

vono per la digestione dei principi nutritivi fondamentali (carboidrati, proteine e lipidi) degli alimenti, mentre il bicarbonato serve a neutralizzare il contenuto acido dello stomaco e a rendere il pH ottimale per l'attivazione degli enzimi digestivi.

- ❖ Il **fegato** svolge numerose funzioni, tra cui quelle di regolazione, sintesi e secrezione, immagazzinamento, detossificazione ed escrezione di xenobiotici, contrasto delle infezioni. Il fegato produce inoltre la **bile**, che viene immagazzinata e concentrata nella cistifellea. I suoi sali biliari facilitano la digestione dei lipidi. Essi vengono poi riassorbiti nell'ileo terminale per ritornare al fegato mediante la circolazione enteroepatica. La secrezione della bile è regolata dalla colecistochinina e dalla secretina.
- ❖ L'assorbimento di tutti i principi nutritivi avviene a livello dell'**intestino tenue**, che ha una superficie assorbente amplificata dalla presenza di villi e microvilli.
- ❖ I **carboidrati alimentari** subiscono una prima digestione enzimatica da parte dell' $\alpha$ -amilasi salivare e pancreatica e, successivamente, dalle disaccaridasi presenti sulla membrana microvillare delle cellule epiteliali assorbenti. I prodotti di questa digestione vengono assorbiti a livello della membrana luminale dell'enterocito mediante un sistema di cotrasporto sodio-dipendente o di trasporto facilitato. Una volta in cellula, questi monosaccaridi passano nel sangue attraverso la membrana basolaterale mediante sistemi di trasporto facilitato.
- ❖ Le **proteine** vengono prima digerite dalle proteasi della mucosa gastrica e del pancreas, che le trasformano in medi e piccoli peptidi. Le peptidasi dell'orletto a spazzola dell'enterocito li convertono in aminoacidi liberi e di- e tripeptidi, che possono essere assorbiti mediante trasportatori specifici. Una volta in cellula, i piccoli peptidi vengono ulteriormente scissi da peptidasi citosoliche in aminoacidi liberi, per poi passare nel circolo sanguigno attraverso la presenza di trasportatori specifici sulla membrana basolaterale dell'enterocito.
- ❖ I **lipidi o grassi neutri** prima di essere assorbiti devono subire un processo di emulsione da parte dei sali biliari, che li trasformano in piccole goccioline lipidiche attaccabili poi enzimaticamente dalla

lipasi pancreatiche. I prodotti della digestione lipidica, acidi grassi liberi, due monogliceridi e colesterolo, insieme ai sali biliari vanno a costituire le micelle miste, che diffondono verso la membrana microvillare dell'enterocito per essere assorbite. Una volta all'interno dell'enterocito, trigliceridi e fosfolipidi vengono risintetizzati e assemblati in chilomicroni rivestiti da lipoproteine, che poi escono dalla cellula per esocitosi ed entrano nei vasi linfatici per giungere infine nella circolazione generale.

- ❖ L'**acqua** viene assorbita in seguito al gradiente osmotico creato dal trasporto di sali di sodio (cloruro di sodio) e di sodio insieme a soluti organici (glucosio e aminoacidi). La *driving force* per il trasporto di sodio è rappresentata dal gradiente elettrochimico del sodio creato dalla pompa sodio/potassio-ATPasi basolaterale. Il passaggio dell'acqua nelle membrane cellulari è facilitato dalla presenza di proteine transmembrinarie chiamate acquaporine.
- ❖ L'assorbimento del **calcio** e del **ferro**, la cui entità dipende strettamente dalle necessità dell'organismo, richiede la presenza di specifici sistemi di trasporto.
- ❖ Le **vitamine liposolubili** (A, D, K) vengono assorbite per semplice diffusione insieme ai lipidi nei chilomicroni, mentre quelle **idrosolubili** (vitamine B e C) utilizzano sistemi di trasporto specifici. La vitamina B<sub>12</sub>, assorbita a livello dell'ileo terminale, utilizza un meccanismo di endocitosi mediata da recettore e richiede il legame con il fattore intrinseco prodotto dalle cellule parietali della mucosa gastrica.
- ❖ Nel **colon** si verificano sia l'assorbimento sia la secrezione di soluti e acqua.
- ❖ L'assorbimento di **sali di sodio** può essere mediato da meccanismi sia elettroneutri sia elettrogenici, avvalendosi della presenza, nel primo caso, di due controtrasportatori sodio/idrogeno e cloro/bicarbonato, che agiscono in parallelo sulla membrana luminale, nel secondo caso del canale del sodio ENaC, amiloride-sensibile, sulla membrana luminale; l'assorbimento di sodio può essere regolato dall'aldosterone. La secrezione di sali di sodio e acqua utilizza un cotrasportatore sodio/potassio/due ioni cloro, sulla membrana basolaterale del colonocito, e un canale apicale del cloro (CFTR).

# 22

## SISTEMA RENALE: OSMOREGOLAZIONE ED ESCREZIONE

Mentre negli organismi unicellulari il mezzo extracellulare è rappresentato dall'acqua in cui vivono (dei mari o dei fiumi, per esempio), negli organismi pluricellulari si è evoluto un esteso sistema di compartimenti liquidi corporei extracellulari la cui composizione e osmolarità devono essere accuratamente controllate per consentire il corretto funzionamento cellulare. Per fare alcuni esempi, un calo del volume ematico compromette la gittata cardiaca e la perfusione tissutale, un aumento dei liquidi extracellulari causa edema, modifiche del pH di decimi di unità portano a gravi disfunzioni cellulari soprattutto a livello cerebrale e così via.

Numerose funzioni cellulari e d'organo comportano modifiche del liquido extracellulare. Le cellule, con il loro metabolismo, assorbono nutrienti e immettono in circolo prodotti di scarto. Il fegato interconverte numerosi metaboliti (cfr. Capitoli 21 e 24). I polmoni modificano la pressione parziale di anidride carbonica del sangue e con essa il pH (cfr. Capitoli 20 e 23). L'intestino assorbe metaboliti e numerose ghiandole esocrine ed endocrine secernono liquidi e soluti nel tubo digerente o sulla superficie corporea o direttamente in circolo (cfr. Capitoli 16 e 21). Ne deriva che, a fronte della sua necessaria stabilità, la composizione dei liquidi extracellulari è continuamente soggetta a modifiche.

Buona parte delle regolazioni omeostatiche del cosiddetto *mezzo interno* riguardano proprietà chimico-fisiche dei liquidi extracellulari. Queste comprendono il volume del comparto extracellulare, la sua osmolarità e pH, la sua composizione ionica e il suo contenuto in molecole a significato metabolico, di trasporto e di segnalazione (ormoni e trasmettitori).

La rimozione degli scarti comporta spesso la perdita di notevoli quantità di acqua e ha, quindi, importanti riflessi sulle condizioni osmotiche dei liquidi corporei. Per questa ragione i processi osmoregolativi e l'eliminazione degli scarti vengono trattati insieme in questo capitolo. L'organo che primariamente svolge questi compiti nei Vertebrati è il *rene*, anche se in alcuni animali anche altre strutture, quali l'intestino e le branchie nei Pesci, o le ghiandole del sale negli Uccelli marini, possono partecipare ai processi osmoregolativi. Un importante contributo al controllo dei metaboliti presenti nel sangue viene dato dal fegato (cfr. Capitolo 21). Un ulteriore controllo

sulla composizione gassosa (ossigeno e anidride carbonica) è fornito dalla respirazione (cfr. Capitolo 20).

A livello cellulare, squilibri osmotici portano a variazioni di volume che hanno riflessi importanti sulla funzionalità delle cellule. Anche a questo livello esistono meccanismi omeostatici che tendono a contrastare questo tipo di perturbazioni riportando il volume cellulare alle condizioni normali attraverso l'attivazione di sistemi di trasporto di membrana (cfr. Capitoli 3 e 6).

Prima di trattare i processi alla base dell'escrezione degli scarti e della regolazione osmotica dei fluidi corporei da parte del rene e di altri organi, viene esaminata la regolazione del volume cellulare.

### REGOLAZIONE DEL VOLUME CELLULARE

La membrana plasmatica è altamente permeabile all'acqua ed è poco resistente alla pressione idrostatica. Pertanto, quando è presente una differenza di concentrazione di sostanze osmoticamente attive (dette *osmoliti*) tra gli ambienti intra- ed extracellulari, si generano flussi di acqua a causa del gradiente osmotico. Un eccesso intracellulare di osmoliti favorisce l'entrata di acqua nella cellula con conseguente rigonfiamento cellulare, mentre l'eccesso extracellulare di osmoliti provoca una perdita di acqua dalla cellula che, quindi, diminuisce di volume. Ne consegue che il volume di una cellula in un determinato momento dipende dall'equilibrio esistente tra il contenuto intracellulare di soluti osmoticamente attivi e l'osmolarità del liquido extracellulare. In altre parole, il volume cellulare dipende dal movimento, attraverso la membrana cellulare, dell'acqua, la quale segue il proprio gradiente osmotico.

### OSMOSI

Il fenomeno dell'osmosi ha luogo quando una membrana semipermeabile separa due soluzioni con diversa concentrazione di soluti. Una membrana semipermeabile ideale è quella che si lascia permeare dall'acqua e non dai soluti. In queste condizioni l'acqua si muoverà dalla soluzione in cui i soluti hanno una concentrazione minore

verso quella in cui hanno concentrazione maggiore sino al raggiungimento dell'equilibrio della concentrazione di soluti tra i due compartimenti. L'acqua si muove quindi secondo il suo gradiente di concentrazione, che è maggiore nella soluzione dove i soluti sono più diluiti.

Il flusso osmotico di acqua può essere prevenuto se si applica una pressione idrostatica contraria. La pressione richiesta per bloccare il passaggio di acqua è chiamata *pressione osmotica* ed è definita dall'equazione di van't Hoff:

$$\Pi = i M R T \quad (22.1)$$

dove  $\Pi$  è la pressione osmotica,  $R$  la costante dei gas,  $T$  la temperatura assoluta,  $M$  la concentrazione molare del soluto e  $i$  un fattore che tiene conto del grado di dissociazione del soluto. La legge di van't Hoff esprime il principio secondo il quale la pressione osmotica è dipendente dalla concentrazione totale di particelle di soluto disciolto.

I termini *osmolalità* e *osmolarità* indicano la quantità totale (in moli) di particelle presenti in 1 kg di solvente e 1 l di soluzione, rispettivamente. Una *osmole* (Osm) rappresenta, quindi, un numero di Avogadro pari a  $6,02 \cdot 10^{23}$  di particelle individuali. I concetti di osmolalità e osmolarità sono utilizzati indifferentemente quando ci si riferisce a soluzioni relativamente diluite di un organismo animale.

Il flusso di acqua attraverso la maggior parte delle membrane biologiche avviene mediante un meccanismo di semplice diffusione attraverso il film lipidico. Tuttavia, alcune cellule possiedono proteine specializzate che formano pori transmembranari selettivi all'acqua e che sono chiamate *aquaporine* (cfr. Capitoli 6 e 21). Le aquaporine aumentano drammaticamente la permeabilità all'acqua delle membrane cellulari.

### REGOLAZIONE DEL VOLUME CELLULARE IN CONDIZIONI ISOTONICHE

La maggior parte delle cellule dell'organismo si trova fisiologicamente esposta a condizioni di isotonia rispetto all'ambiente extracellulare.

L'isotonia viene mantenuta attraverso una fine rego-

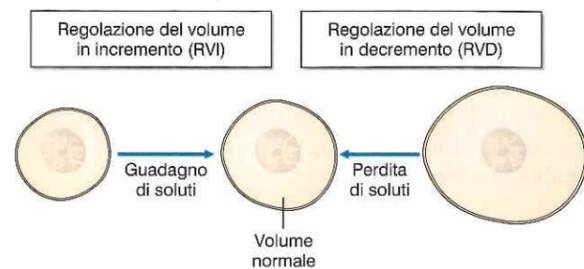


Figura 22.1 - Le cellule attivano i meccanismi di regolazione del volume in risposta a perturbazioni del volume. Il decorso temporale di RVD e RVI cambia al variare del tipo di cellula e delle condizioni sperimentali. Tuttavia, generalmente RVI, mediata dall'*uptake* di elettroliti, e RVD, mediata dalla perdita di elettroliti e osmoliti organici, avvengono in un periodo di minuti.

lazione della concentrazione ionica citoplasmatica da parte della cellula. Infatti, la presenza nella cellula di grossi anioni impermeanti (per esempio, proteinati, acidi nucleici e organofosfati) esercita una forza osmotica che, se non attivamente contrastata, darebbe luogo a una distribuzione di ioni tra l'ambiente intracellulare e l'ambiente extracellulare secondo l'equilibrio di Gibbs-Donnan (cfr. Capitolo 4), che prevede un'osmolarità maggiore nell'ambiente in cui sono presenti gli ioni impermeanti (ambiente intracellulare).

In realtà, l'equilibrio di Gibbs-Donnan non viene mai raggiunto grazie alla presenza sulla membrana cellulare della *pompa sodio/potassio* ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi), che permette l'instaurarsi di uno stato stazionario (cfr. Capitolo 4) che richiede una concentrazione intracellulare di anioni inorganici minore rispetto all'ambiente extracellulare, compensando in questo modo l'effetto dei proteinati impermeanti in essa contenuti.

### REGOLAZIONE DEL VOLUME CELLULARE IN CONDIZIONI ANISOTONICHE

Nei Mammiferi l'osmolarità dei fluidi corporei si aggira normalmente attorno a 285 mOsm/kg $\text{H}_2\text{O}$  ed è regolata entro ristretti limiti ( $\pm 3\%$ ) da meccanismi omeostatici.

Esistono, tuttavia, alcuni tipi cellulari che fisiologicamente sono esposti a condizioni di *anisotonia*, cioè di variabilità dell'osmolarità. Un esempio può essere offerto dalle cellule dell'epitelio intestinale e dalle cellule del sangue che attraversano i capillari intestinali, le quali sono esposte a ipotonicità dopo un'eccessiva assunzione di acqua. Un altro esempio è quello delle cellule degli epite- li assorbenti e secernenti, nelle quali il trasporto di soluti organici e di ioni può comportare un aumento della concentrazione intracellulare di queste sostanze e può, quindi, rappresentare anch'esso una sfida ai meccanismi di regolazione del volume cellulare.

Nel momento in cui si viene a creare un gradiente osmotico tra l'interno e l'esterno della cellula varia conseguentemente il volume cellulare in aumento o in diminuzione secondo la direzione del flusso di acqua, rispettivamente in ingresso o in uscita.

La maggior parte delle cellule animali ha la capacità di compensare le variazioni del volume cellulare e di riportarlo alle condizioni originarie dopo che il cambiamento si è verificato. Il meccanismo generale attraverso cui questo fenomeno si realizza è altamente conservato nel corso dell'evoluzione ed è simile anche in tipi cellulari differenti. Questo meccanismo include un *datore del volume cellulare*, un *sistema di segnalazione intracellulare* accoppiato al datore e, infine, *trasportatori di membrana* che, tramite il rilascio o l'assunzione di sostanze osmoticamente attive - principalmente ioni inorganici come  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  o piccole molecole organiche denominate *osmoliti organici* - dissipano i gradienti osmotici. Questi fenomeni vanno sotto il nome di regolazione del volume in decremento (*regulatory volume decrease*, RVD) e regolazione del volume in incremento (*regulatory volume increase*, RVI) (Fig. 22.1).

### Meccanismi di trasporto di elettroliti e osmoliti organici

La perdita e il guadagno di elettroliti che regolano il volume cellulare attraverso i meccanismi RVD e RVI sono mediati esclusivamente da processi di trasporto operanti sulle membrane cellulari.

Nella maggior parte delle cellule animali, la regolazione del volume RVD avviene attraverso la perdita di cloruro di potassio (KCl), mediante l'attivazione separata di canali ionici del  $\text{K}^+$  e del  $\text{Cl}^-$ , o mediante l'attivazione del cotrasportatore  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$ . Mentre i canali del  $\text{K}^+$  sono abbastanza selettivi per il  $\text{K}^+$ , i canali anionici si lasciano permeare da  $\text{Cl}^-$ , bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e osmoliti organici.

RVI avviene attraverso l'assorbimento di KCl e cloruro di sodio (NaCl). Questi sali vengono accumulati in cellula mediante l'attivazione dei cotrasportatori  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  e  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ , oppure del cotrasportatore  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ .

I sistemi di trasporto comunemente coinvolti nella regolazione del volume cellulare sono rappresentati nella figura 22.2. L'attivazione di questi sistemi di trasporto è rapida e avviene entro pochi secondi o minuti dopo che si è verificata la perturbazione nel volume cellulare. La rapida stimolazione del trasporto degli elettroliti è possibile perché i canali e i trasportatori che la mediano risiedono continuamente nelle membrane plasmatiche oppure sono conservati in vescicole citoplasmatiche aggan- ciate al citoscheletro subito al di sotto della membrana cellulare.

Nell'omeostasi del volume cellulare giocano un ruolo chiave anche gli osmoliti organici. Il loro accumulo è mediato sia da trasporti energia-dipendenti dal mezzo esterno sia da variazioni nelle velocità della loro sintesi e degradazione (Fig. 22.3). L'accumulo degli osmoliti organici in risposta alla regolazione del volume cellulare è un processo lento rispetto all'assorbimento di elettroliti e richiede molte ore dopo l'attivazione iniziale per raggiungere la sua completezza. Questo ritardo è dovuto al fatto che l'attivazione delle vie di accumulo degli osmoliti organici usualmente richiede processi di trascrizione e traduzione di geni che codificano per i relativi trasportatori e per la sintesi degli enzimi coinvolti.

La perdita degli osmoliti organici dalle cellule è dovuta al rigonfiamento cellulare e occorre in due distinti passaggi. Innanzitutto, il rigonfiamento induce un incremento molto rapido (cioè in termini di secondi) nell'efflusso passivo di osmoliti organici. In secondo luogo, la perdita degli osmoliti organici dalla cellula può essere dovuta a una riduzione della sintesi e dell'attività dei meccanismi di assorbimento di questi soluti. Nel suo complesso questo processo è lento: il rigonfiamento cellulare inibisce la trascrizione dei geni che codificano per i trasportatori degli osmoliti organici e degli enzimi coinvolti nella loro sintesi; non appena la trascrizione diminuisce, i livelli di RNA messaggero calano e il numero delle proteine funzionali diminuisce in un tempo che va da molte ore sino a giorni.

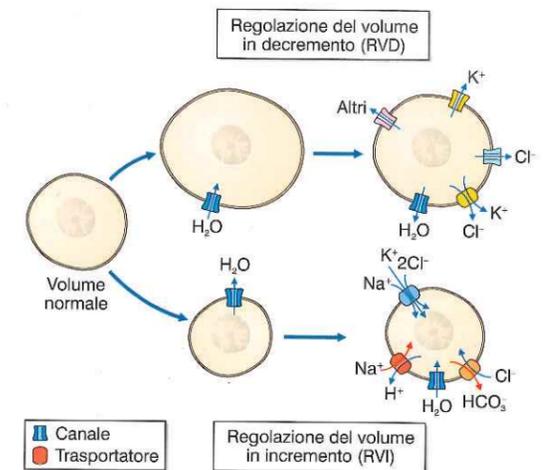


Figura 22.2 - La perdita e l'accumulo di elettroliti nella regolazione del volume cellulare sono mediati da variazioni nell'attività di trasportatori e canali presenti sulla membrana.

### Sensori del volume cellulare e trasduttori del segnale

Per spiegare i meccanismi di autoregolazione del volume cellulare è stato introdotto il concetto di sensore del volume. Questo concetto postula che le alterazioni del volume cellulare inneschino segnali che portano a variazioni conformazionali transitorie negli ipotetici sensori del volume, i quali, a propria volta, generano segnali accoppiati all'attivazione di trasportatori o canali ionici coinvolti nei processi RVD e RVI.

### Meccanismi di segnalazione della variazione del volume cellulare

Per quanto riguarda i meccanismi molecolari alla base dei segnali responsabili delle risposte regolatorie alle variazioni del volume, maggiori chiarimenti sono venuti da studi su batteri e cellule renali.

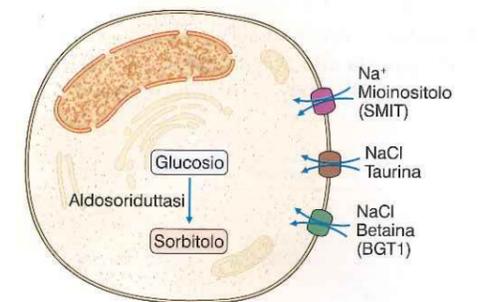
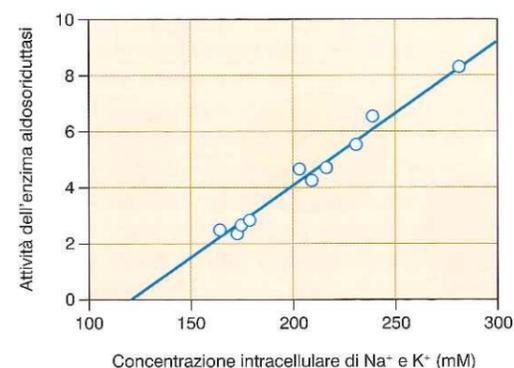


Figura 22.3 - Meccanismi di trasporto coinvolti nell'accumulo di osmoliti organici. L'accumulo di osmoliti organici nella regolazione del volume cellulare nelle cellule animali è mediato in larga misura da variazioni nell'attività dei trasportatori di membrana accoppiati al sodio e nella velocità di sintesi e degradazione.

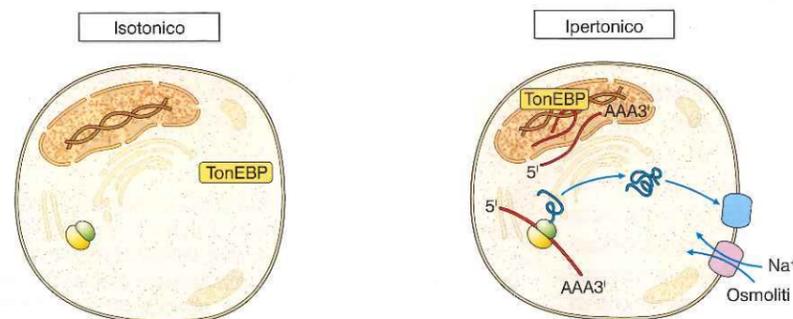


**Figura 22.4** - Relazione lineare tra l'attività dell'enzima aldosidrossidasi (AR) e la forza ionica intracellulare. In seguito a rimpicciolimento ipertonico, l'aumento della concentrazione totale intracellulare di sodio (Na<sup>+</sup>) e potassio (K<sup>+</sup>) stimola la trascrizione del gene codificante per l'enzima AR, il quale media l'incremento nella sintesi di sorbitolo che si accumula in cellula partecipando alla regolazione del volume in incremento (ridisegnata da S. Uchida et al., Signal for induction of aldose reductase in renal medullary cells by high external NaCl, Am J Physiol 256: C614-20, 1989).

I meccanismi mediante i quali lo stress ipertonico induce un incremento dell'espressione dei geni che codificano per i trasportatori degli osmoliti organici e per gli enzimi coinvolti nella loro sintesi è stato molto studiato nel rene. I principali osmoliti organici presenti nella midollare ipertonica del rene di Mammiferi risultano essere il sorbitolo, la betaina e il mioinositolo. Il sorbitolo è accumulato grazie alla sua incrementata sintesi mediata dall'enzima aldosidrossidasi (AR). L'accumulo della betaina e del mioinositolo è mediato dal trasporto dallo spazio extracellulare attraverso i cotrasportatori Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>/betaina (*betain/GABA transporter 1*, BGT1) e Na<sup>+</sup>/mioinositolo (*sodium-myo-inositol co-transporter*, SMIT) (cfr. Fig. 22.3).

Si ritiene che l'incremento nella forza ionica intracellulare in seguito alla riduzione di volume ipertonica e il susseguente RVI siano responsabili dell'inizio della trascrizione dei geni. Per esempio, è stata osservata una relazione lineare tra l'attività di AR e la concentrazione intracellulare totale di Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> (Fig. 22.4).

In risposta allo *shock* ipertonico, il fattore di trascrizione TonEBP (*tonic-responsive-enhancer binding pro-*



**Figura 22.5** - Regolazione dell'espressione genica mediante TonEBP.

*tein*) trasloca dal citoplasma nel nucleo, dove si va a legare ai geni che contengono i siti del gene regolatore TonE (Fig. 22.5). Questi due processi, la traslocazione e il legame di TonEBP, possono essere mediati dall'aumento della forza ionica intracellulare.

#### Meccanismi di trasduzione

Analogamente ai meccanismi di segnalazione con cui la cellula rileva l'iniziale variazione del volume cellulare, a tutt'oggi esiste poca chiarezza riguardo ai meccanismi di segnalazione mediante i quali le variazioni del volume sono trasdotte in risposte regolatorie.

Numerose vie di trasduzione del segnale sono state implicate nel controllo delle vie di trasporto regolatorie del volume, tra cui le variazioni della concentrazione intracellulare di calcio (Ca<sup>2+</sup>), l'attività di GTPasi, lo stato di fosforilazione/defosforilazione di serina/treonina e tirosina e i livelli degli eicosanoidi.

### REGOLAZIONE OSMOTICA NEGLI ORGANISMI IN RELAZIONE ALL'AMBIENTE

In un animale pluricellulare la regolazione osmotica si attua essenzialmente a livello di organismo, tra gli ambienti interni extracellulari e l'ambiente esterno.

Scopo della regolazione osmotica è dunque quello di bilanciare le perdite e le entrate di acqua e di sali che possono verificarsi dall'organismo verso l'ambiente esterno e viceversa. Ciò è vero tanto in ambiente acquatico quanto in ambiente terrestre, sebbene intervengano diversi fattori e meccanismi.

#### AMBIENTE ACQUATICO

L'ambiente acquatico comprende sia le acque salate sia quelle dolci che, nel caso specifico dell'osmoregolazione, possono essere differenziate in relazione alla concentrazione di sali disciolti: maggiori nelle prime, minori nelle seconde.

Un organismo che viva in acqua di mare possiede liquidi extracellulari generalmente iposmotici rispetto

all'ambiente esterno, mentre un organismo di acqua dolce si trova in condizioni di iperosmoticità.

Nel primo caso, si verificherà una perdita di acqua dall'organismo verso l'esterno che dovrà essere compensata da un ingresso di acqua in senso contrario, seguita da un'entrata di sali. Di conseguenza, la concentrazione di sali nei liquidi extracellulari aumenterà e dovranno intervenire meccanismi che eliminino gli eccessi.

In acqua dolce, si avrà la situazione opposta, per cui il problema per l'organismo sarà rappresentato dalla tendenza a introdurre acqua per osmosi e a perdere - principalmente attraverso l'abbondante escrezione - sali, che dovranno essere reintegrati.

Gli organismi acquatici possono essere classificati come *osmoregolatori* od *omeosmotici*, se sono in grado di mantenere costanti le concentrazioni di acqua e di sali al variare delle condizioni ambientali esterne, oppure come *osmoconformi* o *peilosmotici*, se incapaci di opporsi al cambiamento (cfr. Capitolo 2). La capacità o meno di contrastare gli effetti delle variazioni ambientali è dovuta alla presenza o all'assenza di meccanismi fisiologici essenzialmente rappresentati da trasporti di acqua e di soluti.

#### AMBIENTE TERRESTRE

Il mezzo in cui vivono gli organismi a vita subaerea è l'aria: un miscuglio di gas contenente percentuali variabili di vapor acqueo espresse in termini di umidità relativa. In base a questo parametro, gli ambienti terrestri possono esseri suddivisi in ambienti umidi e secchi.

In entrambi i casi il problema più grave a cui tutti gli esseri a vita terrestre devono far fronte è la disidratazio-

ne. In relazione alla perdita passiva di acqua verso l'esterno dell'organismo, gli animali terrestri possono essere assimilati agli animali acquatici iposmotici e come per essi devono esistere meccanismi osmoregolatori che consentano di attuare il bilancio idrico e dei soluti osmoticamente attivi ai fini della loro sopravvivenza.

A livello delle superfici corporee (cute, tratti respiratori) si verifica una perdita passiva e incontrollata di acqua attraverso l'evaporazione: un parametro difficilmente valutabile sia nella quantità sia nella velocità, in quanto dipendente da numerose variabili quali la temperatura, l'umidità relativa, i movimenti convettivi, la densità, la direzione dell'aria oltre che la curvatura della superficie interessata al fenomeno (cfr. Capitolo 24).

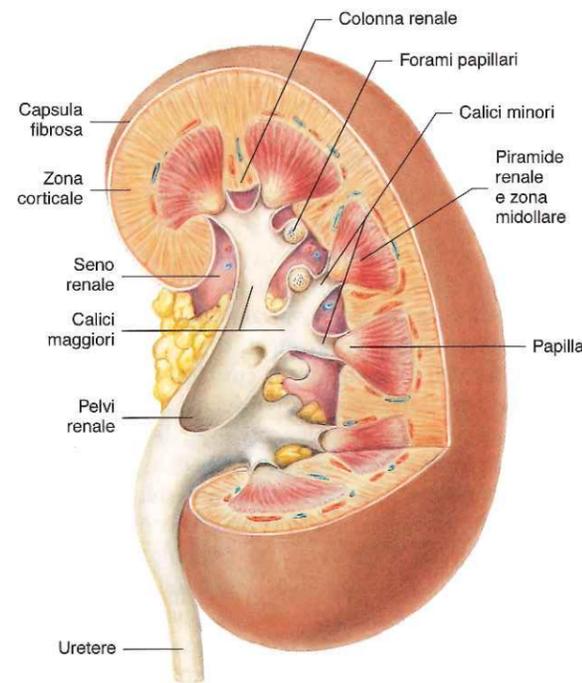
Il ritmo di perdita di acqua attraverso le vie respiratorie dipende dalle differenze di tensione di vapore tra l'interno del tratto respiratorio e l'ambiente esterno e dall'entità della ventilazione. Non è possibile controllare e/o regolare la quota di acqua persa (cfr. Capitolo 20).

Altre perdite di acqua dall'organismo si verificano nei tratti intestinali e renali durante la formazione delle feci o delle urine. Questa secrezione è però compensata dal recupero di liquidi, nei medesimi distretti, grazie alla presenza di efficienti sistemi di riassorbimento (cfr. Capitolo 21). Il tratto gastrointestinale, come quello renale, è inoltre deputato, in genere, all'assorbimento e all'eliminazione dei soluti osmoticamente attivi.

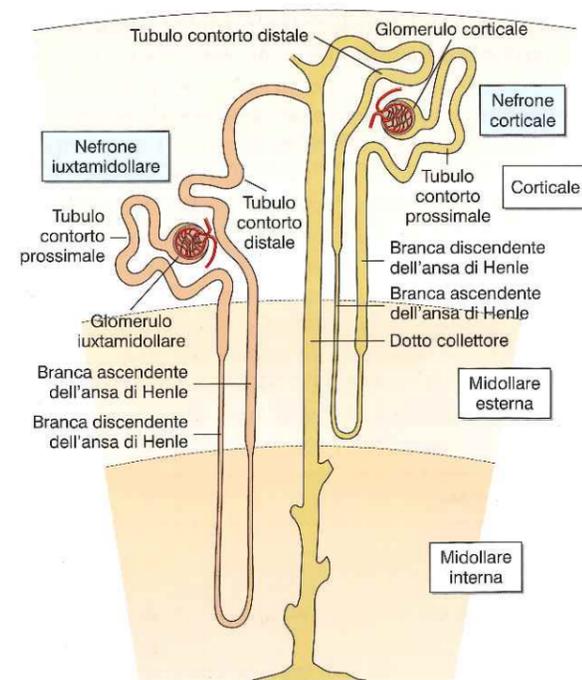
Nei Vertebrati terrestri, agli adattamenti fisiologici che consentono la regolazione osmotica spesso si associano adattamenti comportamentali per ridurre le perdite di acqua in ambienti dove sia particolarmente difficile l'approvvigionamento idrico.

Ordini/classi animali	Organi renali	Filtrazione	Riassorbimento
Insetti	Tubuli malpighiani e intestino posteriore	Tubi di Malpighi	Pareti postintestino
Platelminti			
Nemertini			
Gastrotrichi	Protonefridi	Cellule a fiamma oppure solenociti	Pareti dei tubuli nefridiali
Rotiferi			
Cefalocordati			
Anellidi			
Crostacei	Metanefridi	Attraverso peritoneo che riveste la cavità celomatica	Tubulo nefridiale
Molluschi			
Vertebrati	Nefroni	Glomerulo di Malpighi	Vertebrati acquatici (larve) → pronefro: tubuli nefridiali Vertebrati acquatici (adulti) e Vertebrati Anamni → mesonefro: tubuli nefridiali Vertebrati Amnioti → metanefro: tubulo contorto, ansa di Henle (Uccelli e Mammiferi), tubulo contorto di secondo ordine

**Figura 22.6** - Organi renali specifici presenti in alcuni gruppi di organismi animali. I liquidi organici (emolinfia, sangue) esercitano una pressione che, in corrispondenza di una specifica parte della struttura escretrice, consente la filtrazione dei liquidi stessi. Si ottiene così un filtrato costituito da sostanze utili e da sostanze di rifiuto. Il riassorbimento delle prime e la secrezione delle seconde avvengono in un'altra regione dell'organo escretore.



**Figura 22.7** - Sezione longitudinale di un rene. Sono mostrate le principali strutture interne, quali la regione corticale, più esterna, e la midollare, più interna. Le piramidi sporgono nei calici renali, che confluiscono nella pelvi renale, dove l'urina finale viene raccolta e convogliata nell'uretere.



**Figura 22.8** - Schema di un nefrone con evidenziati i vari segmenti e la loro collocazione nel parenchima renale. I nefroni corticali hanno il glomerulo nella regione esterna della corticale e brevi anse di Henle. I nefroni iuxtamidollari hanno invece anse di Henle più lunghe che si approfondano nella midollare.

## ORGANI OSMOREGOLATORI

Secondo la classe animale considerata, differenti saranno le vie di ingresso o di uscita di acqua e soluti osmoticamente attivi: *intestino, branchie e cute* costituiscono le sedi deputate sia all'assorbimento sia alla secrezione; tuttavia, per quest'ultimo processo un importante ruolo è svolto dagli *organi renali* specifici.

Nella figura 22.6 sono indicati in modo sintetico gli organi renali presenti nei diversi ordini o classi animali, specificandone le sedi di filtrazione dei liquidi organici e quelle di riassorbimento di acqua e ioni.

## FUNZIONE RENALE

Il rene è il principale organo di regolazione e di escrezione dei Vertebrati. Esso regola l'osmolarità e il volume dei liquidi corporei, modula l'equilibrio elettrolitico e svolge un ruolo fondamentale nel controllo dell'equilibrio acido-base. Mediante l'escrezione di acqua e soluti, il rene elimina dall'organismo prodotti di rifiuto e l'eccesso di acqua. Inoltre, è un importante organo endocrino, in quanto produce e secerne la renina, il calcitriolo e l'eritropoietina.

## ORGANIZZAZIONE MORFOFUNZIONALE

Nell'uomo i reni sono organi pari retroperitoneali, posti sulla parete posteriore dell'addome ai due lati della colonna vertebrale. Hanno una tipica forma a fagiolo e presentano sul lato mediale un'incisura in cui si trovano l'arteria renale, la vena renale, i nervi e la pelvi renale, che continua inferiormente con l'uretere (Fig. 22.7).

Se si osserva una sezione renale longitudinalmente, è possibile distinguere una regione esterna più chiara, chiamata *corticale*, e una regione interna più scura, chiamata *midollare*. La midollare renale è organizzata in regioni a forma di cono, le *piramidi renali*, le cui basi sono rivolte verso la porzione corticale e i cui apici formano una papilla che sbocca in un calice minore. Diversi calici minori confluiscono nei calici maggiori e, infine, nella *pelvi*, dove viene convogliata l'urina che poi s'immette nell'*uretere*, il condotto che trasporta l'urina dallo spazio pelvico alla vescica urinaria. L'unità morfofunzionale del rene è il *nefrone*: ogni rene ne contiene circa 1,2 milioni (Fig. 22.8).

Il nefrone è una struttura tubulare cava costituita da un monostrato di cellule epiteliali. Un nefrone comprende diverse parti:

- *corpuscolo renale* (o *glomerulo*), che contiene una rete di capillari circondati dalla *capsula di Bowman*;
- *tubulo contorto prossimale*, distinto in tre segmenti S1, S2, S3;
- *ansa di Henle*, nella quale si distingue un tratto sottile discendente e due tratti ascendenti, uno sottile e uno spesso;
- *tubulo contorto distale*;

- *dotto collettore*, che dalla corticale s'inoltra nella midollare esterna e, successivamente, interna.

I nefroni hanno anse di Henle di lunghezza variabile e si distinguono in nefroni *corticali* e nefroni *iuxtamidollari*. Quelli superficiali hanno il glomerulo nella regione esterna della corticale e anse di Henle molto brevi. I nefroni iuxtamidollari hanno invece glomeruli situati al confine tra la corticale e la midollare con anse di Henle più lunghe che si approfondano nella midollare.

In un soggetto adulto a riposo, il rene riceve circa il 25% della portata cardiaca (cioè circa  $1.200 \text{ ml min}^{-1}$ ) e, considerando che i reni rappresentano solo lo 0,5% del peso corporeo, appare chiaro quanto la vascolarizzazione del rene sia cruciale. Il sangue arterioso penetra nel rene mediante l'*arteria renale*, che si suddivide in arterie *lobari*, da cui si diramano le *arterie interlobari*, le quali danno origine a propria volta alle *arterie arcuate*. Queste proseguono nelle *arterie interlobulari*, che si suddividono per formare le *arteriole afferenti*, le quali si capillarizzano nel glomerulo. In ogni glomerulo, i capillari si uniscono e formano l'*arteriola efferente*. Dalle arteriole efferenti hanno poi origine i *capillari peritubulari* e i *vasa recta*, che svolgono un ruolo determinante nella funzione renale, in quanto portano ai tubuli le sostanze che devono essere secrete, riportano nella circolazione generale l'acqua e i soluti riassorbiti, partecipano al meccanismo di concentrazione e diluizione delle urine (Fig. 22.9).

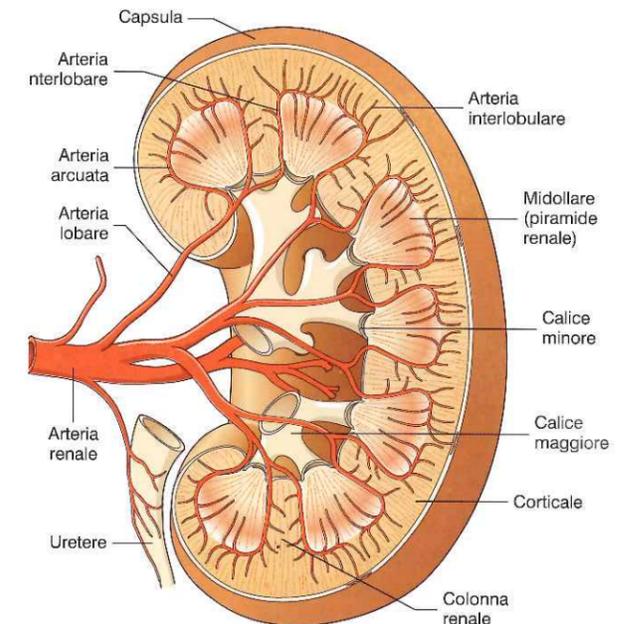
## MECCANISMI DI FUNZIONAMENTO RENALE

Il rene svolge la sua funzione mediante raffinati e molteplici meccanismi di trasporto dei soluti (cfr. Capitolo 3) la cui conoscenza a livello cellulare e molecolare è fondamentale per la comprensione della patogenesi e per la farmacologia di numerose affezioni renali e sistemiche. Nella seguente trattazione i riferimenti quantitativi sono riferiti all'uomo adulto e convenzionalmente la funzione renale viene trattata come se fosse generata da un unico gigantesco nefrone che assomma le proprietà di tutti i nefroni che compongono entrambi i reni.

### Ultrafiltrazione glomerulare

Il rene agisce come un filtro molecolare che trattiene gli elementi figurati del sangue e le macromolecole con peso molecolare superiore a circa 70 kDa durante il processo dell'ultrafiltrazione glomerulare. Successivamente, a livello tubulare, avviene il processo di riassorbimento di circa il 97% dei soluti filtrati attraverso un sistema di trasportatori attivi e passivi.

L'acqua viene anch'essa riassorbita in modo sia passivo sia regolato e, pertanto, l'osmolarità dell'urina terminale può variare da un valore inferiore a  $100 \text{ mOsm l}^{-1}$  sino a un valore di  $1.500 \text{ mOsm l}^{-1}$ . Questo consente di mantenere costante l'osmolarità plasmatica a circa  $300 \text{ mOsm l}^{-1}$ . Sebbene il rene sia sottoposto a un lavoro notevole a livello tubulare per il riassorbimento selettivo della quasi totalità dei soluti e dell'acqua dopo l'ultrafil-



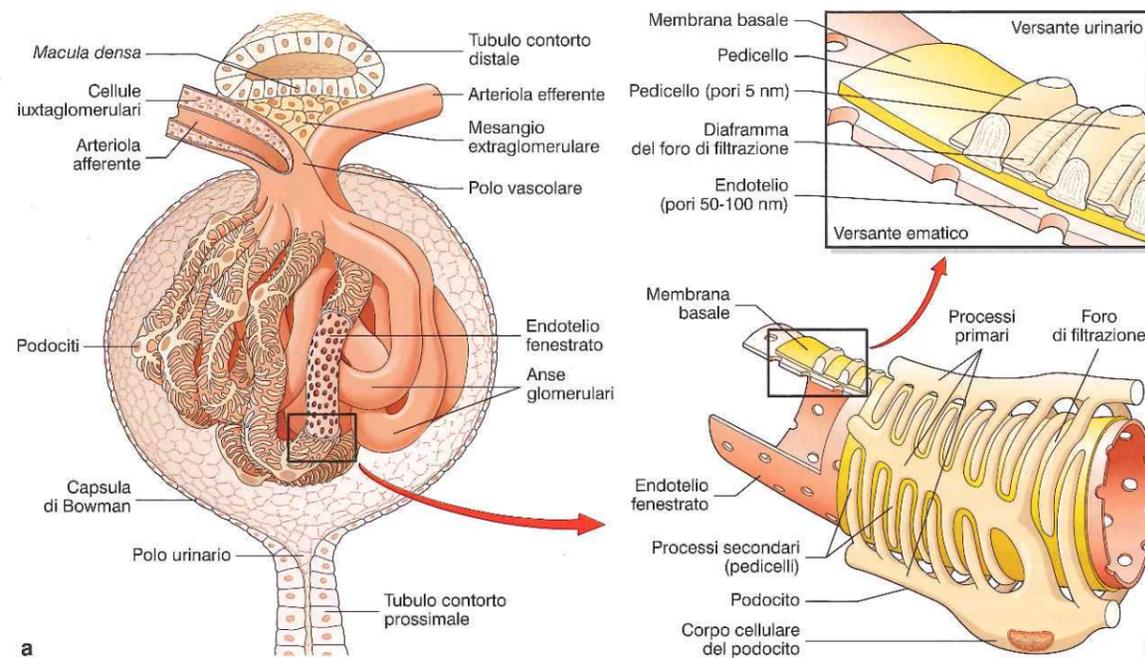
**Figura 22.9** - Vascolarizzazione del rene.

trazione glomerulare, questo meccanismo ha il grande vantaggio di consentire l'eliminazione delle sostanze di scarto e delle sostanze esogene per le quali sarebbe impossibile prevedere trasportatori specifici.

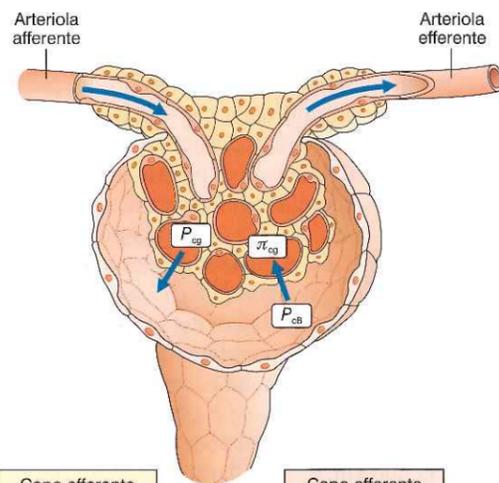
Il primo stadio della formazione delle urine inizia con il movimento passivo di un ultrafiltrato del plasma dai capillari del glomerulo nella capsula di Bowman (Fig. 22.10 a). Il solvente e i soluti disciolti sono spinti attraverso il filtro da una differenza di pressione idrostatica.

I capillari glomerulari sono rivestiti da cellule epiteliali, chiamate *podociti*, che costituiscono il foglietto viscerale del glomerulo, il quale si riflette a livello del polo vascolare formando il foglietto parietale della capsula di Bowman. Le cellule endoteliali dei capillari poggiano su una membrana basale circondata da podociti, che hanno prolungamenti che avvolgono i capillari detti *pedicelli*.

La *barriera di filtrazione* è costituita dall'endotelio, dalla membrana basale e dai podociti con i pedicelli (Fig. 22.10 b). L'endotelio dei capillari è fenestrato con pori del diametro di  $700 \text{ \AA}$ , pertanto riescono a permeare liberamente acqua, piccoli soluti e piccole proteine. La reale barriera selettiva è rappresentata dalla membrana basale, che trattiene le proteine plasmatiche. I processi dei podociti, i pedicelli, circondano completamente i capillari intorno alla membrana basale, lasciando piccole fessure di filtrazione che sono attraversate da un sottile diaframma provvisto di pori del diametro di  $40-140 \text{ \AA}$ . Questo diaframma rallenta la filtrazione di alcune proteine e macromolecole che riescono ad attraversare l'epitelio. In alcune condizioni patologiche, come la nefrosi, la permeabilità della parete dei capillari è alterata, per cui vi è un incremento dell'escrezione urinaria di proteine (proteinuria).



**Figura 22.10 - a**, Struttura del glomerulo renale. L'arteriola afferente si capillarizza nel glomerulo e i capillari confluiscono nell'arteriola efferente. **b**, Struttura della barriera di filtrazione costituita dall'endotelio fenestrato dei capillari glomerulari, dalla membrana basale, dai podociti, che formano il foglietto viscerale, e dai loro prolungamenti, i pedicelli, che avvolgono i capillari.



Capo afferente		Capo efferente
60 mmHg	$P_{eg}$	58 mmHg
0 mmHg	$\pi_{cb}$	0 mmHg
-15 mmHg	$P_{cb}$	-15 mmHg
-28 mmHg	$\pi_{cg}$	-35 mmHg
17 mmHg	$P_f$	8 mmHg

**Figura 22.11** - Pressioni idrostatiche agenti sulla barriera di filtrazione responsabili del processo di ultrafiltrazione.  $P_f$ , pressione netta di ultrafiltrazione;  $P_{eg}$ , pressione idrostatica nel capillare glomerulare;  $P_{cb}$ , pressione idrostatica nella capsula di Bowman;  $\pi_{cg}$ , pressione oncologica del plasma nel capillare glomerulare;  $\pi_{cb}$ , pressione oncologica dell'ultrafiltrato nella capsula di Bowman.

Per semplificare, si può dire che, per le caratteristiche della barriera di filtrazione, in condizioni fisiologiche passano tutte le molecole che hanno un peso molecolare inferiore ai 5 kDa (corrispondente al peso molecolare di una piccola proteina di cinquanta aminoacidi). Tra 5 e 70 kDa, la filtrazione è intermedia, mentre è nulla al di sopra di 70 kDa. Pertanto, le cellule del sangue non possono essere filtrate, così come la maggior parte delle proteine plasmatiche.

Il coefficiente di riflessione è una misura della probabilità di restrizione di una molecola nel passaggio attraverso la membrana. Esso può variare da 0 (nessun ostacolo: il soluto passa come l'acqua) fino a 1 (restrizione totale di una molecola al passaggio).

L'ultrafiltrazione è un processo passivo che si realizza grazie alla presenza di pressioni idrostatiche favorevoli al processo (Fig. 22.11). La pressione idrostatica all'interno dei capillari agisce favorendo il passaggio di liquido dai capillari alla capsula di Bowman. Poiché il coefficiente di riflessione per le proteine è praticamente 1, l'ultrafiltrato è sostanzialmente privo di proteine e la pressione oncologica (o colloidosmotica) nella capsula di Bowman è vicina a 0. Alla pressione idrostatica all'interno dei capillari si oppone la pressione idrostatica presente all'interno della capsula di Bowman (15 mmHg) e la pressione oncologica delle proteine plasmatiche (28 mmHg).

Una possibile stima delle pressioni in gioco durante questo processo è illustrata nella figura 22.11. Nell'arteriola afferente la pressione idraulica è 45-60 mmHg. Considerando le forze che contrastano l'ultrafiltrazione, il

gradiente di filtrazione risulta essere di 17 mmHg. Durante il suo percorso nel glomerulo, il plasma perde acqua e soluti, ma non proteine. Di conseguenza, se il flusso del plasma nei capillari è lento, questo impedirà un'ulteriore fuoriuscita di liquido nella porzione terminale del glomerulo, fino ad arrestarsi quando la pressione oncologica uguaglierà la pressione idrostatica netta. È questo il motivo per il quale nei capillari glomerulari non si verifica mai riassorbimento a differenza di alcuni capillari sistemici.

#### Flusso ematico renale e velocità di filtrazione glomerulare

I reni ricevono un notevole apporto di sangue, il maggiore di tutto l'organismo. Durante il suo percorso nei glomeruli, il sangue si impoverisce della quota di plasma che filtra attraverso la membrana. Nell'uomo, il volume dell'ultrafiltrato è pari a  $125 \text{ ml min}^{-1}$ . Considerando che, complessivamente, nei glomeruli entrano circa  $630 \text{ ml min}^{-1}$  di plasma, la frazione di plasma filtrato è circa il 20%. Grazie alle funzioni tubulari di riassorbimento, i vasi sanguigni postglomerulari riacquistano circa il 99% dell'acqua filtrata.

Il flusso ematico che percola nei reni determina la velocità di filtrazione glomerulare (VFG). Essa risulta dal prodotto tra la pressione di filtrazione e il coefficiente di filtrazione:

$$VFG = P_f K_f$$

La VFG può essere modulata da vari fattori, quali l'alterazione della pressione arteriosa e dello stato di contrazione delle arteriole afferenti ed efferenti, e può modificarsi in seguito ad alterazioni della barriera di filtrazione a causa di patologie locali o di ostruzioni delle vie urinarie.

Tuttavia, esistono meccanismi autoregolativi grazie ai quali il rene è in grado di mantenere essenzialmente costante la VFG per pressioni arteriose comprese tra 80 e 180 mmHg, modificando le resistenze vascolari in risposta ad alterazioni della pressione arteriosa. Se la pressione arteriosa aumenta, l'arteriola afferente si distende e la sua muscolatura liscia si contrae grazie a una proprietà intrinseca della muscolatura (*meccanismo miogenico*; cfr. Capitolo 19). Giacché l'incremento della resistenza dell'arteriola contrasta l'aumento pressorio, la VFG e il flusso ematico attraverso i capillari glomerulari restano pressoché costanti.

Un altro meccanismo di autoregolazione, noto come *feedback tubuloglomerulare*, dipende dalla quantità di NaCl che giunge alla porzione distale del tubulo. Se la VFG aumenta, cresce la concentrazione di NaCl nel liquido tubulare e nella *macula densa*, la regione del tubulo distale che si trova fra le arteriole afferente ed efferente del glomerulo.

Mediatori chimici locali e il sistema simpatico esercitano un controllo a *feedback* sullo stato di contrazione delle arteriole afferenti ed efferenti mantenendo costanti il flusso ematico glomerulare e la VFG. Si ricordi che la

rete capillare glomerulare è doppia (rete mirabile), in quanto alla prima capillarizzazione nel glomerulo ne segue una seconda nell'interstizio.

#### Misurazione della velocità di filtrazione e clearance

La clearance di una sostanza misura il volume di plasma che viene depurato da quella sostanza nell'unità di tempo. Questa depurazione avviene attraverso la combinazione della filtrazione glomerulare e della secrezione tubulare.

Se una sostanza filtra liberamente e non viene né secreta né riassorbita, la quantità della sostanza filtrata nell'unità di tempo si ritroverà tutta nelle urine. Pertanto, il volume di plasma depurato corrisponderà al volume di plasma filtrato.

Se, invece, la sostanza viene filtrata e in parte assorbita, allora la quantità di sostanza che si ritroverà nell'urina sarà inferiore a quella filtrata e, dunque, sarà minore il volume di plasma depurato in 1 min.

Se, infine, la sostanza viene filtrata e in parte secreta, allora la quantità che si ritroverà nelle urine sarà superiore a quella filtrata e, dunque, sarà depurato un volume di plasma maggiore rispetto al filtrato.

Per calcolare la clearance di una sostanza si utilizza la seguente equazione (detta equazione di Fick):

$$C_x = \frac{[x]_u \dot{V}}{[x]_p}$$

dove  $C_x$  è il volume di plasma depurato dalla sostanza  $x$  in 1 min (in millilitri al minuto);  $[x]_u$  è la concentrazione di  $x$  nelle urine (in milligrammi per millilitro);  $\dot{V}$  è il flusso urinario (in millilitri al minuto);  $[x]_p$  è la concentrazione di  $x$  nel plasma (in milligrammi per millilitro).

L'inulina è un polisaccaride del fruttosio con peso molecolare pari a 5.500 Da che è liberamente filtrata nei glomeruli, non è trasportata nei tubuli (la quota filtrata eguaglia quella escreta), non è metabolizzata o sintetizzata nei reni, non è tossica e può essere misurata con precisione mediante procedure chimico-analitiche. Pertanto, essendo depurato dall'inulina soltanto il plasma filtrato che la conteneva, la clearance dell'inulina corrisponde alla VFG e può essere utilizzata per ottenere il valore di VFG, che è pari a circa  $125 \text{ ml min}^{-1}$ .

Lacido paraminoippurico (PAI) è invece una sostanza che filtra e che viene secreta quasi completamente dai tubuli, cosicché il sangue che fuoriesce dal rene ne è privo. Poiché si verifica una depurazione di tutto il plasma che passa dal rene, con buona approssimazione la clearance del PAI corrisponde al flusso plasmatico renale (FPR), che risulta essere di circa  $630 \text{ ml min}^{-1}$ .

Un altro esempio è dato dalla clearance del glucosio, una sostanza che filtra liberamente, ma è totalmente riassorbita in condizioni fisiologiche già nel tubulo prossimale. Il valore della clearance è, quindi,  $0 \text{ ml min}^{-1}$  e non viene escreto glucosio nelle urine.

Tabella 22.1 Tipici valori di clearance di alcune sostanze

Sostanze	Clearance (ml min <sup>-1</sup> )
Glucosio	0
Aminoacidi	0
Sodio	0,5
Potassio	8
Urea	75
Inulina (creatinina)	125
Acido paraminopurico	650

Calcolando la clearance di una sostanza, se il valore ottenuto è inferiore a 125 ml min<sup>-1</sup>, si può ritenere che la sostanza sia in parte riassorbita nei tubuli, mentre se il valore è superiore a 125 ml min<sup>-1</sup>, se ne deduce che la sostanza è anche secreta dai tubuli. I valori di clearance di una sostanza potranno oscillare tra il limite minimo di 0 ml min<sup>-1</sup>, nel caso di una sostanza che è filtrata ma è totalmente riassorbita o che non riesce a filtrare affatto (come le proteine plasmatiche), e 630 ml min<sup>-1</sup>, come avviene per sostanze che, oltre a filtrare, sono anche totalmente secrete (Tab. 22.1).

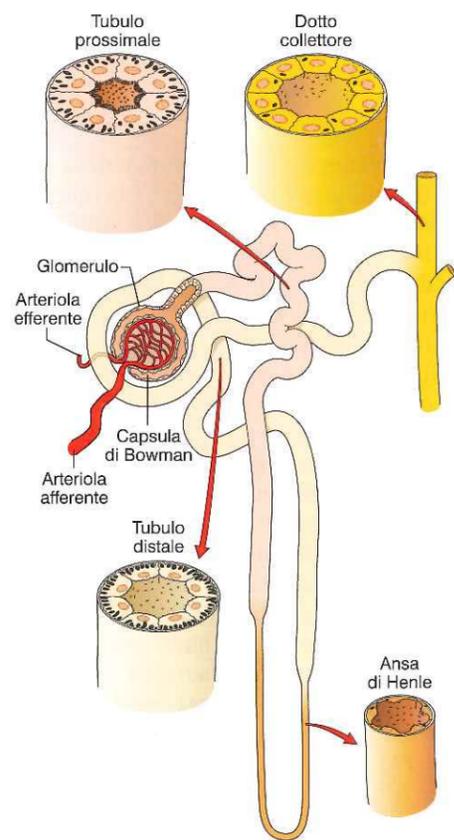


Figura 22.12 - Rappresentazione schematica della struttura del nefrone che evidenzia le diverse caratteristiche dell'epitelio nelle varie porzioni del tubulo.

### Funzioni tubulari

I tubuli hanno il compito di processare l'ultrafiltrato, ridurre il suo volume e regolare la composizione delle urine mediante processi di riassorbimento e secrezione. Nelle urine terminali la concentrazione di Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> è simile a quella plasmatica (Tab. 22.2).

Ogni giorno vengono filtrati dai glomeruli 180 l di liquido sostanzialmente privo di proteine, mentre il volume di urine escrete corrisponde a meno dell'1% di acqua e Na<sup>+</sup> e altri soluti presenti a concentrazioni variabili. Pertanto, i tubuli renali compiono un importante processo di riassorbimento e rimaneggiamento dell'ultrafiltrato.

L'epitelio tubulare presenta caratteristiche di permeabilità all'acqua e ai soluti molto diverse nei vari segmenti che costituiscono il nefrone. In particolare, è possibile distinguere tre porzioni funzionalmente e strutturalmente differenti: il tubulo prossimale, l'ansa di Henle e il tubulo contorto distale che confluisce nei dotti collettori (Fig. 22.12).

Il riassorbimento può essere un processo *passivo* se l'energia in gioco deriva da un gradiente di concentrazione o elettrico e può essere realizzato da diffusione semplice o facilitata. Il trasporto è invece *attivo* se richiede direttamente energia derivante dal metabolismo con consumo di adenosin-trifosfato (ATP) (cfr. Capitolo 3). La *vettorialità* del trasporto, cioè l'unicità della direzione in cui una determinata sostanza attraversa l'epitelio, è assicurata dalla polarizzazione morfologica e funzionale delle cellule epiteliali, che presentano un lato apicale, rivolto verso il lume del tubulo e ricco di estroflessioni microvillari (l'orletto a spazzola), e un lato basolaterale, rivolto verso i tessuti interni e la circolazione. Le membrane che si affacciano ai due lati contengono sistemi di trasporto diversi, che determinano l'assorbimento o la secrezione di specifiche sostanze (Fig. 22.13).

Nel rene il principale trasporto attivo che è presente in tutte le cellule epiteliali dei tubuli è la pompa sodio-potassio, nota anche come Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasi. Queste proteine inserite nella membrana basolaterale pompano attivamente Na<sup>+</sup> fuori dalla cellula e K<sup>+</sup> dentro la cellula. Pertanto, grazie all'attività di questa pompa che mantiene la concentrazione intracellulare di Na<sup>+</sup> bassa (circa 12 mM), il Na<sup>+</sup> si muove passivamente dal lume tubulare all'interno della cellula seguendo il suo gradiente elettrochimico e viene trasferito nel sangue per trasporto attivo.

Altri trasporti attivi renali sono la H<sup>+</sup>-ATPasi, la H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasi e la Ca<sup>2+</sup>-ATPasi. Anche l'endocitosi che richiede ATP è una forma di trasporto attivo. Con questo processo il rene riassorbe piccole molecole e macromolecole nel tubulo prossimale.

#### Tubulo prossimale

**Assorbimento di cationi e anioni.** Il 60% del carico filtrato di Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> e acqua è assorbito nel tubulo prossimale. Le caratteristiche di trasporto di questo segmento differiscono da quelle dei segmenti più a valle, sebbene

Tabella 22.2 Tipiche concentrazioni di soluti nel plasma, nell'ultrafiltrato e nelle urine

Sostanze	Concentrazione		
	Plasma	Ultrafiltrato	Urine
Acqua (mmol l <sup>-1</sup> )	~55.000	~55.000	~55.000
Sodio (mmol l <sup>-1</sup> )	142	144	10-200
Potassio (mmol l <sup>-1</sup> )	4	4	2-50
Calcio (mmol l <sup>-1</sup> )	2,5	1,25	5-10
Magnesio (mmol l <sup>-1</sup> )	1,5	0,75	2-18
Cloro (mmol l <sup>-1</sup> )	103	114	10-100
Bicarbonato (mmol l <sup>-1</sup> )	127	30	0-25
Glucosio (mmol l <sup>-1</sup> )	4	4	0-0,5
Urea (mmol l <sup>-1</sup> )	4,5	4,5	200-400
Creatinina (mmol l <sup>-1</sup> )	0,08	0,08	6-10
Proteine (mg l <sup>-1</sup> )	80.000	10	10-30
Osmolarità (mOsm kg <sup>-1</sup> )	290	290	50-1.200
pH	7,4	7,4	5-8

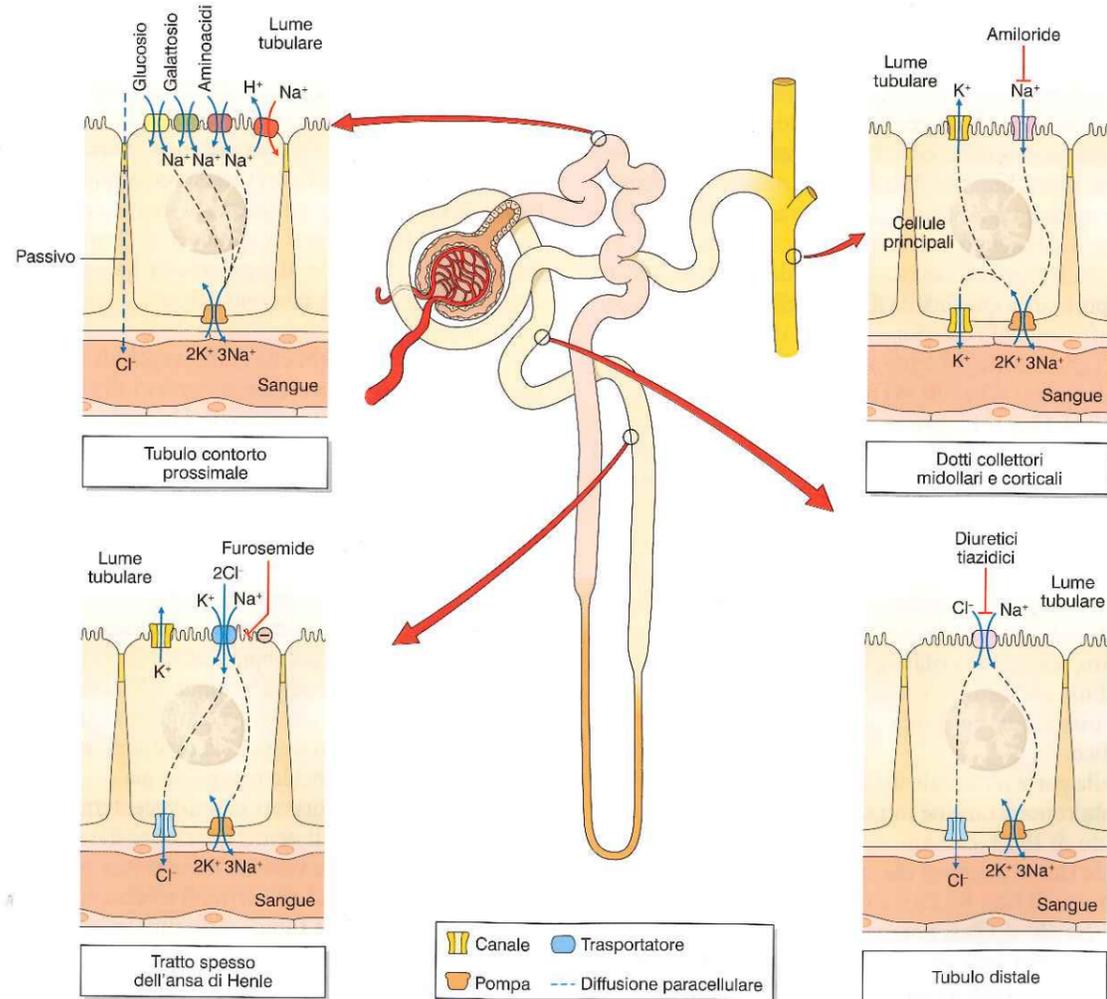


Figura 22.13 - Principali trasporti ionici nei vari segmenti del nefrone.

il tubulo prossimale nella sua interezza possiede un sistema simile di trasportatori (cfr. Fig. 22.13).

Dal tubulo prossimale, il  $\text{Na}^+$  entra nella cellula in scambio con protoni ( $\text{H}^+$ ) mediante l'antiporto NHE3 (*sodium/proton exchanger*) e attraverso diversi sistemi di cotrasporto che accoppiano l'ingresso del  $\text{Na}^+$  con quello di aminoacidi, zuccheri e altri soluti (fosfati, solfati, acidi mono- e dicarbossilici). La forza traente è generata dall'ATPasi della membrana basolaterale, a livello della quale il  $\text{Na}^+$  esce nel liquido peritubulare in scambio con il  $\text{K}^+$ . Per dare idea dell'enorme lavoro di trasporto promosso dalla pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  nel tubulo contorto prossimale, è sufficiente pensare che viene riassorbito circa 1 kg di  $\text{NaCl}$  al giorno seguito da 180 l di acqua.

Alto tasso di riassorbimento del  $\text{Na}^+$  nella prima parte del tubulo prossimale è favorito dalla disponibilità di soluti che vengono cotrasportati dal lume nel citoplasma delle cellule del tubulo. Poiché la concentrazione dei soluti cala rapidamente, anche il riassorbimento del  $\text{Na}^+$  subirà progressivamente un rallentamento a mano a mano che si procede lungo il tubulo.

Gli ioni  $\text{H}^+$  scambiati con il  $\text{Na}^+$  si combinano nel lume con il  $\text{HCO}_3^-$  per formare acqua e anidride carbonica ( $\text{CO}_2$ ). Questi sono riassorbiti e ulteriormente processati all'interno della cellula per riformare  $\text{H}^+$  per lo scambio grazie all'azione dell'anidrasi carbonica. Mediante questo processo viene continuamente riciclato  $\text{H}^+$  e ciò stimola il riassorbimento di  $\text{Na}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$ . Il riassorbimento di  $\text{Na}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  e soluti organici attraverso il tubulo prossimale crea un piccolo gradiente osmotico transtubarale che favorisce il passaggio dell'acqua principalmente per via transcellulare attraverso canali idrici definiti aquaporine. Il trasporto di acqua facilita il passaggio di altri soluti con un coefficiente di riflessione basso e, in particolare modo, del  $\text{Cl}^-$ , che è elettricamente attratto dal  $\text{Na}^+$  riassorbito.

Nella prima porzione del tubulo prossimale, il riassorbimento di  $\text{Cl}^-$  è solo passivo e avviene attraverso tre meccanismi: il piccolo gradiente di concentrazione creato dal trasporto di  $\text{Na}^+$ , il potenziale elettrico transtubarale di  $-2$  mV inizialmente con il lume negativo e l'effetto di trascinalamento. Giacché questi tre meccanismi sono dipendenti dal riassorbimento di  $\text{Na}^+$ , la concentrazione di  $\text{Cl}^-$  nel lume aumenta lentamente rispetto al segmento iniziale del tubulo prossimale.

È importante ricordare che il riassorbimento del  $\text{Na}^+$  nel tubulo contorto prossimale è *isosmotico* e al suo termine non esiste un gradiente transtubarale di  $\text{Na}^+$  né osmotico.

Nella parte terminale del tubulo contorto prossimale, l'elevata concentrazione intraluminale di  $\text{Cl}^-$  e il riassorbimento di  $\text{HCO}_3^-$  causano una piccola differenza di potenziale (lume positivo) che stimola il riassorbimento di cationi, quali  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ).

La  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi pompa attivamente tre ioni  $\text{Na}^+$  e due ioni  $\text{K}^+$  per molecola di ATP e ciò equivale al riassorbimento di tre moli di  $\text{Na}^+$  per mole di ATP. Nel complesso l'efficienza del trasporto prossimale di  $\text{Na}^+$  è alta, fino a dieci moli di  $\text{Na}^+$  per mole di ATP.

**Glucosio.** Nel tubulo prossimale il glucosio viene riassorbito in due tappe: un iniziale riassorbimento *carrier*-mediato accoppiato al  $\text{Na}^+$ , seguito, quindi, da un trasporto facilitato di glucosio nella membrana basolaterale associato a un'espulsione attiva di  $\text{Na}^+$ . L'elettro-neutralità è assicurata dalla diffusione paracellulare di  $\text{Cl}^-$  o dalla retrodiffusione del  $\text{Na}^+$  secondo le permeabilità relative delle giunzioni strette sia al  $\text{Na}^+$  sia al  $\text{Cl}^-$ .

Due specifici *carrier* sono stati identificati nella membrana apicale del tubulo prossimale. Il trasportatore sodio-glucosio 1 (*sodium-glucose transporter 1*, SGLT1) è responsabile per il riassorbimento del glucosio anche nell'epitelio intestinale (cfr. Capitolo 21). Per contro, il trasportatore sodio-glucosio 2 (*sodium-glucose transporter 2*, SGLT2) che è per il 60% omologo a SGLT1, non è espresso nell'intestino. L'energia per il processo di ingresso del glucosio è fornita dal gradiente elettrochimico del  $\text{Na}^+$ , mentre l'uscita del glucosio dalla membrana basolaterale è un trasporto facilitato passivo mediato da specifici *carrier* appartenenti alla famiglia dei trasportatori del glucosio (*glucose transporter*, GLUT) che comprende sette membri. L'uscita del glucosio nel segmento S3 è probabilmente mediata da GLUT1, mentre nei segmenti S1 e S2 da GLUT2.

Dati di microperfusione in tubuli prossimali di coniglio hanno dimostrato che il processo di riassorbimento del glucosio si riduce man mano che si procede dal segmento S1 al segmento S3 del tubulo prossimale. Tuttavia, l'affinità del *carrier* per il glucosio incrementa con una costante di Michaelis (cfr. Capitolo 3) di 2 mM in S1 e di 0,4 mM in S3. Pertanto, il segmento S1 ha una maggiore capacità di riassorbire glucosio dell'S3.

**Aminoacidi.** Sebbene siano venti gli aminoacidi che si trovano nelle proteine, il numero di trasportatori identificati per il loro trasporto è inferiore.

Un trasportatore  $\text{Na}^+$ -dipendente per gli *aminoacidi neutri* è stato clonato dal rene di maiale. Glicina, prolina e idrossiprolina sono trasportati da due distinti *carrier* di aminoacidi: uno trasporta tutti e tre e l'altro solo la glicina. Entrambi sono  $\text{Na}^+$ -dipendenti.

I trasportatori degli *aminoacidi acidi* trasportano acido glutammico e acido aspartico. La maggior parte di questi trasportatori è accoppiata al  $\text{Na}^+$ .

Per quanto concerne gli *aminoacidi basici*, evidenze cliniche suggeriscono che lisina e arginina siano trasportati attraverso l'orletto a spazzola mediante lo stesso trasportatore dell'aminoacido neutro cistina.

F. Verrey e collaboratori hanno recentemente postulato per gli aminoacidi neutri l'esistenza di trasportatori a bassa affinità e alta velocità nella prima porzione del tubulo prossimale e ad alta affinità e bassa velocità nella restante porzione del tubulo prossimale, similmente a quanto accade per il glucosio.

Trasportatori della famiglia LAT (*light-chain transporter*) sono responsabili dell'uscita di questi aminoacidi dal lato basolaterale.

### Ansa di Henle

Nel tratto sottile discendente dell'ansa di Henle c'è poca attività di trasporto, ma questo segmento è comunque molto permeabile all'acqua e il 25% dell'acqua filtrata è riassorbita proprio in questo tratto del nefrone per via transcellulare attraverso aquaporine. Viceversa, il tratto sottile ascendente dell'ansa è impermeabile all'acqua.

Nel tratto spesso ascendente continua il riassorbimento di  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . Questi trasporti sono mediati dal simporto elettro-neutro  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-/\text{K}^+$ , che in un ciclo trasporta uno ione  $\text{Na}^+$ , uno  $\text{K}^+$  e due  $\text{Cl}^-$  e può essere inibito dai diuretici dell'ansa furosemide e bumetanide (cfr. Fig. 22.13).

Il  $\text{K}^+$  trasportato dal simporto  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-/\text{K}^+$  viene riciclato grazie a un canale presente nella membrana apicale inibito da ATP ( $\text{K}_{\text{IR}}1.1$ , cfr. Capitolo 6). Mutazioni del gene che codifica per questo canale sono responsabili della sindrome di Bartter.

Il  $\text{Na}^+$  e i due ioni  $\text{Cl}^-$  che entrano nella cellula attraverso il cotrasporto escono dal lato basolaterale: il  $\text{Na}^+$  attraverso la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi, mentre il  $\text{Cl}^-$  attraverso un cotrasporto  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$  e una conduttanza al  $\text{Cl}^-$ . Nella membrana basolaterale delle cellule epiteliali di questo segmento del nefrone esiste un canale  $\text{ClC-Kb}$  ( $\text{ClC-K2}$  nel ratto, cfr. Capitolo 6). Mutazioni di questo canale causano altre forme di sindrome di Bartter associate a sordità e dovute ad alterazioni della bartina, una proteina di membrana che è una subunità di  $\text{ClC-Kb}$ .

Il tratto spesso ascendente dell'ansa di Henle ha una permeabilità nulla all'acqua e, pertanto, il liquido tubula-

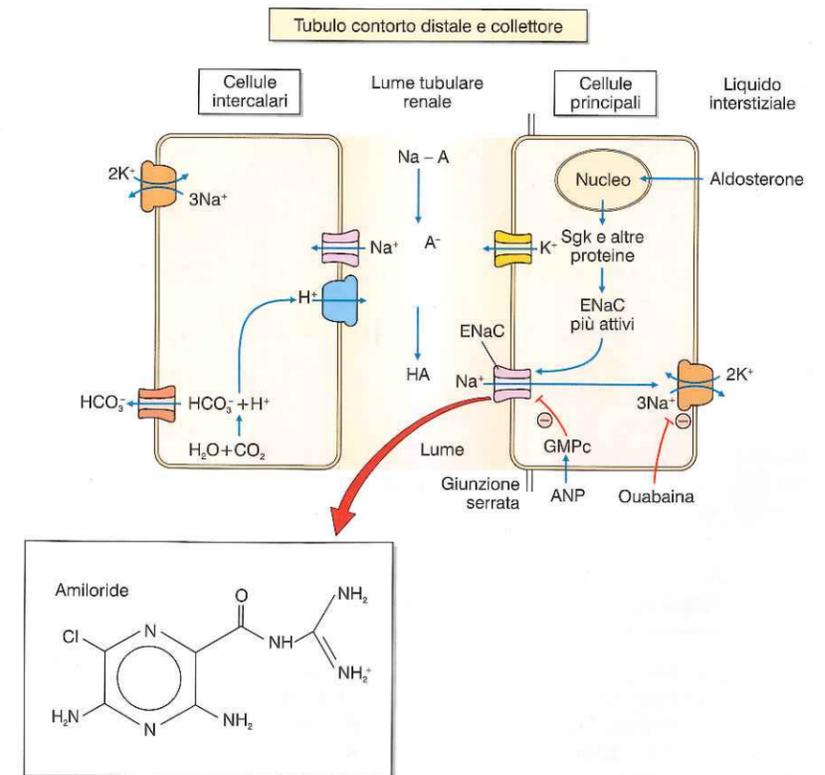
re diviene ipotonico. Per questa ragione il tratto è anche chiamato segmento diluente.

### Tubuli distali e dotti collettori

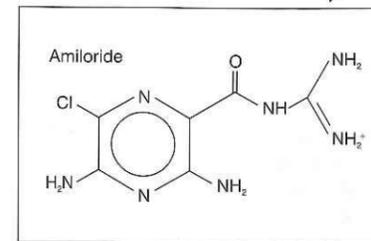
Nel tratto convoluto distale viene riassorbito circa il 10% del  $\text{Na}^+$  e del  $\text{Cl}^-$ . L'elevata permeabilità all'acqua di questo segmento rende il liquido tubulare isosmotico. Un cotrasporto  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  è presente nella membrana apicale e può essere inibito da diuretici tiazidici (cfr. Fig. 22.13). In questo segmento il potenziale transcellulare positivo facilita il riassorbimento di cationi bivalenti ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ ).

Nel dotto collettore si distinguono due tipi cellulari, le cellule principali e le cellule intercalari.

Le cellule principali riassorbono  $\text{Na}^+$  e acqua e secernono  $\text{K}^+$ . Esse evidenziano un'intensa attività della pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  a livello basolaterale, mentre l'ingresso di  $\text{Na}^+$  dal lume si realizza passivamente grazie a un canale del sodio ENaC inibito dall'amiloride (cfr. Capitolo 6). L'espressione di questo canale è indotta dall'aldosterone, mentre è inibita dal peptide natriuretico atriale (ANP), che, stimolando la guanilato ciclasi, aumenta i livelli intracellulari di guanosin-monofosfato ciclico (GMPc) e inibisce l'attività del canale (Fig. 22.14). Solo il 5-6% del  $\text{Na}^+$  filtrato raggiunge questo segmento ed è riassorbito contro gradiente di concentrazione transtubarale. Il riassorbimento di  $\text{Na}^+$  è in scambio con il  $\text{K}^+$ . Pertanto, queste cellule hanno un importante ruolo nel regolare i livelli di  $\text{K}^+$  e di  $\text{Na}^+$  nel sangue (*kaliemia* e *natriemia*), sotto il controllo dell'aldosterone. I diuretici che agiscono bloc-



**Figura 22.14** - Rappresentazione schematica dei due tipi cellulari dell'epitelio del tubulo contorto distale: le cellule intercalari, caratterizzate dall'attività dell'ATPasi protonica, e le cellule principali, nelle quali l'aldosterone regola l'espressione del canale del sodio ENaC e dell'ATPasi  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -dipendente, modulando il riassorbimento del sodio e lo scambio sodio/potassio. ATP, adenosin-trifosfato; ADP, adenosin-difosfato;  $\text{K}^+$ , potassio;  $\text{H}^+$ , idrogeno;  $\text{HCO}_3^-$ , bicarbonato;  $\text{H}_2\text{O}$ , acqua;  $\text{CO}_2$ , anidride carbonica;  $\text{Na}^+$ , sodio; Sgk, *serum and glucocorticoid-induced kinase* (chinasi indotta dal siero e dai glucocorticoidi); GMPc, guanosin-monofosfato ciclico; ANP, peptide natriuretico atriale;  $\text{P}_i$ , fosfato inorganico.



cando il canale apicale del  $\text{Na}^+$  (ENaC), come l'amiloride, sono risparmiatori di  $\text{K}^+$ .

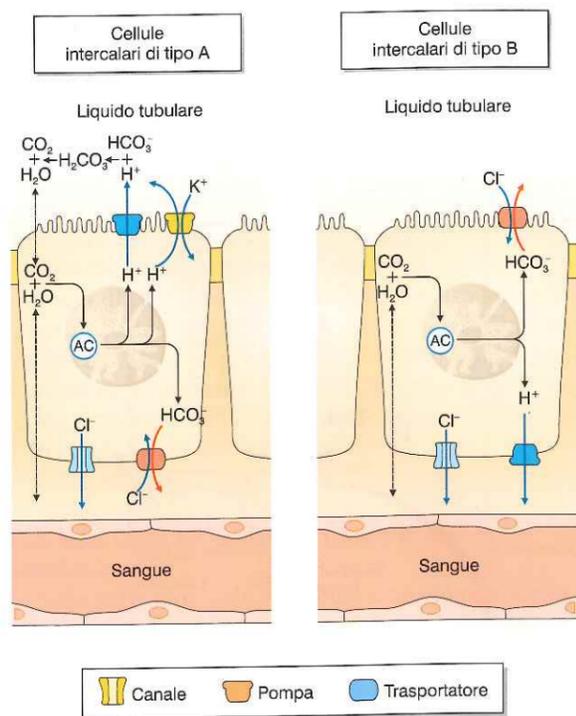
Le cellule intercalari possono secernere  $\text{H}^+$  nel lume e  $\text{HCO}_3^-$  nel liquido interstiziale e sono, quindi, importanti per regolare l'equilibrio acido-base (cfr. Capitolo 23). Esse esprimono una  $\text{H}^+$ -ATPasi sulla membrana apicale, che espelle  $\text{H}^+$  nel lume contro gradiente di concentrazione (cfr. Fig. 22.14).

### Regolazione del pH dei liquidi

Insieme ai polmoni, i reni sono gli organi principali che concorrono al mantenimento dell'omeostasi del pH (cfr. Capitolo 23) grazie alla possibilità di regolare la secrezione di protoni nelle urine, le quali possono avere un pH molto più basso di quello plasmatico (pH minimo pari a 4-4,5).

Nel tubulo prossimale i protoni che vengono escreti si combinano con  $\text{HCO}_3^-$  presente nel lume con conseguente formazione di  $\text{CO}_2$  e acqua. Il rientro nella cellula della  $\text{CO}_2$  rigenera i protoni e il  $\text{HCO}_3^-$ , che viene riassorbito nel plasma in scambio con il  $\text{Cl}^-$ . In questo modo il rene preserva la pre-esistente riserva di  $\text{HCO}_3^-$  plasmatico che, assieme all'acido carbonico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), costituisce il principale sistema tampone per il controllo del pH nel liquido extracellulare (cfr. Capitolo 23).

Nel tubulo prossimale gli ioni  $\text{H}^+$  sono secreti nel lu-



**Figura 22.15** - Meccanismi cellulari per il riassorbimento e la secrezione di bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) da parte delle cellule intercalari del dotto collettore.  $\text{CO}_2$ , anidride carbonica;  $\text{H}^+$ , idrogeno;  $\text{H}_2\text{O}$ , acqua;  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , acido carbonico;  $\text{Cl}^-$ , cloro;  $\text{K}^+$ , potassio; AC, anidrasi carbonica.

me dalla membrana apicale delle cellule intercalari di tipo A mediante:

- una pompa  $\text{H}^+$ -ATPasi nella membrana apicale, normalmente localizzata in vescicole citoplasmatiche, che s'inserisce nella membrana apicale in risposta all'acidosi;
- un altro trasporto attivo primario  $\text{H}^+/\text{K}^+$ -ATPasi che scambia  $\text{H}^+$  con  $\text{K}^+$ , similmente a quanto accade nelle cellule secernenti acido dello stomaco. Il  $\text{HCO}_3^-$ , prodotto dall'idrolisi di  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , lascia la cellula in scambio con il  $\text{Cl}^-$  (Fig. 22.15) viene immesso nel plasma.

In condizioni di acidosi, aumenta l'escrezione di  $\text{H}^+$  nel lume e quindi il riassorbimento di  $\text{HCO}_3^-$  nel plasma (cfr. Capitolo 23). Gli  $\text{H}^+$  escreti nel tubulo collettore distale e collettore vengono neutralizzati dal tampone fosfato, in particolare da  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (fosfato bibasico di sodio), con la formazione di  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (fosfato monobasico di sodio). Quest'ultimo è un acido fisso e quindi, a differenza dell'  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , la sua formazione determina l'acidificazione delle urine.

Sia nel tubulo distale sia, soprattutto, nel tubulo prossimale, gli  $\text{H}^+$  escreti possono infine legarsi a  $\text{NH}_3$  (ammonica), derivata dal metabolismo della glutamina, formando ioni ammonio ( $\text{NH}_4^+$ ). La formazione di  $\text{NH}_4^+$  favorisce l'eliminazione di ammoniaca, molto tossica e liposolubile, impedendone, grazie alla carica positiva, la retrodiffusione della cellula.

È importante sottolineare come, mentre l'eliminazione di  $\text{H}^+$  nel tubulo prossimale consente il riassorbimento di  $\text{HCO}_3^-$  già presenti nel plasma e ultrafiltrati a livello glomerulare nel tubulo renale, la formazione di  $\text{NH}_4^+$  e di  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  determinano invece la neoformazione di  $\text{HCO}_3^-$ , che aggiunto al plasma, contribuisce in maniera significativa ai processi di controllo del pH.

Il tamponamento dell'alcalosi metabolica (cfr. Capitolo 23) prevede invece l'eliminazione di  $\text{HCO}_3^-$ , processo effettuato nel tubulo contorto distale dalle cellule intercalate di tipo B. Contrariamente alle cellule intercalate di tipo A, queste cellule possiedono una  $\text{H}^+$ -ATPasi sulla membrana basolaterale e un antiporto  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  nella membrana apicale (cfr. Fig. 22.15).

### Trasporto renale di calcio, magnesio e fosfato

#### Calcio

Le concentrazioni plasmatiche di  $\text{Ca}^{2+}$  sono strettamente regolate principalmente da paratormone (PTH), 1,25-diidrossicalciferolo ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  o vitamina D) e calcitonina tramite i livelli di  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulare (cfr. Capitolo 16). Una riduzione dei livelli plasmatici di  $\text{Ca}^{2+}$  stimola la secrezione di PTH dalla paratiroide. Questi effetti sono mediati da un recettore sensibile al  $\text{Ca}^{2+}$  esterno, il CaSR (*calcium-sensing receptor*). Il paratormone mobilizza il  $\text{Ca}^{2+}$  dalle ossa, stimola il suo riassorbimento dal tubulo distale e promuove il riassorbimento intestinale di  $\text{Ca}^{2+}$ .

Circa il 98% del  $\text{Ca}^{2+}$  nell'ultrafiltrato è riassorbito nei tubuli renali, pertanto solo 200 mg al giorno sono escreti.

#### Magnesio

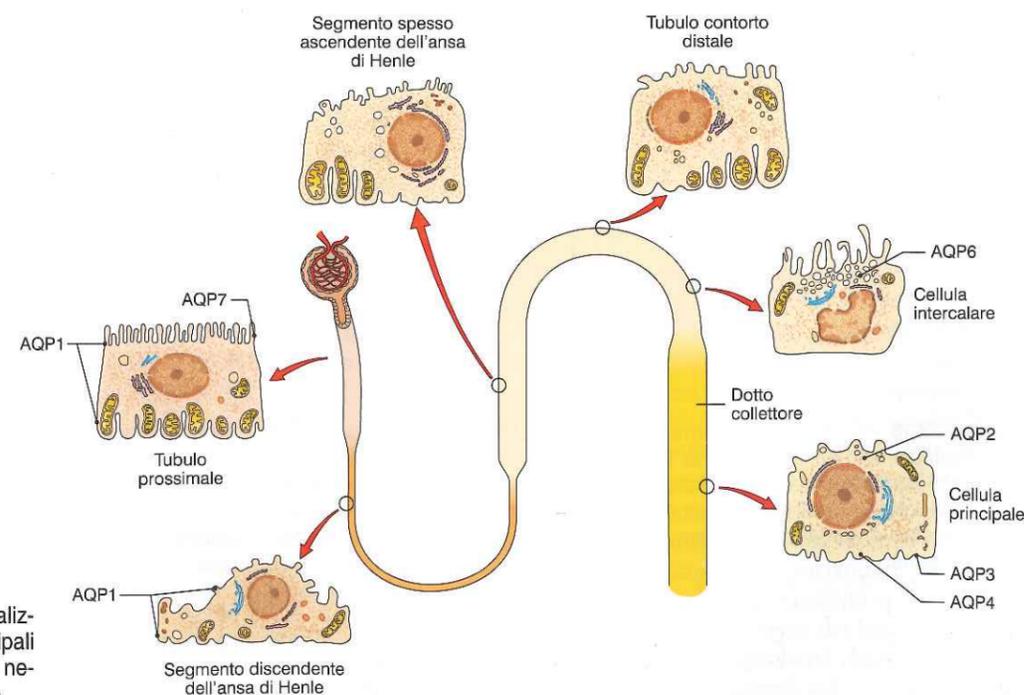
Il magnesio, che è presente nell'organismo come catione bivalente ( $\text{Mg}^{2+}$ ), è il secondo più abbondante catione intracellulare. È un cofattore essenziale per molti enzimi e un regolatore di numerosi canali ionici e trasportatori nei tessuti eccitabili. La normale concentrazione plasmatica di  $\text{Mg}^{2+}$  oscilla da 1,8 a 2,8 mg  $\text{dl}^{-1}$ .

Circa l'80% del  $\text{Mg}^{2+}$  è ultrafiltrato, di cui il 90% in forma ionizzata, mentre il resto è complessato a citrati, bicarbonati e fosfati; il 20% è legato a proteine, principalmente albumina. Il  $\text{Mg}^{2+}$  ultrafiltrato viene quasi totalmente riassorbito e solo il 3% è escreto con le urine. Il rene è in grado di regolare la quantità riassorbita o secreta secondo l'apporto di  $\text{Mg}^{2+}$  con la dieta.

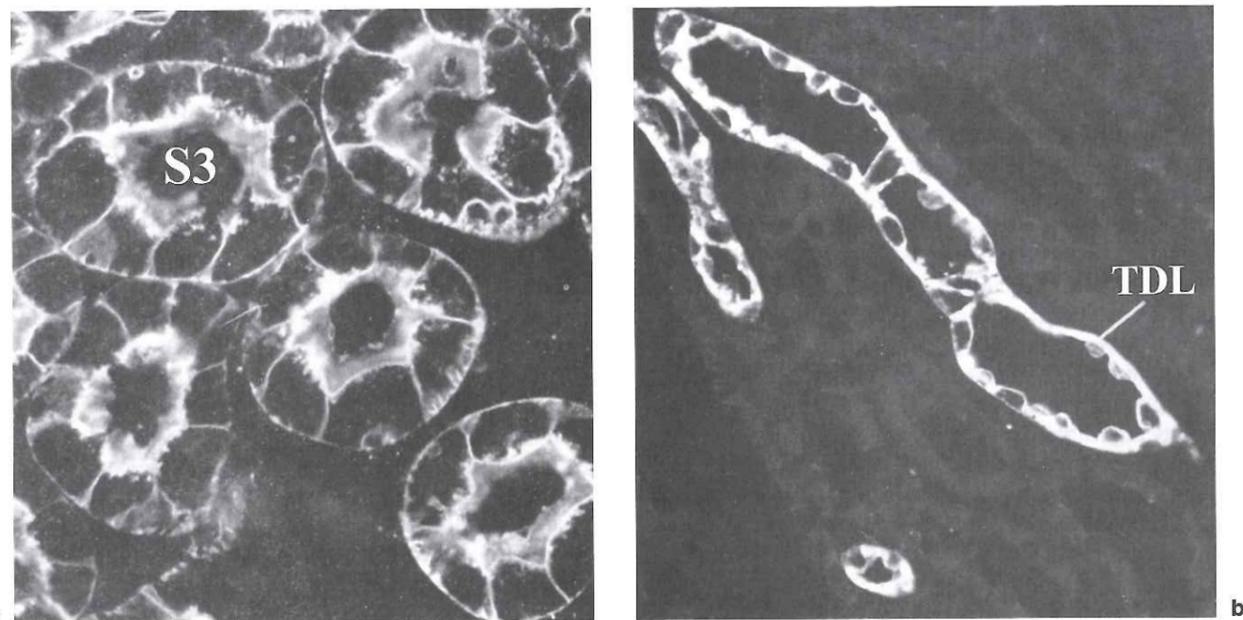
#### Fosfato

Il fosforo ha molteplici funzioni nell'organismo. Come il  $\text{Ca}^{2+}$ , è un elemento principale delle ossa. È un importante componente degli acidi nucleici. Inoltre, la fosforilazione è un meccanismo fondamentale per la regolazione di molte funzioni cellulari. La normale concentrazione plasmatica di fosforo è compresa tra 3 e 4,5 mg  $\text{dl}^{-1}$ . Il fosforo è presente nel plasma sotto forma di  $\text{HPO}_4^{2-}$  e  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , che sono in equilibrio chimico dipendente dal pH: a pH fisiologico di 7,4 il rapporto è di 4:1 rispettivamente.

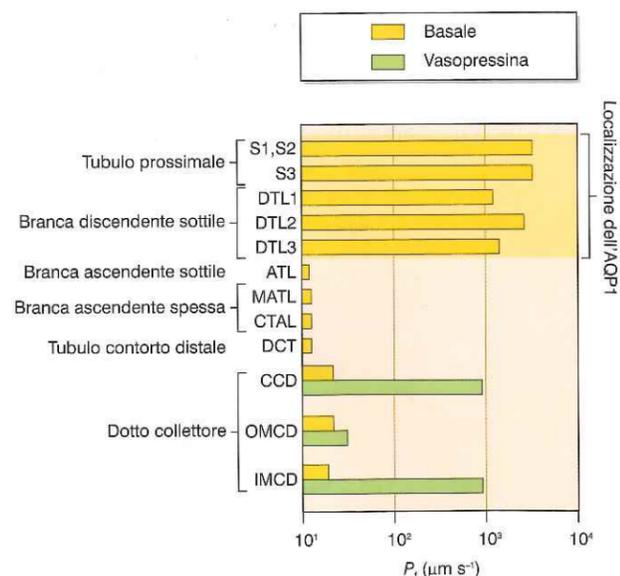
Ogni giorno l'apporto di fosforo con la dieta è di 800-1.500 mg e circa il 65% del fosforo introdotto è assorbito a livello intestinale.



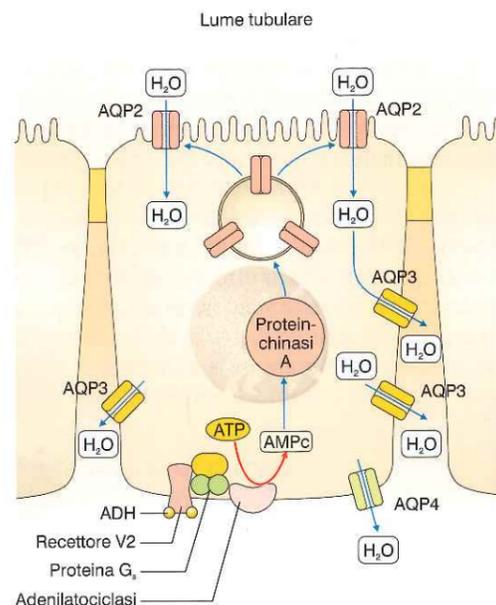
**Figura 22.16** - Localizzazione delle principali aquaporine in un nefrone di Mammifero.



**Figura 22.17** - Immunolocalizzazione dell'aquaporina 1 (AQP1) in rene di ratto. L'AQP1 è localizzata nella membrana apicale e basolaterale delle cellule epiteliali del tubulo prossimale (a) e del tratto sottile discendente dell'ansa di Henle (b). S3, segmento 3 del tubulo contorto prossimale; TDL, *thin descending limb*, tratto discendente sottile (da I. Sabolic et al., Localization of the CHIP28 water channel in rat kidney, Am J Physiol 263: C1225-33, 1992, © The American Physiological Society, riproduzione autorizzata).



**Figura 22.18** - Coefficienti di permeabilità osmotica dei vari segmenti del nefrone. L'aquaporina 1 (AQP1) è espressa nei segmenti caratterizzati da un'elevata permeabilità costitutiva osmotica. La permeabilità osmotica del dotto collettore è bassa in basale e aumenta considerevolmente in presenza di vasopressina.



**Figura 22.19** - Meccanismo di azione della vasopressina (ADH) nelle cellule principali del dotto collettore. L'ormone si lega a un recettore V2 localizzato nella membrana basolaterale accoppiato a una proteina G<sub>s</sub> che attiva l'adenilato ciclasi. L'incremento di adenosin-monofosfato ciclico (AMPc) attiva la proteinchinasi A che fosforila AQP2 localizzata in vescicole intracitoplasmatiche. Questa modificazione molecolare è importante per il processo di fusione delle vescicole con la membrana apicale che diviene permeabile all'acqua. L'acqua viene riassorbita transcellularmente e fuoriesce attraverso AQP3 e AQP4 localizzate sulla membrana basolaterale.

liati del tubulo prossimale e nella branca discendente dell'ansa di Henle (Fig. 22.17), consistentemente con l'elevato coefficiente di permeabilità misurato nei tubuli prossimali e nella branca discendente (Fig. 22.18). L'AQP1 media il rapido trasporto di acqua transcellulare (fino all'80% dell'ultrafiltrato) attraverso le due membrane guidato da un piccolo gradiente osmotico (1-2 mOsm).

Il riassorbimento di una quota del rimanente 20% dell'ultrafiltrato avviene nel dotto collettore ed è regolato dalla vasopressina tramite altri tipi di aquaporine, in particolare AQP2. Questa è espressa nella membrana apicale delle cellule principali del dotto collettore renale ed è presente in vescicole intracitoplasmatiche (Fig. 22.19).

## CONTROLLO DELL'OSMOLARITÀ E DEL VOLUME DEI COMPARTIMENTI IDRICI

### COMPARTIMENTI IDRICI DELL'ORGANISMO

Nel corpo umano il 60% in peso è costituito da acqua che si distribuisce tra due compartimenti principali: il liquido intracellulare e il liquido extracellulare, che è distinto a propria volta in liquido interstiziale e plasma. Il compartimento idrico intracellulare contiene circa i due terzi dell'acqua corporea totale e il restante terzo è contenuto nel compartimento idrico extracellulare. Il liquido interstiziale è il liquido che circonda le cellule dei vari tessuti dell'organismo e rappresenta circa i tre quarti del volume del liquido extracellulare; l'acqua contenuta nel plasma costituisce il restante quarto del liquido extracellulare. La composizione del liquido interstiziale è simile a quella del plasma con la differenza che nel plasma vi è una significativa maggiore presenza di proteine.

Questi tre compartimenti liquidi sono tra loro in equilibrio osmotico (circa 295 mOsm/kgH<sub>2</sub>O), in quanto l'acqua può liberamente passare sia attraverso l'endotelio capillare sia attraverso la membrana plasmatica delle cellule. Tuttavia, la composizione di questi compartimenti è molto diversa, essendo il Na<sup>+</sup> (e i suoi anioni di accompagnamento, Cl<sup>-</sup> e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) il principale fattore determinante dell'osmolarità del liquido extracellulare, mentre nel liquido intracellulare la concentrazione di Na<sup>+</sup> è molto bassa, il principale catione è il K<sup>+</sup> e gli anioni più importanti sono i fosfati, gli anioni organici e le proteine.

### REGOLAZIONE RENALE DELLA CONCENTRAZIONE DELLE URINE

Il rene è l'organo maggiormente responsabile della regolazione del bilancio idrico ed è attraverso il rene che viene eliminata l'acqua in eccesso. Altre modalità meno importanti di eliminazione dell'acqua includono l'evaporazione dalla cute e la respirazione: queste ultime modalità nel loro insieme vanno sotto il nome di *perdita idrica*

*insensibile*, cioè non percepita (*perspiratio insensibilis*). Un'ulteriore quota di acqua viene persa mediante la sudorazione, un meccanismo che varia notevolmente in termini quantitativi secondo la temperatura esterna, in presenza di febbre o se si è sotto sforzo fisico (cfr. Capitolo 24). Infine, l'acqua può essere eliminata attraverso il tratto gastrointestinale: l'acqua persa con le feci di norma è scarsa, ma può incrementare considerevolmente durante la diarrea; le perdite gastrointestinali possono anche verificarsi con il vomito.

A differenza delle perdite di acqua con il sudore, le feci, la respirazione e la sudorazione, che non sono regolate, l'escrezione renale di acqua è finemente regolata. In condizioni fisiologiche, l'uomo elimina urine ipertoniche. Valori tipici sono un volume urinario pari a 1-1,5 l al giorno e un'osmolarità urinaria di 800-900 mOsm kg<sup>-1</sup>. Questa è l'antidiuresi fisiologica in cui più del 99% dell'ultrafiltrato è stato riassorbito. Se la disponibilità di acqua è bassa, il rene tende a conservare acqua producendo un volume ridotto (circa 500 ml al giorno) di urina iperosmotica rispetto al plasma (fino a 1.200 mOsm kg<sup>-1</sup>). Quando invece l'assunzione di acqua è elevata, il rene produce un elevato volume (fino a 18 l al giorno) di urine iposmotiche (inferiore a 50 mOsm kg<sup>-1</sup>).

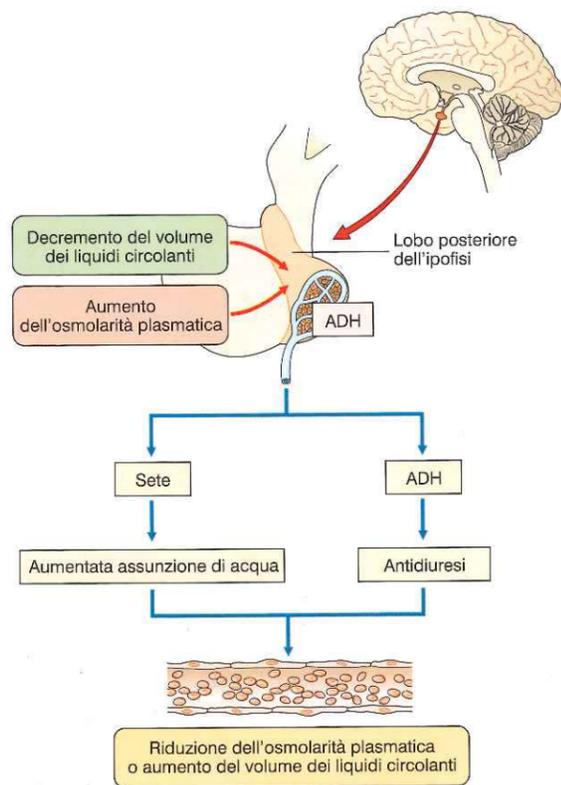
### Escrezione renale di acqua: ruolo della vasopressina

I reni possono controllare l'escrezione di acqua indipendentemente dall'escrezione di soluti e altre sostanze osmoticamente attive (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>, urea).

L'ormone vasopressina (AVP) o antidiuretina (*antidiuretic hormone*, ADH) agisce a livello renale regolando osmolarità e volume delle urine. La vasopressina è un nonapeptide che viene sintetizzato dalle cellule neuroendocrine dei nuclei supraottico e paraventricolare ipotalamici. L'ormone viene immagazzinato in granuli, che per via assonale vengono trasportati ai terminali nervosi situati nella neuroipofisi (lobo posteriore dell'ipofisi) (cfr. Capitolo 22 e Fig. 22.11).

Se la concentrazione di vasopressina circolante è bassa, i reni eliminano un volume elevato di urina diluita. Viceversa, quando i livelli di vasopressina sono elevati, viene escreto un volume ridotto di urina concentrata.

Il rilascio di vasopressina dal lobo posteriore dell'ipofisi è regolato principalmente dall'osmolarità dei liquidi circolanti. Altri fattori meno potenti per stimolare la secrezione di vasopressina sono il volume e la pressione del sangue (cfr. Capitolo 19). Un aumento dell'osmolarità plasmatica del 2-3% stimola la sensazione della sete, mentre per provocare la stessa risposta occorrono riduzioni del volume e della pressione ematica dell'ordine del 10-15% (Fig. 22.20). Le variazioni dell'osmolarità sono rilevate da osmocettori ipotalamici che, comportandosi come osmometri, si rigonfiano o si raggrinziscono al diminuire o all'aumentare della concentrazione dei liquidi circolanti (principalmente NaCl). Se l'osmolarità plasmatica aumenta, gli osmocettori inviano segnali alle cellule secernenti



**Figura 22.20** - Un aumento dell'osmolarità plasmatica o un decremento del volume dei liquidi circolanti stimolano il rilascio di vasopressina (ADH) dal lobo posteriore dell'ipofisi.

situate nei nuclei supraottico stimolando la secrezione di vasopressina. Viceversa, la secrezione di vasopressina è inibita quando l'osmolarità si riduce.

La vasopressina esplica la propria azione in pochi minuti, consentendo una rapida risposta alle variazioni dell'osmolarità plasmatica, e viene poi rapidamente degradata.

La vasopressina incrementa la permeabilità del dotto collettore all'acqua. Questo processo provoca riassorbimento netto di acqua dal liquido tubulare ai capillari peritubulari. La vasopressina aumenta anche la permeabilità all'urea nella porzione terminale del dotto collettore midollare.

### Meccanismo di moltiplicazione per controcorrente

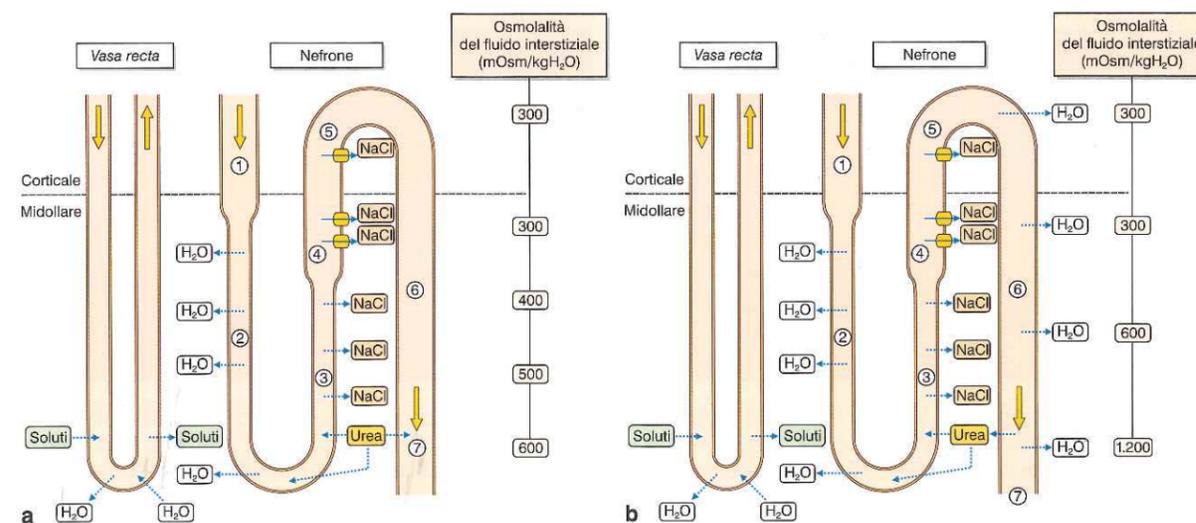
Per regolare il bilancio idrico, il riassorbimento o la secrezione di acqua devono essere separati da quelli dei soluti.

Nel tubulo prossimale, il riassorbimento di soluto comporta anche il riassorbimento quasi isosmotico di una quota proporzionale di acqua. Pertanto, in questa porzione del nefrone non si verifica alcuna separazione tra soluto e acqua, indipendentemente dal fatto che il rene elimini urine diluite o concentrate.

Questo processo, invece, si realizza nell'ansa di Henle, in particolare nel suo segmento ascendente spesso. La figura 22.21 schematizza il processo con cui il rene può eliminare urine sia diluite sia concentrate.

Quando i livelli di vasopressina sono bassi, le tappe del processo di formazione delle urine sono le seguenti:

- il liquido proveniente dal tubulo prossimale (preurina) è isosmotico con il plasma e s'immisce nel tratto discendente sottile dell'ansa di Henle, che è molto permeabile all'acqua e poco a urea e NaCl. Pertanto, mano a mano che il liquido scende in profondità nella midollare iperosmotica, perde progressivamente acqua e si concentra (cfr. Fig. 22.21 a, punti 1 e 2);
  - a causa di questo riassorbimento osmotico di acqua, quando il liquido raggiunge l'apice dell'ansa avrà un'osmolarità uguale a quella del liquido interstiziale della papilla, benché con differente composizione. Infatti, la concentrazione di NaCl del liquido tubulare è maggiore di quella dell'interstizio. Viceversa, la concentrazione dell'urea del liquido tubulare è inferiore a quella del liquido interstiziale;
  - il liquido s'immisce nel tratto ascendente sottile dell'ansa di Henle, che è essenzialmente impermeabile all'acqua ma permeabile a NaCl e urea. Di conseguenza, il liquido tubulare perde NaCl per diffusione, mentre l'urea diffonde dall'interstizio midollare al lume tubulare (cfr. Fig. 22.21 a, punto 3). Pertanto, nel tratto ascendente sottile il volume del liquido tubulare non si modifica, mentre la concentrazione di NaCl si riduce e quella di urea aumenta;
  - il liquido s'immisce nel tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle, che è essenzialmente impermeabile all'acqua e all'urea. In questo segmento del nefrone, il NaCl è riassorbito attivamente (cfr. Fig. 22.21 a, punto 4) e, di conseguenza, il liquido tubulare si diluisce divenendo iposmotico rispetto al plasma (circa 150 mOsm/kgH<sub>2</sub>O);
  - il tubulo distale e il dotto collettore corticale riassorbono attivamente NaCl, ma sono impermeabili all'urea (cfr. Fig. 22.21 a, punti 5 e 6); se non c'è vasopressina in circolo o se è presente a basse concentrazioni, il tubulo distale e il dotto collettore corticale sono impermeabili all'acqua. L'osmolarità del liquido tubulare di questi segmenti viene ulteriormente ridotta, in quanto si verifica il riassorbimento di NaCl senza riassorbimento di acqua. Il liquido che si immette nel dotto collettore corticale è iposmotico rispetto al plasma (circa 100 mOsm/kgH<sub>2</sub>O);
  - il dotto collettore midollare, anche in assenza di vasopressina, è lievemente permeabile all'acqua e all'urea e riassorbe attivamente NaCl. Di conseguenza, una certa quantità di urea si immette nel dotto collettore e viene riassorbito un piccolo volume di acqua (cfr. Fig. 22.21 a, punto 7);
  - l'urina raggiunge un'osmolarità di circa 500 mOsm/kgH<sub>2</sub>O e contiene basse concentrazioni di urea e di NaCl.
- Diverso è il comportamento nel caso in cui i livelli di



**Figura 22.21 - a**, Escrezione di urine diluite. Se la vasopressina (ADH) non è presente in circolo, il dotto collettore non è permeabile all'acqua e l'osmolarità dell'interstizio nella midollare interna è ridotta rispetto alle condizioni di antidiuresi. **b**, Escrezione di urine concentrate. Se i livelli di ADH sono alti, il dotto collettore è permeabile all'acqua e l'interstizio è ipertonico. Nel tubulo prossimale (1) il riassorbimento di sodio è accompagnato da acqua (H<sub>2</sub>O) e l'osmolarità resta costante; nella branca discendente dell'ansa di Henle (2) il liquido tubulare si concentra per diffusione passiva d'acqua verso l'interstizio; nella porzione sottile della branca ascendente (3) il riassorbimento di elettroliti (in parte passivo) non è accompagnato da acqua e contribuisce al gradiente osmotico nella midollare profonda; nella porzione spessa (4) il trasporto attivo di elettroliti costituisce il principale meccanismo di generazione di gradiente osmotico; il riassorbimento passivo di acqua nel tubulo collettore (5) e nel dotto collettore (6) è guidato dall'iperosmolarità dell'interstizio, è regolato dall'ormone antidiuretico ed è accompagnato dal flusso di urea, che attenua il proprio effetto diluente sul gradiente; nella porzione terminale del dotto (7) l'intenso riassorbimento di urea produce un'elevata concentrazione di urea nell'interstizio papillare, che contribuisce significativamente al gradiente osmotico in questa regione. L'irrorazione da parte dei vasa recta non compromette il gradiente, perché l'acqua liberata, inoltrandosi nella midollare, viene ripresa dalla branca venosa del vaso che risale verso la corticale e i soluti assorbiti in discesa vengono restituiti in salita. NaCl, cloruro di sodio.

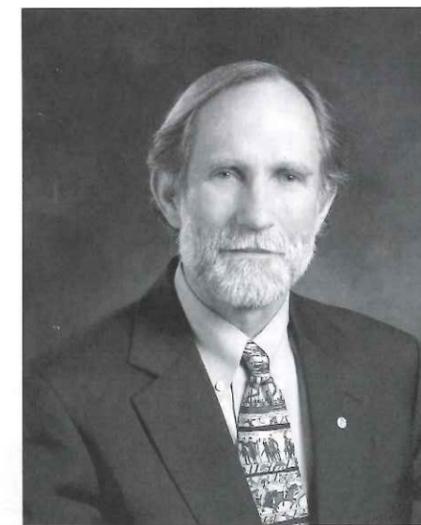
## RIQUADRO 22.1

### AQUAPORINE, UNA SCOPERTA CASUALE CHE HA RIVOLUZIONATO IL CONCETTO DI PERMEABILITÀ OSMOTICA

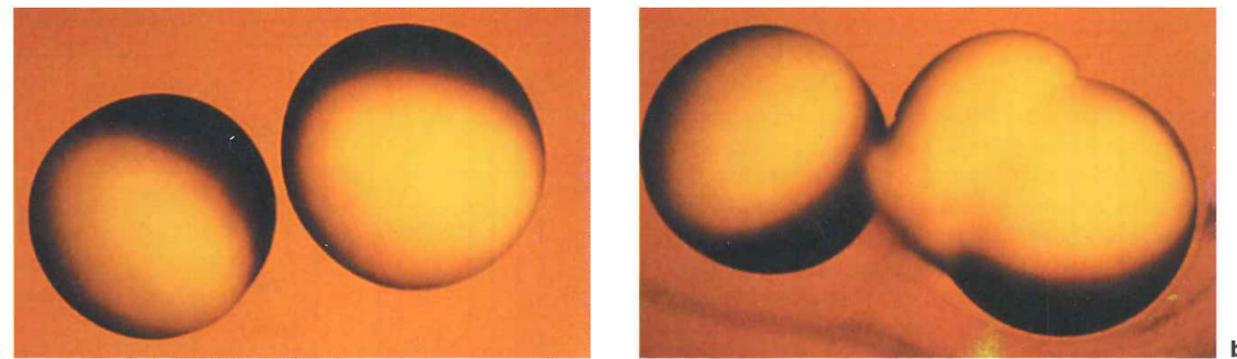
L'isolamento e la caratterizzazione dei canali per l'acqua, le aquaporine, ha permesso di comprendere il meccanismo di trasporto attraverso le membrane biologiche. Le aquaporine svolgono un ruolo importante nella fisiologia dei Mammiferi e nei processi vitali dei microrganismi e delle piante.

Sin dall'inizio del secolo scorso era stato dimostrato che l'acqua diffonde attraverso le membrane biologiche e che la permeabilità idrica è indispensabile al mantenimento dell'omeostasi osmotica. Attraverso tecniche biofisiche era stato tuttavia osservato che in alcuni tipi cellulari, come gli eritrociti, le cellule delle ghiandole salivari e quelle tubulari renali, il solo processo diffusionale non spiegava completamente l'elevata permeabilità idrica misurata, suggerendo l'esistenza di specifiche vie di permeazione per l'acqua.

Nel 1988 P. Agre (Fig. R22.1-1), professore di chimica biologica della Johns Hopkins University School of Medicine, durante la purificazione di un anticorpo specifico per il fattore Rh isolò un anticorpo che riconosceva in maniera selettiva una proteina di 28 kDa. Studi di purificazione e di immunolocalizzazione hanno evidenziato che la proteina di 28 kDa è espressa in epitelii in cui la permeabilità idrica è particolarmente pronunciata e cioè negli eritrociti e, a livello renale,

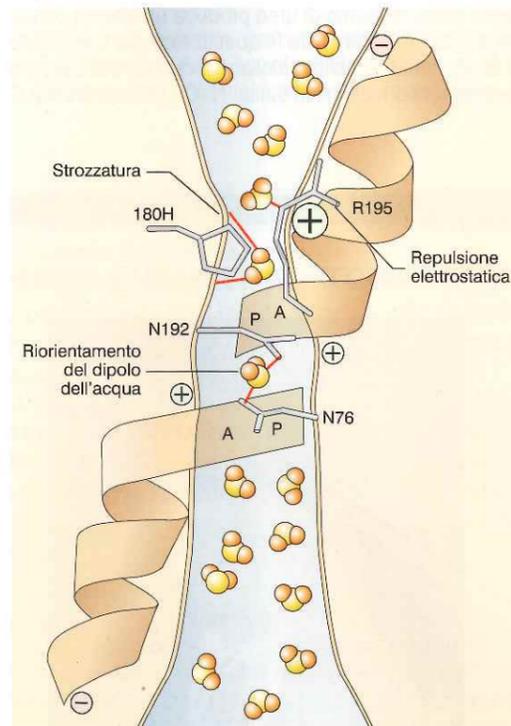


**Figura R22.1-1** - P. Agre, scopritore del primo canale per l'acqua AQP1 e insignito del Premio Nobel 2003 per la chimica.



**Figura R22.1-2** - Espressione funzionale del canale per l'acqua AQP1 in oociti di *Xenopus laevis*. **a**, Il cRNA codificante l'AQP1 veniva iniettato nell'oocito mostrato a destra, mentre nell'oocito di controllo (a sinistra) veniva iniettata acqua. **b**, In un mezzo ipotonico l'oocito che esprimeva l'AQP1 si rigonfiava in modo significativo sino a esplodere dopo 3 minuti (da M.J. Chrispeels, P. Agre, Aquaporins: water channel proteins of plant and animal cells, Trends Biochem Sci 19: 421-5, © 1994, con l'autorizzazione di Elsevier).

nelle membrane apicali e basolaterali del tubulo prossimale e nel tratto sottile dell'ansa di Henle. Lo studio della sequenza aminoacidica suggeriva che la proteina identificata presentasse sei domini transmembrana uniti da cinque anse di connessione, con le estremità carbossi- e aminoterminali ci-



**Figura R22.1-3** - Sezione sagittale dell'AQP1. All'interno del canale è presente una strozzatura di circa 20  $\mu\text{m}$  che permette il passaggio di singole molecole di acqua (modificata da D. Kozono et al., Aquaporin water channels: atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine, J Clin Invest 109: 1395-9, 2002).

toplasmatiche. La proteina di 28 kDa fu inizialmente chiamata CHIP28 (*channel-like integral protein of 28 kDa*) per il suo tipico profilo idrofobico di proteina intrinseca di membrana.

Al fine di verificare la possibilità che la proteina isolata fosse implicata nel trasporto di acqua, Agre, in collaborazione con W.B. Guggino, effettuò saggi funzionali in oociti di *Xenopus laevis*. Gli oociti che esprimevano la proteina presentavano una permeabilità molto elevata, rispetto agli oociti controllo, e si rigonfiavano notevolmente, a causa dell'ingresso di acqua, quando posti in una soluzione ipotonica (Fig. R22.1-2).

Sulla base della sua funzione, fu proposto il nome di aquaporina e la CHIP28 fu ufficialmente denominata aquaporina 1 (AQP1). La proteina presenta domini omologhi tra loro, suggerendo l'ipotesi che essi derivino da un processo di duplicazione intragenica a carico di un gene ancestrale e capace di formare omodimeri. Studi topologici hanno inoltre chiarito che le due metà della sequenza aminoacidica sono orientate tra loro di  $180^\circ$  e che le anse B ed E che contengono i motivi NPA (asparagina-prolina-alanina), conservati in tutte le aquaporine, concorrono a formare il poro acquoso (cfr. Capitolo 6). Il modello proposto per definire l'organizzazione strutturale delle aquaporine è quello a clessidra. Studi di tipo strutturale e analisi di cristallografia hanno permesso di chiarire la modalità secondo cui le aquaporine presentano una specificità di trasporto per la molecola di acqua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) piuttosto che per i protoni ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ). All'ingresso del poro, l'arginina in posizione 195 (R195) impedisce il passaggio di protoni per repulsione elettrostatica; all'interno del poro si formano simultaneamente due legami idrogeno tra una molecola di acqua e le due asparagine dei domini NPA (N192, N76) permettendo, pertanto, il trasporto di singole molecole di  $\text{H}_2\text{O}$  (Fig. R22.1-3).

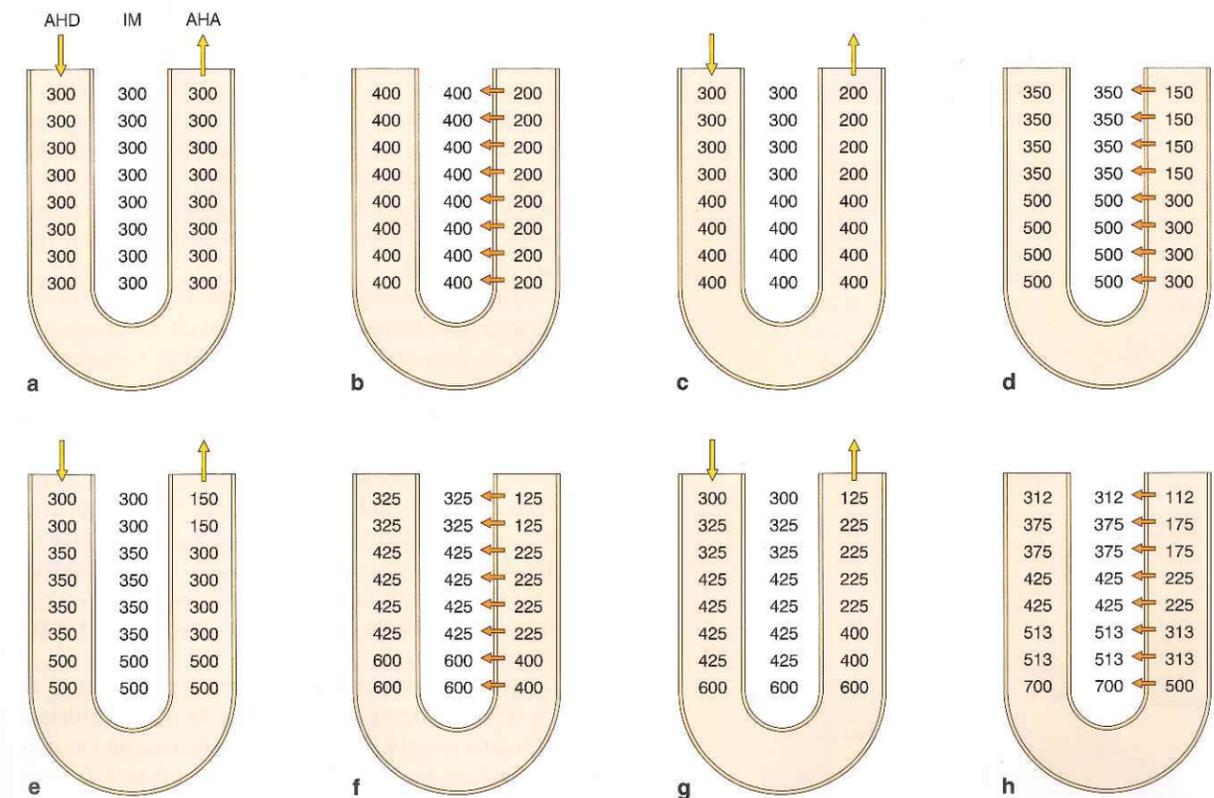
Attualmente sono state clonate tredici aquaporine nei Mammiferi e diverse isoforme sono note nelle piante e nei batteri. Lo studio delle aquaporine ha permesso di chiarire i meccanismi molecolari che permettono il trasporto di acqua in diversi epitelii. Le aquaporine sono infatti coinvolte nella formazione del liquor cerebrospinale, della saliva, del sudore e nel riassorbimento di acqua a livello renale.

vasopressina siano elevati e il rene formi urine concentrate. Le prime quattro fasi sono simili sia che vengano eliminate urine diluite o urine concentrate (cfr. Fig. 22.21 b, punti 1-4). L'accumulo di NaCl nell'interstizio midollare è essenziale per la produzione di urine concentrate, in quanto fornisce la forza osmotica per il riassorbimento di acqua dal dotto collettore. Infatti, il riassorbimento di NaCl da parte dei tratti ascendenti sottile e spesso dell'ansa di Henle diluisce il liquido tubulare e il NaCl riassorbito si accumula nell'interstizio e ne aumenta l'osmolarità. Il processo mediante il quale l'ansa di Henle, in particolare il suo tratto ascendente spesso, genera un gradiente iperosmotico nell'interstizio midollare è chiamato *moltiplicazione controcorrente*.

Il liquido tubulare scorre nell'ansa di Henle in due direzioni opposte determinando un flusso controcorrente. Il liquido tubulare entra nella midollare attraverso il tratto discendente, che è permeabile all'acqua, e ne esce

con il tratto ascendente, che è impermeabile all'acqua e riassume soluto dal liquido tubulare diluendolo. Questa separazione tra soluto e acqua operata dal tratto ascendente è chiamata *effetto singolo* del processo di moltiplicazione controcorrente. Il soluto riassorbito da questo tratto si accumula nel liquido interstiziale, aumentando l'osmolarità. Questo richiama acqua dal tratto discendente provocando la concentrazione del liquido tubulare. Dunque, il flusso controcorrente nei tratti discendente e ascendente dell'ansa di Henle amplifica e "moltiplica" il gradiente osmotico tra il liquido tubulare nel tratto ascendente e quello nel tratto discendente dell'ansa di Henle (Fig. 22.22).

A causa del riassorbimento di NaCl nel tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle, il liquido che entra nel dotto collettore è iposmotico rispetto al plasma. Se è presente la vasopressina, la permeabilità all'acqua del dotto collettore aumenta e l'acqua diffonde dal lume del tubulo



**Figura 22.22** - Meccanismo di moltiplicazione controcorrente. Rappresentazione schematica di come si stabilirebbe il gradiente osmotico, a partire da una condizione isosmotica, lasciando fluire il liquido tubulare in modo intermittente. **a**, Tubulo e interstizio sono isosmotici (300  $\text{mOsm l}^{-1}$ ) in assenza di trasporti attivi. **b**, I trasporti attivi di soluti non accompagnati da acqua nella branca ascendente diminuiscono l'osmolarità nel tubulo, mentre l'aumentano nell'interstizio (schematicamente si considera che il trasporto possa mantenere la differenza fissa di 200  $\text{mOsm l}^{-1}$ ) e, di conseguenza, nella branca discendente. **c**, Avviando il flusso, entra liquido isotonic che libera acqua verso l'interstizio (diluendolo) fino a equilibrarsi: si crea un gradiente osmotico lungo l'ansa, con la porzione profonda iperosmotica. **d**, A flusso fermo il trasporto attivo ricrea la differenza di 200  $\text{mOsm l}^{-1}$ : l'osmolarità diminuisce nella branca ascendente (per estrusione progressiva di soluti) e aumenta nell'interstizio (e nella branca discendente che è in equilibrio con l'interstizio); permane comunque un gradiente. **e-h**, Si ripete più volte l'operazione con il risultato che ogni volta il liquido all'inizio della branca ascendente risulta più concentrato e può determinare una maggior concentrazione nell'interstizio profondo; ogni volta il gradiente osmotico diviene più ripido. AHD, ansa di Henle, branca discendente; AHA, ansa di Henle, branca ascendente; IM, interstizio midollare.

all'interstizio concentrando il liquido tubulare (cfr. Fig. 22.21 b, punto 5).

Nel dotto collettore corticale la permeabilizzazione all'acqua operata dalla vasopressina consente l'equilibrio dell'osmolarità con quella del liquido interstiziale e dunque può raggiungere un'osmolarità massima di 300 mOsm/kgH<sub>2</sub>O. È opportuno sottolineare che l'osmolarità di questo liquido tubulare è dovuta principalmente alla presenza di urea e di altre sostanze che non sono state riassorbite (per esempio K<sup>+</sup>, creatinina) invece che al suo contenuto di NaCl.

Successivamente, passando dalla corticale alla midollare, il dotto collettore si trova in un ambiente con osmolarità crescente (da 300 mOsm/kgH<sub>2</sub>O a 1.200 mOsm/kgH<sub>2</sub>O, cfr. Fig. 22.21 b, punto 6). La vasopressina, oltre a rendere il dotto collettore midollare permeabile all'acqua, aumenta anche la permeabilità all'urea nell'ultima porzione del dotto collettore midollare. Pertanto, giacché la concentrazione dell'urea nel liquido tubulare è incrementata grazie all'estrazione dell'acqua, una certa quantità di urea diffonderà dal lume, accumulandosi nell'interstizio midollare e aumentandone ulteriormente l'osmolarità (cfr. Fig. 22.21 b, punto 7). La massima osmolarità che il

liquido del dotto collettore midollare può raggiungere è uguale a quella del liquido interstiziale.

### Osmolarità del liquido interstiziale della midollare

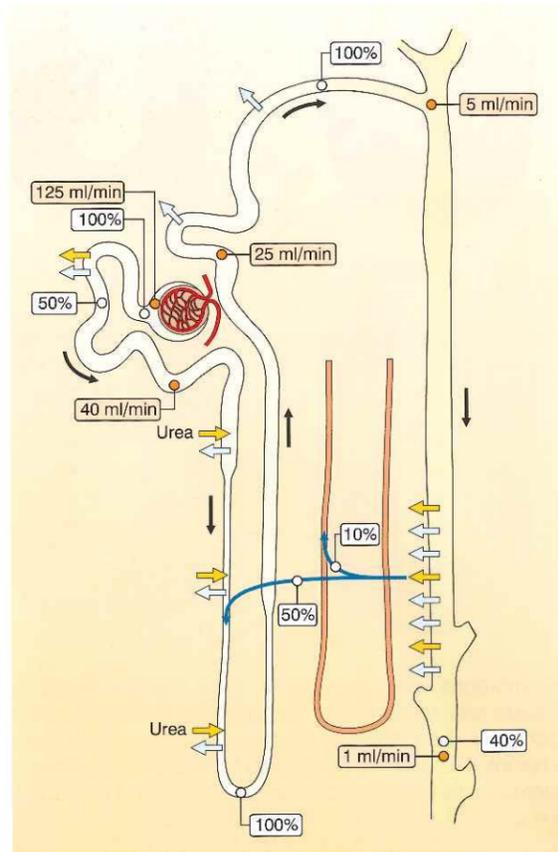
In condizioni fisiologiche, se è presente vasopressina, l'urina terminale ha un volume di 0,5 l al giorno e raggiunge un'osmolarità di 1.200 mOsm/kgH<sub>2</sub>O. L'osmolarità è in gran parte dovuta all'urea e ad altri soluti non riassorbiti.

L'osmolarità del liquido interstiziale della midollare è dunque essenziale per la concentrazione delle urine. Nel caso in cui vengano escrete urine con la concentrazione massima, l'osmolarità del liquido interstiziale a livello della papilla raggiunge circa 1.200 mOsm/kgH<sub>2</sub>O, di cui 600 mOsm/kgH<sub>2</sub>O sono attribuibili al NaCl e 600 mOsm/kgH<sub>2</sub>O all'urea. L'urea è un prodotto del metabolismo delle proteine che avviene nel fegato e viene totalmente filtrata nel glomerulo. La permeabilità all'urea lungo i segmenti del nefrone è bassa, tranne nel dotto collettore midollare interno, specialmente in presenza di vasopressina. In questo caso l'urea diffonde dal lume tubulare all'interstizio della midollare e si accumula. Parte di essa s'immette nei tratti sottili ascendente e discendente dell'ansa di Henle e, pertanto, ricicla dall'interstizio al nefrone e poi di nuovo all'interstizio. Questo processo di ricircolo serve a facilitare l'accumulo di urea nell'interstizio midollare (Fig. 22.23).

Nel tubulo contorto prossimale metà dell'urea filtrata viene riassorbita seguendo l'acqua. Nell'ansa di Henle una quantità analoga rientra nel tubulo, facendo così diminuire il riassorbimento d'acqua che ridurrebbe il gradiente osmotico prodotto dagli elettroliti. Nella parte spessa dell'ansa ascendente e nel tubulo distale (impermeabili all'urea), l'urea continua a venire concentrata dal riassorbimento di acqua. Nel dotto collettore il 60% dell'urea presente passa all'interstizio seguendo l'acqua (il trasporto è regolato dall'ormone antidiuretico); circa il 10% viene drenato dai *vasa recta*, il restante 50% contribuisce a mantenere il gradiente osmotico e in buona parte rientra nell'ansa di Henle.

Il dotto collettore riceve ogni giorno una quantità di fluido corrispondente a circa il 10-15% dell'ultrafiltrato glomerulare, giacché il 90% circa è stato assorbito in modo obbligatorio nel tubulo prossimale e nell'ansa di Henle. Di questa quota una porzione variabile viene poi riassorbita lungo il dotto collettore in modo regolato dalla vasopressina. In condizioni di antidiuresi, il volume maggiore di acqua viene riassorbito nella porzione del dotto collettore della corticale e della midollare esterna e una quantità minore nel dotto collettore della midollare interna. Ciò riduce la quantità di acqua che entra nell'interstizio della midollare interna mantenendolo sostanzialmente iperosmotico.

Un ruolo importante di controllo dell'iperosmolarità dell'interstizio è svolto dai *vasa recta*, una rete di capillari che irrorano la midollare del rene. I *vasa recta* hanno un



**Figura 22.23** - Ricircolo dell'urea. Le frecce indicano il movimento di urea (giallo) e acqua (celeste); i riquadri bianchi la quantità percentuale dell'urea filtrata che resta nel lume; i riquadri beige il flusso complessivo a ogni livello del nefrone.

andamento a forcina come l'ansa di Henle e sono molto permeabili all'acqua (l'endotelio di questi vasi esprime l'AQP1) e ai soluti. I *vasa recta*, oltre a fornire ossigeno e nutrienti alle cellule tubulari della midollare, rimuovono l'eccesso di acqua e soluti che vengono continuamente trasferiti nell'interstizio della midollare dai segmenti del nefrone midollare.

### CONTROLLO DEL VOLUME DEL LIQUIDO EXTRACELLULARE

Il volume del liquido extracellulare aumenta in proporzione al volume di acqua introdotta nell'organismo, la quale, in buona approssimazione, dipende dalla quantità di NaCl presente nel liquido extracellulare. Pertanto, le variazioni del contenuto di NaCl nel liquido extracellulare provocano variazioni parallele del volume dello stesso e una riduzione del contenuto di NaCl del liquido extracellulare riduce il volume di questo compartimento.

Il rene è l'organo principale per l'eliminazione di NaCl e, di conseguenza, assume una notevole importanza per mantenere costante il volume del liquido extracellulare regolando l'escrezione di NaCl. Disregolazioni di questo meccanismo hanno importanti effetti sul volume del liquido extracellulare: se l'assunzione di NaCl supera l'escrezione, il volume aumenta, mentre se l'escrezione supera l'assunzione, il volume si riduce.

### Principali sensori vascolari

Ogni giorno vengono mediamente introdotti 140 mEq di Na<sup>+</sup> (circa 8 g di NaCl) e una stessa quantità viene escreta. I reni sono tuttavia capaci di modificare in modo notevole l'escrezione di NaCl. Un sistema di sensori atti a rilevare le variazioni del volume del liquido extracellulare agiscono principalmente sul rene allo scopo di regolare di conseguenza l'escrezione di NaCl.

Come visto nei Capitoli 19 e 20, sensori sensibili alle variazioni del volume vascolare, della pressione sanguigna e della portata cardiaca sono localizzati in diverse zone del sistema cardiocircolatorio. Il rene svolge un ruolo molto importante nelle risposte omeostatiche innescate da questi sensori. Un ulteriore meccanismo di regolazione dell'escrezione di NaCl è situato negli atri dove i miociti sintetizzano un ormone peptidico, il *peptide natriuretico atriale* (ANP). L'ANP viene liberato quando gli atri vengono distesi provocando un rapido incremento dell'escrezione renale di NaCl e di acqua e riducendo la pressione sanguigna.

### Apparato iuxtaglomerulare

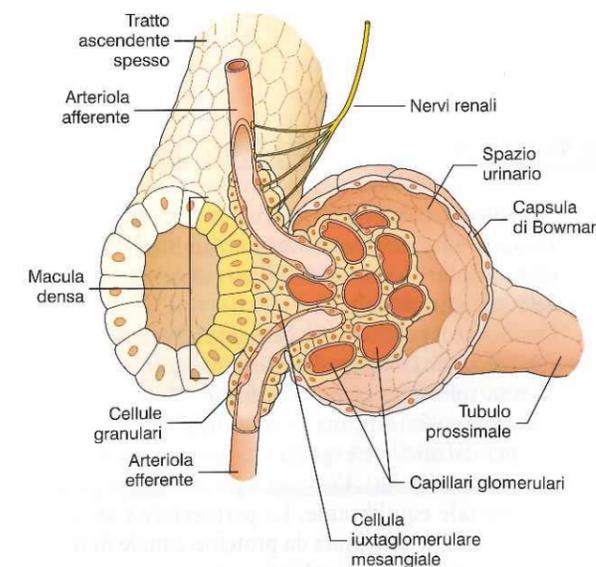
L'apparato iuxtaglomerulare del rene è una struttura complessa che comprende alcune cellule dell'epitelio tubulare, che formano la *macula densa*, e le cellule granulari delle arteriole afferente ed efferente del glomerulo, che sono cellule muscolari lisce che producono la renina (Fig. 22.24).

L'apparato iuxtaglomerulare è in grado di rilevare sia le variazioni di pressione arteriosa sia il carico di Na<sup>+</sup> che arriva al tubulo contorto distale. Se la pressione di perfusione diminuisce o se la quantità di NaCl si riduce, si osserva un aumento della secrezione di renina, che a propria volta determina i livelli plasmatici di angiotensina II e di aldosterone, entrambi capaci di regolare l'escrezione renale di NaCl.

La *renina* è un enzima che idrolizza una proteina presente in circolo, l'angiotensinogeno prodotto dal fegato, scindendolo in un peptide a dieci aminoacidi, l'angiotensina I, che a propria volta viene trasformata in angiotensina II da un enzima convertitore (*angiotensin converting enzyme*, ACE) presente sulla superficie delle cellule dell'endotelio vascolare (cfr. Capitoli 16 e 18).

Le principali azioni dell'*angiotensina II* sono: vasocostrizione diretta delle arteriole, stimolazione del riassorbimento di NaCl da parte del tubulo prossimale, azione sul centro della sete con stimolazione della secrezione di vasopressina dalla neuroipofisi, stimolazione della secrezione dell'aldosterone da parte della corteccia surrenale.

L'*aldosterone* è un ormone steroideo prodotto dalle cellule della glomerulare della corteccia surrenale, la cui secrezione è regolata prevalentemente dal sistema renina-angiotensina (cfr. Capitolo 16). Come visto, la principale funzione dell'aldosterone è di stimolazione del riassorbimento di NaCl da parte del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle e delle cellule principali dell'ultima porzione del tubulo distale e del dotto collettore. Per effetto dell'aldosterone aumenta sia il numero dei canali ENaC presenti nella membrana apicale sia l'attivazione della Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasi presente sulla membrana basolaterale.



**Figura 22.24** - Caratteristiche anatomiche dell'apparato iuxtaglomerulare e rapporti tra glomerulo, arteriole, *macula densa* del tubulo e cellule del mesangio iuxtaglomerulare.

rale. L'aldosterone, oltre al riassorbimento del  $\text{Na}^+$ , stimola la secrezione di  $\text{K}^+$  nelle urine (cfr. Fig. 22.14).

L'aldosterone incrementa anche il riassorbimento di  $\text{NaCl}$  da parte delle cellule del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle, forse attraverso l'attivazione del cotrasporto  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$  della membrana apicale nonché della  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasi.

Come conseguenza dell'azione dell'aldosterone si riduce l'escrezione urinaria di  $\text{Na}^+$  e aumenta il riassorbimento di  $\text{Na}^+$  che è seguito da un riassorbimento di acqua. Pertanto, l'effetto è quello di un'espansione del liquido extracellulare.

Per riassumere, l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone nel suo insieme porta ad aumento della pressione arteriosa, incremento del riassorbimento di  $\text{Na}^+$  e di acqua con crescita del volume circolante ed escrezione di  $\text{K}^+$  prevalentemente in scambio con il  $\text{Na}^+$  riassorbito con conseguente variazione delle concentrazioni plasmatiche di  $\text{Na}^+$  e di  $\text{K}^+$ .

Gli effetti del sistema renina-angiotensina-aldosterone sono antagonizzati dall'ANP che, oltre a effetti diretti sul rene, inibisce la liberazione di renina (e, quindi, la produzione di aldosterone indotta dall'angiotensina II), oltre ad avere un'azione diretta sulle cellule della glomerulare della surrenale inibendo la produzione di aldosterone. Di conseguenza, l'ANP incrementa l'escrezione renale di  $\text{NaCl}$  e di acqua.

## BASSE VIE URINARIE: CENNI ANATOMICI E FUNZIONALI

L'urina terminale raccolta nei calici e nella pelvi renale defluisce negli ureteri e si deposita nella vescica urinaria.

## CONCETTI CHIAVE

- ❖ Le cellule variano il loro volume in risposta a **condizioni osmotiche alterate** del loro ambiente intra- ed extracellulare a causa della permeabilità all'acqua della membrana cellulare.
- ❖ L'**osmosi** è il processo che consente all'acqua di muoversi secondo il suo gradiente di concentrazione, cioè da una soluzione meno concentrata a una più concentrata separate da una membrana semipermeabile, che per definizione è quella che lascia passare il solvente e non i soluti. L'osmosi è un fenomeno passivo e come tale equilibrante. La permeabilità all'acqua può essere incrementata da proteine-canale di membrana chiamate aquaporine.
- ❖ Per evitare danni strutturali alla membrana che possono comprometterne la funzionalità cellulare, le

cellule attivano **meccanismi di autoregolazione del volume cellulare**. Se le cellule sono esposte in un fluido extracellulare ipotonico, esse inizialmente si rigonfiano, ma poi ritornano al loro volume iniziale mediante il meccanismo regolatorio del volume in decremento. Se le cellule sono esposte in un mezzo extracellulare ipertonico, esse inizialmente si restringono, ma poi ritornano al loro volume di origine mediante il processo denominato regolazione del volume in incremento.

Questi meccanismi presuppongono la presenza di **sensori del volume cellulare**, **sistemi di segnalazione intracellulari** accoppiati a questi sensori e, infine, **sistemi di trasporto di membrana** che devono mediare il rilascio o l'*uptake* di soluti osmotica-

mente attivi, principalmente ioni inorganici come sodio, potassio e cloro, oppure piccole molecole organiche denominate osmoliti compatibili (aminoacidi, polialcoli, metilammine), per compensare il rigonfiamento o il restringimento cellulare.

Il bilanciamento tra perdite e ingressi di acqua e sali interessa i liquidi interni extracellulari di un organismo in relazione alle concentrazioni degli stessi parametri presenti nell'ambiente esterno. Gli **organismi acquatici** possono essere classificati in base ad alcuni parametri come, per esempio, la capacità di mantenere costanti le concentrazioni di acqua e sali interne rispetto alle variazioni dell'ambiente esterno (osmoregolatori od omeosmotici se capaci, osmoconformi o pecilosmotici se incapaci).

Gli **organismi che vivono in ambiente subaereo** devono affrontare il grave problema della disidratazione conseguente alla perdita di acqua che si verifica passivamente e in modo incontrollabile a livello delle superfici corporee (cute e tratti respiratori). Altre uscite di acqua si verificano a livello intestinale e renale, ma in entrambi i casi sono accompagnate da elevati riassorbimenti.

Secondo l'organismo in esame, gli **organismi osmoregolatori** sono: intestino, branchie e cute; in queste sedi avviene sia l'assorbimento sia la secrezione di acqua e soluti osmoticamente attivi. Gli organi renali svolgono, invece, un ruolo fondamentale nella funzione secretoria.

L'unità morfofunzionale del rene è il **nefrone**, nel quale si possono distinguere la capsula di Bowman, il tubulo prossimale, l'ansa di Henle, il tubulo distale e il dotto collettore.

Le tre operazioni fondamentali del nefrone sono: **filtrazione, riassorbimento ed escrezione**.

Nei glomeruli renali circa il 20% del plasma è **ultrafiltrato** e questo liquido (preurina) si riversa nella capsula che avvolge i glomeruli. La velocità di filtrazione glomerulare è misurata mediante la **clearance** dell'inulina o, più comunemente, della creatinina. La **clearance renale** di una sostanza è il volume di plasma depurato di quella data sostanza dal rene nell'unità di tempo.

Il processo di ultrafiltrazione, che è poco selettivo (passano tutte le molecole di dimensione inferiore a 5 kDa), è seguito da un **riassorbimento controllato** di soluti e di acqua che avviene nei vari segmenti tubulari.

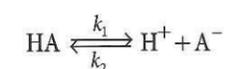
Il **rene** regola il volume e l'osmolarità dei liquidi corporei e le concentrazioni plasmatiche degli elettroliti,

- ❖ inclusi idrogenioni e bicarbonati, contribuendo al controllo dell'equilibrio acido-base.
- ❖ Il **sodio** è il principale elettrolita dei liquidi corporei. La maggior parte dei processi di riassorbimento coinvolge il sodio che entra nei tubuli passivamente ed è estruso attivamente verso l'interstizio dalla pompa sodio-potassio.
- ❖ L'ingresso di sodio in cellula è mediato dai **sistemi di cotrasporto o di scambio** in tutto il tubulo, mentre solo nelle cellule principali del tubulo contorto distale il sodio entra attraverso un **canale** (canale epiteliale del sodio o ENaC). Questo canale è regolato dall'ormone aldosterone.
- ❖ L'**aldosterone** regola l'espressione del canale del sodio ENaC e della pompa sodio-potassio nelle cellule principali del tubulo distale. La secrezione dell'aldosterone è a sua volta regolata dal sistema renina-angiotensina.
- ❖ Il rene regola il **bilancio idrico** attraverso un riassorbimento di acqua mediato da aquaporine e, di conseguenza, mediante il controllo del volume delle urine escrete, preservando pertanto il corretto volume dei liquidi corporei.
- ❖ Grazie all'efficienza della regolazione della permeabilità idrica del dotto collettore operata dall'ormone vasopressina, che agisce facendo traslocare l'aquaporina 2 nella membrana apicale, il rene può produrre **urina** con osmolarità variabile da ipotonica a ipertonica rispetto al plasma (da 50 a 1.200 mOsm  $\text{kg}^{-1}$ ).
- ❖ La capacità del rene di concentrare le urine è basata, tuttavia, sulla genesi di un **gradiente cortico-midollare** prodotto e preservato dal meccanismo di moltiplicazione in controcorrente in presenza di vasopressina. Questo si basa sul trasferimento di elettroliti dal tubulo all'interstizio nel tratto spesso ascendente dell'ansa di Henle, che è impermeabile all'acqua. La branca discendente, che è permeabile all'acqua grazie alla presenza dell'aquaporina 1, cede acqua all'interstizio concentrando il fluido tubulare che, passando nel tratto ascendente (privo di aquaporine), cede elettroliti all'interstizio concentrandolo ulteriormente.
- ❖ Nella midollare interna la **vasopressina** attiva anche l'espressione del trasportatore dell'urea che, essendosi concentrata per il riassorbimento di acqua, fuoriesce nell'interstizio contribuendo ad aumentare l'osmolarità della midollare interna.
- ❖ L'**osmoregolazione** dei liquidi corporei è basata sulla capacità del rene di eliminare o trattenere acqua libera e di rimuovere con le urine il carico giornaliero di soluti introdotti in eccesso con la dieta.

## CONTROLLO DEL PH INTRA- ED EXTRACELLULARE

### SIGNIFICATO DEL PH

In una soluzione acquosa, i reagenti dissociabili si separano elettroliticamente nei rispettivi prodotti. Secondo quanto descritto dalla *legge di azione di massa*, la velocità della reazione è proporzionale – a una data temperatura – alla massa dei reagenti. Quindi, per un acido HA che si dissocia in soluzione nei suoi componenti  $H^+$  e  $A^-$ :



la velocità  $v_1$  della reazione sarà proporzionale alla massa di HA, o meglio – trattandosi di una soluzione – alla sua concentrazione ( $c_{HA}$ ), cioè:

$$v_1 = k_1 c_{HA} \quad (23.1)$$

dove  $k_1$  è la costante di velocità della reazione. Se la reazione è reversibile, la velocità di formazione di HA dai suoi ioni dissociati sarà:

$$v_2 = k_2 c_{H^+} c_{A^-} \quad (23.2)$$

In condizioni di equilibrio,

$$v_1 = v_2$$

e, quindi, eguagliando le equazioni 23.1 e 23.2 si ottiene:

$$k_1 c_{HA} = k_2 c_{H^+} c_{A^-}$$

da cui è possibile derivare:

$$\frac{c_{H^+} c_{A^-}}{c_{HA}} = \frac{k_1}{k_2} = K \quad (23.3)$$

dove  $K$  è una costante di equilibrio, definita *costante di dissociazione* della reazione, che varia in relazione al tipo di reazione e alla temperatura: è elevata nel caso di acidi (e basi) forti e bassa per acidi (e basi) deboli.

La dissociazione degli acidi determina la liberazione di ioni idrogeno ( $H^+$ ), da cui dipende il grado di acidità della soluzione. Viene comunemente definito pH di una

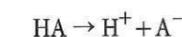
soluzione, il logaritmo decimale del reciproco della concentrazione molare di idrogenioni, ossia

$$pH = \log \frac{1}{c_{H^+}} = -\log c_{H^+} \quad (23.4)$$

### SOLUZIONI TAMPONE

Alcune soluzioni, dette soluzioni tampone, sono particolarmente importanti in biologia, in quanto la loro composizione consente il mantenimento di un valore di pH molto stabile anche a fronte dell'aggiunta di acidi o basi forti. Le soluzioni tampone sono composte da un acido (o da una base) debole in presenza di un sale formato tra lo stesso acido (o base) debole e una base (o acido) forte.

Considerando ancora il caso di un acido debole HA che si dissocia:



sarà possibile, analogamente a quanto fatto per la concentrazione di  $H^+$ , esprimere la costante di dissociazione  $K$  della reazione (cfr. equazione 23.3) in forma logaritmica:

$$pK = \log \frac{1}{K} = -\log K \quad (23.5)$$

La legge di azione di massa (cfr. equazione 23.3) può quindi essere riscritta come:

$$c_{H^+} = K \frac{c_{HA}}{c_{A^-}}$$

Passando ai logaritmi:

$$\log c_{H^+} = \log K + \log \frac{c_{HA}}{c_{A^-}}$$

e, cambiando di segno e introducendo i simboli di pH e pK, si potrà scrivere:

$$pH = pK + \log \frac{c_{A^-}}{c_{HA}} \quad (23.6)$$

Questa relazione, nota come *equazione di Henderson-Hasselbalch*, definisce il pH di una soluzione contenente il

tampone rappresentato dall'acido debole e dal suo sale costituito con una base forte.

Dall'equazione 23.6 e ricordando che  $\log_{10}(1)$  è uguale a 0, il pK può essere definito come il valore di pH al quale le concentrazioni di  $A^-$  e HA sono uguali. In altre parole, il pK corrisponde al valore di pH al quale la concentrazione dell'acido dissociato e dell'acido in forma indissociata sono uguali.

Si definisce *potere tampone*  $\beta$  la quantità di un acido ( $\Delta mM$ ) o di una base forte che bisogna aggiungere a 1 l di soluzione per modificarne il pH di 1 unità:

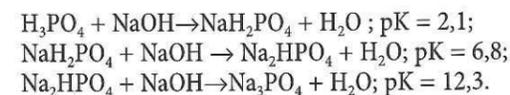
$$\beta = \frac{\Delta mM}{\Delta pH} \quad (23.7)$$

Il potere tampone è massimo per una concentrazione di  $A^-$  pari a quella di HA, cioè quando il pH della soluzione è uguale al pK dell'acido (o della base) debole. Infatti, per pH uguale a pK, a fronte all'aggiunta di notevoli quantità di acidi o basi forti, il pH varia in maniera solo trascurabile. Il potere tampone diminuisce progressivamente a valori di pH della soluzione sempre più distanti dal pK.

È importante sottolineare che, se dal punto di vista qualitativo è vero che l'efficienza di un tampone dipende dalla vicinanza tra il suo pK e il pH della soluzione, altrettanto importante è la concentrazione del tampone nella soluzione.

La maggior parte degli acidi o delle basi contenuti nei liquidi biologici è molto debole e quindi solo parzialmente dissociata. La capacità tamponante dell'acido (o della base) debole che costituisce il tampone dipende dal suo grado di dissociazione. Un acido debole è un efficiente tampone del pH perché l'aggiunta di un acido forte consentirà di coniugare gli  $H^+$  ceduti dall'acido forte con gli  $A^-$  messi a disposizione dagli acidi deboli, rimuovendo così efficacemente gli  $H^+$  stessi dalla soluzione e impedendone un'acidificazione più marcata.

Un caso più complesso è quello rappresentato dagli acidi o basi deboli polivalenti, come per esempio l'acido fosforico ( $H_3PO_4$ ). L'aggiunta progressiva di NaOH all' $H_3PO_4$  determina la formazione dapprima di  $NaH_2PO_4$  (fosfato monobasico di sodio) e, di seguito, di  $Na_2HPO_4$  (fosfato bifasico di sodio) e  $Na_3PO_4$  (fosfato di sodio), secondo le seguenti reazioni:



Al pH del sangue arterioso (pH = 7,4) la forma prevalente è  $Na_2HPO_4$  mentre al pH urinario, più acido (pH ~ 5,5), prevarrà il trasporto in forma di  $NaH_2PO_4$ .

## METABOLISMO E PRODUZIONE DI IONI IDROGENO

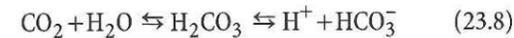
Un acido e una base sono definiti, rispettivamente, come donatore e accettore di protoni ( $H^+$ ).

Nell'organismo animale dal punto di vista fisiologico

sono rilevanti due tipi fondamentali di acidi: acido carbonico ( $H_2CO_3$ ) e acidi non carbonici.

## ACIDO CARBONICO

Si tratta di un acido debole volatile derivato dall'idratazione dell'anidride carbonica ( $CO_2$ ) prodotta dal metabolismo glucidico e lipidico secondo la reazione:



Sebbene la  $CO_2$  non contenga, in sé, ioni  $H^+$  e non sia, quindi, possibile attribuirle proprietà acidificanti, tuttavia la sua idratazione negli ambienti intra- ed extracellulare determina sempre la formazione di  $H_2CO_3$ , il quale, essendo un acido debole, si dissocia liberando ioni  $H^+$  che acidificano la soluzione. La velocità della reazione di idratazione della  $CO_2$  nei liquidi intra- ed extracellulari a pH uguale a 7,4 è molto lenta e, in alcuni stipiti cellulari, per esempio cellule parietali ossintiche della parete gastrica, cellule peritubulari renali (cfr. Capitoli 21 e 22), eritrociti (cfr. Capitolo 20), viene accelerata di circa  $10^6$  volte dall'enzima *anidrasi carbonica*.

L'idratazione della  $CO_2$  determina l'immissione nel plasma di circa 15.000 mmol di  $H^+$ , che vengono eliminate sotto forma di  $CO_2$  a livello alveolare, nel corso dei normali processi respiratori.

## ACIDI NON CARBONICI

Si tratta di acidi fissi non volatili, derivati dal metabolismo proteico, quali acido solforico ( $H_2SO_4$ ), derivato da aminoacidi (come cistina e metionina) contenenti residui zolfo, e acido fosforico ( $H_3PO_4$ ), derivato dal metabolismo dei fosfolipidi.

Anche altri acidi fissi possono modificare il pH plasmatico, come l'acido lattico (HL) sintetizzato nella cellula muscolare scheletrica e successivamente riversato nel sangue durante intensa attività motoria alimentata dal metabolismo glicolitico anaerobico. Circa 1,0-1,5 mmol di  $H^+$  per chilogrammo di peso corporeo sono immessi quotidianamente nel plasma sotto forma di acidi fissi titolabili, che vengono poi eliminati esclusivamente tramite escrezione renale.

## SOLUZIONI TAMPONE NEI LIQUIDI ORGANICI

A fronte dell'immissione continua di acidi fissi e volatili nel plasma, il pH rimane costante a un valore di 7,4 nei liquidi extracellulari e nel sangue arterioso dei Mammiferi, mentre è leggermente più acido nel sangue venoso (circa 7,36) e scende a circa 7,1 nel liquido intracellulare. Il mantenimento del pH dei liquidi organici dipende dalla presenza, nei compartimenti intra- ed extra-cellulari, di sistemi tampone a loro volta modulati dall'intervento del sistema respiratorio e di quello renale.

## TAMPONE PROTEICO

Sia gli aminoacidi sia le proteine ( $COOH-R-NH_2$ ) sono sostanze *anfotere*, cioè contengono nella propria molecola gruppi acidi ( $-COOH$ ) e basici ( $-NH_2$ ). Si definisce *punto isoelettrico* (PI) di una proteina (o di un aminoacido) il pH della soluzione al quale la proteina presenta un numero uguale di radicali acidi e basici e si comporta, quindi, come una molecola elettricamente neutra. Nel caso in cui il pH della soluzione sia inferiore a PI, la proteina si comporterà come una base debole, accettando  $H^+$ ; viceversa, se il pH della soluzione è superiore a PI, la proteina si comporterà da acido debole, cedendo  $H^+$ . Il PI della gran parte delle proteine è inferiore a 7; quindi, poiché il pH delle soluzioni intra- ed extracellulari è compreso tra 7 e 7,4, le proteine presenti nei liquidi organici si comportano come acidi deboli, sono cariche negativamente ( $COO^-R-NH_2$ ) e sono presenti in soluzione sotto forma di sali.

## TAMPONE ACIDO CARBONICO/BICARBONATO

L'equilibrio acido-base è invariabilmente correlato alla produzione, al trasporto e all'escrezione di  $CO_2$ .

Come visto in precedenza (cfr. equazione 23.8), la  $CO_2$  prodotta dal metabolismo si idrata portando alla formazione di  $H_2CO_3$  e, successivamente, di ione bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), presente nei liquidi organici intra- ed extracellulari sotto forma di  $NaHCO_3$  (bicarbonato di sodio).

Al variare delle concentrazioni di  $HCO_3^-$  e  $CO_2$ , il pH sarà definito dall'equazione di Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK + \log \frac{c_{HCO_3^-}}{c_{CO_2}} \quad (23.9)$$

Secondo quanto previsto dalla legge di Henry (cfr. Capitolo 20):

$$c_{CO_2} = \alpha_{CO_2} P_{CO_2}$$

dove  $\alpha_{CO_2}$  e  $P_{CO_2}$  sono, rispettivamente, il coefficiente di solubilità e la pressione parziale della  $CO_2$  nel plasma. L'equazione 23.9 può quindi essere riscritta come:

$$pH = pK + \log \frac{c_{HCO_3^-}}{\alpha_{CO_2} P_{CO_2}} \quad (23.10)$$

Poiché pK è uguale a 6,1 e il pH plasmatico è 7,4, allora:

$$7,4 - 6,1 = \log \frac{c_{HCO_3^-}}{\alpha_{CO_2} P_{CO_2}} = 1,3$$

e

$$\frac{c_{HCO_3^-}}{\alpha_{CO_2} P_{CO_2}} = \frac{20}{1} \quad (23.11)$$

Fintanto che il rapporto dell'equazione 23.11 si mantiene costante e uguale all'incirca a 20, il pH si mantiene costante al suo valore fisiologico. Viceversa, qualunque variazione di questo rapporto dipendente da modificazioni della concentrazione di  $HCO_3^-$  e/o della pressione par-

ziale di  $CO_2$  induce un aumento oppure una diminuzione del pH plasmatico.

## TAMPONE FOSFATO

L'acido fosforico  $H_3PO_4$  è un acido polivalente che si dissocia formando dapprima  $NaH_2PO_4$  (fosfato monobasico di sodio) e, successivamente,  $Na_2HPO_4$  (fosfato bibasico di sodio) e  $Na_3PO_4$  (fosfato di sodio). A pH pari a 7,4, il fosfato è presente nei liquidi corporei quasi esclusivamente sotto forma di  $NaH_2PO_4$  e di  $Na_2HPO_4$ . Quindi, secondo l'equazione di Henderson-Hasselbalch (cfr. equazione 23.6):

$$pH = pK + \log \frac{c_{HPO_4^{2-}}}{c_{H_2PO_4^-}}$$

Poiché il pK del sistema fosfato (pK = 6,8) è più vicino al pH plasmatico di quanto non lo sia il tampone bicarbonato (pK = 6,1), il tampone fosfato è un tampone qualitativamente migliore a pH fisiologico rispetto al tampone bicarbonato.

## TAMPONI INTRACELLULARI E PLASMATICI

Nei Mammiferi i tamponi intracellulari sono costruiti dalle proteine e dal sistema dei fosfati organici.

■ Un caso molto importante di tamponamento degli  $H^+$  da parte delle proteine intracellulari è quello rappresentato dagli eritrociti, contenenti elevate concentrazioni di emoglobina (circa  $30 \cdot 10^{-12}$  g per eritrocito). Ciò che rende particolare il comportamento dell'eritrocito è il fatto che il pK dell' $HbO_2$  (emoglobina satura di ossigeno nel sangue arterioso) è più acido rispetto a quello dell' $Hb$  (emoglobina ridotta nel sangue venoso). Pertanto, nel sangue venoso, dove la  $CO_2$  passa dai tessuti al plasma e da questo all'interno dell'eritrocito, la cessione di ossigeno da parte dell' $Hb$  la trasforma in un miglior accettore degli  $H^+$  che provengono dall'idratazione della  $CO_2$  (cfr. Capitolo 20). ■

Nel plasma sono invece presenti tutti e tre i tamponi biologici, ossia il sistema dell'acido carbonico/bicarbonato, il tampone fosfato e le proteine (circa 6 g 100 ml<sup>-1</sup>). La concentrazione di  $HCO_3^-$  nel plasma e nei liquidi extracellulari è circa 24 mM e la sua quantità totale, definita *riserva alcalina*, ( $Q_{HCO_3^-}$ ) ammonta in condizioni fisiologiche a circa 350 mmol.

L'immissione di  $H^+$  nel torrente ematico viene tamponata attingendo dalla riserva alcalina e trasformando parte degli ioni  $HCO_3^-$  in  $H_2CO_3$ ; pertanto, la concentrazione plasmatica di  $HCO_3^-$  diminuisce, causando la diminuzione del pH plasmatico, secondo quanto previsto dall'equazione di Henderson-Hasselbalch (Eq. 23.10). È da notare che il processo di tamponamento trasforma un acido forte, potenzialmente in grado di abbassare in maniera significativa il pH, in un acido debole ( $H_2CO_3$ ) che abbassa solo lievemente il pH entro valori ben tollerati.

La concentrazione delle proteine e, quindi, il loro potere di tamponamento degli  $H^+$  sono in media superiori

nel plasma (circa 6-7 g 100 ml<sup>-1</sup>) che nel liquido interstiziale (circa 1-2 g 100 ml<sup>-1</sup>). È interessante notare che il potere tampone del liquor cefalorachidiano, privo di proteine a causa dell'elevata selettività della barriera ematoencefalica, è praticamente nullo. Questa caratteristica del liquor cefalorachidiano è di fondamentale importanza per il controllo della ventilazione (cfr. Capitolo 20) e, in ultima analisi, per la regolazione del pH dei liquidi organici.

Nei liquidi extracellulari, la concentrazione plasmatica del fosfato (1-2 mM) è molto inferiore a quella di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (24 mM); quindi, nonostante il tampone fosfato sia qualitativamente migliore a pH fisiologico rispetto al tampone HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, dal punto di vista quantitativo quest'ultimo è di gran lunga più importante nel controllo del pH nel plasma. Viceversa, i fosfati rappresentano il principale sistema tampone a livello renale.

### PRINCIPIO ISOIDRICO

L'immissione di acidi nei liquidi corporei determina il contemporaneo interessamento di tutti i tamponi fisiologici presenti nella soluzione (*principio isodrico*). Dal punto di vista fisiologico, questo comportamento è estremamente importante in quanto costituisce il meccanismo tramite il quale i tamponi si regolano reciprocamente: infatti, la modificazione del rapporto fra le concentrazioni di HA e A<sup>-</sup> di un singolo tampone, legata per esempio all'immissione nel plasma di acidi, determina la contemporanea modificazione degli altri tamponi, fino al raggiungimento di un nuovo transitorio stato di equilibrio.

### MANTENIMENTO DELL'EQUILIBRIO ACIDO-BASE

#### PH DEI LIQUIDI INTRA- ED EXTRA CELLULARI

L'acido carbonico volatile e gli acidi fissi titolabili derivano dall'attività metabolica della cellula, che quindi è il compartimento primario di produzione degli ioni H<sup>+</sup>. Il pH del liquido intracellulare varia tra 4,5 e 8 unità pH, con un valore medio intorno a 7.

Nell'uomo il pH del plasma è maggiore rispetto a quello cellulare, essendo 7,36 nel sangue venoso e 7,4 unità pH nel sangue arterioso.

La diminuzione del pH plasmatico verso valori inferiori a 7,4 viene definita *acidosi*. Una condizione fisiologica in cui si assiste ad acidificazione è rappresentata da un'intensa attività muscolare anaerobica, nel corso della quale l'elevata immissione di acido lattico nel sangue determina l'abbassamento del pH plasmatico di circa 0,25 unità pH.

Si parla invece di *alcalosi* nel caso in cui il pH salga a valori superiori a 7,4. L'aumento massimo del pH ottenibile in condizioni fisiologiche è quello causato da un'iperventilazione forzata e protratta, nel corso della quale il pH può aumentare a circa 7,7 unità.

Variazioni del pH superiori a ± 0,3 unità causano gravi alterazioni della funzione cardiovascolare, respiratoria e nervosa, e sono incompatibili con la sopravvivenza.

■ Vale la pena notare che nonostante le variazioni in termini di unità pH siano molto piccole, le differenze in termini di concentrazione di H<sup>+</sup> sono significative. Infatti, poiché la relazione tra pH e concentrazione di H<sup>+</sup> è di tipo logaritmico, ricordando che log 2 è uguale a 0,3, una variazione di pH di ± 0,3 unità corrisponde rispettivamente al raddoppio, in caso di acidosi, e al dimezzamento, in caso di alcalosi, della concentrazione di H<sup>+</sup> nella soluzione. ■

La necessità di mantenere il pH dei liquidi corporei entro stretti limiti nasce dal fatto che la concentrazione di H<sup>+</sup> nei liquidi biologici ha un notevole impatto sull'attività enzimatica e sul funzionamento cellulare.

La rilevanza del tampone acido carbonico/bicarbonato dipende da molteplici fattori:

- la concentrazione plasmatica di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> è maggiore rispetto agli altri tamponi, fattore che lo rende quantitativamente più importante nel liquido extracellulare;
- la possibilità regolare il pH plasmatico e tutti i tamponi plasmatici intervenendo attivamente con modificazioni della funzione renale e/o respiratoria.

### REGOLAZIONE RENALE E RESPIRATORIA

Il sistema escretore renale interviene nel controllo del pH dei fluidi organici regolando la concentrazione plasmatica di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Eq. 23.10).

Quotidianamente il rene filtra circa 4.000 mmol di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, l'80-90% del quale viene riassorbito nel tubulo contorto prossimale grazie all'eliminazione di ioni H<sup>+</sup> (cfr. Capitolo 22). Nel tubulo contorto distale si verifica il completo riassorbimento dei rimanenti ioni HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (40-60 mmol al giorno) e la contemporanea neoformazione di ioni HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> che vanno ad arricchire il pool plasmatico.

Il sistema respiratorio svolge un ruolo nel controllo del pH plasmatico modificando la pressione parziale arteriosa dell'anidride carbonica (P<sub>aCO<sub>2</sub></sub>, Eq. 23.10), che diminuisce nell'iperventilazione indotta da un aumento del volume e della frequenza respiratoria, mentre viceversa aumenta durante ipoventilazione.

### MODIFICAZIONI DELL'EQUILIBRIO ACIDO-BASE

Le modalità di intervento dei sistemi tampone nel controllare il pH plasmatico e con esso quello di tutti i liquidi corporei è ben rappresentato dal diagramma di Davenport (Fig. 23.1), che consente di interpretare una condizione di squilibrio acido-base indicandone la natura e descrivendone la modalità di tamponamento.

Infatti, secondo la formulazione di Henderson-Hasselbalch per il tampone bicarbonato (cfr. equazione 23.10), poiché pK è costante, il pH potrà essere modificato semplicemente variando il rapporto:

$$\frac{c_{\text{HCO}_3^-}}{\alpha_{\text{CO}_2} P_{\text{CO}_2}}$$

Una condizione di acidosi deriva dalla diminuzione di questo rapporto e dipende dalla riduzione della concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> nel plasma (acidosi metabolica), oppure da un aumento della P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> (acidosi respiratoria). Viceversa, l'alcalosi riflette un aumento della concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (alcalosi metabolica) o la diminuzione della P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> (alcalosi respiratoria).

Nel diagramma sono indicate le curve isobare lungo le quali la P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> si mantiene costante. Inoltre, sono indicate le cosiddette linee tampone del plasma, che riflettono la relazione esistente tra concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e pH in presenza dei tamponi plasmatici non carbonici, ossia delle proteine e dei fosfati. La pendenza delle linee tampone del plasma dipende dal potere tampone totale, mentre l'intercetta sull'asse delle ordinate riflette il contenuto di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ossia di tampone bicarbonato.

La condizione fisiologica (punto N) a pH = 7,4 è situata sull'isobara a P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> pari a 40 mmHg a una concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> pari a 24 mM.

#### Acidosi metabolica

L'acidosi metabolica deriva dall'immissione di acidi nel plasma, per esempio di acido lattico (HA) durante attività muscolare intensa o di HA e/o altri acidi fissi in numerose condizioni patologiche. La conseguente riduzione della concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> non è accompagnata da una variazione significativa della P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> per cui, nel diagramma di Davenport (cfr. Fig. 23.1), ci si sposta dal punto N al punto A a una concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> inferiore a 24 mM e pH inferiore a 7,4.

La compensazione immediata dell'acidosi metabolica (cfr. Fig. 23.1, punto A'), si ottiene grazie all'intervento del sistema respiratorio. Infatti, i chemocettori centrali, molto sensibili a variazioni sia di pH sia di P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> (cfr. Capitolo 20), rispondono a una diminuzione di pH plasmatico innescando un'iperventilazione, che a propria volta determina

un abbassamento della P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> che riporta il pH verso il suo valore fisiologico (cfr. equazione 23.18). Il ripristino completo dei valori normali si ottiene più gradualmente mediante l'intervento renale con la neoformazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

#### Acidosi respiratoria

L'acidosi respiratoria riflette un aumento della P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> causato da ipoventilazione e conseguenza di patologie respiratorie, disfunzioni dei centri bulbari respiratori, avvelenamento da farmaci o traumi. Mentre ci si sposta sulle isobare a una P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> superiore a 40 mmHg, la concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> aumenta di poco (cfr. Fig. 23.1, punto B). Essendo il sistema respiratorio compromesso, la compensazione (punto B') si basa sull'intervento renale che favorisce un incremento della concentrazione plasmatica di ioni HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> eliminando una quantità maggiore di acidi fissi e quindi formando urine più acide del normale.

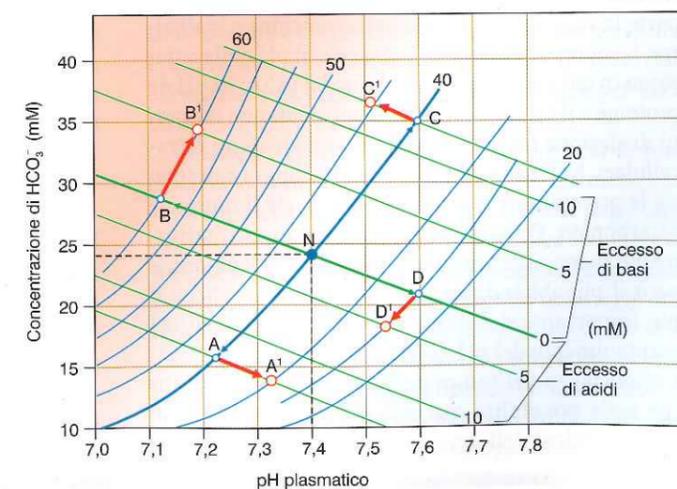
#### Alcalosi metabolica

L'alcalosi metabolica è caratterizzata da un'elevata concentrazione plasmatica di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, riconducibile a una condizione patologica renale o digestiva, oppure a sovradosaggio di farmaci alcaloidi. Nel diagramma di Davenport (cfr. Fig. 23.1) l'alcalosi metabolica è identificata con il punto C, caratterizzato da una P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> uguale a 40 mmHg, una concentrazione di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> superiore a 24 mM e pH superiore a 7,4.

Come nel caso dell'acidosi metabolica, anche l'alcalosi metabolica viene compensata (punto C') mediante intervento respiratorio; l'ipoventilazione determina un aumento della P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> e ristabilisce, quindi, il normale valore del pH plasmatico.

#### Alcalosi respiratoria

Una condizione fisiologica di alcalosi respiratoria è l'iperventilazione, che si accompagna a diminuzione della P<sub>aCO<sub>2</sub></sub> e quindi ad aumento del pH (Eq. 23.10).



**Figura 23.1** - Diagramma di Davenport. Il diagramma mette in relazione il valore di pH plasmatico (sull'ascissa), la concentrazione arteriosa di bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (sull'ordinata) e la pressione parziale arteriosa dell'anidride carbonica (P<sub>aCO<sub>2</sub></sub>), rappresentata dalle curve isobare (traccia blu). Le linee tampone (traccia verde) riflettono il comportamento dei tamponi plasmatici non carbonici. A-A', compensazione respiratoria dell'acidosi metabolica; B-B', compensazione renale dell'acidosi respiratoria; C-C', compensazione respiratoria dell'alcalosi metabolica; D-D', compensazione renale dell'alcalosi respiratoria.

L'ipocapnia causata dall'iperventilazione determina depressione del centro respiratorio e, se protratta, può comportare una seria compromissione delle funzioni cerebrali anche in assenza d'ipossia.

Nel diagramma di Davenport (cfr. Fig. 23.1) l'alcalosi respiratoria è rappresentata dal punto D, con una concentrazione di  $\text{HCO}_3^-$  di poco inferiore al normale e  $P_{\text{aCO}_2}$  inferiore a 40 mmHg. La compensazione (punto D') è a carico del sistema renale che tende a ripristinare il normale va-

lore di pH diminuendo la concentrazione plasmatica di  $\text{HCO}_3^-$  mediante l'eliminazione renale di  $\text{HCO}_3^-$ .

In tutte le condizioni discusse, una volta ristabilito il pH grazie alla compensazione respiratoria e/o renale, i valori plasmatici normali di  $P_{\text{aCO}_2}$  e concentrazione di  $\text{HCO}_3^-$  verranno ristabiliti mediante un più lento ristabilimento dell'originario assetto dei sistemi tampone secondo quanto previsto dal principio isodrico.

## CONCETTI CHIAVE

- ❖ A fronte della continua produzione cellulare di acidi fissi e volatili e della loro immissione nel plasma, l'**acidità del liquido intracellulare** (pH pari a circa 7) **ed extracellulare** (pH pari a circa 7,4) dei Mammiferi si mantiene costante grazie all'intervento di tamponi presenti nel compartimento sia intra- sia extracellulare. La necessità di mantenere il pH dei liquidi corporei entro stretti limiti nasce dal fatto che la concentrazione di ioni idrogeno nei liquidi biologici ha un notevole impatto sul funzionamento molecolare e cellulare.
- ❖ L'efficienza di un **sistema tampone** riflette da una parte la sua concentrazione nella soluzione e, dall'altra, la vicinanza del suo pK rispetto al pH della soluzione in cui è disciolto. Sulla base dei valori di pH, le proteine e il tampone fosfato rappresentano i tamponi di elezione nel controllo degli ioni idrogeno intracellulari. Nel compartimento extracellulare agiscono sia le proteine, sia il tampone fosfato, sia il tampone bicarbonato. Quest'ultimo, pur essendo qualitativamente meno efficiente rispetto agli altri tamponi, è però il più abbondante e, di conseguenza, anche il più importante dal punto di vista quantitativo nel mantenimento del pH dei liquidi extracellulari.
- ❖ L'importanza del **tampone bicarbonato** risiede anche nella possibilità che esso offre di controllare il pH servendosi dell'intervento della ventilazione che regola la pressione parziale arteriosa dell'anidride carbonica e la concentrazione di acido carbonico, e del sistema renale, che modula la concentrazione plasmatica di bicarbonato di sodio mediante il controllo del riassorbimento e della neoproduzione dello stesso.
- ❖ Ogni modificazione del pH si riflette sullo stato di **dissociazione di ognuno dei tamponi presenti nella soluzione** (principio isodrico). Grazie a esso, il controllo renale e respiratorio effettuato sul tampone bicarbonato regola automaticamente anche tutti gli altri tamponi.
- ❖ I **limiti di tolleranza delle variazioni di pH** del plasma arterioso rispetto al valore fisiologico di 7,4 è di circa  $\pm 0,3$  unità pH. La diminuzione del pH rispetto al valore normale viene definita acidosi e riflette la diminuzione di concentrazione di bicarbonato nel plasma (acidosi metabolica), oppure l'aumento della pressione parziale arteriosa di anidride carbonica (acidosi respiratoria). Viceversa, si definisce alcalosi un aumento del pH dipendente da un incremento della concentrazione di bicarbonato (alcalosi metabolica) e/o dalla diminuzione della pressione parziale arteriosa di anidride carbonica (alcalosi respiratoria). Queste condizioni sono compensate, agendo sul tampone bicarbonato, dall'intervento del sistema respiratorio e/o renale.