



Il calcio ionizzato: problematiche ed utilità in nefrologia

A.M. Gaiter

Servizio di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Civile, Aosta

Orientiamoci tra le diverse unità di misura

Solitamente, in medicina, per esprimere la quantità di una determinata sostanza presente in una soluzione, si utilizzano tre differenti unità di misura; esse sono: il milligrammo (mg), la millimole

TAB. I - UNITÀ DI MISURA

L'unità di misura in mg è nota a tutti e non richiede ulteriori spiegazioni.

La mmol si può definire semplicisticamente come il numero di mg corrispondente al numero delle unità di massa atomica, molecolare o ionica di una sostanza; la massa molecolare si ottiene sommando le unità di massa degli atomi che ne compongono la molecola; la massa ionica non differisce dalla massa atomica, poiché il peso degli elettroni è trascurabile.

È importante ricordare che in una mole di qualsiasi sostanza è contenuto lo stesso numero di particelle: 6.022×10^{23} .

Il mEq si ottiene dividendo le mmol per il valore assoluto della carica elettrica (o numero equivalente): n_{eq} dello ione.

TAB. II - ALCUNI ESEMPI DI MASSA ATOMICA O IONICA

Sodio	(Na)	massa atomica = 23		
Calcio	(Ca)	massa atomica = 40		
Cloro	(Cl)	massa atomica = 35.5		
Ione sodio	(Na ⁺)	massa ionica = 23	carica = 1	
Ione calcio	(Ca ⁺⁺)	massa ionica = 40	carica = 2	
Ione cloro	(Cl ⁻)	massa ionica = 35.5	carica = 1	

quindi:

1 mmol di Na pesa 23 mg
1 mg di Na contiene $1 : 23 = 0.044$ mmol
1 mEq di Na⁺ pesa 23 mg
1 mg di Na⁺ contiene $1 : 23 = 0.044$ mmol

1 mmol di Ca pesa 40 mg
1 mg di Ca contiene $1 : 40 = 0.025$ mmol
1 mEq di Ca⁺⁺ pesa $40 : 2 = 20$ mg, cioè 1 mmol di Ca corrisponde a 2 mEq di Ca⁺⁺
1 mg di Ca⁺⁺ contiene $1 : 40 = 0.025$ mmol

1 mmol di Cl pesa 35.5 mg
1 mg di Cl contiene $1 : 35.5 = 0.028$ mmol
1 mEq di Cl⁻ pesa 35.5 mg;
1 mg di Cl⁻ contiene $1 : 35.5 = 0.028$ mmol

(mmol) ed il milliequivalente (mEq) (Tabb. I, II).

La soluzione, in cui la sostanza in oggetto è contenuta, viene misurata in volume

usando come unità di misura il litro (L) o il decilitro (dl) (Tab. III).

Utilizzando una proporzione si può facilmente passare da una ad un'altra delle

**TAB. III - ANCORA UNITÀ DI MISURA**

mg/dl	esprime la concentrazione della sostanza in peso su volume, cioè p/v
mmol/L	esprime la concentrazione della sostanza in numero di unità elementari (atomi, ioni, molecole) su volume, cioè n/v
mEq/L	esprime non la concentrazione della sostanza, ma la concentrazione delle cariche elettriche del suo ione su volume, cioè $(n/n_{eq})/v$

TAB. IV - ESEMPI DI CONVERSIONE DEL CALCIO

Poiché (vedi Tab. II): 1 mg di Ca = 0.025 mmol e 1 mmol di Ca = 40 mg, si può impostare la seguente proporzione:

$$1 \text{ mmol} : 40 \text{ mg} = 0.025 \text{ mmol} : 1 \text{ mg}$$

Un individuo ha 11 mg/dl di Ca; a quante mmol/L di Ca corrispondono?

$$1 \text{ mmol} : 40 \text{ mg} = x \text{ mmol} : 11 \text{ mg}$$

$$x = 11 \text{ mg/dl} \cdot 1 \text{ mmol} / 40 \text{ mg} = 0.275 \text{ mmol/dl} = 2.75 \text{ mmol/litro}$$

Viceversa, un altro individuo ha 2.3 mmol/litro di Ca; a quanti mg/dl di Ca corrispondono?

$$1 \text{ mmol} : 40 \text{ mg} = 2.3 \text{ mmol} : x \text{ mg}$$

$$x = 2.3 \text{ mmol/litro} \cdot 40 \text{ mg} / 1 \text{ mmol} = 92 \text{ mg/litro} = 9.2 \text{ mg/dl}$$

unità di misura (Tab. IV).

Se la misura in grammi (g), con multipli e sottomultipli (ad esempio mg) rappresenta il sistema storico usato in molti paesi, quella in moli (mol), con multipli e sottomultipli (ad esempio mmol) è il sistema di misura raccomandato per l'uso internazionale e rappresenta quindi lo standard.

L'equivalente (Eq), con multipli e sottomultipli (ad esempio mEq) è un sistema di misura non più raccomandato, ma

che risulta utile, tuttavia, in alcune situazioni dove risulti conveniente paragonare le concentrazioni in base alla carica elettrica dei componenti.

Ne è un esempio la composizione del dialisato, ove la concentrazione in mEq/L dei cationi (ioni con carica positiva) è uguale a quella degli anioni (ioni con carica negativa), mentre ciò non risulta di immediata comprensione se la misura è espressa in mmol/L (Tab. V).

TAB. V

Cationi	mEq/L	mmol/L	Anioni	mEq/L	mmol/L
Sodio (Na ⁺)	138.0	138.0	Cloro (Cl ⁻)	108.5	108.5
Potassio (K ⁺)	1.0	1.0	Bicarbonato (HCO ₃ ⁻)	31.0	31.0
Calcio (Ca ⁺⁺)	3.5	1.75	Acetato (CH ₃ COO ⁻)	4.0	4.0
Magnesio (Mg ⁺⁺)	1.0	0.5			
Totale cationi	143.5	141.25	Totale anioni	143.5	143.5

Che cos'è il calcio ionizzato (Ca⁺⁺)

Nell'organismo la grande maggioranza del calcio (oltre il 98%) si trova nelle ossa, sotto forma di cristalli di idrossiapatite. Una piccola parte (circa 1%) si trova nel sangue, ed in particolare nel plasma (o nel siero, che è il plasma privo dei componenti della coagulazione), poiché le cellule ematiche (globuli rossi, bianchi e piastrine) contengono solo tracce di questo elemento.

La distribuzione del calcio nel plasma (o nel siero) è complessa (Fig. 1) ed ingenera non poche confusioni.

Dobbiamo innanzitutto distinguere la quantità globale del calcio plasmatico o *calcio totale* (**Ca tot: 2.50 mmol/L**)* in due componenti, la prima rappresentata dal cosiddetto *calcio ultrafiltrabile* (**Ca uf: 1.5 mmol/L**)*, ovvero quella componente del calcio totale capace di attraversare una membrana semipermeabile (come quella dei dializzatori), la seconda costituita dal calcio non ultrafiltrabile in quanto *calcio legato alle proteine* (**1.00 mmol/L**)*. La proporzione tra queste due componenti può variare in modo anche cospicuo in base alla quantità di proteine nel sangue (pensiamo alle numerose cause, come, ad esempio, la sindrome nefrosica, che determinano una riduzione anche marcata della proteinemia) ed in base al pH ematico in quanto gli ioni idrogeno e calcio competono per gli stessi siti di legame sulla molecola proteica.

Del calcio ultrafiltrabile, la maggior parte è costituita dal *calcio "ionizzato"*, o *"libero"* (**1.25 mmol/L**)*, oggetto appunto di questa nostra puntualizzazione, una piccola parte è complessata con anioni (*calcio complessato: 0.25 mmol/L*)*: carbonato, fosfato, lattato, citrato.

Il calcio ionizzato, a sua volta, non rappresenta ancora la vera componente biologicamente attiva di questo elettrolita, perchè una parte prevalente di esso è legato elettrostaticamente ad altri ioni (sodio, cloro) (*calcio legato elettrostaticamente: 0.87 mmol/L*)*.

Giungiamo così al calcio attivo (**Ca att: 0.38 mmol/L**)*, componente molto importante perchè permette gli effetti biologici di questo ione, in quanto partecipa agli equilibri chimici ed elettrochimici.

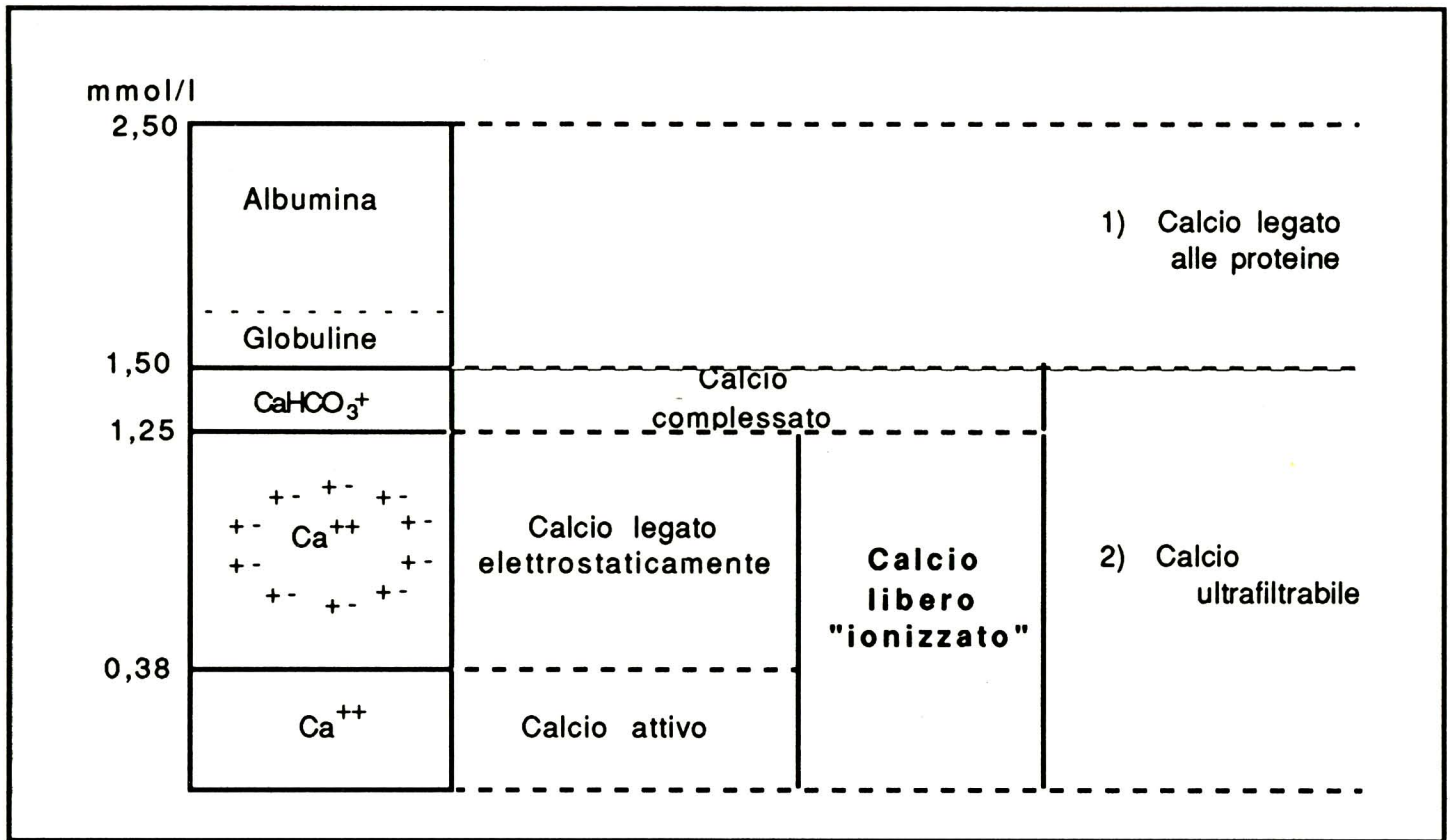


Fig. 1 - Distribuzione del Ca nel plasma in condizioni normali.

ci che si instaurano nell'organismo, quali la coagulazione del sangue, la conduzione neuromuscolare, alcuni trasporti ionici di membrana, molti processi enzimatici, ecc.

Le apparecchiature per la misurazione del Ca^{++} misurano l'attività degli ioni calcio (Ca att), ma, poiché esse vengono tarate con soluzioni a concentrazione nota di ioni calcio (Ca^{++}), esprimono il risultato in base alla concentrazione di calcio ionizzato (Ca^{++}) presunta a parità di attività ionica delle soluzioni in esame, aggirando in tal modo le variazioni indotte dalle differenze di forza ionica tra le soluzioni di taratura ed i plasmi o sieri in esame e tra plasmi o sieri normali e patologici (1).

Il risultato viene quindi espresso in millimoli per litro di acqua plasmatica o sierica in quanto gli elettrodi di questi strumenti sono forniti di una membrana permeabile selettivamente all'acqua e agli ioni calcio liberi.

Apparecchiature ad elettrodi ione-selettivi

* Valori medi normali

ivi (ISE) per la determinazione del Ca^{++} sono utilizzate fin dalla fine degli anni '70, ma non esistono intervalli di riferimento internazionalmente riconosciuti, perché i vari strumenti attualmente in commercio non producono gli stessi risultati, essendo tarati con soluzioni differenti.

La mancanza di intervalli di riferimento internazionali è comune, attualmente, a tutte le apparecchiature ad elettrodi ione-selettivi: ad esempio, per il sodio ed il potassio, pur essendo diffusissimi, ormai, questi apparecchi, i cosiddetti "valori normali" sono quelli ottenuti con il classico sistema del fotometro a fiamma. Pertanto il calcio ionizzato ($Ca^{++} = 1.25 \text{ mmol/L}$)*, pari alla somma del calcio legato elettrostaticamente ad altri ioni più il Ca att, rappresenta un valore utilizzabile per effettuare confronti tra pazienti e tra momenti diversi dello stesso paziente, ma solo per valori ottenuti dallo stesso strumento.

La determinazione del Ca^{++} si può eseguire su sangue intero (arterioso, venoso o capillare), plasma o siero, ma occorre

effettuare una scelta in base alle specifiche necessità, poiché molti fattori influenzano il risultato.

1) Precauzioni nell'eseguire il prelievo (2):

- evitare la stasi (che abbassa il pH ematico);
- non effettuare il movimento di pompa muscolare (che provoca acidosi locale per formazione di lattato);
- osservare il digiuno (dubbio);
- standardizzare la postura (l'ortostasi, causando emocostrazione, provoca un aumento del Ca^{++});
- ricordare l'importanza del ritmo circadiano (che provoca periodiche variazioni nella concentrazione del Ca^{++}).

2) Precauzioni nel conservare il prelievo:

- stretta anaerobiosi;
- conservazione del campione a 4°C ;
- esecuzione dell'analisi:
 - su sangue intero entro 4 ore, direttamente dalla siringa,
 - su siero, in Vacutainer, entro 70 ore,
 - su plasma, in Vacutainer, entro 24 ore.

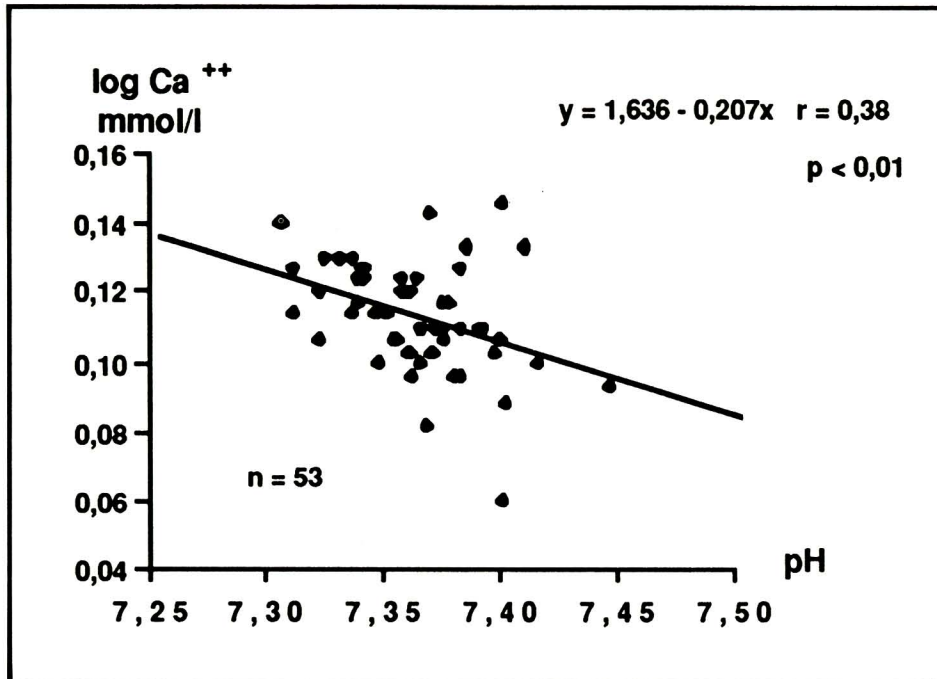


Fig. 2 - Relazione tra il pH ed il logaritmo del Ca libero nel sangue intero, in soggetti normali.

3) Effetto dell'anticoagulante (tutti gli anticoagulanti esplicano la loro azione chelando, almeno in parte, il Ca att):

- usare eparina in bassissima concentrazione (inferiore a 15 U/ml di sangue);
- oppure eparine titolate con Ca fino a 50 U/ml di sangue;
- non usare citrato, EDTA od ossalato;
- non usare siringhe per emogasanalisi (che contengono, in genere, una quantità troppo elevata di eparina).

4) Emolisi:

- può determinare una diluizione del Ca⁺⁺ (che ha una concentrazione intracellulare molto bassa).

5) Variazioni di pH:

- *in vitro* ad ogni aumento di 0.1 unità di pH corrisponde una diminuzione del 4-5% del Ca⁺⁺;
- *in vivo* nei normali, tra pH 7.30 e 7.44, abbiamo rilevato una diminuzione tra l'1.5 ed il 2% nelle concentrazioni di Ca⁺⁺, con una correlazione statisticamente significativa ($p < 0.01$) e la $r = 0.38$ (Fig. 2).

Alcuni strumenti misurano sia il Ca⁺⁺ sia il pH e calcolano il "Ca normalizzato", cioè corretto per un pH standard di 7.4 mediante formule matematiche ricavate dalla relazione trovata sperimentamente tra il pH ed il logaritmo decimale del Ca libero. Questo permette di utilizzare, entro certi limiti di pH (tra 7.2 e 7.6), anche campioni con variazioni di pH avvenute *in vitro*, facilitando così i laboratori che hanno grandi carichi di lavoro: il Ca normalizzato nel siero raccolto da provette sottovuoto e conservato in anaerobiosi a 4 °C è stabile fino a sette giorni. Tale correzione, però, non è valida nelle patologie in cui siano presenti disturbi dell'equilibrio acido-base (3), o variazioni dei livelli di ligandi del Ca (fosfato, lattato, citrato), ma può essere utilizzata per stimare il livello di Ca⁺⁺ che si raggiungerebbe eliminando quegli squilibri. Quindi, poiché spesso *in vivo* sono presenti queste alterazioni, è sconsigliabile l'uso del solo "Ca normalizzato" ed è importante, in tali casi, che il prelievo non sia affetto da cause di distorsione. Se la variazione di pH esce dall'ambito di misura dell'apparecchiatura è indispensabile far ricorso alla misurazione del pH mediante emogasanalizzatore.

Quindi:

- 1) se il pH ematico rientra nell'intervallo di normalità, non occorre normalizzare il valore del Ca⁺⁺;

2) se il pH ematico risulta alterato, è utile poter disporre del valore del Ca⁺⁺ normalizzato a pH 7.40 (Ca⁺⁺_(pH7.4)): per far ciò ci si può attenere al valore del Ca⁺⁺ normalizzato fornito eventualmente dallo strumento - che utilizza il coefficiente di 0.24 derivato dalla regressione tra il log Ca⁺⁺ ed il pH *in vitro* tale coefficiente è leggermente superiore a quello trovato *in vivo* (0.207) - ovvero può essere calcolata la pendenza della retta di regressione *in vivo* come in Figura 2.

L'equazione di normalizzazione è:

$$\log Ca^{++}_{(pH7.4)} = \log Ca^{++} - (\text{coeff regress}) \cdot (7.40 - \text{pH})$$

Esempio:

$$\begin{aligned} Ca^{++} &= 1.41 \text{ pH} = 7.276 \\ \log Ca^{++}_{(pH7.4)} &= \log 1.41 - (0.24) \cdot (7.40 - 7.276) = 0.1492 - 0.24 \cdot 0.124 = 0.1492 - 0.0298 = 0.1195. \end{aligned}$$

Infine eliminiamo il logaritmo ricavando l'esponenziale in base 10 dei due termini dell'equazione:

$$Ca^{++}_{(pH7.4)} = 10^{0.1195} = 1.32 \text{ mmol/L.}$$

Utilizzo clinico in Nefrologia del Ca⁺⁺

1) NEFROLITIASI: nell'iperparatiroidismo latente il Ca t è normale e solo con numerose determinazioni si riesce ad evidenziare un suo aumento in certe fasi, mentre il Ca⁺⁺ è più stabilmente aumentato.

2) MIELOMA: il riscontro di gammopatie monoclonali è un evento laboratoristico sempre più frequente ed è difficile distinguere con certezza le forme benigne dai mielomi veri e propri; un dato in più può esser dato dal Ca⁺⁺, poiché il riscontro di un Ca t normale o aumentato non è indicativo: infatti, per esempio, il Ca⁺⁺ potrebbe essere aumentato e costituire l'unico segno d'interessamento osseo, e quindi di malignità; ovvero è possibile l'opposto, con Ca t aumentato, per effetto dell'aumento delle proteine totali, dovuto all'aggiunta di una quota di produzione tumorale, ma con Ca⁺⁺ normale, non indicativo di rimaneggiamento osseo (4).

3) **SINDROME NEFROSICA:** il Ca^{++} si rivela importante per distinguere le situazioni in cui, a fronte di un $Ca t$ ridotto a causa dell'ipoalbuminemia, il Ca^{++} è normale, da quelle in cui anche quest'ultimo è ridotto per deficit di vitamina D.

4) **INSUFFICIENZA RENALE ACUTA:** il $Ca t$ può essere diminuito, normale o aumentato, senza che il suo dato sia predittivo di come sia la sua parte attiva, a causa delle possibili alterazioni della crasi proteica; se è necessario politrasfondere il paziente, il citrato usato come anticoagulante può causare una riduzione del Ca^{++} , con $Ca t$ normale; se si attua nutrizione parenterale totale è utile monitorare il Ca^{++} (5).

5) **INSUFFICIENZA RENALE CRONICA:** nell'ambito di questa patologia si inserisce il complesso quadro dell'osteopatia uremica in cui lo studio del "set point" del PTH per il Ca può essere valutato appieno solo misurando la quota attiva di questo elettrolita, cioè il Ca^{++} (6).

La dialisi aggiunge due elementi di complessità al quadro dell'osteopatia uremica: l'aumento dell'affinità delle proteine per il calcio ed il bilancio del calcio. Quest'ultimo deve essere effettuato con il $Ca t$, ma risulta utile il controllo del Ca^{++} , per avere l'indicazione della quota di calcio attivo sia prima della dialisi, sia dopo, tenuto conto delle difficoltà interpretative causate dalle interferenze che la dialisi stessa, la correzione dell'acidosi - ovvero l'alcalosi post-dialitica - e la disidratazione apportano alla quota percentuale del Ca^{++} .

6) **TRAPIANTO RENALE FUNZIONANTE:** nei pazienti portatori di rene trapiantato, la determinazione del $Ca t$ non permette di evidenziare quei soggetti in cui permane un iperparatiroidismo latente. Solo la determinazione del Ca^{++} , eventualmente nel corso d'esecuzione di test dinamici, svela questa situazione, che in genere tende a riportarsi spontaneamente nella norma dopo alcuni mesi dal trapianto, ma che, se perdura oltre i 4 anni, impone la valutazione della necessità di effettuare una paratiroidectomia sub-totale, perchè è indicativo del fatto che si è instaurato un iperparatiroidismo terziario (7).

BIBLIOGRAFIA

- 1 Siggaard-Andersen O, Thode J, Wandrup J. The concentration of free calcium ions in the blood plasma: "ionized calcium". In: Siggaard-Andersen O, ed. Blood pH, carbon dioxide, oxygen, and calcium-ion. Proc. 5. meeting IFCC Expert Panel on pH and Blood Gases. Copenhagen: Private Press, 1981; 163-90.
- 2 Thode J, Fogh-Andersen N, Aas F, Siggaard-Andersen O. Sampling and storage of blood for determination of ionized calcium. Scand J Clin Lab Invest 1985; 45: 131-8.
- 3 Toffaletti J, Blosser N, Kirvan K. Effect of storage temperature and time before centrifugation on ionized calcium in blood collected in plain vacutainers and SST tubes. Clin Chem 1984; 30: 553-6.
- 4 Aroldi A. Diagnostica di laboratorio nella nefrolitiasi. In: Brancaccio D, Garella S, eds. Syllabus di Nefrologia, 7° seminario. Milano: Wichtig Editore, 1991; 21-30.
- 5 Crottogini AJ, Siggaard-Andersen O. Plasma ionized calcium in the critically ill on total parenteral nutrition. Scand J Clin Lab Invest 1981; 41: 49-54.
- 6 Gallieni M, Brancaccio D. Il fosforo come principale stimolo paratiroideo nell'uremico. In: Brancaccio D, ed. Syllabus di nefrologia, 4° seminario. Milano: Wichtig Editore, 1987; 1-4.
- 7 Vezzoli G, Elli A, Palazzi P, et al. High plasma ionized calcium with normal PTH and total calcium levels in normal-function kidney transplant recipients. Nephron 1986; 42: 290-4.