

Untersuchungen über den Einfluß von Blutabnahmetechnik und Probenvorbereitung bei der Bestimmung von Zink im Serum und Plasma sowie über die Häufigkeitsverteilung der Plasma-Zink-Konzentration bei männlichen und weiblichen Blutspendern

Von *W. Seeling, H. Feist, A. Grünert, H. Heinrich, L. Luckner*

Department für Anästhesiologie (Prof. Dr. *F. W. Ahnefeld*, Prof. Dr. *W. Dick* und Prof. Dr. Dr. *A. Grünert*), Blutzentrale der Städt. Krankenanstalten Ulm (Dr. med. *H.-G. Spieß*) des Zentrums für Interdisziplinäre Medizinische Einheiten der Universität Ulm

Zusammenfassung

Bei 498 männlichen und 145 weiblichen Blutspendern wurde die Häufigkeitsverteilung der Plasma-Zink-Konzentration untersucht (Atomabsorptionsspektrophotometrie). Bei den Männern fand sich eine Normalverteilung des Plasma-Zinks ($13,4 \pm 1,8 \mu\text{mol/l}$), bei den Frauen eine Lognormalverteilung ($12,5 : 1,15 \mu\text{mol/l}$).

Eine Voruntersuchung an 105 unausgewählten Probanden hatte gezeigt, daß das Serum-Zink im Mittel $1,1 \mu\text{mol/l}$ höher liegt als das Plasma-Zink, daß die Art der Blutabnahme (Stahlkanüle oder Plastikkanüle) sowie Probenvorbereitung (Verdünnung mit Aqua demin. oder Enteiweißung mit Trichloressigsäure) keinen Einfluß auf das Ergebnis haben.

Schlüsselworte

Plasma-Zink, Serum-Zink, statistische Verteilung, Blutabnahmetechnik, Probenvorbereitung.

Summary

The statistical distribution of plasma zinc concentrations in 498 male and 145 female healthy blood donors has been investigated. Plasma zinc concentrations in man are normally distributed ($13.4 \pm 1.8 \mu\text{mol/l}$) in women we found a logarithmic normal distribution ($12.5 : 1.15 \mu\text{mol/l}$). Serum zinc concentration is $1.1 \mu\text{mol/l}$ higher than plasma zinc concentration. The method of blood drawing (steel cannula or plastic cannula) or the preanalytical preparation of the sample (dilution of serum or plasma with demineralized water or deproteinization with trichloroacetic acid) has no influence on the results.

Key words

Plasma zinc concentration, blood drawing, sample preparation.

Résumé

On recherche chez 498 donneurs de sang masculins et 145 féminins la distribution de la concentration du zinc plasmatique

(spectrophotométrie d'absorption atomique). Chez les hommes nous trouvons une distribution moyenne de $13,4 \pm 1,8 \mu\text{mol/l}$, chez les femmes une distribution logarithme moyenne de $12,5 : 1,5 \mu\text{mol/l}$.

Une précédente étude avait montré chez des sujets non tirés que la concentration de zinc du sérum était en moyenne $1,1 \mu\text{mol/l}$ plus haute que celle du plasma et de plus que la technique de prélèvement sanguin (aiguille métallique ou catheter plastique) de même que la préparation des échantillons (dilution à l'eau déminéralisée ou séparation des protéines par l'acide trichloroacétique) n'avaient aucune influence sur le résultat.

Mots clés

Zinc plasmatique, zinc du sérum, distribution statistique, technique de prélèvement sanguin, préparation des échantillons.

* * *

Einleitung

„Normalwerte“ des Spurenelements Zink in Serum und Plasma wurden von vielen Autoren mitgeteilt. Durch Angabe von Mittelwert und Standardabweichung deuten die meisten Untersucher — bewußt oder unbewußt — an, daß ihre Stichprobe einer normal verteilten Grundgesamtheit entstammt.

Sehr viele biologische Meßwerte sind aber nicht normal, sondern lognormal verteilt [1, 2]. Wir fanden nur drei Arbeiten, die über eine lognormale Verteilung des Zn im Serum berichten [3, 4, 5].

Es war das Ziel der vorliegenden Untersuchung eine Aussage über die Häufigkeitsverteilung des

Serum Zinks gesunder Männer und Frauen treffen zu können. Des weiteren sollte geklärt werden, ob die Art der Blutentnahme (V_2A -Kanüle, Plastikkanüle), Art des Untersuchungsmaterials (Serum, Plasma) oder die Art der Probenvorbereitung (Enteiweißung oder bloße Verdünnung mit Aqua demin.) einen Einfluß auf das Ergebnis haben.

Material und Methoden

Einfluß von Probengewinnung und Probenvorbereitung (Abb. 1).

Blutabnahme und Gewinnung des Untersuchungsmaterials: Bei 105 unausgewählten Probanden* wurde simultan Venenblut mittels V_2A -Kanüle und Braunüle^R entnommen. Aus jeder Blutprobe wurden Serum und Plasma gewonnen (Serum: das Vollblut blieb 1 h zur Gerinnung bei Zimmertemperatur in einem Polystyrolprobenröhrchen stehen und wurde anschließend 10 min bei 4 000 U/min zentrifugiert und das Serum abpipettiert; Plasma: die Blutabnahme erfolgte mit einer Li-Heparinat-Monovette^R, Fa. Sarstedt, die Probe wurde sofort zentrifugiert). Serum und Plasma wurden in Polystyrolprobengefäßen aufbewahrt.

Zinkbestimmung mit der AAS: Zur Zinkbestimmung benutzten wir das Atomabsorptionsspektrophotometer 400 der Fa. Perkin-Elmer (Zn-Monoelement-HKL, Wellenlänge 213,9 nm, Lampenstrom 15 mA, Deuterium UGK, Spalt 0,7 nm, Luft-Azethylenflamme oxidierend, Einschlitzbrennerkopf).

Stammeichlösung: 653,8 mg (10 nmol) analysenreines Zinkpulver wurde in einer geringen Menge verdünnter HCl suprapur^R (Merck) gelöst und auf 1 000 ml mit Aqua demin. aufgefüllt (Konzentration 10 nmol/l) und in einer Polyäthylenflasche aufbewahrt. Aus dieser Stammeichlösung wurden die Arbeitseichlösungen an jedem Untersuchungstag frisch hergestellt.

Direkte Zinkbestimmung im verdünnten Material: Serum und Plasma wurden 1 : 5 mit Aqua demin. verdünnt und die so behandelte Probe zur Analyse direkt angesaugt. Zur Eichung des Gerätes wurden Arbeitseichlösungen der Konzentrationen 5, 10, 15 und 20 $\mu\text{mol/l}$ hergestellt. Zur Viskositätsangleichung an das 1 : 5 verdünnte Plasma bzw. Serum wurden den Eichlösungen 5 ml 87%iges Glycerin (p. a.) auf 100 ml zugesetzt. Der Nullabgleich erfolgte gegen eine wäßrige 5%ige Glycerinlösung. Es wurde eine Konzentrationseichung durchgeführt. Beim Ansaugen der

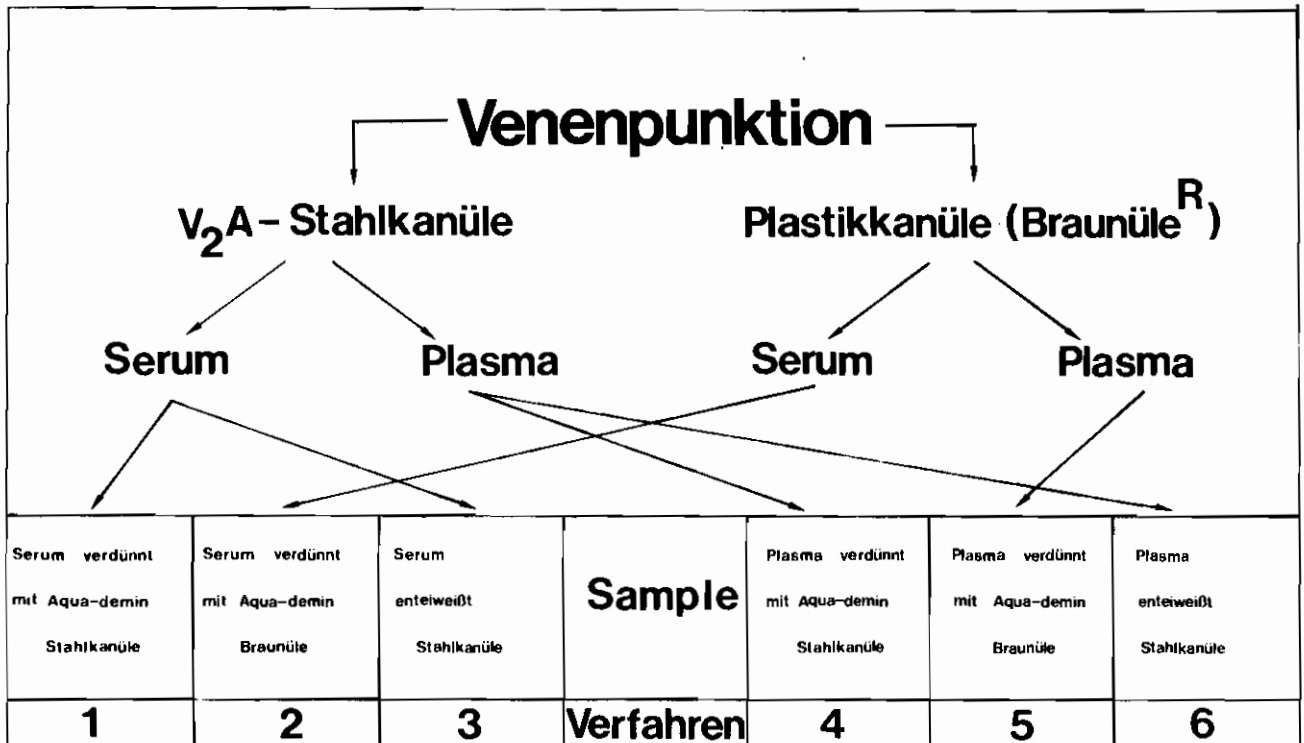


Abb. 1: Gewinnung von sechs unterschiedlich vorbereiteten Proben zur Zinkbestimmung aus dem Blut eines Probanden.

Eichlösung (z. B. 5 $\mu\text{mol/l}$) wurde der angezeigte Extinktionswert so gedehnt, daß das Fünffache der entsprechenden Konzentration (25,0) angezeigt und die fünffache Verdünnung des Plasmas bzw. Serums automatisch berücksichtigt wurde. Es konnte an der Digitalanzeige somit direkt die Serum- oder Plasmakonzentration abgelesen werden (Voruntersuchungen hatten gezeigt, daß die Extinktion bis zur Konzentration von 25 $\mu\text{mol/l}$ linear ansteigt). Messungen erfolgten mit der Betriebsart „Integration“ (Integrationszeit 2 sec).

Zinkbestimmung im enteiweißten Material: Serum und Plasma, welche nach Blutabnahme mit V_2A -Nadel gewonnen wurden, wurden auch nach Enteiweißung untersucht. Zu 2 ml Serum bzw. Plasma wurden 2 ml 5%ige Trichloressigsäure (p. a., Fa. Merck) hinzugefügt und nach Ausfällen der Eiweißfraktionen scharf zentrifugiert. Eichlösungen 5, 10, 15 und 20 $\mu\text{mol/l}$ wurden ebenfalls 1 : 2 mit 5%iger Trichloressigsäure hergestellt und eine Konzentrationseichung mit zweifacher Skalendehnung durchgeführt.

Statistik: Eine Übersicht über Gewinnung und Vorbereitung des untersuchten Materials gibt Abbildung 1. Aus dem Blut eines Probanden entstehen durch unterschiedliche Probengewinnung und -vorbereitung 6 verschiedene Meßlösungen, deren Zinkkonzentrationen voneinander nicht unabhängig sind (Verfahren j_1 — j_6). Außerdem ist uns bis jetzt die Häufigkeitsverteilung des Zn im Serum oder Plasma unbekannt. Um festzustellen, ob sich die Verfahren 1—6 voneinander unterscheiden, werden die „multiplen Vergleiche abhängiger Stichproben“ nach Wilcoxon und Wilcoxon [6] herangezogen (Signifikanzniveau $P = 0,05$; zweiseitig).

Untersuchung der Häufigkeitsverteilung des Plasma-Zn bei männlichen und weiblichen Blutspendern

Bei 498 männlichen und 145 weiblichen Blutspendern (Blutspendezentrale der Städt. Krankenhäuser Ulm) wurden 5 ml Blut mit Li-Heparinat-Monovette[®] abgenommen und sobald wie möglich zentrifugiert*), das Plasma wurde in

Polystyrolprobengefäßen im Kühlraum (+ 4° C) aufbewahrt und am folgenden Tag die Zinkbestimmung im 1 : 5 mit Aqua demin. verdünnten Plasma, wie oben beschrieben, durchgeführt.

Statistik [1, 7]: Die Meßwerte wurden der Größe nach geordnet in Klassen eingeteilt und absolute sowie relative Klassenbesetzungshäufigkeiten bestimmt und die Summenhäufigkeiten der oberen Klassengrenzen im Wahrscheinlichkeitsnetz mit linear und logarithmisch geteilter Abszisse aufgetragen. Hieraus wurde eine erste Aussage über die Häufigkeitsverteilung möglich. Die angenommene klassifizierte Verteilung wird gegen eine Wahrscheinlichkeitsverteilung (Normalverteilung oder Lognormalverteilung) mit dem „Test auf Güte der Anpassung“ nach K. Pearson [zitiert nach 7] geprüft.

Qualitätskontrollen

Präzision in der Serie: Um für lange Zeit das gleiche Material zur Bestimmung der Präzision verfügbar zu haben, stellten wir uns die zwei folgenden Lösungen (P_1 und P_2) aus einem käuflichen Spurenelementkonzentrat (Inzolen-KM-21[®], Fa. Köhler-Chemie) her:

P_1 : 200 μl Inzolen[®] + 5 ml Glycerin (87%ig p. a.), Aqua demin. ad 100,0. Die Lösung enthält 1,2 $\mu\text{mol Zn/l}$. Durch die oben beschriebene Skalendehnung bei der Messung wird ein Wert um 6,0 $\mu\text{mol/l}$ digital angezeigt. Die Zinkkonzentration liegt im unteren Meßbereich. Einfluß von Viskosität und Verdünnung des Materials können die Präzision beeinflussen.

P_2 : 800 μl Inzolen[®] + 5 ml Glycerin, Aqua demin. ad 100,0. Die Lösung enthält 4,8 $\mu\text{mol Zn/l}$. Durch Skalendehnung erscheint ein Meßwert um 24,0 $\mu\text{mol/l}$. Die Zinkkonzentration liegt im oberen Meßbereich.

Die Lösungen P_1 und P_2 wurden an jedem Arbeitstag frisch hergestellt. Nach jeder 5. Serum- oder Plasmaprobe wurden die Lösungen P_1 und P_2 gemessen. Die ermittelte Präzision in der Serie für die einzelnen Arbeitstage zeigt die Tabelle 1.

Präzision von Tag zu Tag: Der erste ermittelte Wert P_1 und P_2 eines jeden Arbeitstages wurde zur Ermittlung der Präzision von Tag zu Tag herangezogen (Tab. 1).

*) Die Probanden waren nicht nüchtern. Die Blutabnahme erfolgte im Laufe des Vormittags, das Blut wurde um die Mittagszeit zentrifugiert, so daß die Blutproben der ersten Spender ca. 3—4 Stunden, die der letzten Spender nur Minuten stehen blieben.

Tab. 1

Präzision in der Serie

18 Analysentage (vom 27. 9. 78—9. 3. 79),
 P_1 : $X_{\min} = 5,5$, $X_{\max} = 6,2 \mu\text{mol/l}$,
 P_2 : $X_{\min} = 21,5$, $X_{\max} = 24,1 \mu\text{mol/l}$,

$N_{\min} = 9$, $N_{\max} = 90$
 $VK_{\min} = 4,5\%$, $VK_{\max} = 12,3\%$
 $VK_{\min} = 1,6\%$, $VK_{\max} = 5,6\%$

Präzision von Tag zu Tag

| | N | X ($\mu\text{mol/l}$) | 1 S | VK |
|-------|----|-------------------------|------|-------|
| P_1 | 18 | 5,92 | 0,33 | 5,5 % |
| P_2 | 18 | 23,09 | 0,96 | 4,1 % |

Richtigkeit

| Referenzmaterial | Sollwert ($\mu\text{mol/l}$) | N | X | 1 S | VK |
|---------------------|--------------------------------|----|------|------|-------|
| Cation-Cal 106 BA | 34,3 | 11 | 33,4 | 0,55 | 1,7 % |
| Cation-Cal B 5160-1 | 46,0 | 37 | 44,0 | 1,89 | 4,3 % |

Richtigkeit: An jedem Arbeitstag wird eine Zinkbestimmung in einem Referenzmaterial durchgeführt (Tab. 1).

Differenz j_2-j_5 : $\bar{x} = 1,1$, $1 s = 1,2 \mu\text{mol/l}$;
 Differenz j_3-j_6 : $\bar{x} = 1,3$, $1 s = 1,2 \mu\text{mol/l}$.

Ergebnisse

Einfluß von Blutabnahmetechnik, Untersuchungsmaterial und Probenvorbereitung auf die Meßwerte

Abbildung 2 zeigt als Stabdiagramm die Rangsummen der Zinkkonzentrationen innerhalb der einzelnen Verfahren. Die Differenzen zwischen den Rängen zeigt Tabelle 2. Wir finden folgendes Ergebnis:

$$j_1 = j_2 = j_3 > j_4 = j_5 = j_6$$

wobei j_1, j_2, j_3 : Serum, verschiedene Verfahren
 j_4, j_5, j_6 : Plasma, verschiedene Verfahren

Die Zinkkonzentration im Serum ist höher als im Plasma (Differenz j_1-j_4 : $\bar{x} = 0,8$, $1 s = 1,5 \mu\text{mol/l}$;

Tab. 2: Betrag der Rangdifferenzen zwischen den Verfahren J_1-J_6 . Multiple Vergleiche abhängiger Stichproben nach Wilcoxon und Wilcox [6].

| | J_1 | J_2 | J_3 | J_4 | J_5 | J_6 |
|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| J_1 | | 8 | 10,5 | 158,5* | 166,5* | 188,5* |
| J_2 | | | 2,5 | 166,5* | 174,5* | 196,5* |
| J_3 | | | | 169* | 177* | 199* |
| J_4 | | | | | 8,5 | 30 |
| J_5 | | | | | | 22 |
| J_6 | | | | | | |

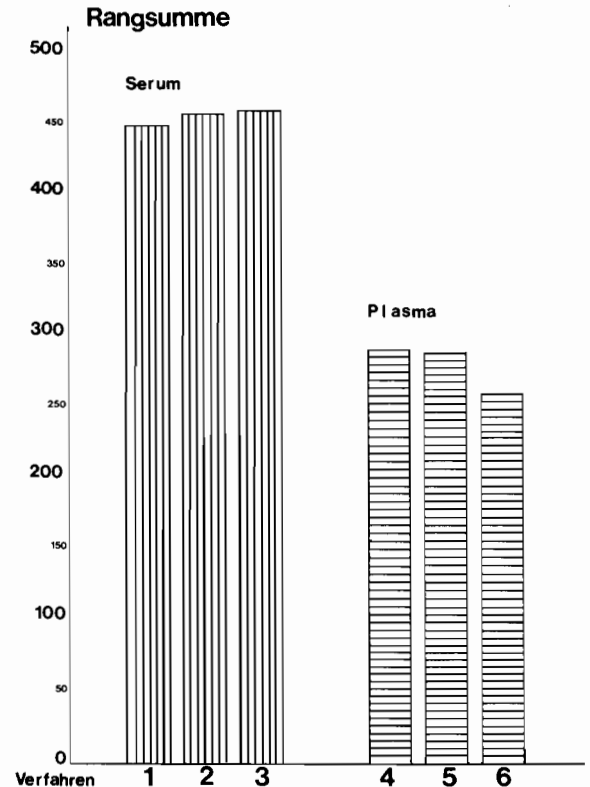


Abb. 2: Rangsummen der Verfahren J_1 bis J_6 . Im Serum werden geringfügig höhere Zn-Konzentrationen gemessen als im Plasma. Die Art der Probenvorbereitung innerhalb der Gruppen Plasma bzw. Serum spielt keine Rolle für die Zinkbestimmung.

Probengewinnung (Blutabnahme mit V_2 A-Stahlnadel oder Plastiknadel) und Probenvorbereitung (Verdünnung mit Aqua demin. oder Enteiweißung mit Trichloressigsäure) haben keinen Einfluß auf die Zinkbestimmung.

Statistische Verteilung der Plasma-Zink-Konzentration männlicher Blutspender

Einen Überblick über die gemessenen Plasma-Zink-Konzentrationen gibt Tabelle 3.

Tab. 3: Zentrale Parameter der Plasma-Zn-Konzentrationen männlicher Blutspender.

| | | |
|--------------------------|---|-------------------------|
| N | = | 498 |
| $X_{1\text{min}}$ | = | 8,2 $\mu\text{mol/l}$ |
| $X_{1\text{max}}$ | = | 21,6 $\mu\text{mol/l}$ |
| Median (\bar{M}) | = | 13,37 $\mu\text{mol/l}$ |
| Mittelwert (\bar{X}) | = | 13,38 $\mu\text{mol/l}$ |
| Standardabweichung | = | 1,83 $\mu\text{mol/l}$ |

Abbildung 3 zeigt als Stabdiagramm die absoluten Klassenbesetzungshäufigkeiten und die Summenhäufigkeiten der oberen Klassengrenzen im Wahrscheinlichkeitsnetz mit linear geteilter Abszisse (links unten). Durch die aufgetragenen Punkte kann exakt eine Gerade gelegt werden (Normalverteilung). Mittelwert (13,4 $\mu\text{mol/l}$) und Standardabweichung (1,8 $\mu\text{mol/l}$) lassen sich direkt dem Wahrscheinlichkeitsnetz entnehmen.

Die Nullhypothese: Die Zinkkonzentrationen im Plasma gesunder männlicher Blutspender sind normal verteilt ($H_0: x = N(\mu = 13,8; \sigma = 1,8)$), wird gegen die Alternativhypothese ($H_1: x \neq N$) mit dem χ^2 -Anpassungstest überprüft, wozu die Werte in 11 Klassen eingeteilt wurden:

$$\hat{\chi}^2 = 6,58$$

$$\chi^2(v = k - 1 - 2 = 8; 2\alpha = 0,1) = 13,36$$

Damit kann die Nullhypothese nicht widerlegt werden. Die Zinkkonzentrationen im Plasma männlicher Blutspender sind normalverteilt. 3 Meßwerte (von 498), nämlich 19,5; 19,9 und 21,6 $\mu\text{mol/l}$, liegen nicht im 3 s-Bereich, liefern aber den größten Beitrag zur Prüfgröße χ^2 (4,97 von 6,58) und können als Ausreißer betrachtet werden.

Tabelle 4 zeigt die Vertrauensbereiche um den Mittelwert.

Tab. 4: Vertrauensbereiche der Plasma-Zn-Konzentrationen männlicher Blutspender.

| | |
|-------------|---|
| 1S-Bereich: | 13,4 \pm 1,8 $\mu\text{mol/l}$ (11,6—15,2 $\mu\text{mol/l}$) |
| 2S-Bereich: | 13,4 \pm 3,6 $\mu\text{mol/l}$ (9,8—17,0 $\mu\text{mol/l}$) |
| 3S-Bereich: | 13,4 \pm 5,4 $\mu\text{mol/l}$ (8,0—18,8 $\mu\text{mol/l}$) |

Trägt man die Summenhäufigkeiten der oberen Klassengrenzen der Plasma-Zink-Konzentrationen in ein Wahrscheinlichkeitsnetz mit logarithmisch geteilter Abszisse, läßt sich durch die Punkte nur angenähert eine Gerade legen (Abb. 3 rechts). Die Zinkkonzentrationen werden nach der Vorschrift $z_i = \log x_i$ transformiert und Mittelwert $\bar{z} = 1,122$ und Standardabweichung $s_z = 0,060$ berechnet. Die Werte werden in $k = 8$ Klassen eingeteilt und die Nullhypothese

$$H_0: \log x = N(\mu = 1,122; \sigma = 0,060)$$

gegen die Alternativhypothese

$$H_1: \log x \neq N$$

mit dem χ^2 -Anpassungstest geprüft:

$$\hat{\chi}^2 = 10,95$$

$$\chi^2(v = k - 1 - 2 = 5; 2\alpha = 0,1) = 9,24$$

$$\chi^2(v = k - 1 - 2 = 5; 2\alpha = 0,05) = 11,07$$

Die Meßwerte der Konzentrationen im Plasma männlicher Blutspender passen weniger gut zu einer Lognormalverteilung, als zu einer Normalverteilung. Dennoch kann die Nullhypothese auf einem Signifikanzniveau von $P = 0,05$ nicht abgelehnt werden. Wir sehen später, daß es in bestimmten Situationen günstig sein kann, auch bei Männern mit logarithmisch transformierten Zinkwerten zu rechnen.

Statistische Verteilung der Plasma-Zink-Konzentrationen bei weiblichen Blutspendern

Einen Überblick über die gemessenen Plasma-Zink-Konzentrationen gibt Tabelle 5. Abbildung 4 zeigt als Stabdiagramm die absoluten Klassenbesetzungshäufigkeiten (oben), die Sum-

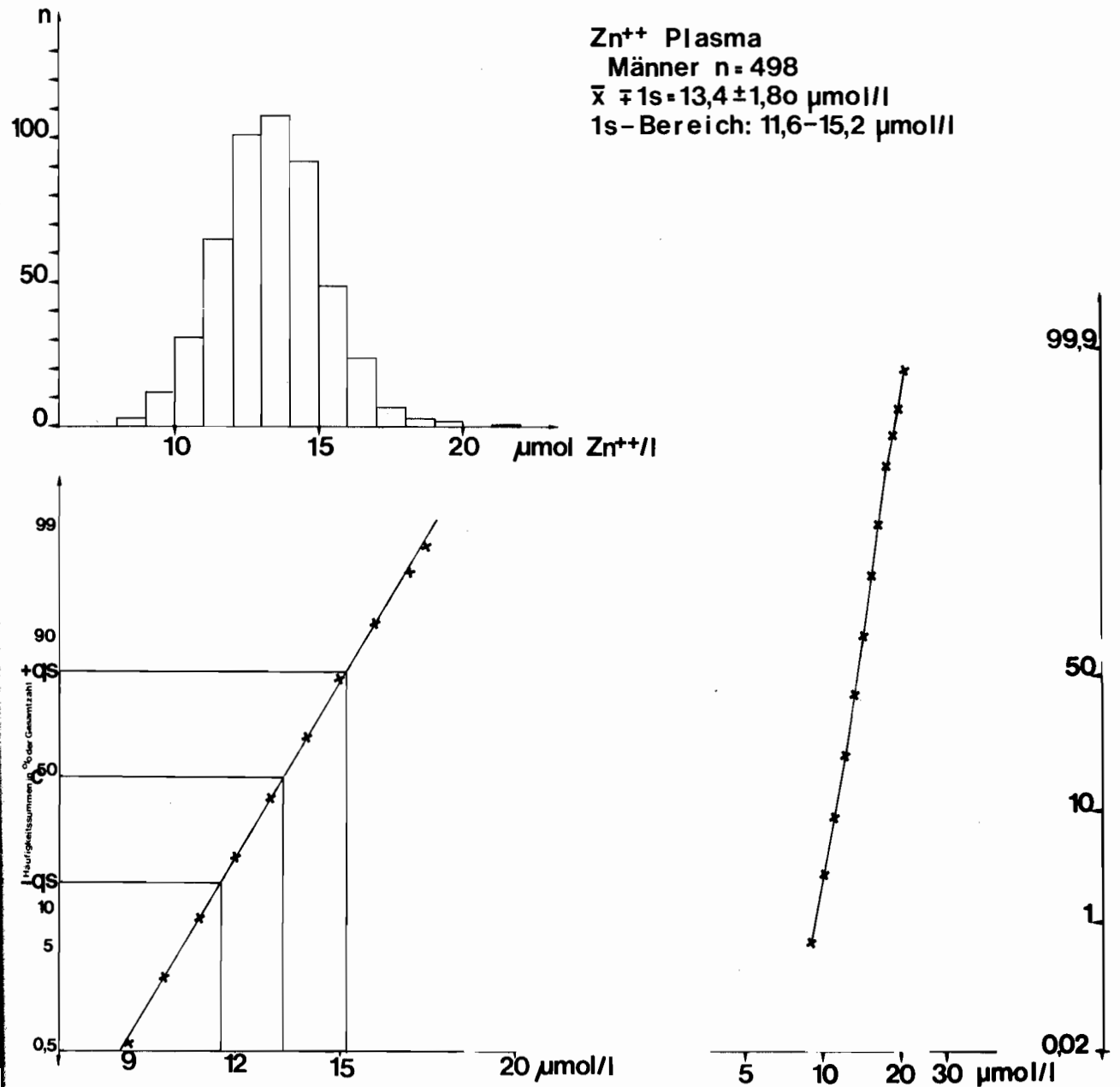


Abb. 3: Stabdiagramm der absoluten Häufigkeiten und Darstellung der relativen Summenhäufigkeiten der gemessenen Zn-Konzentrationen im Wahrscheinlichkeitsnetz mit linearer (links) und logarithmischer Abszisse (rechts) bei 498 männlichen Blutspendern.

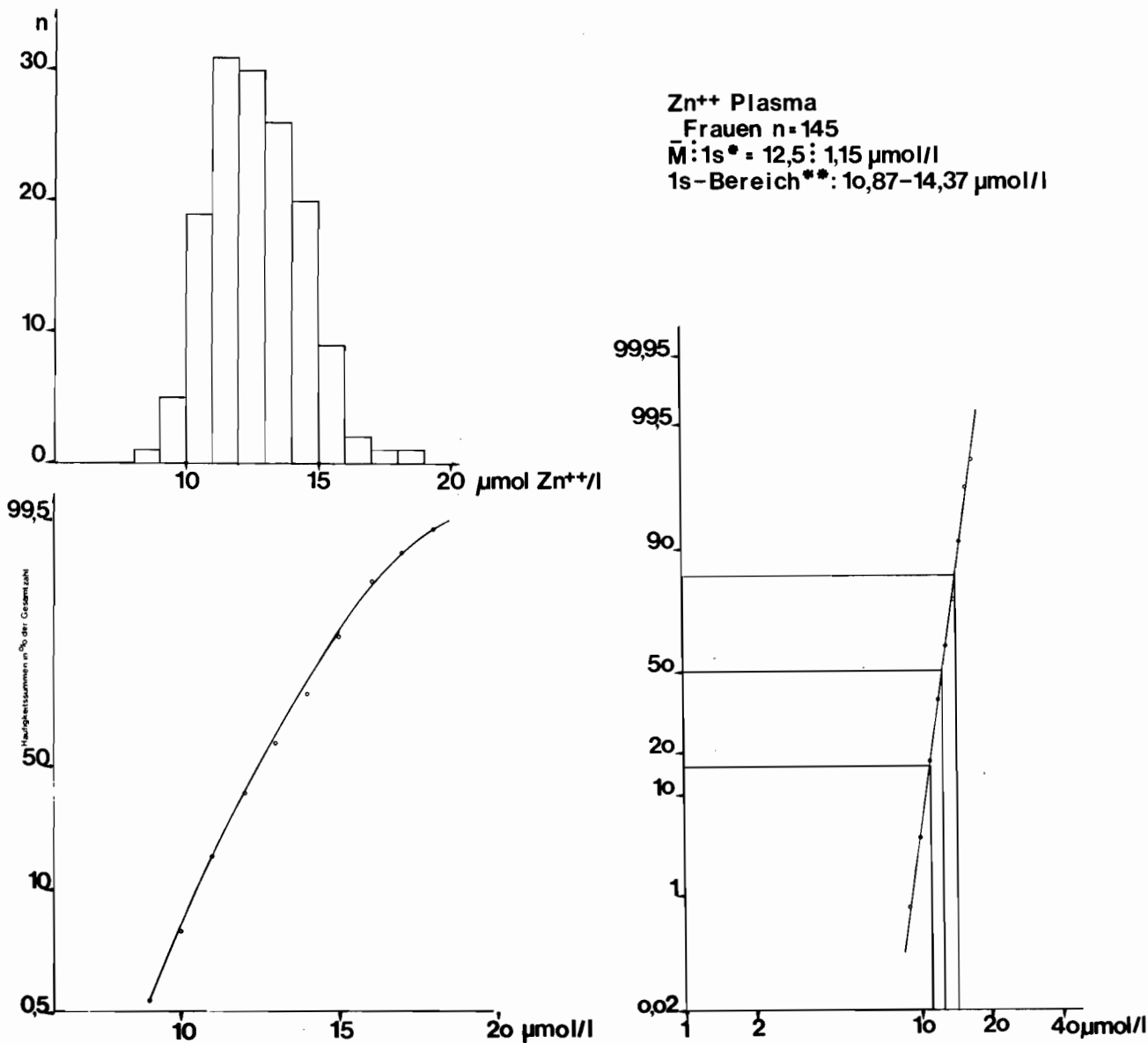


Abb. 4: Stabdiagramm der absoluten Häufigkeiten und Darstellung der relativen Summenhäufigkeiten der gemessenen Zn-Konzentrationen im Wahrscheinlichkeitsnetz mit linearer (links) und logarithmischer Abszisse (rechts) bei 145 weiblichen Blutspendern.

* Der Median der gemessenen Werte muß mit dem sog. Standardabweichungsfaktor multipliziert bzw. dividiert werden, um einen Bereich zu definieren, der dem 1s-Bereich normalverteilter Werte entspricht.

** Dieser Bereich erstreckt sich asymmetrisch um den Median.

Tab. 5: Zentrale Parameter der Plasma-Zn-Konzentrationen weiblicher Blutspender.

| | | |
|----------------|---|-------------------------|
| N | = | 145 |
| $X_{1_{\min}}$ | = | 8,7 $\mu\text{mol/l}$ |
| $X_{1_{\max}}$ | = | 18,5 $\mu\text{mol/l}$ |
| Median | = | 12,47 $\mu\text{mol/l}$ |

menhäufigkeiten der oberen Klassengrenzen im Wahrscheinlichkeitsnetz mit linear (links unten) und logarithmisch (rechts unten) geteilter Abszisse. Nur im letzteren Fall liegen die Punkte exakt auf einer Geraden. Wir nehmen eine lognormale Verteilung der Zinkkonzentrationen im Plasma von Blutspenderinnen an. Die Zinkkonzentrationen werden nach der Vorschrift $z_i = \log x_i$ transformiert und Mittelwert ($\bar{z} = 1,097$) und Standardabweichung ($s_z = 0,059$) der Logarithmen berechnet. Die Werte werden in $k = 8$ Klassen eingeteilt und die Nullhypothese, es liege eine Lognormalverteilung vor, gegen die Alternativhypothese mit dem χ^2 -Anpassungstest überprüft.

$$\hat{\chi}^2 = 2,24$$

$$\chi^2(v = 5; 2\alpha = 0,1) = 9,24$$

Die Nullhypothese kann nicht abgelehnt werden. Plasma-Zink-Konzentrationen weiblicher Blutspender sind lognormal verteilt. Definierte Vertrauensbereiche gruppieren sich asymmetrisch um den Median (Tab. 6). Der Mittelwert der logarithmisch transformierten Werte wird rücktransformiert zum Median der Originalwerte. Der 1 s-Bereich ist definiert als dasjenige, asymmetrisch um den Median gruppierte Intervall, in welchem 68,3 % der Meßwerte liegen. Die Grenzen der entsprechenden Vertrauensbereiche stimmen mit denjenigen der männlichen Probanden überein.

Diskussion

Qualität der Zn-Bestimmung

Die in den beiden Referenzmaterialien (s. Tab. 1) bestimmten Zinkkonzentrationen liegen geringfügig unter den Referenzwerten. Bei der Bestimmung der Präzision in der Serie wird in der Lösung P_2 ein geringfügig niedrigerer Wert gefunden, als erwartet, hingegen der in der Lösung P_1 gefundene Wert dem Erwartungswert entspricht. Bei hohen Zinkkonzentrationen wird

Tab. 6: Vertrauensbereiche der Plasma-Zn-Konzentration weiblicher Blutspender.

| | |
|-------------|--|
| 1S-Bereich: | 12,5:1,15 $\mu\text{mol/l}$ (10,87—14,37 $\mu\text{mol/l}$) |
| 2S-Bereich: | 12,5:1,31 $\mu\text{mol/l}$ (9,54—16,38 $\mu\text{mol/l}$) |
| 3S-Bereich: | 12,5:1,50 $\mu\text{mol/l}$ (8,33—18,75 $\mu\text{mol/l}$) |

die Messung offensichtlich durch einen negativen systematischen Fehler beeinflusst. Die Präzision in der Serie, im unteren Meßbereich, hat einen VK, der zwischen 4,5 und 12,3 % schwankt. Diese Werte, bei einer Konzentration in der Nähe der Nachweisgrenze, erscheinen uns annehmbar. Im oberen Meßbereich streuen die Werte weniger (VK 1,6—5,6 %). Die Präzision von Tag zu Tag (VK 5,5 % im unteren und 4,1 % im oberen Meßbereich) erscheint uns befriedigend.

Einfluß von Untersuchungsmaterial und Probenvorbereitung

Waren wir bisher immer sehr darauf bedacht, Blut für die Zinkbestimmung mit einer Plastikkanüle zu gewinnen, können wir hiermit zeigen, daß diese Vorsicht unnötig ist. Eine Kontamination des Blutes mit Zink aus einer Stahlkanüle findet offenbar nicht statt. Diese Untersuchung war notwendig, da das Blut der Blutspender immer mit einer Metallkanüle abgenommen wurde.

Auch die Art der Probenvorbereitung (Verdünnung des Serums bzw. Plasmas mit Aqua demin. oder Enteiweißung mit Trichloressigsäure), die notwendig ist, damit die Probe bei der AAS angesaugt werden kann, beeinflusst das Ergebnis nicht. Wir hatten angenommen, daß im ausgefallenen Eiweiß Zn gebunden ist. Offenbar verliert das denaturierte Protein seine Fähigkeit zur Zinkbindung, wobei das Metall im stark sauren Überstand in Lösung geht. Für sehr niedrige Zinkkonzentrationen kann die Methode der Enteiweißung günstiger sein, da das Untersuchungsmaterial weniger verdünnt wird. Für die Routine erscheint uns die 1 : 5-Verdünnung von Plasma oder Serum eine einfachere und arbeitssparende Methode zu sein.

Im Serum ist die Zinkkonzentration höher als im Plasma. Der Unterschied wird in der Literatur mit 16 % angegeben [8, 9, 10], während er in unseren Untersuchungen bei 9 % liegt. Ursache für diesen Unterschied ist die Freisetzung von thrombozytärem Zn beim Plättchenzerfall. Auch ein

geringer Zn-Verlust der Erythrozyten während des Gerinnungsvorganges kann nicht ausgeschlossen werden. Die Differenz zwischen Plasma- und Serum-Zn ist bei unserer Untersuchung sehr variabel (unterschiedliches Ausmaß der Gerinnung, Thrombozytenzahl, statistische Variabilität des Meßsignals). *Mischel* und *Dreher* stellten bei der Anwendung der Dithizonmethode keinen Unterschied zwischen Plasma- und Serum-Zn fest [11]. Die Art der Plasmagewinnung spielt sicher eine Rolle. Bei Zusatz von Heparin oder Zitrat kann es zur Kontamination des Plasmas kommen, da beide Antikoagulantien Zn enthalten können. In Li-Heparinat-Monovetten^R und EDTA-Röhrchen verschiedener Herkunft fanden wir kein Zn.

Bei der folgenden Untersuchung waren die Probanden naturgemäß nicht nüchtern. *McBean* und *Halsted* fanden keinen Unterschied zwischen nüchtern- und postprandialen Zinkkonzentrationen im Plasma [12]. Wir wählten Plasma als Untersuchungsmaterial, da dieses ein besser definiertes Probenmaterial ist als Serum. *Halsted* empfiehlt für Routinezinkbestimmungen ebenfalls Plasma als Untersuchungsmaterial [9].

Die Häufigkeitsverteilung der Zinkkonzentrationen im Plasma von Blutspendern

„Nahezu alle quantitativen Daten in der Medizin sind erst dann angenähert de-Moivre-verteilt (normal verteilt), wenn man die Originalwerte auf einer logarithmisch geteilten Abszisse abträgt“ (*Immich* 1974) [1].

„Die Konzentrationen chemischer Substanzen in biologischen Flüssigkeiten sind im allgemeinen nicht normal verteilt“ (*Richter* 1979) [2].

Paschen und *Fritz* nahmen aufgrund von Zn-Bestimmungen im Serum bei 116 Studenten (beiderlei Geschlechts) für Männer und Frauen eine lognormale Verteilung an [5]. *Geisler* et al. fanden ebenfalls eine lognormale Verteilung des Serum-Zn bei 40 gesunden Personen [3].

Eine Vielzahl von Autoren gibt für Normalwerte von Zn in Serum und Plasma dagegen Mittelwert und Standardabweichung an, was nur bei normal verteilten Werten zulässig ist [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16].

Wir können nach der hier vorgelegten Untersuchung für männliche Blutspender eine Normalverteilung des Plasma-Zinks annehmen ($\bar{x} = 13,4$; $1 s = 1,8 \mu\text{mol/l}$). Die Anpassung der vor-

liegenden empirischen Verteilung an eine Normalverteilung ist ausgezeichnet (besonders nach Eliminierung von 3 Werten, die außerhalb des 3 s-Bereiches liegen).

Die Stichprobe aus der Grundgesamtheit weiblicher Blutspender ist mit $n = 145$ wesentlich kleiner als die aus der männlichen und für eine Häufigkeitsanalyse nicht so gut geeignet. Es liegt keine Normalverteilung der Meßwerte vor. Die empirische Häufigkeitsverteilung paßt ausgezeichnet zu einer Lognormalverteilung (Median = $12,5 \mu\text{mol/l}$; Standardabweichungsfaktor [1] = $1,15 \mu\text{mol/l}$). Bei der Definition der Vertrauensbereiche hielten wir uns an die Empfehlungen von *Immich* [1].

Obwohl sich die oben definierten Vertrauensbereiche im männlichen Kollektiv symmetrisch um dem Mittelwert, im weiblichen dagegen asymmetrisch um den Median legen, entsprechen sich obere und untere Grenzen recht gut, besonders der 3 s-Bereich ist in beiden Kollektiven fast deckungsgleich.

Heinemann fand bei 136 Frauen im Serum ebenfalls eine Lognormalverteilung der Zinkkonzentration ($\bar{M} = 12,7 \mu\text{mol/l}$, 95 %-Bereich $10,0 - 16,3 \mu\text{mol/l}$) [4].

Für die Anwendung statistischer Verfahren bei der Untersuchung von Zn-Konzentrationen im Plasma bietet sich folgendes Vorgehen an:

1. Bei der Untersuchung nur männlicher oder nur weiblicher Probanden sollte man bei Männern mit den Originalwerten, bei Frauen mit logarithmisch transformierten Werten rechnen. Man hat dann die Möglichkeit statistische Testverfahren einzusetzen, die eine Normalverteilung voraussetzen.
2. Bei gemischten Kollektiven wählt man die Originalwerte und verwendet verteilungsfreie Testverfahren.
3. Beim Vergleich mehrerer Stichproben bieten sich varianzanalytische Verfahren an. Sind diese verteilungsfrei, wie z. B. der Kruskal-Wallis-Test, ist eine Nachanalyse (z. B. mit dem Scheffé-Test) nicht möglich, es ist also vorteilhaft, normal verteilte Daten einzusetzen. Regressionsanalysen sollten ebenfalls mit normal verteilten Daten durchgeführt werden. [1]. Entstammen die Meßwerte gemischten Kollektiven, ist die Situation ungünstig. Wir emp-

fehlen in diesem Fall, weibliche und männliche Werte zu transformieren. Die Zinkkonzentrationen im Plasma männlicher Probanden passen zwar am besten zu einer Normalverteilung, eine lognormale Verteilung kann aber ebenfalls, wenn auch mit geringer Güte der Anpassung, angenommen werden, während Zn-Konzentrationen weiblicher Probanden nicht zu einer Normalverteilung „passen“.

4. Bei vielen Erkrankungen findet man zum Teil stark erniedrigte Zinkkonzentrationen im Plasma. Hier ist noch eher mit einer lognormalen Verteilung der Werte zu rechnen. Untersuchungen hierzu liegen noch nicht vor.

Literatur

- [1] *Immich, H.*: Medizinische Statistik. Schattauer-Verlag 1974.
- [2] *Richter, R.*: Statistische Testverfahren in Gynäkologie und Perinatologie. Med. Welt **30** (1979) 489—493.
- [3] *Geisler, C., Stacher, A., Stöckl, W., Weiser, M.*: Der Plasmazinkspiegel bei Patienten mit internen, besonders hämatologischen Erkrankungen. Wiener klin. Wschr. **84** (1972) 171—175.
- [4] *Heinemann, G.*: Plasmaeisen, Serumkupfer und Serumzink unter Therapie mit Ovulationshemmern. Med. Klin. **69** (1974) 892—896.
- [5] *Paschen, K., Fritz, G.*: Neue vereinfachte Methoden zum empfindlichen und spezifischen Nachweis von Calcium, Magnesium und Zink im Serum mit der Atomabsorptions-Spektralphotometrie. Ärztl. Forsch. **24** (1970) 202—209.
- [6] *Wilcoxon, F., Wilcox, R. A.*: Some rapid approximate statistical procedures. Lederle Laboratories, New York 1974.
- [7] *Sachs, L.*: Angewandte Statistik. Springer-Verlag 1974.
- [8] *Halsted, J. A., Shmith, C., Irwin, I. M.*: A conspectus of research on zinc requirements of man. J. Nutr. **104** (1974) 345—378.
- [9] *Halsted, J. A., Shmith, S.*: Plasma zinc in health and disease. Lancet **1** (1970) 322—324.
- [10] *Prasad, A. S.*: In: *Prasad, A. S., Oberleas, D.* (eds.): Trace elements in human health and disease, Vol. I: Zinc and copper. pp 1—20, Academic Press 1976.
- [11] *Mischel, W., Dreher, R.*: Der Zinkstoffwechsel in der Schwangerschaft. Med. Welt (1963) 1594—1600.
- [12] *McBean, L., Halsted, J. A.*: Fasting versus postprandial plasma zinc levels. J. clin. Path. **22** (1969) 623.
- [13] *Husain, S. L., Fell, G. S., Scott, R.*: Zinc and healing. Lancet **2** (1970) 1361—1362.
- [14] *Szadkowsky, D., Erhardt, H.-P., Schaller, K.-H., Lehnert, G.*: Der Zink- und Kupferspiegel im Serum hitzeadaptierter Schwerarbeiter. Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. **25** (1969) 202—214.
- [15] *Kasperek, K., Schicha, H., Siller, V., Feinendegen, L. E.*: Normalwerte von Spurenelementen im menschlichen Serum und Korrelation zum Lebensalter und zur Serum-Eiweiß-Konzentration. Strahlentherapie **143** (1972) 468—472.
- [16] *Meret, S., Henkin, R. L.*: Simultaneous direct estimation by AAS of copper and zinc in serum, urine and cerebrospinal fluid. Clin. Chem. **17** (1971) 369—373.

(Korrespondenzanschrift: Prof. Dr. med. W. Seeling, Department für Anästhesiologie der Universität Ulm, Steinhövelstr. 9, 7900 Ulm-Donau)