

ARTICOLI ORIGINALI

Fisiologia dell'handling renale dell'acido urico



Miriam Zacchia¹, Giovanna Capolongo¹, Luca Rinaldi¹, Giovambattista Capasso¹

(1) *Cattedra di Nefrologia, Seconda Università di Napoli*

Corrispondenza a: Miriam Zacchia; Cattedra di Nefrologia, Seconda Università di Napoli Via Pansini,5, Edificio 17, Nuovo Policlinico 80131 Napoli ; Tel:+39 081 5666797 Fax:+39 081 5666652 Mail: miriamzacchia@virgilio.it

Abstract

L'acido urico è il prodotto terminale del catabolismo delle purine nell'uomo. La sua concentrazione plasmatica è il risultato di un intricato e parzialmente conosciuto complesso di processi che ne regolano la produzione epatica e l'escrezione renale ed intestinale. I livelli plasmatici variano tra 3 e 7 mg/dl, e sono particolarmente influenzabili da un'alimentazione ricca in purine, dall'alto turn-over cellulare e dalla riduzione dell'escrezione renale. Il rene svolge un ruolo importante nell'omeostasi dell'acido urico, e spesso la patogenesi dell'iperuricemia correla con una riduzione della quota escreta dal rene, come accade in corso di insufficienza renale o in seguito all'uso di alcuni farmaci che ne stimolano il riassorbimento o ne inibiscono la secrezione. Fisiologicamente la filtrazione glomerulare dell'urato è pari quasi al 100%; a livello del tubulo prossimale si verificano intensi processi di riassorbimento e secrezione, che determinano una frazione di escrezione finale pari al 6-12% della quota filtrata. Il presente lavoro riassume le più recenti evidenze scientifiche che hanno permesso, negli ultimi 20 anni, di caratterizzare dal punto di vista molecolare l'handling renale dell'acido urico. I progressi delle conoscenze nel campo della fisiologia hanno prodotto importanti implicazioni a livello clinico, nella comprensione del meccanismo d'azione di alcuni farmaci e nelle associazioni tra alcuni polimorfismi genetici e i livelli di uricemia negli studi di popolazione, aprendo nel contempo la strada a nuove prospettive terapeutiche.

Parole chiave: acido urico, riassorbimento, secrezione, trasporto renale

Renal handling of uric acid

Uric acid is the end product of purine catabolism in humans. The plasma concentration is the result of an intricate and partially known process that regulates its synthesis and excretion. Plasma levels range from 3 to 7 mg/dl, and are influenced by diet rich in purines, cell turnover and reduced renal excretion. The kidney plays a pivotal role in acid uric homeostasis, and the pathogenesis of hyperuricemia often correlates with a reduction in the amount of renal excretion, as happens in chronic kidney failure or as a result of certain drugs. Physiologically, uric acid is freely filtered by glomerulus; along the proximal tubule it is reabsorbed and secreted, with a fractional excretion equal to 6-12%. During the last decades many efforts have led to a better understanding of the molecular basis of renal urate handling. The present study analyzes the most recent evidences that demonstrate the role of several proteins involved in urate transport. Understanding this physiological mechanisms had a great impact in clinical practice, providing advances in our knowledge of drug action and genetic associations in hyperuricemic patients; contextually it opened new avenues in drug development.

Key words: reabsorption, secretion, transport, uric acid

Introduzione

a. Acido urico ed evoluzione

Nella maggior parte degli esseri viventi, compresi molti mammiferi, l'acido urico (AU) viene ossidato con formazione finale di allantoina, una molecola solubile in soluzioni acquose, liberamente eliminata con le urine. L'enzima urato ossidasi o "uricasi" catalizza questi processi di ossidazione dell'acido urico. Tale attività enzimatica è assente in molti primati e manca nell'uomo a causa di mutazioni genetiche avvenute nel corso dell'evoluzione dei primati che ha reso il gene dell'uricasi non codificante durante l'epoca del Miocene (da 24 a 5 milioni di anni fa). Nell'uomo, nello scimpanzé e nel gorilla sono state identificate tre mutazioni (due mutazioni nonsense e una mutazione di splicing) che non sono presenti negli *Hylobates* [1] (full text). Studi di filogenetica hanno dimostrato che tali mutazioni sono avvenute tra 24 e 16 milioni di anni fa [2] e che sono state precedute da una delezione di 13 coppie di basi avvenuta 24-22 milioni di anni fa. L'attività dell'uricasi è diversa anche tra le scimmie del nuovo mondo (Superfamiglia Ceboidea) rispetto a quelle del vecchio mondo (Superfamiglia Cercopithecoidea), e l'analisi dei livelli plasmatici di AU ha evidenziato una correlazione tra un aumento dell'uricemia e la riduzione dell'attività dell'uricasi [3]. La scomparsa di questa attività enzimatica nel corso dell'evoluzione dei primati ha indotto ad ipotizzare che l'iperuricemia abbia conferito un vantaggio selettivo. Circa 15 milioni di anni fa, le scimmie delle foreste subtropicali dell'Africa occidentale vivevano in un clima umido e si cibavano prevalentemente di frutta e foglie. L'intake medio di sodio era estremamente basso. Nel tardo Miocene, lo shift verso condizioni climatiche più aride avrebbe favorito la selezione di un fenotipo capace di adattarsi a questa nuova situazione. Fu allora che le scimmie antropomorfe, per non estinguersi, si adattarono a vivere a terra e acquisirono la posizione eretta. Probabilmente l'iperuricemia, attraverso il mantenimento di un'adeguata pressione arteriosa, avrebbe rappresentato un vantaggio per la sopravvivenza in un clima caldo e arido. Le recenti correlazioni tra iperuricemia ed ipertensione arteriosa supportano questa ipotesi [4] (full text).

b. Sintesi dell'acido urico

L'AU nell'uomo deriva prevalentemente dal catabolismo delle purine esogene (di origine alimentare) ed endogene (prodotte dal metabolismo degli acidi nucleici). Ogni giorno con la dieta ne introduciamo in media 100-200 mg; più significativa è la quota derivante dal metabolismo endogeno (600-700 mg) con una produzione totale di circa 700-900 mg al giorno. Il fegato in primo luogo, ma anche l'intestino, il rene e i muscoli producono AU. La Figura 1 mostra in maniera schematica la sintesi di AU nell'uomo. I nucleotidi purinici, acido adenilico (AMP) e acido guanilico (GMP), sono basi azotate presenti negli acidi nucleici. Il catabolismo di questi nucleotidi, ad opera della 5'-nucleotidasi, porta alla produzione dei corrispondenti nucleosidi guanina ed adenosina, i quali vengono successivamente deaminati con formazione finale di xantina. Quest'ultima viene ossidata, ad opera dell'enzima xantina ossidasi, target dell'allopurinolo, ad AU. D'altra parte, le basi puriniche, attraverso la cosiddetta "via di recupero", possono essere riconvertite nei corrispondenti nucleotidi. Il meccanismo integrato di regolazione di questi processi metabolici risulta in un equilibrio di produzione di nucleotidi purinici nella quantità necessaria in rapporto alle esigenze. Un'alterazione di questi sistemi di controllo risulta, invece, in un eccesso di prodotti intermedi e di AU. Ne rappresentano alcuni esempi la sindrome di Lesch Nyan e l'immunodeficienza grave combinata (ADA-SCID). La prima è una rara malattia X-linked nota anche come sindrome di Nyhan, sindrome di Kelley-Seegmiller o gotta giovanile. È causata da un difetto dell'ipoxantina-guanina fosforibosiltransferasi (HGPRT), enzima coinvolto nel metabolismo purinico, il cui difetto comporta l'accumulo di nucleotidi purinici,

nonché dei prodotti del loro catabolismo. Si manifesta nella prima infanzia con iperuricemia, deficit neurologici gravi, tendenza all'automutilazione e, in alcuni casi, artrite gottosa. La SCID è causata dalla carenza dell'enzima adenosina deaminasi. Le mutazioni del gene riducono la funzione dell'enzima, causando l'accumulo di substrati e metaboliti quali adenosina, desossadenosina e desossi-ATP. L'enzima è ubiquitario, pertanto tale disordine determina una tossicità metabolica generalizzata, ma gli effetti più deleteri sono a carico dei linfociti B e T, da cui deriva un deterioramento della funzione immunitaria.

c. Escrezione dell'acido urico

L'eliminazione di sostanze azotate avviene prevalentemente sottoforma di ammoniaca, urea e acido urico nei vertebrati. L'ammoniaca è molto solubile in acqua ma fortemente tossica. Rappresenta la principale fonte di eliminazione di sostanze azotate negli animali acquatici, in particolare quelli delle acque dolci. Negli organismi con minori disponibilità di acqua, gli animali terrestri, le principali vie di eliminazione sono rappresentate dall'urea e dall'acido urico. Gli animali uricotelici (uccelli, insetti e rettili) eliminano i gruppi azotati prevalentemente sottoforma di AU, mentre i vertebrati terrestri sottoforma di urea (ureotelici). L'uomo elimina la maggior parte dei composti azotati che derivano dal metabolismo degli aminoacidi e degli acidi nucleici sottoforma di urea. Tuttavia non è trascurabile la quota eliminata sottoforma di AU. Quest'ultimo viene eliminato con le urine per circa i due terzi della quota prodotta e con le feci per la parte restante. Sebbene sia considerata una via di eliminazione secondaria rispetto a quella renale, studi recenti hanno dimostrato che l'escrezione intestinale gioca un ruolo importante nell'omeostasi dell'AU. Diversi studi indipendenti hanno infatti dimostrato l'associazione di varianti del gene *ABCG2*, che codifica per un trasportatore dell'urato espresso in diversi organi e tessuti, con la gotta associata ad *overload* renale di acido urico [5] (full text) [6]. Queste osservazioni correlavano con la ridu-

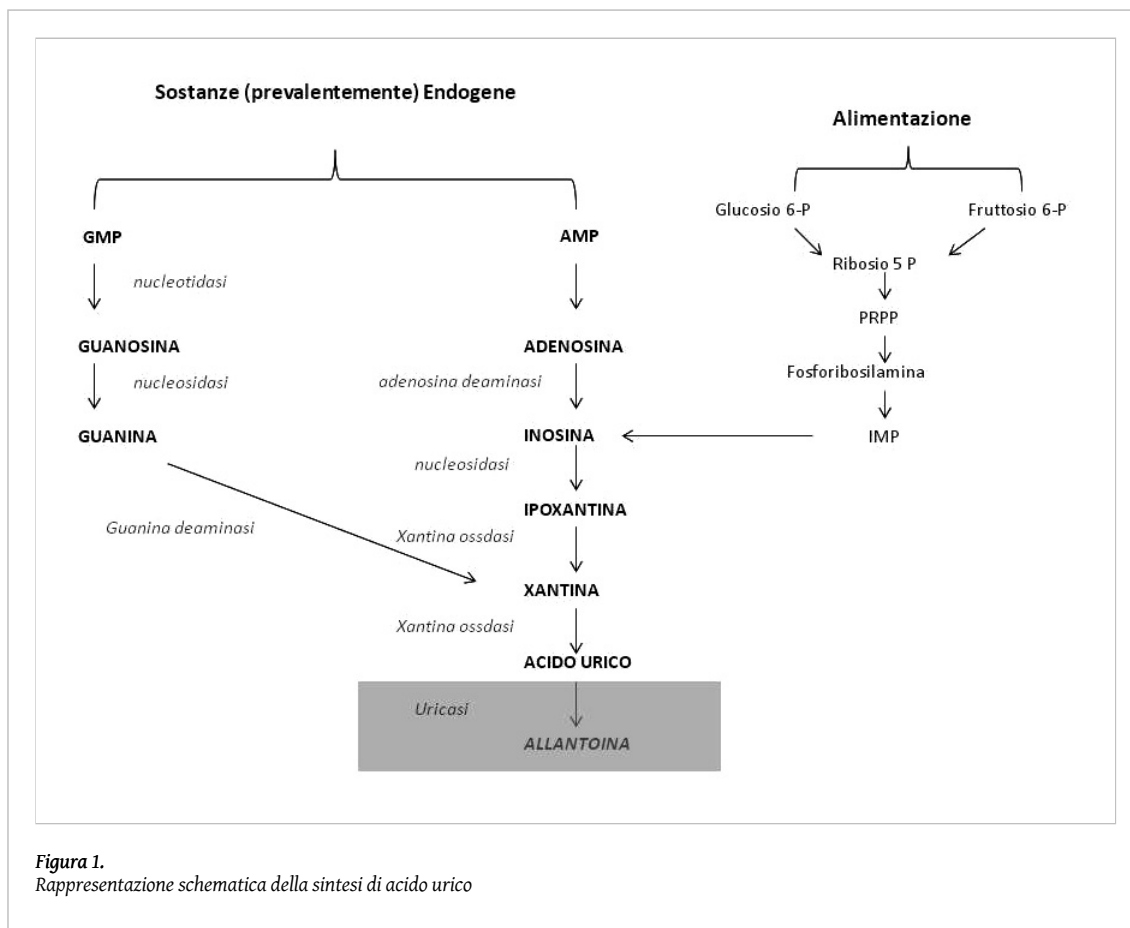


Figura 1.
Rappresentazione schematica della sintesi di acido urico

zione dell'escrezione intestinale di urato ed il conseguente aumento dei livelli plasmatici ed urinari in un modello murino in cui l'espressione di *ABCG2* veniva soppressa.

Un altro studio recente ha dimostrato una correlazione significativa tra gotta secondaria a ridotta escrezione intestinale di urato e una variante del gene *MCT9/SLC16A9*, che codifica per il trasportatore delle sostanze monocarbossiliche di tipo 9 [7]. Sebbene la funzione di questa proteina nell'uomo non sia stata ancora perfettamente definita ed ulteriori studi sono necessari per definirne il reale ruolo biologico, questi dati propendono per un ruolo nell'escrezione intestinale.

Ruolo del rene nell'omeostasi dell'acido urico

Il rene è responsabile dell'eliminazione della maggior parte dell'AU, con un meccanismo che resta ancora oggi solo parzialmente caratterizzato. Secondo il modello sviluppato negli anni '70, l'handling renale di urato nell'uomo si compone di quattro fasi: la filtrazione glomerulare, il riassorbimento tubulare, la secrezione luminale e il riassorbimento post-secretivo. Secondo questa teoria, sviluppata sulla base di studi sperimentali condotti su modelli animali e sulla misurazione della frazione di escrezione di AU nell'uomo, la maggior parte dell'urato eliminato con le urine deriva dai processi di secrezione [8]. Le più forti evidenze a sostegno di questa teoria erano basate su studi condotti sull'uomo dopo somministrazione di pirazinamide, un farmaco ritenuto capace di inibire specificamente la secrezione di AU. È stato osservato che l'uso di questo farmaco determinava una significativa riduzione della frazione di escrezione di AU, a testimonianza del ruolo preponderante della secrezione di urato nella determinazione della quota escreta. Rafforzava questa ipotesi l'osservazione che un farmaco uricosurico come il probenecid, capace di inibire il riassorbimento post-secretivo, non modificava significativamente l'effetto della pirazinamide, a sostegno dell'ipotesi del ruolo principale della secrezione rispetto al riassorbimento. Tuttavia questa teoria, fortemente fondata sulla funzione della pirazinamide quale inibitore della secrezione di AU, è ritenuta obsoleta, in quanto non si esclude che la riduzione della frazione di escrezione di AU indotta dalla pirazinamide sia correlata anche ad un aumento del riassorbimento prossimale [9]. Attualmente si crede che i processi di riassorbimento e di secrezione co-esistano lungo il tubulo prossimale, e la separazione in quattro fasi e compartimenti che si susseguono dal glomerulo al segmento S3 del tubulo prossimale (TP) si ritiene superata. Tuttavia quanto nell'uomo il contributo dei processi riassorbitivi rispetto a quelli secretivi continuo nel determinare la quantità finale escreta con le urine non è stato perfettamente chiarito.

Essendo un acido debole con un pKA di 5,8, l'AU si trova nel plasma prevalentemente nella forma dissociata, come anione urato, complessato con il sodio. In questa forma è liberamente filtrato dal glomerulo, mentre una minima parte (circa il 5%) è legata alle proteine plasmatiche e quindi non filtrabile.

Lungo il TP l'urato, ancora sottoforma di anione monovalente, si trova ad una concentrazione analoga a quella plasmatica. Poiché solo il 10% dell'urato filtrato viene eliminato con le urine, lungo il nefrone viene largamente riassorbito. Studi di micropuntura e di microperfusione condotti in diversi modelli sperimentali animali hanno dimostrato che l'urato, lungo il TP, va incontro a un trasporto bidirezionale, di tipo riassorbitivo e secretivo. Sia l'AU che l'urato sono sostanze idrosolubili, pertanto è improbabile che il passaggio transmembrana avvenga senza la mediazione di canali e/o trasportatori.

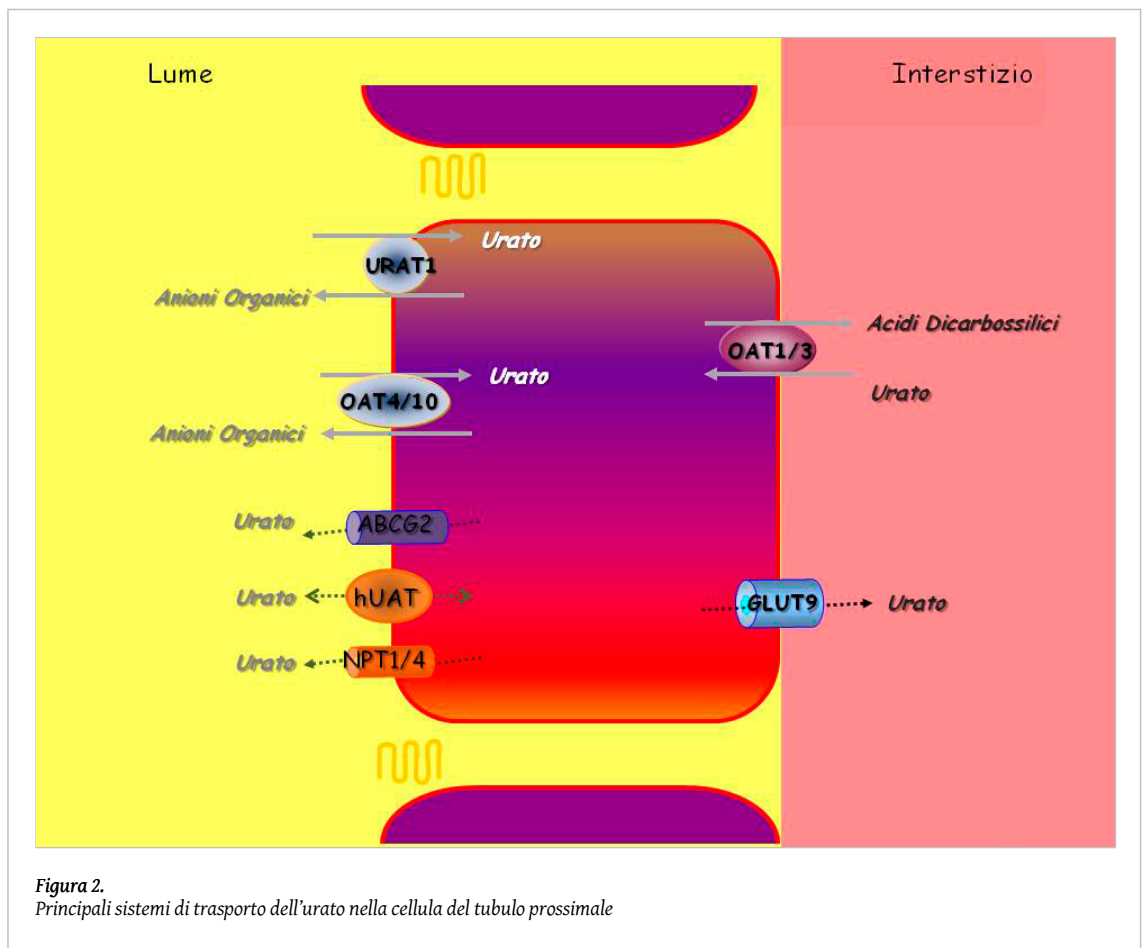
Fino al 2000 le nostre conoscenze dei meccanismi molecolari di trasporto erano scarse. Un limite importante al progresso di queste conoscenze è rappresentato dalla differenza tra le specie. I modelli animali murini, a differenza dell'uomo, possiedono l'attività uricasica;

inoltre, nel topo sono state descritte proteine di trasporto anche lungo il nefrone distale, evidenze mai confermate nell'uomo.

Sia il riassorbimento che la secrezione di urato sono confinati al TP nell'uomo, come accade per altri anioni organici. Numerose molecole coinvolte nel trasporto dell'AU sono state identificate e caratterizzate, tuttavia solo per alcune di esse è stata confermata la presenza nell'uomo, attraverso studi di immuno-localizzazione su campioni di reni umani, studi di genome-wide e identificazioni di mutazioni geniche quali causa di alterazioni dell'omeostasi dell'AU. È stato accertato, nell'uomo, il ruolo cruciale di uno scambiatore urato-anioni (URAT1), della proteina ABCG2 e della proteina basolaterale GLUT9. Resta da confermare il ruolo di una serie di altre proteine, coinvolte nel trasporto in numerosi modelli sperimentali descritti di seguito. (Figura 2)

URAT1

Il trasportatore dell'acido urico URAT1 è stato descritto per la prima volta da *Enomoto et al* nel 2002 [10]. Localizzato a livello della membrana apicale del TP, URAT1 è codificato dal gene *SLC22A12*, appartenente alla famiglia dei trasportatori degli acidi organici (OAT). Nell'uomo, oltre che nel rene tale proteina è stata localizzata a livello delle cellule dei dotti delle ghiandole salivari [11] e della tonaca muscolare dei vasi sanguigni [12] (full text). URAT1 è una proteina di 555 residui aminoacidici con 12 domini transmembrana, caratteristica che la accomuna alle altre proteine della famiglia OAT. Studi di biochimica hanno confermato che funge da contro-transportatore tra l'acido urico ed altri anioni, prevalentemente anioni organici monocarbossilici come il lattato. In alcune specie, dove la secrezione di acido urico assume un ruolo preponderante, questa proteina è virtualmente assente. Il ruolo centrale di URAT1 nell'omeostasi dell'AU nell'uomo è supportata da diverse evidenze.



In primo luogo, mutazioni del gene *SLC22A12* causano l'ipouricemia renale idiopatica di tipo I [10] [13] (full text). Tale condizione clinica, estremamente rara, si caratterizza per una riduzione dei livelli plasmatici di AU, iperuricuria e predisposizione alla nefrolitiasi uratica e all'insufficienza renale [14] (full text). L'esercizio fisico, attraverso una maggiore produzione di AU e radicali liberi, espone questi pazienti al rischio di insufficienza renale acuta da necrosi tubulare. Alcuni farmaci, come il probenecid, il benzbromarone e il losartan, devono il loro effetto uricosurico all'inibizione dell'URAT1 a livello apicale. Farmaci invece anti-uricosurici, come il metabolita dell'antitubercolare pirazinamide, l'acido pirazoico, aumentano il riassorbimento attraverso la stimolazione di URAT1 [15] (full text).

GLUT9

GLUT9 è una proteina di oltre 500 residui aminoacidici, codificata nell'uomo dal gene *SLC2A9*, localizzato sul cromosoma 4 [16] (full text). Studi in vitro hanno dimostrato un ruolo di questa proteina nel trasporto facilitato del glucosio ed altri esosi. Diversi studi di genome wide hanno prodotto forti evidenze che polimorfismi del gene *SLC2A9* correlano con i livelli plasmatici di acido urico [17] [18] (full text), suggerendo un ruolo di questa proteina nel trasporto dell'AU. Inoltre, rafforza questa ipotesi l'associazione di mutazioni inattivanti GLUT9 con il quadro clinico di ipouricemia renale di tipo II [19] (full text) [20] (full text) Anzai *et al* hanno dimostrato che GLUT9 possiede un'affinità per l'urato analoga all'URAT1 [20] (full text), ma che a differenza di URAT1 media il trasporto di urato come unico substrato. I topi GLUT9 knock out mostrano una massiva uricosuria, dato che supporta il ruolo cruciale di questa proteina nell'escrezione renale di AU [21] (full text).

Sono state descritte due isoforme prodotte da splicing alternativo, GLUT-9a (o *SLC2A9-L*) e GLUT-9b (o *SLC2A9-S*). In vitro, le due isoforme differiscono per il traffico intracellulare, in quanto la prima viene veicolata sulla membrana basolaterale, mentre la seconda si ritrova sia a livello apicale che basolaterale in cellule epiteliali polarizzate [22] (full text) [23] (full text). Pertanto si pensa che a livello del TP, l'isoforma apicale (GLUT-9b) medi l'uptake luminale di urato, mentre GLUT-9a l'exit interstiziale [24]. Tuttavia nell'uomo la presenza di GLUT9 è stata confermata solo a livello basolaterale.

ABCG2

L'ABCG2 è una proteina di 72 kDA costituita da sei domini transmembrana che appartiene alla famiglia delle proteine leganti l'ATP, Adenine triphosphate (ATP)-binding cassette (ABC), proteine etero ed omodimeriche che mediano il trasporto di numerose sostanze anche tra loro strutturalmente diverse. Il suo ruolo nella regolazione dei livelli plasmatici di AU nell'uomo è stato confermato da diversi studi di genetica, che hanno trovato una significativa correlazione tra i polimorfismi di questo gene e i livelli di uricemia e la comparsa di gotta [25] [26] (full text) [27] (full text). L'ABCG2 è espressa in numerosi organi e tessuti, come la placenta, l'intestino, il fegato, la barriera emato-encefalica, il testicolo, la mammella ed il rene [28] (full text) ed è largamente studiata in oncologia per il suo ruolo nella resistenza ai chemioterapici. A livello renale, è espressa sulla membrana apicale del TP, dove media la secrezione di urato [27] (full text). Tuttavia è stato dimostrato anche un ruolo nell'escrezione extrarenale.

Soggetti iperuricemici portatori di polimorfismi del gene *ABCG2* responsabili di una riduzione della funzione della proteina presentano un aumento dell'escrezione urinaria di AU [6]. Questo sorprendente risultato è stato spiegato mediante studi sperimentali condotti su topi knock out per *ABCG2*. L'assenza di *ABCG2* a livello intestinale determina una riduzione della quota di acido urico eliminata con le feci, con conseguente aumento dei livelli plasmatici ed un compensatorio incremento dell'eliminazione renale. Questi risultati hanno dimostrato che l'escrezione intestinale, sebbene "quantitativamente" inferiore a quella

renale, contribuisce in maniera significativa all'omeostasi dell'acido urico e che disfunzioni di questo processo possono contribuire alla patogenesi dell'iperuricemia.

NPT1(SLC17A1) e NPT4 (SLC17A3)

La famiglia dei trasportatori SLC17 comprende 9 proteine strutturalmente analoghe coinvolte nel trasporto transmembrana di anioni organici. I primi membri identificati, SLC17A1-4, furono descritti come trasportatori dei fosfati sodio dipendenti [29] (full text) e definiti trasportatori del fosfato di tipo I, NPT1 (NaPi-1), III, IV e V. NaPi2 invece non appartiene a questa famiglia. Sebbene il ruolo iniziale attribuito a NPT1 è stato quello del riassorbimento di fosfato, studi successivi hanno messo in discussione che questo sia il ruolo principale della proteina ed oggi si ritiene che il riassorbimento di fosfato dipenda in maniera preponderante dai trasportatori di tipo II e III. È stato dimostrato, invece, che NPT1 possiede affinità per gli anioni organici [30]. NPT1 e NPT4 sono stati localizzati sulla membrana plasmatica del TP e in quota minore sui sinusoidi epatici, dove mediano il trasporto elettrogenico di diverse sostanze, come l'urato e l'acido p-amminoippurico [31] (full text). La loro funzione, *in vivo*, sembra essere la secrezione luminale di urato [24]. L'associazione di polimorfismi di SLC17A3 con la gotta suggerisce il ruolo di queste proteine nell'omeostasi dell'acido urico anche nell'uomo [25].

OATs

I trasportatori degli anioni organici (OATs) rappresentano una famiglia di proteine transmembrana ritenute indispensabili per l'escrezione di farmaci e tossine. Tali proteine sono espresse nel rene, nel fegato e in vari tipi di cellule endoteliali in molte specie [32] (full text). Appartiene a questa famiglia URAT1 che, come esposto precedentemente, è espresso a livello della membrana apicale delle cellule del PT e media il riassorbimento di acido urico. OAT1 e 3, invece, sono due proteine transmembrana codificate nell'uomo rispettivamente dai geni SLC22A6 and SLC22A8 localizzati sul cromosoma 11. Studi di immunolocalizzazione hanno dimostrato la loro espressione sulla membrana basolaterale delle cellule del PT del rene dell'uomo [33] (full text). Esperimenti di caratterizzazione funzionale *in vitro* hanno dimostrato che entrambe fungono da contro-trasportatori multi-specifici, che sfruttano il gradiente di acidi dicarbossilici endogeni come l'alfachetoglutarato e il glutarato che vengono contro-trasportati nell'interstizio [34] (full text). Questo sistema di trasporto rappresenta la prima tappa di secrezione luminale di sostanze endogene ed esogene, come l'urato, l'acido para-amminoippurico e numerosi farmaci. In modelli sperimentali murini, l'assenza di OAT 1 e 3 causa un difetto dell'escrezione renale di urato. Il reale contributo di queste proteine nell'omeostasi dell'acido urico nell'uomo resta da definire, in quanto non sono note mutazioni geniche o polimorfismi associati ad iperuricemia.

OAT4 nell'uomo è espresso nella placenta e nel rene [35] dove è stato localizzato sulla membrana apicale del TP [36] (full text). Non essendo stato identificato un omologo di OAT4 nel topo, si pensa che sia espresso solo nei primati superiori. OAT4 è un trasportatore dell'acido urico a bassa affinità rispetto ad URAT1 e scambia l'urato con acidi organici, il cloro e i gruppi idrossilici [36] (full text). Diversi polimorfismi del gene SLC22A11, che codifica per OAT4, correlano significativamente con i livelli plasmatici di acido urico nell'uomo [37] [38] (full text). Un recente studio di genome-wide condotto su oltre 500 pazienti giapponesi affetti da gotta ha dimostrato un'associazione significativa di un polimorfismo di SLC22A11 ed i casi di gotta da ridotta eliminazione renale [39] (full text), dato che suggerisce un ruolo significativo di OAT4 nell'handling renale di acido urico.

Il gene codificante la proteina OAT10 è espresso nel rene e nel colon umano. Nel ratto, questa proteina è stata localizzata lungo la membrana apicale del TP e lungo il dotto col-

lettore. Studi in vitro hanno dimostrato la sua attività di contro-trasportatore urato-acido monocarbosilici, tuttavia il ruolo nell'uomo resta da determinare.

hUAT/galectina 9

Alla proteina hUAT, definita anche galectina 9, sono state attribuite diverse funzioni, tra cui quella di trasporto dell'urato, proposto per la prima volta nel 2004 [40]. Nell'uomo, il gene UAT è localizzato sul braccio corto del cromosoma 17. Nel mammifero, questa proteina di membrana è espressa in molti tessuti ed organi. A livello renale è localizzata lungo la membrana apicale del TP, dove media il trasporto bidirezionale dell'urato. Esperimenti *in vitro* hanno dimostrato che hUAT, espresso in cellule renali di mammifero, è una proteina transmembrana con almeno 2 domini transmembranari altamente selettiva per l'urato [41]. Studi di RT-PCR hanno confermato l'espressione di questo gene anche nel rene umano [42]. In considerazione della vasta distribuzione tissutale, oltre al ruolo nel trasporto trans-epiteliale renale, questo trasportatore è probabilmente importante nell'handling dell'AU anche in altri tessuti. Il reale ruolo di hUAT nell'omeostasi dell'urato nell'uomo resta tuttavia da confermare.

Funzioni biologiche dell'acido urico: è solo un prodotto di degradazione?

Nei modelli sperimentali murini, l'inattivazione dell'uricasi determina un aumento dei livelli plasmatici di acido urico con massiva deposizione di cristalli nel tessuto renale, nefropatia ostruttiva e morte precoce prima della maturità sessuale [43] (full text). Tuttavia, la scomparsa di questa attività enzimatica nel corso dell'evoluzione dei primati ha suggerito che tale processo, attraverso l'aumento dei livelli plasmatici di AU, abbia fornito un vantaggio selettivo. Le ragioni di questo vantaggio sono speculative e sono inficiate dalla scarsa conoscenza del suo ruolo biologico.

Acido urico come prodotto inerte del catabolismo purinico

L'AU è stato a lungo considerato un prodotto metabolico inerte, con l'unica funzione di veicolare all'esterno dell'organismo le sostanze che derivano dalla degradazione delle purine. Gli animali uricotelici hanno il vantaggio di eliminare grosse quantità di azoto in assenza di acqua, in quanto eliminano l'AU sotto forma di cristalli. In queste specie l'eliminazione dell'azoto sottoforma di AU permette di trattenere acqua. Nell'uomo invece, l'eliminazione dell'azoto attraverso le molecole di AU, e soprattutto di cristalli di AU, rappresenta una minima quota dell'azoto escreto ed è pertanto improbabile che nella nostra specie la produzione e l'escrezione di questa sostanza serva ad eliminare l'azoto in modo da trattenere acqua. Altre funzioni biologiche sono state proposte, come spiegato di seguito.

Acido urico e stress ossidativo

Negli anni Ottanta, Ames *et al* suggerirono che l'AU potesse avere una funzione anti-ossidante. Questo studio dimostrò che l'AU reagisce con diverse specie reattive dell'ossigeno inattivandole, come il perossinitrito, l'anione superossido ed i radicali idrossilici. Tali osservazioni erano alla base del rationale dell'ipotesi di Ames, secondo cui la scomparsa dell'attività dell'uricasi nell'evoluzione dei primati offriva un vantaggio per la sopravvivenza mediante l'effetto protettivo dell'iperuricemia rispetto allo stress ossidativo, proteggendo dall'invecchiamento e da molte malattie, come il cancro [44]. Tuttavia, molte condizioni cliniche associate ad iperuricemia, come l'aterosclerosi, l'obesità, il diabete mellito e la sindrome metabolica, sono caratterizzate da un aumento dello stress ossidativo [45]. È possibile che l'aumento dell'AU sia una risposta adattativa finalizzata a contrastare lo

stress ossidativo causato da queste situazioni patologiche; tuttavia gran parte della letteratura suggerisce un ruolo patogenetico dell'AU in queste condizioni morbose. Diversi studi di popolazione hanno dimostrato che l'iperuricemia è un fattore predittivo indipendente per lo sviluppo di ipertensione arteriosa. A sostegno di queste evidenze, l'aumento dei livelli plasmatici di AU in modelli animali privati della funzione dell'uricasi si associa alla comparsa di ipertensione, attraverso alterazioni dell'emodinamica renale. Inoltre, come molte sostanze, l'AU ha dimostrato non solo proprietà anti-ossidanti, ma anche pro-ossidative. L'equilibrio tra queste due proprietà dipende dal concorso di diversi fattori. Nelle cellule, è stato dimostrato un effetto pro-ossidativo dell'AU, attraverso l'induzione del NADPH ossidasi [46]. È stato, inoltre, postulato che l'attivazione dello stress ossidativo intracellulare possa mediare il ruolo dell'AU nell'ipertensione arteriosa, attraverso la disfunzione endoteliale, e nell'obesità, attraverso la riduzione dell'ossido nitrico endoteliale e conseguente induzione della resistenza insulinica. Pertanto se le mutazioni dell'uricasi hanno conferito un vantaggio selettivo nel Miocene, attraverso l'aumento dei livelli di pressione arteriosa e l'induzione della resistenza insulinica e lieve obesità in epoca di carestia e stress, nel mondo moderno livelli più elevati di AU predispongono allo sviluppo di patologie metaboliche e cardiovascolari [47] ([full text](#)).

Acido urico e sistema immunitario

La deposizione di cristalli di urato monosodico è un fenomeno cruciale nell'attivazione dei processi infiammatori responsabili dell'artrite gottosa. Dopo la precipitazione, si ha un richiamo di polimorfo nucleati nell'area di interesse, con conseguente fagocitosi dei cristalli ed innesco del processo infiammatorio, ritenuto immediato ed aspecifico. Tuttavia, nell'ultimo decennio diversi studi hanno dimostrato un ruolo "immunogenico" dell'acido urico.

La necrosi cellulare determina il rilascio di sostanze pro infiammatorie, allo scopo di combattere la causa iniziale di danno e, contestualmente, di avviare il processo riparativo. I meccanismi molecolari di tali processi restano largamente sconosciuti. *Shi et al* hanno dimostrato che, tra le sostanze pro-infiammatorie, le cellule in necrosi rilasciano i cristalli di urato monosodico. Questi ultimi sono capaci di indurre la maturazione delle cellule dendritiche, con conseguente attivazione dei linfociti CD8⁺ [48]. Tale risposta sembrerebbe specifica per i cristalloidi di urato monosodico, in quanto non risulta inducibile da altri cristalli. Un recettore specifico per i cristalli di urato monosodico non è stato identificato, ma è stata caratterizzata la cascata di attivazione infiammatoria, individuando il coinvolgimento della caspasi 1 e delle proteine della famiglia NLRP con conseguente produzione di citochine pro-infiammatorie [49] [50] ([full text](#)).

Acido urico ed apparato cardio-vascolare

Numerose evidenze supportano l'ipotesi di un ruolo dell'AU nel controllo della pressione arteriosa, attraverso un effetto vasoattivo e sodio ritentivo [51]. Manipolazioni genetiche e farmacologiche finalizzate a modificare i livelli di AU in modelli sperimentali animali, esperimenti *in vitro* e studi epidemiologici sostengono questa ipotesi. Le prime associazioni tra ipertensione arteriosa ed iperuricemia nell'uomo risalgono a studi epidemiologici degli anni 50 [52] ([full text](#)), tuttavia questa associazione è stata a lungo ignorata per la mancata conoscenza di un possibile meccanismo patogenetico.

Studi di fisiopatologia hanno, successivamente, fatto luce sul possibile ruolo causale dell'AU nell'ipertensione arteriosa. Ratti resi farmacologicamente iperuricemici sviluppavano ipertensione arteriosa, la cui insorgenza veniva prevenuta dall'uso concomitante di allopurinolo [53] ([full text](#)). L'induzione del processo ipertensivo, in questo studio, si associava

all'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone ed a una down regolazione della sintesi dell'ossido nitrico a livello della macula densa. Inoltre, studi istologici hanno dimostrato la presenza di un'infiltrazione macrofagica nel rene di ratto iperuricemico, ulteriore fattore capace di contribuire all'effetto nefrotossico e pro-ipertensivo dell'AU.

Oltre a queste evidenze sperimentali, diversi studi epidemiologici hanno dimostrato una correlazione tra iperuricemia e mortalità cardiovascolare.

Lo studio Framingham, nel 1999, negò l'associazione tra l'iperuricemia e la malattia e la mortalità cardiovascolare [54]; al contrario, secondo questo studio, l'apparente associazione osservata da altri gruppi era da attribuire alla presenza di fattori confondenti di rischio cardio-vascolare coesistenti all'iperuricemia.

Gran parte degli studi successivi, invece, sono concordi nel definire l'AU un fattore predittivo indipendente di mortalità cardiovascolare (CV). Nella popolazione dello studio NANHES, l'acido urico è risultato un fattore predittivo di mortalità CV sia nel sesso maschile che femminile [55]. Analoghi risultati sono stati ottenuti da numerosi altri studi di popolazione. Recenti metanalisi [56] [57] hanno dimostrato un'associazione indipendente tra iperuricemia e mortalità per tutte le cause e mortalità CV. Sebbene queste evidenze supportino un ruolo causale dell'iperuricemia nell'ipertensione e nella mortalità CV, mancano studi di intervento condotti su una popolazione numerosa di pazienti necessari a confermare l'utilità della terapia ipouricemizzante a scopi diversi rispetto all'iperuricemia sintomatica. Ad oggi uno degli studi più recenti non supporta il ruolo dell'allopurinolo nella prevenzione di eventi cardiovascolari in oltre 2000 pazienti affetti da gotta nel corso di un follow up mediano di 5.25 anni [58] (full text).

Conclusioni

Le ricerche dell'ultimo ventennio hanno prodotto progressi importanti nella caratterizzazione molecolare dei processi di trasporto dell'urato a livello renale ed extrarenale. L'attenzione verso questi sistemi omeostatici è stata recentemente esaltata dal crescente numero di studi epidemiologici che hanno correlato l'iperuricemia alla mortalità cardiovascolare. Tuttavia, le differenze nell'handling dell'AU tra l'uomo e le specie animali comunemente utilizzate come modelli sperimentali rappresentano un limite importante allo sviluppo di nuove conoscenze, e la validazione nell'uomo di tali scoperte assume un ruolo determinante. Robuste evidenze supportano il ruolo dello scambiatore urato-anioni URAT1, che media il riassorbimento apicale, della proteina basolaterale GLUT9, responsabile dell'escrezione interstiziale, e della proteina ABCG2, implicata nella secrezione renale ed extrarenale di urato. Inoltre, recenti evidenze suggeriscono un ruolo di NPT1, di NPT4 e di OAT4 nella secrezione di urato nell'uomo. Numerose altre proteine coinvolte nell'handling renale dell'AU sono state caratterizzate in modelli sperimentali cellulari ed animali; tuttavia il loro reale contributo nell'omeostasi dell'AU nell'uomo resta da determinare. Il progresso di queste conoscenze fornisce il razionale per lo sviluppo di nuove prospettive terapeutiche nel trattamento dei disturbi dell'omeostasi dell'acido urico.

Bibliografia

[1] Watanabe S, Kang DH, Feng L et al. Uric acid, hominoid evolution, and the pathogenesis of salt-sensitivity. *Hypertension* 2002 Sep;40(3):355-60 (full text)

[2] Wu XW, Muzny DM, Lee CC et al. Two independent mutational events in the loss of urate oxidase during hominoid evolution. *Journal of molecular evolution* 1992 Jan;34(1):78-84

- [3] Christen P, Peacock WC, Christen AE et al. Urate oxidase in primate phylogenesis. *European journal of biochemistry / FEBS* 1970 Jan;12(1):3-5
- [4] Johnson RJ, Segal MS, Srinivas T et al. Essential hypertension, progressive renal disease, and uric acid: a pathogenetic link? *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2005 Jul;16(7):1909-19 (full text)
- [5] Matsuo H, Takada T, Ichida K et al. Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout: a function-based genetic analysis in a Japanese population. *Science translational medicine* 2009 Nov 4;1(5):5ra11 (full text)
- [6] Ichida K, Matsuo H, Takada T et al. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nature communications* 2012 Apr 3;3:764
- [7] Nakayama A, Matsuo H, Shimizu T et al. Common missense variant of monocarboxylate transporter 9 (MCT9/SLC16A9) gene is associated with renal overload gout, but not with all gout susceptibility. *Human cell* 2013 Dec;26(4):133-6
- [8] Capasso G, Jaeger P, Robertson WG et al. Uric acid and the kidney: urate transport, stone disease and progressive renal failure. *Current pharmaceutical design* 2005;11(32):4153-9
- [9] Guggino SE, Aronson PS Paradoxical effects of pyrazinoate and nicotinate on urate transport in dog renal microvillus membranes. *The Journal of clinical investigation* 1985 Aug;76(2):543-7
- [10] Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A et al. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature* 2002 May 23;417(6887):447-52
- [11] Ikarashi R, Shibasaki K, Yamaguchi A et al. Immunohistochemical studies of organic anion transporters and urate transporter 1 expression in human salivary gland. *Acta odontologica Scandinavica* 2013 Mar;71(2):312-6
- [12] Price KL, Sautin YY, Long DA et al. Human vascular smooth muscle cells express a urate transporter. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2006 Jul;17(7):1791-5 (full text)
- [13] Ichida K, Hosoyamada M, Hisatome I et al. Clinical and molecular analysis of patients with renal hypouricemia in Japan: influence of URAT1 gene on urinary urate excretion. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2004 Jan;15(1):164-73 (full text)
- [14] Jeannin G, Chiarelli N, Gaggiotti M et al. Recurrent exercise-induced acute renal failure in a young Pakistani man with severe renal hypouricemia and SLC2A9 compound heterozygosity. *BMC medical genetics* 2014 Jan 7;15:3 (full text)
- [15] Sato M, Wakayama T, Mamada H et al. Identification and functional characterization of uric acid transporter Urat1 (Slc22a12) in rats. *Biochimica et biophysica acta* 2011 Jun;1808(6):1441-7 (full text)
- [16] Doblado M, Moley KH Facilitative glucose transporter 9, a unique hexose and urate transporter. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 2009 Oct;297(4):E831-5 (full text)
- [17] Vitart V, Rudan I, Hayward C et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nature genetics* 2008 Apr;40(4):437-42
- [18] Stark K, Reinhard W, Neureuther K et al. Association of common polymorphisms in GLUT9 gene with gout but not with coronary artery disease in a large case-control study. *PLoS one* 2008 Apr 9;3(4):e1948 (full text)
- [19] Matsuo H, Chiba T, Nagamori S et al. Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *American journal of human genetics* 2008 Dec;83(6):744-51 (full text)
- [20] Anzai N, Ichida K, Jutabha P et al. Plasma urate level is directly regulated by a voltage-driven urate efflux transporter URATv1 (SLC2A9) in humans. *The Journal of biological chemistry* 2008 Oct 3;283(40):26834-8 (full text)
- [21] Preitner F, Bonny O, Laverrière A et al. Glut9 is a major regulator of urate homeostasis and its genetic inactivation induces hyperuricosuria and urate nephropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009 Sep 8;106(36):15501-6 (full text)
- [22] Augustin R, Carayannopoulos MO, Dowd LO et al. Identification and characterization of human glucose transporter-like protein-9 (GLUT9): alternative splicing alters trafficking. *The Journal of biological chemistry* 2004 Apr 16;279(16):16229-36 (full text)
- [23] Kimura T, Takahashi M, Yan K et al. Expression of SLC2A9 isoforms in the kidney and their localization in polarized epithelial cells. *PLoS one* 2014;9(1):e84996 (full text)
- [24] Reginato AM, Mount DB, Yang I et al. The genetics of hyperuricaemia and gout. *Nature reviews. Rheumatology* 2012 Oct;8(10):610-21
- [25] Dehghan A, Köttgen A, Yang Q et al. Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet* 2008 Dec 6;372(9654):1953-61
- [26] Yamagishi K, Tanigawa T, Kitamura A et al. The rs2231142 variant of the ABCG2 gene is associated with uric acid levels and gout among Japanese people. *Rheumatology (Oxford, England)* 2010 Aug;49(8):1461-5 (full text)
- [27] Woodward OM, Köttgen A, Coresh J et al. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009 Jun 23;106(25):10338-42 (full text)
- [28] Noguchi K, Katayama K, Sugimoto Y et al. Human ABC transporter ABCG2/BCRP expression in chemoresistance: basic and clinical perspectives for molecular cancer therapeutics. *Pharmacogenomics and personalized medicine* 2014;7:53-64 (full text)
- [29] Murer H, Hernando N, Forster I et al. Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiological reviews* 2000 Oct;80(4):1373-409 (full text)
- [30] Miyamoto K, Haito-Sugino S, Kuwahara S et al. Sodium-dependent phosphate cotransporters: lessons from gene knockout and mutation studies. *Journal of pharmaceutical sciences* 2011 Sep;100(9):3719-30
- [31] Jutabha P, Anzai N, Kitamura K et al. Human sodium phosphate transporter 4 (hNPT4/SLC17A3) as a common renal secretory pathway for drugs and urate. *The Journal of biological chemistry* 2010 Nov 5;285(45):35123-32 (full text)
- [32] Ahn SY, Nigam SK Toward a systems level understanding of organic anion and other multispecific drug transporters: a remote sensing and signaling hypothesis. *Molecular pharmacology* 2009 Sep;76(3):481-90 (full text)
- [33] Motohashi H, Sakurai Y, Saito H et al. Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2002 Apr;13(4):866-74 (full text)

- [34] Sekine T, Miyazaki H, Endou H et al. Molecular physiology of renal organic anion transporters. *American journal of physiology. Renal physiology* 2006 Feb;290(2):F251-61 (full text)
- [35] Bleasby K, Castle JC, Roberts CJ et al. Expression profiles of 50 xenobiotic transporter genes in humans and pre-clinical species: a resource for investigations into drug disposition. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems* 2006 Oct-Nov;36(10-11):963-88
- [36] Hagos Y, Stein D, Ugele B et al. Human renal organic anion transporter 4 operates as an asymmetric urate transporter. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2007 Feb;18(2):430-9 (full text)
- [37] Köttgen A, Albrecht E, Teumer A et al. Genome-wide association analyses identify 18 new loci associated with serum urate concentrations. *Nature genetics* 2013 Feb;45(2):145-54
- [38] Flynn TJ, Phipps-Green A, Hollis-Moffatt JE et al. Association analysis of the SLC22A11 (organic anion transporter 4) and SLC22A12 (urate transporter 1) urate transporter locus with gout in New Zealand case-control sample sets reveals multiple ancestral-specific effects. *Arthritis research & therapy* 2013;15(6):R220 (full text)
- [39] Sakiyama M, Matsuo H, Shimizu S et al. A common variant of organic anion transporter 4 (OAT4/SLC22A11) gene is associated with renal underexcretion type gout. *Drug metabolism and pharmacokinetics* 2014;29(2):208-10 (full text)
- [40] Lipkowitz MS, Leal-Pinto E, Cohen BE et al. Galectin 9 is the sugar-regulated urate transporter/channel UAT. *Glycoconjugate journal* 2004;19(7-9):491-8
- [41] Lipkowitz MS, Leal-Pinto E, Rappoport JZ et al. Functional reconstitution, membrane targeting, genomic structure, and chromosomal localization of a human urate transporter. *The Journal of clinical investigation* 2001 May;107(9):1103-15
- [42] Spitzenberger F, Graessler J, Schroeder HE et al. Molecular and functional characterization of galectin 9 mRNA isoforms in porcine and human cells and tissues. *Biochimie* 2001 Sep;83(9):851-62
- [43] Wu X, Wakamiya M, Vaishnav S et al. Hyperuricemia and urate nephropathy in urate oxidase-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994 Jan 18;91(2):742-6 (full text)
- [44] Ames BN, Cathcart R, Schwiers E et al. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1981 Nov;78(11):6858-62
- [45] Gagliardi AC, Miname MH, Santos RD et al. Uric acid: A marker of increased cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 2009 Jan;202(1):11-7
- [46] Johnson RJ, Lanasa MA, Gaucher EA et al. Uric acid: a danger signal from the RNA world that may have a role in the epidemic of obesity, metabolic syndrome, and cardiorenal disease: evolutionary considerations. *Seminars in nephrology* 2011 Sep;31(5):394-9
- [47] Johnson RJ, Sánchez-Lozada LG, Mazzali M et al. What are the key arguments against uric acid as a true risk factor for hypertension? *Hypertension* 2013 May;61(5):948-51 (full text)
- [48] Shi Y, Evans JE, Rock KL et al. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 2003 Oct 2;425(6957):516-21
- [49] Martinon F, Pétrilli V, Mayor A et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 2006 Mar 9;440(7081):237-41
- [50] Kingsbury SR, Conaghan PG, McDermott MF et al. The role of the NLRP3 inflammasome in gout. *Journal of inflammation research* 2011;4:39-49 (full text)
- [51] Moe OW Uric acid nephrolithiasis: proton titration of an essential molecule? *Current opinion in nephrology and hypertension* 2006 Jul;15(4):366-73
- [52] Feig DI, Mazzali M, Kang DH et al. Serum uric acid: a risk factor and a target for treatment? *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2006 Apr;17(4 Suppl 2):S69-73 (full text)
- [53] Mazzali M, Hughes J, Kim YG et al. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism. *Hypertension* 2001 Nov;38(5):1101-6 (full text)
- [54] Culleton BF, Larson MG, Kannel WB et al. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. *Annals of internal medicine* 1999 Jul 6;131(1):7-13
- [55] Fang J, Alderman MH Serum uric acid and cardiovascular mortality the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1992. *National Health and Nutrition Examination Survey. JAMA* 2000 May 10;283(18):2404-10
- [56] Zhao G, Huang L, Song M et al. Baseline serum uric acid level as a predictor of cardiovascular disease related mortality and all-cause mortality: a meta-analysis of prospective studies. *Atherosclerosis* 2013 Nov;231(1):61-8
- [57] Tamariz L, Harzand A, Palacio A et al. Uric acid as a predictor of all-cause mortality in heart failure: a meta-analysis. *Congestive heart failure (Greenwich, Conn.)* 2011 Jan-Feb;17(1):25-30
- [58] Kok VC, Horng JT, Chang WS et al. Allopurinol therapy in gout patients does not associate with beneficial cardiovascular outcomes: a population-based matched-cohort study. *PLoS one* 2014;9(6):e99102 (full text)