

Test di funzione tubulare

Adalberto Sessa, Mietta Meroni, Matilde Fumagalli

Unità Operativa di Nefrologia e Dialisi dell'Ospedale - Vimercate

L'unità funzionale del rene è il nefrone. Ciascun rene contiene circa un milione di nefroni. Il nefrone è costituito dal glomerulo renale, sferula di circa 200 micron di diametro costituita da una rete capillare, filtrante il plasma, delimitata dalla capsula di Bowman, e da un tubulo del diametro di 20-30 micron e della lunghezza di 50 mm che veicola il filtrato plasmatico glomerulare in un dotto collettore. È stato calcolato che la lunghezza totale dei tubuli nei due reni è di circa 110 Km: questo lungo percorso è caratterizzato da strutture anatomiche ben precise con funzioni di rimaneggiamento selettivo sulla preurina, cioè sulla quantità di plasma filtrato da parte delle strutture glomerulari, che solamente in piccola parte viene eliminato sotto forma di urina. In un giorno i glomeruli preparano circa 180 litri di preurina, cioè di filtrato plasmatico privo di proteine, e di questi soltanto uno o due litri, vengono eliminati sotto forma di un selezionato liquido di rifiuto, l'urina appunto. Se ne deduce che la funzione principale dei reni è di mante-

nere entro i limiti della normalità il volume e la composizione dei liquidi extracellulari dell'organismo, oltre che di regolare alcune particolari funzioni ormonali, alcuni aspetti dell'eritropoiesi, del metabolismo della vitamina D, alcuni meccanismi della omeostasi della pressione arteriosa.

Le funzioni principali dei tubuli renali sono di riassorbire in modo selettivo, cioè intelligente, alcuni elementi contenuti nel fluido tubulare e di secernere nel lume tubulare alcune sostanze che devono essere eliminate dall'organismo, tramite la produzione di urina, e che sono portate dal sistema circolatorio dei capillari peritubulari o fornite dalle stesse cellule tubulari. Questi processi di riassorbimento e secrezione tubulare, che avvengono sotto il controllo di numerosi ormoni, di caratteristiche concentrazioni elettrolitiche intracellulari e plasmatiche, di particolari valori di pressioni oncotica e idrostatica dei capillari peritubulari, possono essere divisi in attivi e passivi.

I sistemi passivi, siano essi di riassorbimento o di secrezione tubulare, sono quelli che avvengono sen-

za un diretto consumo di energia e senza l'impiego di uno specifico sistema enzimatico.

Quelli attivi comportano, invece, l'impiego di un sistema enzimatico o comunque un consumo di energia; essi possono essere dipendenti da gradiente di concentrazione o da "carrier-complex".

I primi sono quei meccanismi di riassorbimento o di secrezione tubulare attiva il cui funzionamento, cioè l'entità del riassorbimento tubulare o della secrezione tubulare di una data sostanza, dipende dalla differenza di concentrazione esistente tra preurina e cellula tubulare per quella data sostanza e dal tempo di esposizione di quest'ultima alla superficie della cellula tubulare (esempio tipico, il riassorbimento del sodio a livello del tubulo prossimale). I sistemi "carrier-complex" dipendenti sono meccanismi di riassorbimento o di secrezione tubulare attivi il cui funzionamento, cioè l'entità del riassorbimento o della secrezione tubulare di una data sostanza, dipende dalla disponibilità di uno specifico sistema enzimatico a trasportare la data sostanza; fino a che lo speci-

fico sistema enzimatico risulterà completamente saturato dalla stessa sostanza trasportata, continuerà a riassorbire o secernere quantità sempre maggiori di sostanza fino a raggiungere una quota massima di capacità di trasporto, definita "carico tubolare massimo", oltre la quale l'eccesso di sostanza comparirà nelle urine (esempio tipico, il riassorbimento del glucosio e degli aminoacidi a livello del tubulo prossimale).

A livello del tubulo prossimale i meccanismi di riassorbimento avvengono in modo tale che il liquido intratubulare, cioè la preurina, rimane isoosmotica con il sangue arterioso mentre il pH, cioè il livello della acidità, può essere differente tra i due compartimenti. A livello dell'ansa di Henle la preurina diventa ipotonica ed è circondata dal comparto ipertonico dell'interstizio della midollare renale.

A livello del tubulo distale e dei dotti collettori avvengono i definitivi aggiustamenti dell'osmolarità, della acidità e della concentrazione della preurina così da impedire il riassorbimento dei prodotti di rifiuto, i quali vengono eliminati con l'urina.

In questa sede prenderemo in considerazione le principali funzioni del tubulo renale ed alcuni test, che si eseguono nella pratica clinica, per valutarne le attività.

È importante premettere, che non esiste alcun test di funzionalità renale idoneo a fornire informazioni sul numero di nefroni funzionanti e, inoltre, sulla quiescenza o sullo stato di attività di una malattia renale; infatti, è noto che la rimozione chirurgica di un rene o la distruzione della metà del parenchima renale indotta da una malattia, non sono in grado di produrre sensibili modificazioni della funzione renale.

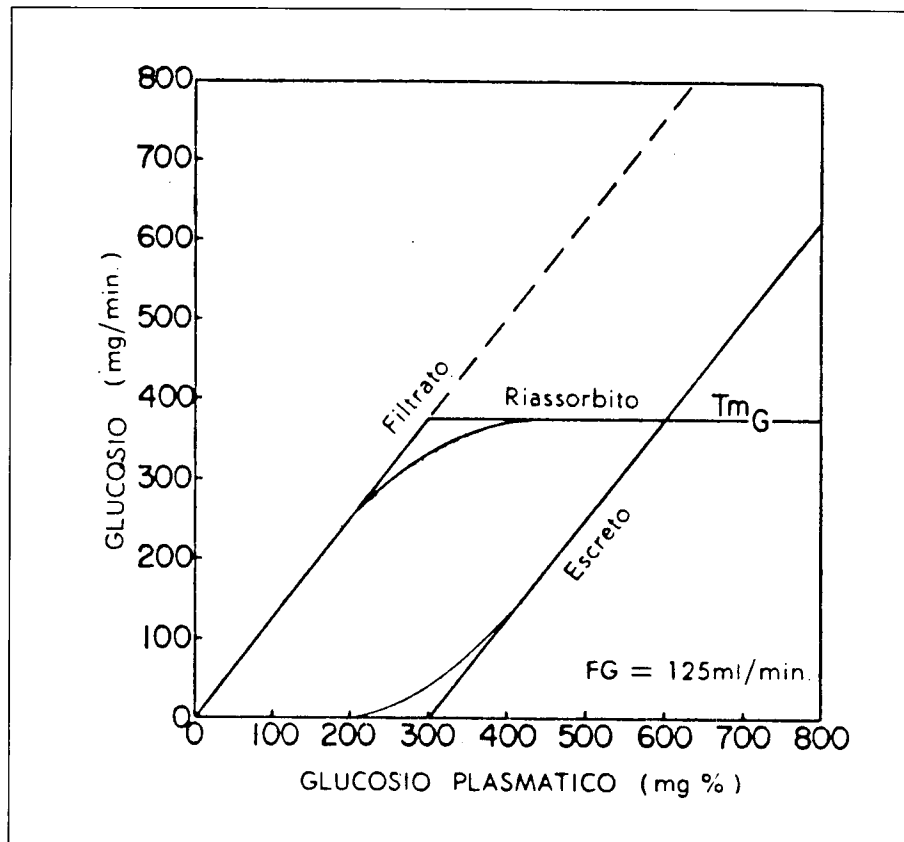


Fig. 1 - Rappresentazione schematica della relazione esistente tra glucosio filtrato, riassorbito e secreto a livello tubulare.

Valutazione della capacità massima dei tubuli a trasportare glucosio e a secernere acido para-aminoippurico (PAI)

La capacità del tubulo prossimale a riassorbire glucosio è, in condizioni di normalità dei valori di glicemia e di funzione tubulare, tale da garantire il completo riassorbimento di tutto il glucosio filtrato dai glomeruli così che esso non sia presente nelle urine nemmeno in minima quantità.

Per stabilire la capacità massima dei tubuli e riassorbire il glucosio, cioè il T_m del glucosio ($T_m G$), si somministra una infusione di glucosio intravenoso in concentrazione tale (soluzione ipertonica al 33% di glucosio) da indurre un co-

spicuo incremento della glicemia; la somministrazione di glucosio continua ad essere incrementata gradualmente (anche fino a raggiungere la concentrazione plasmatica di 1000 mg/100 mL) e, contemporaneamente, si eseguono misure ripetute della glicosuria così che sia possibile osservare a quale punto il riassorbimento tubulare del glucosio rimane costante. Questo punto corrisponde al $T_m G$ che, nel soggetto normale, corrisponde a valori di glicemia di 323 ± 64 mg/100 mL; questa è la quantità massima di glucosio che i tubuli prossimali possono riassorbire in un minuto con un meccanismo attivo enzimatico (complesso trasportatore o "carrier-complex" del glucosio) che esaurisce la propria capacità del funzionamento

quando il substrato enzimatico è completamente saturato dal carico di glucosio (Fig. 1). È possibile calcolare la quantità di glucosio riassorbito dal tubulo prossimale con la seguente formula:

$$Tm G = FG \times V - U_g \times V$$

ove il carico tubulare massimo per il glucosio ($Tm G$), cioè i mg di glucosio riassorbiti per minuto, è uguale al filtrato glomerulare per minuto (FG), moltiplicato per la differenza della concentrazione del glucosio plasmatico (P_g) ed urinario (U_g), per il volume di urina escreta in un minuto (V).

Il significato da attribuire al $Tm G$ è che esprime la massa totale delle cellule funzionanti del tubulo prossimale. La concentrazione plasmatica di glucosio alla quale compare glicosuria viene definita "soglia renale" per il glucosio: questo livello è grossolanamente correlato con il $Tm G$ ma è influenzato dalle alterazioni del filtrato glomerulare.

Il cosiddetto diabete renale è una condizione clinica nella quale si manifesta glicosuria nonostante i valori glicemici siano normali e sia normale il filtrato glomerulare. Questa situazione, clinicamente non rilevante, è sostenuta o da una riduzione numerica dei siti glomerulari contenenti il complesso trasportatore del glucosio (tipo A), oppure da una ridotta affinità per il glucosio da parte di un normale numero di siti contenenti il complesso trasportatore del glucosio (tipo B): ne risulta la presenza di glucosio nelle urine per valori glicemici normali.

Per valutare la capacità dei tubuli prossimali a secernere attivamente sostanze si ricorre alla somministrazione endovenosa di acido para-aminoippurico (PAI). Il PAI è una sostanza che viene filtrata dai

glomeruli e non viene riassorbita dai tubuli; quindi la valutazione del PAI escreto con le urine ($U_{PAI} \times V$) meno il PAI filtrato a livello glomerulare ($FG \times P_{PAI}$), rende conto del PAI attivamente secreto dalle cellule tubulari. Il PAI viene somministrato per via endovenosa in quantità tale da mantenere una concentrazione plasmatica di 20 mg/100 mL ed il $Tm PAI$ viene calcolato con la formula:

$$U_{PAI} \times V - FG \times P_{PAI} = Tm PAI$$

Nel soggetto normale il $Tm PAI$ è di 68 ± 11 mg/min. Il trasporto del PAI a livello tubulare è strettamente correlato con l'attività della sodio-potassio ATPasi.

Valutazione della capacità di escrezione renale dell'acqua

La normalità del volume e della osmolarità dei liquidi corporei dipendono dalla capacità dei reni di modificare la quantità di urine che essi producono. La quantità di urina prodotta dai reni dipende principalmente dalla capacità dei tubuli a controllare la concentrazione di urina. La più alta concentrazione delle urine è di 1300 milliosmoli/kg/H₂O (corrispondente ad un peso specifico di 1040), che è circa quattro volte maggiore della osmolarità plasmatica, mentre la più bassa concentrazione delle urine è di 50 mOsm/kg/H₂O (corrispondente ad un peso specifico di 1001). L'osmolarità definisce la concentrazione di particelle in una soluzione ed i termini ipertonica, isotonica, ipotonica, si riferiscono rispettivamente ad osmolarità urinarie che sono maggiori, uguali, minori di quella plasmatica.

I valori dell'osmolarità delle urine

dipendono:

- dall'integrità dell'ansa di Henle;
- dal flusso contro corrente del sangue attraverso i *vasa recta*;
- dai valori di concentrazione plasmatica dell'ormone antidiuretico;
- dall'integrità del dotto collettore.

Infatti il tratto discendente dell'ansa di Henle ha la caratteristica funzionale di essere impermeabile agli elettroliti ma di essere permeabile all'acqua e, per tali motivi, produce un liquido intratubulare che è ipertonico e, nello stesso tempo, inizia il meccanismo responsabile della ipertonicità del comparto interstiziale. Il sistema anatomico e funzionale del flusso plasmatico contro corrente attraverso i *vasa recta* tubulo-interstiziali mantiene ed esalta la ipertonicità dell'interstizio. Il tratto ascendente dell'ansa di Henle, invece, è impermeabile all'acqua ed inoltre possiede un sistema enzimatico attivo di riassorbimento del cloro (pompa del cloro) che determina un movimento passivo del sodio: la preurina diventa, a questo livello, ipotonica. L'ormone antidiuretico influenza questi meccanismi sia perché controlla il flusso di sangue dei *vasa recta*, e quindi può modificare l'efficacia del sistema di concentrazione contro corrente, sia perché controlla il riassorbimento dell'acqua e dell'urea attraverso la parete del dotto collettore, e quindi può modificare la quantità di acqua libera da eliminare con le urine e la quantità del ricircolo dell'urea dal tubulo collettore all'interstizio renale, al fine di mantenere la ipertonicità dell'interstizio renale (Fig. 2). I metodi usati per misurare la capacità dei reni a concentrare le urine si basano sulla valutazione delle variazioni del peso specifico urina-

rio, cioè del peso dei soluti in soluzione, o meglio, della osmolarità urinaria, cioè della concentrazione delle particelle in soluzione.

Questi test si eseguono assetando il paziente o somministrandogli una dose di Diamino-8-D-Arginina Vasopressina (DDAVP), che è un agente antidiuretico praticamente privo di attività vasocostrittiva.

Il test dell'assetamento inizia alle ore 8 del mattino con la determinazione del peso corporeo e sospendendo l'assunzione di qualsiasi bevanda e di qualsiasi liquido o cibo particolarmente ricco di acqua (gelati, frutta, verdura, ecc.) fino alle ore 8 del mattino seguente: ogni campione di urina prodotta viene valutato per il suo peso specifico o, meglio, per la sua osmolarità. La privazione di liquidi determina, nel soggetto in esame, un rialzo dell'osmolarità plasmatica ed una riduzione del volume di liquido extracellulare con il conseguente aumento dell'ormone antidiuretico; con questa metodica si osserva un'incremento del peso specifico delle urine compreso tra 1024 e 1040 (900-1300 mOsm/kg/H₂O).

La prova dell'assetamento può dare falsi risultati se il paziente è edematoso (e quindi elimina l'eccesso di liquido contenuto nello spazio extracellulare) o se, essendo soggettivamente mal tollerata, il paziente surrettiziamente introduce liquidi; la prova, comunque, deve essere sospesa in caso di incapacità a concentrare le urine, quando la perdita di peso corporeo supera il 4%, perché potrebbe ingenerarsi un pericoloso bilancio corporeo negativo di liquidi ed elettroliti. Se l'obiettivo che vogliamo raggiungere è quello di saggiare la capacità dei reni di concentrare le urine, e non quello di valu-

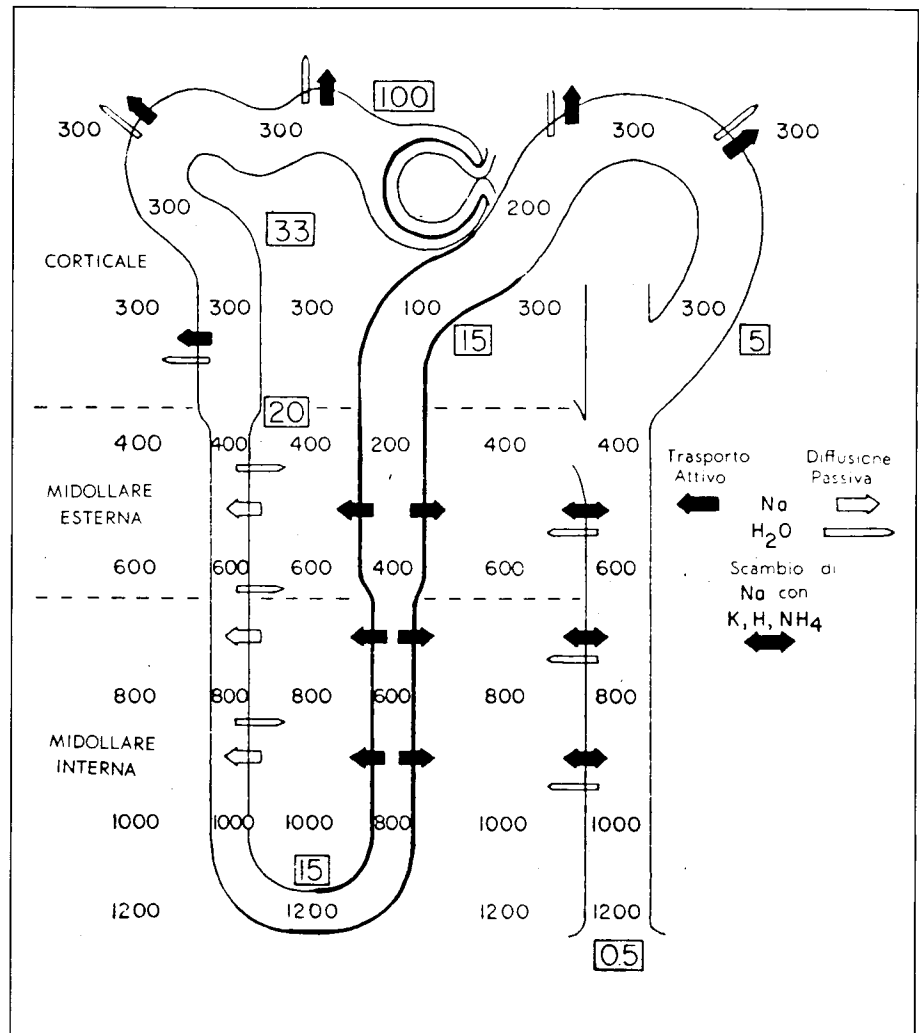


Fig. 2 - Schema degli scambi attivi e passivi di acqua e ioni nel nefrone nel corso della elaborazione di urina ipertonica. Concentrazione della urina tubulare e del liquido peritubulare in mOsm/L; i numeri iscritti nei rettangoli rappresentano la percentuale calcolata di filtrato glomerulare che rimane nel tubulo a ogni livello. Dati recenti indicano che il cloruro è trasportato attivamente dalle branche ascendenti dell'ansa di Henle.

tare la capacità dell'organismo di secernere l'ormone antidiuretico, si può ricorrere alla somministrazione di DDAVP (20 microgrammi intramuscolo, oppure 40 microgrammi endovena, oppure 20 microgrammi inalati in ciascuna narice).

Infine, la capacità dei reni di concentrare le urine può anche essere valutata combinando la somministrazione di DDAVP con alcune ore di assetamento del paziente. La interpretazione del test di con-

centrazione deve tener conto del fatto che la capacità dei tubuli a rispondere all'ormone antidiuretico dipende dall'integrità dell'ansa di Henle, dalla integrità del dotto collettore e dal flusso di sangue attraverso i *vasa recta*.

La mancata capacità a concentrare le urine può dipendere da cause congenite, da malattie acquisite, da disturbi acquisiti reversibili.

Il test di diluizione viene eseguito per valutare la capacità dei reni a produrre urine diluite e a smaltire

un sovraccarico idrico. Il test viene eseguito al mattino, a digiuno, a vescica vuotata; il paziente deve bere 20 mL di acqua per kg di peso corporeo in 10-20 minuti. Si raccolgono le urine ad intervalli di un'ora per 4 ore; una persona normale deve eliminare in 4 ore più del 75% dell'acqua ingerita e la concentrazione di almeno un campione di urine deve raggiungere il peso specifico di 1004.

Valutazione dell'escrezione renale del sodio

Il volume e l'osmolarità del liquido extracellulare sono strettamente correlati al suo contenuto di sodio, essendo questo ione il suo principale costituente solido. In una singola ora i reni, normalmente, filtrano e riassorbono circa 6 litri di soluzione salina, cioè più di 1000 mM di sodio, ed eliminano tramite le urine meno dell'1% di tale quantità, circa 6-8 mM di sodio. Il rene assicura il perfetto bilancio dello ione sodio con meccanismi di riassorbimento siti nel tubulo prossimale e nell'ansa di Henle, e con un meccanismo di secrezione a livello del dotto collettore; l'escrezione urinaria del sodio è poco influenzata dalle modificazioni del filtrato glomerulare. I due terzi dell'acqua e del sodio filtrati a livello glomerulare vengono riassorbiti a livello del tubulo prossimale, dove vi è un continuo e massimo movimento di acqua e di sodio dal lume tubulare allo spazio interstiziale in contatto con il sistema venoso capillare peritubulare, attraverso peculiari strutture anatomiche delimitate dalle cellule dell'epitelio del tubulo prossimale (canali intercellulari e lacune in corrispondenza delle membrane basali tubulari). Nel tubulo prossimale, il riassorbimento del sodio è

attivo (dipendente da gradiente di concentrazione) e quello dell'acqua segue passivamente il gradiente osmotico che si è venuto a determinare; in sostanza, la soluzione isotonica di preurina contenuta nel lume tubulare passa in un'altra soluzione isotonica contenuta nello spazio interstiziale attraverso un gradiente osmotico creato nei canali e nelle lacune intercellulari tubulari.

In questo stesso segmento del tubulo prossimale vi è un riassorbimento attivo e massivo di glucosio, di aminoacidi e di bicarbonato, che può determinare riassorbimento passivo di acqua e di una quota di sodio attraverso le giunzioni intercellulari tubulari. A livello dell'ansa di Henle il sodio viene riassorbito nel segmento ascendente secondariamente al riassorbimento del cloro, e poiché questo tratto dell'ansa di Henle e il primo tratto del tubulo ascendente sono impermeabili all'acqua, il liquido intratubulare diventa ipotonico mentre il liquido interstiziale è ipertonico; è importante ricordare che la quantità di sodio che raggiunge il tubulo distale condiziona il bilancio "glomerulo-tubulare" riaggiustando, con questo meccanismo il riassorbimento e la secrezione tubulare del sodio. A livello del tubulo collettore esistono sostanze a produzione intrarenale che certamente influenzano l'escrezione urinaria del sodio quali le prostaglandine, l'angiotensina, la dopamina, la bradichinina; inoltre, esistono fattori extrarenali che agiscono sul dotto collettore influenzando il riassorbimento di acqua e sodio quali l'aldosterone, variazioni acute della pressione arteriosa e l'ormone natriuretico in particolare che, pur inibendo il riassorbimento di sodio lungo tutto il nefrone,

agisce particolarmente sulla sodio-potassio ATPasi del dotto collettore. Il riassorbimento è strettamente correlato all'escrezione del potassio e dello ione idrogeno; infatti il riassorbimento attivo dello ione sodio caricato positivamente determina un gradiente elettrico responsabile di un movimento passivo degli ioni idrogeno e potassio dalle cellule tubulari al lume tubulare.

I test impiegati per saggiare la capacità dei tubuli renali a controllare l'escrezione del sodio si eseguono incrementando o riducendo l'apporto dietetico di sodio nei pazienti. Il test con incremento dell'apporto dietetico di sodio non viene quasi mai eseguito perché l'incapacità ad eliminare l'eccesso di sodio non dipende quasi mai da una malattia renale (tranne in presenza di insufficienza renale già attestata), quanto piuttosto da situazioni extrarenali che stimolano i tubuli a trattenere sodio (cirrosi epatica, scompenso cardiaco, ecc.) e, quindi, il test può essere pericoloso per il paziente.

Ridurre l'apporto di sodio è un test più specifico per evidenziare anomalie di funzionalità tubulare: il paziente viene posto a regime dietetico contenente 100 mM di sodio al giorno e si determina la sua escrezione urinaria di sodio, che deve essere di circa 85 mM al giorno (le altre perdite sono quelle determinate dal sudore e dalle feci). A questo punto si riduce l'apporto di sodio a 10 mM al giorno e l'escrezione urinaria di sodio deve scendere al di sotto di 10 mM al giorno nello spazio di 7-10 giorni.

Valutazione renale nell'escrezione di potassio

Il potassio è il principale ione intracellulare; è totalmente filtrato a

livello del glomerulo renale per essere quasi completamente riassorbito a livello del tubulo prossimale ed essere secreto passivamente dal tubulo distale, in particolare dal dotto collettore, nella quantità che riscontriamo nelle urine.

L'escrezione urinaria di potassio non è correlata con la filtrazione glomerulare così che il bilancio del potassio corporeo rimane normale fino alla riduzione del filtrato glomerulare al di sotto dei 5 mL/min.

La secrezione di potassio da parte del tubulo distale, cioè la sua escrezione urinaria, è controllata da diversi fattori:

- a) contenuto dietetico di potassio;
- b) concentrazione dell'aldosterone plasmatico;
- c) valore di pH plasmatico;
- d) quantità della preurina che raggiunge il tubulo distale;
- e) concentrazione del sodio presente nella preurina che raggiunge il tubulo distale.

L'aldosterone incrementa la secrezione di potassio da parte del tubulo distale e la sua secrezione è correlata con la concentrazione plasmatica di potassio (e quindi anche con l'apporto dietetico di potassio). Il pH plasmatico elevato aumenta l'escrezione urinaria di potassio a motivo di un aumento della concentrazione del potassio intracellulare.

Ci sono evidenze che la diffusione del potassio nel lume tubulare sia maggiore di quanto maggiore è la quantità di preurina che raggiunge il tubulo distale, persino in condizioni di riassorbimento costante del sodio a livello del tubulo distale, e che la secrezione del potassio nel lume tubulare distale sia maggiore in corrispondenza di una più elevata concentrazione di sodio nella preurina.

Per testare la capacità dei reni ad

eliminare il potassio non si deve mai eseguire il carico di potassio perché l'incremento plasmatico del potassio è estremamente pericoloso (fibrillazione ventricolare, arresto cardiaco).

Tutte le condizioni cliniche che evidenziano una potassiemia persistentemente elevata sono da ricollegarsi ad un difetto tubulare di escrezione di potassio.

Invece, in presenza di potassiemia persistentemente bassa è più difficile documentare l'eccesso di perdita di potassio con le urine e questa situazione potrebbe essere collegata con un diminuito apporto di potassio con la dieta o con eccessiva perdita di potassio dal tratto intestinale. È quindi necessario valutare la quantità di potassio assunta dal paziente e la quantità di potassio escreta con le urine; il paziente viene posto ad una dieta contenente 80-100 mM di potassio al giorno e, per un periodo di controllo, si determina la sua potassiuria giornaliera che deve essere 10-20 mM inferiore al potassio ingerito (questa differenza corrisponde al potassio eliminato con le feci).

Se l'escrezione urinaria di potassio risultasse maggiore della quantità di potassio somministrata con la dieta, soprattutto in corrispondenza di una potassiemia bassa, è evidente la presenza di perdita renale di potassio; tale situazione si verifica nell'iperaldosteronismo, con l'uso di diuretici, nella malattia di Cushing, nell'acidosi renale tubulare, nella sindrome di Bartter, mentre l'escrezione urinaria di potassio risulta particolarmente bassa nell'ipoaldosteronismo (Morbo di Addison), nell'insufficienza renale cronica di cospicua entità e nelle situazioni che condizionano una grave insufficienza renale acuta.

Valutazione del controllo renale nella escrezione di calcio

Il riassorbimento renale del calcio è simile a quello del sodio; filtrato a livello del glomerulo viene riassorbito per circa la metà in corrispondenza del tubulo prossimale, per un terzo a livello dell'ansa di Henle, per circa il 10% nel dotto collettore (Fig. 3).

L'ormone paratiroideo incrementa il riassorbimento tubulare di calcio; tuttavia, in presenza di iperparatiroidismo è incrementata la liberazione di calcio dalle ossa ed è incrementato il suo riassorbimento intestinale per cui ne deriva un incremento sensibile della calcemia con una calciuria elevata nonostante l'aumentato riassorbimento tubulare di calcio. Ipercalciuria si verifica anche per eccesso di somministrazione di vitamina D, di furosemide, di cortisone, di ingestione di calcio o in presenza di acidosi metabolica. L'acidosi tubulare renale è la sola lesione primaria tubulare che determina l'ipercalciuria. Invece, ipocalciuria si osserva in caso di impiego di diuretici tiazidici o insufficienza renale cronica. L'escrezione urinaria di calcio è di circa 5 mM (200 mg) al giorno; tale escrezione è maggiore d'estate che non d'inverno. Lo stato di ipercalciuria può essere definito quando la calciuria è maggiore di 200 mg (5 mM) al giorno con una dieta contenente meno di 150 mg (3-8 mM) di calcio.

Valutazione del controllo renale dell'equilibrio acido-base e della acidità urinaria

La concentrazione plasmatica dello ione idrogeno è mantenuta al pH di 7.4 da molti meccanismi, i più importanti dei quali sono la capacità tampone dello scheletro,

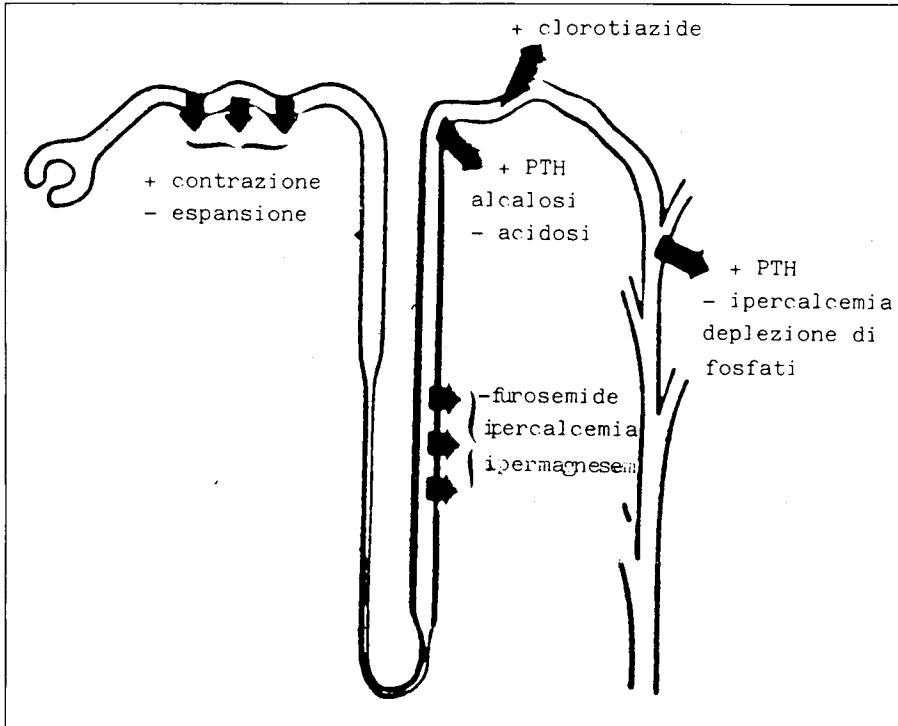
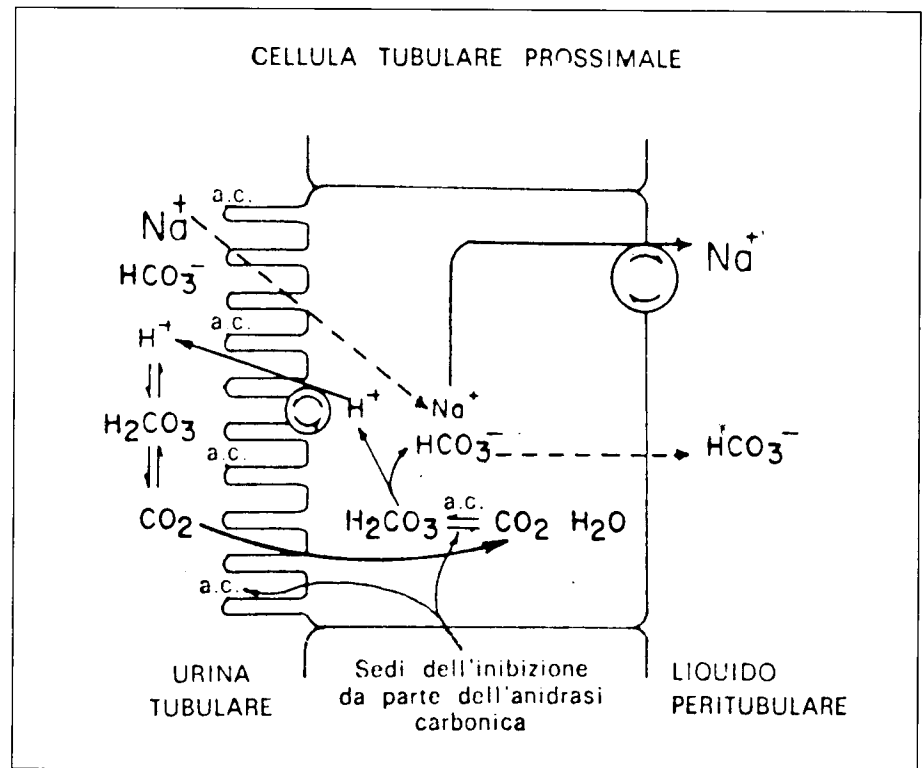


Fig. 3 - Siti per il controllo del riassorbimento di calcio lungo il nefrone. + indica un'azione favorente il riassorbimento tubulare; - indica inibizione del riassorbimento tubulare.

Fig. 4 - Rappresentazione schematica del riassorbimento di bicarbonato in una cellula tubulare prossimale. Linee tratteggiate, diffusione passiva lungo gradienti elettronici; linee intere, trasporto attivo (a.c.: anidrasi carbonica).

delle cellule, ed il sistema tampone del plasma ($B.HCO_3^- / H.HCO_3^-$ dove B è costituito dalla somma dei cationi sodio, potassio e calcio). In questo sistema tampone il livello H_2CO_3 è regolato dall'eliminazione di CO_2 attraverso i polmoni, mentre la concentrazione di bicarbonato dipende dalla capacità dei reni di rimaneggiare la secrezione renale di bicarbonato e di ioni idrogeno, oltre che di generare bicarbonato (Fig. 4).

In un soggetto normale il pH del sangue rimane costante con la eliminazione di 40-60 mM di ioni idrogeno con le urine delle 24 ore; nelle urine, gli ioni idrogeno sono sia liberi che combinati con l'ammoniaca sotto forma di ammonio (NH_4^+), e la capacità del rene di secernere ioni idrogeno dipende dalla capacità delle cellule tubulari di secernere nel liquido tubulare sia gli ioni idrogeno che l'ammoniaca. La quantità di alcali che deve essere aggiunta ad urine acide per riportarle al valore del pH plasmatico di un soggetto corrisponde alla

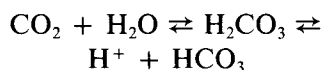


quantità netta di ione idrogeno eliminato con le urine ed è definita come acidità titolabile; la somma dell'acidità titolabile e degli ioni ammonio è la misura della capaci-

tà totale dei reni ad eliminare ioni idrogeno.

Il pH della preurina intratubulare è decisamente acido perché vi è riassorbimento di bicarbonato ed

anche secrezione intratubulare di ioni idrogeno. La secrezione di ioni idrogeno da parte delle cellule tubulari ed il riassorbimento di bicarbonato dal lume tubulare sono dipendenti dalla produzione intracellulare di ioni idrogeno liberi; tali fenomeni avvengono sia nel tubulo prossimale che in quello distale. Questo meccanismo è sostenuto dalla formazione di H_2CO_3 per mezzo della idratazione della CO_2 e della possibilità di dissociarsi in idrogeno e bicarbonato ione secondo la seguente formula:



Quindi, nelle cellule tubulari vengono continuamente generati ioni idrogeno e bicarbonato; gli ioni idrogeno sono trasferiti nel liquido intratubulare in cambio di ioni sodio i quali sono attivamente e indipendentemente trasportati dal liquido intratubulare all'interno delle cellule epiteliali tubulari. La maggior parte degli ioni idrogeno secreti nel liquido tubulare si combina con il bicarbonato formando l'acido carbonico ($H^+ + HCO_3^- \rightarrow H_2CO_3$) il quale si trasforma all'interno del lume tubulare in acqua e anidride carbonica ($H_2CO_3 \rightarrow H_2O + CO_2$). L'anidride carbonica può retrodiffondere nelle cellule tubulari, per essere riutilizzata o diffondere nel sangue. Gli ioni idrogeno rimasti nel liquido intratubulare vengono eliminati con le urine come ioni liberi oppure combinati con l'ammoniaca o con i fosfati; è interessante notare che, anche a livello del tubulo distale, si verifica un continuo passaggio di ioni idrogeno dalle cellule nel liquido intratubulare, nonostante l'esistenza di elevate concentrazioni di ioni idrogeno nella preurina.

Il bicarbonato che viene generato

all'interno delle cellule dell'epitelio tubulare per mezzo della idratazione dell'anidride carbonica ($H_2O + CO_2 \rightarrow H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^-$) si lega al sodio riassorbito dal liquido intratubulare a generare bicarbonato di sodio ($NaHCO_3$) che diffonde nei capillari peritubulari.

Il bicarbonato plasmatico di un soggetto tende ad essere basso quando è ridotta la capacità renale a riassorbire bicarbonato e, viceversa, tende ad essere alto quando è aumentata la capacità renale di riassorbire bicarbonato.

Per valutare una anomalia del rene nel rimaneggiare il bicarbonato si effettua al soggetto in esame una abbondante infusione endovenosa di bicarbonato tale da determinare un rialzo del bicarbonato plasmatico a 28-30 mM/L; la quantità di bicarbonato riassorbito in condizioni di normalità deve essere di 26-29 mM/L di filtrato glomerulare. La capacità renale a riassorbire il bicarbonato risulta ridotta in tutte quelle condizioni cliniche che comportano insufficienza renale; è noto che nell'insufficienza renale cronica la perdita urinaria di bicarbonato contribuisce alla presenza di acidosi metabolica. L'acidosi metabolica è dovuta, oltre che alla perdita renale di bicarbonato, alla ritenzione di acidi; l'acidosi metabolica dovuta alla ritenzione di acidi può essere valutata calcolando il cosiddetto "anion-gap" plasmatico che è uguale alla sottrazione dalla concentrazione del sodio plasmatico della somma delle concentrazioni plasmatiche del cloro e della anidride carbonica:

$$[Na^+] - ([Cl^-] + [TCO_2]) = 142 - (102 + 28)$$

e quindi il valore di 12 mM/L è "l'anion gap" normale.

L'"anion gap" è > 16 mM/L nella chetoacidosi diabetica, nell'acidosi lattica, nell'insufficienza renale cronica, nelle intossicazioni da salicilati e da metanolo. Quando l'acidosi metabolica è dovuta semplicemente a perdita di bicarbonati l'"anion gap" è < 12 mM/L a motivo di una conservazione compensatoria del cloro da parte del rene così da instaurarsi una acidosi metabolica ipercloremica (come si verifica nei casi di diarrea profusa, ureterosigmoidostomia, acidosi renale tubulare, somministrazione di inibitori dell'anidride carbonica). L'alcalosi metabolica, invece, si verifica quando vi è una eccessiva perdita renale di cloro (abuso di furosemide con eccessiva perdita non solo di cloro ma anche di potassio e di sodio); oppure quando vi è un eccessivo riassorbimento renale di bicarbonato (tutte le condizioni che determinano importante ipovolemia o ipopotassiemia).

Valutazione dell'escrezione renale di ammoniaca

L'ammoniaca (NH_3) è una base priva di carica elettrica, altamente solubile nei liquidi (e per tale motivo diffonde facilmente attraverso le membrane cellulari), formata nelle cellule tubulari di tutto il nefrone ad eccezione del tratto sottile dell'ansa di Henle. Quando l'ammoniaca si lega allo ione idrogeno (NH_4^+), perde la sua liposolubilità e diffonde con difficoltà attraverso le membrane cellulari; per tale motivo quando l'ammoniaca si lega con lo ione idrogeno nel lume tubulare essa rimane intrappolata nel fluido intratubulare e viene eliminata con le urine. Questo risulta essere un meccanismo importante di eliminazione urinaria di eccesso di ioni idrogeno nell'acidosi cronica. La formazio-

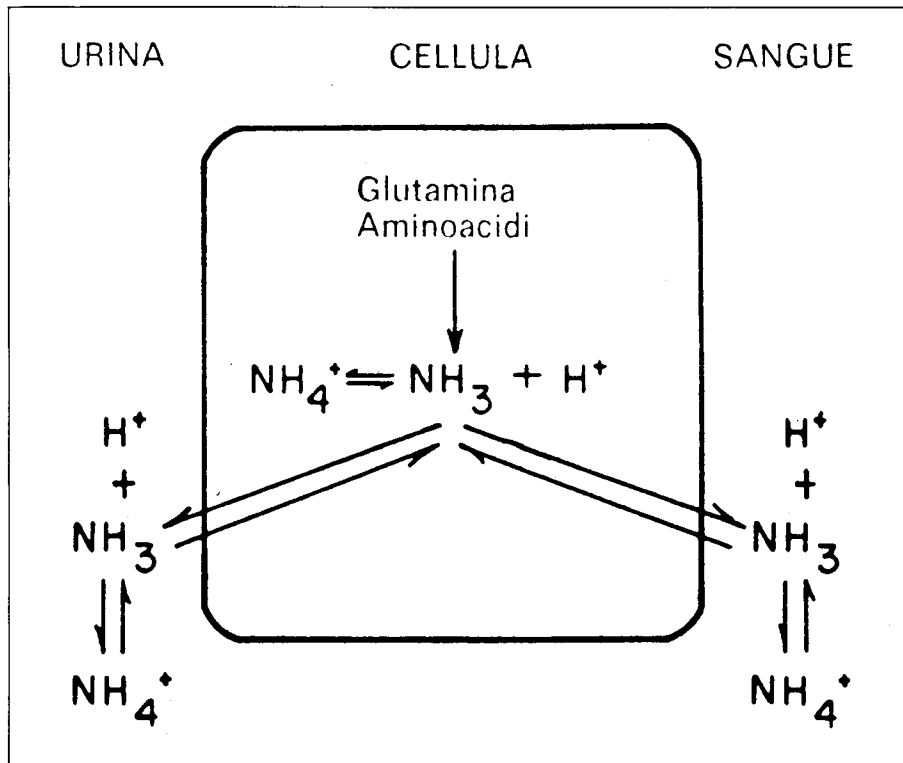


Fig. 5 - Schema semplificato della secrezione renale di ammoniaca. La base libera NH_3 , prodotta dentro le cellule tubulari partendo dalla glutamina e da altri aminoacidi, diffonde passivamente lungo un gradiente di concentrazione nell'urina e nel sangue. Solo la base libera diffonde rapidamente; lo ione d'ammonio è relativamente non diffusibile.

ne di ammoniaca all'interno delle cellule tubulari è correlata all'azione della glutaminasi sulla glutamina; l'ammoniaca libera può diffondere sia verso il lume tubulare che nei capillari venosi peritubulari e la quantità che diffonde nel sangue è inversamente proporzionale a quella che viene secreta nelle urine (per tale motivo nei pazienti epatopatici cronici che sviluppano oligoanuria si verificano cospicui aumenti plasmatici di ammoniaca). L'escrezione urinaria di ammonio è inversamente proporzionale al pH delle urine e cessa quasi completamente quando l'urina diventa alcalina; in condizioni normali l'escrezione quotidiana di ammonio e di ioni idrogeno liberi è circa la stessa, 20-30 mM per ciascun ione (Fig. 5).

Il test impiegato per determinare

la capacità dei reni ad eliminare gli ioni idrogeno e l'ammoniaca consiste nel misurare la loro risposta al carico orale di cloruro di ammonio (NH_4Cl). Il cloruro di ammonio, assunto per via orale, viene metabolizzato ad urea ed acido cloridrico (HCl) con conseguente tendenza all'acidosi del liquido extracellulare e, quindi, con la tendenza da parte del rene ad aumentare l'escrezione urinaria della quota di ioni idrogeno, sia come acidità titolabile che come ammonio. Dopo aver valutato che il bicarbonato plasmatico del paziente sia superiore ai 20 mM/L (per valori inferiori la somministrazione di cloruro di ammonio è pericolosa), e dopo aver raccolto 2 campioni di urine ad un intervallo di circa 2 ore, si somministrano 0.1 g (1.9 mM) di cloruro di ammonio

per kg di peso (per evitare irritazione gastrica è opportuno ricorrere a capsule in gelatina da assumere nell'arco di un'ora).

Prelievi di sangue venoso vengono fatti prima e dopo 2-4 ore dalla somministrazione di cloruro di ammonio; le urine vengono raccolte ad intervalli di 1 ora fino a che le modificazioni del pH urinario appaiono massimali e relativamente costanti, dopodiché sarà sufficiente un controllo urinario dopo 5-7 ore dall'inizio della prova. Il pH delle urine, in condizione di normale capacità funzionale dei reni, deve scendere sotto i valori di 5.3; l'acidità titolabile deve essere superiore a 25 mM/min; l'escrezione di ammonio > 35 mM/min; quindi l'escrezione urinaria di ioni idrogeno, cioè la combinazione di acidità titolabile di ammonio, deve essere superiore a 60 mM/min. La capacità di ridurre il pH urinario è compromessa nell'acidosi tubulare, nel deficit di potassio e nella ipercalciuria, mentre rimane conservata in presenza di parziale insufficienza renale cronica.

Valutazione del controllo renale nell'escrezione di fosfati

Tutto il fosfato plasmatico è filtrato a livello del glomerulo renale e per l'80% viene riassorbito a livello del tubulo prossimale ed in quantità minore a livello dell'ansa di Henle; la quantità dei fosfati presente nelle urine dipende dall'ammontare di fosfato riassorbito a livello del dotto collettore. Il riassorbimento del fosfato contenuto nel liquido intratubulare è sotto il controllo del volume extracellulare, della calcitonina e del paratormone; un'incremento di ciascuno di questi fattori comporta un diminuito riassorbimento tubulare del

fosfato con conseguente incrementata fosfaturia e corrispondente ipofosfatemia.

Il metodo per valutare la capacità massima dei tubuli renali a riassorbire il fosfato consiste nell'elevare la fosfatemia infondendo per via endovenosa circa 200 ml di tampone fosfato nell'arco di 3 ore, raggiungendo valori di fosfato plasmatico $> 5 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ (1.6 mM/L). La capacità massima tubulare di riassorbire il fosfato ($T_m \text{ PO}_4$) è di $38 \pm 5 \text{ mg/L}$ di filtrato glomerulare; è quindi necessario rapportare il dato ottenuto al volume del filtrato glomerulare.

Valutazione dell'escrezione renale di aminoacidi

Gli aminoacidi sono totalmente filtrati dal glomerulo renale e vengono riassorbiti attivamente a livello del tubulo prossimale quasi completamente, con 4 meccanismi di trasporto enzimatico:

- a) complesso trasportatore per gli aminoacidi monobasici;
- b) complesso trasportatore per gli aminoacidi bibasici;
- c) complesso trasportatore per gli aminoacidi dicarbossilici;
- d) complesso trasportatore per il gruppo degli iminoacidi e della glicina.

La comparsa di aminoacidi nelle urine, o la loro eccessiva escrezione urinaria, può essere imputata ad un eccessivo sovraccarico plasmatico di aminoacidi (aminoaciduria da sovraccarico per disordini metabolici) così che la loro quantità filtrata a livello glomerulare supera la capacità enzimatica di riassorbimento a livello del tubulo prossimale, oppure può essere imputata ad una assenza o carenza di uno o più gruppi dei sistemi enzimatici trasportatori a livello renale (aminoaciduria di tipo

renale).

L'aminoaciduria renale può essere isolata, cioè non essere accompagnata da altra anomalia di funzionalità tubulare, come per esempio nel caso della cistinuria, oppure può accompagnarsi ad altre anomalie funzionali tubulari ed essere causata da eventi lesivi che danneggiano il tubulo prossimale come per esempio nell'intossicazione acuta da cadmio o in quella cronica da rame (morbo di Wilson).

Valutazione dell'escrezione renale di urati

L'urato plasmatico viene totalmente filtrato a livello del glomerulo renale e viene quasi completamente riassorbito a livello del tubulo prossimale; l'urato presente nell'urina, viene secreto attivamente per mezzo di un sistema enzimatico a livello del tubulo distale. Un incremento di acido lattico, come si verifica nella tossiemia gravidica e nella abbondante assunzione di alcool, o di acido acetico e beta idrossibutirrico, come si verifica nel digiuno e nel diabete mellito, determinano un incremento dell'uricemia poiché questi acidi utilizzano lo stesso sistema enzimatico trasportatore tubulare dell'acido urico, e quindi entrano in competizione con la secrezione tubulare attiva dell'urato. Tuttavia nell'insufficienza renale cronica è stata documentata la possibilità, da parte dei nefroni superstiti, di incrementare la quantità di urato secreto per singolo nefrone: quale sia il meccanismo di questo incremento compensatorio non è noto.

Una forma familiare di gotta è ascrivibile ad iperuricemia secondaria ad un primitivo deficit tubulare della secrezione di urato; un'altra forma familiare di gotta è, invece, imputabile ad una incrementata

produzione di urato con normale capacità tubulare di secrezione.

Per valutare la capacità dei reni a secernere urato si somministra, al soggetto in esame, RNA in larghe dosi così da indurre un progressivo incremento plasmatico di urato quindi si calcola il corrispettivo incremento urinario di quest'ultimo. Invece, per valutare una eventuale eccessiva produzione endogena di urato, si pone il paziente a dieta povera di contenuto purinico consistente in latte, pane, uova per 7 giorni; il dosaggio dell'escrezione urinaria di urato deve essere inferiore a 600 mg (3.6 mM) al giorno ad un controllo fatto in settimana giornata dall'inizio della dieta.

Bibliografia

1. Haberle DA, Shiigai TT, Maier G et al. Dependency of proximal tubular fluid transport on the load of glomerular filtrate. *Kidney Int* 1981; 20:18.
2. Jamison R, Robertson CR. Recent formulations of the urinary concentrating mechanism; a status report. *Kidney Int* 1979; 16: 537.
3. Kinne R, Schwartz IL. Isolated membrane vesicles in the evaluation of the nature, localization and regulation of renal transport processes. *Kidney Int* 1978; 14: 547.
4. Kwong TF, Bennett CM. Relationship between glomerular filtration rate and maximum tubular reabsorptive rate of glucose. *Kidney Int* 1974; 5: 23.
5. Malnic G, Giebisch G. Cellular aspects of renal tubular acidification. In: Giebisch G, Tosteton DC, Husing HH. *Membrane transport in biology*. Berlin: Springer Verlag 1978; 6: 300.
6. Miles BE, Paton A, De Wardener HE. Maximum urine concentration. *Brit Med J* 1954; 2: 901.
7. Milne MD. Disorders of aminoacid transport. *Brit Med J* 1964; 1: 327.
8. Monclair T, Mathisen O, Kiil F. Renal bicarbonate reabsorption during bicarbonate loading. *Kidney Int* 1980; 17: 577.
9. Pitts RF. Renal production and excretion of ammonia. *Am J Med* 1964; 36: 720.
10. Schnermann J, Persson AEG, Agerup B. Tubulo-glomerular feed-back. Non linear relation between glomerular hydrostatic pressure and loop of Henle perfusion rate. *J Clin Invest* 1973; 52: 862.
11. Schrier RW. Water metabolism. *Kidney Int* 1976; 10:1.
12. Stephenson JL. Ability of counterflow systems to concentrate. *Nature* 1965; 206: 1215.
13. Wardener de HE, Clarkson EM. Editorial review on the natriuretic hormone: recent developments. *Clin Sci* 1982; 63: 415.
14. Wolgast M, Larson M, Nygren K. Functional characteristics of the renal interstitium. *Am J Physiol* 1981; 241:105.
15. Wrong O, Davies HEF. The excretion of acid in renal disease. *Quart J Med NS* 1959; 28: 259.