

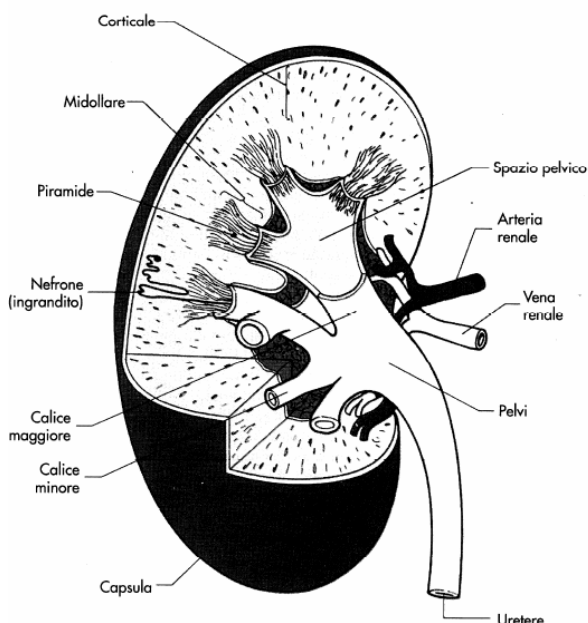
RENE

Il flusso di sangue che attraversa il rene è circa il 20-30% della gittata cardiaca, circa 1300 ml/min; di questa quantità di sangue che fluisce attraverso i reni, solo 1-2 ml viene secreta come urina, mentre il restante 99% di sangue che passa viene riassorbito. Il sangue passa attraverso il rene con un flusso di 1.3 L/min.

Di tutto questo sangue che viene fatto passare ne viene riassorbito il 99% perché c'è la possibilità a livello renale di controllare quasi tutte le sostanze contenute nel plasma (ioni, zuccheri, lipidi, proteine, etc.): il rene controlla il riassorbimento di queste sostanze, decide quali riassorbire e quali eliminare; ad esempio il rene è l'unica via d'uscita dei farmaci.

I reni svolgono tre funzioni principali:

1. **Regolazione:** regolazione dell'osmolarità e del volume dei liquidi corporei; l'osmolarità i reni la regolano controllando la quantità di acqua, mentre regolano il volume controllando la concentrazione di cloruro di sodio; regola anche l'equilibrio elettrolitico, cioè la concentrazione salina nel plasma, quindi la quantità dei vari ioni (sodio, potassio, calcio, etc.) e regola anche l'equilibrio acido-base per il controllo del pH nel sangue (il pH fisiologico dei mammiferi è 7.4, con un'oscillazione tra 7.35 e 7.35, quindi 0.1 unità di pH è l'intervallo fisiologico nei mammiferi).
2. **Escrezione:** dai reni si ha l'escrezione di prodotti terminali del metabolismo, come l'urea che deriva dal metabolismo degli amminoacidi, l'acido urico dal metabolismo degli acidi nucleici, la creatina dal metabolismo della creatina e sostanze estranee come farmaci.
3. **Sintesi:** producono e secernono ormoni, es. renina (che attiva il sistema renina – angiotensina – aldosterone per la regolazione del controllo del volume dei liquidi corporei e quindi della pressione arteriosa); il rene produce anche calcitriolo (metabolita della vitamina D importante per il riassorbimento del calcio a livello osseo ed intestinale), ed eritropoietina (che stimola la formazione dei globuli rossi del midollo osseo).



Anatomia del rene

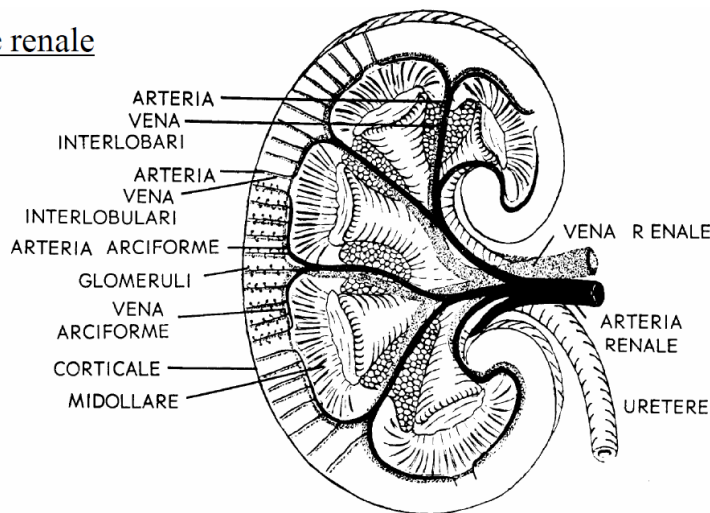
L'uscita avviene dall'uretere, che raccoglie la pelvi renale, la quale raccoglie più calici, che a loro volta raccolgono più strutture piramidali, che a loro volta raccolgono le uscite dell'unità funzionale del rene, che è il nefrone.

Il rene è un organo con una regione corticale ed una regione midollare; in entrambe si trovano i nefroni che hanno aspetto diverso a seconda della regione in cui si trovano.

La circolazione renale passa per l'arteria renale, che diventa un'arteria interlobale perché entra in un lobo renale, questa diventa arteria arcuata, da questa dipartono tutta una serie di arterie interlobulari che danno origine all'arteriola afferente, ai capillari glomerulari ed infine all'arteriola efferente.

Dall'arteriola efferente continua sui capillari peritubulari e poi si ritorna sul lato venoso ripercorrendo al contrario il percorso, quindi vena interlobulare, arcuata, interlobale e renale.

Circolazione renale



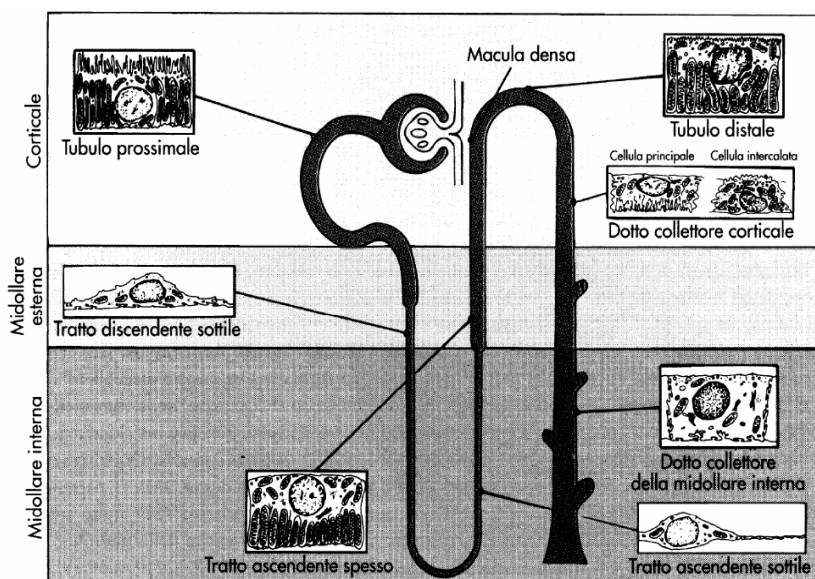
Questo tipo di circolazione è particolare perché va ad irrorare la struttura del nefrone.

I capillari glomerulari filtrano il plasma; il proseguimento dell'arteriola efferente (cioè i capillari peritubulari) sono la regione dove c'è il riassorbimento della sostanza filtrata a livello dei capillari

Fig. 1-2. - Morfologia schematica della circolazione renale.

glomerulari; per cui da un punto di vista funzionale il rene altro non è che un condotto alla cui estremità arriva l'arteriola afferente, ci sono poi i capillari glomerulari e parte l'arteriola efferente che prosegue poi lungo il condotto (prima che questo vada verso l'esterno) e si ha da una parte filtrazione netta, dall'altra riassorbimento delle sostanze: quindi filtrazione a livello dei capillari glomerulari e riassorbimento a livello dei capillari peritubulari.

Nefrone



■ Figura 40-3 Schema di un nefrone e dell'ultrastruttura cellulare.

Il nefrone è un tubo che raccoglie il filtrato da parte dei capillari glomerulari e, attraversando il tubo, esce all'esterno.

Il nefrone è costituito da varie porzioni: il glomerulo che forma assieme alla capsula di Bowman, il corpuscolo renale; poi da questo diparte il tubulo contorto prossimale che prosegue poi nell'ansa di Henle che si continua del tubulo contorto distale, nel dotto collettore per poi

uscire all'esterno.

Abbiamo detto che il rene ha una porzione corticale esterna ed una midollare interna: i nefroni presenti nella porzione corticale sono anatomicamente differenti da quelli presenti nella porzione midollare, in particolare ciò che li differenzia è la lunghezza dell'ansa di Henle.

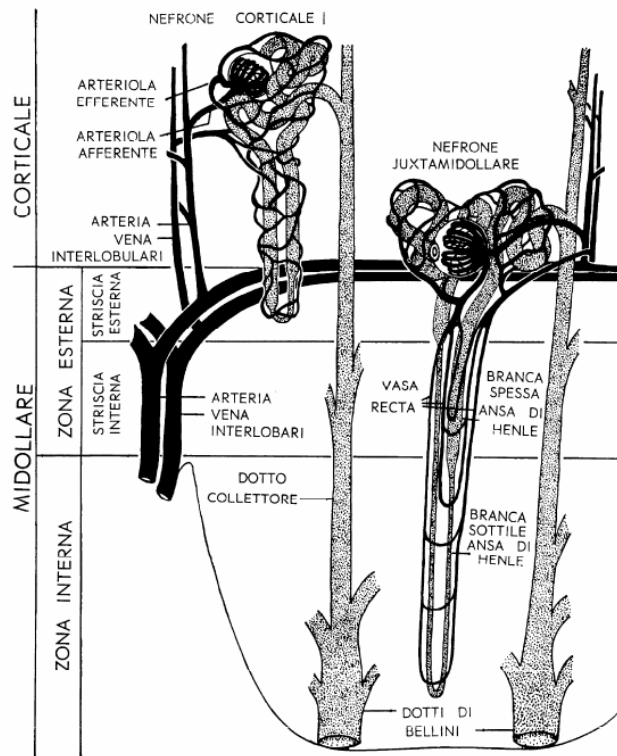


Fig. 1-5. - Confronto fra la vascolarizzazione del nefrone corticale e quella del nefrone juxtamidollare.

1. Nefroni superficiali o corticali: hanno il corpuscolo renale nella regione corticale, un'ansa di Henle piuttosto piccola ed i capillari peritubulari si trovano attorno all'ansa di Henle, in una struttura a rete non bene organizzata.
2. Nefroni iuxtamidollari: hanno il glomerulo al limite tra la regione corticale e quella midollare ed hanno un'ansa di Henle molto lunga ed i capillari peritubulari lunghi che si organizzano a formare strutture dette *vasa recta*, che seguono il percorso dell'ansa dei Henle.

Strutture del nefrone

Corpuscolo renale

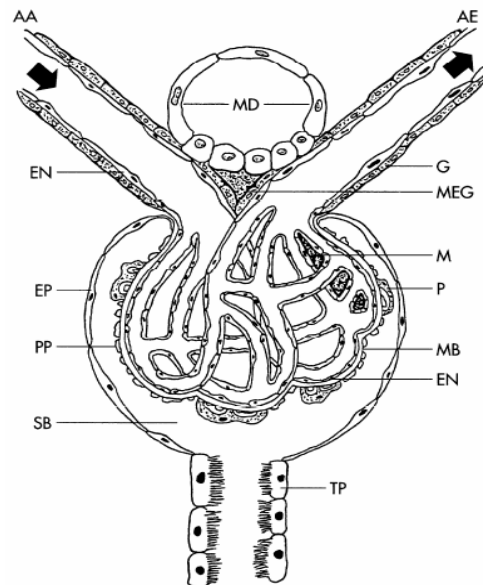
Corpuscolo renale:

- a) Foglietto parietale della capsula di Bowman
- b) Foglietto viscerale della capsula di Bowman:
 - 1. Cellule epiteliali (podociti) che mandano dei processi (pedicelli) ai capillari del glomerulo e che si interdigitano tra loro formando delle fessure, dette fessure di filtrazione (diametro, 4-14 nm)
 - 2. Membrana basale, riveste le cellule endoteliali dei capillari glomerulari
 - 3. Cellule endoteliali dei capillari glomerulari (endotelio di tipo fenestrato con pori di circa 70 nm di diametro)

Apparato iuxtaglomerulare

Comprende le seguenti strutture:

- a) Macula densa del tratto spesso ascendente
- b) Cellule del mesangio extraglomerulare
- c) Cellule granulari (cellule muscolari lisce modificate renina-secerenti dell'arteriola afferente e efferente)



■ **Figura 40-4** Anatomia del corpuscolo renale e dell'apparato iuxtaglomerulare. Quest'ultimo comprende (1) la macula densa del tratto scendente spesso, (2) le cellule del mesangio extraglomerulare e (3) le cellule granulari che secernono renina contenute nelle arteriole afferente ed efferente. AA, arteriola afferente; AE, arteriola efferente; G, cellule granulari dell'arteriola afferente ed efferente; MD, macula densa; MB, membrana basale; PP, pedicello del podocita; P, corpo cellulare del podocita (cellula dello strato viscerale); MEG, cellule del mesangio extraglomerulare poste tra l'arteriola afferente ed efferente; EN, cellula endoteliale; TP, cellula del tubulo prossimale; SB, spazio di Bowman; EP, epitelio parietale; (Modificato da Koushanpour E, Kriz W: *Renal Physiology: principles, structure, and function*, ed 2, Springer-Verlag, New

Il corpuscolo renale si forma come invaginazione dell'estremità di un tubo chiuso, quindi in questa estremità del tubo si ha la formazione di una regione che rimarrà esterna a questa struttura (*parietale*) ed una che rimarrà più interna (*viscerale*); queste strutture sono fatte da una sola fila di cellule, quindi sono tappezzate da un monostrato epiteliale.

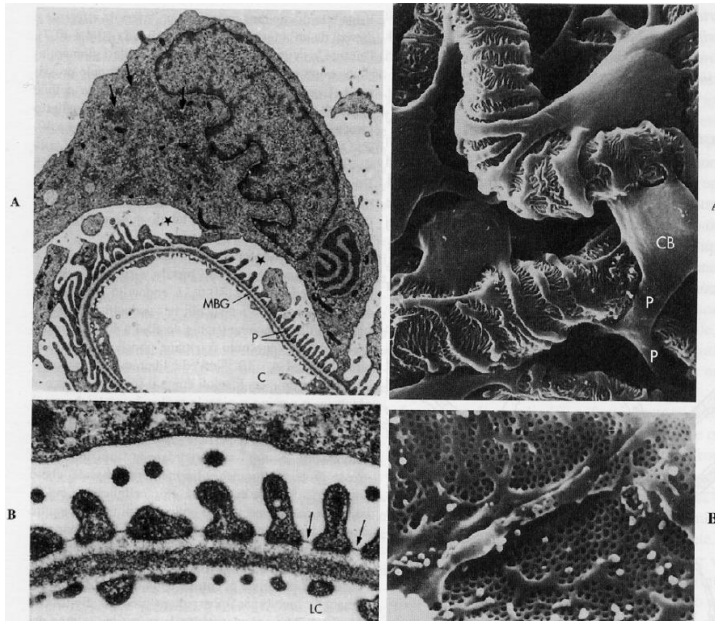
Sezione del corpuscolo renale: si riconosce l'epitelio parietale che tappezza la capsula, l'epitelio viscerale formato dall'invaginazione della capsula stessa, si riconoscono poi le arteriole afferente ed efferente ed i capillari glomerulari.

Per quanto riguarda il foglietto parietale della capsula di Bowman, questo è formato da una sola fila di cellule.

La parte viscerale è invece costituita da tre strutture:

- 1. La prima struttura è rappresentata dalla fila di cellule endoteliali che rappresenta l'equivalente del foglietto della capsula parietale, quindi una fila che tappezza la struttura interna;
- 2. si ha poi l'endotelio dei capillari;

3. Podociti (cellule epiteliali) che mandano dei prolungamenti detti *pedicelli* che vanno verso le cellule endoteliali dei capillari; i pedicelli dei podociti incontrano il capillare e lo avvolgono, così si formano delle fessure (tra i pedicelli di podociti adiacenti e i pedicelli dello stesso podocita) di filtrazione attraverso cui passa il plasma.



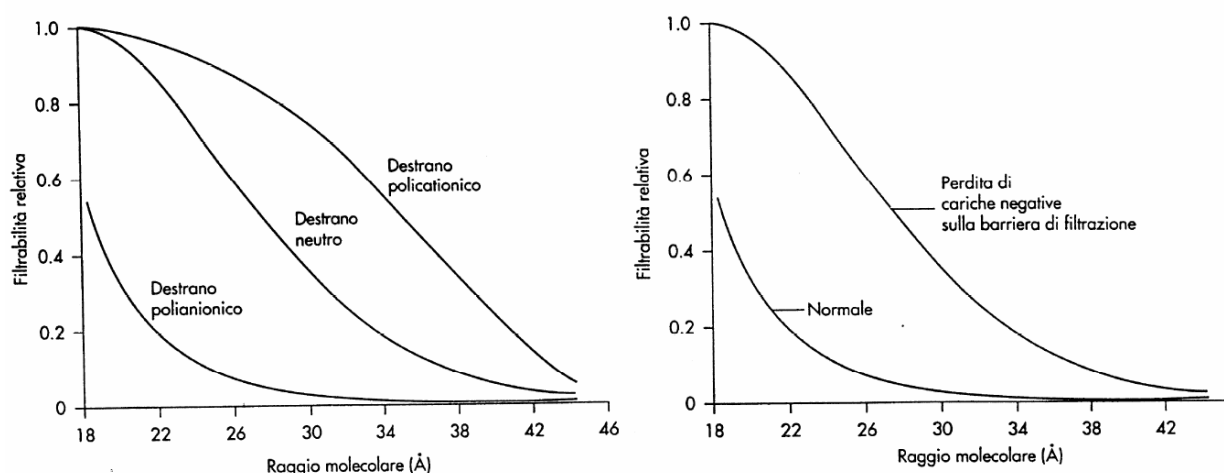
Ci sono delle aperture a livello dell'endotelio capillare e sopra le aperture ho queste strutture che, unendo i vari pedicelli dei podociti, formano delle fessure di filtrazione. Per quanto riguarda le dimensioni si ha un endotelio finestrato dei capillari che ha aperture di circa 70 nm di diametro ed i pedicelli che si interconnettono tra loro formano fessure con pori di circa 4-14 nm di diametro.

Questa struttura costituisce la barriera di filtrazione: il sangue che arriva dai capillari

glomerulari va all'interno del condotto che è l'inizio del nefrone.

è quindi costituita dall'endotelio dei capillari, dalla membrana basale e dai pedicelli dei podociti

Sostanze che passano tramite questi fori: in alcuni esperimenti sono stati usati dei destrani (zuccheri ad elevato p.m.) neutri o carichi positivamente o negativamente; somministrando destrani si può misurare la filtrabilità relativa in funzione del raggio molecolare di queste molecole, in particolare un raggio molecolare di 2.6 nm.



Se uso un destrano neutro la curva ci mostra che filtrano destrani neutri con raggio molecolare inferiore a 1.8nm, per cui se siamo sotto a 2 nm questi destrani filtrano, se questi hanno dimensioni a 3.5-4 nm non filtrano.

Se si prendono dei destrani polianionici a parità di raggio molecolare hanno inferiore filtrabilità, se uso un destrano policationico ho filtrabilità maggiore; per cui le sostanze filtrano non solo in base alla dimensione del poro, anche in base alla carica elettrica che loro hanno.

Questo vuol dire che tra i pedicelli dei podociti e l'endotelio dei capillari ci deve essere qualcosa: ci sono delle cariche elettriche negative date dalle proteine della barriera di filtrazione; se vengono rimosse le cariche negative dalla barriera le proteine filtrano in base al loro peso o raggio molecolare. Ci sono condizioni patologiche dove sono presenti proteine nelle urine (*proteinuria*), per cui la barriera di filtrazione non funziona bene e fa passare le proteine.

Queste proteine appartengono a gruppi di famiglie diverse: podocine, netrina, beta-caderina, etc.

SOSTANZA	PESO MOLEC.	DIMENSIONI IN UNITA' ARMSTRONG		[FILTRATO] [FILTRANDO]
	Grammi	Raggio in base al coefficiente di diffusione	Dimensioni in base alla diffrazione dei Raggi X	
ACQUA	18	1,0	•	1,0
UREA	60	1,6	•	1,0
GLUCOSIO	180	3,6	•	1,0
SACCAROSIO	342	4,4	•	1,0
INULINA	5.500	14,8	•	0,98
MIOGLOBINA	17.000	19,5	●	0,75
ALBUMINA D'UOVO	43.500	28,5	●	0,22
EMOGLOBINA	68.000	32,5	●	0,03
ALBUMINA SIERICA	69.000	35,5	●	<0,01

Fig. 4.2. - Relazioni fra peso molecolare, dimensioni molecolari e setacciamento molecolare dei soluti.

Quindi in condizioni normali le proteine non passano, poi in generale le sostanze con raggio molecolare inferiore a 2nm filtrano, mentre quelle con raggio molecolare superiore a 3nm non filtrano.

Se tutte le sostanze fossero sferiche potremmo fare un calcolo diretto in base al raggio, ma non tutte le sostanze sono sferiche,

per cui dalle dimensioni delle sostanze ci sono delle relazioni che permettono con un equazione (*equazione del setaccio molecolare*) di calcolare il raggio Einstein/Stoke della sostanza; si tratta di un raggio equivalente. Ad esempio la mioglobina è approssimata ad una sfera che ha un raggio di 19,5 Å.

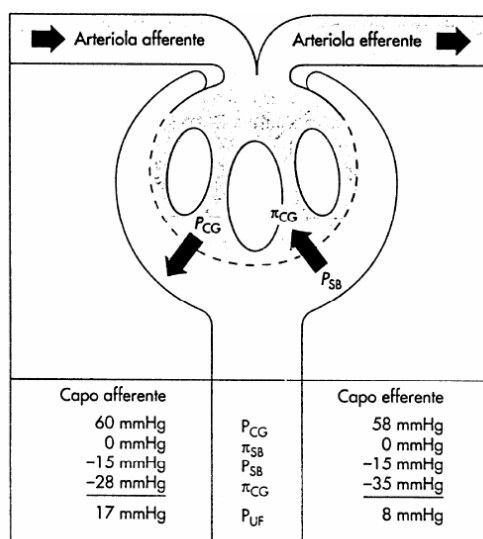
Quindi le prime 4 hanno filtrano per il 100%, l'inulina per il 98%, le altre hanno più difficoltà.

Come si può vedere dalla tabella il glucosio filtra, però non viene trovato nelle urine, per cui la barriera non blocca il glucosio, ma successivamente viene riassorbito; questa è l'importanza di far passare tutto per poi scegliere cosa e quanto far riassorbire.

Dinamica dell'ultrafiltrazione

Da un punto di vista funzionale nei capillari glomerulari ci sarà una certa pressione di filtrazione e con l'ipotesi di Starling si calcola il flusso che sarà proporzionale alla differenza di pressione.

$$\Phi = VFG = k \cdot \Delta P = k \cdot [(P_{CG} - P_{SB}) - \sigma(\pi_{CG} - \pi_{SB})]$$



■ **Figura 40-17** Rappresentazione schematica di un ipotetico capillare glomerulare e delle forze di Starling attraverso la barriera di filtrazione. P_{UF} , pressione netta di ultrafiltrazione; P_{CG} , pressione idrostatica nel capillare glomerulare; P_{SB} , pressione idrostatica nello spazio di Bowman; π_{CG} , pressione oncologica del plasma nel capillare glomerulare; π_{SB} , pressione oncologica dell'ultrafiltrato nello spazio di Bowman. Il coefficiente di riflessione (σ) per le proteine attraverso il capillare glomerulare è 1.

pressione.

K = *coefficiente di filtrabilità* (può essere ≈ 300 volte maggiore rispetto al valore medio nell'uomo, $\approx 1.9-4.5$ ml/min/mmHg per 100gr di tessuto); quindi la resistenza idraulica è bassa e la filtrabilità è elevata.

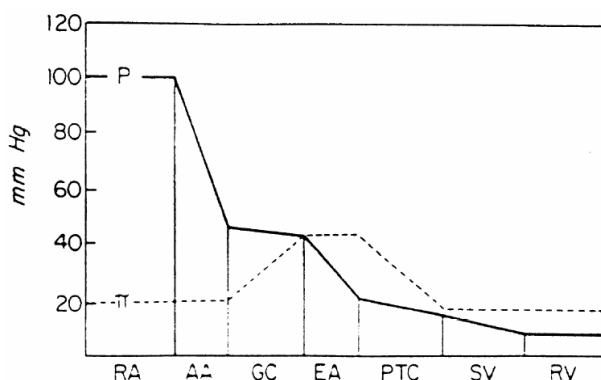


Figura 56-5 Profilo pressorio lungo la rete vascolare nel ratto. RA = arteria renale; AA = arteriola afferente; GC = capillare glomerulare; EA = arteriola efferente; PTC = capillare peritubulare; SV = venula; RV = vena renale.

uscendo poi tramite le arteriole efferenti e andando verso i capillari peritubulari abbiamo una pressione colloidosmotica che è maggiore rispetto la pressione colloidostatica; ciò vuol dire che da qui si ha riassorbimento di sostanza; per cui è importante trovare il capillare peritubulare vicino all'ansa di Henle.

dove

P_{cg} = pressione di filtrazione al livello dei capillari glomerulari.

P_{sb} = pressione a livello dello spazio di Bowman che è quella che si esercita perché il liquido esce e quindi si genera una pressione dovuta all'accumulo di liquido verso l'interno.

π_{cg} = pressione colloidosmotica all'interno dei capillari glomerulari.

π_{sb} = pressione colloidosmotica nello spazio di Bowman.

In questo caso a livello dei capillari glomerulari c'è solo filtrazione perché sul capo afferente ed efferente abbiamo valori simili di filtrazione, ciò che cambia tra i due lati è la pressione colloidosmotica perché le sostanze sono filtrate assieme all'acqua, quindi si concentrano le proteine e si ha un effetto osmotico maggiore che spiega la differenza di

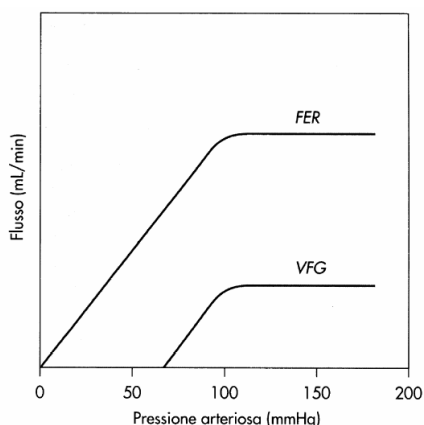
Profilo di pressione

A livello dell'arteriola afferente si verifica una caduta di pressione arrivando ad un valore di 50mmHg; poi a livello dei capillari glomerulari la differenza di pressione non è molta, non cala molto la pressione; ciò che però aumenta molto è la pressione colloidosmotica perché, visto che attraverso questi capillari glomerulari filtrano molte sostanze e acqua, si concentrano le proteine all'interno dei capillari;

Regolazione del flusso ematico renale

Il flusso di sangue che va ad un distretto si mantiene costante anche se la pressione arteriosa varia; ciò si era spiegato con il riflesso miogenico: quando aumenta la pressione trasmurale c'è una variazione della resistenza dovuta all'attività della muscolatura liscia che fa variare il diametro delle arteriole.

Nel rene accade la stessa cosa, cioè se il flusso ematico renale (cioè il flusso di sangue che va al rene) viene visto in funzione della pressione arteriosa, si vede che per un certo intervallo di pressione arteriosa (da 90 a 180 mmHg) il flusso ematico renale è indipendente dalla variazione della pressione arteriosa. Ciò è importante perché per svolgere la sua funzione il livello renale deve filtrare una certa quantità di sostanza in un certo tempo.



■ **Figura 40-18** relazioni tra la pressione arteriosa e il flusso ematico renale (FER) e la velocità di filtrazione glomerulare (VFG). L'autoregolazione consente di mantenere relativamente costanti sia FER che VFG a fronte di variazioni pressorie comprese tra 90 e 180 mmHg.

Quindi se il flusso ematico renale rimane costante, la quantità di sostanza che filtra a livello del corpuscolo renale rimane anch'essa costante, perché la pressione che spinge il sangue a livello del corpuscolo renale rimane costante.

Se si riporta in grafico la **velocità di filtrazione glomerulare** che è la velocità con cui il plasma filtra a livello del corpuscolo renale, anch'essa rimane costante in questo intervallo di pressione.

Ciò vuol dire che la quantità di sostanza che filtra a livello del corpuscolo renale è indipendente dalla pressione, e ciò è

importante perché permette di svincolare il meccanismo sia di filtrazione che di assorbimento dalla variazione di pressione arteriosa.

Ciò avviene appunto grazie al riflesso miogenico perché se aumenta la pressione trasmurale c'è un'attività contrattile da parte delle cellule muscolari dell'arteriola afferente, per cui riduce il flusso perché aumenta la resistenza; e in questo caso ha anche effetto sulla velocità di filtrazione glomerulare.

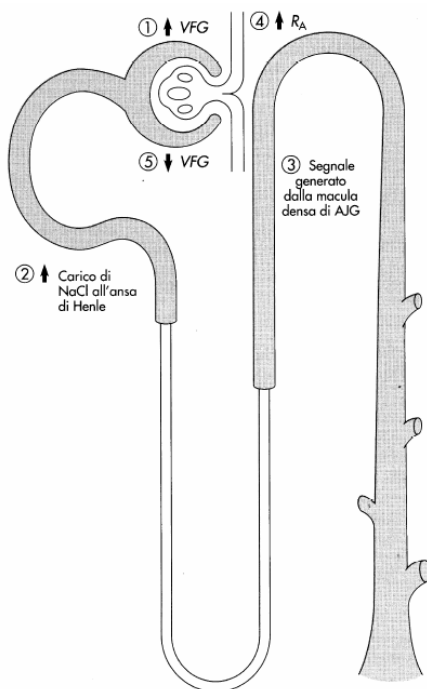
Relazione tra FER (flusso ematico renale), FPR (flusso plasmatico renale) e VFG

$$FER = \frac{FPR}{(1-e)} \quad \text{dove } e \approx 0.4 \text{ è l'ematocrito}$$

$$FPR = FER \cdot (1 - e) = 1300 \cdot 0,6 \approx 700 \text{ ml/min}$$

Il fatto che il flusso rimane invariato alla variazione della pressione arteriosa è dovuto a due effetti:

1. Riflesso miogenico
2. Meccanismo proprio del rene detto feedback tubulo glomerulare.



■ **Figura 40-19** Feedback tubulo-glomerulare. Un aumento di VFG (1) incrementa il carico di NaCl all'ansa di Henle (2); tale aumento viene rilevato dalla macula densa e convertito in un segnale (3). Questo segnale aumenta R_A (4); la resistenza dell'arteriola afferente che riduce VFG. AJG, apparato juxtaglomerulare.

Il feedback tubulo glomerulare regola la velocità di filtrazione attraverso i capillari glomerulari.

Se aumenta la pressione arteriosa la velocità di filtrazione glomerulare aumenta; questo aumento di VFG fa sì che nello stesso tempo venga filtrata una maggiore quantità di sostanza e anche di cloruro di sodio; ciò vuol dire che c'è un maggior carico di NaCl nel dotto, per cui una volta che viene riassorbito nell'ansa di Henle, manda un segnale e permette la liberazione di una sostanza da parte della *macula densa* (dell'apparato iuxtaglomerulare) che permette un aumento della resistenza dell'arteriola afferente riducendo così la velocità di filtrazione glomerulare.

Il segnale della macula densa è adenosina o ATP.

Macula densa

È il tubulo contorto distale che quando torna dall'ansa di Henle forma un contatto con il glomerulo; è formata quindi dal tubulo contorto distale e da delle cellule (*cellule del mesangio extraglomerulare*) che, risentendo dell'aumento carico di NaCl, provocano un segnale che provoca una vasocostrizione a livello dell'arteria afferente.

E' un meccanismo a feedback negativo.

Analisi della funzione renale

Clearance renale

Si tratta del volume di plasma che viene depurato da una determinata sostanza x nell'unità di tempo; si misura in ml/min, ed è quindi un flusso (un volume nell'unità di tempo).

Se considero $[U]_x$ la concentrazione urinaria della sostanza x, $[P]_x$ la concentrazione plasmatica della sostanza x, si considera $\frac{\Delta V}{\Delta t}$ il flusso urinario, cioè il volume di urina nell'unità di tempo, la clearance della sostanza x si può scrivere come:

$$C_x = \frac{[U]_x \cdot \left(\frac{\Delta V}{\Delta t}\right)}{[P]_x}$$

Lo schema più semplice del nefrone è la filtrazione e l'escrezione; una sostanza che viene filtrata ed escreta ha un valore di clearance particolare.

Esempio *inulina* (In): è una sostanza esogena e si può andare a vedere la quantità di inulina nel sangue perché è data dal prodotto della concentrazione di inulina ed il flusso.

$$q_{in,f} = VFG \cdot [P]_{in}$$

La quantità di inulina filtrata è data dalla VFG per la concentrazione plasmatica di inulina

$$q_{in,e} = \frac{\Delta V}{\Delta t} \cdot [U]_{in}$$

La quantità di inulina che viene escreta è data dal flusso urinario per la quantità urinaria di inulina.

Per l'inulina $Q_{in,f} = Q_{in,e}$ per cui

$$VFG \cdot [P]_{in} = \frac{\Delta V}{\Delta t} \cdot [U]_{in}$$

Per ricavare la velocità di filtrazione glomerulare

$$VFG = \frac{\frac{\Delta V}{\Delta t} \cdot [U]_{in}}{[P]_{in}}$$

Quindi per l'inulina la clearance è uguale alla velocità di filtrazione glomerulare. Quindi qualsiasi sostanza che viene filtrata e escreta e che non viene né secreta o riassorbita ha una clearance uguale alla velocità di filtrazione glomerulare.

Una sostanza può però essere anche riassorbita, es. *glucosio* e quindi la clearance risulta minore della velocità di filtrazione glomerulare; il glucosio viene completamente riassorbito, non si trova quindi nelle urine e $[U]_{glu}=0$ quindi la clearance del glucosio è 0. Quindi la clearance di una sostanza che viene filtrata, escreta e riassorbita è minore della VFG.

La sostanza può essere anche secreta; in questo caso devo sommarla alla sostanza escreta, la clearance risulta quindi maggiore della velocità di filtrazione glomerulare. Quindi la clearance di una sostanza che viene secreta è maggiore della VFG.

Per calcolare la VFG ad esempio dell'inulina, si somministra inulina (quindi se ne conosce la quantità), si guarda quanta inulina compare nelle urine, si guarda il flusso urinario e si calcola VFG.

→ Con una $P_{in}=20 \text{ mg\%}$ (concentrazione plasmatica di inulina) si trova una $U_{in}=1400 \text{ mg\%}$ (concentrazione urinaria di inulina) in 32ml di urina raccolta in 20min. Qual è la VFG?

$$VFG = \frac{\frac{\Delta V}{\Delta t} \cdot [U]_{in}}{[P]_{in}} = \frac{\frac{1400 \text{ mg}}{100 \text{ cc}} \cdot \frac{32 \text{ ml}}{20 \text{ min}}}{\frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ cc}}} = 112 \text{ ml/min}$$

Quindi la VFG = 112ml/min

→ Calcolare la clearance del sodio se: la concentrazione urinaria del sodio = 0.05 Eq/ml (equivalenti al millilitro); urina raccolta è 2.8 ml/min; concentrazione plasmatica di sodio = 0.14 Eq/ml. Quanto è la clearance del sodio?

$$C_{Na} = \frac{0,05 \text{ Eq/ml} \cdot 2,8 \text{ ml/min}}{0,14 \text{ Eq/ml}} = 1 \text{ ml/min}$$

Mentre in questo caso la clearance dell'inulina è 112ml/min, la clearance di Na è 1ml/min.

Quale frazione è della VFG? $\frac{1}{112} = 0,01$ quindi circa 1% rispetto alla clearance di inulina; ciò vuol dire che del 100% filtrato solo l'1% viene escreto, il restante 99% viene riassorbito dal nefrone.

→ In 2.8 ml di urina raccolta in 1min si trovano UPAI = 18mg% (concentrazione urinaria di PAI, acido p-aminoippurico), Uin = 10mg%. Sapendo che la PPAI = 0.1mg% e che la Pin = 0.28mg%, qual è la VFG e la clearance per l'acido p-aminoippurico?

$$C_{in} = \frac{2,8 \cdot 10}{0,28} = 100 \text{ ml/min}$$

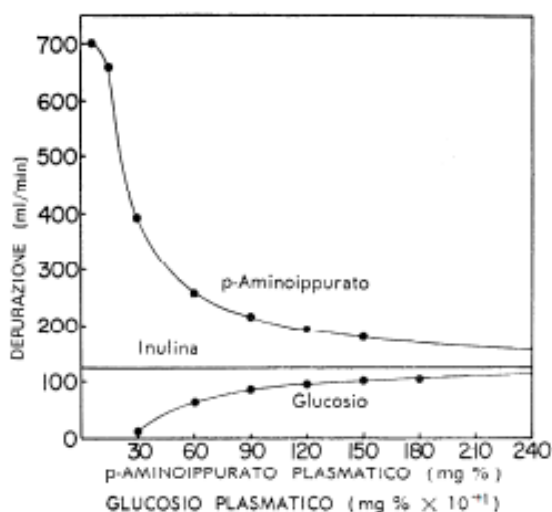
$$C_{PAI} = \frac{2,8 \cdot 18}{0,1} = 504 \text{ ml/min}$$

Quindi la clearance dell'inulina è 100ml/min, mentre quella di PAI è 504ml/min, quindi 5 volte la VFG (visto che nell'inulina la clearance è uguale alla VFG); ciò vuol dire che viene secreta. È possibile anche vedere di quanto è maggiore perché in un minuto mentre filtrano 100 ml di PAI, ne vengono secreti 500 ml (5 volte tanti).

Per vedere come varia la clearance quando cambia la concentrazione plasmatica delle diverse sostanze, è necessario fare alcune osservazioni.

Abbiamo 3 diverse categorie di sostanze:

- Inulina che viene filtrata ed escreta.
- Glucosio che viene completamente riassorbito.
- Acido para-aminoippurico che viene filtrato, escreto e secreto.



Se metto in relazione la clearance della sostanza x (ml/min) in funzione della concentrazione plasmatica della sostanza x (mg/100ml di plasma) si può vedere come si comportano queste 3 sostanze.

Inulina

Per quel che riguarda l'inulina, la sua clearance viene usata per misurare la velocità di filtrazione glomerulare e quindi $C_{inulina} = VFG$ e quando cambia la sua

concentrazione plasmatica la clearance dell'inulina non cambia perché la VGF ha un valore ben preciso.

È possibile riportare su un'altra relazione quella che è la quantità di sostanza che viene filtrata o escreta o riassorbita o secreta nell'unità di tempo, cioè la velocità con cui questa sostanza passa attraverso una delle porzioni del nefrone in funzione della sua concentrazione plasmatica (per es. mg/100 cc di plasma).

Considerando sempre l'inulina quello che succede è che mano a mano che aumenta la concentrazione plasmatica di inulina, la velocità con cui filtra l'inulina aumenta perché per la stessa VGF se aumento la concentrazione plasmatica la quantità che filtra nell'unità di tempo è maggiore.

Questa quantità di sostanza è data dal prodotto tra una concentrazione ed un flusso; questa mi dà quello che si chiama il carico filtrato della sostanza.

La pendenza delle curve ci dice quanti mg al minuto filtrano in funzione dei mg su ml di plasma, quindi l'unità di misura sono ml di plasma/min che è l'unità di misura della clearance, infatti la pendenza di queste curve altro non è che la clearance della sostanza.

Quindi si può passare da una relazione all'altra considerando che la clearance della sostanza è la pendenza di questa retta che esprime la relazione tra la quantità di sostanza e la sua concentrazione plasmatica.

Glucosio

Anche per il glucosio avremo una certa quantità di sostanza che filtra, quindi la relazione tra la quantità di glucosio e la sua concentrazione plasmatica è uguale a quella dell'inulina; poi ci sarà una relazione simile per quanto riguarda la quantità di glucosio che viene riassorbita: questa dipende dal numero di trasportatori per il glucosio che hanno le cellule dell'epitelio del nefrone.

Ciò che accade è che mano a mano che aumenta la concentrazione plasmatica di glucosio vado a saturare questi trasportatori e la velocità di riassorbimento del glucosio inizialmente è uguale alla quantità di glucosio che viene filtrato, dopodiché rimane costante perché vengono saturati tutti i trasportatori.

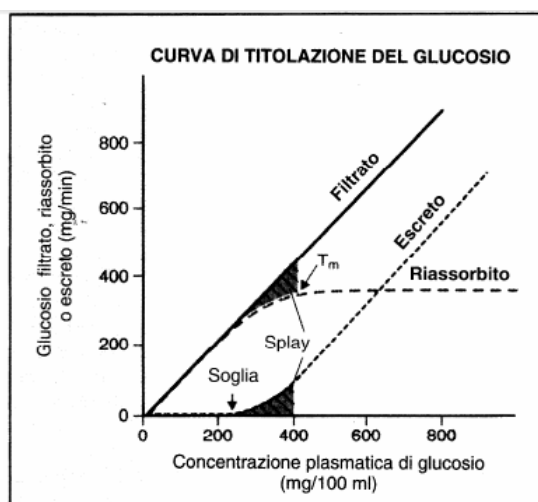


FIGURA 6-15. Curva di titolazione del glucosio. Filtrazione, riassorbimento ed escrezione del glucosio in funzione della sua concentrazione plasmatica. Le aree tratteggiate rappresentano lo "splay". T_m, trasporto tubulare massimo.

Il fatto che rimanga costante non vuol dire che non viene più assorbito glucosio, ma che viene assorbito sempre alla stessa velocità.

C'è una zona in cui inizia ad essere minore la velocità di riassorbimento e questo è descritto come fenomeno dello splay: inizia con un valore minimo di glucosio plasmatico al di sopra del quale inizia ad essere presente nelle urine, ma quando la velocità di escrezione diventa simile a quella di filtrazione glomerulare abbiamo saturato tutti i trasportatori che permettevano il riassorbimento del glucosio; quindi la velocità del glucosio escreto inizia prima con valori ridotti, continua durante lo splay poi si

mantiene costante e la velocità diviene uguale alla VFG.

Invece il glucosio escreto è dato dalla differenza tra il glucosio filtrato e quello riassorbito, perché se abbiamo una velocità massima di riassorbimento del glucosio, ciò che succede è che finché il glucosio viene riassorbito ho 0 glucosio escreto, dopo di che abbiamo del glucosio che viene escreto. Quindi fino a certi valori di concentrazioni plasmatiche non abbiamo glucosio che viene escreto perché tutto il glucosio filtrato viene riassorbito, poi la velocità di escrezione del glucosio aumenta e assume un valore simile a quello della velocità di filtrazione. Quindi la velocità con cui il glucosio viene riassorbito è molto minore della velocità di filtrazione.

In termini di clearance si deve guardare la quantità di glucosio escreta e fino a quando la concentrazione plasmatica di glucosio non raggiunge un certo valore non ho glucosio che viene escreto, poi quando la concentrazione plasmatica di glucosio supera certi valori il glucosio inizia ad essere escreto; per valori molto alti di concentrazione plasmatica di glucosio la pendenza di questa relazione diventa costante, simile alla VFG.

Quindi per assurdo se la concentrazione di glucosio nel plasma è molto grande potremmo usare il glucosio per misurare la VFG.

Per quanto riguarda il glucosio questo viene riassorbito a livello del tubulo contorto prossimale, per mezzo di un meccanismo molto comune.

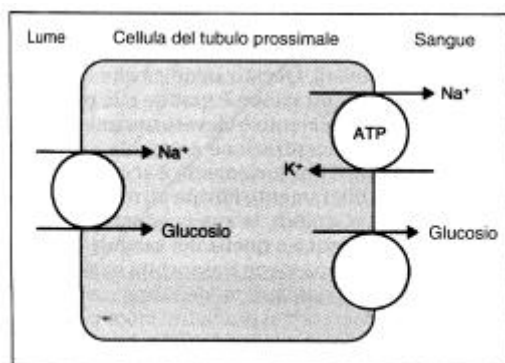


FIGURA 6-14. Meccanismo cellulare del riassorbimento del glucosio nella porzione iniziale del tubulo prossimale.

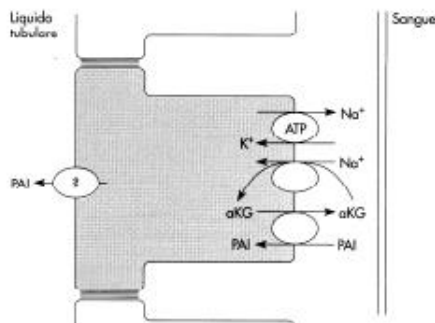
Questa è una cellula del tubulo che forma il nefrone; questa cellula presenta sulla membrana baso-laterale delle pompe sodio-potassio ATPasi che mantengono il gradiente elettrochimico degli ioni sodio e potassio; sul lato apicale del lume ci sono dei meccanismi di trasporto sodio-glucosio per cui sfruttando il gradiente elettrochimico del sodio c'è la possibilità di trasportare il glucosio all'interno della cellula; il glucosio prende poi la via baso-laterale per mezzo di proteine che permettono la diffusione degli ioni.

Questo è il meccanismo di riassorbimento del glucosio che è quindi limitato da queste proteine trasportatrici che siccome sono in numero limitato, ad un certo punto si saturano e quindi non può essere trasportato più di un certo valore di glucosio.

Un parametro importante è il **Tm** che indica il trasporto massimo, cioè la quantità di sostanza che viene trasportata prima di saturare il meccanismo; quindi Tm è la concentrazione plasmatica del glucosio dopo la

quale si ha la saturazione di questo meccanismo, quindi è quanto glucosio posso avere nel plasma per non saturare questo meccanismo di trasporto.

Acido para-amminoippurico

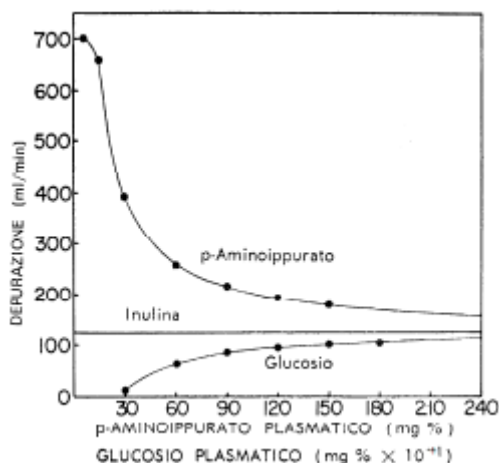
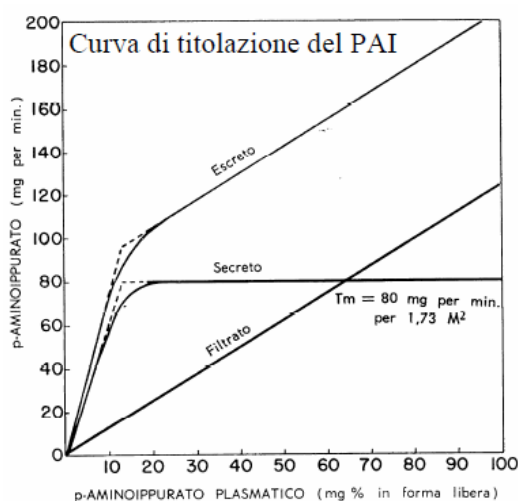


Il PAI viene filtrato attraverso i capillari glomerulari e secreto dal sangue a livello del tubulo contorto prossimale; la figura rappresenta una cellula del tubulo contorto prossimale.

Sfruttando l'energia che proviene dal gradiente del sodio ciò che accade è che c'è uno scambio tra l'alfa chetoglutarato, che viene immesso nella cellula tramite il gradiente del sodio, ed il PAI; il PAI entra quindi dal sangue nella cellula poi per merito di un'altra

proteina di membrana viene secreto sul versante apicale della cellula.

Il trasportatore del PAI ha una bassa specificità per il PAI ed è responsabile della secrezione di molti anioni organici, ad esempio alcuni anioni endogeni (AMP-ciclico, prostaglandine), molti farmaci (aspirina, penicillina, etc.)



Per quanto riguarda l'acido p-amminoippurico, questo verrà secreto ad una velocità maggiore rispetto alla VFG; l'acido p-amminoippurico viene secreto e se la clearance è maggiore rispetto alla VFG, partiremo con una pendenza maggiore, poi i meccanismi di secrezione saturano e raggiungono una velocità di secrezione di glucosio che è costante; l'acido p-amminoippurico escreto è dato dalla somma tra quello secreto e quello filtrato: quando viene escreto la retta è più pendente, poi riduce la pendenza fino ad essere uguale alla VFG.

Quindi tornando all'immagine iniziale (riportata a fianco) che mette a confronto le tre sostanze, per quanto riguarda la clearance dell'acido para-amminoippurico escreto, la parte finale, cioè quando la concentrazione plasmatica è elevata, coincide con la VFG, la parte iniziale invece mostra una pendenza maggiore.

A questo punto se riprendiamo l'immagine che mostra le clearance delle tre sostanze possiamo vedere che si tratta della relazione tra la clearance e la concentrazione plasmatica

dell'acido para-amminoippurico, dell'inulina e del glucosio riferito all'uomo. Qui la clearance viene chiamata "depurazione" e sono ml/min.

La clearance dell'inulina rimane costante, quella del glucosio è zero finché la concentrazione plasmatica non raggiunge un certo valore, dopodiché aumenta e tende a raggiungere la clearance dell'inulina, cioè la VFG; per quanto riguarda il PAI ha un valore iniziale alto che poi diminuisce tendendo di nuovo a raggiungere la VFG.

Date queste relazioni è possibile effettuare diverse misurare:

A concentrazioni plasmatiche piuttosto ridotte il PAI ha una clearance utilizzabile per misurare il flusso plasmatico renale, perché questo flusso è la quantità del plasma che nell'unità di tempo raggiunge i reni ed è dato dalla quantità di sostanza che filtra a livello renale sommata alla quantità di sostanza escreta. In questo caso il FPR è circa 700 ml/min.

Quindi il FPR è misurabile con basse concentrazioni di PAI; mentre la VFG si misura utilizzando l'inulina.

Si può calcolare la frazione di filtrazione cioè il rapporto tra tra la VFG ed il FPR

$$frazione\ di\ filtrazione = \frac{VFG}{FPR} = \frac{120}{700} \approx 0,17$$

Ciò vuol dire che i reni filtrano il 15-20% del plasma che li raggiunge.

Se si conosce il FPR si può calcolare il flusso ematico renale dividendo il FPR per 1-e.

$$flusso\ ematico\ renale = \frac{flusso\ plasmatico\ renale}{1 - e\ (ematocrito)} = \frac{700\ ml/min}{1 - 0,4} = 1167\ ml/min$$

Quindi il FER è circa 1200 ml/min che è circa il 20-25% della gittata cardiaca, infatti se si fa $\frac{1167\ ml/min}{5000\ ml/min} \approx 0,23$ che è appunto il 20-25%.

→ Un uomo, la cui velocità di flusso urinario è di 1 ml/min, presenta una concentrazione plasmatica di PAI di 1 mg/100 ml, una concentrazione urinaria di PAI di 600 mg/100 ml ed un ematocrito di 0.45. Qual è il suo FER?

Il FER si ricava se si conosce il FPR e quest'ultimo coincide con la clearance dell'acido-paraamminoippurico; quindi si calcola la clearance dell'acido con questi parametri.

$$C_{PAI} = \frac{concentrazione\ urinaria_{PAI} \cdot velocità\ del\ flusso\ urinario}{concentrazione\ urinaria_{PAI}} = \frac{600\ mg/ml \cdot 1\ ml/min}{1\ mg/ml} = 600\ ml/min$$

Visto che clearance e flusso plasmatico renale coincidono 600 ml/min è anche il valore del FPR, quindi

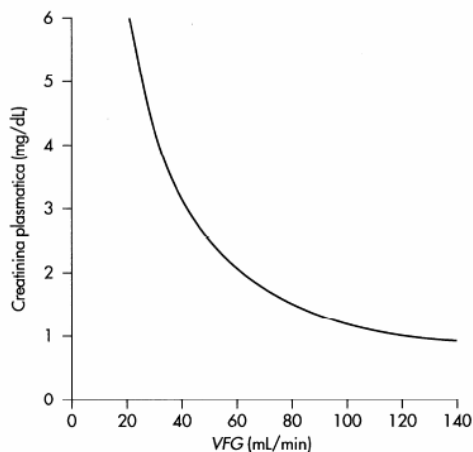
$$FER = \frac{600 \text{ ml/min}}{1 - 0,45} = \frac{600}{0,55} \approx 1090$$

Sapendo che il FER è il 20-25% della gittata cardiaca si può avere una stima di questa

$$gittata\ cardica = \frac{1090}{0,2} = 4550$$

Per fare misure simili senza usare una sostanza esogena come l'inulina si può utilizzare la **creatinina**,

Clearance della creatinina



ottenuta dal metabolismo muscolare della *creatina*, può dare una stima della VFG, anche se non da dei valori precisi.

La velocità con cui viene prodotta la creatinina è costante; la quantità dipende dalla massa muscolare, ma sono valori che rimangono comunque costanti; siccome la creatinina non viene riassorbita (5-10% di errore), può essere usata per stimare la velocità di filtrazione glomerulare.

Quando la VFG è circa 120, anche se la VFG varia molto, la concentrazione plasmatica di creatinina non varia molto, cioè si sta lavorando in una regione della curva dove la sensibilità è

molto bassa; quindi per avere una stima della VFG si usa la creatinina, ma la variazione della creatinina deve essere molto grande; detto meglio se la creatinina varia poco, la VFG varia molto.

Con le variazioni del livello di creatinina non posso avere una buona misura di VFG, infatti anche se la creatinina varia solo da 1 a 1.1, la VFG può variare fino al 20%.

Non possiamo però basarci troppo sulla creatinina perché se varia del 30% potrebbe essere grave perché la VFG potrebbe andare da 120 a 80, quindi non è un metodo buono per misurare la VFG, però da una stima.

■ **Figura 40-12** Relazioni tra la VFG e la concentrazione plasmatica della creatinina. Come per l'inulina, la quantità di creatinina filtrata è essenzialmente uguale alla quantità escreta (cioè, la quantità filtrata – quantità escreta, perciò $VFG \times P_{cr} = U_{cr} \times \dot{V}$). Poiché la produzione di creatinina è costante, per mantenere il bilancio della creatinina anche la sua escrezione deve essere costante. Pertanto, se la VFG scende da 120 a 60 mL/min, la concentrazione plasmatica della creatinina (P_{cr}) deve aumentare da 1 a 2 mg/dL, affinché la filtrazione della creatinina e, quindi, la sua escrezione sia uguale alla sua produzione.

Tutto ciò è riferito alla funzione renale, adesso ci si sposta invece a parlare della funzione tubulare.

■ **Tabella 41-I** Filtrazione, escrezione e riassorbimento di acqua, elettroliti e soluti.

Sostanza	Unità	Filtrazione	Escrezione	Riassorbimento	Carico filtrato riassorbito (%)
Acqua	L/die	180	1.5	178.5	99.2
Na ⁺	mEq/die	25 200	150	25 050	99.4
K ⁺	mEq/die	720	100	620	86.1
Ca ⁺⁺	mEq/die	540	10	530	98.2
HCO ₃ ⁻	mEq/die	4320	2	4318	99.9+
Cl ⁻	mEq/die	18 000	150	17 850	99.2
Glucosio	mmol/die	800	0	800	100.0
Urea	g/die	56	28	28	50.0

La quantità filtrata di ogni sostanza è calcolata moltiplicando la concentrazione di quella sostanza nell'ultrafiltrato per la velocità di filtrazione glomerulare; per esempio, il carico filtrato di Na⁺ è calcolato come segue: concentrazione di Na⁺ nell'ultrafiltrato (140 mEq/L) × velocità di filtrazione glomerulare (180 L/die) = 25 200 mEq/die.

Si tratta di valori fisiologici.

La cosa importante è il carico filtrato della sostanza: che è il prodotto tra la concentrazione plasmatica e la VFG; quindi se si prende ad esempio il sodio

$$\begin{aligned} \text{carico filtrato della sostanza} &= \text{concentrazione plasmatica}_{Na} \cdot VFG_{Na} \\ &= 1440 \text{ min} \cdot 125 \frac{\text{ml}}{\text{min}} = 180000 \text{ ml} = 180 \text{ l} \end{aligned}$$

dove $1440 \text{ min} = 24 \text{ ore} \cdot 60 \text{ min}$

Questi sono i valori elevati: a livello renale c'è una velocità di filtrazione di una parte del plasma che è di circa 180 litri, quindi 180 litri in un giorno passano attraverso il corpuscolo renale.

Il valore di filtrazione del sodio (25200) viene fuori facendo

$$140 \frac{\text{mEq}}{\text{l}} \cdot 180 \text{ l/giorno} = 25200 \text{ mEq/giorno}$$

Di questi mEq/giorno 150 vengono escreti, 25050 vengono riassorbiti con un carico filtrato che è più del 99%.

Questa tabella fa vedere che per la maggior parte delle sostanze si va attorno ad un valore di carico filtrato vicino al 99%.

Quindi i reni filtrano molto, ma riassorbono anche molto.

Esempio per quanto riguarda lo ione bicarbonato, importante per il controllo del pH nel sangue, la sua quantità varia a seconda della dieta: dieta più acida, riassorbimento maggiore, dieta meno acida, riassorbimento minore.

Ciò avviene in base ad un meccanismo che si realizza a livello dei tubuli dei nefroni; quindi dobbiamo studiare questa funzione tubulare nelle varie porzioni del nefrone.

Meccanismi di trasporto del soluto

1) Trasporto attivo (mediato da pompe): la più abbondante è la pompa Na-K ATPasi, ma si trovano anche altre pompe come la pompa H⁺-ATPasi e idrogeno-potassio-ATPasi (responsabili della secrezione di H⁺ nel dotto collettore).

2) Trasporto attivo secondario: sfruttando il gradiente elettrochimico del Na^+ alcune sostanze attraversano la membrana mediante proteine di trasporto.

- Nel tubulo contorto prossimale troviamo sodio che entra nella cellula, accoppiato al H^+ , glucosio, aminoacidi, fosfato, Cl^- ;
- Nel tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle c'è un cotrasportatore particolare che è uno scambiatore $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{Cl}^-$ (il rapporto degli ioni è 1:1:2); questo è uno dei bersagli di alcuni farmaci.
- Nel tubulo contorto distale di nuovo uno scambiatore Na^+-H^+ .

3) Diffusione: sia *semplice* (gas come CO_2 che attraversa la membrana da sola) che *facilitata* (glucosio che per attraversare la membrana ha bisogno di un trasportatore).

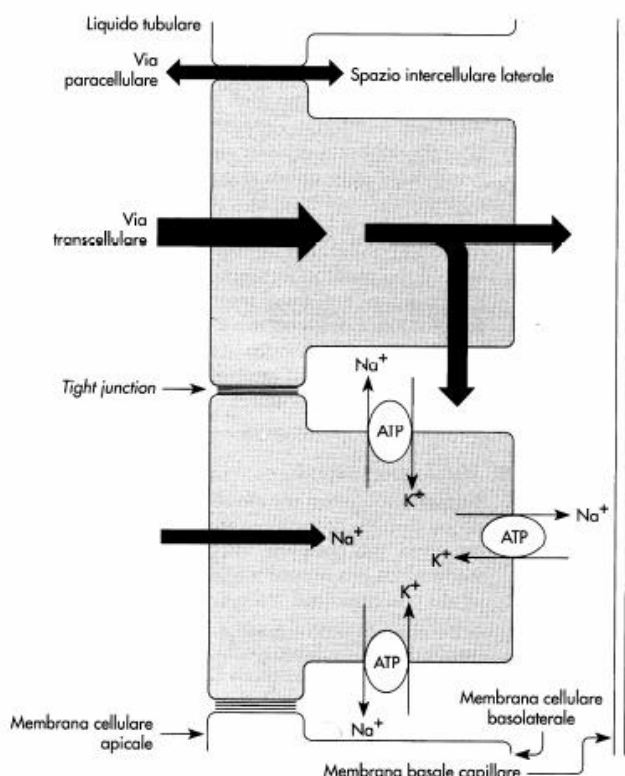
■ Tabella 41-2 Composizione dell'urina.

Sostanza	Concentrazione
Na^+	50-130 mEq/L
K^+	20-70 mEq/L
NH_4^+	30-50 mEq/L
Ca^{++}	5-12 mEq/L
Mg^{++}	2-18 mEq/L
Cl^-	50-130 mEq/L
P_i	20-40 mEq/L
Urea	200-400 mM
Creatinina	6-20 mM
pH	5.0-7.0
Osmolarità	500-800 mOsm/kgH ₂ O
Glucosio*	0
Amino acidi*	0
Proteine*	0
Sangue*	0
Chetoni*	0
Leucociti*	0
Bilirubina*	0

Alla fine di tutti questi processi (filtrazione, riassorbimento, etc.) c'è l'escrezione, che avviene tramite l'urina.

Le sostanze che hanno valore 0 sono tutte sostanze che vengono riassorbite.

Inoltre l'osmolarità delle urine varia a seconda della disponibilità di acqua dell'ambiente in cui si trova l'organismo; esistono infatti quindi diversi meccanismi per riassorbire acqua e sono quelli importanti quando gli organismi si trovano a vivere in un ambiente in cui la disponibilità di acqua è bassa.



Trasporto transepiteliale

In generale ci sono due meccanismi di trasporto, cioè il modo di passare di queste sostanze è fondamentalmente attraverso due vie:

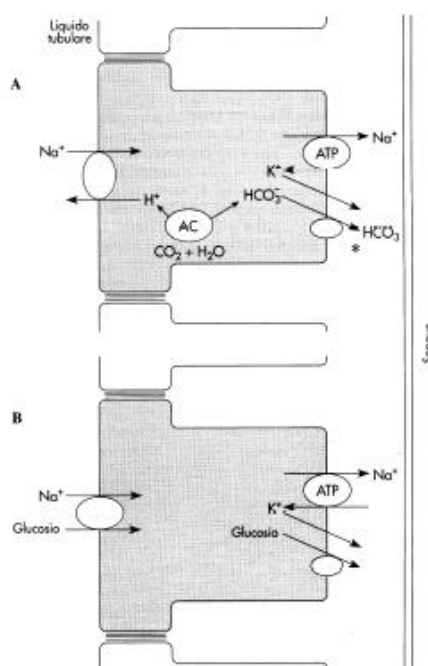
1. Via trans-cellulare
2. Via para-cellulare

Il riassorbimento e la secrezione sono guidati da delle pompe sodio-potassio ATP-asi situate sulla membrana baso laterale delle cellule.

Via paracellulare: normalmente quando c'è un accumulo di sostanza a livello tubulare (come fa ad esempio il cloro) sia per gradiente di concentrazione sia per attività elettrica si può avere uno spostamento, per interazione elettrostatica, dal lume verso il sangue, verso lo spazio intercellulare laterale, tramite le giunzioni strette.

A questo punto a seconda delle diverse parti del rene vengono riassorbite sostanze diverse.

Tubulo contorto prossimale



■ **Figura 41-2** Meccanismi del trasporto del Na^+ nella prima metà del tubulo prossimale. I meccanismi di trasporto riportati in **A** e **B** sono presenti in tutte le cellule della prima metà del tubulo prossimale. Questi meccanismi sono stati separati in due diverse cellule per semplificare l'esposizione. **A**, l'attività dell'antiporto Na^+/H^+ nella membrana apicale e la Na^+, K^+ -ATPasi e il trasportatore dell' HCO_3^- nella membrana basolaterale, mediano il riassorbimento di NaHCO_3 . CO_2 e H_2O si combinano all'interno della cellula in una reazione facilitata dall'enzima anidrasi carbonica (AC). **B**, l'attività del trasportatore Na^+ -glucosio della membrana apicale, insieme con la Na^+, K^+ -ATPasi e il trasportatore del glucosio, mediano il riassorbimento Na^+ -glucosio. Il riassorbimento di Na^+ è accoppiato anche con il trasporto di altri soluti, inclusi gli aminoacidi, il P_i e il lattato. Il riassorbimento di questi soluti è mediato dai simporti Na^+ -aminoacido, Na^+/P_i , Na^+ -lattato della membrana apicale e dalla Na^+, K^+ -ATPasi e dai trasportatori del lattato, del P_i e degli aminoacidi della membrana basolaterale.

Il tubulo contorto prossimale si divide in una parte iniziale ed in una seconda parte del tubulo.

È presente una pompa sodio-potassio ATPasi e la CO_2 , che come gas diffonde dal sangue, che si lega all'acqua per mezzo dell'*anidrasi carbonica* e c'è formazione di H^+ e HCO_3^- che viene riassorbita ed esce dalla cellula tramite uno scambiatore del cloro (il cloro entra nella cellula); anche lo ione H^+ , sfruttando uno scambiatore che permette l'ingresso di sodio, esce dalla cellula.

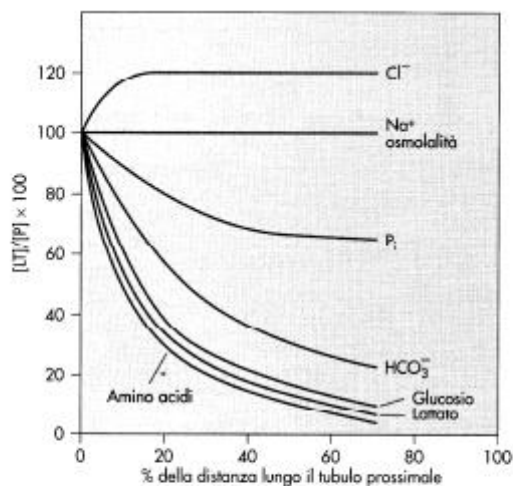
A livello del sangue viene riassorbito Na e HCO_3^- .

Quindi in questo primo tratto viene riassorbito bicarbonato di sodio e nelle stesse cellule c'è il riassorbimento, sfruttando il gradiente elettrochimico del sodio, di tutta una serie di sostanze per mezzo dei loro trasportatori di membrana; vengo riassorbiti ad esempio il glucosio, gli aminoacidi, i lattati e i fosfati. Non viene riassorbito invece il cloro, che rimane a livello del lume tubulare.

Nella seconda parte del tubulo contorto prossimale, sempre guidato dalla pompa sodio-potassio ATP-asi, ci sono due scambiatori: in uno c'è ingresso di sodio, e l' H^+ esce dalla cellula; l'anione è scambiato con il cloro che, sfruttando il gradiente elettrochimico del potassio, esce dalla cellula con l'altro scambiatore; quindi viene riassorbito cloruro di sodio. L'anione può essere OH^- , HCO_3^- , solfato.

Il cloro che lascia il lume tubulare lascia anche delle cariche elettriche positive che spingono il sodio, che a sua volta richiama il cloro attraverso la via trans-cellulare; per cui NaCl viene riassorbito non solo per la via para-cellulare ma anche trans-cellulare.

Quindi il riassorbimento delle sostanze si basa su questi *meccanismi di simporto Na-sostanza x*.



■ **Figura 41-3** Concentrazioni dei soluti nel liquido tubulare in funzione della distanza lungo il tubulo prossimale. [LT] è la concentrazione della sostanza nel liquido tubulare; [P] è la concentrazione della sostanza nel plasma. Valori superiori a 100 indicano che è stato riassorbito relativamente meno soluto che acqua; valori inferiori a 100 indicano che è stato riassorbito relativamente più soluto che acqua. (Modificato da Vander A: *Renal physiology*, 4ª

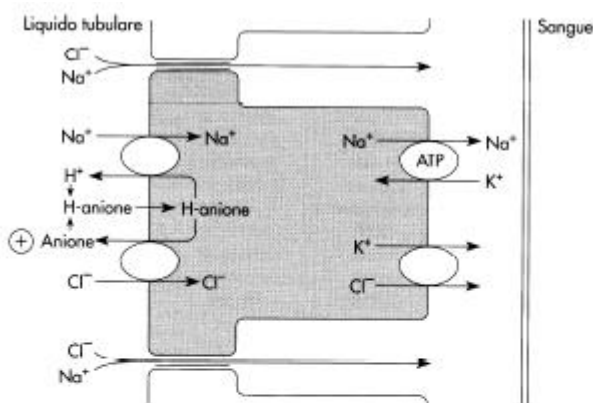
Se si va a vedere cosa è rimasto nel tubulo contorto prossimale, cioè si guarda la concentrazione delle sostanze nel lume tubulare, rispetto alla concentrazione plasmatica delle sostanze (100% vuol dire che si trova alla stessa concentrazione).

Esempio: il sodio si trova alle stesse concentrazioni nel lume tubulare e nel plasma; allontanandoci dal corpuscolo glomerulare il rapporto delle concentrazioni del sodio che ho nel lume tubulare e nel plasma non cambia; ciò vuol dire che il sodio che vien riassorbito, guida anche il riassorbimento di acqua. Mentre per esempio c'è una riduzione della concentrazione nel lume tubulare del fosfato,

dello ione bicarbonato, del glucosio, del lattato e degli aminoacidi.

Ciò vuol dire che gradualmente vengono riassorbite queste sostanze via via che ci si allontana dal glomerulo, mentre nella prima parte del tubulo contorto prossimale non viene riassorbito cloro.

Meccanismo di riassorbimento del cloro nella seconda parte del tubulo contorto prossimale



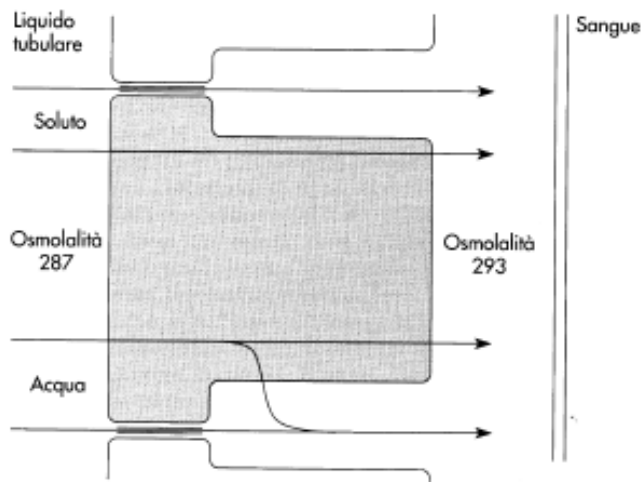
■ **Figura 41-4** I processi di trasporto del Na^+ nella seconda metà del tubulo prossimale. Na^+ e Cl^- penetrano nella cellula attraverso la membrana apicale mediante due meccanismi di antipporto paralleli Na^+-H^+ e Cl^- -anione. Possono essere presenti in questo processo più di un antipporto per Cl^- -anione, anche se nella figura ne è stato riportato uno solo. L'anione e l' H^+ secreti nel liquido tubulare si combinano per formare un complesso H^+ -anione che può riciclare attraverso la membrana plasmatica. L'accumulo di H^+ -anione nel liquido tubulare stabilisce un gradiente di concentrazione che favorisce la diffusione all'interno della cellula dell' H^+ -anione attraverso la membrana cellulare apicale. Dentro la cellula, H^+ e l'anione si dissociano e retrodiffondono nel liquido tubulare attraverso la membrana apicale. Il risultato netto è l'assunzione di NaCl attraverso la membrana apicale. L'anione può essere OH^- , HCO_3^- o solfato e ossalato. Il voltaggio transepiteliale (con il lume positivo indicato dal segno + dentro un cerchio all'interno del lume tubulare) è generato dalla diffusione di Cl^- (dal lume al sangue) attraverso le tight junction. L'elevata $[\text{Cl}^-]$ nel liquido tubulare fornisce la forza per la diffusione del Cl^- .

Di nuovo la pompa sodio-potassio ATPasi; il gradiente di sodio, grazie ad uno scambio con l'idrogeno e ad uno scambio dell'anione con il cloro fa sì che il cloro, con un cotrasportatore sulla membrana baso-laterale esca insieme al potassio. Quindi in maniera netta ho il riassorbimento del cloruro di sodio.

Ora nel lume tubulare ho una carica positiva in eccesso che spinge il cloro ed il sodio via dal lume tubulare; quindi il

cloruro di sodio viene riassorbito tramite entrambe le vie.

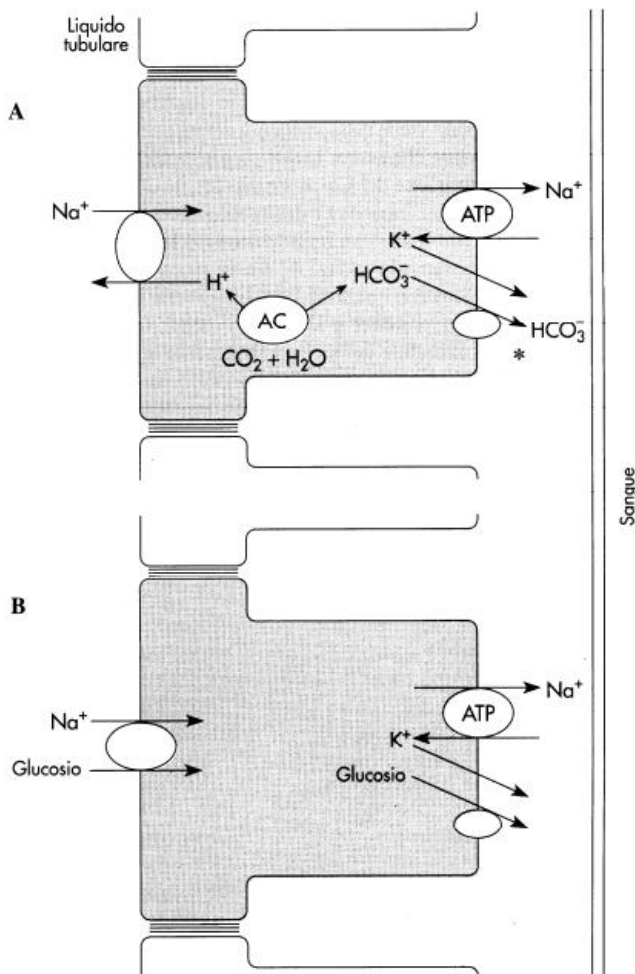
Riassorbimento dell'acqua



■ **Figura 41-5** Le vie del riassorbimento di acqua e soluti attraverso il tubulo prossimale. Il trasporto di soluti, inclusi Na^+ , Cl^- e soluti organici, nello spazio intercellulare laterale aumenta in questo compartimento l'osmolalità, che costituisce la forza di spinta per il riassorbimento osmotico dell'acqua attraverso il tubulo prossimale. Questo si verifica perché alcune Na^+ , K^+ -ATPasi e alcuni trasportatori di soluti organici, di HCO_3^- e di Cl^- , sono localizzati sulle membrane cellulari laterali e depositano questi soluti negli spazi tra cellule. Inoltre, una certa quantità di NaCl entra nello spazio intercellulare laterale per diffusione attraverso le *tight junction* (cioè, la via paracellulare). Un'importante conseguenza del flusso osmotico di acqua attraverso il tubulo prossimale è che alcuni soluti, specialmente K^+ e Ca^{++} rimangono intrappolati nel liquido riassorbito e vengono quindi riassorbiti mediante il processo del drenaggio del solvente.

Visto che i soluti vengono riassorbiti, l'acqua semplicemente segue per osmosi i soluti e passa per la via para- e trans-cellulare; il passaggio dell'acqua avviene per osmosi, quindi solo per diffusione semplice, ma per attraversare le cellule sono necessarie le acquaporine, attraverso le quali appunto passa l'acqua.

Tubulo contorto prossimale



■ **Figura 41-2** Meccanismi del trasporto del Na^+ nella prima metà del tubulo prossimale. I meccanismi di trasporto riportati in **A** e **B** sono presenti in tutte le cellule della prima metà del tubulo prossimale. Questi meccanismi sono stati separati in due diverse cellule per semplificare l'esposizione. **A**, l'attività dell'antiporto Na^+/H^+ nella membrana apicale e la Na^+/K^+ -ATPasi e il trasportatore dell' HCO_3^- nella membrana basolaterale, mediano il riassorbimento di NaHCO_3 . CO_2 e H_2O si combinano all'interno della cellula in una reazione facilitata dall'enzima anidrasi carbonica (AC). **B**, l'attività del trasportatore Na^+ -glucosio della membrana apicale, insieme con la Na^+/K^+ -ATPasi e il trasportatore del glucosio, mediano il riassorbimento Na^+ -glucosio. Il riassorbimento di Na^+ è accoppiato anche con il trasporto di altri soluti, inclusi gli aminoacidi, il P_i e il lattato. Il riassorbimento di questi soluti è mediato dai simporti Na^+ -aminoacido, Na^+/P_i , Na^+ -lattato della membrana apicale e dalla Na^+/K^+ -ATPasi e dai trasportatori del lattato, del P_i e degli aminoacidi della membrana basolaterale.

* Scambiatore $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$

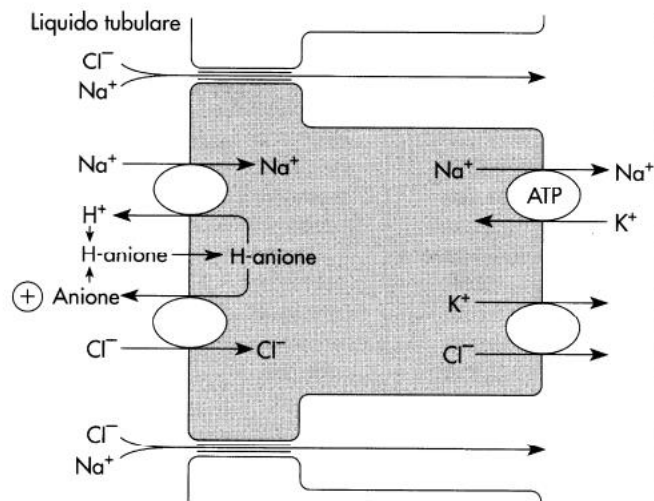
Nella parte iniziale o finale del tubulo contorto prossimale c'è un riassorbimento di sostanze diverse perché nella prima parte viene riassorbito sodio insieme a fosfato, bicarbonato, glucosio, lattato, aminoacidi ma non c'è riassorbimento di cloro.

L'acqua segue il gradiente osmotico.

Nella seconda parte c'è riassorbimento di cloro che avviene grazie a due meccanismi:

- scambiato con uno ione: ione bicarbonato, OH^- , solfato, con conseguente riassorbimento netto di NaCl , ovviamente si ha il riassorbimento di acqua perché si ha un aumento dell'osmolarità nella regione basolaterale di queste cellule e quindi l'acqua può attraversare sia la via paracellulare che transcellulare se ci sono i trasportatori per l'acqua, acquaporine.
- passaggio per via paracellulare, il cloro

passa per gradiente, rimane quindi un eccesso di cariche positive a livello del lume che spinge il sodio ad entrare determinando così l'assorbimento di cloruro di sodio; il riassorbimento del sodio avviene quindi anche per via paracellulare oltre che per transcellulare.

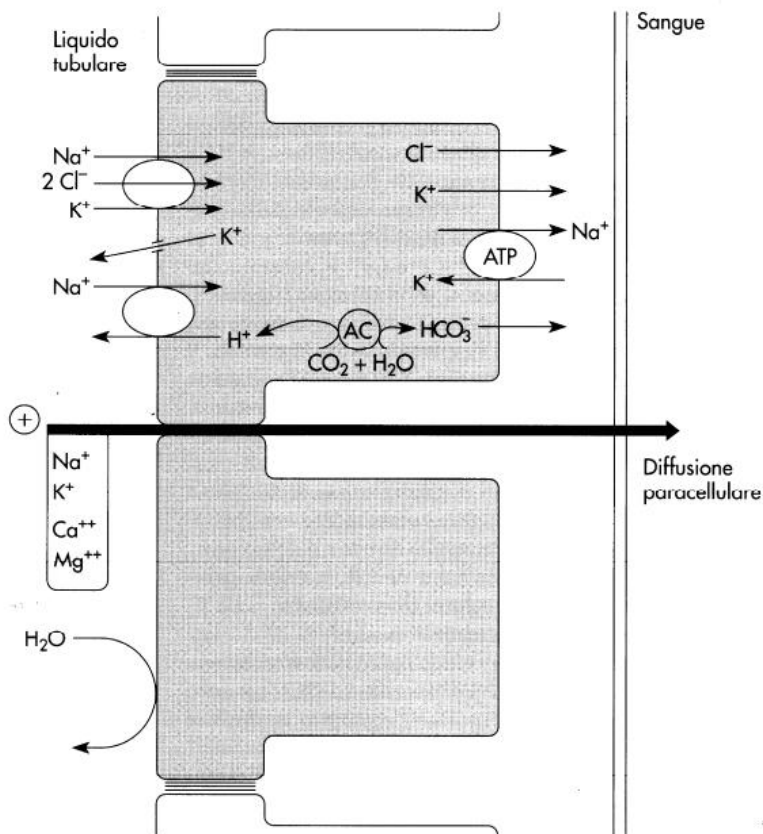


Sangue

Il movimento di Cl^- crea una differenza di potenziale transepiteliale positiva che porta al movimento degli ioni Na^+ verso il sangue. Il riassorbimento di NaCl porta ad un gradiente osmotico transtubulare che fa riassorbire l'acqua

■ **Figura 41-4** I processi di trasporto del Na^+ nella seconda metà del tubulo prossimale. Na^+ e Cl^- penetrano nella cellula attraverso la membrana apicale mediante due meccanismi di antiporto paralleli Na^+ - H^+ e Cl^- -anione. Possono essere presenti in questo processo più di un antiporto per Cl^- -anione, anche se nella figura ne è stato riportato uno solo. L'anione e l' H^+ secreti nel liquido tubulare si combinano per formare un complesso H^+ -anione che può ricircolare attraverso la membrana plasmatica. L'accumulo di H^+ -anione nel liquido tubulare stabilisce un gradiente di concentrazione che favorisce la diffusione all'interno della cellula dell' H^+ -anione attraverso la membrana cellulare apicale. Dentro la cellula, H^+ e l'anione si dissociano e retrodiffondono nel liquido tubulare attraverso la membrana apicale. Il risultato netto è l'assunzione di NaCl attraverso la membrana apicale. L'anione può essere OH^- , HCO_3^- o solfato e ossalato. Il voltaggio transepiteliale (con il lume positivo indicato dal segno \oplus dentro un cerchio all'interno del lume tubulare) è generato dalla diffusione di Cl^- (dal lume al sangue) attraverso le *tight junction*. L'elevata $[\text{Cl}^-]$ nel liquido tubulare fornisce la forza per la diffusione del Cl^- .

Ansa di Henle



Nell'ansa di Henle si distingue in un tratto ascendente, un tratto sottile e un tratto spesso.

Nel tratto discendente c'è la possibilità di avere passaggio di acqua ma non di soluti, nella parte terminale a forcina non c'è riassorbimento né di soluti né di acqua, nel tratto ascendente c'è riassorbimento di soluti ma non c'è possibilità di avere passaggio di acqua. Questo è importante dal punto di vista funzionale per creare un gradiente di concentrazione nella regione midollare del rene.

Da un punto di vista di soluti è interessante solo la parte ascendente dell'ansa.

In questa regione troviamo la pompa Na^+-K^+ ATPasi che libera sodio e fa entrare potassio; il cotrasportatore $\text{Na}-\text{Cl}-\text{K}$ (particolare perché si trova solo in queste cellule) ha un rapporto fra gli ioni scambiati di 1:2:1 e il cotrasportatore sfrutta il gradiente elettrochimico del sodio che entra e questo dà energia per il trasporto del cloro e del potassio (soprattutto per il potassio perché il cloro tende ad entrare). Il trasportatore a tre ioni è elettrogenico e sottrae cariche negative al lume, la differenza di potenziale che si viene a creare tra lume e sangue è positiva, ciò determina riassorbimento paracellulare di cationi Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} .

La CO_2 entra dal sangue e dal lume tubulare, grazie a questa c'è la possibilità, mediante la solita reazione con l'acqua (anidasi carbonica), di far uscire gli ioni idrogeno e riassorbire ione bicarbonato; lo ione idrogeno esce grazie ad uno scambiatore $\text{H}-\text{Na}$.

Il cloro viene riassorbito.

Cariche nette nel lume tubulare: il potassio si annulla perché è immesso e fatto uscire, entrano due anioni di cloro e ne esce uno per cui si crea un'eccedenza di cariche positive che funziona da forza elettrostatica facendo passare per via trans cellulare gli ioni Na , K , Ca e Mg (per alcuni ioni come Ca e Mg questo è l'unico modo per essere assorbiti).

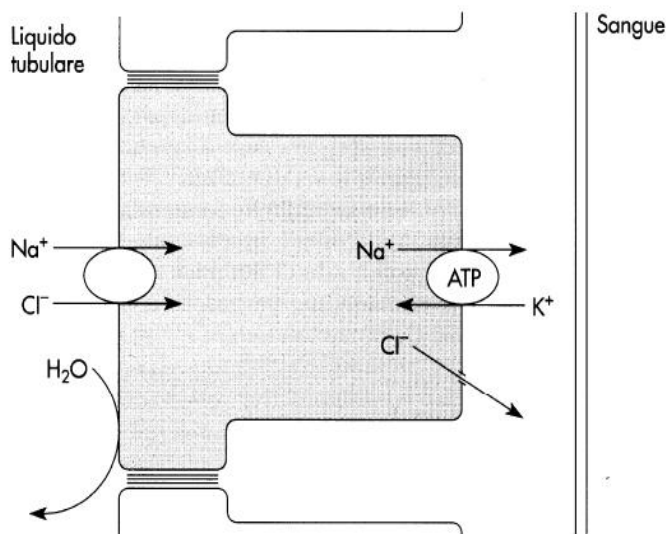
A questo livello se la membrana della cellula è permeabile ai sali (sodio assieme al bicarbonato, al cloro e al potassio) e non all'acqua, il liquido nel lume tubulare risulta diluito, questa porzione del glomerulo è detta segmento diluente perché l'osmolarità è ridotta di circa la metà di quella del plasma.

Lo scambiatore $\text{Na}-\text{Ca}-\text{K}$ è stato molto studiato, i farmacologi infatti hanno individuato alcune sostanze come il furosemide la quale appartiene ad una famiglia di sostanze a cui è stato dato il nome di diuretici dell'ansa ovvero sostanze che, bloccando questo scambiatore, inibiscono il riassorbimento di NaCl , bicarbonato Na , sali potassio e Ca^{2+} , diminuendo le concentrazioni di sali, viene eliminata più acqua e quindi hanno un effetto diuretico.

L'ansa di Henle riassorbe circa il 25% del carico filtrato di NaCl , K^+ , Ca^{2+} e ione bicarbonato, il tratto discendente sottile riassorbe il 15 % dell'acqua filtrata ma non riassorbe soluti, quello ascendente sottile non riassorbe soluti ed impermeabile all'acqua (proseguimento dell'ansa di Henle), il tratto ascendente spesso riassorbe soluti per la presenza della pompa Na^+-K^+ ATPasi ed è impermeabile all'acqua.

Tuttavia nella parte terminale sottile ascendente c'è riassorbimento di sale ma non in maniera attiva.

Tubulo contorto distale e dotto collettore



Questi due tratti sono importanti perché continua il riassorbimento di sali (NaCl) grazie ad un cotrasportatore che sfrutta il gradiente di Na , tuttavia queste cellule continuano ad essere impermeabili all'acqua. Per questo motivo si ha un'ulteriore diluizione del contenuto del liquido tubulare, questa parte del tubulo distale è detta segmento diluente corticale. Anche su questo scambiatore agiscono i diuretici tiazidici (clotiazide), sostanze che

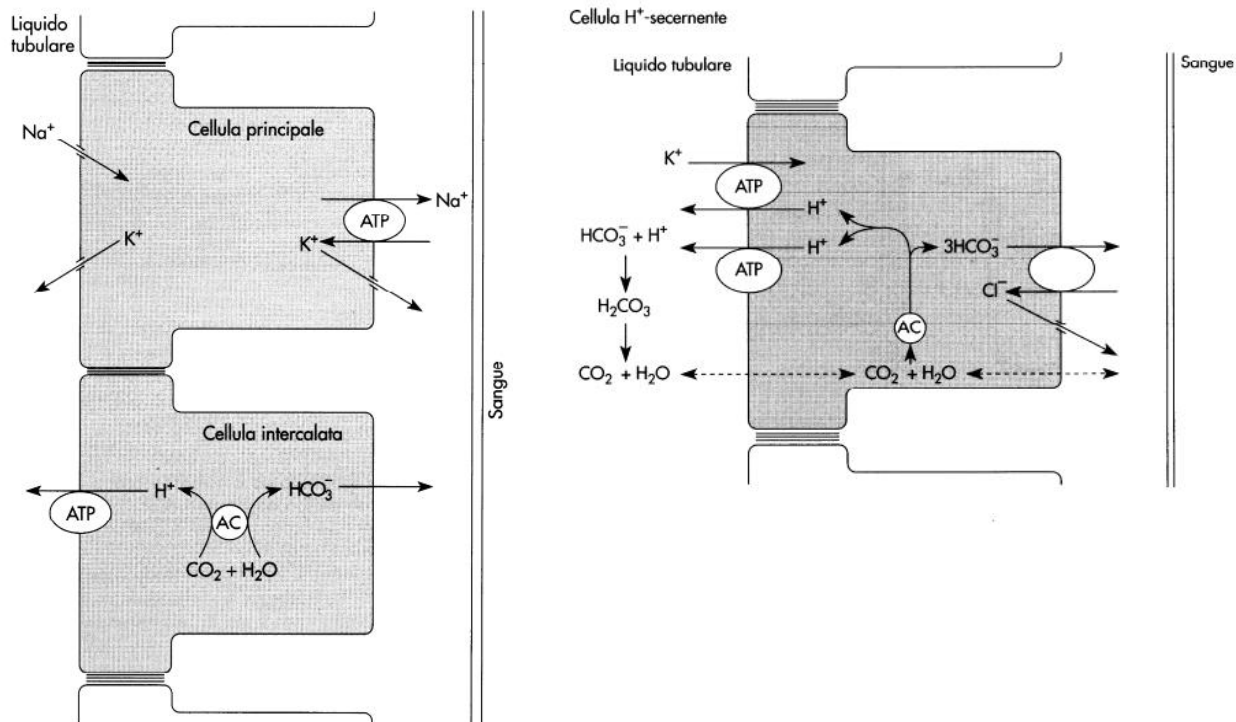
impediscono il riassorbimento di cloruro di sodio determinando un minor assorbimento di acqua a livello renale e quindi più diuresi. Si può controllare quindi il riassorbimento dell'acqua agendo a livello del segmento distale diluente sia del tratto discendente dell'ansa di Henle, del tubulo contorto distale che del dotto collettore.

A questo livello c'è un riassorbimento del 7% di NaCl e un riassorbimento nella parte finale di acqua, la parte del tubulo contorto distale è impermeabile, il dotto collettore riassorbe una quantità variabile di acqua e dobbiamo vedere come fa a variare.

Nel dotto collettore ci sono due diversi tipi di cellule:

- principali, riassorbimento di Na^+ e escrezione di K^+
- intercalate, sono importanti per l'equilibrio acido-base, c'è la possibilità di avere immissione di ioni H^+ nel lume tubulare e riassorbimento di HCO_3^- per idratazione di CO_2 (reazione catalizzata dall'anidrasi carbonica). Gli ioni H^+ sono secreti nel lume tubulare mediante due diversi meccanismi:
 1. H^+-ATPasi , nella membrana apicale
 2. $\text{H}^+-\text{K}^+-\text{ATPasi}$, l'immissione di ioni idrogeno avviene grazie ad una pompa $\text{Na}-\text{K ATPasi}$

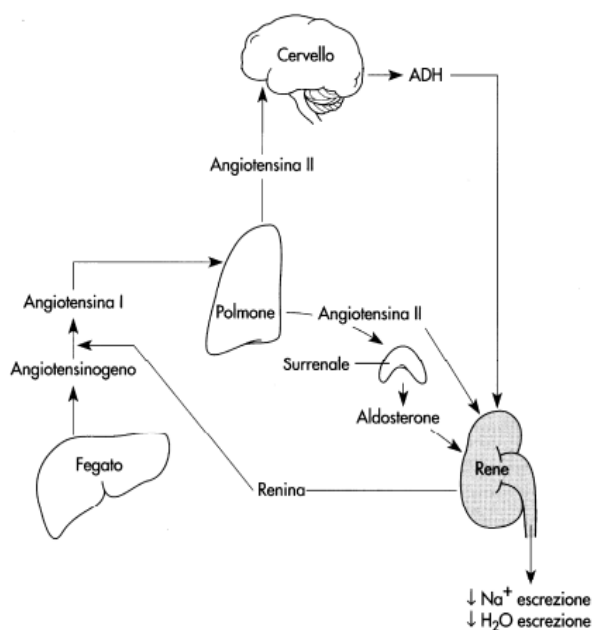
Il bicarbonato lascia la cellula attraverso la membrana basolaterale in cambio di cloro, antiporto $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (rapporto 1:3, quindi viene riassorbito molto ione bicarbonato).



Il calcio e il magnesio sono importanti nella fisiologia delle ossa.

Il rene effettua un controllo del riassorbimento dei sali, fondamentalmente di NaCl e dell'acqua, per questo regola l'osmolarità del liquido extracellulare, ciò viene fatto controllando l'acqua e regolando il volume del liquido extracellulare e l'escrezione di cloruro di sodio. Due fenomeni di diversi che poi spesso si sovrappongono perché quando c'è riassorbimento di NaCl l'acqua produce ioni dal sale.

Il rene controlla l'osmolarità dei liquidi corporei controllando la quantità di acqua assorbita ed escreta, e controlla il volume extracellulare controllando la quantità di NaCl assorbito ed escreto.



Ormoni che regolano il riassorbimento di NaCl e di acqua

Su questi meccanismi agiscono diversi sistemi di controlli:

- Sistema renina-angiotensina-aldosterone.

L'**angiotensina** prodotta dal fegato a partire dal suo precursore che è l'angiotensinogeno, viene trasformata dalla renina (prodotta a livello di alcune cellule dell'arteriola afferente renale) in angiotensina I, che a sua volta viene trasformato dall'enzima ACE, a livello polmonare dove c'è abbondanza di questo enzima, in angiotensina II.

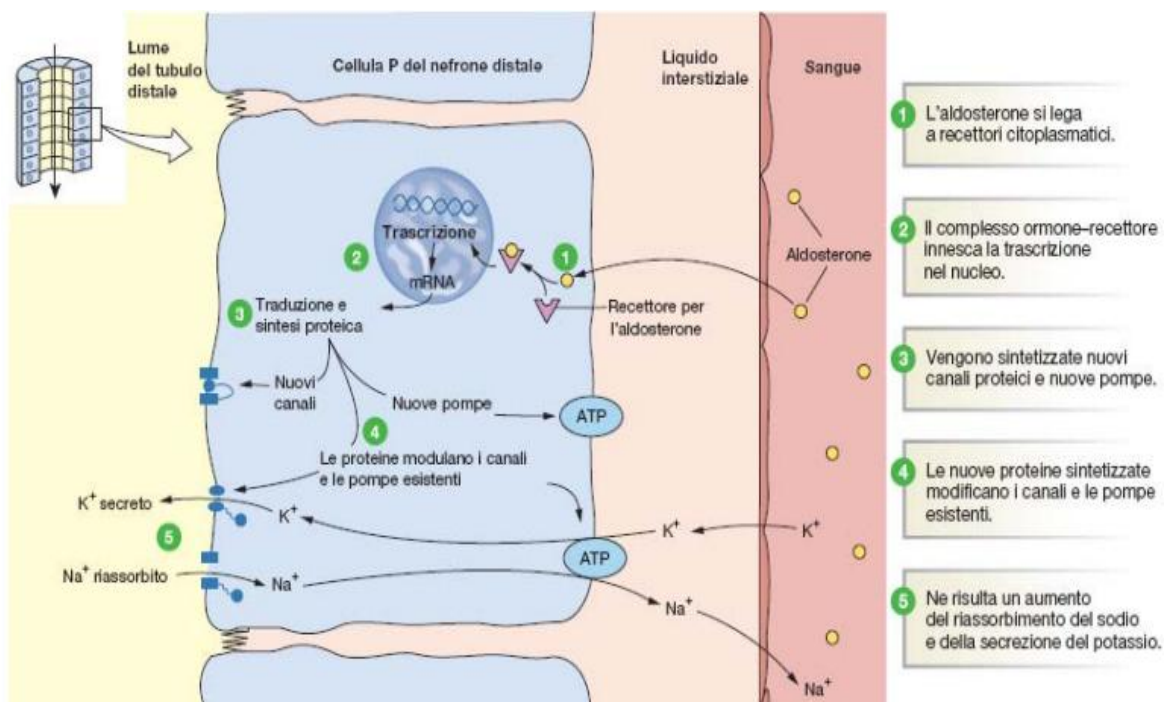
L'angiotensina II agisce sia a livello del SNC, controllando la quantità di ADH liberato (vasopressina), sia a livello surrenale che renale a livello del tubulo contorto prossimale favorendo il riassorbimento di NaCl e

acqua (ha quindi un ampio spettro d'azione). A livello surrenale favorisce la liberazione dell'aldosterone che agisce anch'esso a livello renale.

Come abbiamo detto l'angiotensina II agisce a livello del tubulo contorto prossimale favorendo il riassorbimento di cloruro di sodio e quindi di acqua, lo stimolo è la renina

La renina viene prodotta dalle cellule dell'apparato iuxtaglomerulare del glomerulo della capsula di Bowman quando c'è una riduzione della pressione arteriosa media o diminuzione del volume extracellulare. Viene liberata la renina che favorisce la formazione di angiotensina II, c'è liberazione di ADH che porta ad un maggior riassorbimento di acqua, pertanto una riduzione del volume porta ad una maggior quantità di acqua riassorbita.

L'aldosterone è secreto dalle cellule della corticale del surrene, agisce a livello del tratto ascendente spesso, dell'ansa di Henle e del tubulo distale del dotto collettore favorendo il riassorbimento di NaCl con conseguente riassorbimento di acqua .



Il cloruro di sodio viene liberato infatti quando viene liberata renina cioè quando c'è una riduzione del volume extracellulare, di nuovo c'è riassorbimento di cloruro di sodio, riassorbimento di acqua e quindi minor escrezione di acqua.

L'aldosterone quindi controlla il volume dei liquidi corporei .

L'aldosterone agisce a livello del tratto ascendente spesso, dell'ansa di Henle e del tubulo distale del dotto collettore dove il sodio è riassorbito con il cloro determinando un riassorbimento netto di NaCl; l'aldosterone si lega a recettori citoplasmatici, si attiva la trascrizione, la traduzione e sintesi di proteine con formazione di nuove pompe sodio-potassioATPasi e nuovi canali per favorire il riassorbimento associato di sodio con il cloro, segue un assorbimento netto di NaCl.

- Peptide atriale natriuretico (ANP), liberato dalla cellule atriali quando c'è un aumento del volume del sangue circolante che torna all'atrio destro, viene secreto dalle cellule atriali del cuore, determina una vasodilatazione e aumenta la VGF (velocità di filtrazione glomerulare) favorendo l'escrezione di acqua e soluti; inibisce la liberazione di renina (effetto a cascata, si riduce angiotensina II e così via), di aldosterone (agisce a livello surrenale) e di ADH (agisce a livello del SNC).

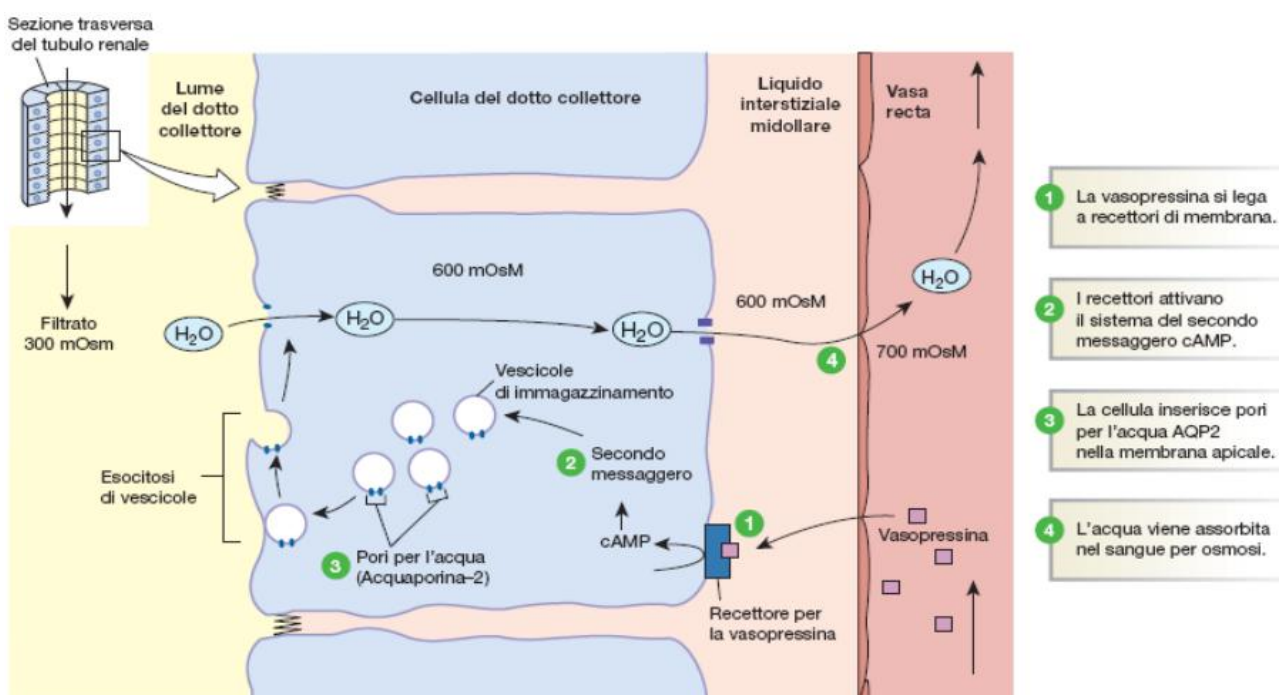
Agisce a livello del dotto collettore, inibendo il riassorbimento di NaCl e acqua (mediato dall'ADH). Riduce anche la liberazione di ADH da parte dell'ipofisi posteriore.

- Ormone antidiuretico (ADH) o vasopressina: regola il riassorbimento dell'acqua quindi agisce nel controllo osmolarità liquidi corporei, a livello del dotto collettore l'ADH si lega ad un recettore di tipo metabotropo, con la proteina G attiva un secondo messaggero che è l'AMP ciclico il quale attiva la proteina chinasi A. PKa permette l'inserzione di vescicole di esocitosi cioè allargamento della membrana plasmatica, in quanto si ha a livello apicale inserimento di proteine dette acquaporine.

La PKa agisce anche a livello nucleare attivando i fattori di trascrizione per la sintesi di queste proteine.

ADH agisce quindi:

1. a livello delle cellule principali del dotto collettore e permette il riassorbimento di acqua (in assenza di ADH queste cellule sono impermeabili all'acqua);
2. a livello del tratto spesso ascendente dell'ansa di Henle e aumenta l'attività del cotrasportatore Na⁺-K⁺-2Cl⁻ a livello delle cellule dei dotti collettori nella midollare interna e permette il riassorbimento dell'urea.



Controllo dell'osmolarità dei liquidi corporei: concentrazione e diluizione delle urine

■ **Tabella 42-2** Le normali vie delle perdite e assunzioni di acqua nell'adulto a temperatura ambiente (23 °C).

Via	mL/die
Assunzione di acqua	
Liquidi*	1200
Negli alimenti	1000
Prodotta dal metabolismo degli alimenti	300
TOTALE	2500
Perdita di acqua	
Insensibile	700
Sudore	100
Feci	200
Urine	1500
TOTALE	2500

*L'assunzione di bevande varia ampiamente per ragioni sociali e culturali.

Controllare il volume dei liquidi corporei significa basarsi sul maggiore riassorbimento di acqua.

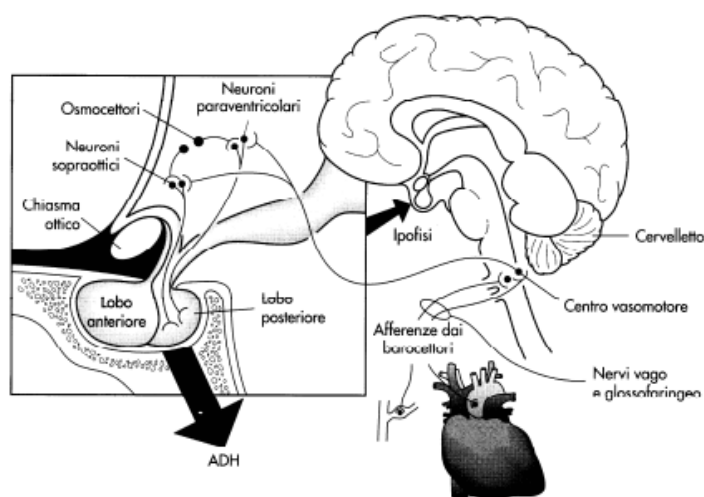
Il bilancio netto è 0, l'acqua in uscita è uguale a quella in entrata.

Insensibile: acqua che si perde con la respirazione

Il rene filtra molte sostanze delle quali molte sono riassorbite le altre escrete, un particolare per quanto riguarda l'osmolarità dei liquidi corporei c'è un controllo dell'acqua mentre per quanto riguarda il

volume dei liquidi corporei c'è un controllo dei sali principalmente NaCl.

Il riassorbimento dell'acqua viene controllato per mezzo dell'ADH o vasopressina, un ormone prodotto dalla neuroipofisi (parte posteriore dell'ipofisi) quindi rilasciato a livello del SNC. A livello dell'ipotalamo ci sono dei nuclei: sopraottico e paraventricolare che producono e liberano anche ADH.

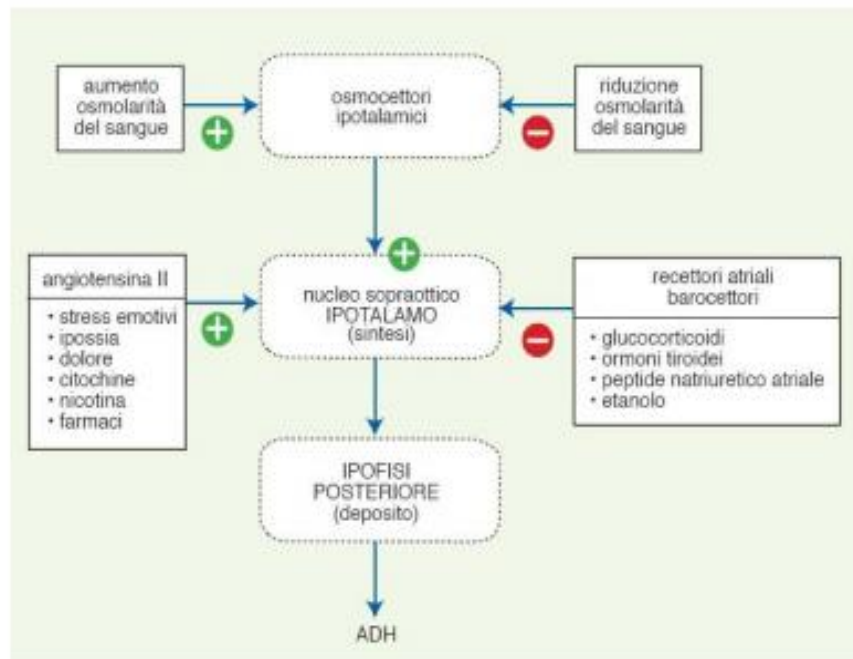


■ **Figura 42-2** Schema dell'anatomia dell'ipotalamo e della ghiandola ipofisi (in sezione sagittale mediana) che mostra le vie della produzione dell'ormone antidiuretico (ADH). Sono mostrate anche le vie che partecipano alla regolazione della secrezione di ADH. Le fibre afferenti dai barocettori decorrono nel nervo vago e glossofaringeo. Il centro vasomotore include il nucleo del tratto solitario. Nel riquadro sono mostrati in forma espansa l'ipotalamo e la ghiandola pineale.

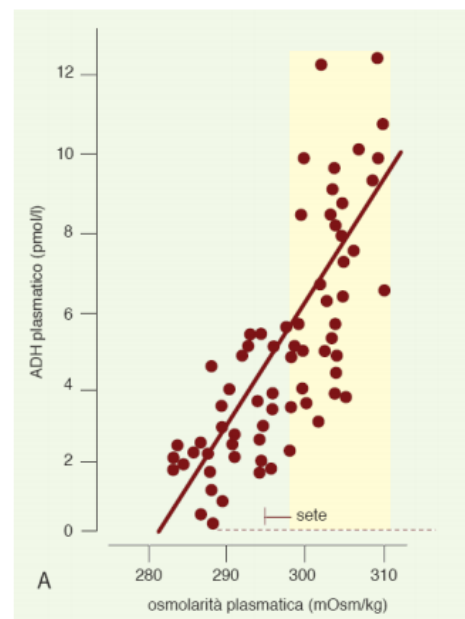
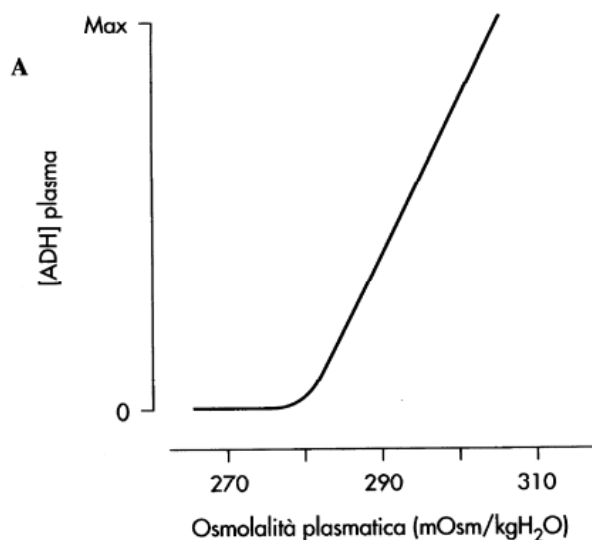
I neuroni che costituiscono questi nuclei hanno due tipi di afferenze: risentono di strutture che sono dette osmocettori (recettori di osmolarità che mandano un segnale in termini di potenziale d'azione ai neuroni di questi nuclei) e barocettori (recettori che portano informazioni a livello della regione bulbare e da qui ci sono dei neuroni che formano sinapsi con i neuroni di questi nuclei sopraottici e paraventricolari). I nuclei ricevono informazioni da due sistemi, uno che parte dagli osmocettori e uno dai

barocettori: regolano quindi la sintesi di ADH ricevendo informazioni riguardanti l'osmolarità e la pressione/volume misurata a livello dei barocettori. Il primo sistema è coinvolto nel controllo osmotico della secrezione di ADH, il secondo nel controllo emodinamico.

La secrezione di ADH è sotto il controllo osmotico e emodinamico



Controllo osmotico della secrezione di ADH



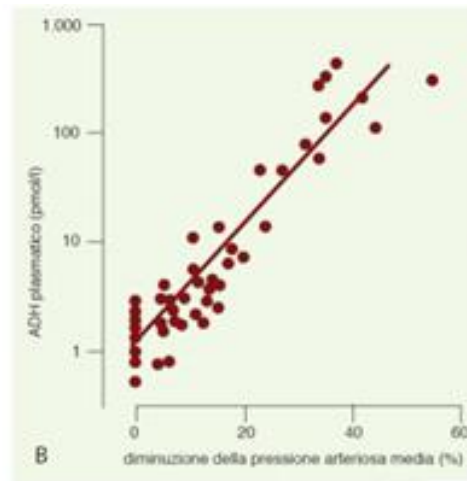
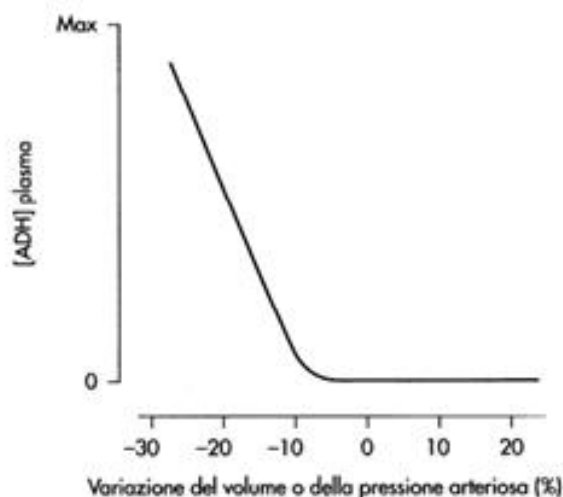
Se si riporta sull'ordinate la concentrazione plasmatica di ADH ($pmol/L$) e sull'ascisse l'osmolarità plasmatica ($mOsm/Kg$), vediamo che se l'osmolarità ha un valore normale attorno a 290 $mOsm/kg$ si ha un certo valore di ADH. Se l'osmolarità aumenta gli osmocettori inviano informazioni ai neuroni che costituiscono questi nuclei, i quali sintetizzano una quantità maggiore di ADH.

Se l'osmolarità raggiunge valori attorno al 2-5% si innesca il meccanismo della sete.

Sete: l'aumento dell'osmolarità plasmatica del 2-3% provoca il desiderio di bere mentre per avere a stessa risposta occorrono riduzioni del volume/pressione del 10-15%. I centri nervosi per la sete (parte anteriore dell'ipotalamo) sono distinti dagli osmocettori. L'angiotensina II ha una forte azione sulle cellule del centro

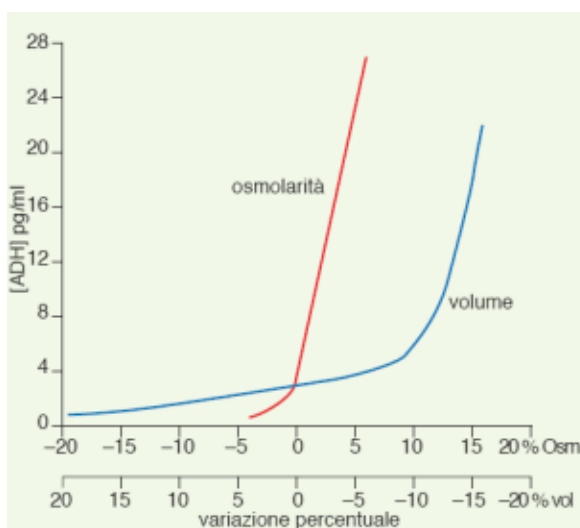
della sete. La sensazione della sete si esaurisce prima che l'osmolarità del plasma sia ritornata a livelli normali. Ci sono dei recettori orofaringei e gastrointestinali che inviano informazioni al centro della sete. La risposta è temporanea fino a che l'osmolarità, volume/pressione del plasma non ritorna al valore iniziale. N.B variazioni dell'osmolarità dell'1% sono rilevate da osmocettori che si trovano nell'ipotalamo.

Controllo emodinamico della secrezione di ADH



In questo caso sull'ascissa mettiamo il volume del liquido extracellulare o volume del plasma.

Se la variazione del volume è positiva non cambia la quantità di ADH, se c'è diminuzione del volume c'è liberazione di ADH.



La sensibilità di questi due sistemi non è la stessa, ma la sensibilità del controllo osmotico è maggiore della sensibilità del controllo emodinamico, cioè c'è bisogno di variazione percentuale maggiore di volume per avere una certa quantità di ADH liberato rispetto alla variazione percentuale di osmolarità. Se l'osmolarità varia dell'1% si ha una certa variazione della quantità di ADH, se il volume varia dell'1% c'è poca variazione di ADH in circolo, occorre infatti che il volume vari del 5% per poter avere una variazione dell'ADH in circolo. La sensibilità del sistema vista come variazione della

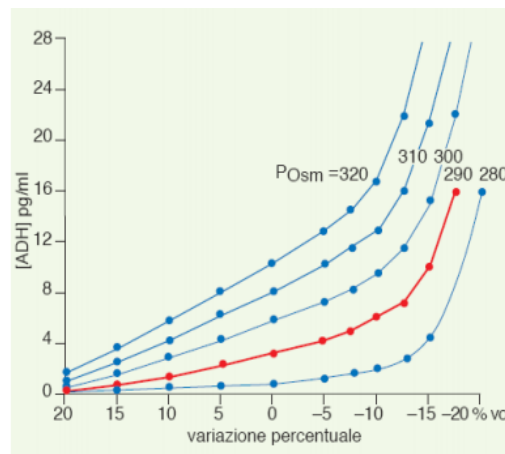
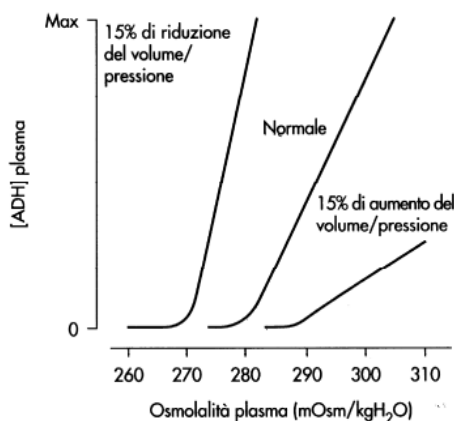
grandezza in uscita rispetto alla grandezza di ingresso è minore nel controllo emodinamico.

Variazione della concentrazione plasmatica di ADH al variare dell'osmolarità del plasma e del volume: diversa sensibilità del controllo osmotico e emodinamico perché se varia del 2% l'osmolarità del plasma con

un aumento di 2 volte dell'ADH, se si ha la stessa variazione di volume si ha una variazione minima di ADH fino a che non varia del 10-15 %.

Questi due sistemi di controllo non agiscono separatamente ma insieme, perché ad esempio se c'è variazione di osmolarità probabilmente questo è dovuto ad una variazione del volume.

→ Come si può riassumere il comportamento di entrambi i sistemi?



Sono due relazioni in cui vedo come una variazione del volume nel plasma fa variare l'ADH plasmatico per diversi valori di osmolarità, oppure come variazioni dell'osmolarità fa variare l'ADH plasmatico per diversi valori di volume.

Il grafico a sinistra tratta una famiglia di curve (noi abbiamo visto la curva normale) in cui si vede come l'ADH plasmatico a diverse osmolarità per variazioni del volume, se il volume si riduce del 15%, la stessa riduzione del volume fa aumentare la concentrazione plasmatica di ADH, se il volume diminuisce del 15% e l'osmolarità aumenta della stessa percentuale rispetto alla condizione normale la quantità di ADH nel plasma è maggiore perché non è più dovuta solo all'aumento dell'osmolarità ma anche alla riduzione del volume, questa relazione si sposta quindi a sinistra perché per esempio con un'osmolarità di 280 ho una concentrazione di ADH ridotta, se per la stessa osmolarità si ha una riduzione di volume aumenta la concentrazione di ADH; con 290 di osmolarità e ho un aumento del volume/pressione (aumento del 15%) la quantità di ADH liberato diminuisce.

Nel grafico a destra adesso la variabile indipendente è la variazione percentuale di volume e si vede come cambia la concentrazione di ADH plasmatico per diversi valori di osmolarità. Se non ho variazione di volume (quindi sono in una condizione di controllo) e l'osmolarità del plasma aumenta (da 290 a 300) la concentrazione plasmatica di ADH aumenta perché è aumentata l'osmolarità del plasma. Se ho invece un aumento del 15% di volume ma l'osmolarità del plasma si è ridotta la concentrazione di ADH plasmatica diminuisce, mentre con una riduzione del volume del 15% e un aumento dell'osmolarità del plasma si ha un aumento della concentrazione plasmatica di ADH.

Si possono verificare due cose quando l'ADH agisce a livello del dotto collettore favorendo inserzione delle acquaporine per permettere il riassorbimento dell'acqua:

- quantità di ADH liberata non è sufficiente

- quantità di ADH liberata è sufficiente ma i recettori per l'ADH non rispondono in maniera adeguata

Ci possono essere quindi alterazioni fisiologiche o nella liberazione di ADH oppure nel funzionamento dei recettori per l'ADH.

Se si ha un'adeguata liberazione di ADH è dovuto alla neuroipofisi.

- Se si ha un'inadeguata concentrazione di ADH, diabete insipido centrale o neurogeno o ipofisario (lo si riscontra soprattutto nei bambini), può avere diverse cause, può essere ereditario oppure si può verificare dopo traumi cranici o infezioni cerebrali, deve essere somministrato ADH esogeno.

- I dotti collettori di alcuni soggetti possono non rispondere adeguatamente all'ADH, diabete insipido renale che può essere dovuto o ad alterazioni del metabolismo (cambio difettoso di proteine) oppure all'utilizzo di alcuni farmaci come ad esempio litio.

- Sete (vedi sopra)

Il rene può controllare l'acqua e sappiamo che l'acqua si muove solo per diffusione grazie ad un gradiente di sale.

Nel rene esiste un gradiente di osmolarità che va dalla regione corticale alla regione midollare, c'è un aumento dell'osmolarità andando dall'esterno verso l'interno, nell'uomo l'osmolarità varia da 300 mOsm/L nella corticale (simile a quella del sangue) a 1200 mOsm/L nella midollare interna. Se c'è un gradiente osmotico è ovvio che dal dotto collettore entra per gradiente nella midollare.

Le diverse funzioni svolte dalle cellule, o meglio il fatto che alcune siano impermeabili all'acqua e ai soluti, impermeabili solo ai soluti e permeabili all'acqua e permeabili ai soluti e non all'acqua è importante per la generazione di questo gradiente osmotico.

Le cellule del tubulo del nefrone che si trovano a livello del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle sono responsabili di quei meccanismi (che avvengono contemporaneamente cioè contribuiscono ciascuno per il 50% alla formazione di tale gradiente) che generano questo gradiente osmotico:

- moltiplicazione contro-corrente, diverso dallo scambio contro corrente che avviene nei pesci, in questo caso il sangue va in una direzione mentre l'ossigeno va in un'altra, perché si ha una concentrazione che aumenta andando da una direzione all'altra.

- ricircolo dell'urea

Moltiplicazione contro-corrente, questo meccanismo si realizza a livello dell'ansa di Henle.

Il termine di moltiplicazione controcorrente deriva sia dalla forma che dalla funzione dell'ansa di Henle.

L'ansa di Henle consiste di due bracci paralleli con il liquido tubulare che scorre in due direzioni opposte

(flusso controcorrente). Il liquido tubulare entra nella midollare con il tratto discendente e ne esce con quello ascendente. Il tratto ascendente è impermeabile all'acqua e riassorbe soluto dal liquido tubulare cioè riassorbe NaCl grazie al con trasportatore Na-K-2Cl, nel tratto ascendente dell'ansa di Henle il liquido tubulare viene quindi diluito. Questa separazione tra soluto e acqua, operata da tratto ascendente è chiamata effetto singolo del processo di moltiplicazione controcorrente. Il soluto riassorbito da questo tratto si accumula nel liquido interstiziale, aumentandone l'osmolarità. Poiché il tratto discendente è liberamente permeabile all'acqua ma poco ai soluti, l'elevata osmolarità dell'interstizio rimuove osmoticamente l'acqua dal tratto discendente provocando la concentrazione del liquido tubulare. Il flusso controcorrente nei tratti discendente e ascendente dell'ansa amplifica, ovvero **moltiplica**, il gradiente osmotico tra il liquido tubulare nel tratto ascendente e discendente dell'ansa di Henle.

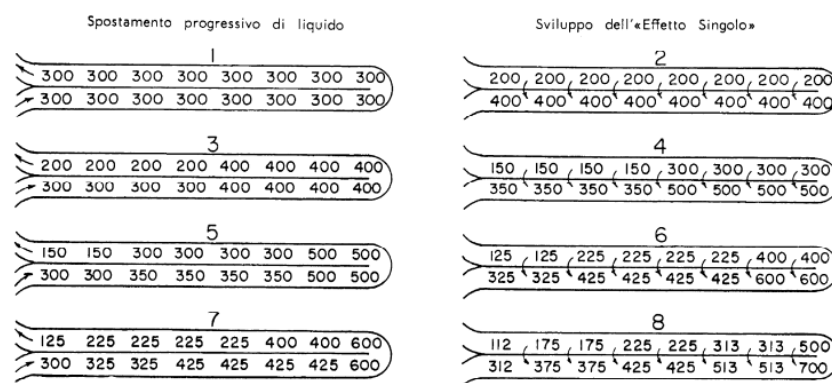


Fig. 7-14. - Principio della moltiplicazione contro corrente della concentrazione basato sullo assunto che a ogni livello lungo l'ansa di Henle si può stabilire un gradiente di 200 mOsm/l tra le branche ascendenti e discendenti grazie al trasporto attivo di ioni.

In figura è rappresentato in maniera schematica l'ansa di Henle (non verticale ma orizzontale): possiamo vedere la porzione discendente (ingresso da glomerulo renale) e ascendente (uscita verso il dotto collettore) del nefrone (forcina dell'ansa di Henle); si assume che l'osmolarità del plasma sia 300 mOsm/L. Si parte con una osmolarità di 300 mOsm/L (1), l'effetto singolo è dovuto al fatto che lungo il tratto ascendente dell'ansa di Henle ci sono questi trasportatori che ad ogni livello determinano una differenza tra l'osmolarità del liquido tubulare e osmolarità della midollare di 200 mOsm/L (2), in maniera netta 100 mOsm di Sali vanno fuori. Siccome a livello del tratto discendente l'acqua può uscire, aumenta l'osmolarità all'interno del tubulo renale fino a che non è uguale all'osmolarità della midollare (3). Si va avanti così alternando l'effetto singolo con lo spostamento progressivo di liquido, l'effetto finale è che si crea un gradiente dalla regione corticale alla regione midollare da 112 a 500-700 mOsm/L

Il movimento di liquido moltiplica l'effetto singolo perché tutte le volte che i soluti vengono immessi nella midollare il movimento di liquido aumenta l'osmolarità a questo livello e quindi si può di nuovo applicare l'effetto singolo (400→500→600→700).

Con questo meccanismo si può arrivare ad avere un valore di 1200 mOsm/l, in realtà si arriva circa a 600 mOsm/L.

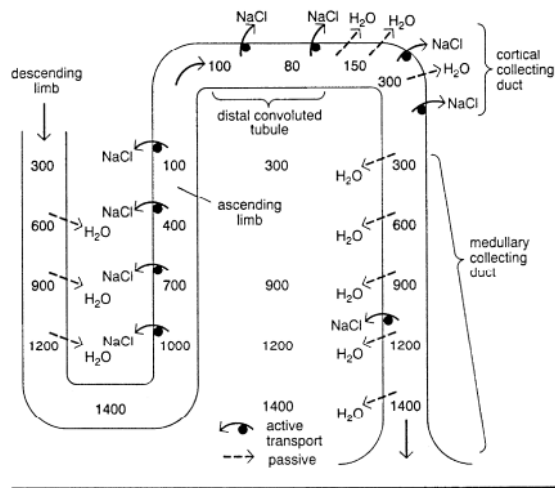


Fig. 6-5 Interactions of Henle's loop and collecting duct in formation of a concentrated urine. ADH, acting on the principal cells, increases water permeability of the collecting ducts, both cortical and medullary. Note that interstitial osmolarity at every level is identical to descending-limb and collecting-duct osmolarity. As described in the text, this figure is oversimplified in that it assumes active transport of sodium chloride by the entire ascending limb and ignores the role of urea.

A livello del nefrone vedo che nel tratto ascendente dell'ansa c'è immissione di soluti nella midollare e quindi uscita di acqua nella midollare perché questo livello è aumentata l'osmolarità. Via via a partire da 300 mOsm (osmolarità del plasma che filtra a livello del glomerulo del nefrone) aumenta l'osmolarità fino a che non raggiunge il valore massimo poiché in questa regione l'acqua non può uscire la soluzione all'interno di questo tratto ascendente viene diluita facendo uscire i Sali.

Tutte queste strutture sono circondate dalla midollare (ansa di Henle e dotto collettore) il che

vuol dire anche in questa regione ho la formazione di un gradiente, dovuto al trasporto di sali verso l'esterno dal tratto ascendente, anche in questa regione, poiché c'è la possibilità di far muovere l'acqua in modo ADH dipendente (l'acqua si muove solo se c'è ADH), se c'è molto ADH di arrivare ad una osmolarità di 1200 mOsm/L. Se l'ADH non c'è, viene assorbita meno acqua, ne viene escreta di più e quindi le urine sono diluite non arrivo ad una osmolarità delle urine di 1200 ma di 300-400 mOsm/L.

→ Se ad esempio ADH è 0, qual è la minima osmolarità delle urine?

Potrebbe anche essere 80, se l'acqua non viene riassorbita nella midollare, in realtà non si arriva ad 80.

Il gradiente nella midollare permette al rene, sfruttando energia, di assorbire acqua se occorre quando ad es c'è aumento di osmolarità o riduzione del volume extracellulare perché viene liberato ADH che permette l'inserimento delle acquaporine a livello del dotto collettore e quindi di riassorbire acqua. L'acqua e i soluti finiscono nei capillari, i quali seguendo l'ansa di Henle. Da un punto di vista funzionale avere capillari che seguono tutta la forcina permette di mantenere il gradiente di osmolarità che si è creato, per questo la struttura è importante per la funzione, questi capillari sono chiamati Vasa recta. I nefroni che concentrano maggiormente l'urina saranno quelli con l'ansa di Henle che si va in profondità nella midollare, perché quelli superficiali non hanno i vasa recta ma hanno solo una rete di capillari che serve per assorbire acqua e soluti e che non è strutturata come i vasa recta.

Gradiente osmotico cortico-midollare

1. Moltiplicazione controcorrente
2. Ricircolo dell'urea

Moltiplicazione controcorrente

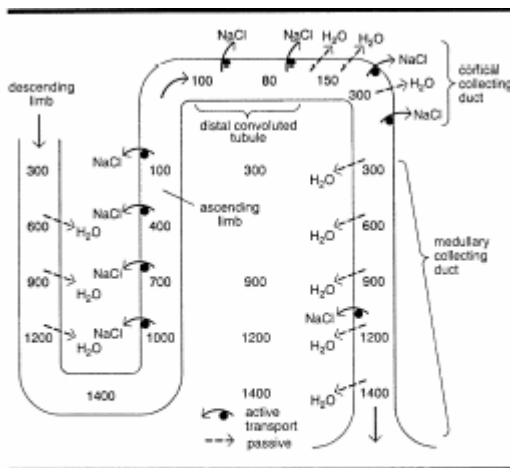
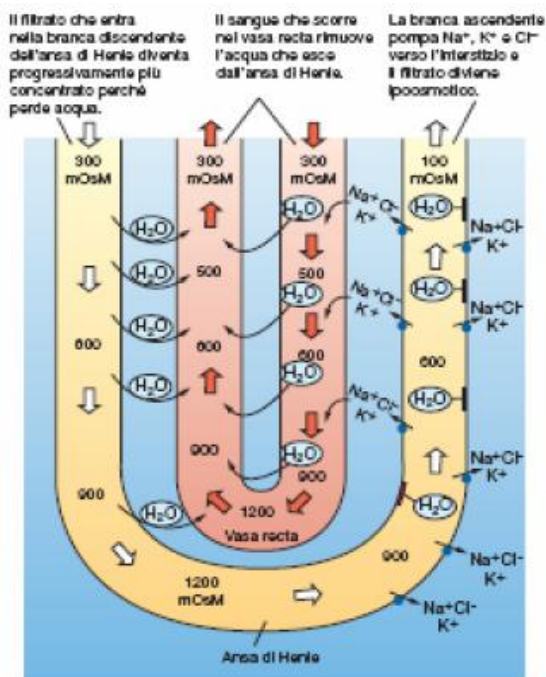


Fig. 6-5 Interactions of Henle's loop and collecting duct in formation of a concentrated urine. ADH, acting on the principal cells, increases water permeability of the collecting ducts, both cortical and medullary. Note that interstitial osmolarity at every level is identical to descending-limb and collecting-duct osmolarity. As described in the text, this figure is oversimplified in that it assumes active transport of sodium chloride by the entire ascending limb and ignores the role of urea.

Da una parte abbiamo riassorbimento di sali, dall'altra riassorbimento di acqua; mano a mano che arriva il plasma quello che succede è che viene persa acqua perché si va in una zona con osmolarità crescente, mentre dall'altra parte viene riassorbita acqua a livello del capillare e viene poi riportata in circolo.



■ Figura 20-10 Scambio per controcorrente nella zona midollare del rene

Abbiamo la parte discendente dove l'acqua va nella regione midollare per osmosi; poi c'è il tratto ascendente dove il sale viene immesso nella regione midollare; quando arriva qui il plasma (tubo rosa) ciò che accade è che viene persa acqua perché subito sotto c'è una concentrazione maggiore di sali, quindi siccome nel capillare c'è una concentrazione di sali minore rispetto a quella della regione midollare, mano a mano che si va più giù l'acqua viene persa sempre di più e continua questo meccanismo di diffusione dei sali; dall'altra parte succede che viene riassorbita l'acqua e mano a mano l'osmolarità diminuisce all'interno del capillare; in questo modo l'acqua per diffusione rientra in circolo e tutte le sostanze che sono state riassorbite ed entrano nella regione

midollare vengono riprese.

Quindi questo è un meccanismo di scambio controcorrente: il sangue ha una direzione discendente e poi ascendente e questo è ciò che accade come sistema tra tubulo renale e capillare.

Per mantenere il gradiente osmolare tra corticlae e midollare e riassorbire acqua c'è uno scambio in controcorrente tra vasa recta ed ansa di Henle.

Ricircolo dell'urea

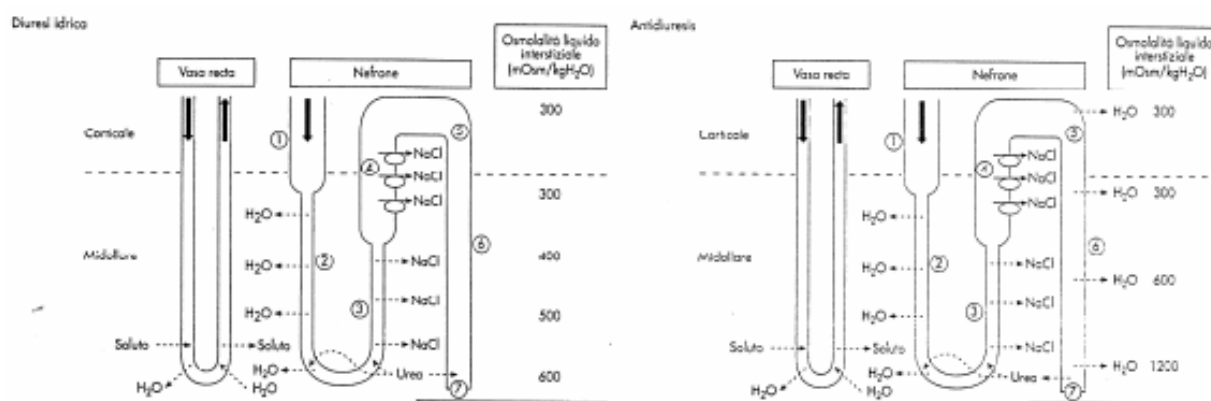
Circa il 50% dell'osmolarità è dovuta al riassorbimento di sali da parte della regione del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle, l'altro 50% è dovuto invece alla presenza di urea.

L'urea si forma come metabolismo delle proteine, entra nel liquido tubulare per filtrazione glomerulare, arriva al livello dell'ansa di Henle e raggiunge il tubulo contorto distale del dotto collettore; le pareti dell'ansa di Henle e del tubulo contorto distale sono permeabili all'urea, quindi questa diffonde all'esterno, ma si equilibra riguardo alla sua concentrazione.

In presenza di ADH il dotto collettore aumenta la sua permeabilità all'urea, per cui questa viene riassorbita a livello dell'ansa di Henle ed essendo aumentata la permeabilità del dotto collettore è possibile avere diffusione nella regione midollare; per cui si crea un flusso di urea per cui l'urea dal dotto collettore va nella regione midollare, poi nell'ansa e da qui viene riportata nel dotto collettore stesso.

C'è quindi un meccanismo che è un ricircolo dell'urea che contribuisce a formare un gradiente osmotico nella regione midollare.

Questo contributo non è piccolo, è circa il 50%.

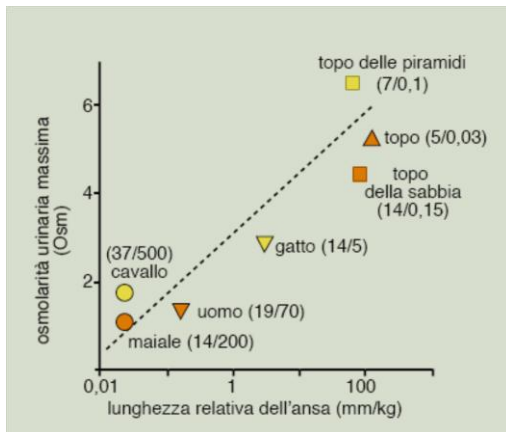


Nella figura di sinistra si ha il contributo nel caso in cui si abbia un'urina diluita, mentre la figura di destra mostra il contributo nel caso di un'urina concentrata. Singolarmente il contributo del sale e dell'urina è circa metà e metà.

L'urea ha un contributo maggiore quando è presente l'ADH perché in questo caso c'è un aumento della permeabilità delle membrane delle cellule del dotto collettore per l'urea.

Correlazione tra osmolarità lunghezza dell'ansa di Henle

Grazie all'ansa di Henle c'è questo meccanismo per cui si può avere la formazione di un gradiente cortico-midollare, per cui se l'ansa di Henle è più lunga questo meccanismo è permesso per una lunghezza maggiore, per cui potremmo avere la possibilità che l'animale possa concentrare maggiormente le urine proprio perché se c'è un gradiente cortico-midollare maggiore possiamo richiamare più acqua e quindi avere un'urina che ha un'osmolarità di molto maggiore rispetto a quella del sangue.



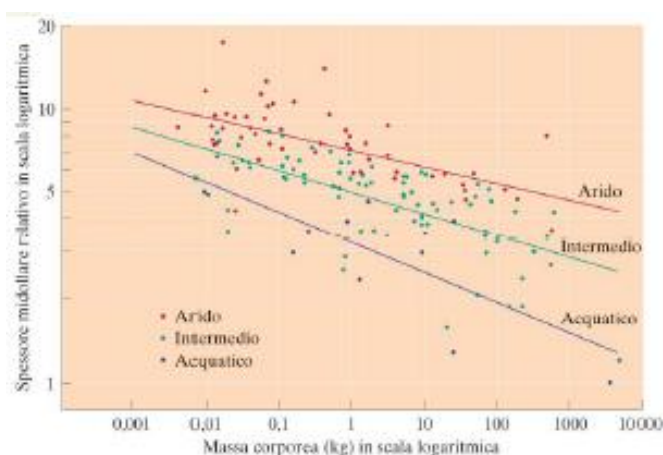
In questo grafico viene riportata l'osmolarità urinaria massima (si va dalla isosmotica rispetto al sangue alla iperosmotica rispetto al sangue) in funzione della lunghezza relativa dell'ansa (espressa come mm/kg); ad esempio per quanto riguarda il gatto, questo ha una lunghezza dell'ansa di Henle di circa 14 mm e pesa circa 5 kg.

Il cavallo ha una lunghezza dell'ansa di Henle di 37 mm e pesa 500 kg, il maiale ha una lunghezza dell'ansa di 14 mm e pesa 200 kg, e così via.

La lunghezza dell'ansa di Henle non tiene conto del peso dei mammiferi.

Se si guarda questi punti c'è in effetti una correlazione tra l'osmolarità e questo rapporto; ad esempio il topo, che è un animale con un metabolismo corporeo estremamente elevato ha una osmolarità urinaria massima più grande rispetto agli altri mammiferi; ad esempio il topo delle piramidi ha l'osmolarità massima più elevata di tutti; ciò da un'idea del fatto che esiste una correlazione tra l'ambiente in cui l'organismo vive e l'osmolarità urinaria maggiore (che vuol dire riassorbire una maggiore quantità d'acqua, e per animali che vivono in ambienti aridi questo può essere vantaggioso); l'osmolarità urinaria è più piccola in mammiferi che vivono in zone in cui c'è disponibilità di acqua.

Su questa base è stato pensato di mettere in relazione lo spessore della midollare (con l'idea che se la midollare ha uno spessore maggiore anche la lunghezza dell'ansa di Henle sarà maggiore) in funzione della massa corporea.



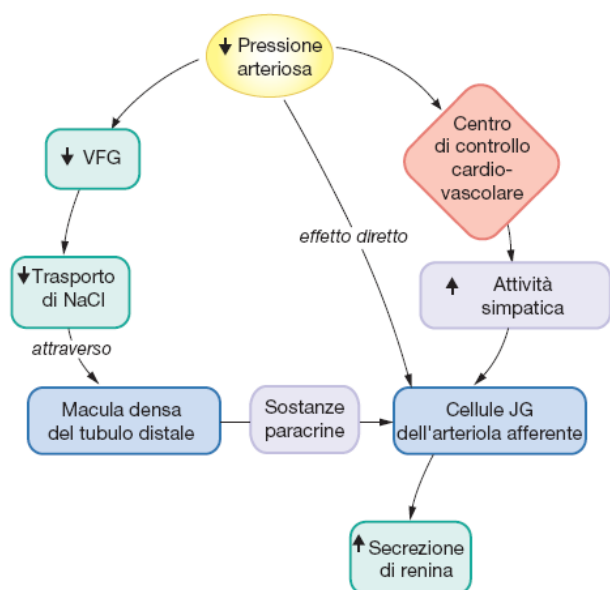
Maggiore è lo spessore della midollare minore è la massa corporea.

A parità della massa corporea organismi che vivono in un ambiente arido hanno lo spessore della midollare maggiore rispetto a organismi che vivono in un ambiente intermedio o in un ambiente acquatico.

In effetti da un punto di vista adattativo è importante perché uno spessore minore della

midollare vuol dire avere un minor riassorbimento di acqua e quindi un mammifero che ha una maggior disponibilità di acqua se lo può permettere.

L'osmolarità dei liquidi corporei è controllata dai reni grazie al controllo del riassorbimento dell'acqua; i reni controllano anche il volume dei liquidi extracellulari controllando la quantità di sali che viene liberata; ci sono diversi tipi di controllo:



Pressione arteriosa

Se il volume aumenta, aumenta anche la pressione arteriosa, quindi i due valori sono correlati; se c'è una caduta della pressione arteriosa media ci sono diversi effetti:

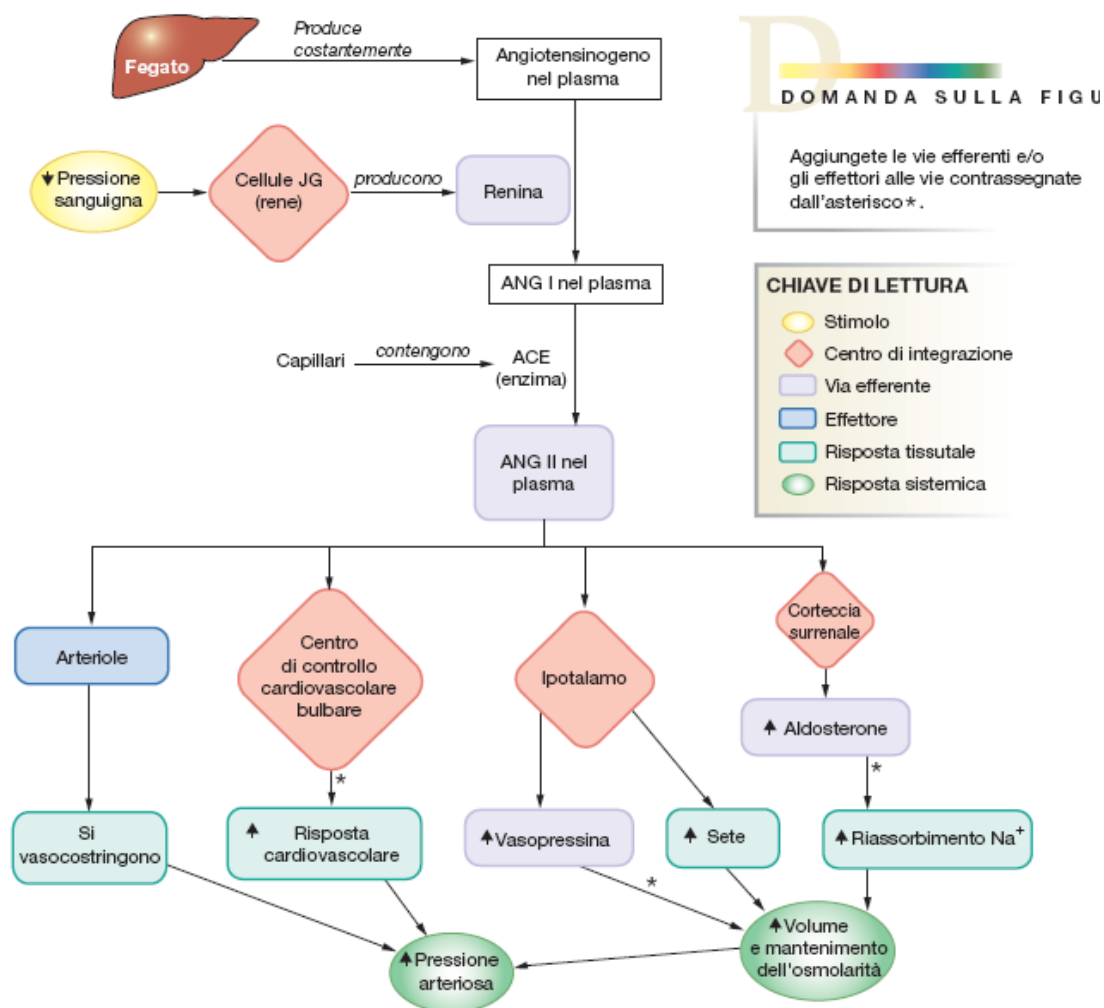
1. Diminuisce la velocità di filtrazione glomerulare, c'è quindi un minor riassorbimento di cloruro di sodio che attraverso la macula densa manda un segnale che promuove un aumento della pressione arteriosa perché viene secreta renina.

2. Un'altra azione è quella tramite il centro di

controllo cardiovascolare; se la pressione arteriosa media diminuisce c'è un aumento dell'attività simpatica, perché c'è una minor attività dei recettori; la maggior attività simpatica va a controllare le cellule dell'apparato iuxtaglomerulare che promuovono la secrezione di renina.

3. Esiste poi un effetto diretto della press arteriosa sulle cellule dell'apparato iuxtaglomerulare che agisce tramite l'arteriola afferente.

Sono quindi diversi modi per cui una variazione di volume, quindi di pressione, provoca la liberazione di renina che va ad attivare il sistema renina – angiotensina - aldosterone che permette il riassorbimento di sangue; quindi se c'è una caduta di pressione c'è un riassorbimento di sangue.



Come abbiamo detto una diminuzione della pressione arteriosa induce la sintesi di renina che permette la formazione dell'angiotensina 2 che ha tutta una serie di effetti:

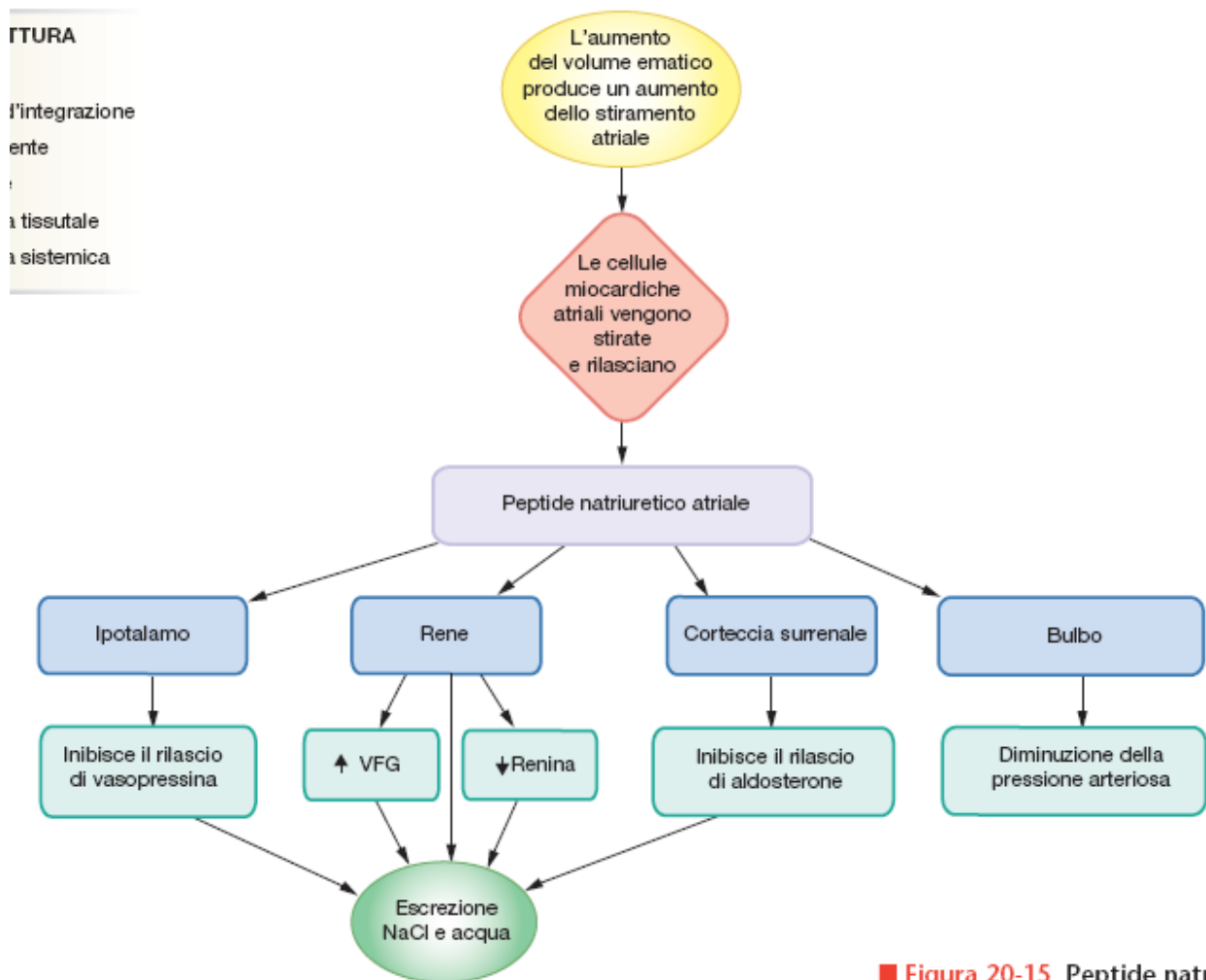
- 1) Agisce a livello delle arteriole, provocando la vasocostrizione.
- 2) Agisce a livello bulbare promuovendo una risposta cardiovascolare.
- 3) Agisce poi a livello dell'ipotalamo aumentando la secrezione di ADH.
- 4) Agisce sulla corteccia surrenale, permettendo la liberazione dell'aldosterone che permette il riassorbimento di sodio.

Le prime due direttamente vanno ad aumentare la pressione arteriosa, le seconde due, per il riassorbimento di sali e per la secrezione di ADH, permettono aumento del volume che va ad aumentare la pressione arteriosa.

Per cui la caduta della pressione arteriosa fa sì che ci siano tutta una serie di effetti che portano alla liberazione di renina che riesce a provocare un riassorbimento di sali che fanno riassorbire una maggior quantità di acqua che determina di nuovo un aumento del volume extracellulare e quindi un aumento della pressione.

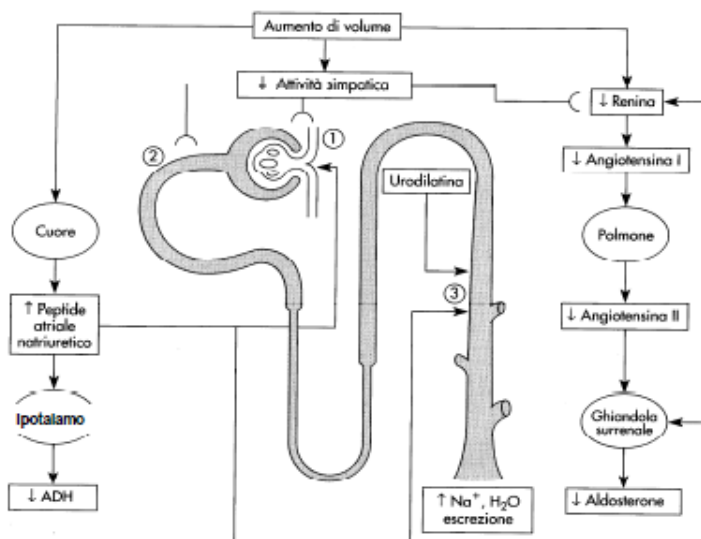
Questo è un sistema di controllo integrato (cioè sono coinvolti diversi sistemi e segnali).

Quando c'è un aumento del volume ematico a livello del sistema circolatorio, a livello del miocardio atriale, c'è liberazione del peptide atriale natriuretico che ha diverse azioni.



■ Figura 20-15 Peptide natriur

Tutte queste azioni portano all'escrezione di NaCl e acqua; quindi viene liberata acqua, c'è una maggiore diuresi che riduce il volume dell'ingresso cellulare.



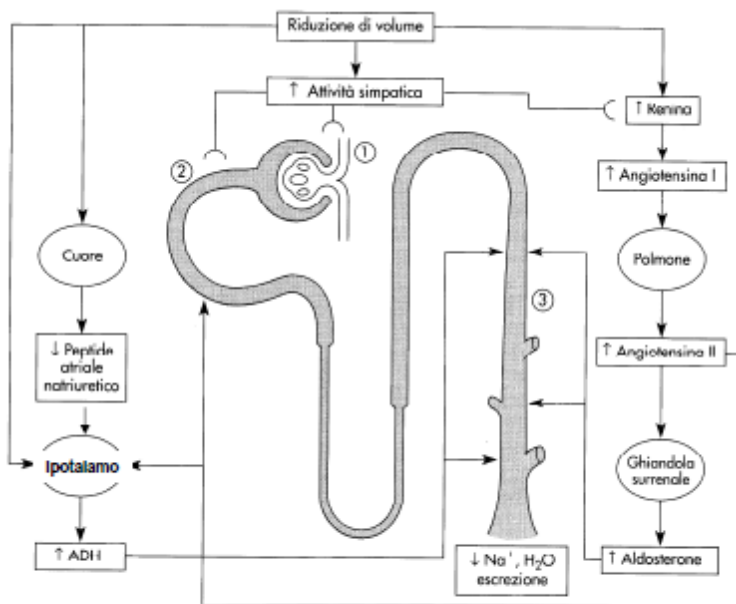
■ Figura 42-8 La risposta integrata all'espansione del volume. I numeri entro un cerchio si riferiscono alle risposte descritte nel testo. ANP, peptide atriale natriuretico (atrial natriuretic peptide).

Come si comporta il rene nei confronti di un aumento di volume

C'è la via diretta tramite l'attività simpatica; la via tramite il sistema renina – angiotensina – aldosterone; la via che riguarda il cuore.

Alla fine ciò che accade è che comunque c'è una maggiore secrezione di acqua e di sali, quindi un minor riassorbimento di acqua, quindi l'attivazione di un sistema a feedback

negativo che porta ad una diminuzione del volume.



■ **Figura 42-10** La risposta integrata alla riduzione del volume. I numeri entro un cerchio si riferiscono alle risposte descritte nel testo. I livelli di urodilatina sono ridotti ma non sono riportati. ANP, peptide atriale natriuretico (*atrial natriuretic peptide*).

Quando c'è una riduzione di volume ci sono gli stessi elementi ma esercitano l'azione opposta.

Alla fine c'è una minore escrezione di NaCl e acqua, il che vuol dire che viene maggiormente riassorbito sale e acqua e quindi aumenta il volume.

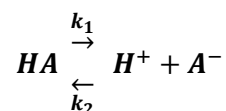
REGOLAZIONE DEL pH

Si deve vedere come i tre sistemi (circolatorio, respiratorio ed escretore) lavorano insieme per regolare alcuni parametri che sono controllati (ad es. il controllo della pressione arteriosa) e come questi sistemi regolano l'equilibrio acido-base che nell'organismo è una regolazione importante perché permette di mantenere il pH costante e molte reazioni chimiche richiedono appunto un pH costante.

Noi guarderemo principalmente il controllo del pH extracellulare e non quello intracellulare (dovuto a proteine).

Equilibrio acido-base

Si deve parlare di sistemi tampone; ad esempio se abbiamo un acido debole questo si dissocia, con delle costanti di velocità



e all'equilibrio abbiamo che $k_1 \cdot [HA] = k_2 \cdot [H^+] \cdot [A^-]$

dove $[HA]$ è la concentrazione dell'acido

$[H^+]$ è la concentrazione dello ione idrogeno

$[A^-]$ è la concentrazione della base

Condizione di equilibrio vuol dire che la velocità con cui si trasformano i prodotti è uguale alla velocità con cui si trasformano i reagenti.

A questo punto si può calcolarla concentrazione dello ione idrogeno

$$[H^+] = \frac{k_1}{k_2} \cdot \frac{[HA]}{[A^-]}$$

$$\log_{10}[H^+] = \log_{10} \frac{k_1}{k_2} + \log_{10} \frac{[HA]}{[A^-]}$$

$$\text{Poiché } -\log_{10} \frac{k_1}{k_2} = pK$$

$$pH = pK + \log_{10} \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Questa è l'equazione di Henderson-Hasselback che stabilisce cosa succede quando si aggiunge un acido o una base: nel primo caso l'acido va a legarsi alla base, nel secondo caso la base prende gli ioni $[H^+]$.

Se ho un sistema chiuso la quantità del buffer che metto è uguale alla somma della concentrazione dell'acido più quella della base.

$$[B] = [HA] + [A^-]$$

Quindi possono sostituire $[HA]$ con $[B] - [A^-]$

$$pH = pK + \log_{10} \frac{[A^-]}{[B] - [A^-]}$$

Possiamo dividere tutto per la concentrazione del buffer, per cui viene che

$$pH = pK + \log_{10} \frac{f}{1-f}$$

Dove $f = \frac{[A^-]}{[B]}$ è la frazione della concentrazione della base rispetto a quanto tampone ho messo nella soluzione.

Questo tipo di equazione, che altro non è che una derivazione dell'equazione di Henderson-Hasselback, è importante perché fa vedere che se porto in grafico quello che è f (che varia da 0 a 1) in funzione del pH, si forma una curva specifica, particolare, che è la **curva di titolazione**.

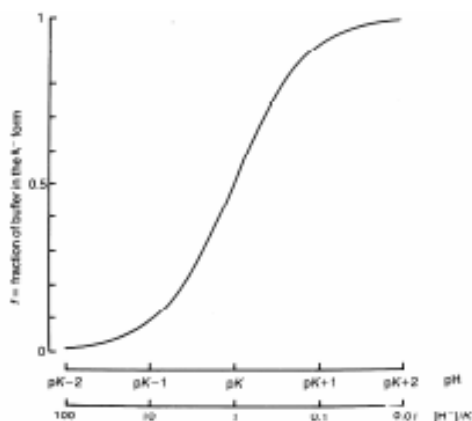


Fig. 1.2 The Henderson-Hasselbalch equation (equation (1.12) in the text). The fraction of a buffer solution in the basic form ($f = [A^-]/([A^-] + [HA]) = [A^-]/[B]$) as a function of pH. Note the two logarithmic scales for $[H^+]$ on the abscissa. The top scale is pH: when pH equals pK, $f = 1/2$. The bottom scale gives the corresponding values of $[H^+]$. Since the pH scale increases from left to right, the $[H^+]$ values increase from right to left.

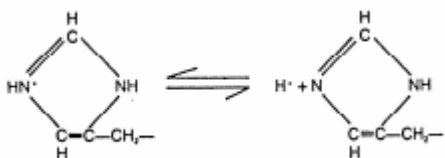
Se per esempio abbiamo un valore di $f = 1$ avremo un valore di pH molto grande, che tende all'infinito, se $f = 0$, il pH = 0, se $f = 0,5$, il pH sarà uguale al pK.

La curva di titolazione dice come cambia il pH a seconda del rapporto tra la base libera ed il buffer che abbiamo messo.

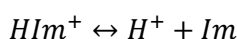
Il massimo potere tampone lo abbiamo nella regione dove il pH è uguale al pK, regione in cui c'è il 50% del buffer sottoforma di base ed il 50% sottoforma di acido.

Se dobbiamo tamponare a pH = 8 prenderemo quindi un buffer con pK = 8.

Molti aminoacidi hanno un potere tampone ad un determinato pH, un esempio è l'istidina.



L'istidina è un aminoacido con un anello imidazolico che funziona da base debole, quindi



L'istidina ha un pK = 7

Se prepariamo una soluzione con questo aminoacido e mettiamo, ad esempio, 20 mM di buffer, avremo che se la concentrazione della base è uguale alla concentrazione dell'imidazolo che è uguale a 10mM

$$[HIm^+] = [Im] = 10 \text{ mM}$$

$$pH = pK + \log_{10} \frac{10}{20 - 10}$$

Con pK = 7

$$pH = 7 + \log_{10} 1 = 7$$

Supponiamo ora di mettere nella soluzione un eccesso di base, per esempio NaOH, una base forte; succede che l'OH⁻ (dell'NaOH) si lega all'H⁺ (creatosi in seguito alla dissociazione dell'HIm⁺): la reazione si sposta quindi verso destra, perché sto spostando via ioni H⁺.

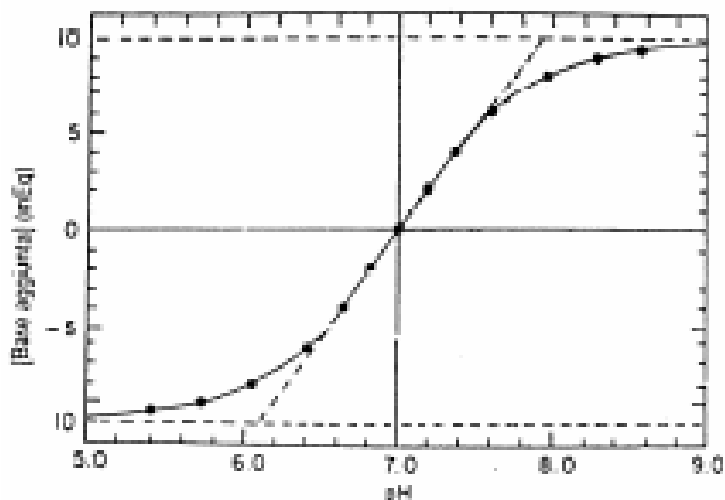
Se aggiungo, ad esempio, 2 mM di base forte che pH avremo?

$$pH = 7 + \log_{10} \frac{12}{20 - 12} = 7 + \log \frac{12}{8} = 7,18$$

Quindi il pH aggiungendo 2 mM di una base forte è cambiato, il sistema tampone fa passare il pH da 7 a 7,18.

Supponiamo di aggiungere 9mM di NaOH e ricalcoliamo il pH

$$pH = 7 + \log \frac{19}{20 - 19} = 8,28$$



Supponiamo di mettere 6mM di HCl; in questo caso il sistema tampone funziona in maniera diversa perché Im (della dissociazione di HIm⁺) si lega agli H⁺ (della dissociazione di HCl) e quindi questa reazione va verso sinistra.

$$pH = 7 + \log \frac{4}{20 - 4} = 6,4$$

Quindi il sistema tampone riesce a funzionare sia con l'eccesso di base che con l'eccesso di acido.

Curva di titolazione

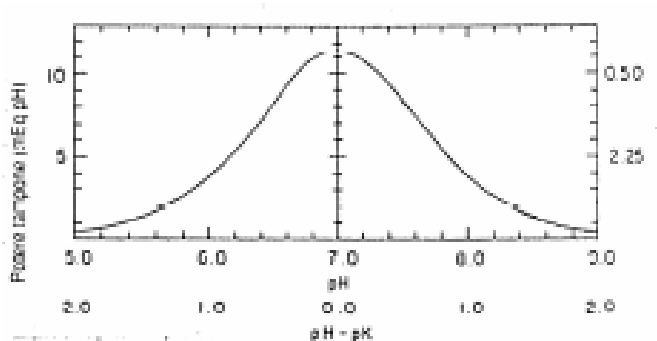
Se riportiamo su un grafico la quantità di base aggiunta (sull'asse delle ordinate) ed il pH (sull'asse delle ascisse) si trova la curva di titolazione che ci dice quanto è il pH a seconda della base o dell'acido aggiunti.

Il valore di pH quando non si aggiunge né acido né base è il pK della soluzione; quando aggiungiamo un eccesso di base il pH aumenta, mentre quando aggiungiamo un eccesso di acido il pH diminuisce.

Se vogliamo calcolare il potere tampone della soluzione si fa il rapporto tra la variazione della base (Δy) e la variazione dell'unità di pH (Δx), cioè se si prende la tangente in ogni punto a questa reazione si ottiene una curva a campana che esprime il rapporto tra il Δy ed il Δx .

$$PT \text{ (potere tampone)} = \frac{\text{cambiamento della base aggiunta}}{\text{cambiamento del pH}}$$

Se questo calcolo viene fatto per i diversi intervalli viene fuori la curva a campana, proprio perché ogni punto rappresenta la retta tangente alla curva di titolazione per i diversi valori di pH.



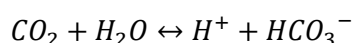
Quindi una soluzione tampone è tanto più efficace quanto più il pK della soluzione coincide con il pH che si vuole tamponare.

TAMPONI CORPOREI

Ci sono diversi sistemi tampone:

- Nel sangue ci sono le proteine, il bicarbonato ed il fosfato inorganico (soprattutto il tampone bicarbonato);
- Nel fluido extracellulare ci sono il bicarbonato ed il fosfato inorganico;
- Nel citoplasma ci sono le proteine, il bicarbonato, il fosfato inorganico e anche quello organico;
- Nelle urine c'è il bicarbonato, il fosfato inorganico e l'ammoniaca.

In particolare vedremo il sistema tampone più abbondante nel sangue che è il sistema tampone CO₂/bicarbonato.



L'equazione di Henderson-Hasselback per questo sistema tampone è

$$pH = pK + \log_{10} \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]} = 7.40$$

Il limite fisiologico va da 7.35 a 7.45, quindi è un limite molto stretto e ciò vuol dire che il pH nel sangue è ben controllato.

La $[HCO_3^-]$ è circa 20 mEq/L \approx 24 mM. Per la $[CO_2]$ a livello dell'organismo si considera la pressione parziale della CO_2 che è 40 mmHg e quindi la concentrazione di CO_2 sottoforma di gas si calcola considerando il coefficiente di solubilità, che è $\alpha_{CO_2} = 0,03 \text{ mM/mmHg}$

$$[CO_2] = 0,03 \cdot 40 = 1,2 \text{ mM}$$

Calcolo poi il logaritmo

$$\log \frac{24}{1,2} = 1,3$$

In questo modo posso calcolare il pK

$$pK = pH - 1,3 = 7,4 - 1,3 = 6,1$$

Abbiamo detto che una soluzione tampone funziona bene se il pK è uguale al pH ma si vede che il maggior sistema tampone nel sangue non ha un pK uguale al pH (pH = 7.4 e pK = 6.1), nonostante questo funziona bene.

Se il pH è 7.4 ed il pK è 6.1 significa che nel sangue c'è un eccesso di acido, cioè la curva è spostata verso sinistra, verso la parte acida.

Questo indica che l'organismo ha qualcosa di diverso rispetto ad un sistema chiuso (ad esempio la respirazione), ed essendo l'organismo un sistema aperto può eliminare l'eccesso di acido, aumentando la ventilazione e quindi liberando una quantità maggiore di CO_2 che è il nostro acido in eccesso.

Nel controllo del pH rientra quindi sicuramente anche il sistema respiratorio.

Prendiamo in esame alcuni casi; in tutti e tre i casi si parte dall'equazione $CO_2 + H_2O \leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$

$$\rightarrow [CO_2] = 1,2 \text{ mM}$$

Ciò vuol dire che la $P_{CO_2} = 40 \text{ mmHg}$

Guardo cosa succede in 3 diverse condizioni:

1) Se non aggiungo acidi o basi

Il pH viene 7.40

2) Se aggiungo 5mM di HCl

HCl si dissocia in $H^+ + Cl^-$, l' H^+ si lega con l' HCO_3^- e la reazione si sposta verso sinistra.

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{24 - 5}{1,2} = 6,1 + \log_{10} \frac{19}{1,2} = 7,30$$

3) Se aggiungo 5 mM di NaOH

NaOH si dissocia in $Na^+ + OH^-$, la reazione si sposta verso destra perché l' OH^- si lega all' H^+ .

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{24 + 5}{1,2} = 6,1 + \log_{10} \frac{29}{1,2} = 7,48$$

$$\rightarrow [CO_2] = 0,9 \text{ mM}$$

$$P_{CO_2} = 30 \text{ mmHg}$$

Quindi guardiamo cosa succede andando ad aumentare la ventilazione.

1) Se non aggiungo niente

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{24}{0,9} = 7,53$$

2) Se aggiungo 6 mM HCl

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{18}{0,9} = 7,40$$

3) Se aggiungo 10 mM di HCl

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{14}{0,9} = 7,29$$

$$\rightarrow [CO_2] = 1,5$$

$$P_{CO_2} = 50 \text{ mmHg}$$

1) Se non aggiungo niente

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{24}{1,5} = 7,30$$

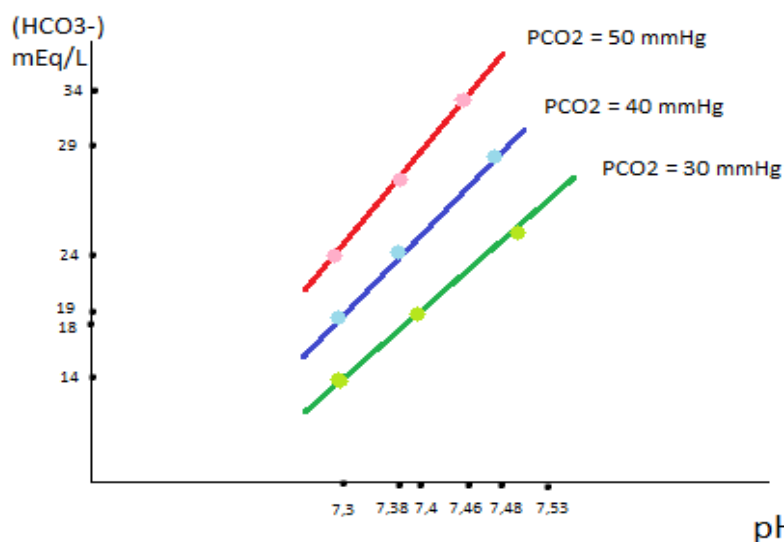
2) Se aggiungo 5 mM di KOH

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{29}{1,5} = 7,38$$

3) Se aggiungo 10 mM di KOH

$$pH = 6,1 + \log_{10} \frac{34}{1,5} = 7,46$$

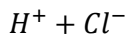
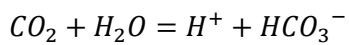
Se metto questi valori in grafico ottengo



Questo grafico è una curva di titolazione per il sistema CO_2 /bicarbonato.

In questo caso abbiamo una famiglia di curve e questa curva ci dice quanto è la concentrazione dello ione bicarbonato nel sangue al cambiare del pH, e viceversa.

Le cose sono diverse se il sistema fosse chiuso; ad esempio se prendiamo il sistema tampone e lo mettiamo in presenza di HCl (ad esempio 10 mM)

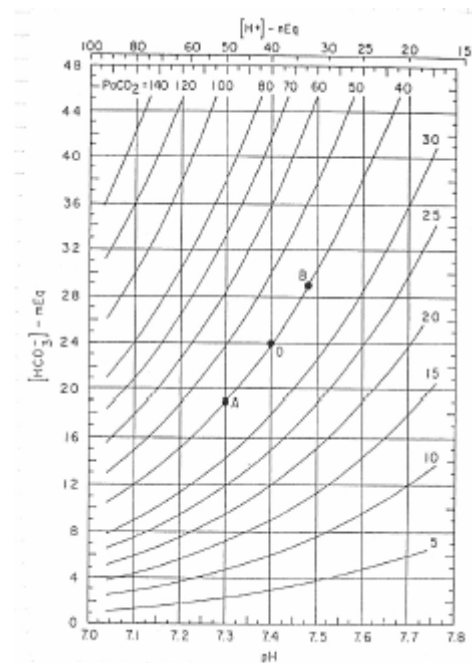


$$\text{pH} = 6,1 + \log_{10} \frac{24 - 10}{1,2 + 10} = 6,2$$

In questo caso diminuisce la base ma aumenta l'acido.

Nel sistema aperto invece se la CO₂ viene eliminata a livello polmonare, allora il pH va a 7,17.

Curva di titolazione completa del sistema tampone CO₂/bicarbonato



Sull'asse delle X abbiamo il pH, mentre sull'asse delle Y abbiamo le concentrazioni dello ione bicarbonato plasmatico; è evidenziata una curva per una pressione parziale di CO₂ di 40 mmHg, affiancata dalle curve di altri valori di pressioni parziali.

Il punto da cui si parte (punto O) è pH = 7.4 e concentrazione degli ioni bicarbonato 24 mM.

Supponiamo di avere un eccesso di acido: vuol dire che la concentrazione di ione bicarbonato diminuisce, quindi ci si sposta dal punto O al punto A perché la pressione parziale di CO₂ non cambia perché non è cambiata la ventilazione.

Per riportare il pH verso 7.4 il sistema tampone aumenta la ventilazione e lo fa perché c'è un aumento della CO₂ che quindi

stimola i chemocettori che vanno a portare informazioni al bulbo, attiva le cellule del centro respiratorio e aumenta la ventilazione; aumentando la ventilazione ci si sposta verso la curva a 30 mmHg (il valore è indicativo), cioè ci si sposta verso un pH 7.4 a parità di ione bicarbonato perché quello non è cambiato, quindi il punto si sposta orizzontalmente.

Supponiamo che la ventilazione vada a 32 mmHg ed il pH ritorna a 7.4; abbiamo però una ventilazione aumentata.

Cosa succede se aumenta la concentrazione di CO₂, quindi plasma, a livello renale? Nel rene la CO₂ diffonde e va in tutte le cellule dopo il nefrone e provoca la formazione di ione bicarbonato e H⁺; l'HCO₃⁻ va nella midollare, quindi con i capillari viene riassorbito insieme all'acqua, quindi rientra in circolo e se HCO₃⁻ rientra in circolo aumenta la sua concentrazione, per cui il punto ritorna al punto O, si ritorna all'equilibrio.

Quindi nel caso di un eccesso di acido l'organismo lo smaltisce in maniera immediata aumentando la ventilazione, poi passa il problema dell'eccesso di acido al rene che lo smaltirà; infatti una dieta particolarmente acida fa sì che il pH dell'urina sia particolarmente acido.

Cosa succede se c'è un eccesso di basi, o un difetto di acido: dal punto 0 ci si sposta verso il punto B sempre sulla stessa curva perché la ventilazione non è cambiata; poi il sistema diminuisce la ventilazione perché la CO₂ diminuisce e al centro respiratorio arriva un segnale minore che abbassa anche la ventilazione; se diminuisce la ventilazione mi sposto verso sinistra, cioè verso una pressione parziale di CO₂ di 50 mmHg; poi succede che, essendoci meno CO₂ in circolo, a livello renale viene riassorbito meno ione bicarbonato e quindi libero meno H⁺ nel nefrone: nel tempo quindi c'è una diminuzione degli ioni nel sangue e si torna al punto 0.

Nei mammiferi la dieta è prevalentemente acida, chiaramente non sono acidi forti, ma sono deboli, che poi nel loro insieme danno un eccesso di acido nel plasma: questo acido viene immesso nel plasma grazie all'assorbimento delle sostanze a livello intestinale.

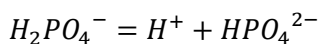
Nel rene abbiamo visto le cellule idrogeno secernenti, ci sono però anche delle cellule HCO₃⁻ secernenti che riassorbono ioni idrogeno ed immettono ioni bicarbonato; sono meno come numero rispetto a quelle H⁺ secernenti. È un sistema che è pronto a tamponare un eventuale eccesso alcalino.

Le alterazioni dell'equilibrio acido-base provocate da variazioni della [HCO₃⁻] sono dette *metaboliche*, mentre quelle provocate da variazioni della PCO₂ sono dette *respiratorie*.

Sistema tampone del fosfato

Questo si ritrova anche nelle urine.

Deriva dall'acido fosforico



con un pK = 6.8

→ Ad un pH ematico di 7.4, quali sono le concentrazioni della forma acida e basica in questo sistema tampone?

$$pH = pK + \log_{10} \frac{HPO_4^{2-}}{H_2PO_4^-}$$

$$\log_{10} \frac{HPO_4^{2-}}{H_2PO_4^-} = pH - pK = 7,4 - 6,8 = 0,6$$

$$\frac{HPO_4^{2-}}{H_2PO_4^-} = 10^{0,6} = 3,98$$

Se ne deduce che a pH 7.4 la forma basica è circa 4 volte rispetto alla forma acida.

Sistema tampone dei fosfati organici

I fosfati organici del liquido intracellulare sono l'*adenosin-trifosfato*, l'*adenosin-difosfato*, l'*adenosin-monofosfato*, il *glucosio 1-fosfato* e il *2,3-difosfoglicerato*.

Gli ioni H^+ si legano alla porzione fosforica di queste molecole.

I valori di pK di questi sistemi sono compresi tra 6.0 e 7.5.

Sistema tampone delle proteine

La capacità tampone delle proteine cellulari è dovuta ai gruppi carbossilici ($-COOH/COO^-$) e amminici ($-NH_3^+/-NH_2$).

Il gruppo imidazolico dell'istidina ha un pK di 7.0.

Il tampone intracellulare più importante è l'*emoglobina* (Hb), con 36 residui di istidina (9 per catena): pK di 6.7. Quando l'Hb rilascia ossigeno il suo pK aumenta (pK della desossiemoglobina, 7.9). Quando il sangue passa attraverso i capillari sistemici lascia ossigeno e prende CO_2 che viene convertita in $H^+ + HCO_3^-$; gli ioni H^+ sono tamponati dall'Hb.

Il sangue venoso ha un pH di 7.37, solo 0.3 unità minore (più acido) di quello del sangue arterioso.

L'ultima volta è stata vista la curva di titolazione, con cui è possibile calcolare le variazioni di pH, per eccessi di acidi e di basi è possibile vedere come l'organismo varia la ventilazione e anche la funzione renale, con un successivo ripristino della funzione renale.

Produzione metabolica di acidi e alcali

Acido volatile: quantità di anidride CO_2 che viene prodotta e poi eliminata attraverso la ventilazione. Il metabolismo cellulare dei carboidrati e dei lipidi produce 15-20 moli di CO_2 al giorno, eliminata dai polmoni.

Gli acidi non volatili sono 50-100 mEq/giorno eliminati con le urine, dipendendo dalla dieta. Questi derivano, infatti, dal metabolismo degli aminoacidi:

- aa contenenti solfo: cisteina e metionina (acido solforico);
- aa cationici: arginina, lisina e istidina (acido cloridrico). E da sostanze ingerite con la dieta: fosfato, citrato.

→ Se 70 mEq/giorno di acidi non volatili fossero eliminati come tali, quale sarebbe il pH dell'urina?

Il valore del $\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]} = \frac{1}{70} = 1.15$. Questo pH così acido non si trova mai nelle urine, ciò prova la presenza di un sistema tampone nelle urine.

L'eccesso di acidi non volatili viene:

- Tamponato dai tamponi plasmatici, soprattutto dal tampone $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ a livello del sistema circolatorio, dopodichè dato l'aumento di CO_2 è necessario a livello renale riassorbire lo ione bicarbonato.

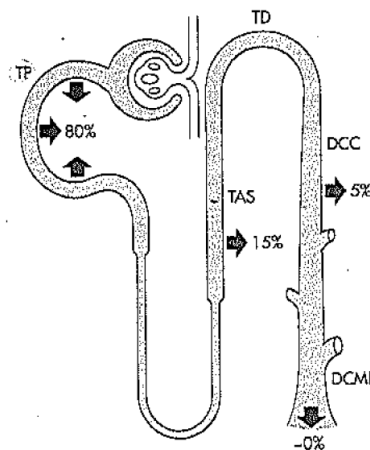
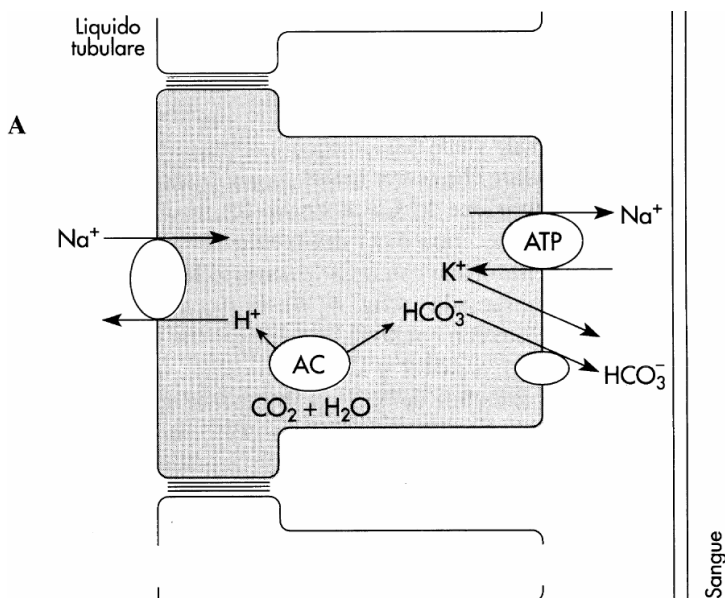


Figura 38-1 Riassorbimento di HCO_3^- nei segmenti del nefrone. Viene mostrata la frazione del carico filtrato di HCO_3^- riassorbita dai diversi segmenti del nefrone. Di norma viene riassorbito tutto il carico filtrato. TP, tubulo prossimale; TAS, tratto ascendente spesso; TD, tubulo distale; DCC, dotto collettore corticale; DCMI, dotto collettore della midollare interna.

- Gli ioni idrogeno immessi a livello tubulare sono eliminati dai reni attraverso questi tamponi: (a) tamponati dai fosfati urinari (e dalla creatinina); (b) come ione ammonio.

Il rene filtra $24 \text{ mEq/L} \times 180 \text{ L/giorno} = 4320 \text{ mEq/giorno}$ di ioni HCO_3^- e di questo solo 2 mEq/giorno viene escreto. Il 99.9% viene riassorbito: 80% dal tubulo prossimale, 15% dal tratto spesso ascendente dell'ansa di Henle e circa 5% dal dotto collettore.

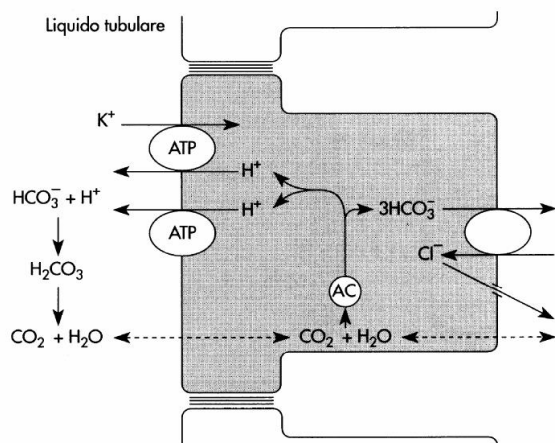
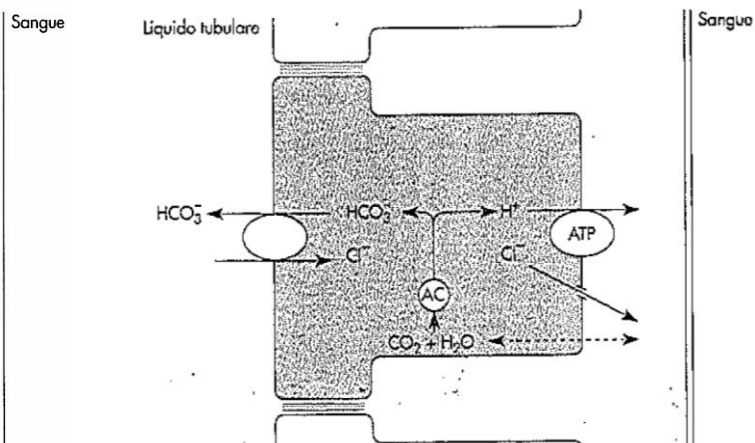
Di lato e sotto meccanismi cellulari per il riassorbimento di HCO_3^- grazie all'azione dell'anidrasi carbonica da parte delle



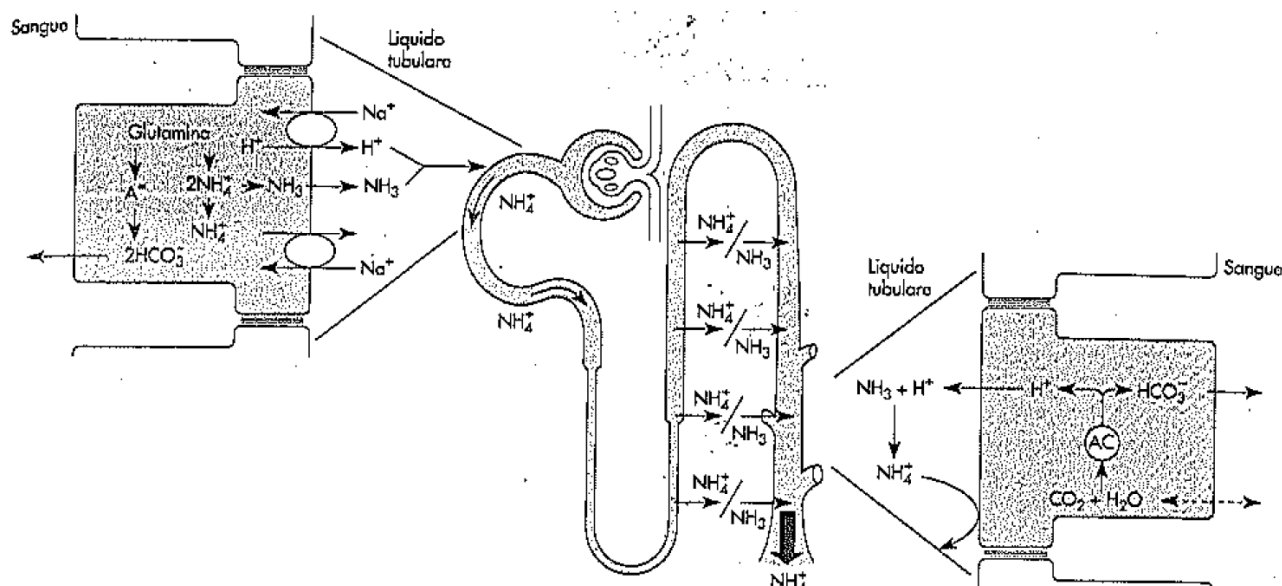
cellule del tubulo prossimale (i), dell'ansa di Henle (non mostrato) e del tubulo contorto distale e del dotto collettore (ii).

Gli ioni H^+ sono secreti dalle cellule intercalate nel lume tubulare grazie a delle pompe, H^+/K^+ o H^+/ATPasi , e ciò permette il riassorbimento dello ione bicarbonato. A livello del tubulo contorto distale e del dotto collettore sono cellule ione bicarbonato secernenti e non idrogeno secernenti, con queste è possibile controbilanciare un eccesso di basi, proprio grazie al

riassorbimento di acido. Questo meccanismo (ii) è presente in misura minore nell'uomo, o in genere negli onnivori perché la dieta è prevalentemente acida.

Cellula H^+ -secernenteCellula HCO_3^- -secernente

La quantità di ioni bicarbonato che viene riassorbito dipende dalla concentrazione plasmatica di CO_2 , perché da qui si forma ione bicarbonato e idrogeno.



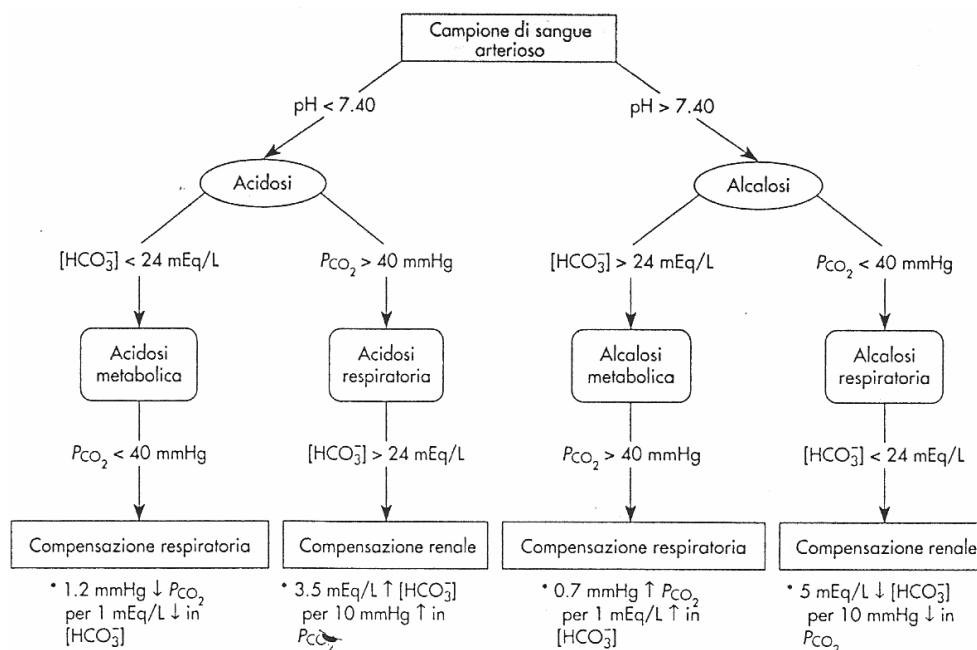
E' possibile avere una produzione extra di ioni HCO_3^- a livello del tubulo contorto prossimale dove grazie al metabolismo della glutammina si può avere eliminazione di ammoniaca e riassorbimento di ione bicarbonato ex novo, quindi non è legato a produzione di anidride carbonica e viene prodotto in seguito ad una dieta particolarmente acida. L'ammoniaca con lo ione idrogeno, scambiato a livello apicale, forma ione ammonio a livello tubulare, che è in grado di essere riassorbito a livello del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle (dove si verifica riassorbimento di sali grazie allo scambiatore $Na^+ K^+/Cl^-$) e quindi riemesso nella regione midollare. Lo ione ammonio poi non può essere riassorbito di per sé a livello del tubulo contorto distale collettore, ma ciò è possibile se è sotto forma di ammoniaca; quindi a livello della regione midollare viene ad equilibrarsi lo ione ammonio con l'ammoniaca, cedendo ioni idrogeno e questa ammoniaca passa a livello del dotto collettore. Qui, l'ammoniaca funge da sistema tampone NH/NH_4 che

serve a tamponare ioni idrogeno. Questo meccanismo per cui NH_3 rientra a livello del dotto collettore e lo ione NH_4^+ viene assorbito a livello tubulare è detto diffusione non ionica, *intrappolamento da diffusione*, che porta ad un riassorbimento netto di ioni bicarbonato. Quindi, se nelle urine si trova una quantità piuttosto elevata di ioni ammonio significa che c'è stato un riassorbimento eccessivo di ioni bicarbonato.

→ Se non ci fossero i tamponi urinari quanta urina (litri/giorno) a $\text{pH}=4.0$ dovrebbero produrre i reni per eliminare acido netto uguale alla quantità di acido non volatile prodotto dal metabolismo (70 mEq/giorno)?
La concentrazione di ioni $\text{H}^+ = 10^{-4} = 0.0001 \text{ M}$; $0.07/0.0001 = 700 \text{ l}$.

Squilibri acido-base semplici

1. Acidosi metabolica (es diarrea): bassa $[\text{HCO}_3^-]$ plasmatica e basso pH. La riduzione del pH aumenta la ventilazione e PCO_2 si riduce (compensazione respiratoria) minimizzando la riduzione del pH. PCO_2 si riduce di 1.2 mmHg per mEq/L di riduzione della $[\text{HCO}_3^-]$. Il sistema sta compensando: controbilancia la concentrazione di ioni idrogeno attraverso la riduzione del substrato, confronta la seguente reazione: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$



* Se la risposta compensatoria non è appropriata, si deve sospettare un'alterazione di tipo misto.

2. Alcalosi metabolica (es vomito): elevata $[\text{HCO}_3^-]$ plasmatica e elevato pH. L'aumento del pH riduce la ventilazione e PCO_2 aumenta (compensazione respiratoria) minimizzando l'aumento del pH. PCO_2 aumenta di 0.7 mmHg per mEq/L di aumento della $[\text{HCO}_3^-]$.

3. Acidosi respiratoria (es. edema polmonare): aumento della PCO_2 e riduzione del pH plasmatico che si

verifica per una riduzione degli scambi respiratori a livello alveolare. La riduzione del pH comporta una maggiore eliminazione di ioni H^+ e un maggior riassorbimento di ione bicarbonato. Il sistema compensa perché frena l'aumento di pressione parziale di anidride carbonica. Questo il processo che entra in funzione è la compensazione renale attiva quando ci sono squilibri respiratori. $[HCO_3^-]$ plasmatica aumenta di 3.5 mEq/L per 10 mmHg di aumento della PCO_2 .

4. Alcalosi respiratoria (es. stati di ansia o di rabbia, alterazioni del sistema nervoso centrale): riduzione della PCO_2 e aumento del pH plasmatico che si verifica per un aumento della ventilazione. L'aumento del pH riduce l'escrezione di ioni ammonio e il riassorbimento renale di HCO_3^- si riduce (compensazione renale). $[HCO_3^-]$ plasmatica si riduce di 5 mEq/L per ogni 10 mmHg di riduzione della PCO_2 .

Es. 1. Indicare lo squilibrio acido-base semplice esistente per i dati riportati:

pH	$[HCO_3^-]$ (mEq/l)	P_{CO_2} (mmHg)	alterazione
7.34	15	29
7.49	35	48
7.47	14	20
7.34	31	60
7.40	15	25

1a: Acidosi Metabolica con compensazione giusta perché $(24-15)= 9$ mEq/l e la pressione pCO_2 deve diminuire di 1.2 mmHg per 1 mEq/l, in questo caso quindi dovrà diminuire di $1.2 \times 9 = 10.8$. E confronto tale valore con l'effettiva riduzione che è pari a 11 ($40-29=11$); quindi il sistema sta compensando in modo giusto.

1b: Alcalosi metabolica e la compensazione è giusta perché $(35-24)= 11$ mEq/l, $(11 \times 0.7) = 7.7$ mmHg paragonabile a 8 mmHg, dato da $(48-40)=8$.

1c: Alcalosi respiratoria, giusta compensazione da parte del sistema.

1d: Acidosi respiratoria, giusta compensazione da parte del sistema.

1e: Il pH non è indicativo di condizione di acidosi o alcalosi. E' un caso di squilibrio acido base composto, valutando il valore dello ione bicarbonato e della pressione pCO_2 , questo caso corrisponde a una situazione di due squilibri semplici acido base che si combinano e che non portano ad una variazione del pH, ma comunque inducono uno squilibrio acido base.

→ Quale effetto ti aspetti che abbia sull'escrezione urinaria di HCO_3^- la somministrazione di un farmaco che inibisce l'anidrasi carbonica? Attraverso quale meccanismo? Quale tipo di squilibrio acido-base risulta

dall'uso di questo farmaco?

Se si inibisce l'anidasi carbonica, a parità di pressione $p\text{CO}_2$, diminuisce la quantità di HCO_3^- riassorbita e ciò provoca condizioni di acidosi metabolica. Il pH delle urine può anche aumentare perché la concentrazione dello ione bicarbonato viene escreta in misura maggiore, quindi non è detto che a una riduzione del pH plasmatico corrisponda comunque anche una riduzione del pH fisiologico.

→ Un individuo precedentemente sano sviluppa una malattia gastrointestinale con nausea e vomito. Da una prima analisi si ottengono i dati riportati in (a). Dopo 12 ore dall'esordio di questa sintomatologia, si ottengono i dati riportati in (b):

(a)	(b)
-peso corporeo: 70 kg	68 kg
-pressione sanguigna: 120/80 mmHg	80/40 mmHg
-pH plasmatico: 7.48	7.50
- P_{CO_2} : 44 mmHg	48 mmHg
- $[\text{HCO}_3^-]$: 32 mEq/L	36 mEq/L
- pH urinario: 7.5	6.0

L'alterazione acido-base è cambiata? Come spieghi la riduzione paradossa del pH urinario?

- Alcalosi metabolica e il sistema sta compensando.
- Alcalosi metabolica maggiore, quindi la compensazione c'è, ma non riesce a funzionare. Valutando anche la riduzione del pH urinario, cosa potremo consigliare a questo soggetto? Il soggetto ha perso 2 Kg di peso e la pressione si è ridotta, potremo allora fargli bere una soluzione fisiologica per ripristinare il volume del sangue. Il rene quando si riduce il volume di sangue in circolo riassorbe i sali e di conseguenza di acqua, inoltre entra in gioco l'aldosterone che appunto favorisce il ripristino di una concentrazione adeguata di sali. Questo ormone però provoca anche l'immissione di ioni idrogeno a livello del tubulo renale e ciò provoca una riduzione del pH urinario.