

Ruolo dell'anidrasi carbonica e meccanismi di acidificazione renale nella nefrolitiasi calcica

Manuela Cannone, Antonia Fabris, Chiara Caletti, Antonio Lupò

Sezione di Nefrologia, Dipartimento di Medicina, Università di Verona, Azienda Ospedaliera Universitaria di Verona, Verona

ROLE OF CARBONIC ANHYDRASE AND URINE ACIDIFICATION IN CALCIUM NEPHROLITHIASIS

Abstract. Stones disease is an increasingly common form of renal disease that is associated with crystal deposition in the renal medulla. Kidney stones are composed predominantly of calcium, up to 10%-20% in the form of calcium phosphate and 80% of calcium oxalate. Some patients with calcium phosphate stones may have incomplete distal renal tubular acidosis (dRTA). Chronic untreated metabolic acidosis increased the risk of nephrolithiasis or nephrocalcinosis and osteopenia. Several drugs have been associated with complete and incomplete dRTA and nephrolithiasis. Calcium phosphate stone formers should be evaluated for a genetic or acquired distal renal tubular acidosis since a correct diagnosis and appropriate treatment can prevent stones recurrence.

Key words: Nephrolithiasis, Nephrocalcinosis, dRTA, Calcium phosphate kidney stones, Carbonic anhydrase

Conflict of interest: None.

Financial support: None.

Ricevuto: 12 Novembre 2012; Accettato: 15 Dicembre 2012



Manuela Cannone

Introduzione

La nefrolitiasi è una malattia cronica e frequente che interessa il 6%-10% della popolazione generale e il 75% dei casi presenta recidive. Anche se la litiasi può presentarsi ad ogni età, nei soggetti giovani è opportuno identificare ogni fattore di rischio, sia per la presenza di alterazioni metaboliche in grado di indurre la precipitazione di cristalli nell'epitelio tubulare, sia per le eventuali anomalie

della morfologia renale e/o delle vie escretrici.

Esiste un'associazione diretta e non sempre nota tra difetti di acidificazione tubulare, nefrolitiasi fosfato calcica e nefrocalcinosi (1, 2).

Questi difetti possono essere secondari a numerose patologie o anche iatrogeni, vale a dire conseguenza di vari farmaci utilizzati per i motivi più disparati (Tab. I).

Negli ultimi mesi abbiamo posto particolare attenzione, nel nostro Ambulatorio per la Nefrolitiasi, all'uso di alcuni nuovi farmaci che aumentano il rischio di sviluppare calcificazioni (Fig. 1). La maggior parte di queste molecole vengono proposte per numerose patologie: isofosfamide, azacitadine, diaziquone, imatinib e pemetrexato sono tutti farmaci utilizzati in politerapia nel trattamento di numerose patologie di natura neoplastica, come il sarcoma, il carcinoma polmonare non a piccole cellule, alcuni tipi di linfoma, neoplasie testicolari, e

nella maggior parte delle neoplasie solide, mentre farmaci antivirali come il Foscarnet e nucleotidi aciclici sono utilizzati nei pazienti con infezione da HIV (3, 4).

Dedichiamo questo breve articolo ad una particolare molecola, il topiramato, classicamente utilizzata nel trattamento dell'epilessia che, come dimostrato anche nei numerosi blog presenti nella rete, viene oggi ampiamente utilizzata *off-label* nel trattamento dell'obesità, disturbi bipolari, dipendenza tabagica, bulimia nervosa, neuropatia distale e nel disturbo post-traumatico da stress (5-7).

Il topiramato presenta una struttura molecolare molto simile all'acetazolamide (noto diuretico inibitore dell'anidrasi carbonica); questo farmaco, inibendo l'isoforma dell'enzima II e IV (8, 9), induce un quadro di ATR in alcuni pazienti e si associa ad un rischio 10 volte più elevato di sviluppare nefrolitiasi rispetto alla popolazione generale (10, 11).

Ruolo dell'anidrasi carbonica

Questi ed altri nuovi composti inibiscono l'anidrasi carbonica (CAs), enzima fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi acido-base in grado di catalizzare la reazione fisiologica e reversibile di idratazione intra ed extra-cellulare (CO_2 a HCO_3^- e H^+), aumentandone la velocità di circa 10^6 (12).

Le CAs sono coinvolte nei più diversi processi fisiologici e patologici, trasporto ionico, urogenesi, progressione tumorale, lipogenesi, gluconeogenesi e per ultimo ma non meno rilevante nei processi di calcificazione e riassorbimento osseo (12, 13).



Fig. 1 - Quadro radiologico di microlitiasi osservato nel nostro Ambulatorio.

TABELLA I - FARMACI CHE POSSONO CAUSARE ATR

Tetracicline
Aminoglicosidi
Streptomina
Acetazolamide
Foscarnet
Didanosina
Tenofovir
Adefovir
Cidofovir
Isofosfamida
Azacitabina
Imanitib
Pemetrexate
Cetuximab
Panitumumab
Cisplatino
Amfotericina B
Analgesici

L'acidosi tubulare renale distale (ATRd) (Tab. II) è una sindrome clinica provocata da una compromissione, geneticamente determinata o acquisita dei processi di acidificazione nel nefrone distale ed è caratterizzata da un'incapacità a ridurre il pH urinario al di sotto di 5.5 (14, 15). Il difetto è dovuto alla ridotta escrezione di ioni H⁺ nel tubulo collettore riducendo pertanto i livelli di NH₄⁺ e di acidi titolabili, impedendo così che il carico acido introdotto con la dieta venga completamente eliminato. Questo difetto di acidificazione determina una ritenzione di ioni H⁺ con conseguente riduzione della concentrazione ematica di HCO₃⁻.

Alcuni dei pazienti con questo difetto ad acidificare le urine non sviluppano acidemia tramite un aumento della produzione di NH₄⁺ da parte delle cellule tubulari, configurando così il quadro di ATRd incompleta.

I farmaci che inibiscono l'anidraasi carbonica possono determinare un quadro di acidosi tubulare renale mista, riducendo l'assorbimento di HCO₃⁻ a livello prossimale ed alterando il meccanismo di eliminazione di H⁺ a livello distale (14, 15).

Ciò nonostante il riassorbimento del HCO₃⁻ appare nella norma anche se, come conseguenza dell'elevato pH urinario, un certo aumento dell'escrezione di bicarbonato è obbligatoriamente presente (<5%-10% del carico filtrato).

Viene così a configurarsi un quadro clinico di acidosi metabolica ipercloremica che si manifesta con la presenza costante di un pH urinario persistentemente alcalino (>5.5), ipokaliemia lieve (<3.5 mEq/L), microproteinuria, ipercalciuria (>250 mg/die nelle donne e >300 mg/die negli uomini), ipocitraturia (<400mg/die nelle donne e 550 mg/die negli uomini), infezione delle vie urinarie, secondaria sia alla presenza delle microcalcificazioni sia all'alcalinizzazione urinaria presente, nefrolitiasi e nefrocalcinosi (16, 17).

Questi pazienti presentano diversi gradi di nefrocalcinosi e/o microlitiasi mono-bilaterale. È doveroso pertanto, di fronte ad un soggetto con nefrolitiasi, non necessariamente bilaterale né recidivante, porsi il dubbio che possa trattarsi di un'acidosi tubulare incompleta.

L'acidosi tubulare, infatti, induce da un lato una ridotta escrezione di citrato (18, 19) e dall'altro un difetto distale del riassorbimento del calcio. Questa, infatti, determina l'inibizione dell'espressione del canale responsabile dell'assorbimento del calcio a livello distale (TRPV5), e della proteina che trasporta il calcio nel citosol, la Calbindina D28K (20) determinando così ipercalciuria. L'ipercalciuria e l'ipocitraturia secondarie al difetto di acidificazione, assieme al pH urinario costantemente

TABELLA II - CARATTERISTICHE DEI DIVERSI TIPI DI ACIDOSI TUBULARE RENALE

	Tipo 1 (Distale)	Tipo 2 (Prossimale)	Tipo 4
Difetto di base	Ridotta secrezione H ⁺ nel tubulo distale	Diminuito riassorbimento prossimale di HCO ₃ ⁻	Carenza o resistenza all'aldosterone
pH urinario durante l'acidemia	>5.5	<5.5 >5.5 se sopra la soglia di riassorbimento	<5.5
Potassiemia	Ridotta o normale	Ridotta o normale	Elevata
Nefrolitiasi	SI	SI	NO

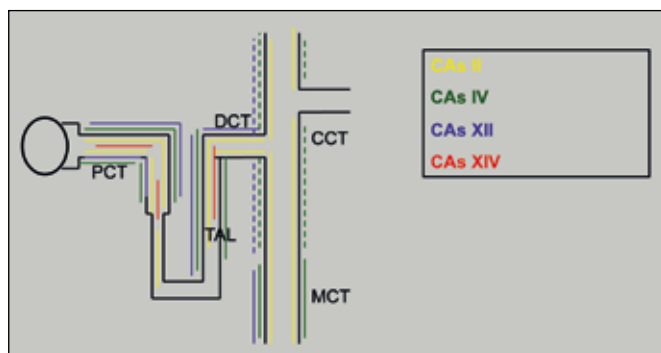


Fig. 2 - Localizzazione delle Anidrase carboniche lungo il nefrone.

elevato, determinano la precipitazione di cristalli di fosfato di calcio, aumentando il rischio di nefrocalcinosi e/o nefrolitiasi. Inoltre, il loro effetto sull'osso determinerà un'importante riduzione del contenuto minerale, tramite alterazioni funzionali degli osteoblasti ed osteoclasti, tra le quali merita senz'altro di essere menzionato lo stimolo indotto dall'acidosi metabolica a livello osteoblastico per l'espressione di RANKL che interagisce con RANK a livello osteoclastico con conseguente stimolazione del riassorbimento osseo, determinando così alterazioni nella densità, nella formazione e nella crescita ossea (21, 22).

Un quadro simile alla ATR di tipo 3 (21) è quello che si osserva a livello tubulo interstiziale nel trattamento con i farmaci inibitori delle anidrase carboniche.

Recentemente sono state identificate a livello renale le seguenti isoforme: la CAs II, CAs IV, CAs XII e CAs IX (Fig. 2) (15).

La CAs II rappresenta l'isoforma predominante, responsabile del 95% dell'attività catalitica a livello renale, ed è espressa in tutto il nefrone ad eccezione del tratto ascendente sottile dell'ansa di Henle. Il restante 5% dell'attività enzimatica a livello renale dipende da 2 proteine integrali di membrana: le isoforme CAs IV e CAs XII (12, 15).

La CAs IV è legata alla membrana attraverso un ponte glicosfingolipidico ed è espressa nel tubulo prossimale e nel tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle, sia a livello apicale che basolaterale, mentre è espressa solo a livello apicale dalle cellule intercalate di tipo A del dotto collettore corticale e dalle cellule del dotto collettore midollare. L'CAs IV a livello apicale catalizza la reazione di deidratazione di HCO_3^- . Non appare ancora chiaro il ruolo svolto dalla CAs IV a livello basolaterale.

Numerosi lavori suggeriscono che la CAs IV poi, attraverso la deidratazione di HCO_3^- , protegge la membrana basolaterale da rapide ed estreme fluttuazioni di pH determinate dal cotrasportatore elettrogenico sodio-bicarbonato (NBCe1-A) (9, 10).

La CAs XII è una proteina transmembrana con il dominio catalitico N-terminale extracellulare, localizzata esclusivamente sulla membrana basolaterale del tubulo prossimale, del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle (TAL), tubulo convoluto distale (DCT) e nelle cellule principali del dotto collettore. Sembra che a livello del TAL e del DCT svolga un'azione simile a quella dell'CAs IV, minimizzando le fluttuazioni del pH determinate da NBCe1-A (9, 10).

Recenti studi hanno inoltre dimostrato come spesso le isoforme II e IV possano associarsi al dominio C-terminale di HCO_3^- trasportatori (AE1, k NBC1, NBC3, SCL4, ecc...) ed antiporti come NHE1, per formare proteine complesse di membrana coinvolte nel metabolismo e nel trasporto dei bicarbonati, chiamati "transport metabolon" (15).

Il deficit enzimatico dovuto a mutazioni inattivanti la CAs II evidenzia il ruolo centrale dell'enzima nel meccanismo di acidificazione, determinando un quadro di acidosi tubulare renale prossimale e distale detta acidosi tubulare renale mista (RTA tipo 3), associato a deficit funzionale degli osteoclasti, fratture ricorrenti, calcificazioni cerebrali (7).

Il topiramato, così come gli altri farmaci che agiscono sulla CAs, seppur consigliato a dosaggi terapeutici si associano ad un maggior rischio di sviluppare questa tubulopatia. Mirza et al suggeriscono che polimorfismi genetici nei geni della CAs II, CAs IV e CAs XII possano rappresentare dei fattori predisponenti allo sviluppo di acidosi metabolica e nefrolitiasi (6).

Prevenzione e Terapia

Il trattamento nelle fasi iniziali di questo tipo di nefrolitiasi consiste nella somministrazione di agenti alcalinizzanti come il bicarbonato o il citrato e la correzione dell'ipopotassiemia quando presente. Un trattamento precoce eviterà il deposito di cristalli di fosfato di calcio quasi prevalentemente lungo il tratto ascendente dell'ansa di Henle e ed eviterà ulteriori danni tubulo interstiziali secondari non solo al rimaneggiamento degli elettroliti bivalenti già menzionati ma anche di altri meccanismi propri di questo segmento midollare (23, 24).

Concludiamo che la ATR distale, sia primitiva che secondaria, è un'alterazione frequente nei nostri Ambulatori. Un precoce riconoscimento, ed una precoce identificazione di nuovi e vecchi farmaci predisponenti a questa tubulopatia possono prevenire ripercussioni renali ed ossee, permettendo un'evoluzione ed una prognosi favorevole con un corretto trattamento farmacologico (25-27).

Riassunto

La nefrolitiasi è una malattia cronica e recidivante che interessa dal 6% al 10% della popolazione generale. Esiste un'associazione diretta tra difetti di acidificazione tubulare nefrolitiasi e nefrocalcinosi. L'acidosi tubulare determina ipercalcemia ed ipocitratemia, fattori che insieme al pH urinario alcalino favoriscono la precipitazione di cristalli di fosfato di calcio. I difetti di acidificazione possono essere secondari a numerose patologie ma anche essere di natura iatrogena. Sono numerosi i farmaci noti e meno noti che possono determinare un quadro simile all'acidosi tubulare renale distale (ATRd) incompleta. È pertanto doveroso sospettare di fronte ad un soggetto con nefrolitiasi e/o microcalcificazioni la presenza di un disturbo tubulare primitivo o secondario.

Parole chiave: Nefrolitiasi, Nefrocalcinosi, ATRd, Calcoli di fosfato di calcio, Anidrase Carbonica



Dichiarazione di conflitto di interessi: Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

Contributi economici degli autori: Gli Autori dichiarano di non avere ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo.

Indirizzo degli autori

Dr.ssa Manuela Cannone
UOC Nefrologia e Dialisi
D.U. Ospedale Civile maggiore B. Trento
P.le Stefani 1
37126 Verona
manuela.cannone@yahoo.it
antonio.lupo@univr.it

Bibliografia

1. Adriano R. Epidemiology of Nephrolithiasis. *J Nephrol* 2000; 13 (Suppl 3): S45-S50.
2. Martin K, Goldfarb S. Renal bone disease, disorders of divalent ions, and nephrolithiasis. *NephSAP* 6, 2007.
3. Lang F. Regulation of renal drug elimination? *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1535-6.
4. Perazella MA et al. Nephrotoxicity of Chemotherapy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 1713-21.
5. Shank RP, Gardocki JF, Streeter AJ, Maryanoff BE. An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action. *Epilepsia* 2000; 41: S3-S9.
6. Mirza N, Marson AG, Pirmohamed M. Effect of topiramate on acid-base balance: extent, mechanism and effects. *Br J Clin Pharmacol* 2009; 68: 655-61.
7. Lhatoo SD. The safety and adverse event profile of topiramate. *Rev Contemp Pharmacotherapy* 1999; 10: 185-91.
8. Wasserstein AG, Rak I, Reife RA. Nephrolithiasis during treatment with topiramate. *Epilepsia* 1995; 36: S153-53.
9. Barnett SM, Jackson AH, Braden GL, et al. Nephrolithiasis and nephrocalcinosis in children taking topiramate for seizures. New Orleans: American Epilepsy Society 2004.
10. Takhar J. Nephrolithiasis on topiramate therapy. *Can J Psychiatry* 2000; 45: 491-3.
11. Natsch S. Newer anticonvulsant drugs: role of pharmacology, drug interactions and adverse reactions in drug choice. *Drug Safe* 1997; 17: 228-40.
12. Nijenhuis T, Renkema KY, Bindels RJM. Acid-base status determines the renal expression of Ca²⁺ and Mg²⁺ transport proteins. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 617-26.
13. Frick KK, Bushinsky DA. Effect of metabolic and respiratory acidosis on intracellular calcium in osteoblasts. *Am J Renal Physiol* 2010; 299: 418-25.
14. Ohlsson A, Cumming WA, Paul A, Sly WS. Carbonic anhydrase II deficiency syndrome: recessive osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcification. *Pediatrics* 1986; 77: 371-81.
15. Boron WF. Evaluating the role of carbonic anhydrases in the transport of HCO₃⁻ related species. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1804: 410-21.
16. Gilmour KM. Perspectives on carbonic anhydrase. *Comp Biochem Physiol* 2010; part A 157: 193-7.
17. Purkenson JM, Schwartz GJ. The role of carbonic anhydrases in renal physiology. *Kidney Int* 2007; 71(2): 103-15.
18. DuBose TD Jr. Hyperkalemic hyperchloremic metabolic acidosis: Pathophysiologic insights. *Kidney Int* 1997; 51: 591-600.
19. Hamm LL. Renal handling of citrate. *Kidney Int* 1990; 38: 728-35.
20. Barbey F, Nseir G, Ferrier C, Daundon M. Carbonic anhydrase inhibitors and calcium phosphate stones. *Nephrologie* 2004; 25: 169-72.
21. Hamm LL. Renal handling of citrate. *Kidney Int* 1990; 38: 728-35.
22. Riihonen R, Supura T. Membrane-bound carbonic anhydrases in osteoclasts. *Bone* 2007; 40: 1021-31.
23. Welch BJ, Graybeal D, Moe OW, Maalouf NM, Sakhaee K. Biochemical and stone risk profiles with topiramate treatment. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 555-63.
24. Winum JP, Poulsen SA, Supuran CT. Therapeutic applications of glycosidic carbonic anhydrase inhibitors. *Med Res Rev* 2009; 29: 419-35.
25. Grieff M, Bushinsky DA. Diuretics and disorders of calcium homeostasis. *Semin Nephrol* 2011; 31: 535-41.
26. Fredric L. The pathogenesis and treatment of kidney stones. *N Engl J Med* 1992; 327: 1141-50.
27. Kossoff EH, Pyzik PL, Furth SL, Hladky HD, Freeman JM, Vining EP. Kidney stones, carbonic anhydrase inhibitors and the ketogenic diet. *Epilepsia* 2002; 43: 1168-71.