게 나눌 수 있다. 후자는 calcium bicarbonate ion-pair(CaHCO₃)가 주 성분이며 소량의 lactate ion-pair나 calcium citrate complex로 구성되어 있는 complex-bound calcium(0.25m mol/L)와 유리 또는 이온화칼슘(1.25 m mol/L)으로 구성되어 있다.

이온화칼슘은 active calcium ion(0.38m mol/L)와 electrostatically bound calcium ion(0.87m mol/L)으로 구성되어 있다. 이온화칼슘이 차지하는 비율은 50%로 알려져 있으나⁶⁾ 저자의 성적은 53.0%로 약간 더 높았다. 흔히들 이온화칼슘이야말로 인체의 칼슘상태를 가장 잘 반영하여 주며 또한 생물학적으로 가장 중요한 분획으로 알려져 있으나 실제로는 이온화칼슘치의 30%에 해당되는 active Ca⁺⁺가 생리생화학적으로 보아 더 중요한 분획이다. 그러나 실제로 임상에서 active Ca⁺⁺치를 간

단히 측정하기 어려우므로 흔히 이온화칼슘 농도를 많이 이용한다는 점 뿐이다.

active 칼슘치에 coefficient 0.304(active calcium 0.38m mol/ionized calcium 1.25m mol/L)를 곱하면 이온화칼슘의 농도를 추정할 수 있다고 한다.⁷⁾ 그러나 심한 hypernatremia(170m mol/L)에서는 activity coefficient가 0.28로 떨어져서 이온화칼슘의 농도가 증가하고 심한 hyponatremia(110m mol/L)일 경우에는 0.33까지 증가하여 이온화칼슘 농도의 저하가 온다. 한편 hyperlipemia나 hyperproteinemia가 있을 경우에는 혈청내의 수분 저하를 동반한다면 activity coefficient가 0.34까지 증가되어 이온화칼슘치가 1.12m mol/L까지 낮아진다고 한다.

Drop 등⁸⁾은 NOVA 2로 측정한 전혈의 이온화칼슘농도는 1.22 \pm 0.01m mol/L이고 ORION SS-20으로 측정한 것은 1.12 \pm 0.01m mol/L이라고 보고하였다. 한편 Wandrup 등⁹⁾은 전혈의 이온화칼슘의 참고치는 1.28 \pm 0.03m mol/L이라고 보고하였으나 저자의 입원환자에 대한 참고치 1.16 \pm 0.24와는 다소 상이한 성적을 보이거나 이는 측정 장비와 재료가 다름으로 오는 결과라고 생각된다. Larsson 등¹⁰⁾에 의하면 ICA 1으로 측정하면 ORION SS-2의 측정치보다 약간 높은 결과를 얻는다고 한다. 저자의 이온화칼슘농도의 참고치는 Drop 등⁸⁾의 입원환자 213명에 대한 성적 0.80-1.50m mol/L와는 매우 잘 일치하고 있다.

칼슘이온 전극의 sensitivity는 Fogh-Andersen 제¹¹⁾에 의하면 60일간에 걸쳐 2000명을 검사하여도 전극의 slope는 0.95-1.01사의였고, Smith 등⁵⁾은 88일간의 관찰에서 24일째 slope가 0.75까지 떨어져 막을 교체하였다고 하나 저자의 경험으로는 53일간의 관찰에서 최하의 slope가 0.60으로 막을 교체하지 않아도 무방하였다.

precision은 저자의 within batch 시험에서 혈장(n=20)의 이온화칼슘은 1.28 \pm 0.01m mol/L이고 CV가 1.44%로서 비교적 정밀하였으나 Smith 등⁵⁾의 CV 0.55%보다는 정밀하지 못하였다.

기타 혈중 이온화칼슘의 농도에 영향을 미치는 인자로는 storage(7일 이상)로 인한 산도의 상승¹²⁾과 적혈구 용적¹³⁾으로 알려져 있다. 특히 cardiopulmonary bypass 시에 적혈구 용적의 변화로 인하여 오는 이온화칼슘의 농도 변화는 적혈구가 침강되기 때문이라고 하나, saturated KCl || plasma 사의에서 적혈구 형질막 간에 빠른 Cl⁻의 이동과 느린 HCO₃⁻의 이동교환으로 인한 liquid-junction poten-

tial의 영향으로 생긴다는 가설¹³⁾이 있다.

임상에서 이온화칼슘농도를 측정하는 가장 큰 적용증은 primary hyperparathyroidism의 조기진단에 있다. 이때는 소위 normocalcemic hyperparathyroidism으로 이온화칼슘농도만이 증가된다. 그 외는 shock시의 이온화칼슘의 선택적인 감소나 신생아의 저칼슘혈증의 진단에 필수적인 검사법으로 알려져 있다.

요 약

입원 환자의 이온화칼슘의 참고치는 1.16 ± 0.24 mmol/L이었고 총칼슘치의 53.0%였다. 칼슘이온전극은 극히 안정되어 53일간의 slope가 최하 0.60이었으며, 정밀성도 비교적 우수하여 CV가 1.44%였다.

References

1. Ross, J.W.: Calcium-selective electrode with liquid ionexchanger. *Science*, 156: 1378-1379, 1967.
2. ICA 1 Ionized calcium analyzer; User's handbook. Radiometer, Copenhagen, 1981.
3. Kessler, G., and Wolfman, M.: An automated procedure for the determination of calcium and phosphorus. *Clin. Chem.*, 10: 686-703, 1964.
4. Gitelman, H.J.: An improved automated procedure for the determination of calcium in biochemical specimen. *Anal. Biochem.*, 18: 521-531, 1967.
5. Smith, S.C.H., Buckley, B.M. Wedge, G. and Bold, A.M.: An evaluation of the ICA 1 ionized calcium analyzer in a clinical chemistry laboratory. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 43(Suppl. 165): 33-37, 1983.
6. Worstman, J., Killam, L.I., and Tray-

- coff, R.B.: A rapid method for the determination of ultrafiltrable calcium in serum. *J. Lab. Clin. Med.*, 98: 691-696, 1981.
7. Siggaard-Andersen, O., Thode, J. and Fogh-Andersen, N.: What is ionized calcium. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 43 (Suppl. 165): 11-16, 1983.
8. Drop, L.J., Tochta, L.N. and Misiano, D.R.: Comparative evaluation of two calcium-selective electrode system, and their utility for monitoring steady-state changes in Ca^{2+} . *Clin. Chem.*, 28: 129-133, 1982.
9. Wandrup, J. and Kancir, C.: The concentration of free calcium ions in whole blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 43 (Suppl. 165): 47-48, 1983.
10. Larsson, L., Finnstrom, O., Nilsson, B. and Ohman, S.: Evaluation of Radiometer ICA 1 as a routine instrument for serum ionized calcium and its application for whole blood capillary samples from newborn infants. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 43 (Suppl. 165): 21-26, 1983.
11. Fogh-Andersen, N.: Ionized calcium analyzer with a built-in pH correction. *Clin. Chem.*, 27: 1264-1267, 1981.
12. Brauman, J., Delvigne, C.H., Deconink, I. and Willems, D.: Factors affecting the determination of ionized calcium in blood. *Scand. J. Clin. Med. Invest.*, 43 (Suppl. 165): 27-31, 1983.
13. Siggaard-Andersen, N. and Thode, J.: Elimination of the erythrocyte effect on the liquid junction potential in potentiometric measurements on whole blood using mixed salt bridge solutions. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 43(Suppl. 165): 43-46, 1983.