

# **OSMOMETRIE**

Jana Gottwaldová

FN Brno

# Osnova

- princip osmometrie – koligativní vlastnosti látek, osmotický tlak
- osmolární koncentrace: osmolalita x osmolarita
- měření osmotického tlaku: kryoskopie, průběh měření
- stanovení osmolality v biologickém materiálu – sérum, moč
- osmolární okno - kazuistika
- diagnostický význam stanovení osmolality - kazuistika

# OSMOMETRIE

## Princip

analytická metoda k měření **koncentrace částic v roztoku**

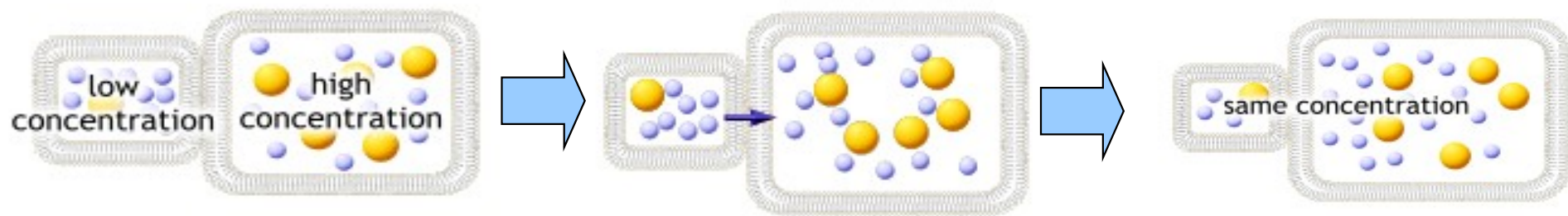
Využívá změn, které způsobí částice rozpuštěné v rozpouštědle, tzv. **koligativních vlastností látek**:

- snížení tenze vodních par
- zvýšení teploty varu (ebulioskopický efekt)
- **snížení teploty tuhnutí (kryoskopický efekt)**
- vzniku osmózy - zvýšení *osmotického tlaku*

# Osmotický tlak ( $\pi$ )

$\pi$  = tlak nízkomolekulárních látek a iontů v rozpouštědle

- jestliže jsou dva vodné roztoky o různé koncentraci od sebe odděleny **polopropustnou membránou**, která je propustná pouze pro vodu (ne pro rozpuštěné částice),
- potom proniká **voda z prostoru s nižší koncentrací rozpuštěných částic, do prostoru s vyšší koncentrací rozpuštěných částic.**



- tento pohyb molekul vody se nazývá **osmóza**.
- tlak, který je třeba vyvinout k zabránění pohybu vody přes membránu, se nazývá **osmotický tlak**

# Osmotický tlak ( $\pi$ )

- Osmotický tlak vzniká důsledkem působení celkového počtu osmoticky aktivních částic v roztoku bez ohledu na jejich velikost
- Každá částice – molekula, atom nebo ion v roztoku se podílí na konečné hodnotě osmotického tlaku stejnou mírou
- Pokud látka disociuje, je každá její disociovaná část osmoticky aktivní částicí. Nedisociovaná látka představuje jen jednu osmoticky aktivní částici.

# Osmotický tlak

- lze vyjádřit vztahem pro ideální roztok (van't Hoffova rovnice:

$$\pi = i \times c \times R \times T$$

Kde:

- $\pi$  = osmotický tlak (Pa = J m<sup>-3</sup>)
- $i$  = disociační číslo, počet částic, na které rozpuštěná látka disociuje – např.  $i = 1$  pro neelektrolyty,
- $i$  = počet osmoticky účinných částic (pro silné elektrolyty)
- $c$  = molární koncentrace (mol L<sup>-1</sup>)
- $R$  = molární plynová konstanta (8,31441 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>)
- $T$  = termodynamická teplota (K)

# Osmolární koncentrace

- **osmometrie** je technika k **měření koncentrace** rozpuštěných částic v roztoku, tzv. ***osmolární koncentrace***
  - **osmolarita** ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{osmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )
  - **osmolalita** ( $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$  nebo  $\text{osmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ )

Osmolalita vyjádřená v mmol/kg rozpouštědla je z termodynamického hlediska přesnější, protože koncentrace roztoku vztažená na váhu rozpouštědla není závislá na teplotě.

# Měření osmotického tlaku

- V laboratoři se používá **nepřímé měření osmotického tlaku**.
- Vychází se z měření těch vlastností roztoku - **koligativní vlastnosti**, které se mění v závislosti na změně osmolality.
- Přístroje pro měření osmolality se nazývají **osmometry**.
- Nejvíce používaná metoda k měření osmolární koncentrace je metoda založena na měření snížení bodu tuhnutí - **kryoskopie**.



# Kryoskopie

Osmometry založené na kryoskopickém principu využívají snížení teploty tuhnutí roztoku v závislosti na koncentraci částic v roztoku.

- **Bod tuhnutí čisté vody je  $0,000\text{ °C}$**
- **1mol osmoticky aktivní látky (glukóza) rozpuštěný v 1kg vody má bod tuhnutí snížen o  $-1,858\text{ °C}$ .**

# Kryoskopie

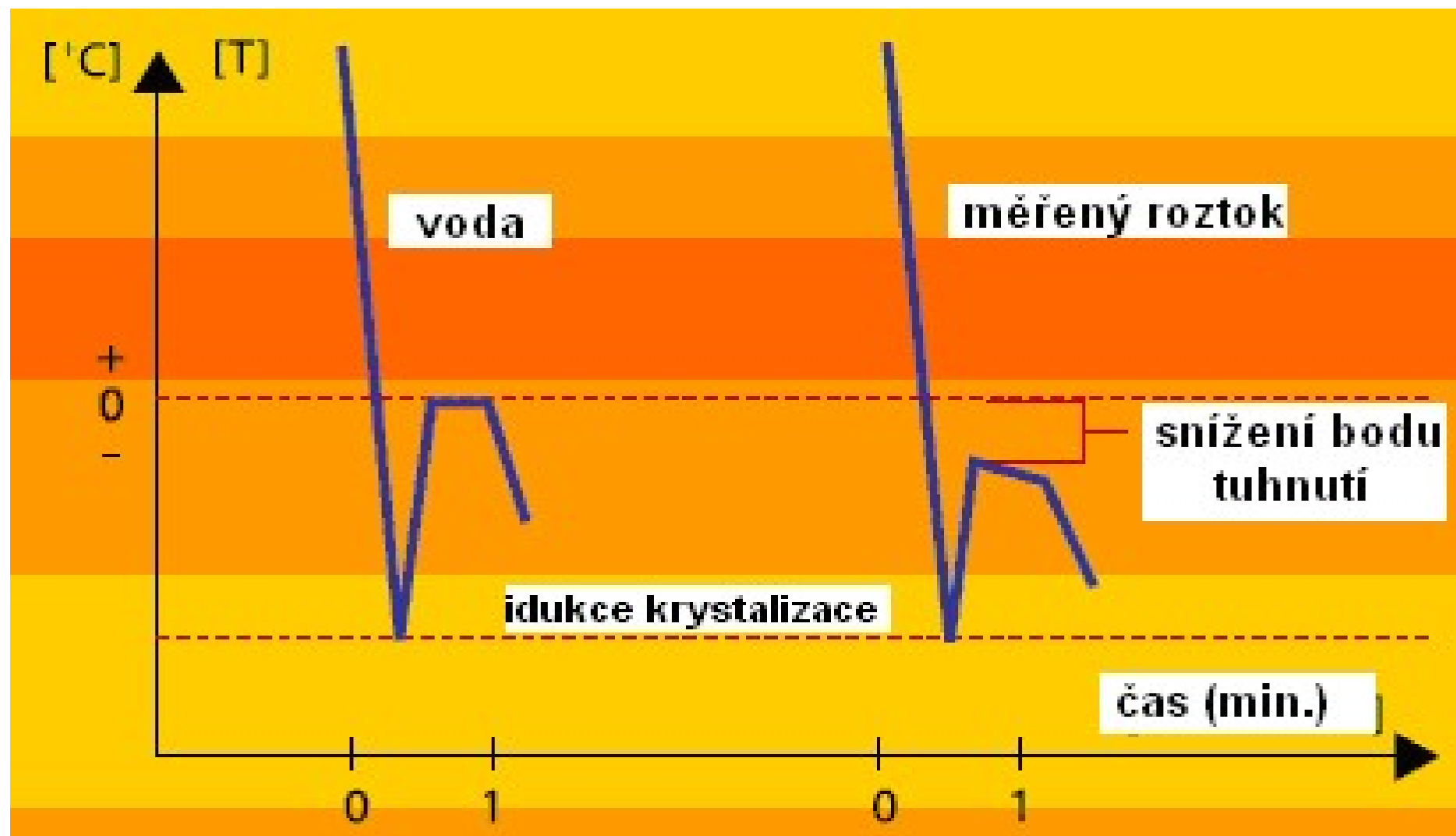
Kryoskopický osmometr musí být vybaven velmi citlivým teploměrem, protože snížení teploty tuhnutí je velmi malé.

- **1 mmol látky rozpuštěný v 1 kg vody, sníží bod tuhnutí o - 0,001858 °C.**

# Průběh kryoskopického měření

1. Vzorek se nejprve pomalu termoelektricky ochladí několik stupňů pod bod tuhnutí.
2. Poté se mechanicky indukuje začátek krystalizace.
3. V tomto bodě se při krystalizaci uvolňuje skupenské teplo tuhnutí – dojde ke zvýšení teploty přesně na teplotu tuhnutí.
4. Teplota tuhnutí je stejná po dobu, kdy se uvolňuje skupenské teplo tuhnutí rozpouštědla - „fáze plateau“.
5. Teprve pak pokračuje ochlazování mrznoucího roztoku.
6. Pokles bodu tuhnutí roztoku (vzorku) proti bodu tuhnutí rozpouštědla (vody) je přímo úměrný osmolalitě.

# Kryoskopická teplotní křivka



# Kryoskopie

Jednotlivé přístroje se liší způsobem, jakým vyvolávají začátek krystalizace podchlazeného měřeného vzorku:

- krátkodobá vibrace kovového drátku
- poklep kladívka na stěnu měřicí nádoby
- účinek ultrazvukových vln

# Stanovení osmolality v biologickém materiálu

- Lidská plazma vykazuje snížení bodu tuhnutí v rozmezí  $0,54 \pm 0,014$  °C (0,512 – 0,568 °C).
- Pokud 1 mol osmoticky aktivních částic sníží teplotu tuhnutí o  $-1,858$  °C, pak snížení o  $-0,54$  °C představuje hodnotu osmolality  $0,54/1,858 = 0,2906$  mol/kg = **290,6 mmol/kg**.
- Stejného výpočtu používají osmometry založené na kryoskopickém principu.

# Osmolalita séra (plazmy)

- Osmolalita charakterizuje **osmotickou kapacitu tekutiny, schopnost působit osmotickým tlakem na semipermeabilní membránu.**
- **Osmolalita plazmy** se za fyziologických podmínek pohybuje v rozmezí  $285 \pm 10$  mmol/kg a je velmi přísně regulována pomocí osmoreceptorů v mezimozku, které regulují sekreci adiuretinu (ADH), jež ovlivňuje zpětnou resorpci vody v distálním tubulu ledvin.
- Systémy řídící příjem a výdej vody **zajišťují** nejen konstantní objem celkové tělesné vody, ale i **konstantní osmolalitu.**

# Osmolalita séra (plazmy)

- nemáme-li k dispozici osmometr, lze k odhadu osmolality použít výpočet.
- **nejvíce rozšířená je rovnice:**

$$\text{Osmolalita séra (vypočítaná)} = 2 \times \text{Na}^+ + \text{urea} + \text{glukóza}$$



# Osmolalita séra (plazmy)

- **Na<sup>+</sup>, urea, glukóza** jsou plazmatické koncentrace v mmol/L.
- Ve vzorci se počítá s hlavním extracelulárním kationtem (Na<sup>+</sup>), koeficient 2 započítává i odpovídající anionty
- Urea a glukóza jsou jediné z běžně měřených složek plazmy, které mohou zvláště za patologických stavů dosáhnout koncentrace významně ovlivňující osmolalitu.

# Osmolální okno (osmolal gap)

- Je rozdíl mezi měřenou a vypočítanou osmolalitou
- Odhadovaná osmolalita podle uvedené rovnice odpovídá osmolalitě měřené, pokud se v plazmě nesvyskytují patologické látky zvyšující osmolalitu
- Obě hodnoty se běžně shodují, resp. liší pouze v intervalu do 5, maximálně 10 mmol/kg vody
- Porovnání výpočtu s měřením je užitečné tam, kde je podezření na přítomnost látek o malé molekule, s nimiž výpočet nepočítá. Např. 1 g etanolu (tedy 1 promile alkoholu) v plazmě zvýší naměřenou osmolalitu o cca 23 mmol/kg vody

| Patologická látka | Potenciální letální koncentrace (mg/L) | Osmolální okno (mmol/ kg vody) |
|-------------------|--|--------------------------------|
| etanol            | 3500                                   | 81                             |
| etyléter          | 1800                                   | 70                             |
| izopropanol       | 3400                                   | 60                             |
| metanol           | 800                                    | 27                             |
| ethylenglykol     | 2000                                   | 34                             |

# Osmolální okno (osmolal gap)

- Dalším stavem, kdy neodpovídá vypočtená osmolalita měřené osmolalitě, je extrémně vysoká plazmatická koncentrace bílkovin nebo lipidů
- V těchto případech se mění podíl vody v plazmě a výpočet, který počítá s koncentrací látek na 1 L plazmy, nemůže odpovídat změřené hodnotě, která se vztahuje na 1 kg vody

# Diagnostický význam stanovení osmolality

## *Osmolalita séra (plazmy)*

O osmolalitě séra (plazmy) rozhoduje především **Na<sup>+</sup> a odpovídající anionty**, dále **urea, glukóza a v malé míře bílkoviny**.

- Podíl urey se stává významnějším až s její retencí v organismu,
- podíl glukózy roste u dekompenzovaného diabetika nebo při intoleranci glukózy u kriticky nemocných.
- Podíl bílkovin, tzv. koloidně osmotický tlak, je významný pro udržení cirkulujících tekutin v cévním řečišti.

Při patologicky zvýšených hodnotách osmolality hovoříme o hyperosmolalitě a naopak při snížených hodnotách osmolality jde o stav, který se nazývá hypoosmolalita.

# Hyperosmolalita ( > 300 mOsm)

- **Příčina:** ztráta prosté vody, akutní katabolizmus, diabetické kóma, popáleniny, často selhání ledvin, těžké sepse, akutní intoxikace látkami o malé molekule (ethylenglykol) nebo tonutí ve slané vodě.
- **Klinické projevy:** stavy od mírných neuropsychických poruch spojených s nespecifickými motorickými symptomy až k deliriu a nakonec kómatu. Vývoj hyperosmolálního stavu provázejí zmatenost a halucinace, které jsou někdy u starších lidí mylně považovány za projevy sklerózy mozkových cév. Typická je žízeň a bolesti hlavy.
- Při léčbě je nutné sledovat rychlost změny osmolality – je-li pokles osmolality větší než 2-4 mmol/L za hodinu, hrozí nasávání vody do CNS a rozvoj edému mozku.

# Hypoosmolalita ( < 270 mOsm)

- **Příčina:** metabolická odpověď na trauma, nadbytek celkové vody, chronický katabolizmus, tonutí ve sladké vodě, nepřiměřená sekrece ADH.
- **Klinické projevy:** slabost, nevolnost, apatie a opět bolesti hlavy. Vzniká difúzní edém mozku, bílkovina v mozkomíšním moku je snížena pod 0,1 g/L.

# Osmolalita moče

- Stanovení osmolality moče má diagnostický význam u onemocnění ledvin.
- Podle hodnoty osmolality moče se posuzuje koncentrační schopnost ledvin.
- Porucha koncentrační schopnosti ledvin patří k prvním známkám onemocnění ledvin.



# Osmolalita moče

- Osmolalita moče se pohybuje u dospělého člověka v rozmezí 250 – 1200 mmol/kg při maximálním koncentračním úsilí zdravých ledvin.
- Na osmolalitě moče mají hlavní podíl kationty –  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  a urea.
- Koncentrační schopnost ledvin je menší u kojenců
- postupné snižování osmolality je fyziologické i vlivem stárnutí.

# Kazuistika č.1

- žena, 62 let, s hepatální cirhózou, t.č. 2 roky abstinuje od alkoholu
- nalezena doma zmatená se sklenicí modré tekutiny na dně, prázdné blistry od léků (benzodiazepiny), volána RZS
- při příjmu porucha vědomí, těžká metabolická acidóza
- vstupní laboratorní nálezy:  
pH 6,96 [7,35-7,43]; osmolalita 358 mmol/kg ; Na 141 mmol/L; urea 1,8 mmol/L, glu 8,1 mmol/L, ethanol – 0 mmol/L, tox. screening - neg.
- osmolal gap = 66 mmol/kg

|   | 10.9.<br>8,50 hod. |             | 10.9.<br>10,20<br>hod.  | 10.9.<br>16,30<br>hod.  | 10.9.<br>20 hod.        | 10.9.<br>24 hod.        | 11.9.<br>1,30 hod       |
|---|--------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>Glukóza<br/>(mmol/L);[3,9-5,6]</b>       | <b>8,1</b>         |             |                         | <b>6,2</b>              | <b>8,7</b>              | <b>13,0</b>             | <b>11,6</b>             |
| <b>Urea<br/>(mmol/L);[1,7-8,3]</b>          | <b>1,8</b>         |             | <b>2,1</b>              |                         |                         |                         |                         |
| <b>Na<br/>(mmol/L);[136-145]</b>            | <b>141</b>         |             | <b>145</b>              | <b>144</b>              | <b>142</b>              | <b>140</b>              | <b>141</b>              |
| <b>Osmolalita<br/>(mmol/kg);[275 - 295]</b> | <b>358</b>         |             | <b>351</b>              | <b>312</b>              | <b>312</b>              | <b>327</b>              | <b>330</b>              |
| <b>Ethanol (mmol/L)</b>                     | <b>0</b>           |             | <b>33,7<br/>(1,5 ‰)</b> | <b>13,2<br/>(0,6 ‰)</b> | <b>19,6<br/>(0,9 ‰)</b> | <b>44,3<br/>(2,0 ‰)</b> | <b>47,4<br/>(2,1 ‰)</b> |
| <b>Vypočítaná<br/>osmolalita</b>            | <b>292</b>         |             |                         | <b>310</b>              | <b>312</b>              | <b>337</b>              | <b>341</b>              |
| <b>Osmolální okno</b>                       | <b>66</b>          |             |                         | <b>2</b>                | <b>0</b>                | <b>10</b>               | <b>11</b>               |
| <b>Ethylenglykol (g/L)</b>                  | <b>?</b>           | <b>3,69</b> |                         |                         |                         |                         |                         |

|   | 11.9.6 hod.             | 11.9.19 hod.            | 12.9.5 hod.      |
|---|-------------------------|-------------------------|------------------|
| <b>Glukóza (mmol/L);[3,9-5,6]</b>       | <b>8,3</b>              | <b>6,1</b>              | <b>5,7</b>       |
| <b>Urea (mmol/L);[1,7-8,3]</b>          | <b>0,8</b>              |                         | <b>2,0</b>       |
| <b>Na (mmol/L);[136-145]</b>            | <b>142</b>              | <b>140</b>              | <b>139</b>       |
| <b>Osmolalita (mmol/kg);[275 - 295]</b> | <b>330</b>              |                         | <b>285</b>       |
| <b>Ethanol (mmol/L)</b>                 | <b>44,6<br/>(2,0 ‰)</b> | <b>11,1<br/>(0,5 ‰)</b> | <b>0</b>         |
| <b>Vypočítaná osmolalita</b>            | <b>338</b>              |                         | <b>285,7</b>     |
| <b>Osmolální okno</b>                   | <b>8</b>                |                         | <b>0,7</b>       |
| <b>Ethylenglykol (g/L)</b>              |                         |                         | <b>negativní</b> |

Závěr: otrava ethylenglykolem

Terapie: opakovaná dialýza 10 – 20.10.2015 , terapie alkoholem 1- 1,5 ‰

# Kazuistika č.2

- muž, 56 let
- přijat na neurologické oddělení, dg.mozkový infarkt,
- tox.sreening –negativní
- závěr: otrava alkoholem

|   |                             |
|---|-----------------------------|
|   | <b>29.4.<br/>15,20 hod.</b> |
| <b>Glukóza (mmol/L);[3,9-5,6]</b>           | <b>5,4</b>                  |
| <b>Urea<br/>(mmol/L);[1,7-8,3]</b>          | <b>5,1</b>                  |
| <b>Na<br/>(mmol/L);[136-145]</b>            | <b>147</b>                  |
| <b>Osmolalita<br/>(mmol/kg);[275 - 295]</b> | <b>401</b>                  |
| <b>Ethanol (mmol/L)</b>                     | <b>90,8<br/>(4,1 ‰)</b>     |
| <b>Vypočítaná osmolalita</b>                | <b>305</b>                  |
| <b>Osmolální okno</b>                       | <b>96</b>                   |

# Kazuistika č.3

- muž, 71 let
- polymorbidní – náhrada chlopně, amputace dolní končetiny, DM na inzulinu
- volána RZP – nevolnost, 3 dny opakovaně zvracel, nízký tlak, omezeně komunikoval, postupné zhoršení stavu až do zástavy, metabolický rozvrat
- vstupní laboratorní nálezy: glukóza 66 mmol/L [3,9-5,6]; osmolalita 367 mmol/kg [275 - 295]; těžká acidóza – pH 6,8 [7,35-7,43]

|   | 1.1. -14,30h. | 1.1. 16,40 h. | 1.1. 18,17 h. | 1.1. 19,00 h. | 1.1. 20,00 h. | 1.1. 20,00 h. |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>Glukóza (mmol/L);<br/>[3,9-5,6]</b>      | <b>66,3</b>   | <b>54,8</b>   | <b>47,8</b>   | <b>44,0</b>   | <b>42,0</b>   | <b>41,0</b>   |
| <b>Urea<br/>(mmol/L);[1,7-8,3]</b>          | <b>16,3</b>   |               |               |               |               |               |
| <b>Na<br/>(mmol/L);[136-145]</b>            |               |               | <b>138</b>    |               |               | <b>142</b>    |
| <b>Osmolalita<br/>(mmol/kg);[275 - 295]</b> | <b>367</b>    | <b>355</b>    | <b>351</b>    |               |               |               |

|                            | 1.1. 21 h. | 1.1.22 h.   | 1.1.23 h.   | 1.1.24 h.   | 2.1.1,00 h. | 2.1.2,00 h. |
|----------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Glukóza (mmol/L)</b>    | <b>41</b>  | <b>38,2</b> | <b>33,7</b> | <b>29,6</b> | <b>27,3</b> | <b>25,1</b> |
| <b>Urea (mmol/L)</b>       |            |             |             |             |             |             |
| <b>Na (mmol/L)</b>         |            |             |             | <b>148</b>  |             |             |
| <b>osmolalita(mmol/kg)</b> |            |             |             | <b>334</b>  |             |             |

|                             | 2.1.3 h.    | 2.1.6 h.    | 2.1.7 h.    | 2.1.8 h.    | 2.1.10 h.   | 2.1. 14h.   |
|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Glukóza (mmol/L)</b>     | <b>22,4</b> | <b>16,0</b> | <b>13,4</b> | <b>11,9</b> | <b>19,5</b> | <b>14,8</b> |
| <b>Urea (mmol/L)</b>        |             | <b>13,6</b> |             |             |             |             |
| <b>Na (mmol/L)</b>          | <b>150</b>  | <b>151</b>  |             |             |             | <b>149</b>  |
| <b>Osmolalita (mmol/kg)</b> | <b>327</b>  | <b>319</b>  |             |             |             | <b>313</b>  |

|                            | <b>2.1.<br/>17 h.</b> | <b>2.1.<br/>17 h.</b> | <b>2.1.<br/>22 h.</b> | <b>.....</b> | <b>3.1.<br/>6 hod.</b> |  |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------|------------------------|--|
| <b>Glukóza (mmol/L)</b>    | <b>8,5</b>            | <b>8,4</b>            | <b>11,6</b>           |              | <b>12,2</b>            |  |
| <b>Urea(mmol/L)</b>        |                       |                       |                       |              | <b>8,3</b>             |  |
| <b>Na(mmol/L)</b>          |                       |                       | <b>148</b>            |              | <b>145</b>             |  |
| <b>osmolalita(mmol/kg)</b> |                       |                       | <b>307</b>            |              | <b>307</b>             |  |