

VNITŘNÍ PROSTŘEDÍ

© Biochemický ústav LF MU (V.P.) 2006

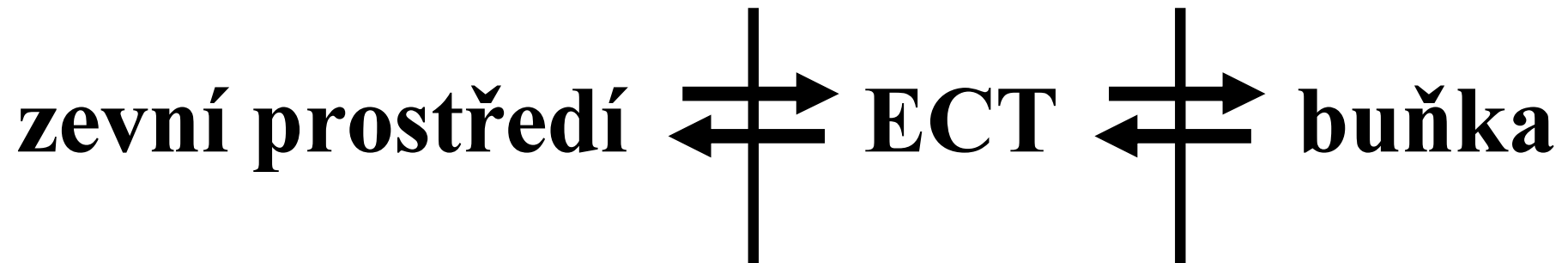
Vnitřní prostředí:

Claude Bernard, 1878:

„Co je vnitřní prostředí ?

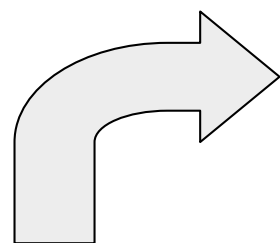
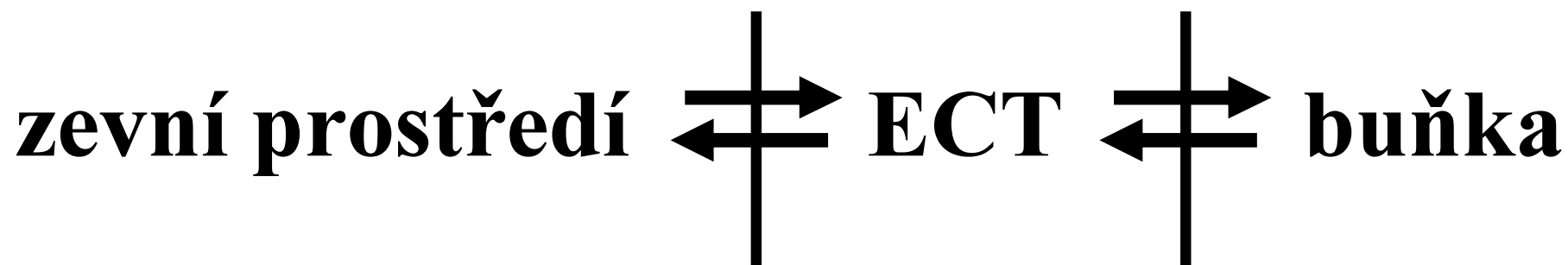
Je to krev, ve skutečnosti však nikoliv celá,
nýbrž tekutá část krve, krevní plasma,
všechny intersticiální tekutiny,
zdroj a výslednice všech základních změn.“

Vnitřní prostředí = ECT
(extracelulární tekutina)



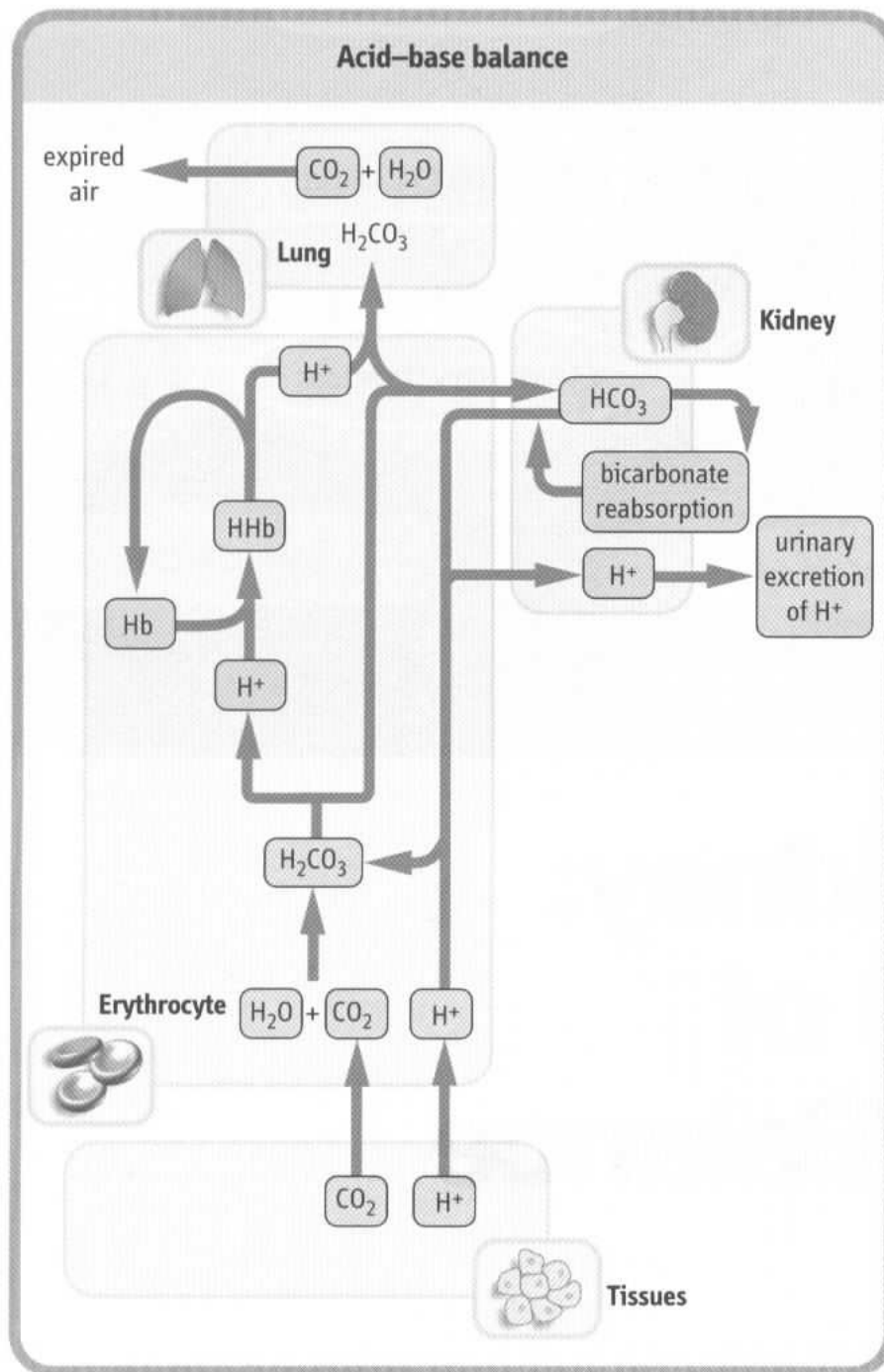
stálost
vnitřního
prostředí

Vnitřní prostředí = ECT
(extracelulární tekutina)



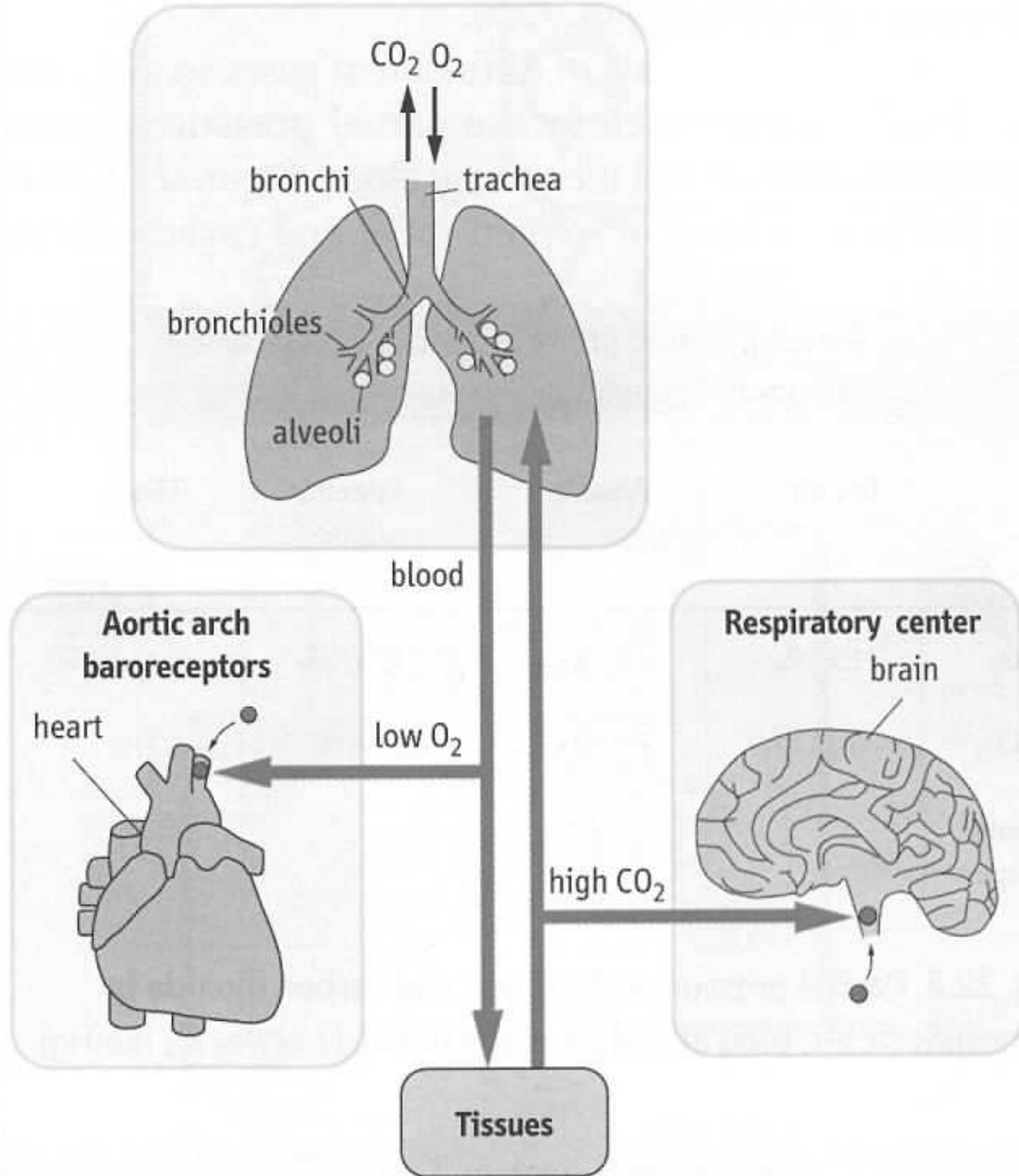
stálost = acidobazická
vnitřního rovnováha
prostředí („ABR“)
(stav)

acidobazická regulace
= acidobazický metabolismus
(děj)



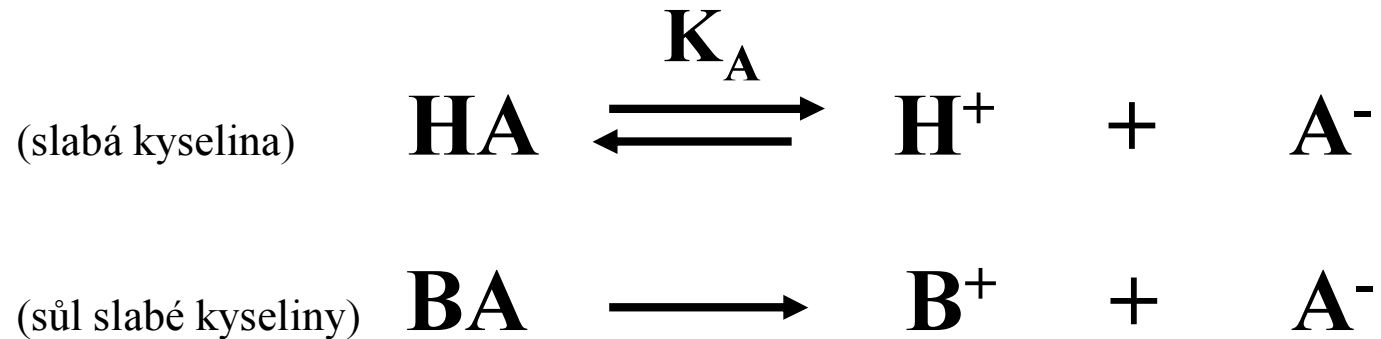
**karboanhydratasa
karbonátdehydratasa**

Oxygen, CO₂, and control of respiration



P U F R Y

Puf

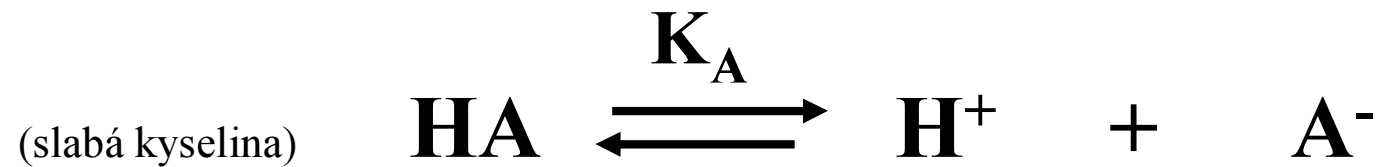


Slabá kyselina = slabý elektrolyt \rightarrow disociace jen částečná,
vratná (obousměrná) reakce

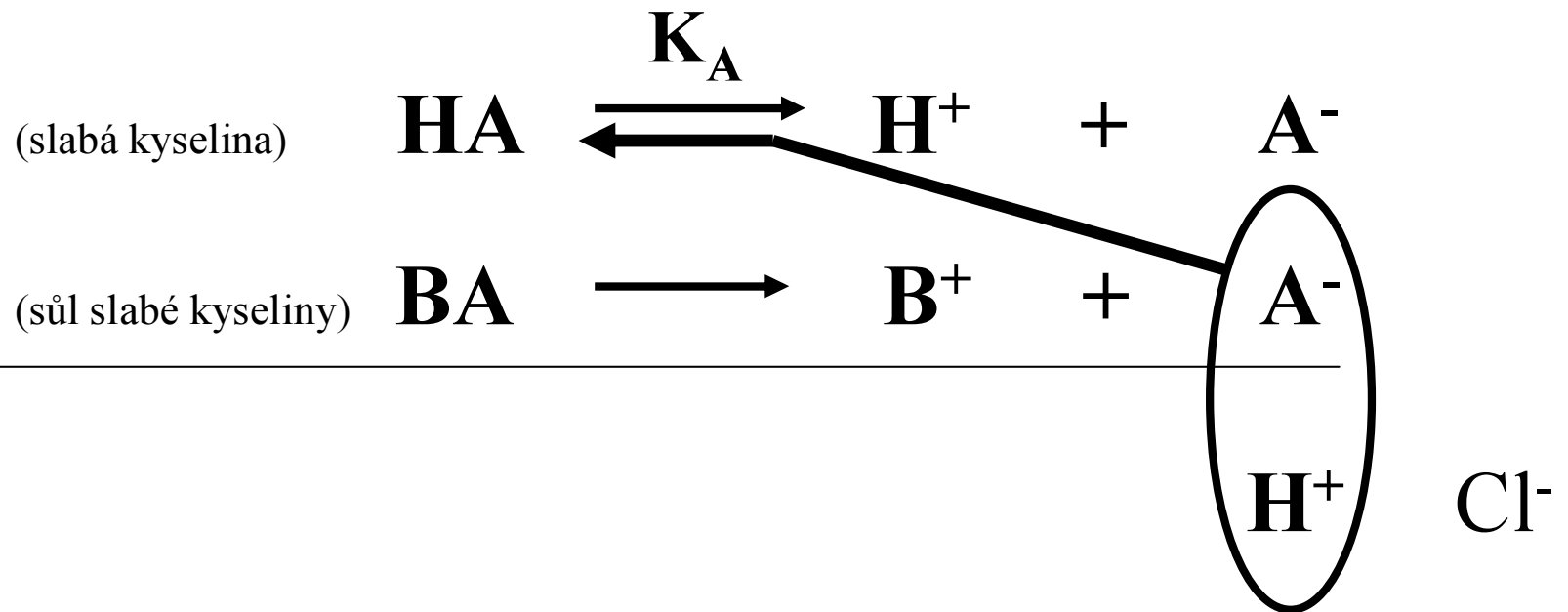
Sůl = silný elektrolyt \rightarrow disociace téměř úplná,
nevratná (jednosměrná) reakce



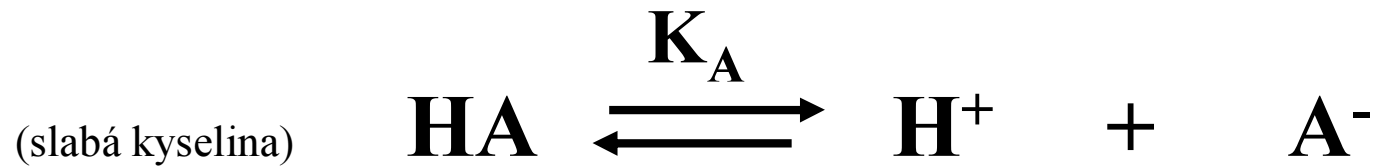
Pufr – reakce s kyselinou:



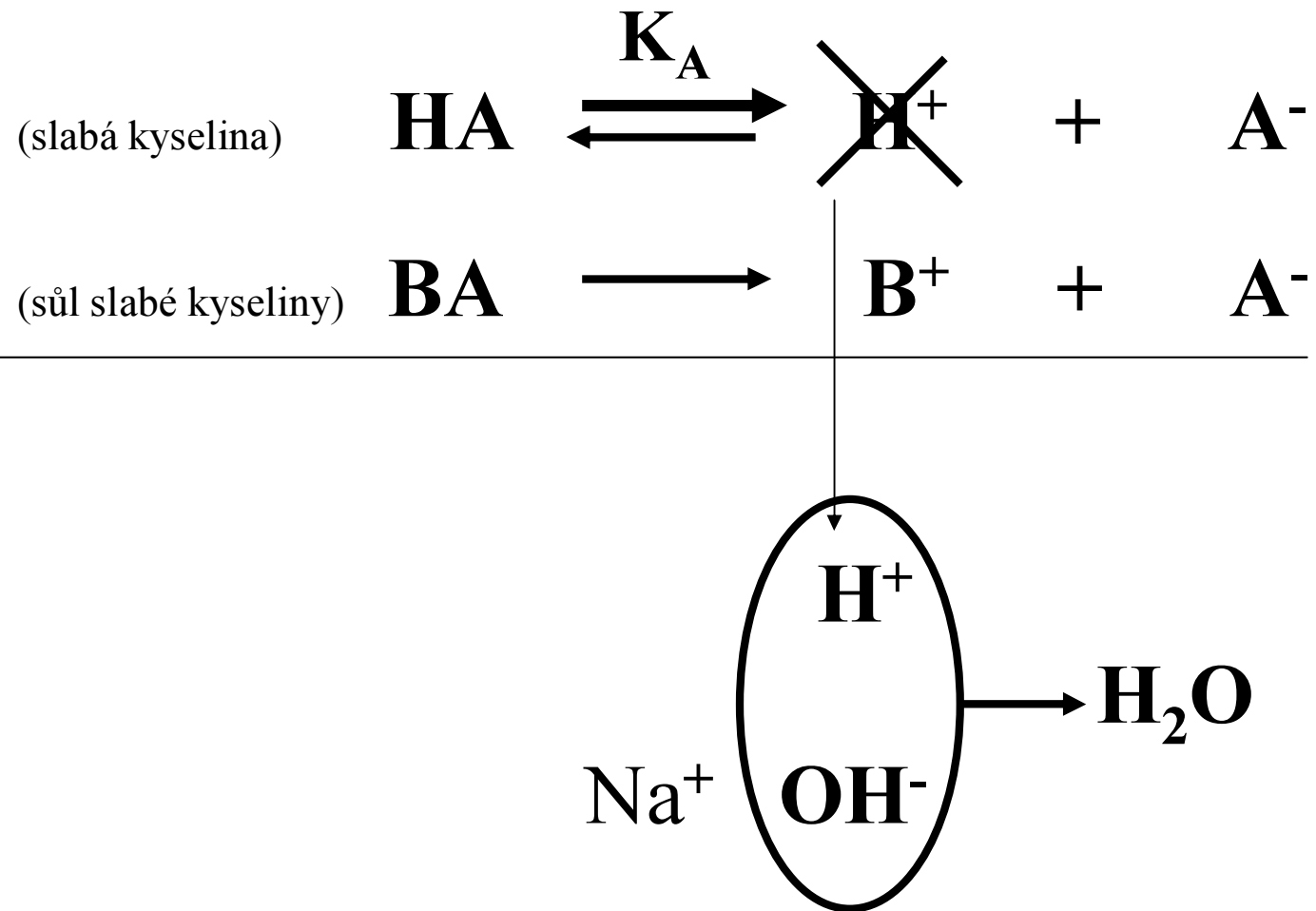
Pufr – reakce s kyselinou:



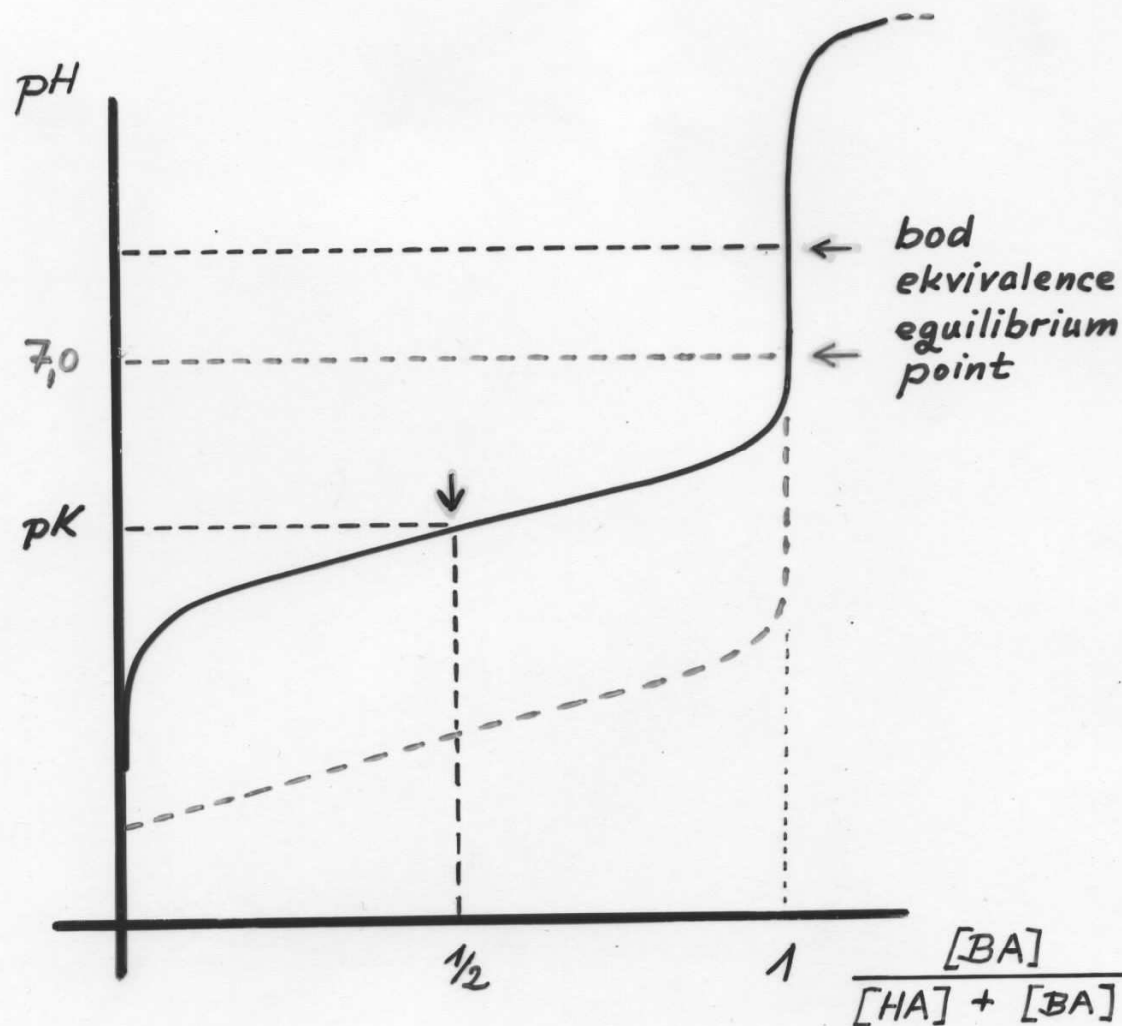
Pufř - reakce se zásadou:



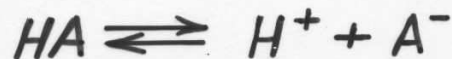
Pufř - reakce se zásadou:



Titrační křivka a schopnost pufrace



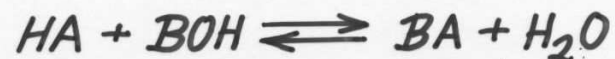
slabá kyselina
weak acid



silná kyselina
strong acid



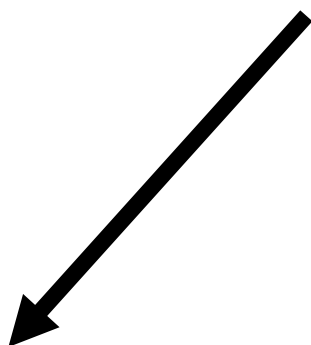
neutralizace
neutralization



Hraniční hodnoty pH (plná krev)

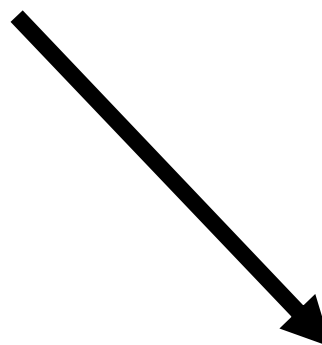
$$\text{pH} = 7,40$$

$$[\text{H}^+] \cong 40 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$



$$\text{pH} = 6,80$$

$$[\text{H}^+] \cong 160 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$



$$\text{pH} = 7,70$$

$$[\text{H}^+] \cong 20 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

Poznámka:

$[\text{H}^+]$ jsou zde v $\text{nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (tj. $10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$),

- **nezaměňujte s $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$,**

které představují miliónkrát vyšší koncentraci !!!

$$[\text{H}^+] (\text{nmol} \cdot \text{l}^{-1}) = 10^{(9 - \text{pH})}$$

$$\text{pH} = 9 - \log [\text{H}^+] (\text{nmol} \cdot \text{l}^{-1})$$

Hraniční hodnoty pH (plná krev)

$$\text{pH} = 7,40$$

$$[\text{H}^+] \cong 40 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

normální hodnota



$$\text{pH} = 6,80$$

$$[\text{H}^+] \cong 160 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

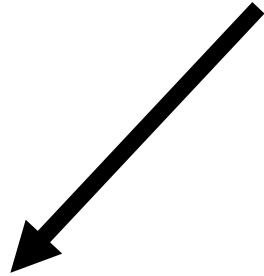
4násobek normy $[\text{H}^+]$

$$\text{pH} = 7,70$$

$$[\text{H}^+] \cong 20 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

$\frac{1}{2}$ normy $[\text{H}^+]$ ¹⁸

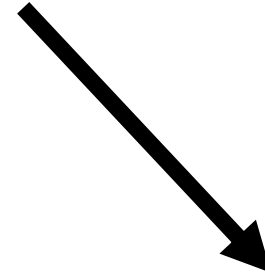
Krajní hodnoty pH slučitelné se životem



$$\text{pH} = 6,80$$

$$[\text{H}^+] \cong 160 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

4násobek normy $[\text{H}^+]$



$$\text{pH} = 7,70$$

$$[\text{H}^+] \cong 20 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

$\frac{1}{2}$ normy $[\text{H}^+]$

tolerance k acidémii (acidóze) je značně vyšší,
alkalémie (alkalózy) proto představují větší nebezpečí

CO₂ v plasmě krevní



800 mol



1 mol



0,03 mol

Kyselina uhličitá v plazmě:

$[\text{CO}_2]$ = fyzikálně rozpuštěný CO_2
(chemicky nezreagovaný)
800 mol

$[\text{H}_2\text{CO}_3]$ = CO_2 zreagovaný na kyselinu
1 mol

$[\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3]$ = „efektivní koncentrace
kyseliny uhličitě“

(Efektivní ve smyslu „účinná“ koncentrace vyjadřuje,
že jako kyselina uhličitá budou působit také její
molekuly, doplňované z 800násobného přebytku CO_2)

Oxid uhličitý CO₂



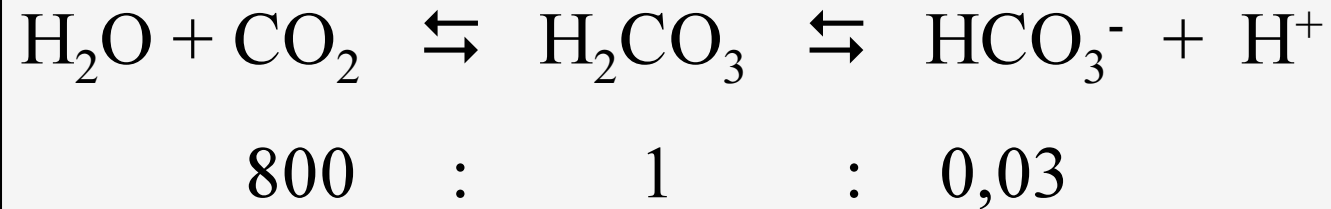
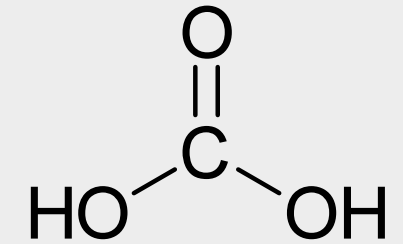
- carbonei dioxidum
- bezbarvý plyn, těžší než vzduch, snadno zkapalnitelný, termicky stabilní, lineární molekula
- nulový dipólový moment \Rightarrow nepolární molekula \Rightarrow málo rozpustný ve vodě, rozpouští se až pod tlakem
- kyselinotvorný ($\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$)
- vzniká při dokonalém spalování uhlíku a org. sloučenin (nutný katalyzátor !)

Endogenní tvorba CO₂ (300 - 600 litrů/den)

- oxid uhličitý vzniká v dekarboxylačních reakcích
- oxidační dekarboxylace pyruvátu → acetyl-CoA
- dvě dekarboxylace v CC (isocitrát, 2-oxoglutarát)
- dekarboxylace aminokyselin → biogenní aminy
- neenzymová dekarboxylace acetoacetátu → aceton
- katabolismus pyrimidinových bází
(cytosin, uracil → CO₂ + NH₃ + β-alanin)
- katabolismus glycinu → CO₂ + NH₃ + methylen-THF

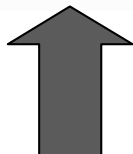
hlavní
zdroje
CO₂

Kyselina uhličitá H_2CO_3



- slabá dvojsytná kyselina ($\text{p}K_{\text{A}1} = 6,37$; $\text{p}K_{\text{A}2} = 10,33$)
- existuje pouze ve vodném roztoku, snadno se rozkládá
- v roztoku zcela převažuje CO_2 ($800 \times$) \Rightarrow proto se užívá tzv. efektivní disociační konstanta:

$$K_{\text{A eff}} = \frac{[\text{H}^+][\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3]}$$



Srovnejte: CO₂ ve vodě a krvi !

Kapalina	pH	[CO ₂] : [HCO ₃ ⁻]
Perlivá voda ^a	3,50 - 5,00	800 : 0,03
Krev ^b	7,36 - 7,44	1 : 20 ^c

^aUzavřený systém (PET láhev), 25 °C, $I = 0,00$, $pK_{A1} = 6,37$
pH ~ pCO_2 ~ tlaku CO₂ při sycení

^bOtevřený systém, 37 °C, $I_{\text{plazma}} = 0,16$, $pK_{A1} = 6,10$
CO₂ kontinuálně odstraňován, pCO_2 v plicních alveolech ~ 5,3 kPa,
kyselá složka hydrogenuhličitanového pufru

^cviz Semináře, str. 20, příklad 60

Hendersonova – Hasselbalchova rovnice
pro $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ v plazmě krevní:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{c_s}{c_a}$$

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3]}$$

Hendersonova – Hasselbalchova rovnice
pro $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ v plazmě krevní:

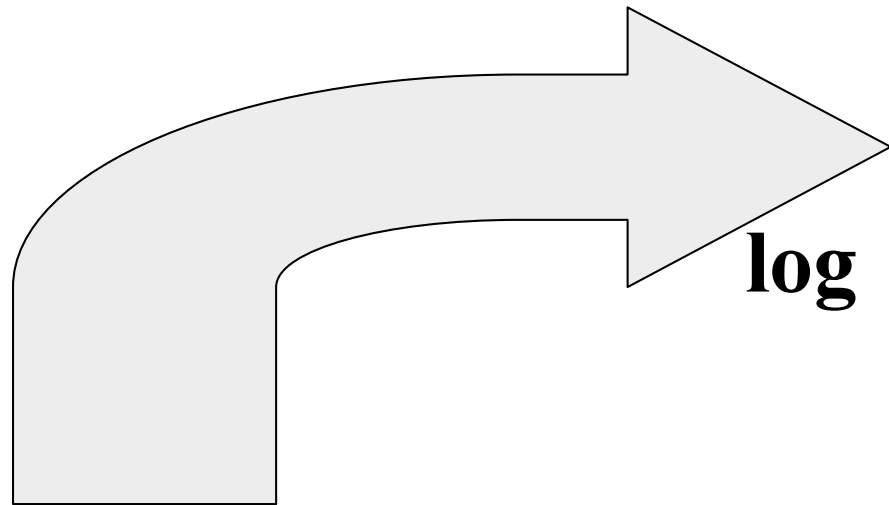
$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{c_s}{c_a}$$

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\text{pH} = 6,10 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{0,225 * \text{pCO}_2}$$

$$\text{pH} = 6,10 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{0,225 * \text{pCO}_2}$$



$$\log \frac{24}{1,2} = 1,30$$

**[HCO₃⁻] je udávána nikoliv v mol . l⁻¹
(jak je tomu u ostatních výpočtů pH) ,
ale v mmol . l⁻¹ (tj. svým obvyklým rozměrem)**

Princip stanovení parametrů ABR

$$\text{pH} = 6,10 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{0,225 * \text{pCO}_2}$$

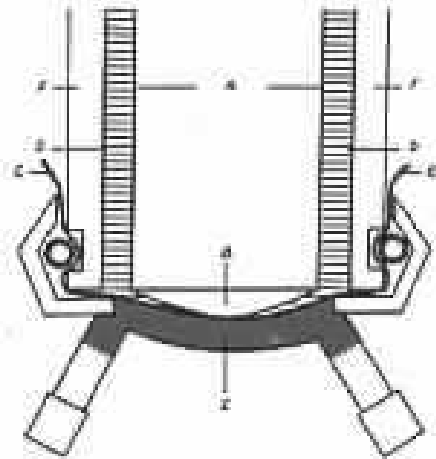
vypočítáno

↑

měřeno

pCO₂ a pO₂ článek

(„elektroda“)



**METODY „PŘÍMÉHO
MĚŘENÍ“**

(nikoliv Astrupova metoda!)

**pCO₂ → silikonová membrána → měří se změna pH
(kombinovaná skleněná a Ag / AgCl elektroda v
roztoku bikarbonátu)**

**pO₂ → polypropylenová membrána → kyslík
redukován na O₂²⁻ (vznik peroxidu, polarografický
princip: měří se průchod el. proudu mezi Pt katodou
a Ag / AgCl anodou ve fosfátovém pufru)**

PARAMETRY

ABR

Základní parametry ABR:

$$\text{pH} = 7,40 \pm 0,05$$

$$\text{pCO}_2 = 5,33 \pm 0,5 \text{ kPa}$$

$$\text{BE} = 0 \pm 3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

BE = base excess [beis ik'ses]

= „výchylka nárazníkových bazí“,

„výchylka pufrčních bazí“ - původní význam „nadbytek bazí“ zanikl spolu s pojmem „base deficit“, BD

Parametry ABR:

1/ pH je rozhodujícím parametrem

- metabolismus v buňkách je určen enzymy, které mají svoje pH optima
- naše veškeré snahy o úpravu ABR musí směřovat k normalizaci pH (~ 7,40)

2/ pCO₂ a BE jsou základními parametry

- informují o tom, jak bylo výsledného pH dosaženo
- spolu s pH umožňují posoudit typ poruchy ABR

3/ všechny ostatní parametry jsou pomocné

- některé mohou být tzv. „aktuální“, jiné „korigované“ !!

Pomocné parametry ABR:

$$\begin{aligned} \text{akt } \text{HCO}_3^- &= 24 \pm 3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \\ \text{std } \text{HCO}_3^- &= 24 \pm 3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \\ \text{std BE} &= 0 \pm 3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \end{aligned}$$

(Za shodných podmínek $[\text{HCO}_3^-] = 24 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
odpovídá hodnotě $\text{BE} = 0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

Parametry ABR aktuální:

„akt“ = aktuální

tj. za daného stavu,

který neodpovídá standardu

Zjednodušeně: v praxi je to hodnota nějakého parametru ABR při pCO₂, které se odchyluje od své normální hodnoty (pCO₂ ≠ 5,33 kPa !!)

Některé standardní podmínky (pO₂ a teplotu vzorku plné krve) zajišťuje při měření analyzátor. - Standardní způsob odběru a zacházení se vzorkem musí být vždy striktně dodržen !!

Parametry ABR standardní:

„std“ = standardní,
vztahující se ke standardním
podmínkám

standardní podmínky:

- 1/ $p\text{CO}_2 = 5,33 \text{ kPa}$ (normální)
- 2/ $p\text{O}_2$ (krev saturována kyslíkem)
- 3/ $t = 37,0 \text{ }^\circ\text{C}$
- 4/ vzorek plné krve („anaerobní odběr“)

Parametry ABR korigované:

jsou přepočítány pro normální pCO₂

Doplňující údaje:

- $pO_2 = 9 - 15$ kPa (věková závislost)
- saturace Hb kyslíkem = 0,95 – 0,98
- formy Hb nepřenášející kyslík

Dřívější údaje:

BB_b = buffer base (blood) \cong 48 mmol . l⁻¹

['bafə beis blad]

**souhrn konjugovaných pufrálních bází
(plné krve)**

BB_p = buffer base (plasma) \cong 42 mmol . l⁻¹

['bafə beis plaezm]

**souhrn konjugovaných pufrálních bází
(plasmy)**

BB_p = buffer base (plasma) \cong 42 mmol . l⁻¹

24 mmol . l⁻¹ HCO₃⁻

16 mmol . l⁻¹ protein⁻

**2 mmol . l⁻¹ všechny ostatní
nárazníkové báze**

} 42

BB_b = buffer base (blood) \cong 48 mmol . l⁻¹

**42 mmol . l⁻¹ BB_p }
6 mmol . l⁻¹ Hb } 48**

Hb - koncentrace a pufrační kapacita

$$M_{\text{Hb}} = 64.458 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (\rightarrow 4 \text{ Fe})$$

$$[\text{Hb}] = 140 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$$

$$140/64.458 = 0,00217 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$$

$$= 2,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

Hb se chová jako vícesytná konjugovaná báze: má 38 His. Při pH 7,0 - 7,7 se pufrační kapacita volných karboxylů a volných aminoskupin Hb uplatňuje jen velmi málo, pufrační kapacita Hb je pak vytvářena převážně imidazolovými jádry His a je 6 mmol . l⁻¹ .

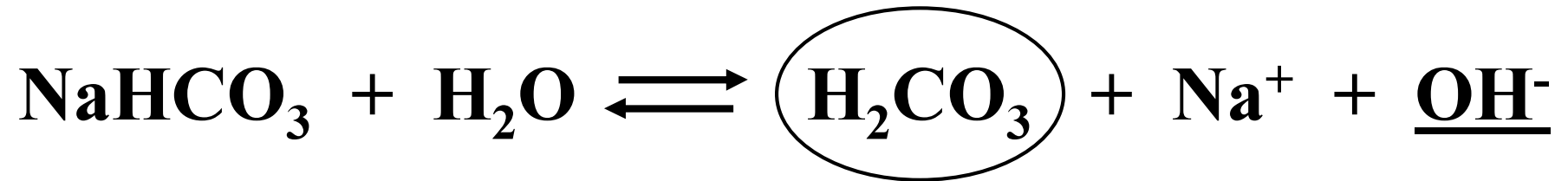
Poznámka:

Současné metody „přímého měření“ parametrů ABR neumožňují analyzátorům vyčíslit BB_b a BB_p (lze je však vypočítat doplněním některých dalších hodnot - [Hb], iontogramu).

Údaje BB_b a BB_p pocházejí z dob používání tzv. „ekvilibračních metod“ dle Astrupa (přibližně do konce 70. let, kdy byly uváděny mezi parametry ABR spolu s ostatními výsledky).

Oba pojmy i dnes představují užitečnou informaci o pufračních vlastnostech krve resp. plasmy.

Hydrogenuhlíčan sodný („bikarbonát“) je zásaditý



(Kyselina uhličitá v elipse symbolizuje slabý, tedy prakticky nedisociovaný elektrolyt. Hydroxid sodný je silný, tj. téměř zcela disociovaný elektrolyt
- ve vodném roztoku vzniká přebytek OH⁻ iontů, podmiňující zásaditou reakci.)

Pufrační kapacita (plná krev):

53 %	$\text{HCO}_3^- / \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3$	} „interakční reakce“
35 %	Hb / HbO_2	
7 %	$\text{protein}^- / \text{protein-H}$	
5 %	$\text{HPO}_4^{2-} / \text{H}_2\text{PO}_4^-$	

100 % = celková pufrační kapacita krve

The buffer capacity (whole blood):

53 %	$\text{HCO}_3^- / \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3$	} „interaction reaction“
35 %	Hb / HbO_2	
7 %	protein⁻ / protein-H	
5 %	$\text{HPO}_4^{2-} / \text{H}_2\text{PO}_4^-$	

100 % = the total buffer capacity of blood

Pufry v různých kompartmentech:

pufr	Ery	plasma	IST	ICT
bikarbonát	+	+	+	+
Hb	+			
fosfát	+	+	+	+
proteiny		+		+

Ery = erytrocyty

IST = intersticiální tekutina

ICT = intracelulární tekutina

The buffers in different compartments:

buffer	Ery	plasma	ISF	ICF
bicarbonate	+	+	+	+
Hb	+			
phosphate	+	+	+	+
protein		+		+

Ery = erythrocyte

ISF = interstitial fluid

ICF = intracellular fluid

Intracellular buffers: proteins, phosphates, and potassium exchange

Erythrocyte



Prot⁻

HPO₄²⁻

HProt⁻

H₂PO₄⁻

Plasma

tissue buffering in acidemia can lead to ↑ plasma [K⁺]

H⁺ ← H⁺

K⁺ → K⁺

Erythrocyte



HProt⁻

HHPO₄⁻

Prot⁻

HPO₄²⁻

high H⁺ concentration
tissue buffering in alkalemia can lead to ↓ plasma [K⁺]

H⁺ → H⁺

K⁺ ← K⁺

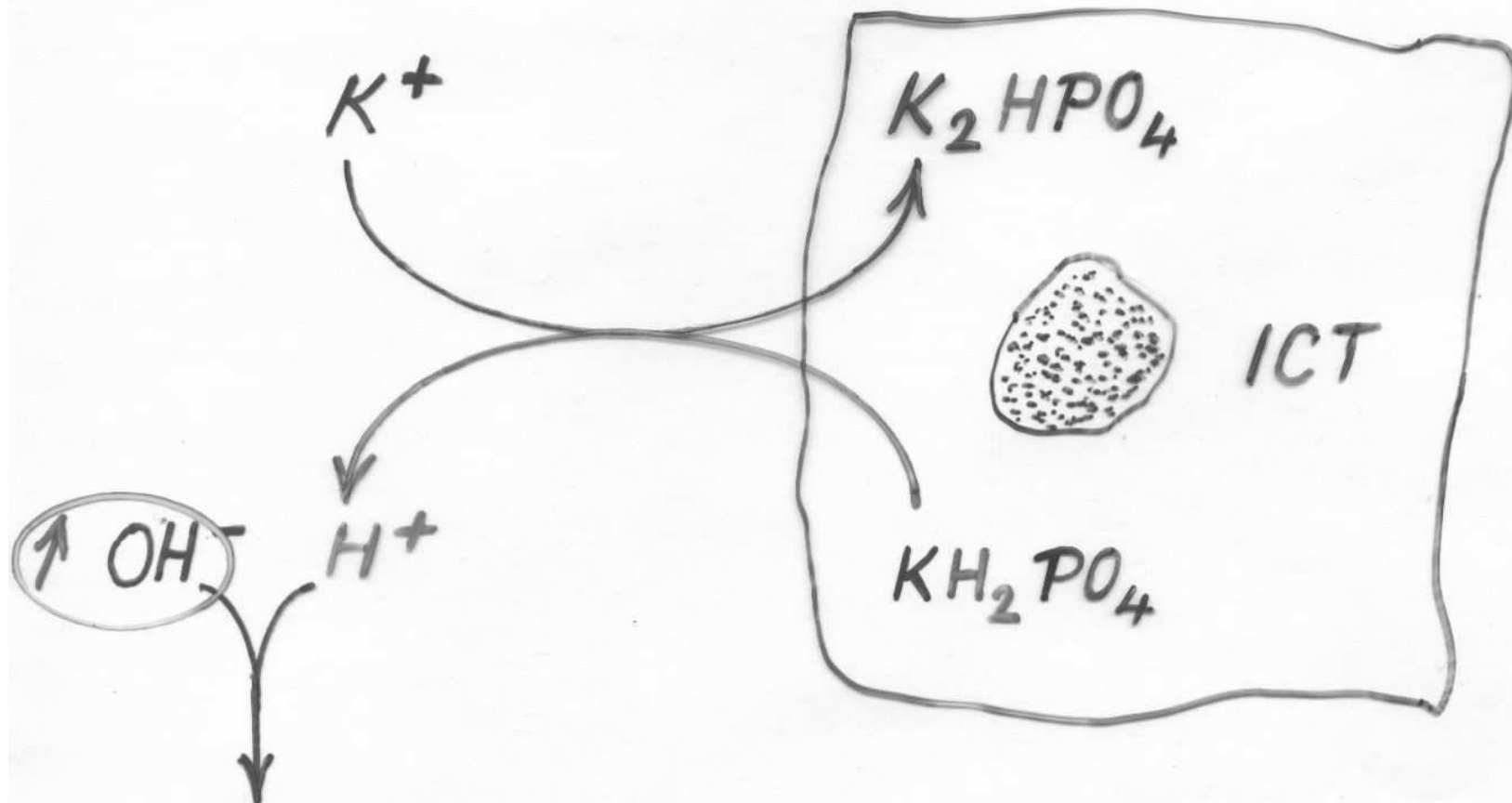
low H⁺ concentration

Pufry v bb.

acidémie

alkalémie

ECT

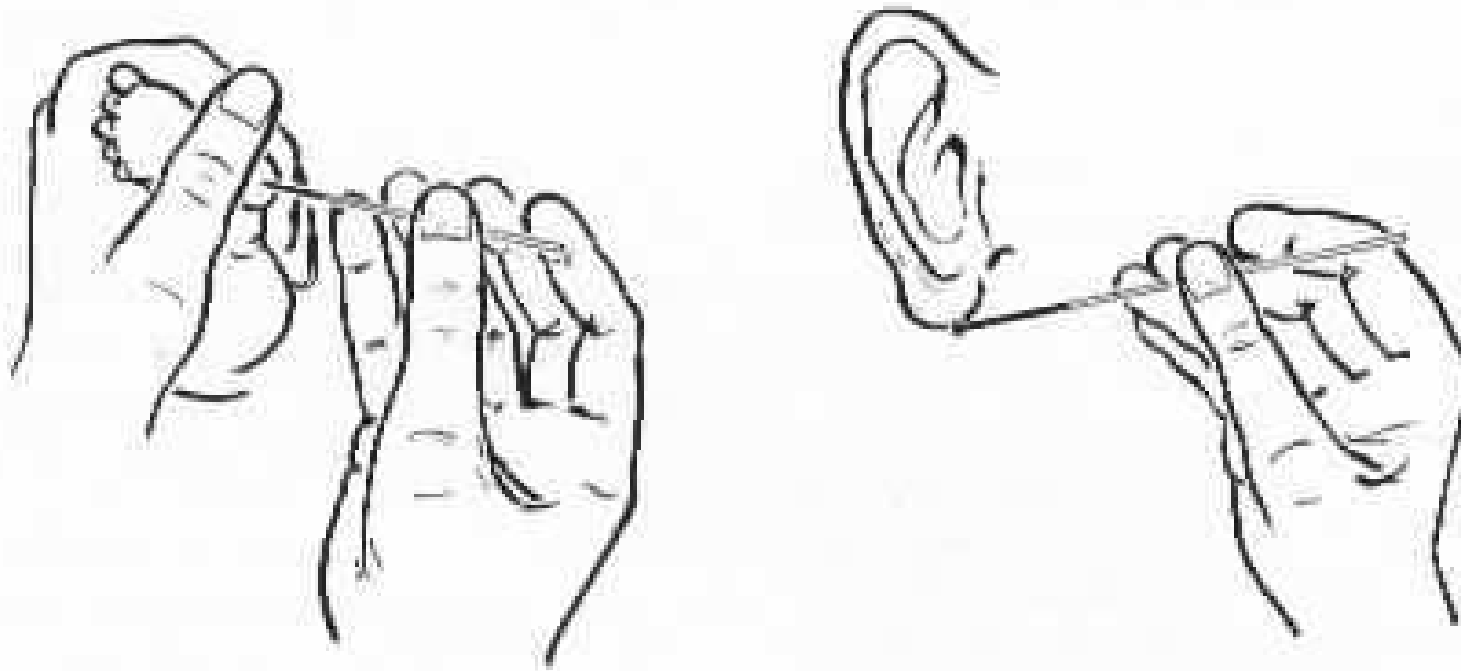


AIK → ↓ [K⁺] ~ ECT

„hypokalemická alkalóza“

PORUCHY ABR

Anaerobní odběr



Uchovatelnost vzorků:

- pokojová teplota: stanovení pO_2 do 5 min
stanovení parametrů ABR do 30 min
- ledová tříšť: do 4 h po odběru

Základní pojmy:

odchyly od normálního pH: acidémie (pH < 7,36)
alkalémie (pH > 7,44)

děje vyvolávající tyto odchylky: acidóza („Ac“)
alkalóza („Alk“)

respirační děj („R“):
prvotní porucha je ve změně pCO₂

metabolický děj („M“):
prvotní porucha je ve změně [HCO₃⁻] nebo [H⁺]

Třídění poruch ABR (1):

„acidóza“ (pH < 7,36)

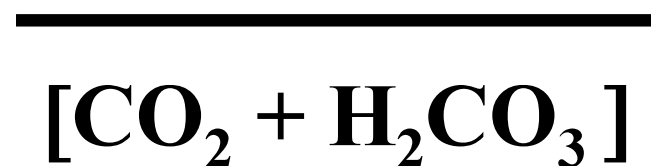


$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \log$$



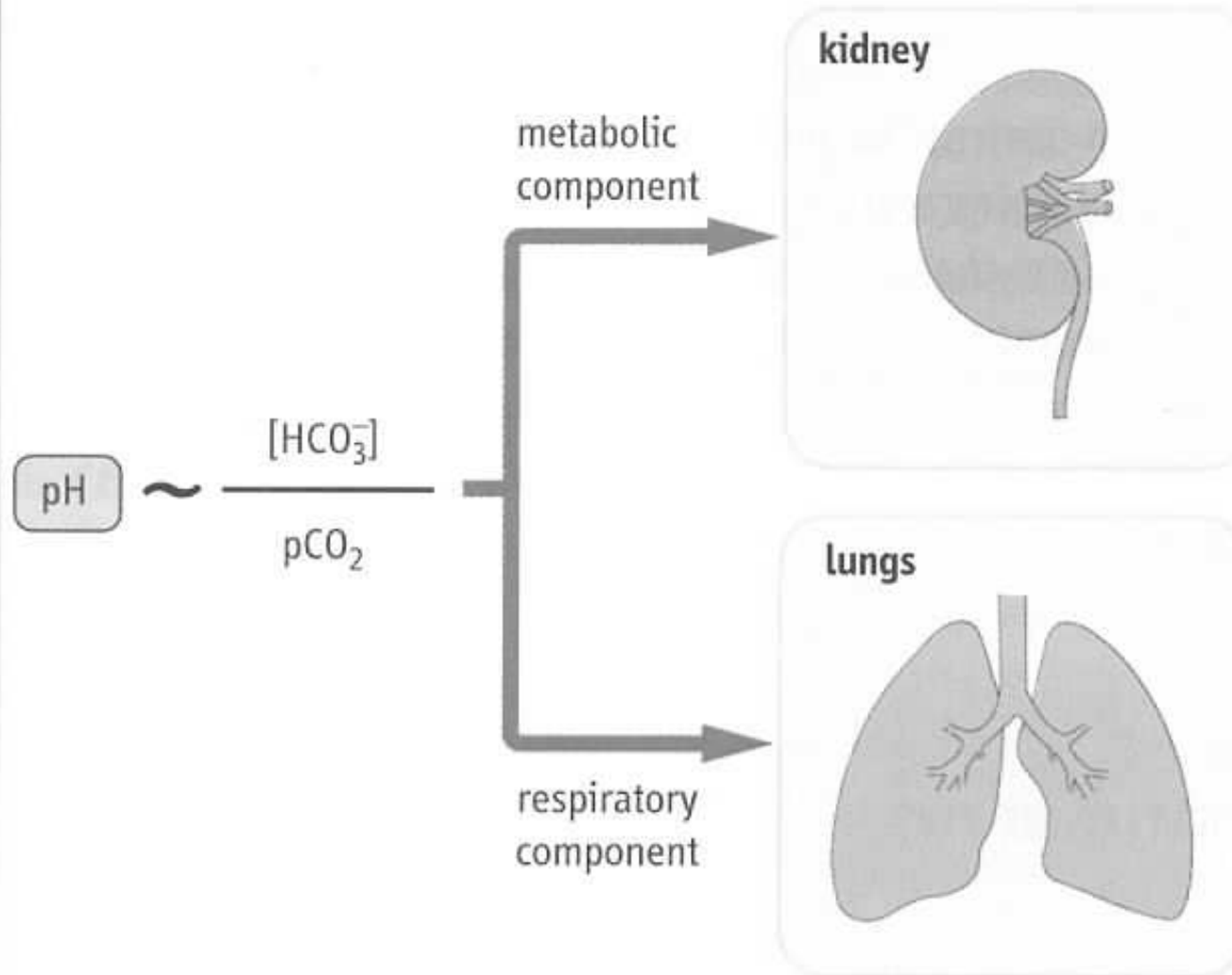
„alkalóza“ (pH > 7,44)

metabolická porucha



respirační porucha

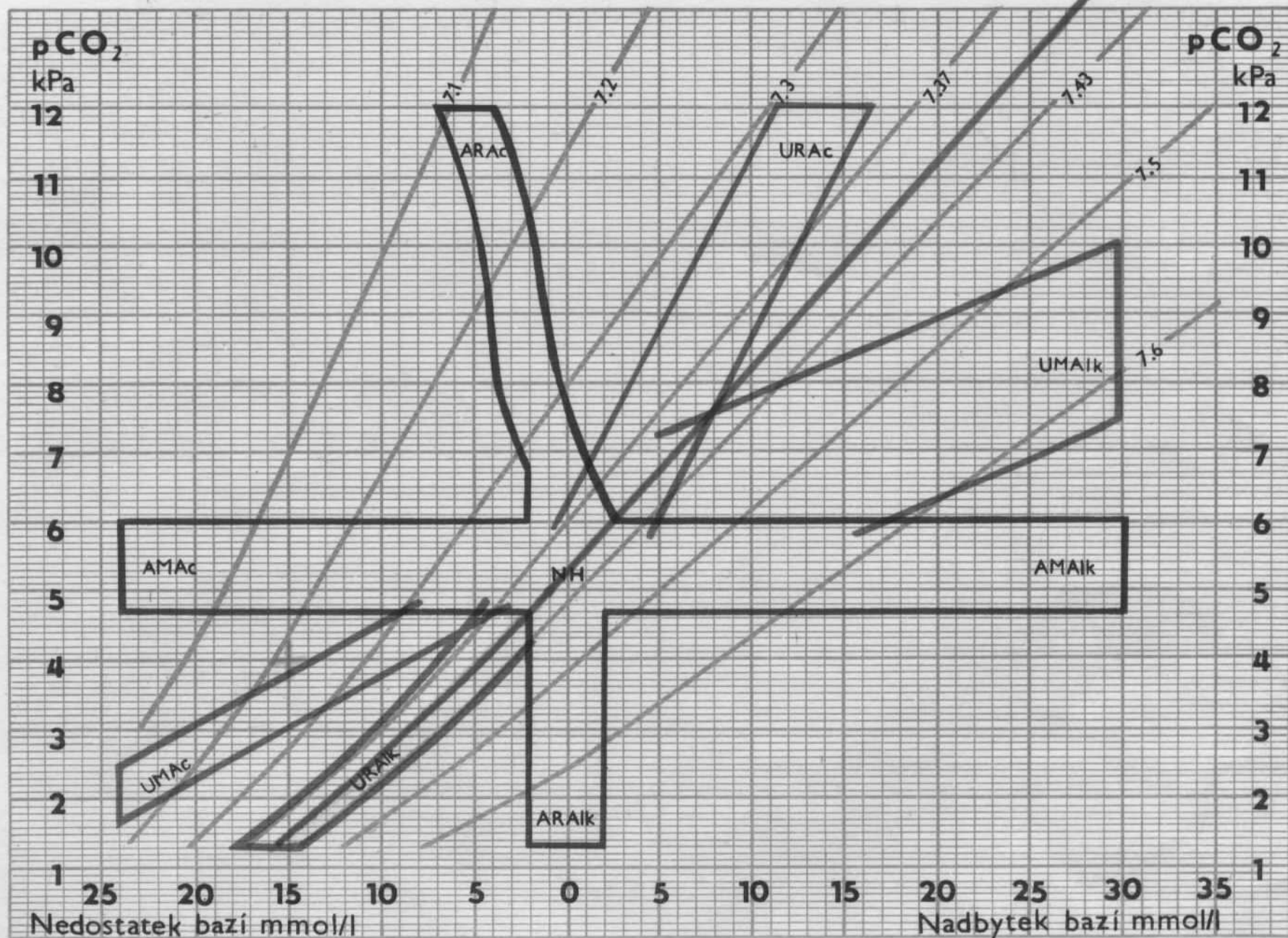
Components of the bicarbonate buffer

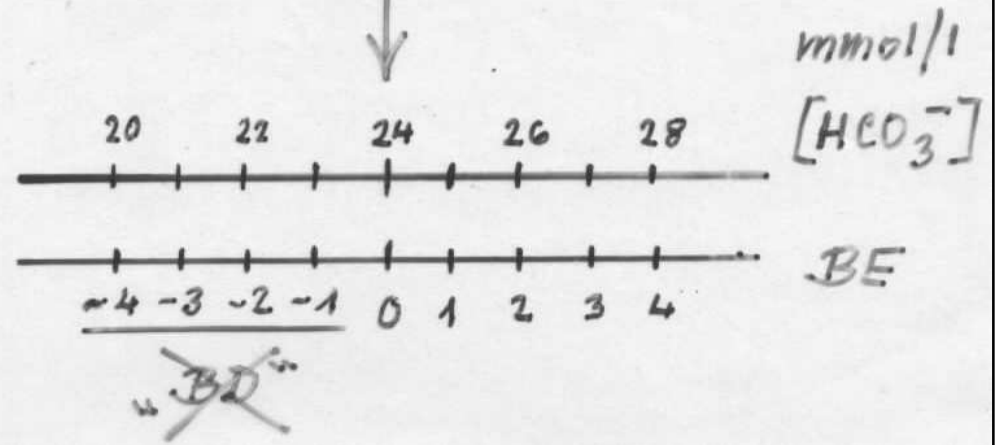
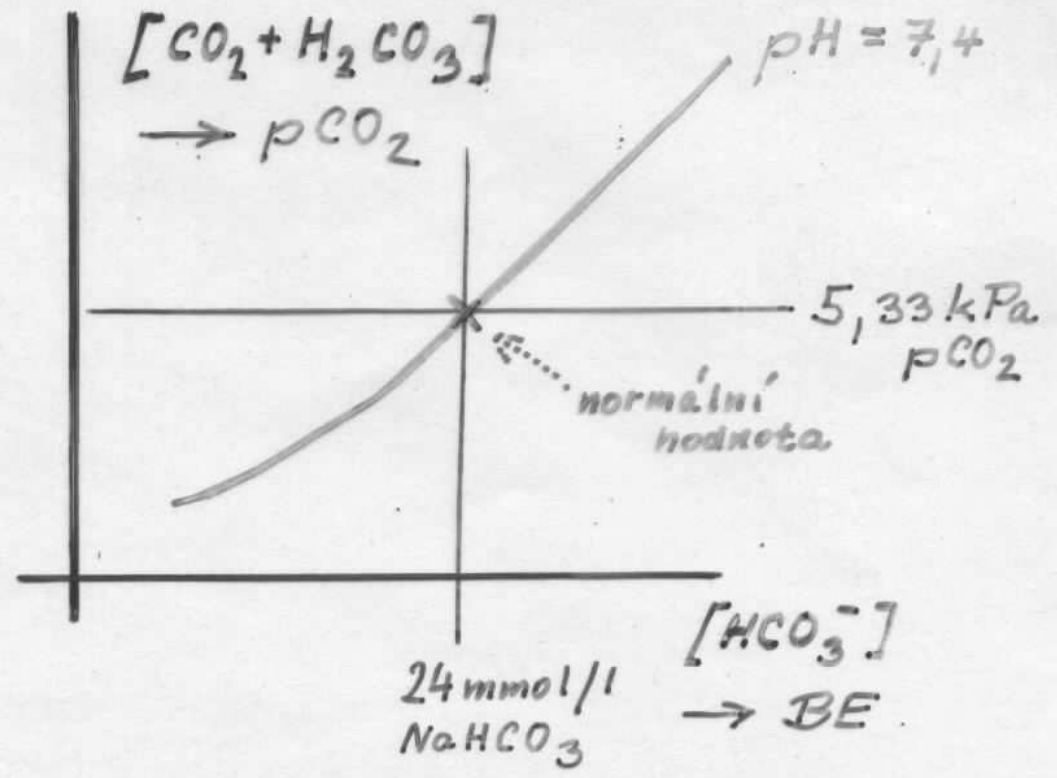
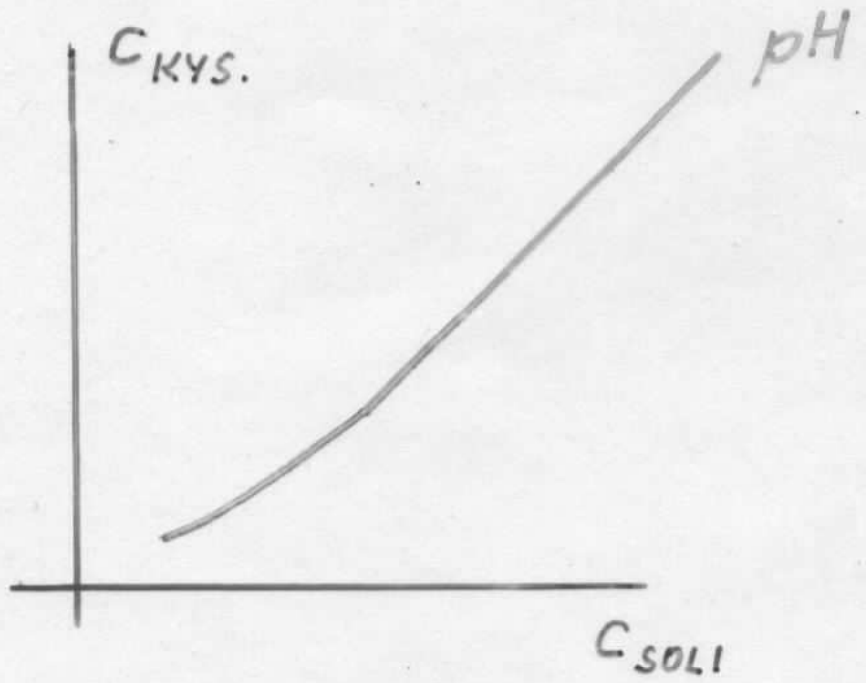


Třídění poruch ABR (2):

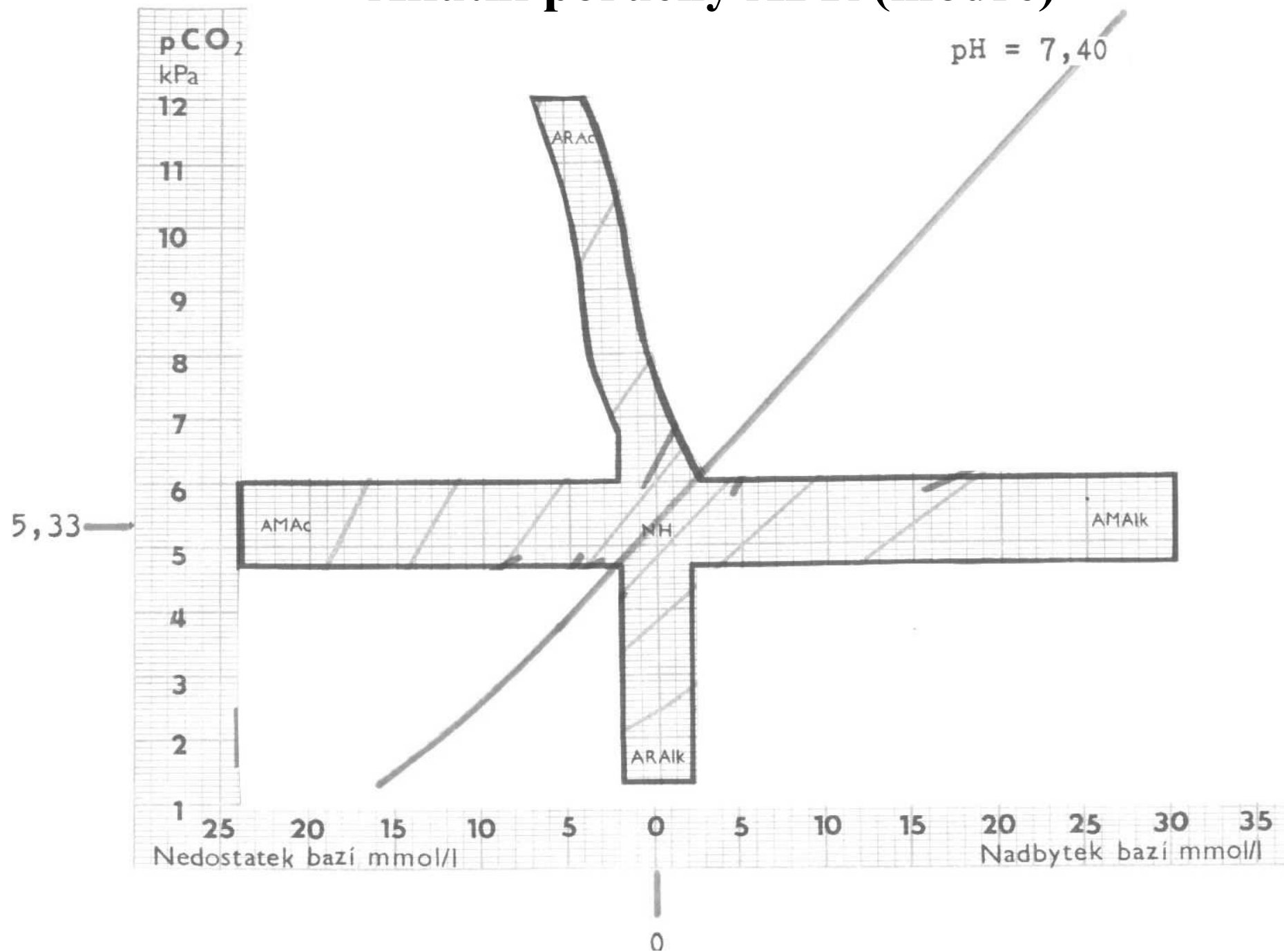
- **podle časového projevu:**
 - akutní (dekompenzované)**
 - ustálené (kompenzované)**
- **zcela čisté metabolické poruchy nebo zcela čisté respirační poruchy (tj. izolované akutní poruchy) prakticky neexistují, protože kompenzační děje začínají téměř okamžitě, ale ustálení může trvat i několik dnů (v závislosti na typu poruchy)**

ZÁZNAMOVÝ LIST ACIDOBASICKÉ REGULACE $\text{pH} = 7,40$

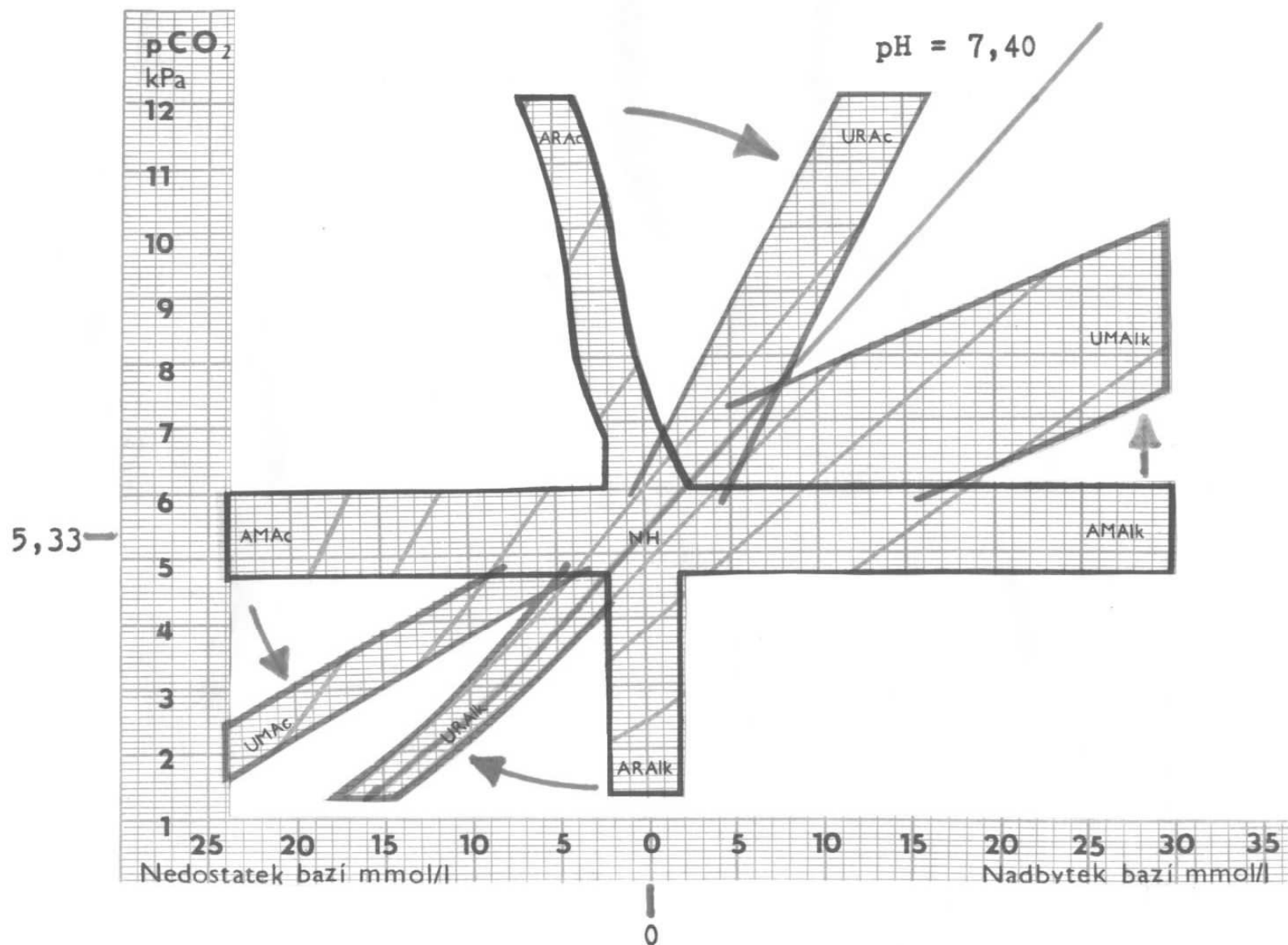




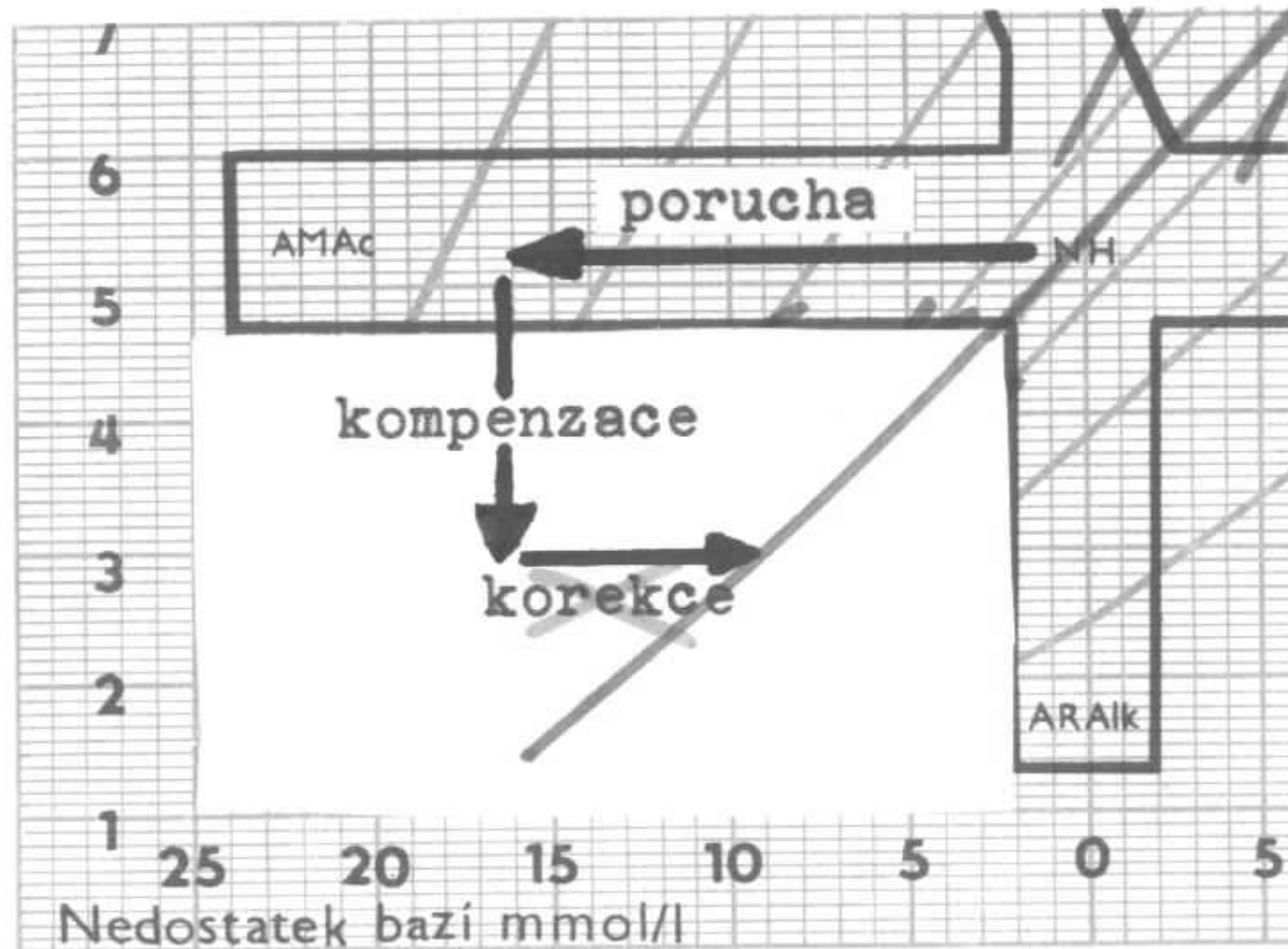
Akutní poruchy ABR (modře)



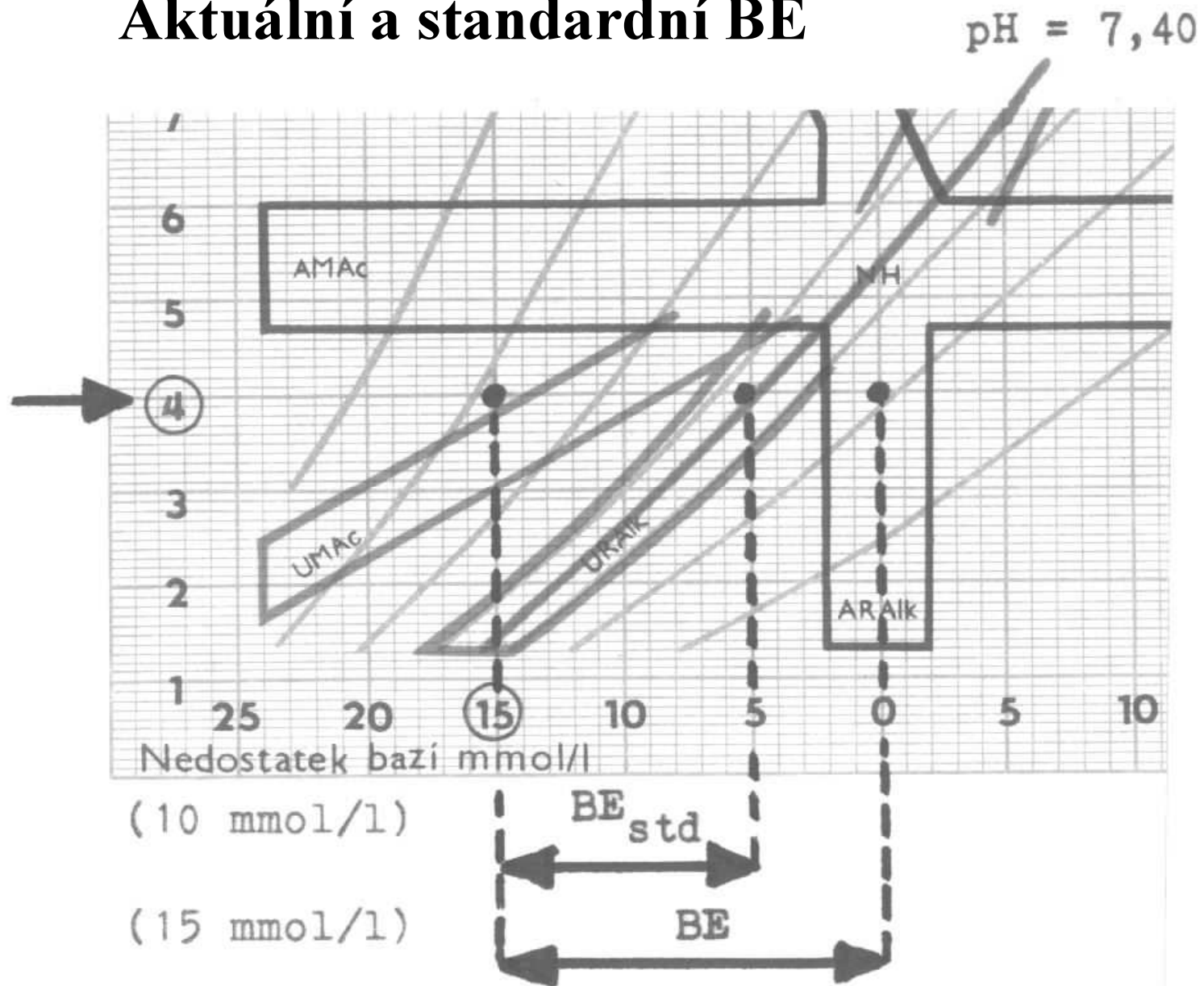
Ustálené poruchy ABR (červeně)



Názvosloví



Aktuální a standardní BE



Pozor na metabolickou alkalozu !!

Udržování konstantního pH

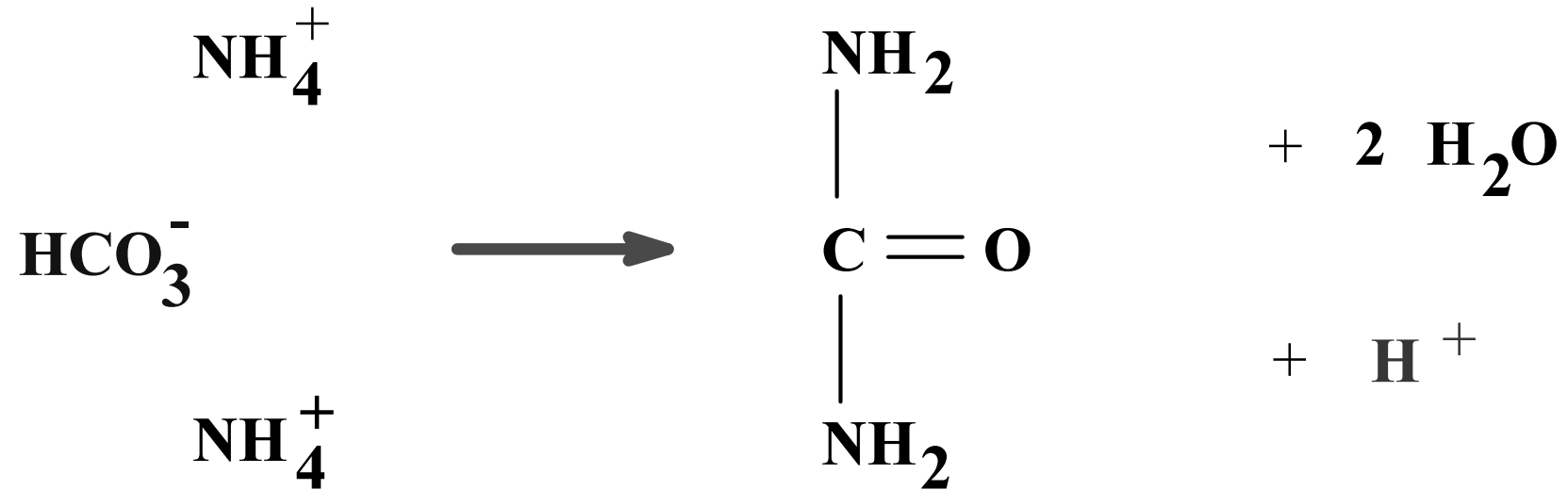
	pufrační systémy				plíce	ledviny
plná účinnost:	ECT	ICT	kost	rozvoj kompenzace během několika:		
	<i>ihned</i>	<i>min</i>	<i>h/dny</i>		<i>h</i>	<i>dni</i>

Úprava poruch ABR

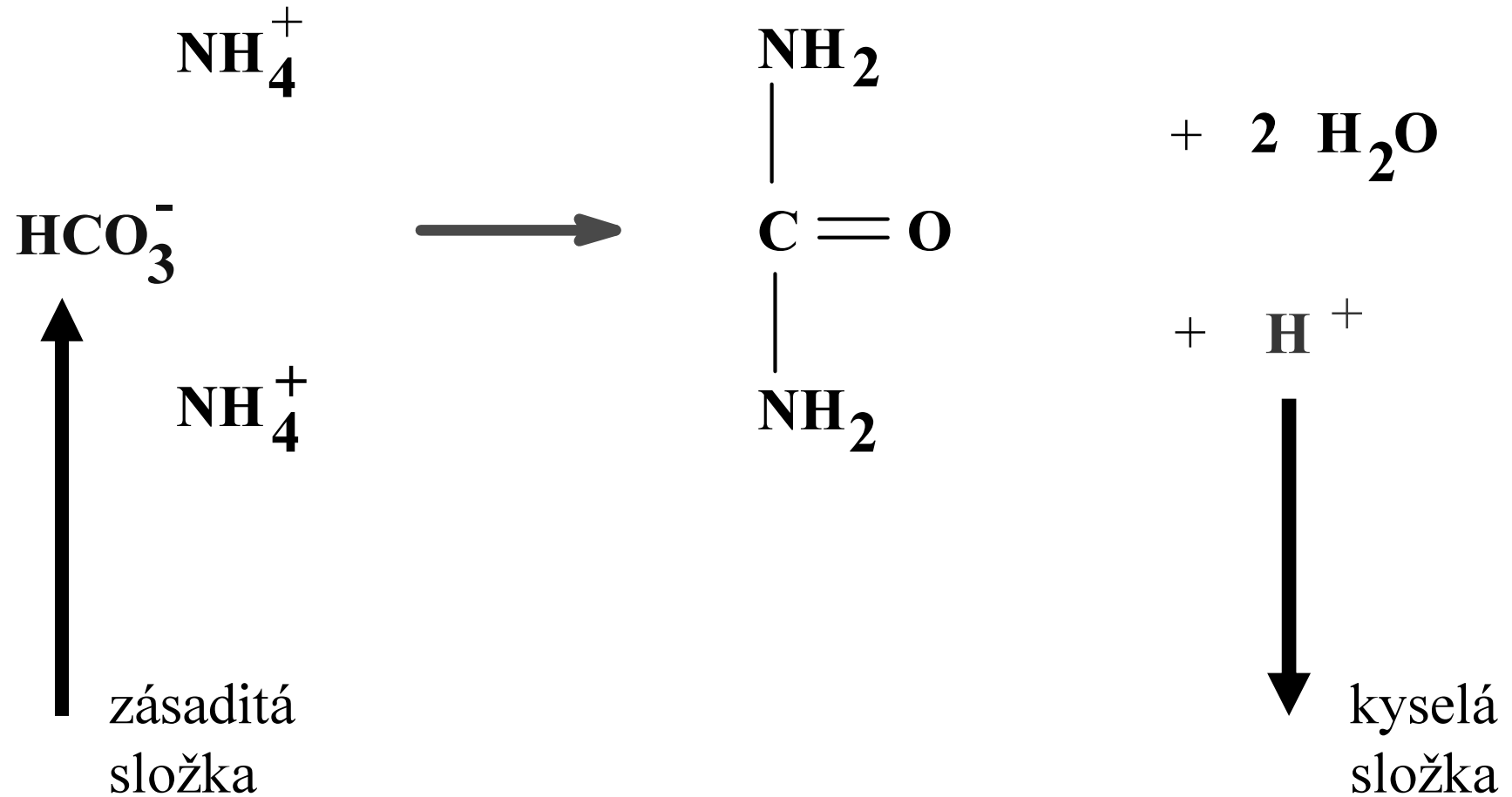
Kompenzace - pochody, kterými jeden systém nahrazuje porušenou funkci druhého systému

Korekce - pochody, kterými postižený systém upravuje vlastními prostředky parametry ABR k normě

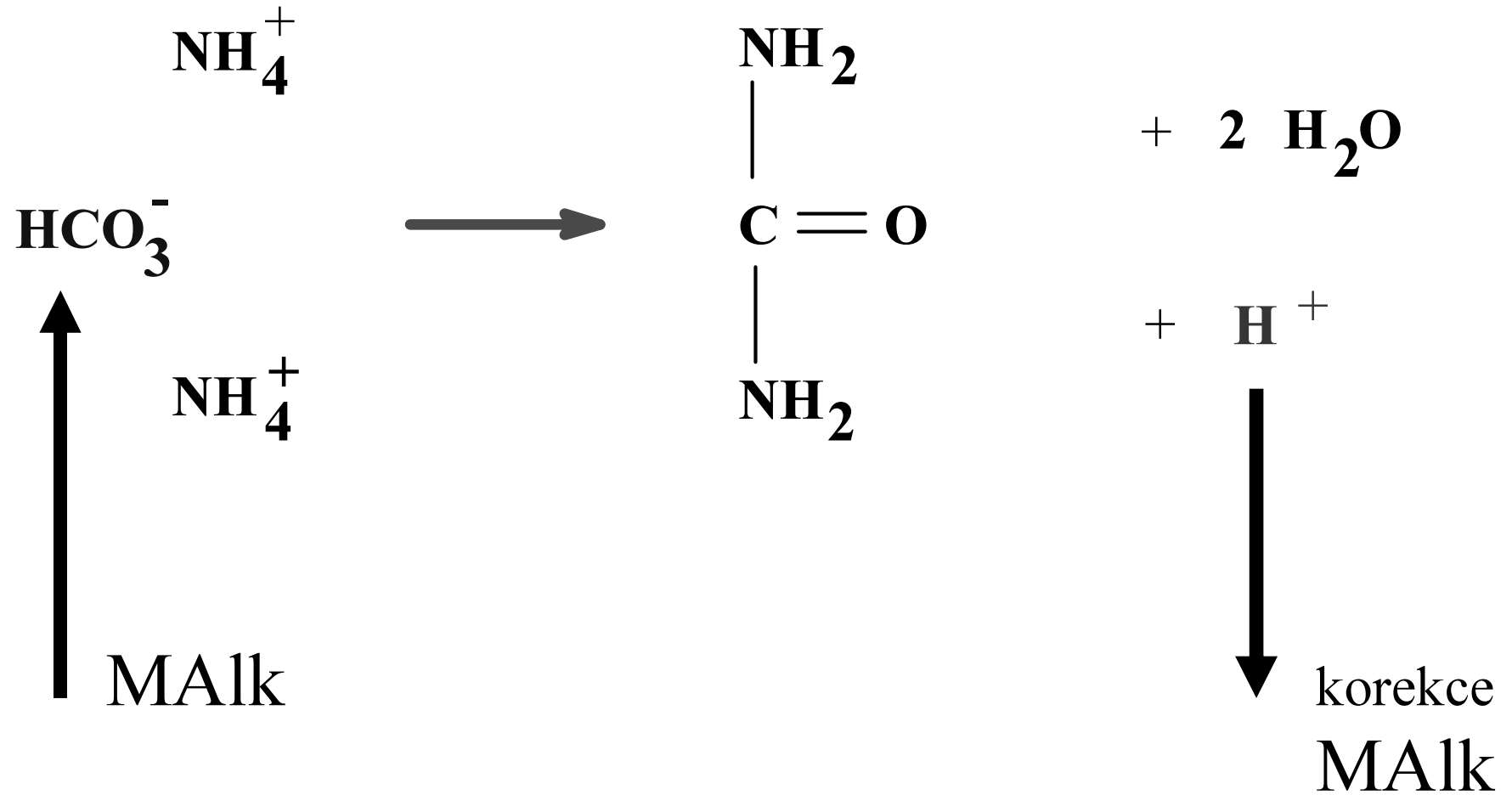
Játra a ABR (1)



Játra a ABR (2)



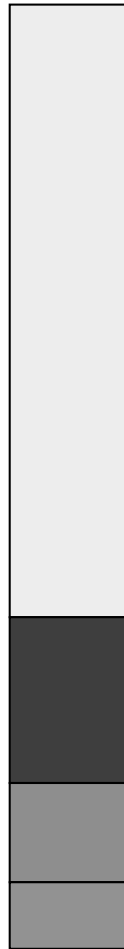
Játra a ABR (3)



		<u>pK</u>
●	kys. acetoctová $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOH}$	3,58
●	— mléčná $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$	3,86
●	— β -hydroxymásečná $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{COOH}$	4,39
(—	octová) CH_3COOH	4,70
—	uhličitá H_2CO_3	6,10
	dihydrogenfosforečnan H_2PO_4^-	6,80



Anionty v plazmě krevní:



chloridy $100 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$

hydrogenuhličitany

$24 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$

(proteináty $16 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

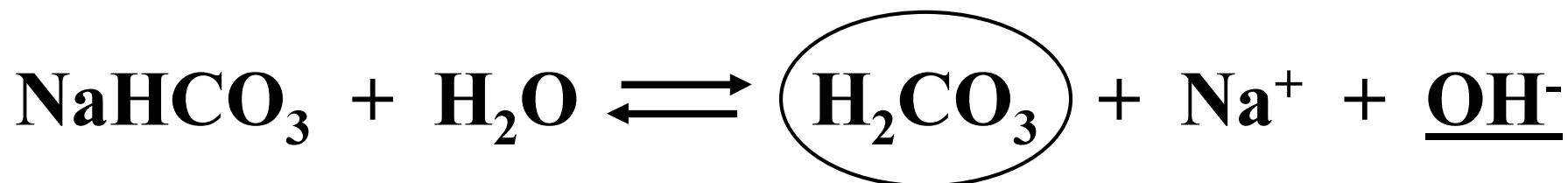
(reziduální anionty $10 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

$\Sigma = \text{cca } 150 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$

Hydrogenuhlíčan („bikarbonát“):



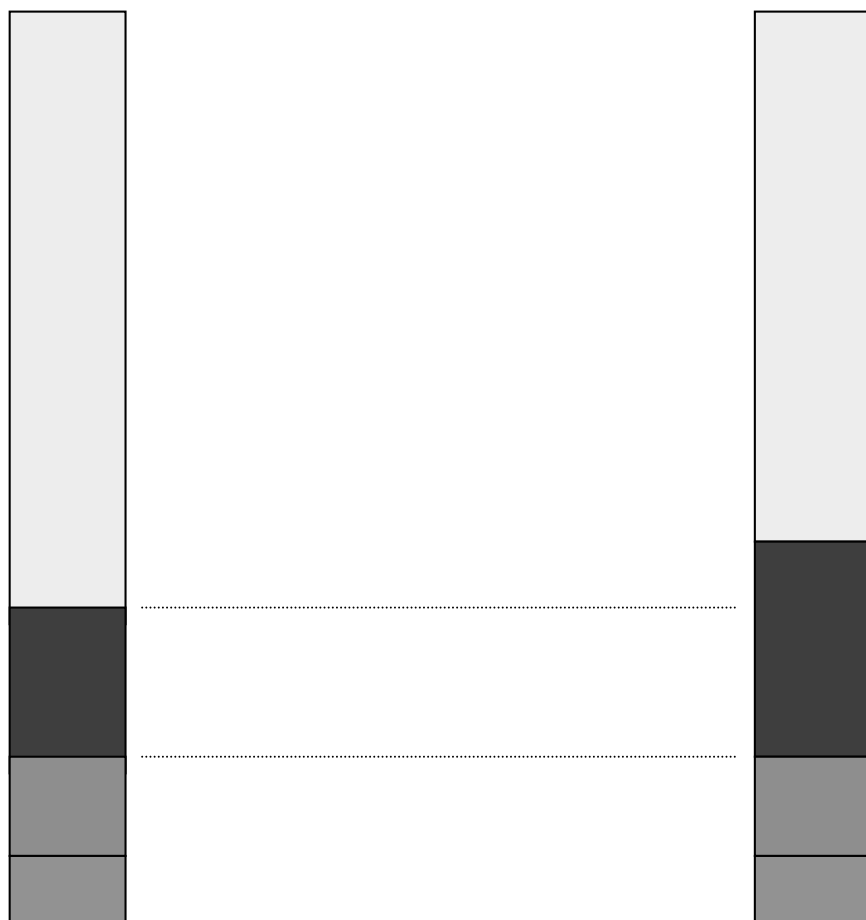
svojí koncentrací rychle „přizpůsobitelný“ anion



v důsledku hydrolýzy zásaditě reagující látka

(Kyselina uhličitá v elipse symbolizuje slabý, tedy prakticky nedisociovaný elektrolyt. Hydroxid sodný je silný, tj. téměř zcela disociovaný elektrolyt
- ve vodném roztoku vzniká přebytek OH^- iontů, podmiňující zásaditou reakci.)

Hypochloremická alkalóza:



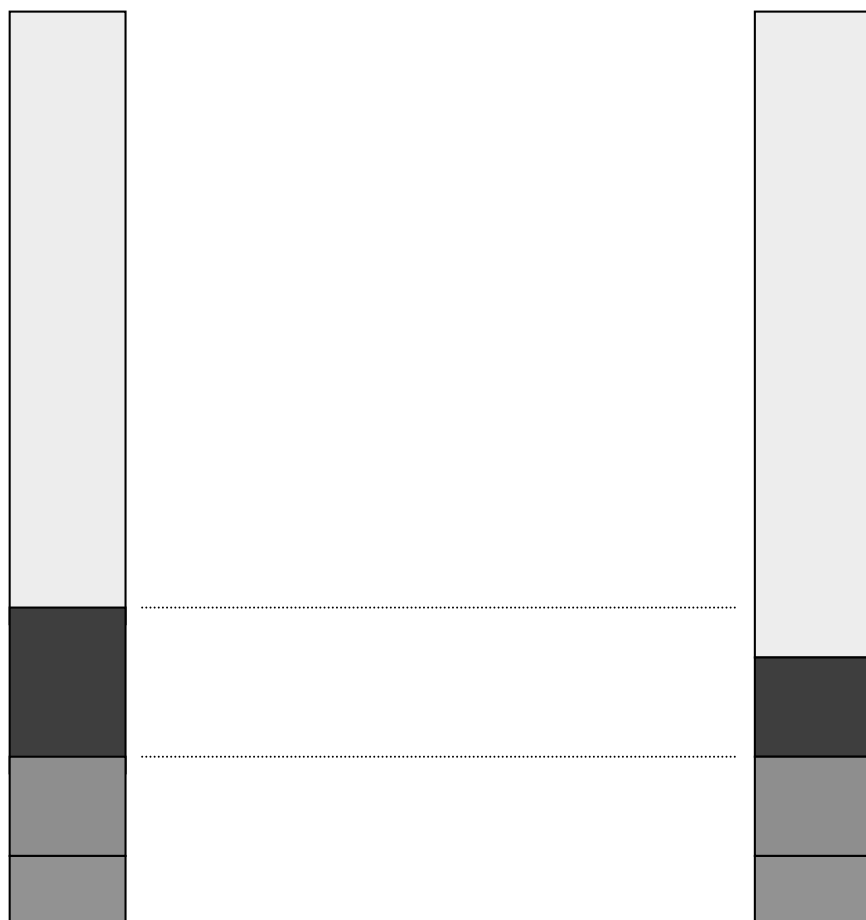
normální stav

hypochlorémie

**úbytek chloridů
(žlutě) kompenzován
zvýšením zásaditých
hydrogenuhličitanů
(modře), ostatní
anionty nezměněny**

(např. pooperační odsávání
žaludeční šťávy
= ztráta HCl)

Hyperchloremická acidóza:



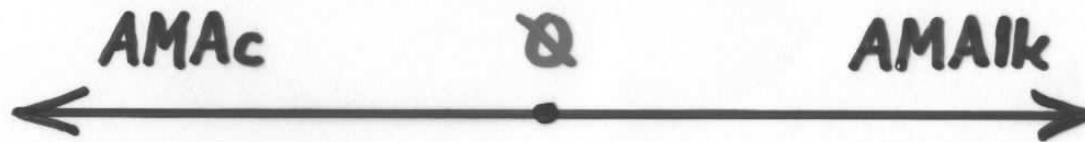
normální stav

hyperchlorémie

**nadbytek chloridů
(žlutě) kompenzován
snížením zásaditých
hydrogenuhlíčanů
(modře), ostatní
anionty nezměněny**

(např. delší podávání
fyziologického
roztoku)

Kombinovaná porucha ABR



zdánlivě normální stav

hlad



ketoacidoza → ↑ [RA]

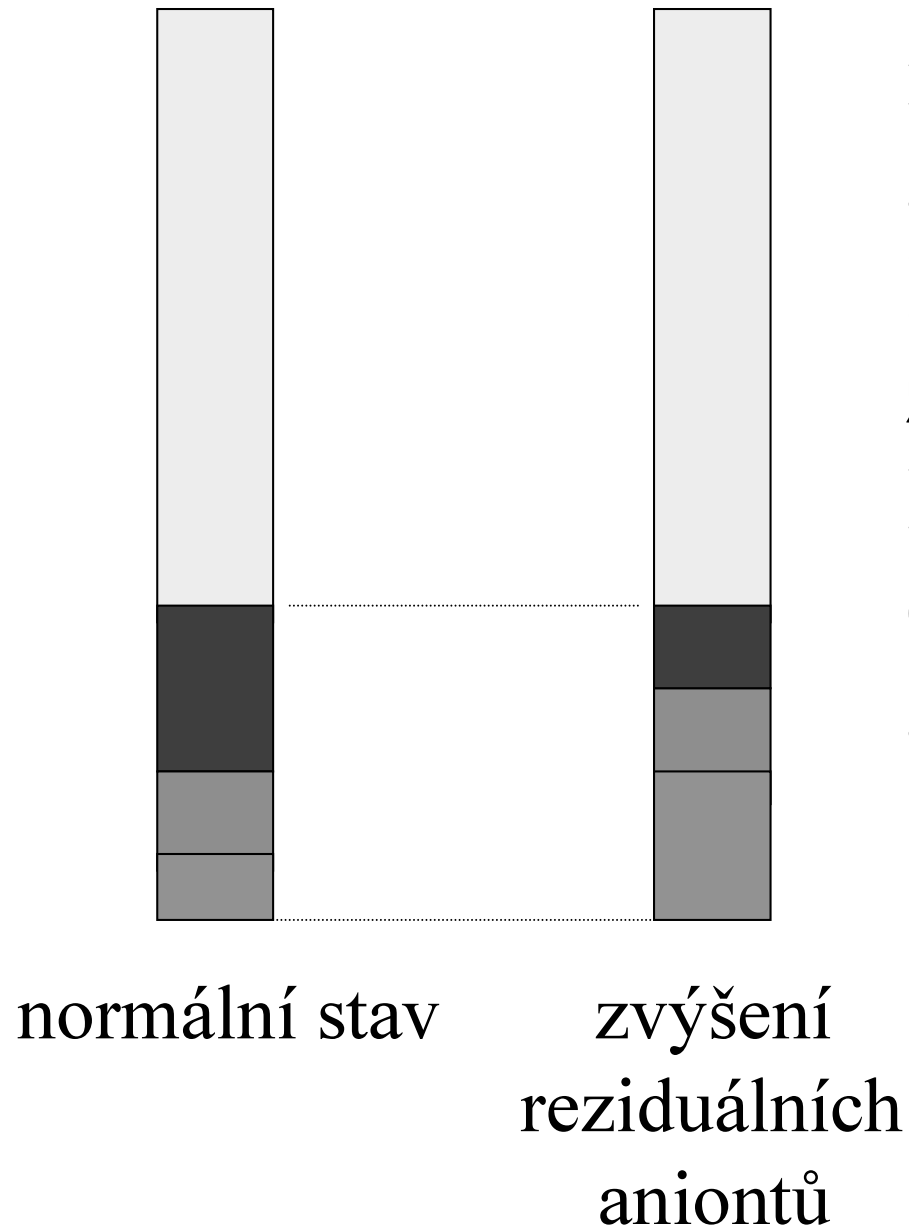
zvracení



hypochloremická
MAIk

↑ [RA] ^omůže vyrovnat ↓ [Cl⁻]

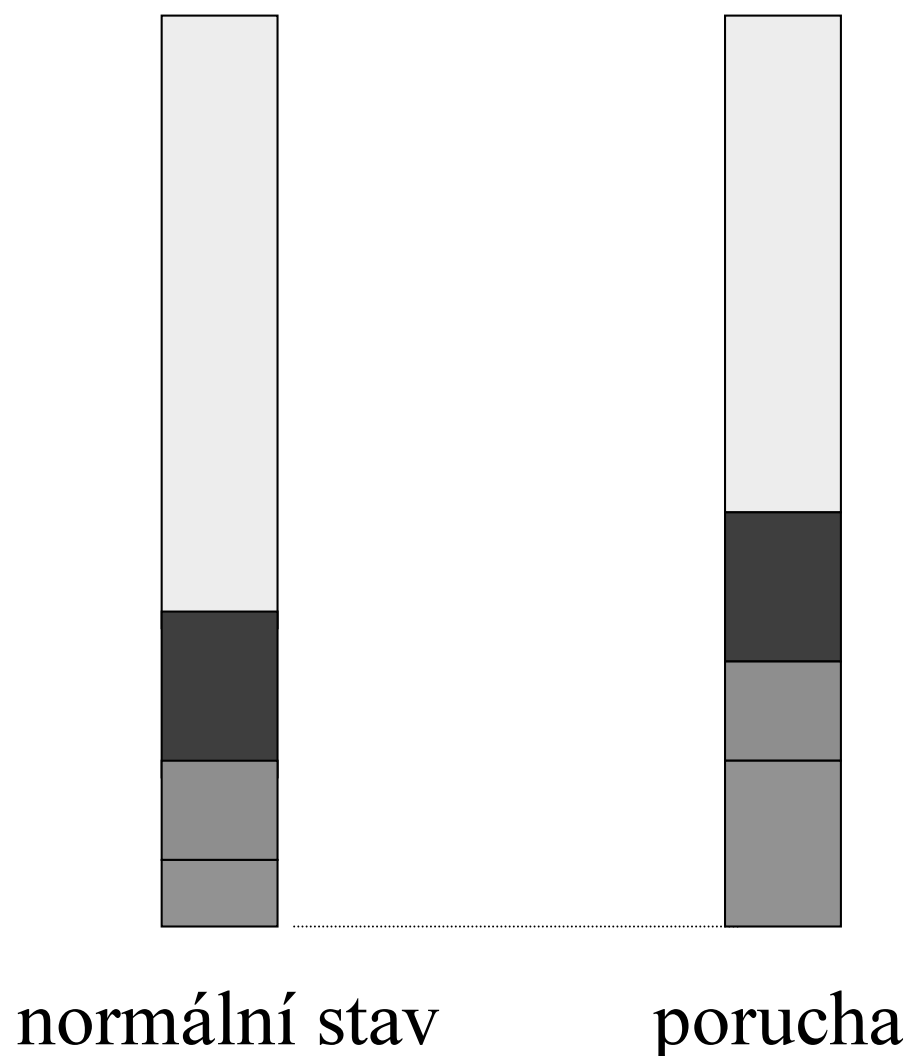
Normochloremická acidóza:



**nadbytek reziduálních
aniontů (zeleně)
kompenzován snížením
zásaditých
hydrogenuhlíčanů
(modře), ostatní
anionty nezměněny**

**(z reziduálních aniontů např.
zvýšení laktátu nebo ketolátek
= acetoacetát, hydroxybutyrát)**

Kombinovaná porucha (MAk + MAc):



**úbytek chloridů (žlutě)
může být kompenzován
odpovídajícím zvýšením
reziduálních aniontů
(zeleně), ostatní anionty
nezměněny → normální
parametry ABR ;
(jindy jedna z poruch
převládá ...)**

**(např. zvracení v těhotenství →
hypochloremická alkalóza + hladová
ketoacidóza)**

Parametry ABR a ionty

Stanovení parametrů ABR zpravidla vždy doplňujeme stanovením koncentrace iontů:

[Na⁺] (~ 140 mmol . l⁻¹)

[K⁺] (~ 4,4 mmol . l⁻¹)

[Cl⁻] (~ 100 mmol . l⁻¹)

Odchylka chloridů od normy má základní význam pro rozpoznání typu kombinované poruchy ABR.

