

Elementi per valutare la funzionalità renale e tubulare

Prof. Stefania Catalano – Data: 13/10/2023 – Sbobinatori: Rodinò e Maio – Controllori: Maio e Rodinò

LA CLEARANCE DELLA CREATININA

Il marcatore che con certezza ci indica la funzionalità renale è la clearance della creatinina. Questa, non è un marcatore ideale perché è secreta a livello tubulare ed è sintetizzata in buona parte anche a livello muscolare.

La creatinina presenta le seguenti caratteristiche:

- È trasportata in forma libera nel plasma;
- Viene filtrata liberamente a livello glomerulare;
- Non è metabolizzata dal rene;
- È fisiologicamente inerte e atossica;
- La sua escrezione è dovuta alla filtrazione (90-95%) e alla secrezione dal tubulo distale (5-10%);
- Risponde alla maggior parte, ma non a tutti, i requisiti per essere un marker ottimale di filtrazione (un suo limite, infatti, è che dipende fortemente dalla massa muscolare).
- Esistono, quindi, dei fattori che sono in grado di generare una sovrastima o sottostima del filtrato glomerulare basandoci sulla clearance della creatinina.

I FATTORI IN GRADO DI CAUSARE UNA SOVRASTIMA O SOTTOSTIMA DEL GFR SONO:

- Secrezione tubulare dell'analita (dovrebbe essere completamente assente);
- Sostanze interferenti (come le ciclosporine);
- Massa Muscolare è un problema importante che può essere oltrepassato perché è il medico o chi analizza il valore della clearance che valuta il risultato in base alle caratteristiche del paziente.
Esempio: un paziente anziano o allettato avrà una massa muscolare ridotta e questo influisce sulla clearance renale. Un paziente come chi ha una massa molto estesa come un atleta ha una condizione differente. Il dato di laboratorio deve essere sempre interpretato nel contesto clinico del paziente.
- Imprecisione preanalitica (raccolta e conservazione) e analitica. Soprattutto in fase Preanalitica si riscontrano errori perché la clearance della creatinina viene effettuata attraverso le urine raccolte nelle 24h. È bene, quindi, istruire il paziente e fargli capire che è importante raccogliere il giusto volume del campione e con la giusta modalità. Gli altri errori si potrebbero riscontrare nel non corretto trasporto e conservazione del campione.

NB: Il fatto di saltare una raccolta urinaria non è un errore preanalitico grave.

VALUTAZIONE DEI RISULTATI DEL GFR

La misura indiretta del filtrato glomerulare si esprime in ml al min/1.73 m².

Questa misura è strettamente correlata alla funzionalità renale e anche alla stadiazione dell'insufficienza renale cronica.

L'Insufficienza renale cronica, a differenza dell'acuta, evolve progressivamente nel tempo. Quindi, è fondamentale valutare la velocità di filtrazione glomerulare perché dà informazioni precise sulla salute del rene.

Stadio	GFR (ml/min/1.73 m ²)
1	>90
2	60-89
3	30-59
4	15-29
5 o ESRD	<15

Si va dallo stadio 1 allo stadio 5 (terminale).

Nello stadio 1 la funzione è normale e prevede che la velocità di filtrazione glomerulare sia > 90.

Nello stadio 2 si ha una lieve compromissione funzionale quando la velocità è compresa tra 60-89.

Lo stadio 3 presenta due sottoclassi:

- 3A: con valori compresi tra 45 e 59;
- 3B: con valori compresi tra 30 e 44.

Si verifica una compromissione funzionale moderata.

Nello stadio 4 si ha una compromissione funzionale grave e la velocità si attesta tra 15-30.

Nello stadio 5 insufficienza renale terminale <15.

Riusciamo ad avere il valore preciso della funzionalità glomerulare grazie alla clearance della creatina.

PROBLEMI DELL'ESAME PER LA CLEARANCE DELLA CREATININA

Non è un esame di routine perché la raccolta di urine nelle 24h è già impegnativa e difficoltosa per il paziente.

Si è visto che basandosi sul valore della creatinina dosata strettamente su sangue (nel plasma) si possono ottenere informazioni abbastanza fedeli sulla funzionalità del rene.

In condizioni particolari, quando serve conoscerla in maniera precisa si ricorre alla clearance.

Le linee guida K/DOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative), però, sconsigliano la determinazione della clearance della creatinina come metodica di routine e raccomandano l'uso di formule che impiegano nel loro calcolo il valore di creatinina plasmatica e di altri parametri.

Si può ottenere il filtrato glomerulare stimato sulla base della creatinina ed altri valori come il peso, l'altezza, il dosaggio dell'urea, mettendoli insieme si ottiene la stima del filtrato glomerulare, evitando di ricorrere al dosaggio diretto della clearance renale.

Ormai quasi tutti i laboratori, accanto al valore della creatinina plasmatica, inseriscono anche quello del filtrato glomerulare stimato (sebbene con alcuni limiti, dato che non è una valutazione precisa, comunque riesce a darci informazioni sulla clearance renale).

EGFR: GFR STIMATO

Formula di Cockcroft e Gault

$eGFR = [(140 - \text{età}) \times (\text{peso in kg})] / (72 \times sCr) \times 0.85$ per le donne

Legenda: sCr: valori sierici di creatinina (mg/dl)

Equazione MDRD

(Modification of Diet in Renal Disease)

$eGFR = (170 \times sCr^{-0.999} \times \text{età}^{-0.176} \times BUN^{-0.170} \times Alb^{0.318} \times (0,742 \text{ per le donne}) \times (1,180 \text{ per pazienti del centro o sud Africa})$

Legenda: BUN (mg/dl): Blood Urea Nitrogen; Alb (g/dl): Albuminemia

Equazione MDRD Semplificata

$eGFR = (186,3 \times SCr^{-1,154} \times et\grave{a}^{-0,203} \times (0,742 \text{ per le donne}) \times (1,212 \text{ per pazienti del centro o sud Africa})$.

MDR1 e 2 sono le più utilizzate. I parametri dipendono dalle formule, tuttavia il parametro della creatinina sierica e il sesso ricorrono in tutte le formule.

eGFR: GFR Stimato

Parametri considerati da diverse formule

	Sup. corporea	Peso	Altezza	Creat Sierica	Età	Sesso	Etnia	BUN	Albumina
Cockcroft-Gault (CG)	x	x		x	x	x			
CG-GFR estimate	x	x		x	x	x	x	x	x
MDRD 1				x	x	x	x		
MDRD 2				x		x			
Jelliffe 1	x			x		x			
Jelliffe 2				x		x			
Mawer		x		x	x	x			
Bjornsson		x		x	x	x			
Gates				x	x	x			
Salazar-Corcoran		x	x	x	x	x			

Ogni formula ha le sue limitazioni poiché si tratta di una stima ottenuta attraverso un calcolo e non direttamente.

Esempio delle limitazioni dell'equazione MDRD:

- Calcolata su pazienti nefropatici, sottostima sistematicamente la GFR nelle persone sane (ma la Cockcroft-Gault sovrastima);
- Dubbi sulla sua efficienza in pazienti con patologie concomitanti;
- Calcolata su popolazione adulta, non può essere utilizzata sotto i 18 anni e sopra i 75.

In realtà è fondamentale ricordare che la determinazione della creatininemia rimane l'indice più usato dai clinici e nei laboratori per la stima del GFR.

In soggetti sani ed in condizioni stabili, la quota di creatinina rilasciata dalla massa muscolare è costante ed è rimossa dal rene in modo costante.

- Un aumento della creatininemia è proporzionale a una diminuzione della clearance della creatinina;
- Il rapporto fra creatininemia e funzione renale è inverso: al diminuire della funzione renale aumenta la creatinina;
- Tuttavia, a una creatininemia nell'ambito dei valori di riferimento può non corrispondere a una buona funzione renale;
- Si tratta di un esame di routine che si esegue sempre ma l'unico modo per avere una certezza sulla funzionalità glomerulare rimane sempre la clearance della creatinina.

UREA PLASMATICA

Altro parametro utilizzato di routine e che si associa alla creatinina plasmatica è l'urea per valutare la funzione renale.

Urea Plasmatica:

- Molecola del PM 60 kDa, prodotta dal fegato;
- Filtrata dal glomerulo, ma riassorbita a livello tubulare (40-50%);
- *Valori di riferimento:* 20-40 mg/dl (metodi colorimetrici elettrochimici);
- Rappresenta un esame con elevata sensibilità e dà risultati attendibili in tutti i laboratori;
- A differenza della creatinina questo è un metodo meno specifico, perché l'incremento dell'urea può essere dovuto ad altre condizioni, fondamentale è quindi la valutazione del medico. Incrementata, infatti, in corso di ridotta funzionalità renale, di patologie extrarenali (insufficienza cardiaca, sepsi, ipertiroidismo), regimi alimentari ad alto apporto proteico, uso di farmaci (tetracicline) oppure introduzione minima di acqua;
- Ridotta nell'etilismo ed in epatopatie croniche.

Molti Laboratori dosano *l'azoto ureico o BUN* (Blood Urea gen), il cui valore corrisponde alla metà dell'urea.

IN o Azoto Ureico: 10-20 mg/dl. È indifferente dosare l'urea plasmatica o l'azoto ureico, bisogna solo tenere presente che sono diversi i valori di riferimento.

RICORDA: Se troviamo urea e creatinina aumentate è sicuro che la funzionalità renale sia compromessa.

Quindi creatininemia e dosaggio dell'urea sono i due parametri ematochimici utilizzati per valutare la funzionalità glomerulare.

LE MICROGLOBULINE

Altri marcatori che valutano la funzionalità renale sono le Microglobuline:

- Proteine a basso peso molecolare con PM < 40-50 kDa;
- Liberamente filtrate dal glomerulo e riassorbite (90-95%) dal tubulo contorto prossimale;
- Catabolizzate a livello tubulare.

La concentrazione plasmatica è direttamente correlabile alla quantità di filtrato renale.

La cistatina-c

Fra le microglobuline, un marcatore proposto come marcatore di filtrato glomerulare è la Cistatina-C:

- Inibitore delle proteasi cisteina-dipendenti (13 kDa), prodotta in quantità costante da parte di tutte le cellule nucleate;
- Liberamente filtrata dal glomerulo, ma riassorbita e catabolizzata a livello tubulare;
- Il Dosaggio avviene mediante metodiche immunologiche;
- *Valori di riferimento:* 0,40-1,40 mg/dl.

Vantaggi della cistatina-c:

- La sua concentrazione NON dipende da massa muscolare, corporatura del soggetto, statura, età (superato un anno), sesso, etnia, farmaci (aspirina, cefalosporine, ciclosporina);
- Maggiore sensibilità della creatininemia per il danno renale;
- Indicata anche in pazienti con danno epatico;
- Raccolta urine/24h non più necessaria;
- Viene dosata su un campione di siero e/o di urine mattutine;
- Se riscontrata nelle urine è indice di danno tubulare.

Svantaggi cistatina-c:

Metodo di misurazione più costoso rispetto alla creatinina. Quindi, non è rientrata nei metodi di routine di laboratorio per il suo costo.

La misurazione della cistatina-c va richiesta quando sussistano dei dubbi dopo il dosaggio della creatinina.

I MARCATORI DELLA FUNZIONALITÀ TUBULARE

L'altro tipo di marcatori utilizzati nell'ambito delle patologie renali sono i marcatori di funzionalità tubulare, che danno informazioni sulla funzionalità dei tubuli.

A livello dei tubuli avviene il riassorbimento di acqua e assorbimento ed escrezione di elettroliti, come sodio potassio, ioni idrogeno calcio, fosfato.

Ciò che gioca un ruolo fondamentale nell'attività del rene è l'equilibrio idrico, elettrolitico e acido-base.

In questo caso non esistono dei marcatori specifici come avviene, invece, nel caso della funzionalità glomerulare (che sono creatinina ed urea).

Per capire la funzionalità tubulare i parametri sono: gli elettroliti a livello ematico e l'emogasanalisi che dà informazioni su patologie tubulari e sull'equilibrio acido-base.

TEST DI FUNZIONALITÀ TUBULARE

Funzione di:

Tubulo prossimale:

- Riassorbimento di sodio, calcio, fosfati, glucosio, bicarbonati e aminoacidi.

Tubulo distale:

- Secrezione di ioni idrogeno e potassio;

Dotti Collettori:

- Concentrazione delle urine.

Parametri ematici: Sodiemia, Potassemia, Fosforemia, Calcemia, Emogasanalisi per bicarbonati.

Parametri urinari: pH, Osmolalità, Proteinuria, Calciuria, Aminoaciduria, Glicosuria, Fosfaturia.

Quindi una serie di parametri ematochimici e urinari possono dare informazioni su eventuali patologie tubulari, ovviamente vanno interpretati dal medico perché potrebbero indicare altre condizioni.

ELETTROLITI

Gli elettroliti rappresentano importanti composti inorganici presenti nei fluidi biologici. Tra questi i più importanti sono il sodio (Na), potassio (K^+), calcio (Ca^{2+}), cloro (Cl^-), carbonati (HCO_3^-) e fosfati ($HP0_4^{2-}$).

Valori ematici normali:

- Sodio: 135 - 148 mEq / litro;
- Potassio: 3,5 - 5.5 mEq / litro;
- Calcio: 9.0 - 11.0 mg / d;
- Fosforo: 2.5 - 4.8 mg / dl.

Valori alterati degli elettroliti (parametri molto importanti) possono essere fondamentali in caso di emergenze/urgenze.

ESAME DELL'URINE

Utile per il completamento degli esami di laboratorio e per l'individuazione delle patologie renali, esso rappresenta un esame fondamentale, in quanto fornisce tutta una serie di informazioni che riguardano la patologia renale, ma permettono anche di valutare altri tipi di patologie.

L'esame delle urine viene effettuato in parallelo agli esami ematochimici, anche in caso di ospedalizzazione, e attraverso esso si ottengono una vasta serie di informazioni.

Le urine si formano da un processo di filtrazione a livello glomerulare, dal processo di assorbimento e secrezione che si verificano a livello tubulare, successivamente vengono convogliate nel dotto collettore per giungere attraverso gli ureteri nella vescica e, infine, tramite l'uretra, vengono veicolate all'esterno.

L'esame dell'urine rientra tra i principali esami di routine eseguiti nel laboratorio di patologia clinica, poiché una sua corretta esecuzione ed interpretazione permette di ottenere numerose informazioni utili per:

- Diagnostica di diverse patologie:
 - Patologie renali;
 - Patologie apparato escretore;
 - Patologie fegato.
 - Patologie come diabete → in cui si valuta la glicosuria
- Monitoraggio del comportamento biologico della malattia, per monitorare il decorso di una determinata patologia (per esempio, viene richiesto in caso di paziente diabetico).
- Monitoraggio efficacia e sicurezza della terapia, in cui si valuta la tossicità del farmaco.

CENNI STORICI (curiosità)

- *Papiri egiziani* parlano di 'uroscopia' intesa come osservazione dell'urina ad occhio nudo;
- *Ippocrate* (460-335 a.C.) riteneva che l'urina fosse prodotta dal rene come filtrato degli umori e che le sue alterazioni fossero il risultato della loro disarmonia;
- *Galeno* (129-200 d.C.) considerò l'esame delle urine utile non solo per la comprensione degli equilibri degli umori, ma anche per diagnosticare malattie dei singoli organi;
- *Willis* (1621-1675) descrisse il differente sapore tra le urine dei soggetti diabetici, attribuito alla presenza del glucosio;
- *Justus von Liebig e Bernard* (1800) con l'avvento della biochimica sviluppano l'esame chimico delle urine;
- *Rayer* (1800 circa) descrive lo studio del sedimento;
- *Pasteur e Koch* (metà 1800) hanno definito lo studio dei batteri nelle urine.

FASE PRENALITICA

La fase preanalitica è l'insieme di tutte quelle situazioni che vanno dalla preparazione del paziente alla raccolta e conservazione del campione.

Per questo motivo, è importante istruire il paziente per una buona raccolta delle urine, poiché molto spesso un'alterazione dell'esame è legata ad una cattiva raccolta e conservazione del campione stesso. Quindi avremo dei risultati alterati che non rispettano la condizione reale del paziente.

Esistono delle norme generali che devono essere rispettate, in particolare:

- Usare recipienti puliti per la raccolta del campione;
- Pulizia preventiva genitali esterni, per evitare secrezioni vaginali, perineali e uretrali;
- Scartare i primi millilitri di urina, poiché sono ricchi di cellule epiteliali e quindi potrebbero alterare l'esame del sedimento;

- Sospendere assunzione di farmaci, non sempre possibile farlo, ma è buona norma renderli noti;
- Evitare esame urine durante il ciclo mestruale, in quanto si potrebbe riscontrare ematuria;
- Segnalare gravidanza, allattamento;
- Segnalare diete particolari.

TIPI DI ANALISI DELLE URINE

Le urine contengono componenti con caratteristiche chimiche, fisiche e citologiche molto labili. Il campione di urina deve essere raccolto (volume 15-20 ml) con modalità distinte, in relazione al tipo di indagine da eseguire:

- **Analisi routinaria:** urine del primo mattino, migliore concentrazione delle componenti, in recipienti sterili evitando contaminazioni;
- **Analisi quantitative:** urine del mitto intermedio per le analisi di chimica clinica (dosaggio di metaboliti, ormoni o metalli), raccolta temporizzata generalmente nelle 24h (clearance renale), richiesta anche per alcuni dosaggi ormonali particolari.
- **Analisi microbiologiche:** urine del mitto intermedio, i genitali esterni devono essere puliti per le indagini colturali, al fine di evitare contaminazioni.

L'urinocoltura è richiesta quando c'è il sospetto di un processo infettivo che comporta la presenza di germi nelle urine. L'esame permette di riconoscere il ceppo responsabile e associarlo ad un antibiogramma, per capire l'antibiotico più sensibile a quel microorganismo.

Le urine contengono componenti con caratteristiche chimiche, fisiche e citologiche molto labili; quindi, è fondamentale non solo la raccolta corretta, ma anche la conservazione ed il trasporto del campione effettuati con le dovute attenzioni.

Il campione delle urine deve essere conservato nella maniera corretta, se così non fosse, si osserverebbero una serie di alterazioni che vanno a modificare completamente il risultato analitico.

La conservazione non corretta prevede che:

- I batteri e i lieviti iniziano a moltiplicarsi;
- I batteri ureasici producono NH_3 che aumenta il PH e che non riflette la situazione reale di quel campione di urina in analisi;
- I batteri utilizzano glucosio diminuendone la sua concentrazione, infatti si potrebbe avere un valore inferiore di glucosio rispetto a quello reale;
- I cilindri e le cellule (componenti visibili all'esame del sedimento) si deteriorano;
- Avvengono modificazioni chimico-fisiche, per esempio vi sono alterazioni di cheratina, bilirubina, urobilinogeno.

Pertanto, è fondamentale fare l'analisi entro breve tempo (30 min) o comunque entro un massimo di 2h dalla minzione. Se il campione urinario non può essere esaminato in un breve periodo, è raccomandata la refrigerazione (4°C) (è importante riportare il campione a temperatura ambiente (37°C) prima dell'esame).

In alternativa si possono utilizzare agenti conservanti, che naturalmente preservano le eventuali alterazioni a livello del campione delle urine.

FASE ANALITICA

Comprende due fasi, una macroscopica ed una microscopica.

La fase macroscopica, a sua volta comporta **l'analisi chimica – fisica** delle urine (in cui vengono analizzati una serie di parametri chimico – fisici che risultano fondamentali per l'individuazione delle varie patologie).

La fase microscopica valuta l'esame del sedimento, infatti una volta centrifugato il campione, si osserva al microscopio il sedimento urinario, che ci fornisce una serie di informazioni importanti e fondamentali.

FASE MACROSCOPICA	
CARATTERI FISICI	CARATTERI CHIMICI
Quantità	Peso specifico
Trasparenza	pH
Colore	Glucosio
Odore	Corpi chetonici
Schiuma	Bilirubina
	Sangue
	Proteine
	Urobilinogeno
	Nitriti
	Leucociti

Quantità:

La quantità si valuta nel caso di analisi non routinaria.

Essa è valutabile su una raccolta delle urine nell'arco delle 24 ore, in modo da stabilire la presenza o meno di alterazioni sulla quantità delle urine.

Condizione normale (24 h): 1200-1500 ml, questo parametro è variabile in funzione della dieta e dei liquidi introdotti.

Condizioni alterate:

Poliuria: eccessiva eliminazione di urine, > 2000 ml nelle 24h.

Essa può essere:

- **Fisiologica:** eccessivo consumo di acqua;
- **Farmacologica:** somministrazione di diuretici che comporta un aumento della frequenza della diuresi;
- **Patologica:** diabete mellito, dovuto ad un aumento di glucosio nelle urine che richiama acqua e diabete insipido, in cui non si ha rilascio dell'ormone ADH, quindi incapacità di riassorbimento a livello tubulare.

Nicturia: emissione notturna di urine > 500 ml di urine, può essere legata alle patologie della prostata;

Oliguria: volume urinario notevolmente ridotto, rispetto ai parametri che rientrano nelle condizioni di normalità. Essa può essere:

- **Fisiologica:** diminuito apporto di acqua, perdita di liquidi (come una disidratazione);
- **Patologica:** patologie renali, che determinano una riduzione del filtrato glomerulare per alterazione della funzionalità glomerulare; occlusioni delle basse vie urinarie, che possono essere indotte da calcoli o tumori.

Anuria: emissione delle urine < 150 ml pro die, essa è indice di insufficienza renale, determinata da un blocco renale, ostruzione grave del flusso o intossicazione.