

# La storia dell'equilibrio acido-base (I<sup>a</sup> parte)

Mario Tarantino

Già primario del Laboratorio di Analisi chimico-cliniche dell'Ospedale di Saronno, Varese

## SINTESI

*Nel contesto della Storia della Medicina l'Equilibrio Acido-Base presenta la peculiarità di un'evoluzione in continuo divenire, non solo e non tanto quale risultato del progresso delle conoscenze sia in campo fisiologico che fisiopatologico e clinico – il che è comune a tutti i campi della Scienza Medica, ma anche per quanto riguarda gli stessi fondamenti biochimici, come dimostrano la recente revisione critica di P Stewart e quelle del tutto attuali di J Corey e di JA Kellum – e questo è un po' più singolare. Pur iniziando alcuni secoli fa, la storia dell'equilibrio acido-base*

*ha avuto un'evoluzione lenta e difficile, ed i concetti moderni sono pressochè esplosi entro un paio di decenni all'inizio del secolo XX. Tanto più quindi, riguardandole retrospettivamente, destano meraviglia ed ammirazione le intuizioni precorritrici di studiosi come R Boyle, JB van Helmont, AL Lavoisier, per citare solo alcuni dei più importanti scienziati che hanno preparato le basi delle conoscenze attuali in questo capitolo affascinante della fisiologia e della clinica, che appartiene trasversalmente a tutte le Specialità Mediche e Chirurgiche.*

Tra i capitoli della scienza medica l'equilibrio acido-base è caratterizzato da alcuni aspetti peculiari. Tra questi vi è anche la sua storia, che è relativamente recente: le acquisizioni di rilevanza scientifica sono infatti tutte quante esplose nel breve arco di tempo tra l'inizio e gli anni Cinquanta del XX secolo. L'evoluzione delle conoscenze – non solo e non tanto il progresso nelle informazioni sull'eziologia o sulla patogenesi o anche sulla terapia di questo o di quel disordine, fenomeno comune a ogni aspetto della scienza medica – ma precipuamente i principi di biochimica su cui si fonda, e questo è meno comune, sono tuttora in evoluzione, come P. Stewart ha dimostrato negli scorsi anni Ottanta, e come dimostrano gli studi del tutto attuali di J.A. Kellum e di H.E. Corey. Raccontarne la storia è quindi interessante, e serve a far capire i misteri di questo capitolo tra i più affascinanti della fisiologia e della patologia. Facciamo presente che il merito di questi articoli non è di chi scrive, ma è di P. Astrup e di J.W. Severinghaus dal cui bellissimo libro *The History of Blood Gases, Acids and Bases* sono stati recensiti alcuni capitoli. Va da sé che vi si aggiunge il ricordo di chi scrive, che iniziò la carriera laboratoristica proprio al culmine dell'esplosione delle conoscenze, formando la propria esperienza tra l'apparecchio gasometrico di van Slyke, la titolazione del bicarbonato e i primi pH-metri a elettrodo di vetro.

## Le prime indagini su acidi e basi in medicina

Con l'evolversi, tra il XVII e il XVIII secolo, dei primi fondamenti di quella che sarà la fisica e la chimica moderna, prendono avvio anche i primi studi sulla biochimica fisiologica e, in questo contesto, le prime segnalazioni sugli acidi e le basi nei liquidi corporei. Come abbiamo accennato più sopra, la conoscenza degli acidi e delle basi in natura è molto antica: proviene dall'India (XI-XII secolo) giungendo in Europa attraverso gli Arabi nel XIII secolo: *alcali* deriva dall'arabo *al qali* = cenere, giacché le basi soda e potassa si ottenevano in passato dalle ceneri del legno di diverse piante. L'importanza degli acidi e delle basi nei primi secoli fu tale che intorno al XVI secolo si giunse alla convinzione che tutta la chimica fosse composta da acidi e da basi, e che i composti neutri fossero unicamente il risultato della combinazione equilibrata di un acido e di una base. Questo modo di vedere si estendeva anche agli aspetti fisiologici: in analogia con la fermentazione alcolica con produzione di anidride carbonica (scoperta da J.B. van Helmont, 1577-1644, all'inizio del XVII secolo) si riteneva che un'analogia fermentazione avvenisse anche nell'organismo, cosicché i processi vitali dovevano essere controllati da una bilanciata produzione di acidi e di basi, mentre gli stati patologici erano causati da

fermentazioni anormali con un eccesso di acidi o di alcali, *acrimoniae acidae et lixiviosae*.

R. Boyle (1627-1691) con la sua scuola fu il primo a contestare seriamente queste convinzioni, dimostrando la natura né acida né basica di molte sostanze neutre e, per quanto riguarda la biologia, affrontando l'analisi chimica del sangue, sia nella parte corpuscolata sia in quella liquida, per mezzo di tecniche di distillazione, incenerimento, reazioni con alcoli e con acidi. Benché avesse ipotizzato che il sangue dovesse contenere necessariamente un acido, perché la secrezione gastrica – indubbiamente un prodotto del sangue – è acida, quando sottopone il sangue a distillazione Boyle trova tuttavia «*Hostility of the Spirit of Human Blood to the Acid*», come descrive nelle sue *Memoirs for the Natural History of the Humane Blood* nel 1684. Benché a noi più noto per il suo importante contributo alla fisica e alla chimica dei gas, e per la realizzazione della prima pompa a vuoto, che fu utile anche per le ricerche sui gas del sangue, non meno importanti sono gli studi di questo grande scienziato nel campo della chimica acido-base. Definì molte delle proprietà degli acidi e delle basi, dimostrando tra l'altro che soluzioni alcaline di diverse sostanze formano un sedimento quando vi viene aggiunto un acido; avendo osservato che lo scioppo di violette cambia colore da blu in soluzione alcalina a rosso in soluzione acida, creò gli indicatori acido-base, utilizzando il succo di diverse piante ed essiccandolo su pezzetti di carta, inventando così le cartine-indicatore. Tuttavia non fece uso degli indicatori nei suoi esperimenti sul sangue, limitandosi a ritenere acclarato che fosse di reazione neutra, «come si può desumere dal sapore».

D'altronde l'approfondimento circa la "reazione" del sangue non appare riscuotesse grande interesse in quel tempo, in contrasto ad esempio con le ricerche sui gas del sangue, come vedremo assai più assidue e tempestive: infatti, dopo gli esperimenti di Boyle, soltanto nel 1776 troviamo una segnalazione di H.M. Rouelle (1718-1779) che riferisce che il sangue è lievemente alcalino, il che viene attribuito al sodio, mentre J.J. Berzelius (1779-1848), il più illustre scienziato svedese del suo tempo, riporta nel suo *Föreläsningar över Djurkemi* del 1808 che la parte liquida del sangue contiene albumina, alcuni sali e una piccola quantità di *alcali liberi*. Oltre queste segnalazioni, ben poche sono le informazioni sull'*alcalescenza* del sangue nei testi di fisiologia o di biochimica medica fino ai primi decenni del XIX secolo.

In confronto, maggiore interesse appare rivolto allo stato acido-base di altri liquidi corporei. La dimostrazione dell'acidità del succo gastrico risale al secolo

XVII, dovuta a van Helmont e generalmente condivisa perché ritenuta importante per la digestione. Che l'urina fosse acida era noto già molto tempo prima di Boyle, merito anche qui, si ritiene, di van Helmont. Ma per un approfondimento del significato e della composizione dell'acidità urinaria bisogna aspettare i primi decenni del XIX secolo. Nel 1820 W. Prout (1786-1850) propone una sorta di standardizzazione della misura dell'acidità urinaria mediante l'uso della cartina al tornasole. Berzelius attribuisce l'acidità dell'urina all'acido lattico, che egli aveva dimostrato nel sangue, e rivela altresì la presenza di solfato, fosfato e carbonato, mentre Rouelle trova l'acido ippurico e C.W. Scheele (1742-1786) l'acido benzoico.

Un importante contributo si deve ad H. Bence Jones (1813-1878), a tutti noto per la proteina urinaria termosolubile che porta il suo nome. Nel 1845, durante i suoi studi sulle urine presso il St George Hospital di Londra dove prestava servizio quale medico residente, aveva ricevuto da un collega di Belfast la segnalazione del viraggio in direzione alcalina della reazione dell'urina nel periodo post-prandiale. Colpito da questa segnalazione, Bence Jones iniziò un accurato studio sulle variazioni circadiane dell'acidità urinaria, raccogliendo una dettagliata documentazione sulla relazione tra l'acidità urinaria e l'alimentazione. Oltre a confermare l'*alkaline tide* post-prandiale, che mette in relazione con il simultaneo aumento della secrezione gastrica, Bence Jones prospetta altresì che le variazioni dell'acidità urinaria devono essere il riflesso delle variazioni dell'alcalinità del sangue, la cui regolazione dipende dall'eliminazione della volatile anidride carbonica nei polmoni e dell'acido-base non volatile nel rene. In studi successivi, Bence Jones dimostra che un carico di acido solforico è quantitativamente eliminato nell'urina e che nei pazienti con vomito grave l'urina diventa alcalina. È evidente l'importanza di questi studi, che per la prima volta mettono in relazione l'equilibrio acido-base con il metabolismo energetico e anticipano con sorprendente lucidità i concetti moderni della regolazione omeostatica dello stato acido-base.

## Il contributo dell'epidemia di colera

Nello stesso tempo un ulteriore impulso al progresso delle conoscenze non solo dell'equilibrio acido-base, ma anche delle sue relazioni col metabolismo idrico-elettrolitico, venne, purtroppo, dal dilagare dell'epidemia di colera che, iniziata in India nel 1817, si diffuse rapidamente in Russia, Polonia, Germania fino a lambire la Gran Bretagna intorno al 1830.

Specialmente importanti furono gli studi di W.B. O'Shaughnessy (1809-1889) e di W.R. Clanny (177-

6-1850), comparsi su *Lancet* pressoché contemporaneamente nel dicembre 1831. Il lavoro di O'Shaughnessy, che può essere considerato il primo esperimento di analisi del sangue correttamente condotta in pazienti con colera, descrive il sangue di questi pazienti «di colore nerastro, anche quello arterioso, e così denso da consentire con molta difficoltà la separazione del siero dal coagulo». L'analisi dimostrava «una marcata diminuzione dell'acqua nel siero, 860 parti ‰, e dei *neutral saline ingredients*, nonché la pressoché completa scomparsa della *free alkali*, l'aumento dell'urea nei casi dove l'eliminazione dell'urina era marcatamente ridotta, e per contro la presenza nelle feci di tutti i sali che erano deficitari nel sangue, soprattutto il *carbonato di soda*». I risultati di Clanny sono analoghi e riportano anche una descrizione dei metodi e della strumentazione adottati (*Description of Apparatus and Experiments for Determining the Composition of the Blood in Health and Disease*). Per la raccolta del campione veniva impiegato un tubo di vetro sotto vuoto, anticipando così di quasi un secolo il sistema vacutainer; l'analisi dei sali era fatta con tecniche di chimica inorganica sul campione dopo essiccamento e incenerimento; il dosaggio della *free alkali* era eseguito facendo passare su acqua di calce il gas estratto dal sangue mediante pompa a vuoto; la fibrina, le proteine e la *materia colorata* (emoglobina) erano misurate per pesata dopo opportuni trattamenti di coagulazione, precipitazione o essiccamento.

Questi studi sono stati importanti non solo dal punto di vista della fisiopatologia e della chimica clinica, ma anche perché, evidenziando quantitativamente i deficit dello stato acido-base ed elettrolitico, hanno dato avvio ai primi tentativi di terapia correttiva e reintegrativa delle perdite idrico-elettrolitiche. Contribuirono a questo fine anche gli studi di W. Stevens (1786-1868), medico inglese che aveva praticato a lungo nelle colonie delle Indie Occidentali e aveva accumulato una vasta esperienza nel trattamento di diverse enteriti tropicali comuni in quei Paesi. Nel suo trattato *Observations on the Healthy and Diseased Properties of the Blood* riferisce i risultati delle analisi del sangue, pressoché sovrapponibili a quelli di O'Shaughnessy e di Clanny, e soprattutto raccomanda l'uso delle soluzioni saline (muriato di soda, nitrato di potassa, carbonato di soda, sale di Rochelle e altri) indispensabili per il trattamento di queste forme cliniche «*from the moment that we considered fever as a disease of both the solids and the liquids*». Ma, sia perché le conoscenze della fisiologia del bilancio idrico-elettrolitico erano ancora assai limitate, sia perché le tecniche analitiche non erano ancora diffusamente disponibili ed erano comunque di complessità spesso

inaccessibile a molti ospedali, sia infine perché le apparecchiature per infusione venosa non erano ancora praticabili o lo erano solo a livello sperimentale, questi primi esperimenti di terapia correttiva fallirono, soprattutto perché la quantità dei liquidi somministrati era di gran lunga insufficiente a correggere il deficit del volume circolante che, come oggi sappiamo, in quelle condizioni è il problema più importante ai fini della sopravvivenza del paziente. Ben presto quindi si diffuse la convinzione che queste terapie fossero sbagliate e inefficaci, furono abbandonate e per lungo tempo rimasero nell'oblio. Così ad esempio nel 1850 C. Schmidt (1822-1894) dell'Università di Dorpat in Estonia pubblica i risultati delle analisi del sangue nei suoi pazienti con colera e, pur citando O'Shaughnessy e Clanny, non fa cenno di alcun trattamento reintegrativo. Dobbiamo aspettare fino al 1884 quando un italiano, A. Cantani (1837-1893) di Napoli, riferisce il trattamento favorevole dei suoi pazienti con colera mediante infusioni sottocutanee di sodio cloruro 0,4% e di sodio carbonato 0,3%, precisando che lo scopo principale era la correzione della deidratazione piuttosto che il deficit di alcali che tuttavia risultava dalle analisi del sangue. Seguirono analoghe segnalazioni in Francia e in Germania, ma soltanto nel 1910, con le approfondite e ampie ricerche di A.W. Sellards (1884-1941), risultò chiaramente definito il grave deficit di sodio bicarbonato nei pazienti con colera: mentre nel paziente normale 5 g di sodio bicarbonato erano sufficienti ad alcalinizzare l'urina, nei pazienti con colera ne erano necessari 30-90 g per ottenere lo stesso scopo. Il contenuto di CO<sub>2</sub> del sangue (per la prima volta specificamente dosata) era nella maggior parte dei casi inferiore a 10 mmol/l, contro un valore medio normale di 30 mmol/l. Dopo queste documentazioni, i provvedimenti correttivi e reintegrativi divennero progressivamente la regola nella terapia del colera, riducendone virtualmente a zero la mortalità purché il paziente fosse trattato tempestivamente.

Abbiamo accennato ai problemi dei disordini del bilancio idrico ed elettrolitico ben sapendo di non andare fuori tema, perché oggi sappiamo quanto stretti e interdipendenti siano i rapporti tra l'equilibrio idrico-elettrolitico e l'equilibrio acido-base: proprio al seguito degli studi che abbiamo ora descritto l'evidenza di questi rapporti si fece sempre più chiara nei primi anni del XX secolo, fino a confluire in un unico grande capitolo della fisiologia e della fisiopatologia come modernamente è intesa. Non a caso furono i pediatri tra i primi a rivolgere l'attenzione a questi studi, dato il loro interesse per i problemi connessi con le gastroenteriti acute del bambino. Già nel 1897 A. Czerny (1863-1941) aveva affermato che in que-

sti pazienti doveva esservi un'acidosi, facendo presente il tipo di respirazione assai simile a quella descritta da Kussmaul nel 1874 nei pazienti in coma diabetico; contemporaneamente veniva segnalata un'aumentata escrezione di ammoniaca nell'urina, ma non di acido come invece si riscontrava nel diabete mellito. Tuttavia la prova sicura dell'acidosi nella gastroenterite infantile si ebbe soltanto nel 1916 con gli studi di J. Howland (1873-1926) che dimostrarono, oltre all'iperventilazione, una ridotta tensione di  $\text{CO}_2$  nell'aria alveolare e un aumento della quantità di sodio bicarbonato necessario per ottenere l'alcalinizzazione dell'urina. Gli studi sia sulla fisiopatologia sia sulla clinica via via progredirono, e con le nuove conoscenze il miglioramento dei provvedimenti terapeutici si tradusse in una riduzione della mortalità dal 15-35% a meno del 5%. Pionieri in questo campo furono D.C. Darrow (1895-1965), H.E. Starling (1866-1927), che pubblicò nel 1909 *The Fluids of the Body*, J.P. Peters (1887-1955), autore del trattato *Body Water* pubblicato nel 1935, ma fu soprattutto J.L. Gamble che nel 1939, col suo trattato *Chemical Anatomy, Physiology and Pathology of Extracellular Fluid – a Lecture Syllabus* (che quelli della generazione di chi scrive questo articolo gelosamente e affettuosamente conservano nella propria libreria) pose i pilastri fondamentali della moderna biochimica fisiologica dell'equilibrio acido-base e idrico-elettrolitico e della fisiopatologia dei relativi disordini. Non vi è tra i medici chi non conosca i *gamble-grammi* e non se ne serva ancora oggi nello studio della fisiologia dell'omeostasi idrico-elettrolitica e della fisiopatologia dei suoi disordini.

Studi importanti sugli aspetti tossici e metabolici degli acidi e sulla loro eliminazione furono condotti nella seconda metà del secolo XIX all'Università di Dorpat in Estonia. I ricercatori di questa scuola con a capo C. Schmidt (1822-1894) erano particolarmente interessati agli effetti tossici degli acidi, al loro metabolismo e alla loro eliminazione, e avevano preso spunto dagli studi di Bence Jones sulle variazioni post-prandiali dell'acidità urinaria. Essi trovarono che un carico acido è tollerato sorprendentemente bene dall'animale specialmente se carnivoro, e attribuirono questa tolleranza alla neutralizzazione dell'acido nell'organismo mediante "consumo" dell'"alcali" del sangue, come era dimostrato dalla diminuzione dell'"alcalinità" del sangue e dal simultaneo aumento dell'eliminazione urinaria di "alcali", da loro identificato nel sodio. Dimostrarono altresì che lo zolfo delle sostanze organiche viene metabolizzato a solfato ed escreto nell'urina, ma i processi di neutralizzazione erano oscuri.

Un allievo di questa scuola, F. Walter sostenne nel suo

trattato *Untersuchungen über die Wirkung der Säuren auf den tierischen Organismus*, pubblicato nel 1877, che la  $\text{CO}_2$  è un indicatore del contenuto di "alcali" nel sangue. Le ricerche di Walter erano iniziate dallo studio della combinazione del sodio fosfato con la  $\text{CO}_2$ , messa in luce precedentemente da J.J. Berzelius (1779-1848) e da E. Fernet (1829-1905) e interpretata come uno dei meccanismi di trasporto della  $\text{CO}_2$  nel sangue. Impiegando la pompa a vuoto di Ludwig e l'eudiometro di Bunsen, Walter dimostrò che la  $\text{CO}_2$  nel sangue di coniglio diminuiva a un decimo - un quindicesimo del valore normale dopo somministrazione di acido cloridrico, nonostante il sangue conservasse una reazione alcalina, mentre si osservava un cospicuo aumento dell'escrezione di ammoniaca. Egli dimostrò inoltre che animali in acidosi grave fino alla paralisi respiratoria tornavano rapidamente alla normalità quando erano trattati con sodio carbonato per vena. L'importanza di questi studi, che sono i più significativi nella storia della ricerca acido-base sperimentale e che esercitarono una diretta influenza sull'evoluzione delle conoscenze sui disordini acido-base, avrebbe meritato una più chiara fama a Walter, se non fosse per il fatto che egli ben presto abbandonò la ricerca ritirandosi dapprima a esercitare come medico generico, e poi del tutto a vita privata in una sua tenuta di campagna nei pressi di Latvia.

## L'acidosi diabetica

Intorno alla metà del XIX secolo gli studi sul diabete mellito si intensificarono particolarmente. Fu in quel periodo che i primi piccoli laboratori cominciarono a comparire accanto alle sale di degenza ospedaliere, dando avvio allo sviluppo della chimica clinica. C.A. Trommer (1806-1879) e H. von Fehling (1812-1885) presentarono il metodo per dosare gli zuccheri nell'urina; nel 1865 C. Gerhardt (1833-1902) propose il metodo al cloruro ferrico per rivelare l'acetone nell'urina, che fu successivamente perfezionato da R. von Jaksch (1855-1947) per la determinazione dell'acido acetacetico; infine, nel 1882, E. Legal (1859-1922) pubblicò il suo metodo per rivelare l'acetone nell'urina. La positività di questi due ultimi test fu chiaramente dimostrata nei pazienti con diabete grave, ma sulle prime non pare abbia suggerito alcun sospetto della presenza di elevati livelli di acidi nell'urina. Fu B. Naunyn (1839-1925) che, con i suoi collaboratori della scuola di Medicina Interna dell'Università di Königsberg, nel 1880 intraprese le ricerche che condussero alla dimostrazione della chetoacidosi quale causa del coma diabetico. Naunyn, conoscendo i risultati di Walter che aveva trovato nel cane dopo carico acido un aumento dell'ammoniaca nell'urina e un ti-

po di respirazione assai simile a quella che Kussmaul aveva descritto nei pazienti in coma diabetico, volle ripetere questi esperimenti nel diabete grave e a tal fine si servì della collaborazione di E. Hallervorden (1853-1914) che aveva acquisito esperienza nel dosaggio dell'ammoniaca e dell'urea nell'urina in relazione con l'apporto dietetico di acidi e di basi all'Università di Strasburgo sotto la direzione di O. Schmiedeberg (1838-1921). Come era da aspettarsi, un aumento dell'ammoniaca urinaria fu trovato nei pazienti con diabete grave, e poiché l'escrezione urinaria del fosfato e del solfato era normale, Hallervorden e Naunyn conclusero che l'aumento doveva essere attribuito a un altro acido per il momento non noto.

Le indagini continuarono in quella direzione e nel 1883 E. Stadelman (1853-1941) affermò che un acido organico, che egli riteneva essere l'acido crotonico, era eliminato in grande quantità nell'urina dei pazienti diabetici. Questo studioso aveva dimostrato l'utilità del trattamento orale con alcali da lui proposto nel diabete grave, e dimostrato altresì l'innocuità di tale trattamento che, anche se protratto nel tempo, nell'uomo normale causava soltanto una diminuzione dell'ammoniaca urinaria e, se in larghe dosi, un'alcalinizzazione dell'urina senza alcuna altra alterazione apprezzabile dei componenti normalmente eliminati. Naunyn non era convinto dell'identificazione dell'acido crotonico quale responsabile del coma diabetico, ben consapevole della positività dell'urina in questa condizione al test di Legal, e affidò le ricerche a O. Minkowski (1858-1931) che all'Università di Strasburgo sotto la direzione di Schmiedeberg e in collaborazione con J.F. von Mering (1849-1908) aveva dimostrato nel cane l'insorgenza del diabete entro 24 ore dalla rimozione del pancreas. Nel 1884 Minkowski identificò l'acido  $\beta$ -idrossibutirrico che, in relazione con la presenza nell'urina dei chetocomposti, fu riconosciuto come il responsabile dello scompenso e del coma diabetico. Inoltre, poiché venne confermata l'efficacia della terapia correttiva con alcali proposta da Stadelmann, la scuola di Naunyn propose l'interpretazione della patogenesi del coma diabetico come il risultato di una "tossicità da acido" (o "acidosi", come sarebbe stata chiamata più tardi) piuttosto che l'effetto tossico dell'acido  $\beta$ -idrossibutirrico. Nel 1888 Minkowski dimostrò per la prima volta, impiegando una tecnica gasometrica, che la  $CO_2$  nel sangue dei pazienti in coma diabetico è marcatamente diminuita. Egli estraeva la  $CO_2$  da un campione di sangue di 31 ml mediante una pompa a vuoto di Pflüger e la assorbiva su alcali mediante uno speciale apposito apparato: trovava così una  $CO_2$  totale di non più di 1,06 ml % (contro un valore medio intorno a 35 ml %). Ormai la prova che la causa del coma diabetico era la

"tossicità da acido" (acidosi) era quindi irrefutabile, e la possibilità di eseguire le necessarie determinazioni analitiche nell'urina e nel sangue (anche se di complessità tale da essere difficilmente accessibili alla maggior parte degli ospedali) assieme alla disponibilità delle terapie correttive mediante soluzioni alcaline promettevano un sostanziale progresso nel controllo e nel trattamento del diabete e della sua principale complicazione, il coma da composti chetonici. E in effetti i risultati positivi non mancavano, ma non erano tali da salvare il paziente dall'esito letale, che sopravveniva dopo ricadute a più o meno breve termine. Anche qui di nuovo la spiegazione è la stessa che abbiamo descritto a proposito del trattamento delle perdite enteriche: pur correggendo l'acidosi, il paziente andava incontro a esito letale perché il deficit del volume circolante effettivo non veniva adeguatamente corretto. In un paziente di Minkowski di cui abbiamo documentazione bibliografica, l'autopsia dimostrò che la vescica urinaria conteneva meno di 1 ml di urina, fortemente acida, nonostante il paziente avesse ricevuto 3 litri di sodio bicarbonato, anche se in soluzione ipertonica. Certo la risoluzione definitiva della terapia del diabete mellito fu la scoperta dell'insulina nel 1922 per merito di F.G. Banting (1891-1941) e C.H. Best (1899-1978), ma la mortalità del coma, pur subendo una drastica riduzione, rimaneva pur tuttavia considerevolmente elevata, intorno al 15-30% negli anni Trenta del secolo scorso, indubbiamente a causa dell'inadeguato trattamento della deidratazione e del deficit del volume circolante effettivo. Anche l'utilità del trattamento con "alcali" era messa in discussione e vi erano anche esponenti autorevoli della diabetologia, come ad esempio E. Joslin (1870-1962), che la contestavano tenacemente. È da dire che al tempo la terapia correttiva era pressoché esclusivamente per via orale, e solo verso la fine degli anni Trenta venne introdotta la via parenterale, che tuttavia tardò a diffondersi, affermandosi con procedimenti adeguati solo negli anni Cinquanta, quando certamente vi contribuì la disponibilità del controllo di laboratorio attendibile e tempestivo.

### L'acidosi lattica

Quasi contemporaneamente alla scoperta dei chetocidi nel diabete mellito, venne segnalato che un altro acido organico – l'acido lattico – poteva trovarsi nel sangue in concentrazioni apprezzabili in diverse condizioni. L'interesse medico per l'acido lattico era cominciato nel 1847 quando J. von Liebig (1803-1873) lo aveva dimostrato nell'estratto di carne, e nel 1859 E.H. du Bois-Reymond (1818-1896) ne aveva dimostrato la formazione durante la contrazione muscola-

re e la dipendenza quantitativa dal contenuto di glicogeno del muscolo. Queste acquisizioni avevano dato l'avvio a un'intensa serie di ricerche che condussero a chiarire le relazioni tra acido lattico, metabolismo dei carboidrati e formazione di energia durante la contrazione muscolare. Tra queste, di particolare importanza fu la dimostrazione dell'aumento dell'acido lattico nel sangue durante l'esercizio muscolare strenuo, che N. Zuntz (1847-1920) presentò in letteratura nel 1888.

Sul finire del XIX secolo si prospettò l'idea della relazione tra la formazione dell'acido lattico e la deficienza di ossigeno. In quel tempo l'ipossia era oggetto di particolare attenzione tra i ricercatori nel campo della fisiologia, dopo che nell'ascensione del pallone frenato Zenith in Francia nel 1875 due componenti dell'equipaggio erano deceduti nel raggiungere l'altezza di 8500 m. Negli studi su animali mantenuti in ipossia venne trovato l'aumento dell'acido lattico nel sangue e nelle urine. Nel 1907 W.M. Fletcher (1873-1933) e F.G. Hopkins (1861-1947) dimostrarono che l'acido lattico si forma durante la contrazione muscolare in condizioni anaerobiche e che questo acido è presumibilmente il principale prodotto del metabolismo dei carboidrati in anaerobiosi. Lo studio delle relazioni tra l'acido lattico e il metabolismo dei carboidrati fu approfondito in Inghilterra da A.V. Hill (1886-1977) e in Germania da O.F. Meyerhof (1884-1951), e questi studi portarono alla definizione dettagliata del complesso delle sequenze enzimatiche della glicolisi. Nel 1916 J.J.R. MacLeod (1876-1935) dimostrò un aumento dell'acido lattico in condizioni caratterizzate da aumento dell'"alcalinità" del sangue, fosse provocata da infusioni di soluzioni alcaline o dall'iperventilazione. Fu spiegata genericamente con i meccanismi che sovrintendono all'omeostasi del pH del sangue, ma per molti anni la natura dei meccanismi responsabili di questo tipo di iperlattacidemia fu oggetto di discussione. Dato l'interesse dell'acido lattico nella fisiologia e nella patologia del metabolismo, i primi metodi di dosaggio nel sangue e nell'urina hanno data relativamente precoce: il primo metodo attendibile si deve nel 1851 a J.J. von Scherer, il fondatore della chimica clinica in Germania presso l'Ospedale di Würzburg in qualità di *ausser-ordentlicher Professor für die Lehrvorträge der organischen Chemie in Verbindung mit den für die Kliniken des Juliushospitals nöthingen chemischen Untersuchungen*. In collaborazione con R.L.K. Virchow, Scherer pubblicò nel 1851 l'aumento dell'acido lattico nel sangue in pazienti con leucemia, e per un certo tempo questo aumento fu considerato patognomonico della leucemia, finché G. Salomon non dimostrò nel 1878 che l'acido lattico nel sangue aumentava in ogni condizione

accompagnata da necrosi. Questo fenomeno fu oggetto di attenzione soprattutto per la relazione tra l'insorgenza della lattacidemia e la morte, relazione definita col termine "acidosi agonica". Nel 1891 E.F.E. Hoppe-Seyler (1825-1895) trovò l'aumento dell'acido lattico nel sangue in pazienti con anemia, sostenendo che l'aumento della lattacidemia può comparire in ogni condizione dove vi sia un disturbo dell'apporto di ossigeno, come le malattie polmonari e l'insufficienza cardiocircolatoria. In seguito l'interesse clinico per l'acido lattico è quello che è giunto fino a noi in relazione con le diverse cause dell'acidosi lattica.

### L'acidosi dell'insufficienza renale

L'acidosi uremica fu segnalata per la prima volta in letteratura nel 1887 da R. von Jaksch (1855-1947), ed era attribuita a tossicità da acidi organici dovuti alla ritenzione dell'urea. Per dimostrare l'acidosi Jaksch eseguiva una titolazione del sangue servendosi della cartina al tornasole come indicatore. Questo metodo fu tuttavia giudicato troppo approssimativo, cosicché i dati di questo Autore furono accantonati e, nonostante vi fossero conferme da altri ricercatori, di acidosi uremica non si parlò più in letteratura fino al 1911, quando O. Porges (1879-1967) e A. Leimdörfer della Clinica Medica dell'Università di Vienna dimostrarono nei pazienti uremici la diminuzione della CO<sub>2</sub> nell'aria alveolare. Questi risultati furono confermati nel 1914 da A.W. Sellards che dimostrò la diminuzione della CO<sub>2</sub> nel sangue. Pochi anni dopo I. Greenwald e W. Denis (1879-1929) segnalavano l'aumento del solfato e del fosfato nel siero nell'insufficienza renale cronica, indicando nell'acido fosforico e solforico i responsabili dell'acidosi uremica. Rimase oggetto di dibattito l'eventuale ruolo di acidi organici. Nel 1915 W.W. Palmer e L.J. Henderson (1878-1942) dimostrarono una ridotta capacità di eliminazione dell'ammonio nei pazienti uremici, interpretandola come una ridotta capacità del rene di conservare "basi". Intorno agli anni Trenta del secolo scorso fu introdotta la terapia correttiva mediante soluzioni parenterali di sodio bicarbonato che fu l'unica terapia utile fino ai primi esperimenti di dialisi condotti da W. Kolff tra gli anni Quaranta e Cinquanta

### L'alcalosi

L'alcalosi ricevette meno attenzione da parte dei ricercatori, probabilmente perché in clinica era meno diffusa e meno nota delle varie forme di acidosi. Troviamo i primi studi intorno al 1890 quando E. Stadelmann, per provare la natura non tossica della terapia con alcali che egli proponeva per l'acidosi diabetica, come abbiamo accennato più sopra, condusse espe-

rimenti sugli effetti della somministrazione di alcali a lungo termine sugli elettroliti e sui componenti acido-base dell'urina, dimostrando che non si verificavano alterazioni significative. Ma bisogna aspettare fino al 1910 quando O. Porges e i suoi collaboratori intrapresero sistematiche determinazioni della  $CO_2$  nell'aria alveolare, dimostrando un aumento dopo l'assunzione di alimenti, che essi interpretavano come conseguenza della secrezione acida gastrica. L'anno dopo K.A. Hasselbach (1874-1962) mediante l'analisi simultanea dell'aria alveolare e dell'urina dimostrò che quanto maggiore era la  $CO_2$  alveolare, tanto più elevato era il pH dell'urina, raggiungendo un massimo con la somministrazione di 8 g di sodio bicarbonato tre volte al giorno. Pochi anni dopo comparvero i primi studi sulla  $CO_2$  nel sangue. Nel 1918 W.S. McCann dimostrò che dopo legatura del piloro nel cane la «capacità di combinazione della  $CO_2$ » nel sangue aumentava in pochi giorni con simultanea comparsa di convulsioni. Risultati pressoché analoghi furono riportati da altri laboratori, mentre J.B.S. Haldane (1892-1964, il figlio del più famoso Haldane scopritore dell'effetto della relazione tra  $CO_2$  ed emoglobina), sperimentando su di sé l'effetto dell'assunzione di una varietà di alcali sullo stato acido-base, trovò che era necessaria una cospicua frazione della dose letale dei preparati alcalini prima di ottenere un effetto evidente. Nel 1923 O. Porges segnalò che pazienti con vomito acido dimostravano un aumento della  $CO_2$  alveolare, mentre questa rimaneva nei limiti normali se il vomito non era acido. Nel 1926 A.F. Hartmann e F.S. Smyth (1895-1972) segnalavano che il vomito nei bambini poteva risultare in un aumento nel siero della concentrazione del bicarbonato e della tensione di  $CO_2$ , e nella diminuzione dei cloruri, ma che il pH non dimostrava alterazioni col metodo impiegato.

### L'evoluzione del concetto di acidosi e di alcalosi

Il termine "acidosi" sembra sia comparso per la prima volta nell'espressione *acidosis diabetica* nel testo di B. Naunyn del 1898 *Der Diabetes Mellitus*. Più frequentemente tuttavia Naunyn usava il termine "intossicazione da acido", termine comunemente diffuso nella letteratura contemporanea. Col termine "acidosi" Naunyn intendeva una ben definita *iperacidità* dell'organismo che quindi si trovava in uno stato di *ipocalcalinità*. Questa definizione aveva un buon fondamento teorico, ma non soddisfaceva i clinici, che richiedevano un termine di più pratica utilità. Per alcuni anni il termine "acidosi" si identificò con il quadro della chetoacidosi diabetica, ossia una anormale produzione di acidi del metabolismo intermedio con

comparsa nell'urina di acetone, acido acetacetico e acido beta-idrossibutirrico, che si traduceva nella positività dei test di Legal e di Gerhardt, respiro di Kussmaul e aumento dell'escrezione urinaria di ammoniaca. Di fronte a casi con aumento dell'ammonio urinario e test di Legal e di Gerhardt negativi, come avveniva in pediatria nelle gastroenteriti dell'infanzia, lo sconcerto e la confusione era inevitabile presso i clinici, cui si aggiungeva la frustrazione causata dall'insuccesso della terapia correttiva con alcali.

J. Barcroft (1872-1947) propose una modificazione della definizione di Naunyn: «Acidosi significa la comparsa nel sangue di acidi anormali qualitativamente o quantitativamente (esclusa la  $CO_2$ ) o anche una diminuzione delle basi normalmente presenti. Col termine acidosi si intende quindi un aumento dei *radicali acidi* relativamente ai *radicali basici*, ad eccezione della  $CO_2$ . Questo termine non ha però alcun riferimento alla *reazione* finale del sangue, regolata in larga parte dal contenuto della  $CO_2$  presente». Hasselbalch preferiva la definizione di Naunyn, precisando però quale segno distintivo dell'acidosi un pH inferiore alla norma nel sangue equilibrato alla  $pCO_2$  di 40 mmHg: egli denominava *pH ridotto* questo pH gas-equilibrato, mentre il pH reale era chiamato *pH regolato*, intendendo la regolazione polmonare e renale. In questo contesto Hasselbalch introduceva il concetto di acidosi *compensata* e *non compensata*. Quando nel 1917 D.D. van Slyke (1883-1971) introdusse il suo metodo volumetrico per il dosaggio del bicarbonato nel plasma, egli propose la definizione dell'acidosi quale «condizione in cui la concentrazione del bicarbonato nel sangue è al di sotto dei valori normali». Questa fu la definizione che prevalse in letteratura fino agli anni Sessanta del secolo scorso, sostenuta dalla diffusione nella chimica clinica del metodo gasometrico di van Slyke e dal termine *riserva alcalina* da lui introdotto: van Slyke sosteneva infatti che il bicarbonato plasmatico è una misura dell'acidosi più affidabile del pH del sangue, perché le sue variazioni si osservano già nelle fasi iniziali dell'acidosi, mentre il pH si modifica solo in fase più avanzata ed è influenzato dai processi di regolazione e di difesa omeostatica. Come descriveremo in un successivo articolo, D.D. van Slyke, studioso di eccezionale levatura intellettuale e scientifica, fu il protagonista della biochimica clinica tra gli anni Trenta e Cinquanta del XX secolo, particolarmente nel campo dell'equilibrio acido-base: i medici laboratoristi della generazione di chi scrive hanno immancabilmente fondato la loro formazione tecnica e scientifica sul suo testo, scritto in collaborazione con J.P. Peters (1887-1955): *Quantitative Clinical Chemistry*: Vol. I, *Methods*; Vol. II, *Interpretations* (1932), e hanno aiutato i clinici nella dia-

gnosi e nel trattamento dei pazienti in acidosi col suo metodo di titolazione dei bicarbonati.

I concetti espressi da van Slyke non piacevano tuttavia a J.S. Haldane (1860-1936) che sosteneva che non sono le variazioni del bicarbonato, bensì quelle degli idrogenioni la causa delle conseguenze cliniche dell'acidosi. Inoltre Haldane criticava il metodo di van Slyke perché impiegava come campione il plasma "separato" anziché il plasma "vero" o il sangue intero, come sarebbe stato analiticamente più corretto.

Come abbiamo già accennato, l'evoluzione del concetto di alcalosi è stata più incerta e più confusa. Il termine fu forse introdotto dalla scuola di Naunyn intorno al 1880, ma soltanto come termine antitetico ad acidosi, senza una reale trattazione scientifica e clinica del disordine. Se ne ha una prima citazione nel 1911 in un lavoro di F. Fischler (1876-1957) sull'avvelenamento da ptomaina nel cane con *shunt* portava, condizione che si pensava causasse alcalosi, ma di cui non risulta una documentazione. Nella letteratura medica venne consolidandosi il concetto che i termini "acidosi" e "alcalosi" fossero esclusivamente sinonimi di diminuzione e rispettivamente aumento della *riserva alcalina*. Come vedremo in un successivo articolo, questa fu la causa di un tragico errore di interpretazione delle alterazioni dell'equilibrio acido-base durante l'epidemia di poliomielite che si abbattè sulla Danimarca nel 1950, e che diede d'altra parte l'avvio all'approfondimento della fisiologia e della

fisiopatologia dell'equilibrio acido-base e alla moderna definizione dei suoi disordini.

È comprensibile che l'accumularsi di una così vasta mole di nuove conoscenze nel breve spazio dei primi decenni dello scorso secolo non potesse essere facilmente assimilata. Errori di interpretazione, diversità di opinioni, teorie contrastanti erano inevitabili, anche soltanto riguardanti la terminologia. Tanto che il *Medical Research Council* di Londra incaricò il *Haemoglobin Committee*, di cui facevano parte J. Barcroft e L.J. Henderson, di preparare un documento su *The Acid-Base Equilibrium of the Blood*. Il documento comparve nel 1923 e riassumendo le conoscenze a quella data proponeva alcune raccomandazioni. Il termine "acidosi" veniva usato per definire quella che oggi intendiamo come acidosi di tipo metabolico; la ritenzione di CO<sub>2</sub> non è menzionata, né si parla di alcalosi. Vengono invece indicati i termini "acidemia" e "alcalemia" per significare una diminuzione e rispettivamente un aumento del pH del sangue.

## Bibliografia di riferimento

- Astrup P, Severinghaus JW. *The History of Blood Gases, Acids and Bases - Radiometer A/S*. Munksgaard, Copenhagen, 1986.
- Gamble JL. *Chemical Anatomy, Physiology and Pathology of Extracellular Fluids - a Lecture Syllabus*. Harvard University Press, Harvard, 1942.
- Peters JP, van Slyke DD. *Quantitative Clinical Chemistry*. Vol. I *Methods*. Vol. II *Interpretations*. William & Wilkins, Baltimore, 1932.
- Wright S. *Applied Physiology*. 9<sup>th</sup> ed. Oxford University Press, Oxford, 1952.

## ABSTRACT

*In the History of Medicine, the Acid-Base balance is unusual in that it has undergone constant evolution, not merely and not so much as a result of the progress of knowledge in physiological and physiopathological and clinical fields - which is common to all fields of Medical Science, but rather in relation to its very biochemical foundations, as was demonstrated by P. Stewart's recent critical review and the reviews of J. Corey and J.A. Kellum, which are still valid today - and this is rather unusual. Although it started centuries ago, the history of the acid-*

*base balance has experienced a slow and difficult evolution, and modern concepts almost exploded a couple of decades into the 20th century.*

*It is therefore with even greater wonder and admiration that we look back on the pioneering intuitions of scholars such as R. Boyle, J.B. van Helmont and A.L. Lavoisier, to mention but a few of the scientists who laid the foundations for current knowledge in this fascinating chapter of physiology and clinical practice that belongs transversally to all medical and clinical disciplines.*