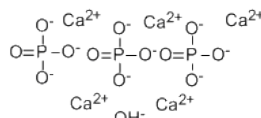


Kapitola 11 Vápník, hořčík a fosfor

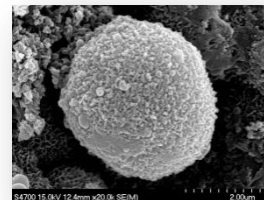
11.1. Vápník

V organismu je asi 1200 g tj. asi 30 molů vápníku (1 kg = 24,95 molů), z toho asi 99% v kostech, zejména ve formě extracelulárních krystalů strukturou se blížících hydroxylapatitu. Je to pátý nejčastěji se vyskytující kation v těle. Vápník se nachází ve třech hlavních tělesných prostorech (*compartments*): v kostech, měkkých tkáních (1%) a extracelulární tekutině, přičemž prakticky všechen je v plazmě.

Hydroxylapatit (též *hydroxyapatit*), minerál o sumárním vzorci $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})]$, resp. $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, aby se naznačilo, že krystalová jednotka obsahuje dvě molekuly.



Vzorec molekuly hydroxylapatitu



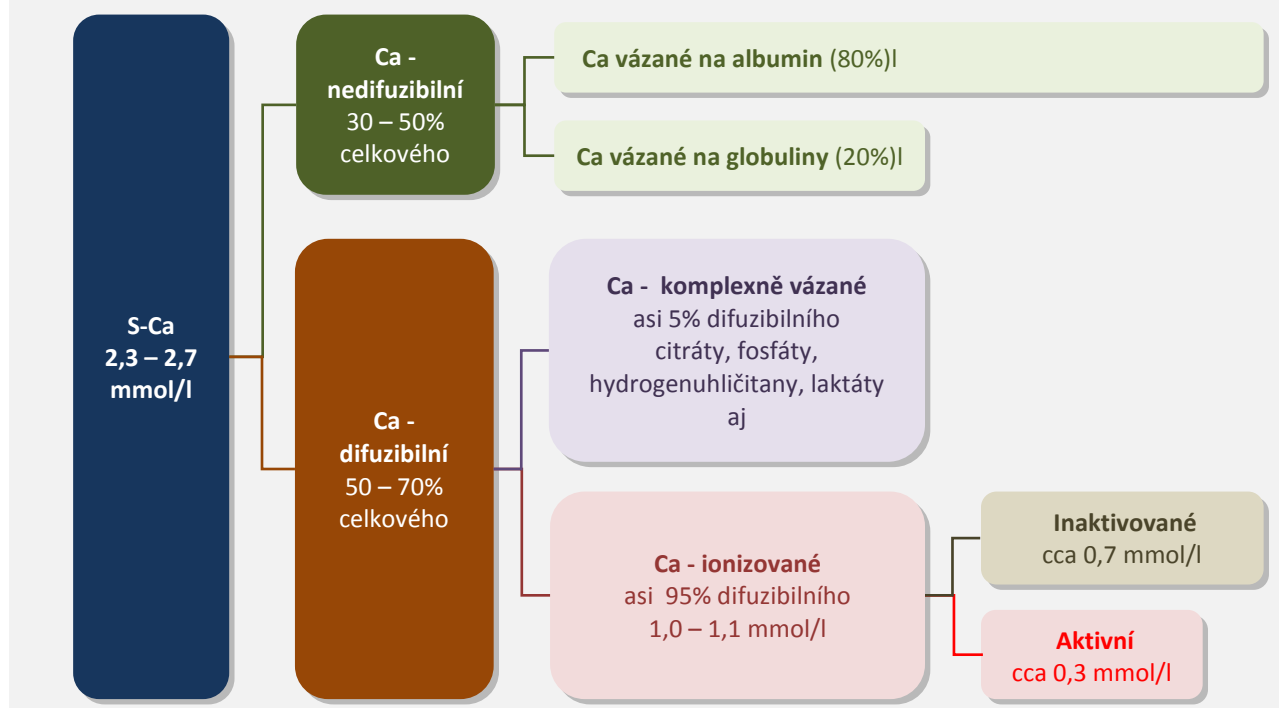
Hydroxy(l)apatit, detail

11.1.1. Úloha vápníku v organismu

Intracelulárně se vápník vyskytuje nepatrně, v koncentraci přibližně 10^{-6} až 10^{-7} mol/l, tedy až desetisíckrát menší, než jaká je v extracelulární tekutině. V buňce plní četné fyziologické funkce, jako jsou podpora aktivity enzymů, regulace aktivity enzymů (prostřednictvím kalcium-dependentního proteinu *calmodulinu*), membránový přenos, iniciace svalové kontrakce, neuromuskulární dráždivost., sekrece hormonů, metabolismus glykogenu a buněčné dělení. Celkem 90 – 99% intracelulárního kalcia se nachází v mitochondriích a endoplazmatickém retikulu. Nízká koncentrace kalcia v cytozolu je udržována transportními mechanismy v plazmatické, mitochondriální a mikrosomální membráně. Tyto procesy hrají důležitou roli v biologické aktivitě ionizovaného kalcia. Do extracelulárního prostoru vytlačuje kalcium kalciová pumpa.

Vápník je **extracelulární** ion. Má důležitou roli ve výstavbě kostí, při srážení krve, udržování normální dráždivosti srdce, svalů a nervů, udržování selektivní propustnosti membrán a jejich stabilizace.

Přehled forem vápníku



V séru se nachází v konstantním množství 2,3 – 2,7 mmol Ca/l (jiné zdroje uvádějí např. 2,15 – 2,57 mmol Ca/l, záleží i na metodě stanovení), a to ve dvou základních formách:

- **Ca nedifuzibilní** (nefiltrabilní) - vázané na bílkoviny, především na albumin a částečně na globuliny (A:G = 4:1), vazba je závislá na pH; nedifuzibilní vápník tvoří cca 30 – 50% celkového množství v séru.
- **Ca difuzibilní** (filtrabilní), které je dále **ionizované** a **komplexně vázané**; představuje cca 50 – 70% celkového množství v séru, tj. 1,2 – 1,4 mmol/l

- **Ionizované Ca** (též volné, anglicky *free*) (1,0 – 1,1 mmol/l) je jednak *aktivní* (cca 0,3 mmol/l), jednak *inaktivované* (cca 0,7 mmol/l); ionizované kalcium tvoří zhruba 95% difuzibilního kalcia a je vlastní biologicky aktivní formou.
- **Komplexně vázaný vápník** (cca 5% difuzibilního kalcia) je tvořen citráty, fosfáty, bikarbonáty a jinými vápenatými solemi kyselin (Extracelulární vápník udržuje vápník intracelulární).

Hladina v séru závisí přímo úměrně na hladině bílkovin (pokles plazmatického albuminu o 10 g/l způsobí pokles celkového plazmatického vápníku o přibližně 10 mg/l, tj. o 0,25 mmol/l), nepřímo úměrně na hladině fosfátů a pH a na rovnováze mezi modulatory hladiny vápníku (viz následující *Regulace hladiny v krvi*).

Regulace hladiny v krvi:

- parathyrin neboli parathormon (PTH), produkt *příštítných tělísek*, zvyšuje sníženou hladinu kalcia v plazmě (snižuje vylučování Ca^{2+}); syntéza PTH reaguje na koncentraci Ca^{2+} , tzn., že hypokalcémie vede k vyšší syntéze a výdeji PTH ;
- kalcitonin čili tyreokalcitonin (CT), produkt *parafolikulárních* čili *C-buněk* štítné žlázy, snižuje zvýšenou koncentraci kalcia v krvi (podporuje vylučování Ca^{2+});
- kalcitriol (*1,25-dihydroxycholekalCIFerol*), vitamín zvaný také *D-hormon*, omezuje vstřebávání kalcia ze střeva a přímo reguluje hladinu ionizovaného kalcia v plazmě;
- PTHrP (*parathormon related protein [či peptid]*) působí podobně jako PTH (tumory produkující PTHrP mohou způsobovat hyperkalcémii). (Podrobnější schéma [viz](#) v kapitole 14).

11.1.2. Klinické poznámky

Hladina vápníku se mění s věkem, závisí na pohlaví, ročním období a mění se i během těhotenství (kdy hladina celkového vápníku v séru klesá souběžně s hladinou albuminu, zatímco hladina volného kalcia se nemění). U novorozenců klesá hladina vápníku prvních několik dní po porodu, pak ale rychle stoupá a dosahuje hladin poněkud vyšších než jsou hladiny nalézané u dospělých.

Ne vždy vzájemně korelují naměřené hladiny celkového a volného vápníku. V některých případech je výhodnější stanovit spíše vápník volný než celkový (např. u hyperkalcémie, u chirurgických pacientů, u hyperkalcémie spojované s maligním procesem, u novorozenců aj.). Celkový vápník bude odpovídat ionizovanému tehdy, nebude-li změněna hladina celkové bílkoviny a v nepřítomnosti dysproteinemie.

Pro zvědavé studenty:

Stanovení ionizovaného kalcia by se měla dát přednost před stanovení celkového vápníku

- u těhotných žen a novorozenců
- při masivních transfuzích krví s obsahem citrátu či čerstvé zmražené plazmy
- u dysproteinemií, tj. při ztrátách bílkovin ledvinami, malabsorpčního syndromu, mnohočetného myelomu, chronických aktivních zánětlivých onemocnění, pooperačních stavů, pacientů vyžadujících intenzivní péči
- u koncových stadií renálních onemocnění způsobenými změnami v pH či ztrátami proteinů
- u maligní hyperkalcemie zejména v přítomnosti normálního iPTH
- u symptomů hyperparatyroidismu.

Stanovení ionizovaného kalcia má ovšem význam pouze tehdy, není-li distribuce frakcí plazmatického kalcia ovlivněna změnami v pH.

↑ Hyperkalcémie:

Příčina:

- maligní nádory,
- primární a sekundární hyperparathyreoidismus (hyperkalcémie indukovaná parathormonem),
- zvýšená koncentrace 1,25-dihydroxyvitaminu D,
- imobilizace,
- příjem thiazidových diuretik.
- Existuje i *familiární hypokalciurická hyperkalcémie* (snížené vylučování kalcia močí).

Projevy: zvýšení svalové kontraktility, snížení nervové dráždivosti; při hodnotách >3,5 mmol/l se objevuje metabolická encefalopatie a gastrointestinální symptomy, změny na EKG a kardiovaskulární příznaky. Při kalcémii >4 mmol/l se mohou vyskytovat arytmie se zástavou srdce v systole, což jsou projevy s možnými fatálními důsledky pro pacienta .

↓ Hypokalcémie:

Příčina:

- nejčastější příčinou je hypoalbuminémie (zde je třeba si uvědomit, že u tohoto typu hypokalcémie nedochází ke snížení *biologicky aktivní volné frakce* kalcia, takže níže popsané projevy se jí netýkají);
- hypoparathyreoidismus (dochází k redukci funkcí stimulovaných parathormonem – např. střevní absorpce kalcia, uvolňování kalcia z kostí, reabsorpce kalcia v ledvinných tubulech),
- pseudoparathyreoidismus (koncový orgán nereaguje na působení parathormonu),
- renální selhání,
- nedostatek vitamínu D a defekty v jeho metabolismu,
- malabsorpční syndrom (snížená absorpce vápníku ze střeva),
- akutní pankreatitida.

Projevy: až hypokalcemická tetanie

Z praktického hlediska je důležité vědět, že laboratoř má pro rozhodující analyty povinnost hlásit lékaři tzv. *kritické hodnoty*, což umožní okamžitou lékařskou reakci a zásah. Kritické hodnoty (pro dospělé) pro sérový vápník (S-Ca), jsou $\leq 1,75$ mmol Ca/l a $\geq 3,0$ mmol Ca/l. Pro děti se tyto hodnoty mohou lišit.

Poznámka pro zvidané studenty: rovněž vzrůst pH vede k tetanii; při alkalizaci se proteiny více ionizují, přibývá více (záporných) vazebných míst pro ionizovaný vápník, dochází tedy k úbytku ionizovaného kalcia v séru na úkor kalcia nedifuzibilního, tj. vázaného na proteiny.

Praktická poznámka: při fotometrickém stanovení hladiny kalcia v moči je nutno celý obsah sbírané moči okyselit a promíchat, aby se rozpustily případné krystaly vápenatých solí.

Exkrece vápníku močí

Stanovení v moči se indikuje v případech bolesti kostí, urolithiasy (močové kameny), u známek renálního selhání, při dlouhodobé léčbě kortisonem, u chronických průjmů, při zvýšeném vylučování tuků stolicí a pro rozlišení mezi familiární hypokalciurickou hyperkalcémií a primárním hyperparathyroidismem.

Snížená exkrece kalcia do moči

Hodnotí se s ohledem na jeho příjem. Snížení exkrece kalcia do moči může být způsobeno např. osteomalácií, jejíž příčinou je nedostatek vitamínu D. U hyperkalcémie se měří 24 hodinová exkrece kalcia do moči, aby se zjistila případná přítomnost skryté familiární hypokalciurické hyperkalcémie (viz výš).

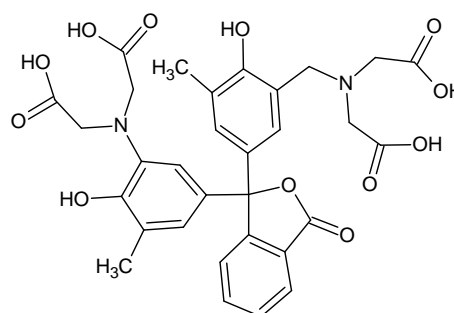
11.1.3. Metody stanovení

1. *Iontově selektivní elektroda (ISE)* pro stanovení ionizovaného kalcia (Ca^{2+}), které stanovuje jako jediná metoda (ostatní metody stanovují celkové kalcium)
2. *Atomová absorpční spektrometrie*, referenční metoda; je podstatně vhodnější než plamenová fotometrie
3. *Plamenová fotometrie* (při 622 nm), v moči interferují ionty Na^+ (589 nm), proto je nutno znát jeho hladinu; v moči vadí i fosfáty (situaci řeší přidavek komplexonu, dojde k hoření v plameni). Plamenová fotometrie je pro stanovení kalcia metodou sice možnou, ale ne příliš vhodnou.
4. *Fotometrie*. Různé komplexotvorné látky jako *o-kresolftaleinkomplexon*, *Arsenazo III* a další, tzv. *metalochromní indikátory* či *metalochromní barviva*, vytvářejí s vápníkem barevné komplexy vhodné k fotometrii; v současnosti našly tyto metody své uplatnění zejména v automatických analyzátoch (viz dále v textu).
5. *Chelatometrické titrace*. Některé aminopolykarbonové kyseliny (např. kyselina etylendiamintetraoctová, EDTA, resp. její dvojsodná sůl, tzv. Chelaton III) tvoří s kationty rozpustné, málo disociované komplexy, stálejší než komplexy s metalochromními indikátory, čehož se využívá k titracím. K připravenému vzorku se nejprve přidá metalochromní indikátor, se kterým vápník ze vzorku vytvoří barevný komplex. Pak se titruje chelatonem. Při titraci vytěsňuje chelaton z barevného komplexu indikátor (tvoří se stálejší komplex s chelatonem) a v bodě ekvivalence dojde k barevné změně.

Metalochromní barviva a indikátory pro Ca (Mg)

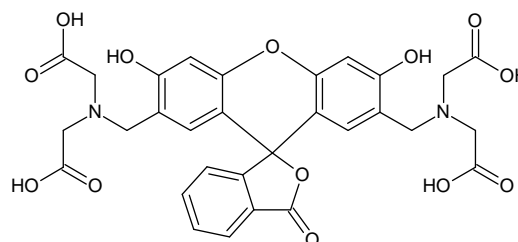
(Látky vážající vápník za tvorby zbarvení, případně za vzniku fluorescence)

O-kresolftaleinkomplexon (CPC): 3', 3'' - bis[[bis-(karboxymetyl) amino]-metyl] - 5', 5'' - di-metylfenolftalein
Dává v alkalickém prostředí s kalcíem červené zbarvení, 570 – 580 nm, nelineární závislost, vliv teploty (!), poměrně nestálé činidlo ve styku se vzduchem (nutnost časté kalibrace)



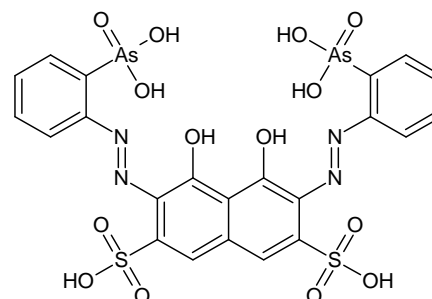
o-Kresolftaleinkomplexon (CPC)

Calcein: bis[N,N-bis(karboxymetyl)aminometyl]fluorescein
Užívá se jako indikátor při komplexometrických titracích: komplex calceinu s vápníkem absorbuje světlo vlnové délky 490 nm a emituje světlo vlnové délky 520 nm, čili dochází k fluorescenci. Fluorescence je zrušena titrací EDTA nebo EGTA.



Calcein

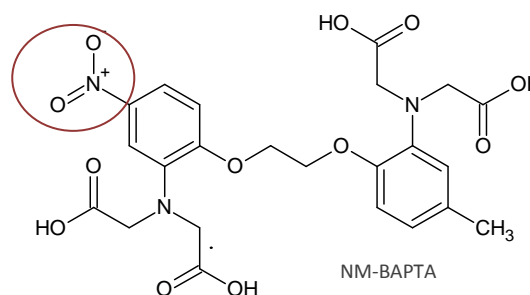
Arsenazo III: kyselina 1,8-dihydroxynaftalen-3,6-disulfonová-2,7-bis[azo-2]-fenyl-arzonová; pH cca 6 (nutno pufování); činidlo má samo o sobě vysoký „blank“, tzn., že je intenzivně zbarvené, je ale stálé (na rozdíl od CPC) a na dobrém fotometru dává metoda s tímto činidlem dobré výsledky; určitou nevýhodou je, že činidlo patří mezi jedy. S vápníkem tvoří barevný komplex, který je možno fotometrovat při 660 nm.



Arsenazo III

NM-BAPTA (5-Nitro-5'-Methyl-BAPTA), moderní činidlo pro stanovení kalcia (v alkalickém prostředí) na automatických analyzátoch, patent fy Roche.

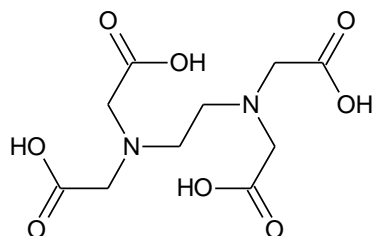
BAPTA = 1,2-bis(o-aminofenoxy)ethan-N,N,N',N'-tetraoctová kyselina; specifická pro kalcium; mohou se vázat i hořečnaté a zinečnaté ionty.



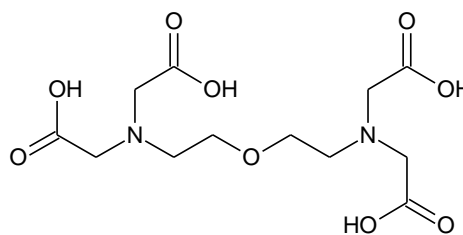
NM-BAPTA

Komplexotvorné látky pro vápník a hořčík

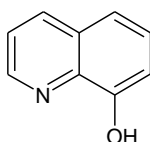
(titrační činidla pro komplexometrii = chelatometrii)



EDTA (kyselina etylendiamintetraoctová) – pro Ca i Mg



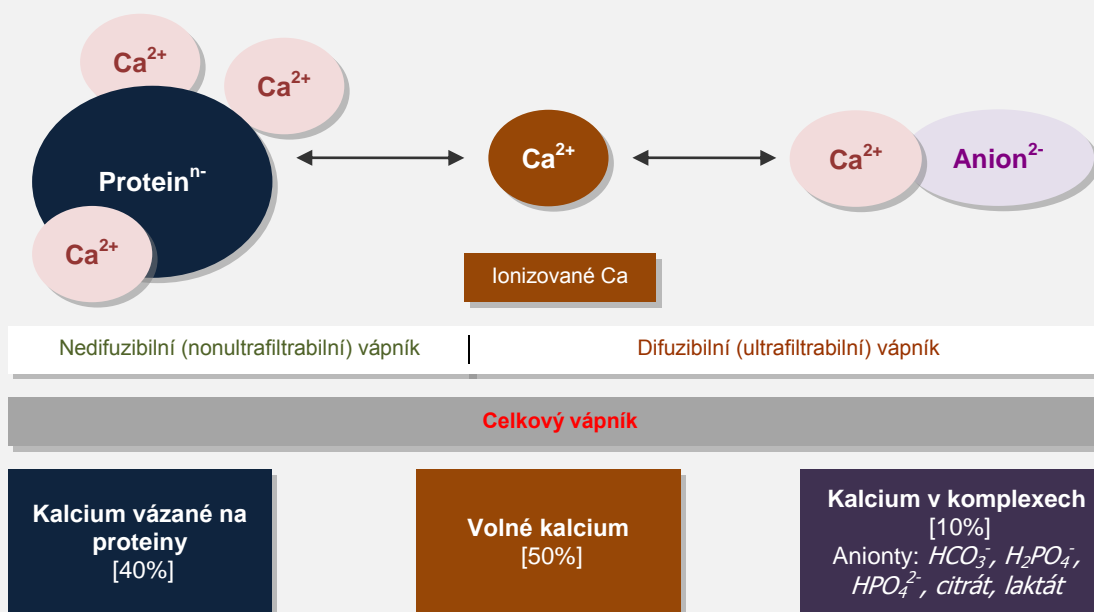
EGTA (kyselina etylenglykoltetraoctová) – pro Ca



8-hydroxychinolin - pro Mg; při stanovení vápníku slouží jako maskovací činidlo

Jiný pohled na formy vápníku

Fyziologický stav (Ca 2,15 – 2,57 mmol/l, tj. 86 – 103 mg/l)



Podle Kolektiv autorů, Tietz textbook of Clinical Chemistry

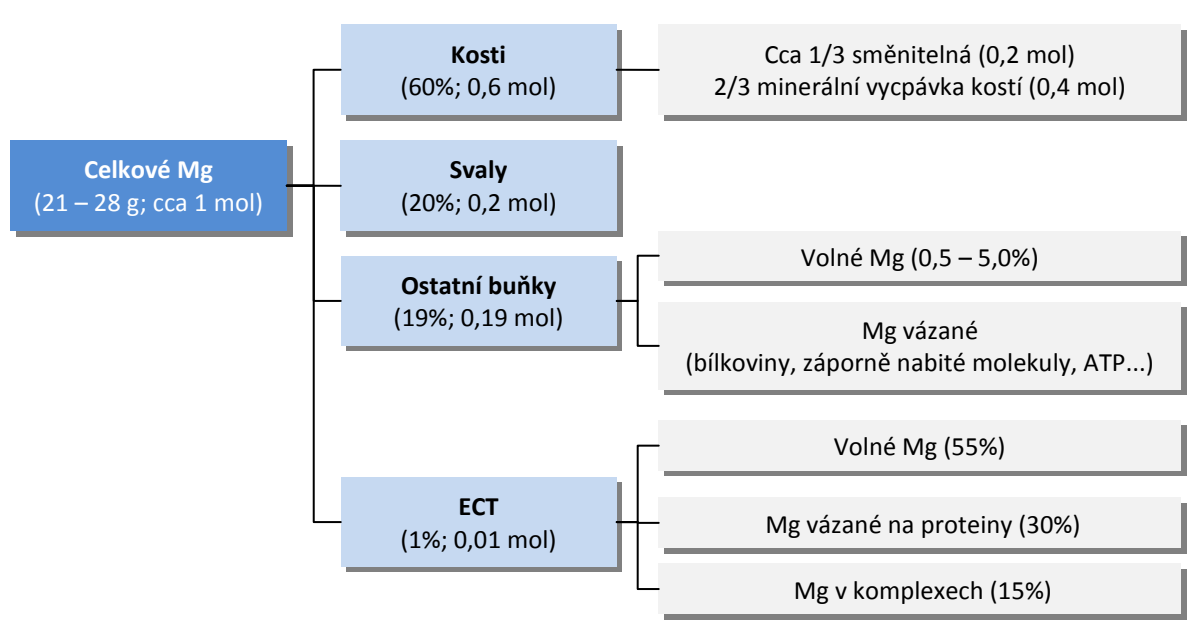
11.2. Hořčík

Hořčík, přesněji řečeno hořečnatý kation, zaujímá čtvrté místo v pořadí iontů obsažených v lidském organismu a seřazených podle vyskytujícího se množství. Z tohoto hlediska se jedná o druhý *intracelulární* kation. Tělo průměrného dospělého jedince (cca 70 kg) obsahuje 21 – 28 g magnesia, tj. cca jeden mol. Zhruba 60% z celkového množství je v kostech, 20% v kosterním svalstvu, 19% v ostatních buňkách a asi 1% v extracelulární tekutině (ECT). Přibližně 1/3 kosterního Mg je směnitelná – pravděpodobně zásobárna pro ECT. Zbylé 2/3 se nacházejí v minerální vycpávce kostry. Asi 39% z celkového množství hořčíku přítomného v těle je uvnitř buněk. V buňce se nacházejí asi 1 – 3 mmol Mg/l, záleží na metabolismu buňky. Mezi množstvím magnesia v buňce a metabolismem buňky existuje přímá závislost. Z gastrointestinálního traktu se běžně vstřebává kolem 20 – 30% přijatého magnesia. Záleží na potřebě organismu i na přítomnosti dalších látek přijatých s potravou (fosfátech, proteinech, vápníku, apod.). Vylučuje se převážně ledvinami, které mají schopnost regulovat množství vylučovaného hořčíku

Rozdělení magnesia v buňce: Většina hořčíku (tj. Mg^{2+}) v buňce je navázána na proteiny a záporně nabitě molekuly, cytosolický hořčík je navázán z 80% na ATP. Významná množství hořčíku se nacházejí v jádře, mitochondriích a v endoplasmatickém retikulu. Z celkového množství v buňce je asi 0,5 – 5% Mg volného a tato frakce je pravděpodobně důležitá pro podporu enzymové aktivity.

V séru se nachází přibližně 0,70 – 0,99 mmol hořčíku/l. Asi 55% je volných (*free*), 30% je navázáno na proteiny (především na albumin) a cca 15% je v komplexech s fosfáty, citráty a jinými anionty. Zásoby v ETC poskytují zdroj Mg pro ITC. V erythrocytech je asi 3x více magnesia jak v séru (! *hemolýza!*).

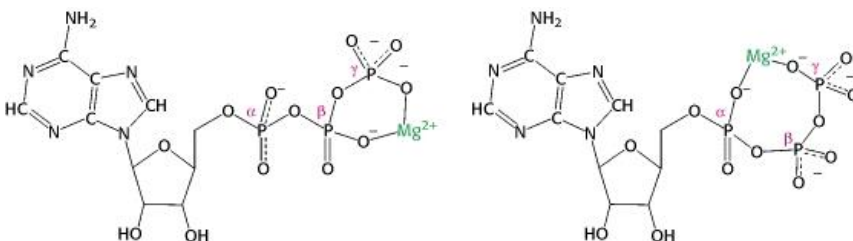
Přehled rozdělení hořčíku v organismu



11.2.1. Úloha magnesia v organismu

Mnohé úlohy magnesia v organismu jsou dány skutečností, že magnesium v biologických systémech

- soutěží s vápníkem o vazebná místa na proteinech a membránách
- může tvořit cheláty (komplexy) s důležitými vnitrobuněčnými anionickými ligandy (tj. látkami, které jsou této vazby schopny), zvláště s adenosintrifosfátem (ATP).



Dvě izomerní formy komplexu ATP- Mg^{2+} .

Hořčík vytváří pnutí ve vazbách fosfátového řetězce a zvyšuje tak vazebnou energii. ATP má vlastnosti makroergické sloučeniny.

Intracelulární hořčík katalyzuje nebo aktivuje (allosterický aktivátor) více než 300 enzymů v těle (jedná se zejména o enzymy mající účast v buněčném dýchání, glykolýze a v přenosech dalších kationtů, jako jsou vápník a sodík, přes membrány a samozřejmě mnoha dalších). Hořčík významně ovlivňuje propustnost a elektrické vlastnosti membrán, rovněž ovlivňuje metabolismus vápníku. Hořčík je také důležitý při syntéze bílkovin. Jeho přítomnost vyžadují některé regulační proteiny, jinak jsou neaktivní. Hořčík je důležitý i při buněčném dělení, v metabolismu nukleotidů a syntéze proteinů.

Extracelulární hořčík slouží jako zdroj intracelulárního. Stabilizuje nervové axony, ovlivňuje uvolňování tzv. neurotransmiterů (nervových přenašečů) v neuromuskulárních spojích. Snížení sérové hladiny magnesia vede ke zvýšené neuromuskulární vzrušivosti. Hořčík zastává nezastupitelnou roli v hemokoagulaci. Účastní se na řízení koncentrační schopnosti ledvin.

Regulace hladiny magnesia v krvi:

Ačkoliv plazmatická koncentrace magnesia je udržována v úzkých mezích, nejsou přesné fyziologické mechanismy této regulace plně pochopeny. Z dosavadních poznatků vyplývá, že regulace absorpce hořčíku se účastní parathormon, úloha vitamínu D je sporná. V homeostáze hořčíku a udržení jeho hladiny v plazmě hrají významnou roli ledviny. Za normálních podmínek, kdy 80% plazmatického hořčíku je filtrovatelných, je denně filtrováno 84 mmol hořčíku, 95% z toho je reabsorbováno a pouze 3 – 5 mmol přechází do moči. Reabsorpce hořčíku závisí ve značné míře, na reabsorpci chloridu sodného. Z dalších faktorů, které ovlivňují tubulární reabsorpci hořčíku, jsou to hormony PTH, kalcitonin, adiuřetin, glukagon a inzulin, hladina vápníku v plazmě (hyperkalcémie), nedostatek fosfátů (fosfátová deplece), rychlost glomerulární filtrace aj. (viz též kapitola 14 *Hormony*).

Referenční hodnoty pro S-Mg: 0,70 – 0,99 mmol/l

Referenční hodnoty se zvyšují s věkem.

Kritické hodnoty pro hořčík jsou $\leq 0,6$ mmol Mg/l a $\geq 1,5$ mmol Mg/l.

11.2.2. Klinické poznámky

↑ **Hypermagnesémie:**

Intoxikace magnéziem není častým jevem, i když středně zvýšené hodnoty sérového magnesia jsou pozorovatelné u zhruba 12% hospitalizovaných pacientů.

- Symptomatická hypermagnesémie je téměř vždy způsobena *excesivním příjmem či aplikací magnesiových solí*. Většina těchto pacientů má jako průvodní jev *renální selhání*, tudíž omezenou schopnost vylučování magnesia ledvinami. Známou příčinou je podávání antacid (léky proti překyselení žaludku), nálevů a infuzí.
- Příčinou intoxikace magnéziem u rodiček a jejich novorozenců může být *magnesiová terapie hypertense* indukované těhotenstvím (preeklampsie a eklampsie).

Preeklampsie: závažné multisystémové onemocnění, při kterém dochází k poškození ledvin, jater, mozku, plic, placenty, krvetvorného systému a cév. Objevuje se u lidské gravidity v šestinedělí. Je to onemocnění placenty, podílí se na zvýšení mateřské a perinatální (období 10 dnů po porodu) mortality (úmrtnosti) i morbidity (nemocnosti). Je to těhotenstvím podmíněná hypertenze s proteinurií a případně s edémy po 20. týdnu gravidity. Některé preeklampsie přecházejí v *eklampsi*.

Eklampsie: nemoc typická záchvatem křečí, který může skončit i kómatem. Vyskytuje se výhradně v těhotenství u přibližně 7% těhotných žen. Závažný a nebezpečný stav pro matku i pro plod. Preeklampsie obvykle předchází eklampsi, ale nutně tomu tak být nemusí.

- Dalšími příčinami mohou být *familiární hypokalcierická hyperkalcemie* a další.

Projevy: nejznámějšími projevy hypermagnesémie jsou neuromuskulární symptomy.

- Mezi nejčasnější signály patří vymizení šlachových reflexů (hyporeflexe), což nastává při koncentraci sérového magnézia v rozmezí cca 2,1 – 3,7 mmol/l.
- Při koncentracích 4,1 – 4,9 mmol/l může dojít k potlačení dýchání (respirační deprese) až k zástavě dechu díky paralýze dýchacích svalů.
- Vyšší koncentrace mohou být kardiotoxické a mohou vyústit v srdeční zástavu.
- Lze se setkat i s dalšími symptomy, jako jsou somnolence, hypotenze, nevolnost, zvracení a zarudnutí kůže.
- Hypermagnesémie vede k poklesu sérové koncentrace kalcia. Má se za to, že důvodem je pokles sekrece parathormonu (vysoké sérové koncentrace magnesia snižují sekreci PTH) a poškození orgánů na které PTH v konečné fázi působí.

↓ Hypomagnesémie:

Deficit magnesia je poměrně obvyklý, vyskytuje se u zhruba 10% pacientů a kolem 65% u pacientů v intenzivní péči. Příčinami mírných či vážných deficitů hořčíku jsou

- ztráty gastrointestinálním traktem
 - zvracení
 - ztráty z dolních partií střeva (obvyklejší cesta); nedostatek magnesia tak často komplikuje *akutní průjemové stavy, Crohnovu chorobu a ulcerativní kolitidu*
- ztráty ledvinami, porucha resorpce, onemocnění ledvin
- malabsorpce; karence v potravě, dieta chudá na proteiny a kalorie
- akutní pankreatitida; chronický alkoholismus
- excesivní laktace druhý a třetí semestr těhotenství
- onemocnění štítné žlázy (hypoparathyreoidismus)
- některá antibiotika.
- Ke ztrátám magnesia ledvinami vedou i vzrůstající exkrece sodíku a kalcia (hyperkalcemické stavy)

Projevy: Deficit magnesia je obvykle druhotným jevem jiného chorobného stavu či léčby, takže příznaky primární choroby mohou komplikovat či maskovat hypomagnesémii. Nedostatek Mg působí na celou řadu orgánů. Dochází k tonickým stahům vyvolávajících až tetanické křeče, je ovlivněna vodivost nervových vzruchů, dochází k srdeční arytmii.

- Jedním z častých projevů je zvýšená neuromuskulární dráždivost, ale dá se počítat se širokým spektrem neuromuskulárních problémů, mezi které patří
- latentní tetanie, tetanie a (epileptický) záchvat.
- Jedna z nejvážnějších komplikací hypomagnesémie je její vliv na kardiovaskulární systém (tachykardie, fibrilace).
- Mnohé z těchto projevů je způsobeno hypokalémií. Nedostatek magnézia vyúsťuje do markantního vyplavení kalia z buněk a následných ztrát ledvinami. Hypokalémie je tudíž obvyklým rysem hypomagnesémie.

Projevy deficitu magnesia připomínají symptomy hypokalcemie, k porušení homeostáze magnézia a kalcia dochází často společně. Proto se doporučuje při klinickém hodnocení brát v úvahu hladiny obou kationtů.

Význam stanovení sérového magnesia pro hypomagnesémii:

Sérový hořčík (S-Mg) představuje asi 1% celkového tělesného magnesia. Ačkoliv je tento parametr obecně používán k hodnocení stavu hypomagnesémie, nemusí jeho hodnoty odpovídat skutečným koncentracím hořčíku v buňkách, tedy skutečnému nedostatku draslíku. Lékař musí brát v potaz i jiné signály poukazující na možnou přítomnost deplece hořčíku, jako je již zmiňovaná hypokalcemie, hypokalemie či zvýšená neuromuskulární dráždivost a srdeční arytmie.

Magnesium v moči

Hladina sérového hořčíku je pro zhodnocení zásob magnesia pouze omezeně užitečným parametrem, protože zásoby hořčíku jsou lokalizovány zejména uvnitř buněk, intracelulárně a hodnoty sérového magnesia s nimi nekorelují. Opakovaně snížené hodnoty sérového hořčíku však silně svědčí pro skrytou hořčíkovou deficienci. V kritických případech je užitečné stanovení exkrece hořčíku ve sbírané moči (24 h).

11.2.3. Metody stanovení hořčíku

1. *Atomová absorpční spektrometrie*, referenční metoda; vzorek se ředí (50x) roztokem s obsahem lanthanu a HCl pro eliminaci aniontů; absorbuje se záření o vlnové délce 285,2 nm
2. *Komplexometrické titrace*, s Chelatonem III, indikátorem může být např. Eriochromová čerň T (srovnej se stanovením vápníku)
3. *Plamenová fotometrie*, magnesium vysílá čáru 285,2 nm, ovšem za teplot používaných u plamenové fotometrie emituje velmi slabě; dochází navíc k četným interferencím se sodíkem, draslíkem a fosforečnany; metoda není vhodná pro stanovení v moči, ani pro stanovení v séru se nedoporučuje
4. *Fotometrie* – podobně jako u vápníku se využívá selektivní vazby hořčíku s některými metalochromními indikátory či barvivy.

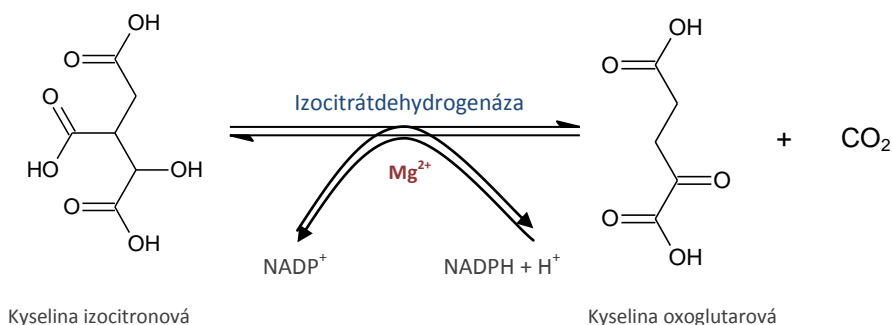
Mezi nejužívanější patří:

- *Xylidylová modř* (MAGON) (1-azo-2-hydroxy-3-[2,4-dimethylkarboxanilido]-naftalene-1'-[2-hydroxybenzen]) dává s hořčíkem v alkalickém prostředí červeně zbarvený komplex měřitelný v oblasti okolo 600 nm; přidávají se látky bránící interferenci vápníku a proteinů
Souprava BLT: Magnesium 280
- *Calmagit* (kyselina 1-[1-hydroxy-4-metyl-2-fenylazo]-2-naftol-4-sulfonová): s hořčíkem tvoří v alkalickém prostředí barevné komplexy fotometrovatelné při 530 – 550 nm; přidávají se látky bránící interferenci vápníku, bílkovinám a lipidům
- *Magneson* – má obdobnou strukturu jako *Calmagit*, pouze místo metylové skupiny obsahuje chlorid (chlorované azobarvivo)
- *Metyltymolová modř* dává s hořčíkem modrý komplex; fotometrie při 600 nm; přidává se EGTA bránící interferenci vápníku
- *Arzenazo III* – viz stanovení vápníku; metoda je uspořádána tak, aby bylo zabráněno interferenci kalcia

5. **Enzymové stanovení** – při stanovení se využívá závislosti enzymového systému na iontech magnesia – např. je to systém *hexokináza/ATP/ADP/NADP/NADPH* (srovnej např. s enzymatickým stanovením natria a kalia, kapitola 10, str. 10-9).

Pro zvědavé studenty příklad moderní enzymové metody ABBOTT pro analyzátoři ARCHITECT:

Next Generation Magnesium (3P68-21, -31), stanovení optickým testem:

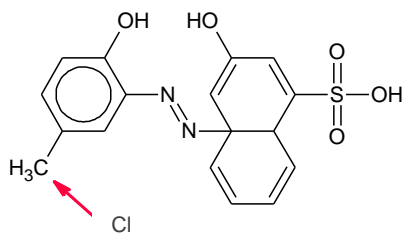


6. **ISE** – stanovení volného magnesia v krvi, plazmě nebo séru

Iontově-selektivní analyzátor Nova crt serie firmy Nova biomedical, dodavatel Tecom Analytical; např. typ 8 umožňuje stanovení Mg²⁺

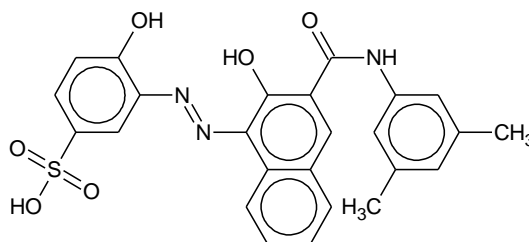


Chemické vzorce některých metalochromních indikátorů pro Mg



Calmagit

(je-li místo šipkou označené CH₃-skupiny atom Cl, jedná se o Magneson)



Xylidylová modř
(Magon)

11.3. Fosfor

Fosfor se v organismu vyskytuje ve formě anorganických a organických fosforečnanů. Tělo dospělého člověka obsahuje asi 600 g (19,4 molu) fosforečnanů vyjádřených jako (anorganický) fosfor (P_i). Zhruba 85% celkového množství je v kostře a zbytek je v měkkých tkáních.

Relativní rozdělení vápníku, hořčíku a fosforu v těle

Tkáň	Relativní rozdělení (%)		
	Vápník	Fosfor	Hořčík
Kostra	99	85	55
Měkké tkáně	1	15	45
ECT	< 0.2	< 0.1	1
Celkem (g/mol)	1000/25	600/19,4	25/1,0

11.3.1. Význam fosforu v těle

Fosfor v ECT (plazmě) udržuje hladinu v ICT (intracelulárního fosforu), poskytuje substrát pro mineralizaci kostí, je hlavní součástí hydroxylapatitu v kostech. Kosterní fosfor je zásobárnou fosforu.

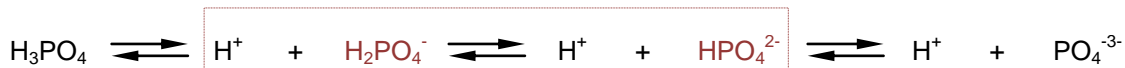
Většina fosfátů v měkkých tkáních se nachází *uvnitř buněk* (je *intracelulární*, je to hlavní intracelulární anion). Z drtivé většiny se jedná o organické fosfáty přítomné v nukleových kyselinách, fosfolipidech, fosfoproteinech a makroergických sloučeninách (ATP, GTP apod.). Hrají klíčovou roli v regulaci intermediárního metabolismu, proteinů, tuků, sacharidů, genové transkripce. Tyto fosfáty jsou rovněž důležité pro enzymové systémy (2,3-di-P-glycerát, adenylátcykláza, hydroláza vitamínu D aj.). Organické i anorganické fosfáty tvoří součást pufrčního systému krve.

Plazmatický/sérový fosfor: Zhruba 10% je vázáno na bílkovin, asi 35% je v komplexech s Na, Ca a Mg, zbývajících cca 55% představuje *volný (free) fosfor* (fosfáty).

Přehled forem (stavů) vápníku, fosforu a hořčíku v normální plazmě

Stav	Přibližný procentový obsah z celku		
	Ca	P	Mg
Volný (ionizovaný)	50	55	55
Vázaný na proteiny	40	10	30
V komplexech	10	35	15
Celkem (mg/l)	86 – 103	25 - 45	17 – 24
Celkem (mmol/l)	2,15 – 2,57	0,81 – 1,45	0,70 – 0,99

Kyselina (ortho)fosforečná může disociovat takto:



Při fyziologickém pH nemůže kyselina fosforečná existovat jako silná kyselina (H_3PO_4), ani jako silná báze (PO_4^{3-}), ale pouze ve formě mono- a dihydrofosforečnanů. Jejich poměr $[\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}]$ se mění podle pH: pro pH 7,4 je 1 : 4 (fyziologické podmínky); pro pH > 7,4 je 1 : 9 (alkalóza); pro pH < 7,4 je 1 : 1 (acidóza).

Referenční interval hodnot:

Plazma obsahuje přibližně 0,81 – 1,45 mmol/l (25 – 45 mg/l) anorganických fosfátů (fosforečnanů H_2PO_4^- a HPO_4^{2-}); tato část (frakce) se rutinně stanovuje při biochemických analýzách jako tzv. *anorganický fosfor P_i* . Koncentrace plazmatických fosfátů je odvislá od potravy a závisí též na sekreci hormonů, jako je parathormon (PTH). Odchyly mohou činit až 0,48 mmol/l (15 mg/l).

U dětí je hladina plazmatických fosfátů (rovněž vyjádřená jako anorganický fosfor) přibližně 1,29 – 2,26 mmol/l (40 – 70 mg/l). Existují podrobné tabulky s hodnotami P_i odstupňované podle věku ve dnech, měsících a létech. Hladina sérového fosforu je vyšší odpoledne a večer, doporučuje se ranní odběr.

Kritické hodnoty: <0,6 mmol/l a >3,0 mmol/l

11.3.2. Klinické poznámky

↑ Hyperfosfatémie:

Příčina: hojení zlomenin (těžké fraktury, období léčby), u dětí normálně v období růstu, snížení funkce příštítných tělísek, chronické poškození ledvin (chronická nefritida, tubulární insuficience), nedostatečná činnost nadledvinek (Addisonova choroba), akromegalie (hypofyzární gigantismus), hypervitaminosy vitamínem D (zvyšuje se resorpce ze stěva a resorpce v tubulech), diabetické ketoacidosisy a laktátacidosisy.

↓ Hypofosfatémie:

Příčina: jako následek léčby (diuretika, inzulin aj.), zvýšená funkce štítné žlázy a příštítných tělísek, tubulární defekt resorpce fosfátů, bakteriální sepse, akutní otrava alkoholem, fenyketonurie, familiární hypolipidémie, nedostatek vitamínu A, snížená funkce hypofýzy, hyperinsulinismus, rychle proliferující tumory vyžadující značné množství fosforu pro svůj metabolismus.

Při poklesu Ca^{2+} dojde k nárůstu P a opačně: [$\downarrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \uparrow \text{P}$]; [$\uparrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \downarrow \text{P}$].

Okénko do hematologie: Nedostatek fosfátů může vést ke snížení rychlosti produkce 2,3-DPG a s tím spojeným problémům s uvolňováním kyslíku z hemoglobinu (srovnej též s textem v kapitole 10, odst. 10.3., str. 10-34 a 10-35).

Fosfor v moči (U-P)

Pro zhodnocení stavu fosfátů v organismu často nestačí jejich stanovení v séru/plazmě, proto je potřeba stanovit fosfor i v moči. Fosfor v moči je z 95 – 100% anorganický fosfát. Vylučované množství kolísá s věkem, svalovou hmotou, funkcí ledvin, PTH (parathormon podporuje vylučování fosfátů, rovněž kalcitonin je mírně zvyšuje), stavem ABR, denní dobou, dietou, aj.

Nově popsané regulační molekuly se nazývají **fosfatoniny**, což je skupina proteinových hormonů, které snižují reabsorpci fosfátů v ledvinách. Jsou syntetizovány zejména v osteoblastech, ale jsou produkovány i mnoha dalšími tkáněmi i některými tumory s osteomalácií. Vyskytují se ve zvýšené koncentraci u onemocnění se zvýšeným vylučováním fosfátů.

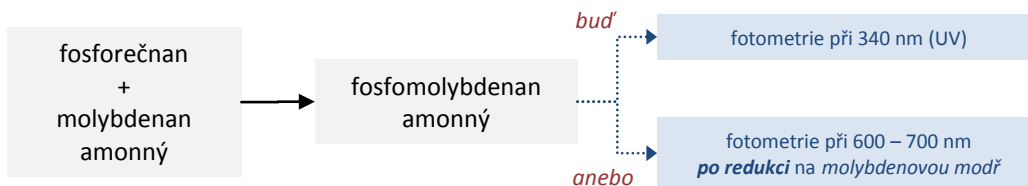
↑ **Zvýšený výdej fosfátů:** fyzická zátěž, zvýšený příjem v potravě, snížená funkce nadledvin, katabolismus, snížená koncentrace vápníku, acidosa, hyperparathyreosa.

↓ **Snížený výdej fosfátů:** nízký příjem bílkovin potravou, těhotenství, ledvinové choroby spojené s polyurií, podávání inzulinu, vápníku, vitamínu D.

Praktická poznámka: (sbíranou) moč určenou ke stanovení fosforu (a vápníku!) je nutno okyselit HCl a důkladně promíchat před odběrem vzorku (zabránění tvorby nerozpustných sraženin).

11.3.3. Metody stanovení fosforečnanů

1. Metody s molybdenanem amonným



Činidlem pro redukci může být např. N-fenyl-p-fenyldiamin, kyselina askorbová a mnoho jiných látek – každé z nich má své přednosti a zápory. Reakce je obecně závislá na pH (vyžaduje kyselé prostředí)

Dg souprava PLIVA-Lachema Diagnostika: Fosfor UV Liquid 250 (P UV L 1x250); molybdenan amonný tvoří s fosforem za přítomnosti kyseliny sírové sulfomolybdenanový komplex, vhodný pro fotometrické stanovení.

2. Metody s vanadičnanem amonným

Molybdát a vanadát tvoří s fosforečnanem v kyselém prostředí **žlutý** komplex. Metoda může dávat falešně vyšší výsledky (hydrolyza organických esterů).

Bývalá dg souprava PLIVA-Lachema Diagnostika: Fosfor (P 80); činidlem je vanadičnan amonný, výsledkem je žlutě zbarvená kyselina molybdátovanadátosulfomolybdenanová. Stanovení se provádí po předchozí deproteinaci kyselinou trichloroctovou, ve sraženině je možno stanovit i tzv. lipidní fosfor – přidá se kyselina chloristá a koncentrovaná kyselina dusičná a po zahřátí k mírnému varu se postupuje, jak je uvedeno výš.

3. Metody enzymové

Bylo popsáno mnoho metod využívajících

- enzymy s koenzymem NAD resp. NADP (tvorba redukované formy, optický test)
- enzymy produkující peroxid vodíku (využití Trinderovy nebo obdobné reakce)

11.4. Stručné shrnutí kapitoly

11.4.1. Vápník

- Vápník je pátým nejčastěji se vyskytujícím kationtem v těle. Nachází se v kostech, v měkkých tkáních a v extracelulární tekutině, prakticky všechen je v plazmě.
- Intracelulární vápník plní v buňce spoustu funkcí, kterými jsou zejména: aktivace a regulace (přes kalmodulin) činnosti enzymů, membránovém přenosu, iniciace svalové kontrakce, neuromuskulární dráždivost, sekrece hormonů, spoluúčast na metabolismu glykogenu a buněčném dělení.
- Vápník je extracelulární ion, do mimobuněčného prostoru je dopravován kalciovou pumpou. Úlohy extracelulárního vápníku jsou: výstavba kostí, účast při srážení krve, udržování normální dráždivosti srdce, svalů a nervů, udržování selektivní propustnosti membrán a jejich stabilizace.
- V séru se vápník se nachází navázan na bílkoviny, zejména na albumin, tzv. vápník nedifuzibilní a jako difuzibilní, tj. v komplexech (citráty, fosfáty, laktáty, bikarbonáty vápenaté aj.) a ionizovaný, tj. volný (aktivní a inaktivovaný).
- Hladinu vápníku udržují v krvi hormony parathormon, kalcitonin, kalcitriol a parathormonu příbuzný protein. Přesto se hladina vápníku v krvi poněkud mění v závislosti na věku, na pohlaví, ročním období a stavu (těhotenství).
- Hyperkalcémie může souviset s maligními nádory, hyperparathyreoidismem, zvýšenou koncentrací vitamínu D, nepohyblivostí jedince, s některými léčivými, případně může mít genetickou podstatu.
- Hypokalcémie může souviset s hypoalbuminemií, hypoparathyreoidismem, renálním selháním, nedostatkem vitamínu D, malabsorpčním syndromem, akutní pankreatitidou.
- Volný vápník se stanovuje iontově selektivní elektrodou.
- Celkový vápník se stanovuje atomovou absorpční spektrometrií (metoda první volby) nebo fotometricky (s arzenazo III nebo o-kresolftaleinkomplexonem).

11.4.2. Hořčík

- Hořečnatý kationt zaujímá čtvrté místo v pořadí iontů obsažených v lidském organismu a seřazených podle vyskytujícího se množství. Je to druhý intracelulární kationt.
- Asi dvě třetiny celkového množství se nacházejí v kostech, asi po pětině obsahu je v kosterním svalstvu a v ostatních buňkách, v plazmě je asi 1% celkového množství.
- Magnesium v extracelulární tekutině se vyskytuje vázané na proteiny, v komplexech a volné. Hořečnaté kationty jsou významnými aktivátory enzymů, aktivuje na 300 enzymů. Spolupůsobí při tvorbě makroergického ATP. Významně ovlivňuje propustnost a elektrické vlastnosti membrán, ovlivňuje metabolismus vápníku, je důležitý při syntéze bílkovin. Jeho přítomnost vyžadují některé regulační proteiny, jinak jsou neaktivní. Je důležitý i při buněčném dělení, v metabolismu nukleotidů a syntéze proteinů.
- Přesné fyziologické mechanismy regulace hladiny magnesia v krvi nejsou plně pochopeny. Z dosavadních poznatků vyplývá, že regulace absorpce hořčíku se účastní parathormon, úloha vitamínu D je sporná. V homeostáze hořčíku a udržení jeho hladiny v plazmě hrají významnou roli ledviny.
- Symptomatická hypermagnesémie je téměř vždy způsobena excesivním příjmem či aplikací magnesiových solí. Nejznámějšími projevy hypermagnesémie jsou neuromuskulární symptomy, mezi nejčasnější signály patří vymizení šlachových reflexů. Může dojít k potlačení dýchání, až k zástavě dechu, díky paralýze dýchacích svalů. Vyšší koncentrace mohou být kardiotoxické a mohou vyústit v srdeční zástavu.
- Hypermagnesémie vede k poklesu sérové koncentrace kalcia
- Deficit magnesia je poměrně obvyklý, vyskytuje se u zhruba 10% pacientů a asi u 65% pacientů v intenzivní péči. Příčinami mírných či vážných deficitů hořčíku jsou ztráty gastrointestinálním traktem, zvracení, ztráty z dolních partií střeva, ledvinami, karence v potravě, malabsorpce, akutní pankreatitida, chronický alkoholismus, některé léky aj.
- Nedostatek Mg působí na celou řadu orgánů. Dochází k tonickým stahům vyvolávajících až tetanické křeče, je ovlivněna vodivost nervových vzruchů, dochází k srdeční arytmií. Projevy deficitu magnesia připomínají symptomy hypokalcemie, k porušení homeostáze magnézia a kalcia dochází často společně. Proto se doporučuje při klinickém hodnocení brát v úvahu hladiny obou kationtů.

- Metodami stanovení hořčíku jsou atomová absorpční spektrometrie (metoda první volby) a fotometrie (arzenazo III, xylydinová modř, tj. magon, calmagit, magneson). Lze stanovit i enzymovou metodou s izocitrátdehydrogenázou.
- Volné magnesium se stanovuje iontově selektivní elektrodou.

11.4.3. Fosfor

- Fosfor se v organismu vyskytuje ve formě anorganických a organických fosforečnanů. Převážná většina se nachází v kostře, zbytek v měkkých tkáních.
- Fosfor je hlavní součástí hydroxylapatitu v kostech. Většina fosfátů v měkkých tkáních se nachází uvnitř buněk, je to hlavní intracelulární anion. Většinou jsou to organické fosfáty v nukleových kyselinách, fosfolipidech, fosfoproteinech a makroergických sloučeninách (ATP, GTP apod.). Organické i anorganické fosfáty tvoří součást pufrčního systému krve.
- Plazmatický fosfor je vázán na bílkoviny, část je v komplexech s Na, Ca a Mg a asi polovina celkového množství je volný (free) fosfor (fosfáty).
- Hyperfosfatémie se vyskytuje při hojení zlomenin, v období růstu, při snížení funkce příštítných tělísek, chronickém poškození ledvin, nedostatečné činnosti nadledvinek, akromegalii, u hypervitaminos vitamínem D, diabetické ketoacidózy a laktacidózy.
- Hypofosfatémie se nachází jako následek léčby, u zvýšené funkce štítné žlázy a příštítných tělísek, tubulárního defektu resorpce fosfátů, bakteriální sepse, akutní otravy alkoholem, fenyketonurie, familiární hypolipidémie, nedostatku vitamínu A, snížené funkce hypofýzy, hyperinsulinismu, rychle proliferujících tumorů aj.
- Metody stanovení fosforečnanů jsou fotometrické, reakce fosfátů s molybdenanem amonným, indikace reakce při 340 nm (kineticky) nebo po redukci na molybdenovou modř při 650 nm, reakce fosfátů s vanadičnanem amonným, fotometrie žlutého komplexu, enzymové metody.

OBSAH:

Kapitola 11 Vápník, hořčík a fosfor.....	11-1
11.1. Vápník	11-1
11.1.1. Úloha vápníku v organismu	11-1
11.1.2. Klinické poznámky	11-2
11.1.3. Metody stanovení.....	11-3
11.2. Hořčík	11-6
11.2.1. Úloha magnesia v organismu	11-6
11.2.2. Klinické poznámky	11-7
11.2.3. Metody stanovení hořčíku.....	11-8
11.3. Fosfor	11-10
11.3.1. Význam fosforu v těle	11-10
11.3.2. Klinické poznámky	11-11
11.3.3. Metody stanovení fosforečnanů.....	11-11
11.4. Stručné shrnutí kapitoly.....	11-12
11.4.1. Vápník.....	11-12
11.4.2. Hořčík.....	11-12
11.4.3. Fosfor	11-13