



**POLITECNICO DI MILANO**

Facoltà di Ingegneria dei Sistemi

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

**Anno Accademico 2010 - 2011**

Titolo:

**IPOTESI PER IL MIGLIORAMENTO DELLE PERFORMANCE DI UN  
SIMULATORE BICOMPARTIMENTALE DELLA DIALISI:  
TECNICHE DI DIFFUSIONE LIBERA ED ELETTRODIALISI**

Relatore:

Prof. Ing. Maria Laura Costantino

Correlatore:

Dott. Ing. Giustina Casagrande

Tesi di Laurea Magistrale di:

Antonio ZAMBONI matr. 739741

## **INDICE**

<b>SOMMARIO</b> .....	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>1. INTRODUZIONE E STATO DELL'ARTE</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1</b> La funzione renale e le patologie ad essa connesse [1, 2].....	8
<b>1.2</b> Il trattamento dialitico [2] .....	10
<b>1.3</b> Il circuito di dialisi .....	12
<b>1.4</b> La simulazione della terapia di dialisi [1, 5] .....	14
<b>1.5</b> Il modello bicompartimentale e il simulatore fisico del paziente in dialisi .....	17
<b>1.6</b> Limiti e aspetti negativi del modello bicompartimentale.....	17
<b>1.7</b> Un'ipotesi di miglioramento del modello .....	18
<b>1.8</b> Tecniche di separazione mediante membrane a scambio ionico [6].....	19
<b>1.9</b> La tecnica dell'elettrodialisi [6, 13] .....	23
<b>1.10</b> Studi sull'elettrodialisi di soluzioni biologiche [14, 15, 16].....	24
<b>2. MATERIALI E METODI</b> .....	<b>26</b>
<b>2.1</b> Descrizione del simulatore fisico di paziente in dialisi [5] .....	26
<b>2.2</b> Circuito di simulazione [5].....	26
<b>2.3</b> Elettrodialisi di soluzioni equivalenti al liquido interstiziale biologico.....	31
<b>2.4</b> Trasporto di ioni in soluzione attraverso membrane.....	37
<b>2.5</b> Descrizione matematica dei fenomeni di trasporto nelle soluzioni [6, 18].....	37
<b>2.6</b> L'equazione di Nernst-Plank.....	39
<b>2.7</b> Determinazione del coefficiente di diffusione degli elettroliti attraverso le membrane a scambio ionico .....	41

2.8 Circuito di simulazione modificato .....	43
<b>3. RISULTATI .....</b>	<b>46</b>
3.1 Principi operativi per i sistemi di elettrodialisi [6].....	46
3.2 Dimensionamento dei flussi in gioco .....	51
3.3 Discussione dei risultati .....	60
<b>4. CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI .....</b>	<b>64</b>
4.1 Conclusioni .....	64
4.2 Sviluppi futuri .....	65
<b>5. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>68</b>

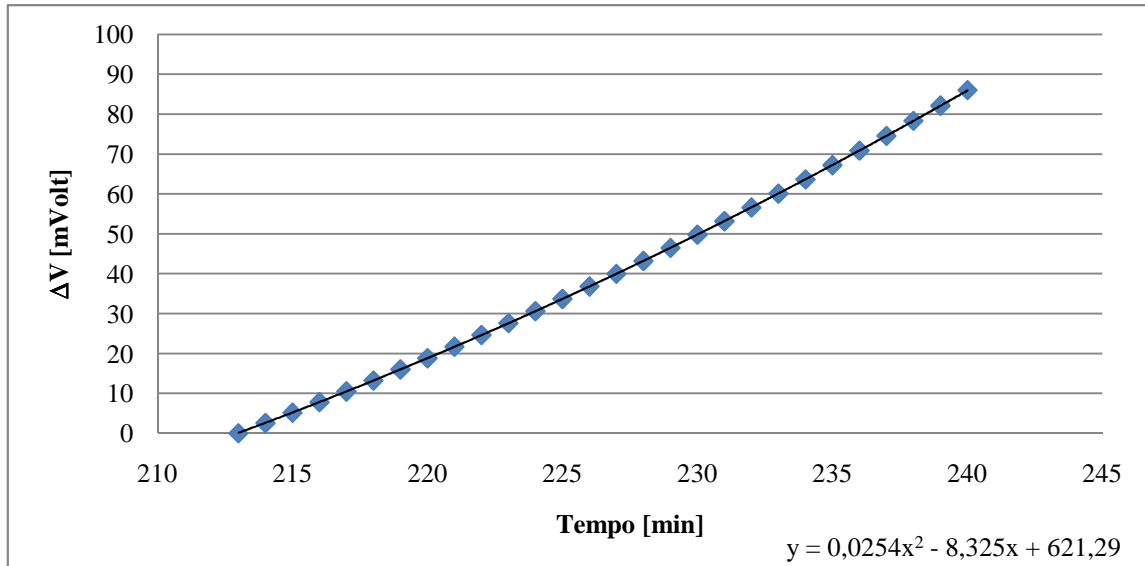
## SOMMARIO

Nel presente lavoro di tesi viene presentato uno studio sulle dinamiche dei flussi di scambio dello ione potassio durante una simulazione di terapia dialitica mediante modello bicompartimentale, così come concepito da Borlotti e Carugo [5] per il loro lavoro di tesi. Obiettivo del lavoro è l'elaborazione di strategie che permettano il miglioramento delle performances di tale dispositivo. A partire dai dati sperimentali relativi alla concentrazione dello ione potassio nel compartimento plasmatico sono stati ricavati per via indiretta il flusso di massa del potassio dal compartimento interstizio-cellulare a quello plasmatico e conseguentemente l'andamento di concentrazione nel tempo di tale ione all'interno del compartimento interstizio-cellulare. Tale calcolo è stato effettuato sia a partire dai dati relativi alla concentrazione dello ione potassio nel compartimento plasmatico rilevata durante le prove di validazione del simulatore bicompartimentale, sia a partire dai dati clinici sulla concentrazione di potassio nel compartimento plasmatico rilevati su pazienti che hanno subito un trattamento dialitico. Questo ha consentito di valutare la differenza di concentrazione del potassio nel compartimento interstizio-cellulare nei due casi analizzati e a partire da questa è stata proposta un metodo per riportare tale concentrazione ai valori ideali, in modo da avere una concentrazione di potassio nel compartimento plasmatico pari a quella rilevata clinicamente su pazienti trattati con la dialisi.

Alla luce dei risultati ottenuti si può affermare che durante una simulazione di terapia dialitica di 4 ore, la concentrazione dello ione potassio va leggermente abbassata durante la prima fase (circa 3 ore della simulazione), mentre nell'ultima fase va aumentata.

Per ottenere questo risultato sono state proposte due tecniche basate sulla diffusione libera e sulla elettrodialisi che sfruttano la selettività al passaggio di ioni da parte di membrane a scambio ionico altamente selettive [21]. La tecnica dell'elettrodialisi, a differenza di quella della diffusione libera, permette di controllare il passaggio di ioni attraverso le membrane a scambio ionico grazie all'imposizione di una corrente all'interno della soluzione data da una differenza di potenziale ai capi dei due elettrodi che racchiudono la cella di scambio al cui interno sono presenti le membrane a scambio ionico. Per quanto riguarda questa tecnica, quindi, è stata ipotizzata un'architettura per la cella di scambio ottimizzata per ottenere un aumento della concentrazione del potassio all'interno del liquido interstizio-cellulare e successivamente è stata fornita la descrizione matematica per il calcolo della corrente necessaria per ottenere l'aumento della concentrazione del potassio durante il trattamento del liquido di simulazione interstizio-cellulare. Infine è stata calcolata l'intensità di corrente necessaria per riportare l'andamento di concentrazione del potassio ai

valori clinici durante l'ultima fase della simulazione della terapia dialitica. Il grafico di figura I mostra l'andamento della differenza di potenziale da applicare agli elettrodi che racchiudono la cella, ottenuto grazie a questo studio.



**Figura I:** Andamento della differenza di potenziale da applicare alla cella per elettrodialisi progettata per riportare la concentrazione del potassio nella soluzione interstizio-cellulare ai valori riscontrati clinicamente in funzione del tempo.

Per quanto riguarda la tecnica della diffusione libera, da utilizzare durante la prima fase della terapia dialitica, sono state fornite alcune considerazioni a livello qualitativo. Per un'implementazione corretta di tale tecnica, infatti, sarebbe opportuno stabilire con prove sperimentali quale sia la corretta concentrazione iniziale della soluzione di lavaggio per ottenere la rimozione dello ione potassio dalla soluzione. Le considerazioni fatte all'interno del presente lavoro di tesi necessitano, per entrambe le tecniche proposte, di una verifica a livello sperimentale, ma rappresentano sicuramente una possibile evoluzione del sistema bicompartimentale utilizzato precedentemente verso un sistema tricompartmentale, più aderente a quanto avviene fisiologicamente.

## ABSTRACT

In this research work is presented a study on the fluidodynamic exchange of potassium ion in a bicompartimental simulation of dialysis as presented in a previous work by Borlotti e Carugo [5]. Starting from the experimental data of potassium concentration within the plasmatic compartment, we obtained the mass flux of potassium from interstice-cellular compartment to plasmatic compartment, using an indirect method. Then we obtained the trend of potassium concentration within the interstice-cellular compartment as a function of time. We made this calculation from both the experimental data of potassium concentration obtained in a previous simulation and the clinical data of plasmatic potassium concentration in the patients that underwent the dialytic treatment. This procedure allowed us to evaluate the difference between potassium concentration in the interstice-cellular compartment for the two case analyzed.

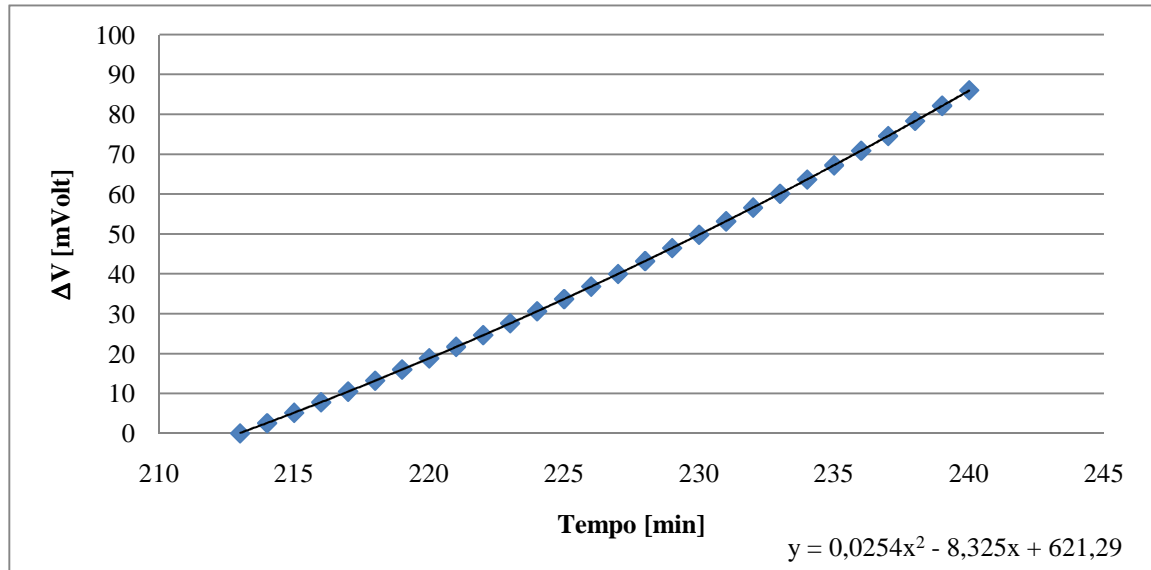
The aim of this work is to present a technique to restore the potassium concentration to the values of clinical treatment. The results we obtained show that, during a bicompartimental simulation of a 4 hours dialytic therapy, potassium concentration has to be lowered in a first part (about 3 hours), instead must being increased in the last part.

To achieve this aim we suggested the use of two techniques: free diffusion and electro dialysis. This techniques are based on the highly selective flux of ion through the ion-exchange membranes. The electro dialysis, unlike free diffusion, allows us even to control the passage of ion through the membranes, due to the imposition of a current voltage within the solution of interest. Then, for the last part of simulation, we projected an electro dialysis cell unit to obtain an increased values of potassium concentration within the interstice-cellular compartment and we gave the mathematical description for the current voltage calculation.

In figure I (page below) is showed the potential difference to be applied across the electrodes that contain the cell unit to re-equilibrate the potassium concentration at the levels of clinical treatment, as a function of time.

Furthermore, for the first part of the simulation, we gave some qualitative information for the use of free diffusion to correct potassium levels. Anyway, a correct implementation of this technique requires an experimental validation to set accurately the starting point of potassium concentration in the washing solution.

However, even if both techniques have to be tested in experimental protocols, we can say that this work represent a step forward to the realization of a tricompartimental system that more closely matches what happens in the real biologic systems.



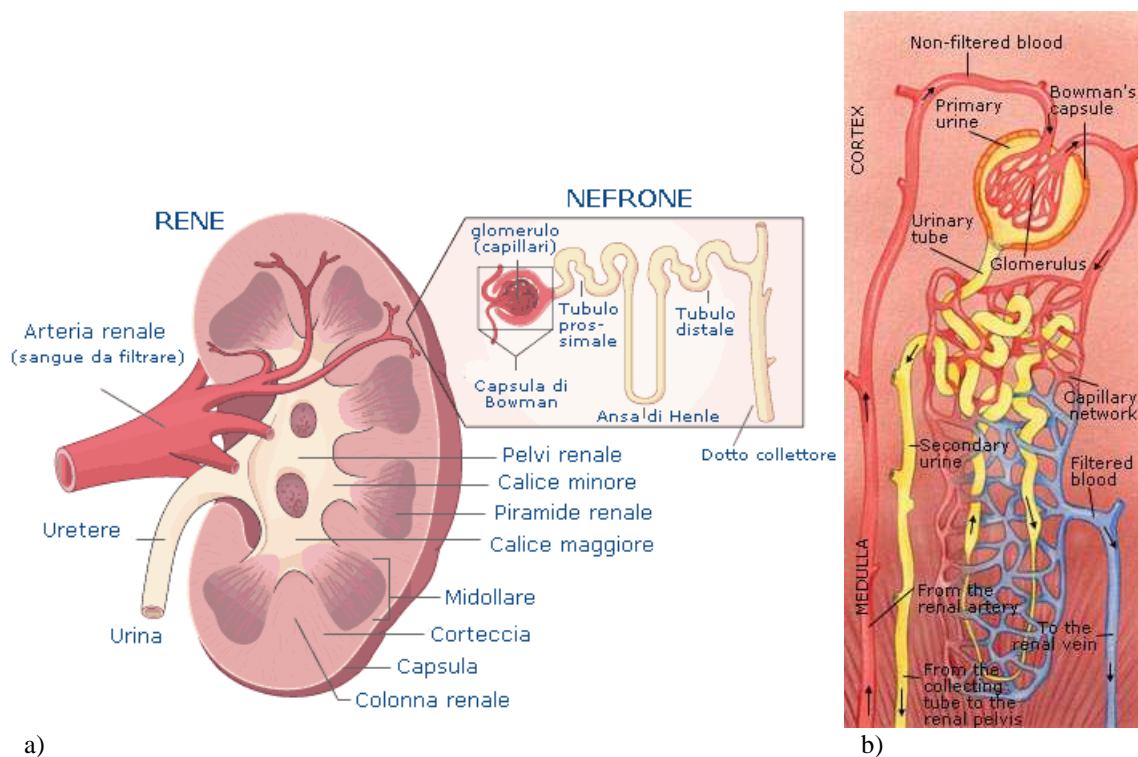
**Figure I:** trend of potential difference to be applied on the electrodes of cell unit in the last part of simulation

## 1. INTRODUZIONE E STATO DELL'ARTE

### 1.1 La funzione renale e le patologie ad essa connesse [1, 2]

Al fine di comprendere lo sviluppo delle terapie sostitutive della funzione renale è necessario conoscere e analizzare le strutture di base dell'anatomia fisiologica del rene come organo biologico.

L'unità morfo-funzionale del rene è rappresentata dal nefrone, il quale è, a sua volta, costituito dal glomerulo e dal sistema dei tubuli urinari (Figura 1.1).



**Figura 1.1:** anatomia del rene (a) e particolare dettagliato di un nefrone (b).

Il glomerulo è formato da un ciuffo di anse capillari interconnesse poste tra due vasi arteriosi (uno afferente e l'altro efferente) ed è circondato da una capsula dal quale fuoriesce il tubulo urinario (tubulo prossimale). Nel glomerulo avviene la prima filtrazione del sangue e la formazione della cosiddetta "preurina", un liquido che risulta privo di proteine e costituito in gran parte dalle sostanze di scarto da eliminare. La superficie totale dell'endotelio capillare glomerulare in cui avviene la formazione della "preurina" è pari nell'uomo a circa  $1.5 \text{ m}^2$ .



Nel soggetto sano si formano ogni giorno circa 150-180 litri di preurina, la quale viene successivamente riassorbita nel sistema dei tubuli renali dando origine a circa 1-1.5 litri di urina ogni 24 ore.

Nel sistema tubulare si ha un complesso sistema di trasporto delle sostanze al fine di ottenere i seguenti risultati:

- Mantenimento dell'omeostasi idro-elettrolitica
- Regolazione dell'equilibrio acido-base
- Depurazione del sistema biologico

Oltre alla formazione dell'urina, il rene svolge altre importanti funzioni come la regolazione della pressione arteriosa, del metabolismo della vitamina D e della produzione di eritrociti da parte del midollo osseo.

In caso di insufficienza renale si sviluppano disturbi a carico di tutte queste funzioni fino a giungere allo stato patologico di uremia che, se non curata in tempo, porta alla morte del soggetto. Lo stadio finale della patologia renale prende il nome di insufficienza renale terminale e può essere trattata esclusivamente con la terapia sostitutiva della funzione renale.

L'uremia può essere determinata da:

- Alterazioni dell'escrezione di prodotti del metabolismo, in particolare di quello proteico
- Alterazioni dell'equilibrio idro-elettrolitico ed acido-base
- Alterazione della funzione di alcuni ormoni (eritropoietina, renina, etc.)

I sintomi più comunemente riscontrati come conseguenza di patologie renali sono:

- Riduzione dell'escrezione di sodio e acqua che causa ritenzione idrica e ipervolemia, le quali, a loro volta, determinano ipertensione arteriosa;
- Riduzione dell'escrezione di acido urico, che determina una forma di gotta secondaria;
- Riduzione dell'escrezione del potassio che determina iperpotassemia;
- Deficit di escrezione di ioni idrogeno che determina acidosi metabolica;

- Deficit di escrezione dei fosfati che determina un aumento del prodotto calcio/fosforo e quindi la possibilità della deposizione del calcio in vari tessuti dell'organismo;
- Deficit del metabolita attivo della vitamina D che induce una diminuzione dell'assorbimento intestinale di calcio causando l'alterazione della funzione ossea;
- Deficit di produzione di eritropoietina, tra le cause di insorgenza dell'anemia
- Elevata produzione di renina che causa ipertensione arteriosa

La patologia uremica, nel suo stadio acuto, può essere trattata solo attraverso l'utilizzo di terapie sostitutive della funzione renale. Tra queste, la terapia di emodialisi extracorporea, risulta essere la più utilizzata e maggiormente studiata. Nel prossimo paragrafo si illustreranno brevemente i principi teorici del trattamento dialitico extracorporeo.

## **1.2 Il trattamento dialitico [2]**

La dialisi consiste in un processo fisico che ha lo scopo di separare particelle in soluzione tramite una membrana semipermeabile.

Semplificando, si può affermare che, in una terapia di dialisi, una soluzione contaminata (il sangue del soggetto uremico) viene depurata sfruttando una "soluzione di lavaggio" (liquido di dialisi) da cui risulta separata tramite una membrana semipermeabile.

La membrana utilizzata per la dialisi è permeabile solo a determinate sostanze e, in definitiva, si comporta come un filtro i cui pori hanno dimensioni molecolari.

Il trasporto delle sostanze attraverso la membrana dipende da vari fattori, fra i quali:

- Differenza di concentrazione delle sostanze ai due lati della membrana
- Pressione idrostatica del liquido da filtrare
- Pressione osmotica delle sostanze in soluzione

Questi tre fattori danno origine a diversi tipi di trasporto, tra cui:

- Diffusione
- Ultrafiltrazione
- Convezione dei soluti
- Osmosi

L'effetto di tali forze si manifesta determinando lo spostamento dei fluidi e delle sostanze che possono attraversare la membrana semipermeabile, fino al raggiungimento di una condizione di equilibrio.

Variando la composizione del dialisato è possibile controllare la quantità di elettroliti e sostanze da rimuovere. A questo proposito, risulta molto importante la corretta scelta dei filtri dializzatori, al fine di ridurre al minimo la perdita di componenti importanti del fluido biologico.

Le caratteristiche più importanti che un dializzatore deve possedere sono:

- Grandi superfici di scambio;
- Membrane con buoni dati di clearance;
- Ottimale geometria di flusso per sangue e dialisato: pieno sfruttamento delle superfici di scambio, volume ematico residuo limitato;
- Piena biocompatibilità dei materiali e dei disinfettanti;
- Costi di produzione minimi;
- Buona maneggevolezza;

Nei filtri capillari a fibre cave i fasci di capillari (10000-15000) sono ordinati parallelamente in un involucro di poliuretano e sono posti tra il lato dell'afflusso e quello di efflusso del sangue. Il sangue circola all'interno dei capillari, mentre il dialisato scorre intorno ad essi.

Il processo di scambio che si verifica nel dializzatore dipende principalmente dal gradiente di concentrazione delle sostanze presenti ai due lati della membrana.

L'efficacia della terapia sostitutiva della funzione renale, se paragonata a quella dei reni sani, appare decisamente insoddisfacente.

In primo luogo, la valutazione dei dati di clearance del dializzatore differisce da produttore a produttore e non garantisce con sicurezza la effettiva rimozione della quantità voluta di metaboliti di scarto. Inoltre, mentre il rene sano lavora in continuo, la purificazione del sangue a livello extracorporeo deve essere effettuata in maniera intermittente. Ciò implica che, in un paziente in cui la funzionalità renale risulti compromessa, si verifica un peggioramento delle condizioni di intossicazione del sangue durante l'intervallo tra due successive sedute dialitiche e la concentrazione di sostanze tossiche nell'organismo aumenta notevolmente.

Nonostante questo la dialisi rappresenta, comunque, l'unica terapia possibile in caso di fallimento della funzione renale del paziente.

### **1.3 Il circuito di dialisi**

In Figura 1.2 è rappresentato lo schema di un circuito di dialisi per pazienti affetti da insufficienza renale. Come si può notare il circuito è costituito essenzialmente da tre parti:

- Le linee sangue (arteriosa e venosa)
- Il circuito del bagno di dialisi
- Il dializzatore che rappresenta il vero e proprio rene artificiale

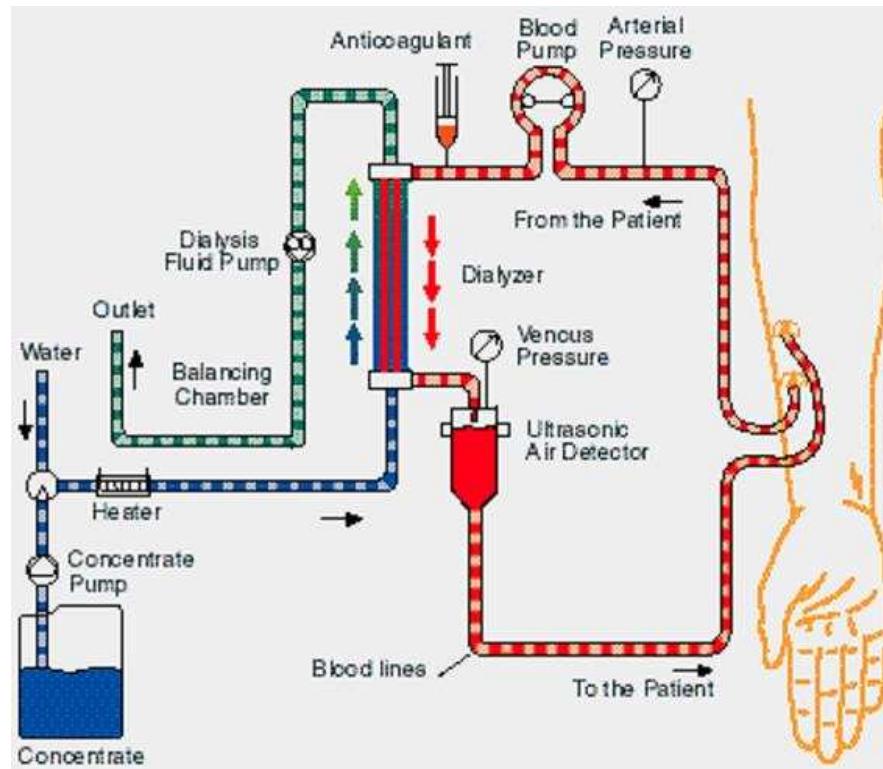
La linea sangue arteriosa presenta queste caratteristiche: la prima parte contiene un dispositivo per la rilevazione della pressione arteriosa del sangue prelevato dal paziente, il segmento successivo viene collegato ad una pompa arteriosa che spinge il sangue verso il dializzatore. Segue il segmento lungo il quale si trova il dispositivo di attacco per l'iniezione di eparina (anticoagulante).

La linea sangue venosa inizia in corrispondenza del dializzatore. Lungo la linea sangue venosa è sempre posto un gocciolatore, per l'eliminazione di eventuali bolle d'aria all'interno del fluido, esso viene inserito nel sistema di rilevazione aria/schiuma.

Dalla calotta del gocciolatore fuoriesce un tubo a cui è collegato un dispositivo per la rilevazione della pressione venosa.

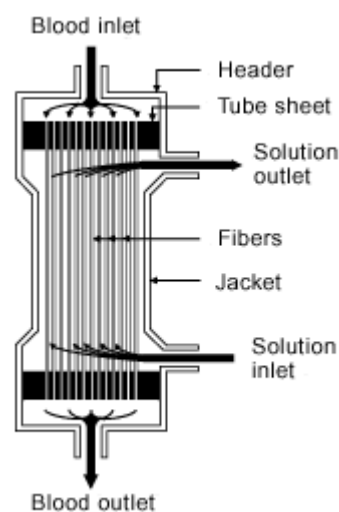
Tutte le volte in cui si creano condizioni pericolose per il paziente (presenza di aria nel sistema, perdita di sangue, etc.) il rilevatore aria/schiuma attiva il sistema di sicurezza che provoca la chiusura della linea venosa e blocca la rotazione della pompa.

Il circuito del bagno di dialisi è costituito da due linee contenenti acqua e soluzione concentrata che vengono miscelate grazie a un sistema di pompaggio. Prima di entrare nel filtro dializzatore la soluzione viene riscaldata tramite un dispositivo controllato elettronicamente, che fornisce soluzioni generalmente tra i 35 e i 41°C.



**Figura 1.2:** Schema di un tipico circuito per la dialisi renale extracorporea

Il filtro dializzatore è l'elemento centrale del circuito di dialisi, in quanto rappresenta il vero e proprio rene artificiale. L'efficacia della terapia di dialisi dipende per la maggior parte dagli scambi che avvengono all'interno di esso. Attualmente sono utilizzati soprattutto filtri capillari a fibre cave (Figura 1.3) la cui superficie efficace è generalmente compresa tra 1 e 2 m<sup>2</sup>, con un diametro interno delle fibre variabile da 100 a 300 micron e con uno spessore di parete compreso tra 5 e 40 micron.



**Figura 1.3:** Struttura di un filtro a fibre cave per emodialisi

Il volume di sangue contenuto nel filtro è compreso tra 50 e 120 ml ed il volume ematico residuo è inferiore a 1 ml.

Il processo di scambio che si verifica nel dializzatore dipende principalmente dal gradiente di concentrazione delle sostanze presenti ai due lati della membrana e secondariamente dalla viscosità del sangue, dallo spessore dello strato di sangue che fluisce, dalla lunghezza del percorso e dalla direzione del flusso nel dializzatore.

Attualmente la tipologia di trattamento emodialitico più diffusa è detta a “single-pass” e prevede uno scambio in controcorrente tra dializzato e portata ematica, permettendo, in tal modo, di massimizzare gli scambi attraverso la membrana.

La portata ematica è generalmente compresa tra 200 e 300 ml/min; la portata di dialisato deve essere maggiore di circa 2-3 volte (solitamente 500 ml/min).

Una seduta di dialisi dura di norma 3-4 ore e viene eseguita 3 volte alla settimana; durante la terapia vengono filtrati circa 60 l di sangue e circa 120 l di dialisato, si può dunque calcolare che il volume del sangue del paziente, durante un trattamento emodialitico, attraversa circa 10÷12 volte il dializzatore. Il sangue del paziente viene a contatto con 18.000 l di dialisato all'anno. [3, 4]

#### **1.4 La simulazione della terapia di dialisi [1, 5]**

L'ottimizzazione del trattamento di dialisi può essere oggi effettuata sfruttando modelli matematici che permettono di simulare il trattamento di dialisi di un generico paziente, analizzando i fenomeni di scambio che avvengono tra i diversi compartimenti dei liquidi corporei. Per raggiungere tali obiettivi è necessario conoscere la fisica degli scambi intercompartimentali, nonché conoscere la composizione e i volumi dei fluidi in gioco.

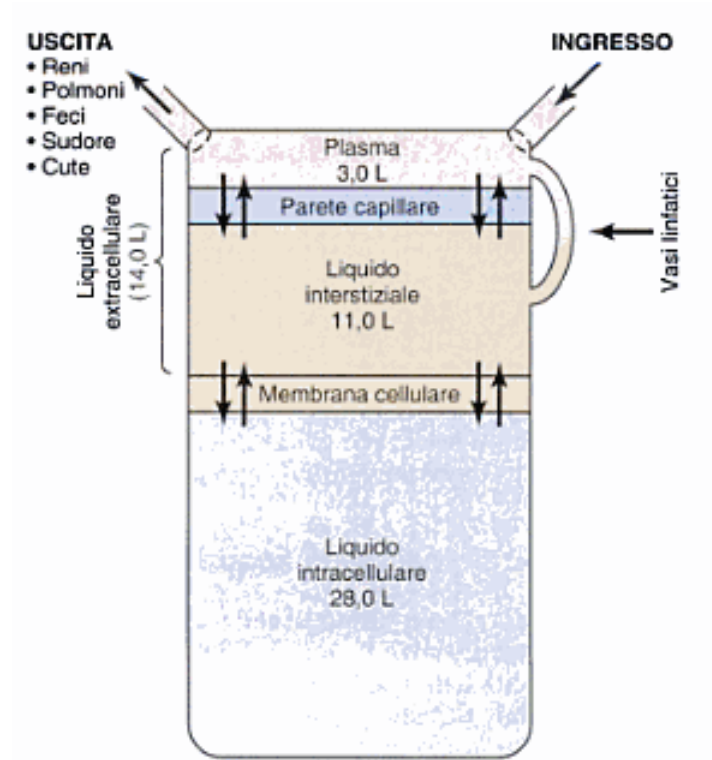
A questo proposito è utile ricordare la distribuzione dei liquidi all'interno dell'organismo e la loro composizione chimica.

Nel corpo umano i fluidi biologici sono distribuiti in due compartimenti principali:

- Extracellulare
- Intracellulare

Il compartimento extracellulare si suddivide a sua volta in due sottocompartimenti: il plasma e il liquido interstiziale. In un adulto sano, di circa 70 Kg, la quantità totale di liquido costituisce in media il 60% del peso corporeo, ovvero circa 42 litri.

In figura 1.4 è mostrata la suddivisione dei compartimenti dei fluidi corporei con la relativa quantità di liquido. Come si può notare il compartimento più abbondante è quello intracellulare con i suoi 28 litri di liquido biologico.



**Figura 1.4:** Suddivisione dei fluidi corporei nei tre compartimenti principali

Nella tabella sottostante (Tabella 1.1) è, invece, presentata la composizione chimica dei fluidi biologici, con particolare attenzione al contenuto di ioni e proteine.

Analizzando la composizione del plasma e quella del liquido interstiziale (che insieme formano il compartimento del liquido extracellulare) si può notare come la concentrazione delle sostanze disciolte al loro interno sia simile se non, in alcuni casi, identica. Questo perché plasma e liquido interstiziale sono separati soltanto dalle membrane molto permeabili dei capillari che consentono l'equilibrio delle concentrazioni ai due lati.

La differenza principale tra questi due compartimenti è data dalla più elevata concentrazione proteica del plasma; i capillari sono quasi impermeabili alle proteine plasmatiche e consentono il passaggio di quantità molto piccole di proteine negli spazi interstiziali della maggior parte dei tessuti.

La composizione del liquido extracellulare è finemente regolata da vari meccanismi e soprattutto dai reni. Questi meccanismi mantengono la concentrazione di elettroliti e di nutrienti del liquido costantemente adeguata al funzionamento delle cellule che vi sono immerse.

**Sostanze osmolari nel liquido extracellulare e in quello intracellulare**

	Plasma (mOsm/L H <sub>2</sub> O)	Interstiziale (mOsm/L H <sub>2</sub> O)	Intracellulare (mOsm/L H <sub>2</sub> O)
Na <sup>+</sup>	142	139	14
K <sup>+</sup>	4,2	4,0	140
Ca <sup>++</sup>	1,3	1,2	0
Mg <sup>+</sup>	0,8	0,7	20
Cl <sup>-</sup>	108	108	4
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	24	28,3	10
HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	2	2	11
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,5	0,5	1
Fosfocreatina			45
Carnosina			14
Aminoacidi	2	2	8
Creatinina	0,2	0,2	9
Lattato	1,2	1,2	1,5
Adenosina trifosfato			5
Esoso monofosfato			3,7
Glucosio	5,6	5,6	
Proteina	1,2	0,2	4
Urea	4	4	4
Altri	4,8	3,9	10
mOsm/L. totali	301,8	300,8	301,2
Attività osmotica corretta (mOsm/L)	282,0	281,0	281,0
Pressione osmotica totale a 37 °C (mmHg)	5443	5423	5423

**Tabella 1.1:** Composizione dei fluidi biologici per ogni compartimento corporeo

Se si osservano, invece, i dati relativi al compartimento intracellulare si notano subito grosse differenze rispetto al compartimento extracellulare. Esso, infatti, contiene piccole quantità di ioni sodio e cloro e quantità trascurabili di ioni calcio. Contiene invece quantità rilevanti di ioni potassio e fosfati, oltre a moderate quantità di ioni magnesio e solfato, presenti nel liquido extracellulare in basse concentrazioni. Inoltre le cellule contengono molte proteine, quasi quattro volte la quantità contenuta nel plasma. Queste differenze sono dovute all'azione delle membrane cellulari selettive, che sono altamente permeabili all'acqua e impermeabili alla maggior parte degli elettroliti corporei. Le cellule riescono a mantenere concentrazioni così diverse al loro interno, rispetto al liquido extracellulare, grazie ai fenomeni di trasporto attivo che avvengono a cavallo della membrana cellulare.



### **1.5 Il modello bicompartimentale e il simulatore fisico del paziente in dialisi**

La progettazione di un simulatore fisico nasce dall'esigenza di ottimizzare le prestazioni e le proprietà del filtro dializzatore sulla base dei fenomeni fisico-chimici indotti sul paziente, e non esclusivamente sulla base di caratteristiche prestazionali isolate dal contesto applicativo.

Con le opportune semplificazioni, è possibile realizzare una simulazione fisica di un paziente in terapia di dialisi utilizzando un banco prova progettato per riprodurre i fenomeni di trasporto che si verificano tra i compartimenti liquidi corporei. In un precedente lavoro di tesi, Borlotti e Carugo, per realizzare tale simulazione, hanno adottato un modello bicompartimentale. Quest'ultimo prevede che i tre compartimenti dei fluidi biologici, precedentemente descritti, siano ridotti a due tramite una semplificazione del modello tricompartimentale classico.

In particolare, per simulare i fenomeni di trasporto che avvengono in un paziente in dialisi, si è scelto di unire i volumi di fluido intracellulare e interstiziale comprendendoli in un unico compartimento a contatto con il compartimento plasmatico. La composizione chimica del compartimento interstizio-cellulare così ottenuto è stata mantenuta uguale alla composizione del liquido interstiziale fisiologico, mentre il volume di liquido al suo interno è stato posto uguale alla somma dei volumi intracellulare e interstiziale.

Tramite tale assunzione si è, quindi, stabilito che il compartimento interstiziale e quello intracellulare siano in equilibrio osmotico tra loro, in virtù dell'elevata velocità di passaggio di acqua attraverso la membrana cellulare.

Attraverso questa semplificazione è stato possibile realizzare un simulatore fisico in grado di riprodurre i processi di scambio che avvengono a cavallo della membrana capillare tra compartimento plasmatico e compartimento interstizio-cellulare.

### **1.6 Limiti e aspetti negativi del modello bicompartimentale**

L'utilizzo di un modello bicompartimentale comporta, tuttavia, la completa assenza di una descrizione dei fenomeni che avvengono a cavallo della membrana cellulare (trasporto attivo e diffusione facilitata) e questo rappresenta un limite per la simulazione così progettata.

La scelta di un modello bicompartimentale è stata dettata dal fatto che risulta difficile, se non impossibile, reperire in commercio membrane artificiali che abbiano le stesse caratteristiche di trasporto delle membrane cellulari biologiche. Ciò implica che fenomeni

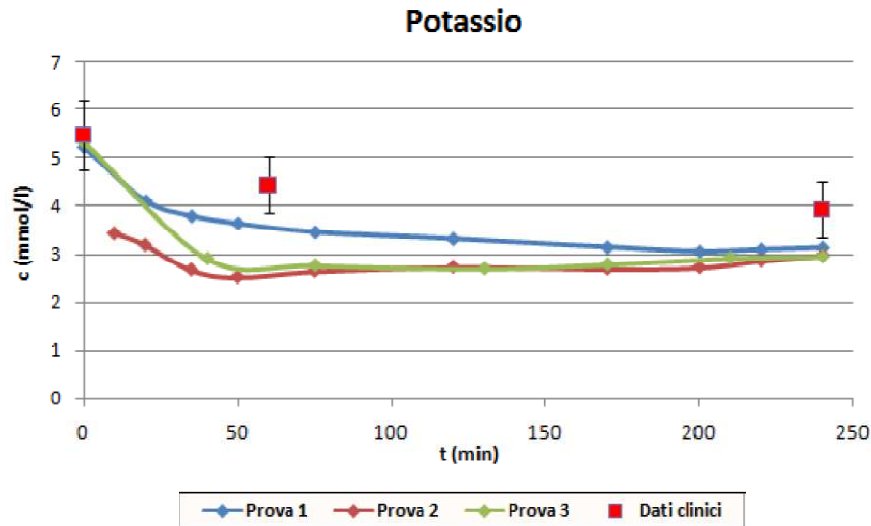
come il trasporto attivo del potassio all'interno della cellula (contro il gradiente di concentrazione), la diffusione facilitata di ioni e proteine attraverso canali preferenziali e l'elevata permeabilità all'acqua della membrana cellulare non possono essere riprodotti all'interno di questa simulazione.

Un'ulteriore semplificazione presente nel modello della simulazione della terapia di dialisi riguarda la composizione dei liquidi di simulazione dei fluidi biologici. Si è scelto, infatti, di rispettare le composizioni reali delle soluzioni biologiche solo per quanto riguarda gli ioni sodio, cloro, potassio, calcio e magnesio e per il componente di interesse nella terapia di dialisi, ovvero l'urea. In questo modo sono rimasti esclusi dalla simulazione tutti i componenti proteici all'interno delle soluzioni fisiologiche, nonché alcuni ioni e componenti di particolare importanza (bicarbonato, fosfati, glucosio, lattato, etc.).

Nonostante le approssimazioni adottate abbiano, comunque, consentito una descrizione di tipo qualitativo e quantitativo degli andamenti reali delle concentrazioni dei diversi elementi dei compartimenti liquidi corporei, l'assenza di molte specie chimiche all'interno dei fluidi di simulazione rappresenta sicuramente un limite per questo tipo di modello.

### **1.7 Un'ipotesi di miglioramento del modello**

La semplificazione del processo, con l'utilizzo del modello bicompartimentale, come già accennato, induce a trascurare i fenomeni di trasporto che avvengono a cavallo della membrana cellulare alterando soprattutto la concentrazione finale di potassio che viene rilevata nel compartimento liquido plasmatico del simulatore. In Figura 1.5 sono riportati i dati relativi alle prove effettuate durante la simulazione; essi mostrano che la concentrazione dello ione potassio, pur seguendo lo stesso andamento, si mantiene costantemente al di sotto di quella registrata nei dati relativi a trattamenti clinici di pazienti. Si suppone che questo sia dovuto alla mancanza di un modello adeguato per la pompa  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ , che tende a trasferire ioni potassio dal compartimento interstiziale a quello intracellulare e, contemporaneamente, ioni sodio dal compartimento intracellulare a quello interstiziale. Nel presente studio si propone un metodo basato sulla tecnica dell'elettrodialisi per aumentare la concentrazione degli ioni potassio nella soluzione che rappresenta il liquido interstiziale biologico, al fine di ristabilire (tramite diffusione attraverso la membrana capillare) la concentrazione di tale ione all'interno del compartimento plasmatico.



**Figura 1.5:** andamento della concentrazione del potassio durante le prove di simulazione della terapia di dialisi e confronto con i dati clinici relativi alle terapie di dialisi su soggetti uremici.

Con questo approccio si vuole proporre un metodo di miglioramento delle performance del simulatore fisico del paziente sottoposto a dialisi. Obiettivo ultimo di questo lavoro è riuscire a riprodurre più fedelmente l'andamento delle concentrazioni elettrolitiche dei fluidi corporei così come rilevate durante questo tipo di terapia e migliorare la valutazione diretta della funzionalità dei filtri dializzatori.

### 1.8 Tecniche di separazione mediante membrane a scambio ionico [6]

Le membrane a scambio ionico sono utilizzate in molte applicazioni appartenenti a settori anche molto diversi tra loro. Tutte queste applicazioni sono però accomunate dal fatto di sfruttare le membrane selettive per controllare il trasporto delle specie ioniche e per separarle in maniera prestabilita da una miscuglio di componenti neutri.

I processi di separazione tramite membrane a scambio ionico possono essere classificati in tre categorie principali:

- Processi di separazione di massa come nell'elettrodialisi, nella dialisi di Donnan e nella diffusione libera
- Processi di sintesi chimica come l'elettrolisi cloro-alcaina e la produzione di idrogeno e ossigeno dall'elettrolisi dell'acqua

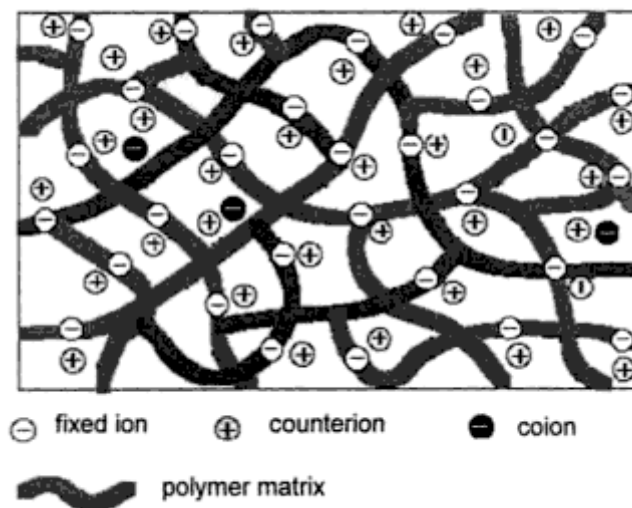
- Processi di conversione e immagazzinamento di energia come nelle celle a combustibile e nelle batterie elettriche

Tutti questi processi di separazione sono basati sullo stesso principio fondamentale: l'accoppiamento tra il trasporto delle cariche elettriche e il trasporto di massa associato a un gradiente di potenziale applicato esternamente.

Il componente chiave di ognuno di questi processi sono le membrane a scambio ionico che possono essere definite resine a scambio ionico, compattate sotto forma di foglietti. Esistono due diversi tipologie di membrane a scambio ionico:

- Membrane a scambio cationico, che contengono gruppi carichi negativamente all'interno della loro matrice polimerica
- Membrane a scambio anionico, che contengono gruppi carichi positivamente all'interno della matrice polimerica

Nelle membrane a scambio cationico le cariche negative fisse presenti all'interno della matrice sono in equilibrio elettrico con i cationi mobili (controioni) presenti nella soluzione a contatto con la membrana così come mostrato in figura 1.6.



**Figura 1.6:** disegno schematico della struttura di una membrana a scambio cationico.

Gli anioni mobili presenti in soluzione sono denominati co-ioni e sono quasi completamente esclusi dalla matrice polimerica della membrana, a causa della loro carica elettrica che è identica a quella delle particelle cariche presenti nella matrice. Questo tipo di esclusione è chiamata esclusione di Donnan in onore dello studioso che per primo la

descrisse [7]. Una membrana cationica, quindi, permette solo il trasferimento di cationi. Viceversa, per le medesime considerazioni una membrana a scambio anionico permette soltanto il passaggio degli anioni.

In quale misura i co-ioni vengano esclusi dalla matrice della membrana a scambio ionico dipende sia dalle caratteristiche della membrana, sia dalle caratteristiche della soluzione a contatto con essa. Le membrane a scambio ionico possono inoltre essere classificate come fortemente o debolmente acide o basiche, a seconda del grado di dissociazione dei gruppi carichi fissi all'interno della matrice polimerica in una soluzione acquosa. Membrane fortemente acide contengono acido solforico come gruppo carico, mentre membrane debolmente acide contengono acido carbossilico come gruppo carico fisso. Nelle membrane fortemente basiche si hanno gruppi carichi costituiti da ammine quaternarie, mentre membrane debolmente basiche portano ammine terziarie come gruppi carichi fissi [8].

Le proprietà delle membrane a scambio ionico sono determinate da differenti parametri quali [9, 10]:

- Densità della matrice polimerica
- Carattere idrofobico o idrofilico della matrice polimerica
- Tipo e concentrazione di cariche all'interno della matrice polimerica
- Morfologia della membrana

Le caratteristiche ideali che dovrebbero possedere le membrane a scambio ionico sono:

- Alta selettività al passaggio di ioni
- Bassa resistenza elettrica
- Buone proprietà meccaniche e di forma
- Alta stabilità chimica e termica

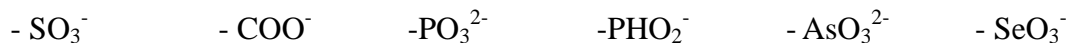
A seconda del materiale di cui sono costituite, queste membrane possono essere classificate come:

- Membrane composte di polimeri idrocarburici o polimeri idrocarburici parzialmente alogenati
- Membrane composte da polimeri perfluorcarbonici

- Membrane costituite da materiali inorganici
- Membrane composte da materiale per lo scambio ionico inorganico e matrice polimerica organica

Nella maggior parte delle membrane a scambio ionico disponibili in commercio la matrice polimerica consiste in un polimero idrofobico quale polistirene, polietilene o polisulfone. Sebbene questi polimeri siano insolubili in acqua e mostrino un basso grado di rigonfiamento, essi possono diventare solubili in acqua con l'aggiunta di particelle ioniche. In questo modo, la matrice polimerica delle membrane a scambio ionico contiene molto spesso cross-link. Il numero di cross-link tra le catene polimeriche determina per larga parte il grado di rigonfiamento in acqua e la stabilità chimica e termica della membrana, ma ha anche un effetto significativo sulla sua resistenza elettrica e selettività.

Le particelle ioniche più utilizzate per realizzare membrane a scambio cationico sono:



Nelle membrane a scambio cationico le cariche elettriche fisse sono:



Questi differenti gruppi ionici hanno un significativo effetto sulla selettività e sulla resistenza elettrica della membrana a scambio ionico. Per esempio, lo ione dell'acido solforico  $\text{SO}_3^-$  è completamente dissociato in tutto il range di pH, mentre il gruppo dell'acido carbossilico  $\text{COO}^-$  dovrebbe rimanere indissociato per pH minori di 3. L'ammina quaternaria  $\text{NR}_3^+$  è anch'essa completamente dissociata in tutto il range di pH, mentre l'ammina secondaria  $\text{NH}_2\text{R}^+$  è solo debolmente dissociata. In accordo con queste considerazioni le membrane cationiche e anioniche vengono definite fortemente acide o basiche e debolmente acide o basiche.

Le membrane possono essere classificate anche secondo la loro struttura e procedura di preparazione: in particolare si possono individuare membrane omogenee e eterogenee.

Nelle membrane omogenee le cariche elettriche fisse vengono distribuite lungo tutta la superficie della membrana e sono prodotte sia mediante tecniche di polimerizzazione o policondensazione di monomeri funzionali come, ad esempio, acido fenolsulfonico e formaldeide, sia tramite funzionalizzazione di polimeri, per esempio polisulfone disciolto in un appropriato solvente e realizzato in film [9, 11].

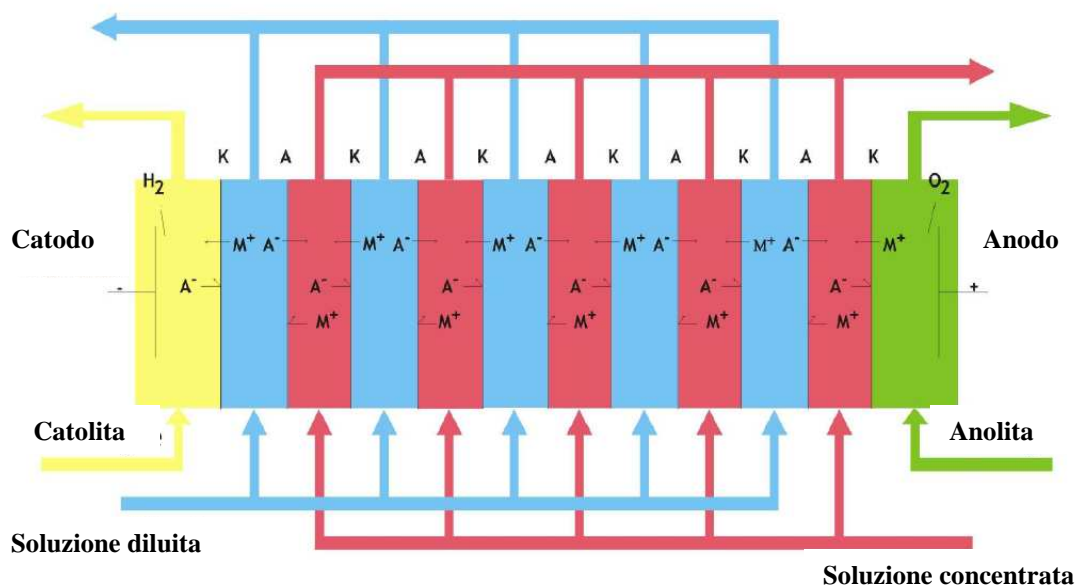
Le membrane eterogenee hanno domini macroscopici di resine a scambio ionico in una matrice polimerica neutra. Possono essere prodotte mescolando e pressando una resina a

scambio ionico con un polimero granulare come polivinilcloruro, oppure tramite dispersione di una resina a scambio ionico in una soluzione polimerica [12].

### 1.9 La tecnica dell'elettrodialisi [6, 13]

L'elettrodialisi rappresenta una delle tecniche per la separazione di soluzioni elettrolitiche tramite membrane a scambio ionico. In figura 1.7 è mostrato lo schema di un tipico sistema per elettrodialisi.

Esso consiste in una struttura contenente una serie di membrane a scambio cationico e anionico alternate, racchiuse tra due elettrodi. La singola cella è individuata dal volume compreso tra due membrane adiacenti. Se viene introdotto all'interno di questo sistema una soluzione elettrolitica e si applica una differenza di potenziale tra i due elettrodi, i cationi, carichi positivamente, migreranno verso il catodo e gli anioni, con carica negativa, migreranno verso l'anodo.



**Figura 1.7:** schema di una tipica cella per elettrodialisi

I cationi attraversano facilmente le membrane a scambio cationico, caricate negativamente, ma sono respinti dalle membrane a scambio anionico, che sono caricate positivamente. Viceversa, per lo stesso motivo, gli anioni passano attraverso le membrane a scambio anionico, ma risultano respinti da quelle a scambio cationico. Il risultato complessivo di questo processo è che in metà dei compartimenti si ottiene un aumento della concentrazione, mentre la restante parte risulterà diluita e priva di ioni. Gli elettrodi sono

generalmente immersi in una soluzione separata, differente da quella che viene introdotta nelle celle.

La forza che guida il trasporto di ioni nei processi di elettrodialisi è il potenziale elettrico applicato tra anodo e catodo. Nel sistema di elettrodialisi il trasporto totale di ioni è proporzionale alla corrente che passa attraverso una coppia di celle moltiplicata per il numero di coppie di celle presente nel sistema. Potendo imporre una corrente a piacere all'interno del sistema è possibile, quindi, aumentare l'efficienza del processo ponendo in serie più coppie di celle. Inoltre, per una area di membrana molto estesa sono richieste piccole aree degli elettrodi, limitando così sia i consumi che i costi.

Le proprietà delle membrane a scambio cationico e anionico montate, così come il loro posizionamento e ordine determinano la maggioranza delle caratteristiche della cella, sia a livello tecnico che economico.

Il processo di elettrodialisi, attualmente, è usato soprattutto per la desalinizzazione delle acque o per ottenere soluzioni altamente concentrate. Nonostante ciò, queste non sono le uniche applicazioni in cui è possibile utilizzare questa tecnica. Recentemente, infatti, con lo sviluppo di nuove e più efficienti membrane con migliori caratteristiche di selettività e bassa resistenza elettrica e con migliori proprietà termiche, chimiche e meccaniche, si stanno progettando nuovi usi di questa tecnologia, soprattutto nel campo dell'industria alimentare, farmaceutica, chimica e nel campo delle biotecnologie.

### **1.10 Studi sull'elettrodialisi di soluzioni biologiche [14, 15, 16]**

Il problema della separazione di soluzioni biologiche come sangue, plasma e liquido interstiziale è stato affrontato in passato nel contesto degli studi volti a ripristinare il corretto equilibrio delle concentrazioni ioniche dei fluidi corporei nel caso di severe disfunzioni renali che richiedevano il ricorso a terapie extracorporee per il trattamento del sangue.

Fin dal 1926 lo studio di Bernhard e Beaver suggeriva di utilizzare la tecnica dell'elettrodialisi per eliminare gli elettroliti di scarto da una soluzione biologica. I loro esperimenti sul plasma sanguigno hanno dimostrato la completa diffusibilità di ioni quali sodio, cloro e potassio e la parziale diffusibilità di ioni come fosforo, calcio e magnesio, attraverso particolari resine a scambio ionico.

Ancora nel 1962 lo studio di D.Lyttle proponeva l'utilizzo dell'elettrodialisi con membrane a scambio ionico per depurare il sangue dal contenuto di elettroliti. Quest'ultimo conclude



che con questa tecnica, pur essendo più rapida la diffusione di elettroliti rispetto alla normale dialisi, il passaggio di corrente all'interno del fluido sanguigno può causare problemi come emolisi e precipitazione di proteine che non possono essere sottovalutati. Queste considerazioni portano lo studioso a sconsigliare la produzione di un sistema di dialisi di questo tipo, ovvero senza l'ausilio di un filtro dializzatore.

Più recentemente si è pensato di sfruttare la tecnica dell'elettrodialisi per ottenere soluzioni simili a quelle fisiologiche a partire da soluzioni saline naturali. Nel 2002 si è condotto uno studio in cui si dimostra come, usando la tecnica dell'elettrodialisi con membrane a scambio ionico, si possa riuscire ad ottenere una soluzione isotonica (cioè con lo stesso contenuto di sodio, cloro, calcio, magnesio e solfato del sangue) con un procedimento molto più semplice rispetto alle tradizionali tecniche di dialfiltrazione o nanofiltrazione.

Nel prossimo capitolo si propone una tecnica per la separazione di una soluzione elettrolitica complessa, realizzata per simulare il liquido interstiziale biologico.

Scopo di questo lavoro è ottenere un aumento della concentrazione di potassio all'interno di tale soluzione e, in definitiva, ottenere un bilanciamento più corretto delle concentrazioni di ioni durante una simulazione di dialisi extracorporea del sangue, così come è stata proposta nello studio effettuato da Borlotti e Carugo per il loro lavoro di tesi.

## **2. MATERIALI E METODI**

### **2.1 Descrizione del simulatore fisico di paziente in dialisi [5]**

La simulazione della dialisi tramite simulatore fisico, oggetto del presente lavoro, è stata effettuata adottando un modello bicompartimentale per simulare il sistema paziente. Quest'ultimo è stato quindi rappresentato come una vasca rigida, dotata di compliance opportunamente dimensionata, contenente un fluido con concentrazioni elettrolitiche uguali a quelle del liquido interstiziale biologico; nella quale viene immerso un sistema di filtri a fibre cave posti in parallelo, contenenti una soluzione elettrolitica che simula il plasma biologico umano. In questo modo è stato possibile riprodurre gli scambi che avvengono a cavallo della membrana capillare in un soggetto in terapia di dialisi.

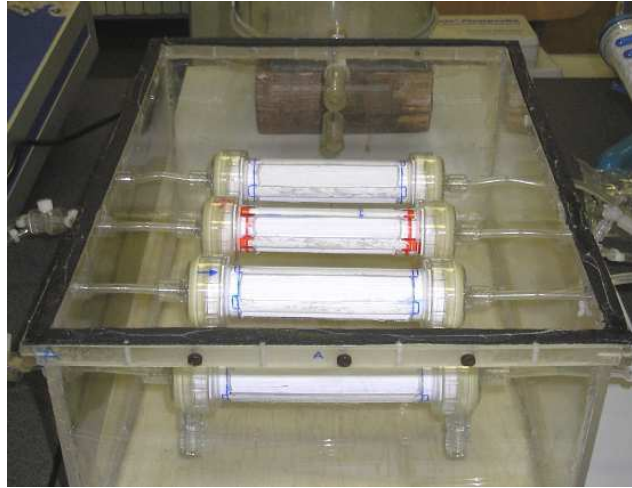
La necessità di simulare accuratamente le proprietà fisico-chimiche del sangue, ha condotto alla definizione e alla realizzazione di test di valutazione delle proprietà del fluido di lavoro che hanno permesso di ottenere fluidi con caratteristiche molto simili a quelli fisiologici.

La configurazione preliminare del simulatore, è stata implementata computazionalmente con l'obiettivo di valutarne il grado di fedeltà nella riproduzione degli andamenti delle concentrazioni elettrolitiche e dei volumi fluidi compartimentali.

Sono state, inoltre, condotte prove di caratterizzazione dei filtri a fibre cave, utilizzate per realizzare il compartimento plasmatico, con l'obiettivo di rendere più accurato il modello computazionale e di ricavare valori delle grandezze di interesse corrispondenti alle effettive condizioni in cui si trova ad operare il simulatore fisico.

### **2.2 Circuito di simulazione [5]**

Il sistema capillare e il compartimento interstizio-cellulare, che simulano il paziente dialitico, sono stati assemblati come mostrato nella fotografia di figura 2.1. Possiamo notare la vasca rigida che simula il compartimento interstizio-cellulare e i filtri a fibre cave che riproducono il letto capillare. In figura 2.2 è mostrato il set-up sperimentale utilizzato per realizzare il dispositivo di simulazione finale con cui sono state effettuate le prove di validazione.



**Figura 2.1:** Simulazione del sistema paziente



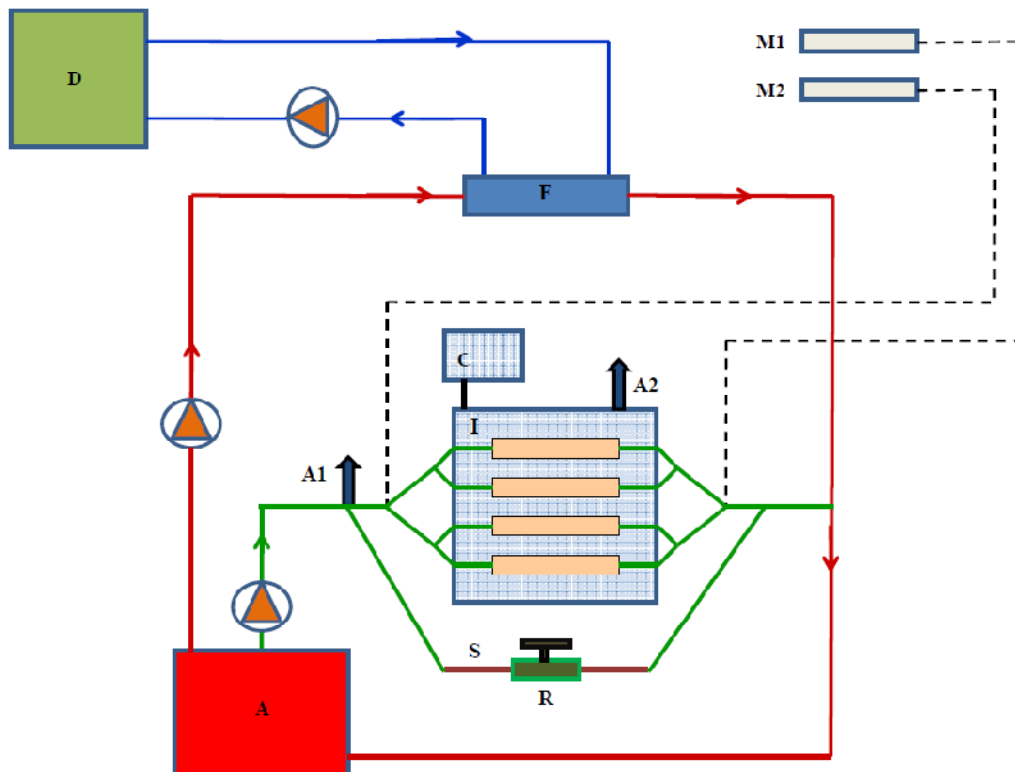
**Figura 2.2:** Set-up sperimentale utilizzato durante le prove di trattamento dialitico

All'interno di tale dispositivo si possono individuare due sottosistemi:

- 1.) *Sistema paziente*: in cui sono simulati i processi di scambio che si verificano all'interno del paziente sottoposto ad emodialisi. Esso si compone di:
  - *pompa*: in grado di fornire al sistema paziente una portata pari a quella media fisiologica di circa 5 l/min;
  - *sistema bicompartimentale*: in grado di simulare i fenomeni di trasporto di cataboliti ed elettroliti, che si instaurano tra i compartimenti corporei nel corso del trattamento;
  - *riserva*: in cui avviene il miscelamento tra il sangue trattato dal dializzatore e quello circolante nel sistema paziente.

2.) *Sistema dializzatore*: deputato alla attuazione del trattamento dialitico e posto in parallelo al sistema bicompartimentale.

In figura 2.3 è mostrato lo schema del circuito utilizzato per le prove di simulazione del trattamento di un paziente dialitico in cui vengono messi in evidenza le varie parti che lo compongono.



**Figura 2.3:** Schema del circuito di simulazione. In VERDE è mostrata la linea paziente; in ROSSO la linea del dializzatore (lato sangue) e in BLU la linea del dializzatore (lato liquido di dialisi). (A) Riserva plasmatica; (A1) Accesso compartimento plasmatico; (A2) Accesso compartimento interstizio-cellulare; (S) Ramo di Shunt; (R) Resistenza variabile; (I) Vasca interstizio-cellulare; (C) Compliance interstiziale; (F) Filtro dializzatore; (D) Riserva lato dialisato; (M) Trasduttori di pressione.

Il sangue eiettato dal corpo pompante entra nel simulatore bicompartimentale, dove avvengono gli scambi di fluidi ed elettroliti tra i compartimenti corporei (in linea con quanto accade fisiologicamente).

Il dializzatore, invece, preleva una portata di circa 300 ml/min all'altezza del lato arterioso del sistema paziente (fistola), realizza i processi di depurazione a cui è deputato e

reimmette il fluido di lavoro in corrispondenza del lato venoso del sistema paziente (punto di miscelamento).

Una riserva graduata posta a valle del punto di miscelamento consente di riequilibrare le concentrazioni elettrolitiche e di monitorare il volume fluido circolante.

Nella fase di progettazione del simulatore fisico, sono stati considerati i fenomeni di trasporto riguardanti alcuni elettroliti di interesse clinico ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ ) e dell'urea. I processi di scambio delle proteine sono stati ragionevolmente ritenuti trascurabili, in quanto la membrana capillare risulta impermeabile ad esse. Ciò giustifica anche la scelta di adottare nel modello fisico una membrana impermeabile alle proteine. Il trasferimento di glucosio non è stato preso in considerazione a causa dell'eccessiva variabilità da persona a persona, nel corso del trattamento di dialisi.

La scelta iniziale di riprodurre il letto capillare del paziente con un sistema di fibre cave poste in parallelo, ha reso necessaria la caratterizzazione di queste ultime in termini di:

- Portata entrante nel sistema; in grado di garantire una caduta di pressione di circa 20-25 mmHg ai capi del simulatore, corrispondente a quella che si riscontra fisiologicamente tra estremo arterioso ed estremo venoso dei capillari sanguigni.
- Proprietà filtranti delle fibre rispetto ai fluidi di lavoro con cui si interfacciano.
- Permeabilità delle fibre rispetto ai soluti di interesse.

Il valore di portata in ingresso al sistema di fibre cave, in grado di garantire la caduta di pressione desiderata ai capi del simulatore del letto capillare è stato ricavato sperimentalmente ed assume un valore compreso tra 150 e 160 ml/min. Considerando che la portata media cardiaca in un soggetto adulto a riposo è compresa tra 5 e 6 l/min, il numero di fibre cave necessario per garantire l'opportuna caduta di pressione risulta eccessivo (circa 30 filtri pediatrici). Ciò determina evidenti problemi di realizzazione e regolazione del sistema così progettato. Per questa ragione, si è deciso di introdurre un fattore di scala per agevolare la realizzazione del simulatore, aumentandone il grado di flessibilità. In questo modo, anche i volumi e le portate circolanti nel sistema risultano scalati dello stesso fattore. Nell'individuazione del fattore di scala ottimale, sono stati inizialmente esclusi i valori che avrebbero complicato la realizzazione e la gestione del simulatore. Per confrontare la capacità filtrante del simulatore fisico con quella del letto capillare nel corso del trattamento dialitico, è necessario moltiplicare il valore del coefficiente di ultrafiltrazione ricavato sperimentalmente per l'area complessiva del

sistema di fibre cave per il rispettivo fattore di scala adottato. Nel simulatore bicompartimentale si è scelto di riprodurre lo scambio di fluidi che si instaura tra compartimento plasmatico e compartimento interstiziale, il quale è dovuto principalmente alla risultante tra pressione idraulica e pressione oncotica nei due compartimenti, le quali variano a causa della sottrazione di acqua durante il trattamento. Tuttavia, con questa semplificazione, si trascura l'effetto dovuto alla presenza della membrana cellulare e ciò altera soprattutto l'andamento della concentrazione del potassio durante la simulazione del trattamento di dialisi. In particolare i dati relativi alle prove effettuate mediante questo tipo di dispositivo mostrano che la concentrazione dello ione potassio, pur seguendo lo stesso andamento, si mantiene costantemente al di sotto di quella registrata nei dati relativi a trattamenti clinici di pazienti. Si suppone che questo sia dovuto alla mancanza di un modello adeguato per la pompa  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , che tende a trasferire ioni potassio dal compartimento interstiziale a quello intracellulare e, contemporaneamente, ioni sodio dal compartimento intracellulare a quello interstiziale. Nel presente lavoro di tesi verrà proposta una modifica del dispositivo precedentemente descritto. In particolare verrà introdotta nel circuito un'ulteriore parte per il trattamento del liquido di simulazione del compartimento interstizio-cellulare. Quest'ultimo verrà trattato tramite la tecnica dell'elettrodialisi, al fine di aumentare la concentrazione di potassio al suo interno. L'aumento della concentrazione di potassio all'interno del liquido interstizio-cellulare provoca un aumento contemporaneo della concentrazione di tale ione all'interno del compartimento plasmatico, dovuto alla diffusione per gradiente di concentrazione attraverso la membrana dei filtri a fibre cave. Tramite un opportuno set-up dei parametri dell'elettrodialisi, si vuole ottenere che la variazione di concentrazione dello ione potassio all'interno del liquido di simulazione interstizio-cellulare sia tale da riportare la concentrazione di potassio all'interno del liquido di simulazione del plasma biologico ai valori riscontrati durante trattamenti clinici di pazienti con gravi disfunzioni renali. In questo modo sarebbe possibile riprodurre ancor più fedelmente gli andamenti delle concentrazioni degli elettroliti nei compartimenti liquidi corporei durante il trattamento di dialisi e ciò potrebbe consentire una più corretta valutazione funzionale della terapia oggetto di analisi. Nei prossimi paragrafi verrà presentato il funzionamento di un sistema di elettrodialisi progettato per aumentare il contenuto di potassio nella soluzione di simulazione del liquido interstiziale. Successivamente verranno forniti i modelli matematici utilizzati per modellizzare il trasporto di massa all'interno della cella e infine verrà proposto un circuito di simulazione della dialisi con l'aggiunta del nuovo apparato.

### 2.3 Elettrodialisi di soluzioni equivalenti al liquido interstiziale biologico

In Tabella 2.1 è mostrata la composizione e la concentrazione di elettroliti presente all'interno del liquido interstiziale biologico:

Soluto	Concentrazione (mmol/l)
Sodio ( $\text{Na}^+$ )	139
Cloro ( $\text{Cl}^-$ )	4.0
Potassio ( $\text{K}^+$ )	1.2
Calcio ( $\text{Ca}^{++}$ )	0.7
Magnesio ( $\text{Mg}^{++}$ )	108
Bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ )	28.3
Fosfato ( $\text{HPO}_4^-$ )	2
Urea	4
Glucosio	5.6
Proteine	0.2

**Tabella 2.1:** Composizione del liquido interstiziale biologico

In un paziente uremico, che debba essere sottoposto a terapia di dialisi, le concentrazioni di elettroliti si sbilanciano e il maggior cambiamento rispetto alle concentrazioni fisiologiche si ha nella quantità di urea, che arriva ad essere anche cinque volte maggiore rispetto alla concentrazione fisiologica. Per simulare il liquido interstiziale biologico in condizioni di uremia sono stati utilizzati i componenti e le concentrazioni indicate in tabella 2.2:

Componenti	Concentrazioni (g/l)
Urea	1.200
Cloruro di sodio ( $\text{NaCl}$ )	6.800
Idrossido di potassio ( $\text{KOH}$ )	1.2
Cloruro di calcio ( $\text{CaCl}_2$ )	0.7
Cloruro di magnesio ( $\text{MgCl}_2$ )	108
Poligelina	6.000

**Tabella 2.2:** Componenti utilizzati per la realizzazione del liquido di simulazione interstizio-cellulare

Tali composti additivi sono stati aggiunti ad una soluzione di acqua ed Emagel (in rapporto tale tra di loro da ottenere una pressione osmotica iniziale di 4 mmHg) dando origine ad una soluzione elettrolitica la cui composizione è riportata in tabella 2.3.

Soluto	Concentrazione (mmol/l)
Urea	20.0
Sodio ( $\text{Na}^+$ )	140.0
Cloro ( $\text{Cl}^-$ )	150.0
Potassio ( $\text{K}^+$ )	5.9
Calcio ( $\text{Ca}^{++}$ )	4.8
Magnesio ( $\text{Mg}^{++}$ )	1.0

**Tabella 2.3:** Composizione liquido di simulazione interstizio-cellulare

Come possiamo notare il valore dello ione cloruro nella soluzione di simulazione è più alto del valore fisiologico e, a causa della difficoltà di preparazione di una soluzione elettrolitica perfettamente uguale a quella biologica, i valori di questo ione dopo ogni prova sono stati normalizzati al valore fisiologico in modo da riportare i dati al loro valore medio fisiologico.

Si può notare, inoltre, come siano stati esclusi dalla simulazione sia lo ione bicarbonato che lo ione fosfato, che nei liquidi fisiologici giocano un ruolo essenziale nella regolazione dell'equilibrio acido-base del sangue.

Lo scopo del presente lavoro è trattare la soluzione di simulazione del liquido interstiziale con la tecnica dell'elettrodialisi, al fine di aumentare la concentrazione di potassio all'interno di tale soluzione durante tutto il trattamento dialitico.

Per ottenere questo risultato si possono immaginare due tipi di configurazione per una cella di elettrodialisi (Figura 2.4):

A) Nella configurazione A, la cella è divisa in quattro compartimenti separati, indicati dal numero cerchiato nella figura:

Le camere 1 e 4 contengono gli elettrodi, separati dal resto della cella tramite due membrane a scambio cationico che permettono il passaggio soltanto di ioni con carica positiva. La camera contenente l'anodo viene riempita con una soluzione di KCl, quella contenente il catodo viene riempita con una soluzione di NaOH.

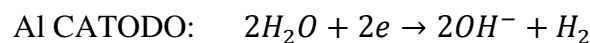
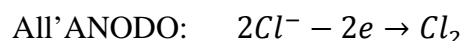


Le camere 2 e 3 (adiacenti alle camere contenenti gli elettrodi) sono separate tra di loro tramite una membrana a scambio anionico che permette il passaggio soltanto di ioni con carica negativa. La prima contiene una soluzione di dialisi, di cui viene scelta a priori sia la composizione sia la concentrazione dei componenti. La seconda contiene la soluzione equivalente al liquido interstiziale biologico da trattare.

B) Nella configurazione B, la cella è ancora suddivisa in quattro compartimenti separati, indicati dal numero cerchiato.

La differenza rispetto alla configurazione A è che le quattro le camere sono separate da tre membrane a scambio cationico. Queste ultime permettono esclusivamente il passaggio di ioni a carica positiva. Le soluzioni presenti all'interno delle camere sono identiche a quelle della prima configurazione.

Come è possibile notare dalla figura 2.4, grazie alla reazione che avviene all'anodo, si può ottenere il passaggio di uno ione positivo dalla camera dell'anodo verso la camera della soluzione di interesse attraverso la membrana a scambio cationico. La specie chimica dello ione positivo che viene scambiato può essere decisa a priori tramite la scelta di un'opportuna soluzione da porre nella camera contenente l'anodo. A questo proposito è necessario ricordare le reazioni di ossido-riduzione che si verificano all'anodo e al catodo per illustrare meglio il funzionamento di una cella per elettrodialisi. In particolare si ha:

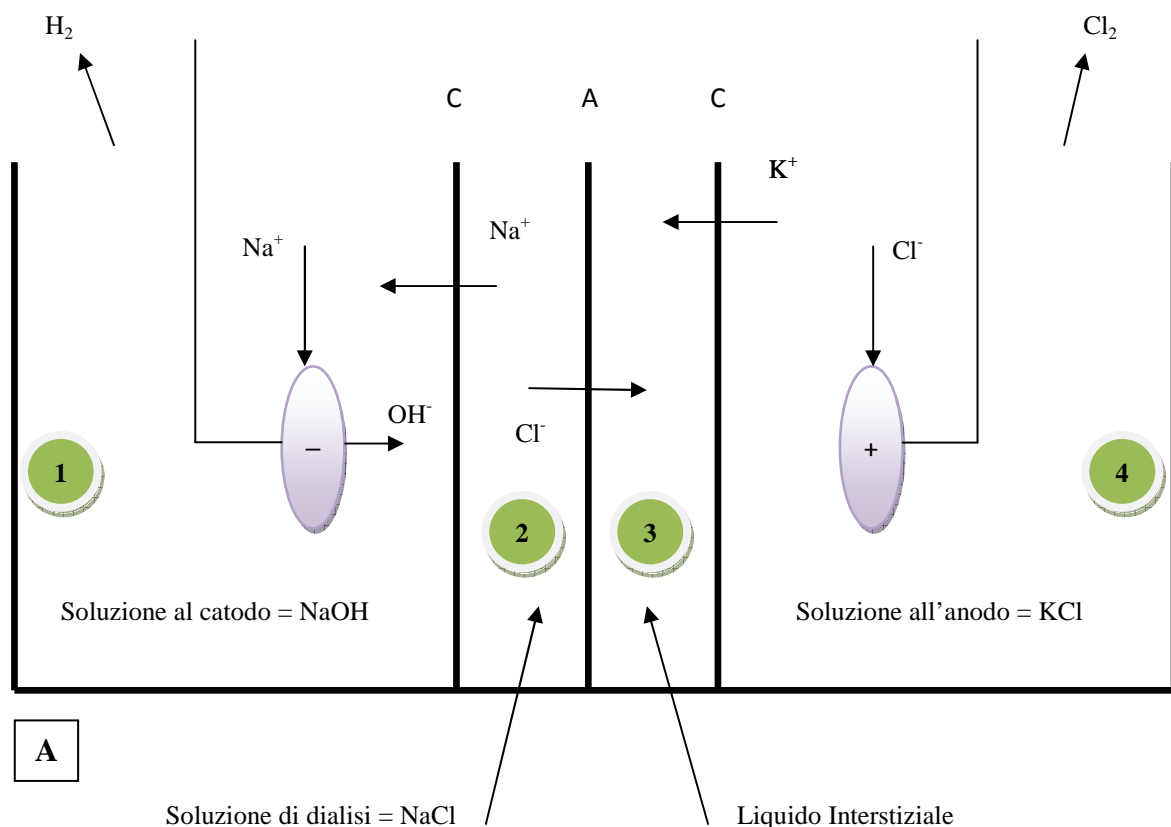


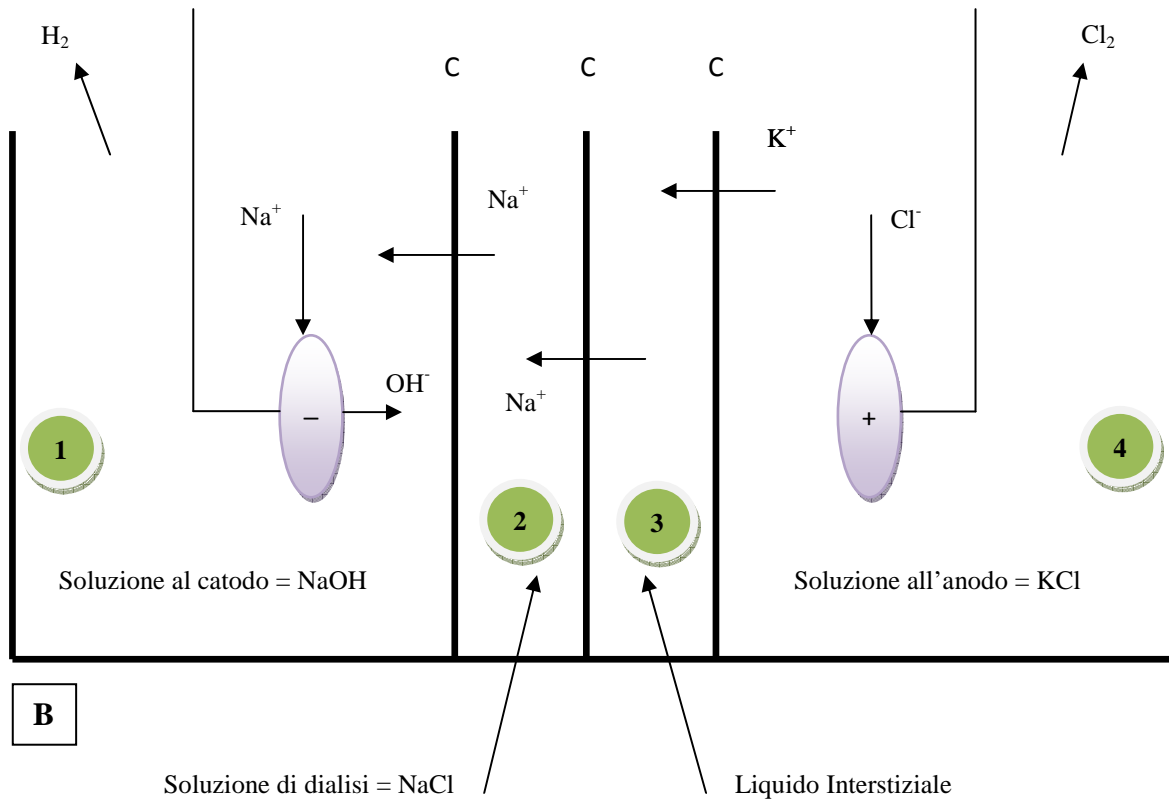
Per cui:

- dalla parte dell'anodo si ottiene la fuoriuscita di cloro allo stato gassoso
- dalla parte del catodo si ottengono ioni idrossido (che vanno a compensare l'entrata di ioni sodio dal lato del dialisato) e idrogeno allo stato gassoso che fuoriesce dalla soluzione.

Esaminando la configurazione A della figura 2.4, nella soluzione presente nella camera 3 (liquido interstiziale) si verifica da una parte l'ingresso di ioni positivi (in questo caso ioni  $K^+$ ), provenienti dalla soluzione nella camera 4, dall'altra si ha l'ingresso di ioni cloruro (negativi) dal lato della soluzione della camera 2 (in questo caso si è ipotizzata una soluzione di NaCl). Ciò implica che, per ottenere un aumento di concentrazione del potassio tramite la prima configurazione, si deve considerare un aumento di pari entità della concentrazione di cloro all'interno della soluzione.

Si noti, inoltre, che in questo tipo di configurazione non abbiamo fuoriuscita di elettroliti dalla soluzione di interesse, ma solo ingresso da entrambe le parti. Ciò, quindi, darà luogo ad un aumento della concentrazione elettrolitica totale della soluzione, la quale risulterà, al netto di tutti i passaggi, caricata di una quantità di KCl dipendente dall'entità delle forze elettrochimiche in gioco.





**Figura 2.4:** Due possibili schemi di funzionamento (A e B) di una cella di elettrodialisi per aumentare la concentrazione di potassio in una soluzione che simula il liquido interstiziale biologico.

La configurazione B della figura 2.4, differisce dalla prima in quanto vengono scelte tre membrane cationiche per separare le quattro camere della cella. In questo tipo di struttura solo i cationi possono liberamente diffondere e passare attraverso le membrane. Imponendo una differenza di potenziale agli elettrodi, si ottiene, quindi, una corrente elettrica all'interno della soluzione portata esclusivamente dagli ioni positivi.

Anche in questo tipo di cella possiamo sfruttare la reazione all'anodo per ottenere un passaggio netto di ioni positivi (nel nostro caso K<sup>+</sup>) dalla soluzione presente nella camera 4 verso la soluzione di simulazione del liquido interstiziale. Questa volta, però, all'interno della camera 3 (liquido interstiziale di simulazione), l'ingresso degli ioni positivi provenienti dalla soluzione all'anodo è seguito e bilanciato dalla fuoriuscita di ioni positivi dalla soluzione verso la camera 2.

Risulta necessario, quindi, in relazione alla composizione del liquido interstiziale di simulazione, determinare quali siano gli ioni positivi che potrebbero essere persi dalla soluzione.

Come è possibile notare dalla tabella relativa alla composizione della soluzione di simulazione del liquido interstiziale, gli ioni positivi presenti nella soluzione di interesse sono sodio, potassio, calcio e magnesio. Il sodio e il potassio sono ioni monovalenti, mentre calcio e magnesio portano due cariche positive.

Studi sui processi di elettrodialisi [14, 17] hanno dimostrato che la diffusibilità degli ioni divalenti come calcio e magnesio all'interno delle membrane a scambio cationico è limitata rispetto alla diffusione di ioni monovalenti come sodio e potassio.

Alla luce di questa considerazione possiamo, quindi, affermare che nella soluzione di interesse la corrente di ioni positivi verso la soluzione di dialisi sarà principalmente costituita dagli ioni sodio e dagli ioni potassio.

Un'ulteriore considerazione sulla composizione della soluzione di simulazione del liquido interstiziale, consente di notare che la concentrazione dello ione sodio è molto più elevata rispetto alla concentrazione dello ione potassio (di quasi due ordini di grandezza). Questo dato, unito al fatto che le membrane a scambio cationico sono generalmente molto più permeabili al sodio che al potassio, permette di ipotizzare che la maggior parte degli ioni che verranno prelevati dalla soluzione di interesse e trasferiti al liquido di dialisi, saranno gli ioni sodio.

Si può supporre che la quantità di ioni potassio che vengono trasferiti al liquido di dialisi, dalla soluzione di interesse, sia proporzionale al rapporto tra le concentrazioni di sodio e potassio nella soluzione e al rapporto tra i coefficienti di diffusione di questi due ioni attraverso la membrana.

Alla luce di queste considerazioni possiamo affermare che una cella di elettrodialisi configurata come nella figura 2.4-B, può produrre una soluzione di simulazione del liquido interstiziale arricchita di ioni potassio e con una concentrazione minore di ioni sodio. Tuttavia è da considerare il fatto che la quantità di ioni sodio persi dalla soluzione non è esattamente equivalente, come nel primo caso, alla quantità di ioni potassio immessi nella soluzione. È possibile, infatti, che una quantità, seppur piccola, di ioni potassio già presenti nel liquido di simulazione, venga trasferita al liquido di dialisi e quindi persa dal fluido di interesse.

In ogni caso, al netto di tutti i passaggi, si ottiene un aumento della concentrazione del potassio all'interno della soluzione di simulazione del liquido interstiziale, coerentemente con l'obiettivo iniziale.

Nel prossimo paragrafo verrà fornito il modello matematico che sta alla base dei fenomeni di trasporto attraverso le membrane a scambio ionico presenti all'interno delle celle per elettrodialisi.

#### **2.4 Trasporto di ioni in soluzione attraverso membrane**

Per ottenere la separazione degli ioni da una soluzione di interesse in un processo di scambio ionico tramite membrane selettive alla carica, è necessario che gli ioni siano trasportati attraverso tali membrane verso un'altra soluzione. Il coefficiente di trasporto degli ioni è determinato da parametri sia cinetici che termodinamici. I parametri cinetici sono espressi dalla mobilità ionica (o diffusività) degli ioni nella matrice della membrana e all'interno della soluzione, mentre i parametri termodinamici sono costituiti dalle forze esterne che devono essere applicate per superare l'attrito che le particelle subiscono durante il loro movimento attraverso la soluzione e all'interno della membrana. Di conseguenza, con questo tipo di approccio, il trasporto di massa in una determinata soluzione può essere descritto da un lato tramite funzioni di stato termodinamiche come l'equazione dell'energia libera di Gibbs e dall'altro dai suoi parametri cinetici come coefficiente di diffusione, mobilità ionica o conduttività elettrica.

Particolarmente importanti nella descrizione dei fenomeni di interesse, inoltre, risultano essere le condizioni al contorno di elettroneutralità della soluzione elettrolitica, che stabiliscono che in ogni soluzione, su scala macroscopica, non ci possono essere eccessi o sbilanciamenti di cariche positive o negative e, per questo motivo, anche se le particelle cariche all'interno della soluzione possono essere trattate come entità singole, i loro flussi risultano essere sempre orientati e accoppiati in modo da non avere accumulo di cariche da un lato o dall'altro della membrana.

#### **2.5 Descrizione matematica dei fenomeni di trasporto nelle soluzioni [6, 18]**

Il trasporto di massa nelle soluzioni elettrolitiche è determinato dalle forze agenti sui singoli componenti della soluzione e dall'attrito dovuto alle collisioni con altre particelle e alle forze di sfregamento che le particelle devono vincere per potersi muovere all'interno della soluzione. Le forze agenti sulle particelle possono essere descritte dalle variazioni del loro potenziale elettrochimico all'interno della soluzione, mentre le forze di attrito e in

generale la resistenza al movimento offerta dalle particelle possono essere generalmente espresse dalla loro permeabilità idrodinamica, dal coefficiente di diffusione e dalla resistenza elettrica degli elettroliti. Per descrivere il trasporto di massa nelle soluzioni elettrolitiche è necessario, quindi, correlare matematicamente questi diversi contributi e, a tal proposito, sono stati presentati numerosi studi scientifici che hanno cercato di modellizzare il trasferimento di massa nelle soluzioni.

Il modello ad oggi più utilizzato per descrivere i fenomeni di trasporto nelle soluzioni elettrolitiche è quello formalizzato dall'equazione estesa di Nernst-Plank [19]. Tale equazione prevede tre tipi di trasporto all'interno di soluzioni, in presenza di membrane a scambio ionico:

- Diffusione
- Migrazione
- Convezione

La diffusione è un movimento dei componenti molecolari presenti in soluzione causato da una variazione locale del potenziale chimico, che, in condizione isoterme, dà origine a un gradiente di concentrazione e/o di pressione.

La migrazione è il movimento delle particelle cariche causato da una variazione del potenziale elettrico nella soluzione. Generalmente la variazione del potenziale elettrico viene imposta applicando una differenza di potenziale tra due elettrodi immersi in una soluzione elettrolitica. I cationi, carichi positivamente, migreranno verso il catodo, carico negativamente, mentre gli anioni migreranno verso l'anodo.

La convezione è un movimento delle particelle dotate di massa causato da forze di tipo meccanico. Il trasporto convettivo è in generale meno importante nei materiali solidi omogenei come le membrane a scambio ionico, ma risulta comunque dominante nelle strutture porose e nelle soluzioni che vengono rimescolate.

Il principale svantaggio dell'utilizzo dell'equazione estesa di Nernst-Plank per la descrizione dei fenomeni di trasporto nelle soluzioni elettrolitiche è il fatto che essa non tiene conto dell'accoppiamento che esiste nella realtà tra i flussi dei singoli componenti all'interno della soluzione. Il presente studio utilizzerà comunque il modello di Nernst-Plank che descrive con buona approssimazione il trasporto dei soluti all'interno della soluzione.

## 2.6 L'equazione di Nernst-Plank

Il modello di Nernst-Plank assume la variazione di potenziale elettrochimico come elemento dominante del trasporto di massa all'interno delle soluzioni elettrolitiche. Il potenziale elettrochimico di una soluzione è dato dalla somma dei contributi dovuti al potenziale chimico e al potenziale elettrico della soluzione e risulta essere:

$$\eta_i = \mu_i + z_i F \varphi = \mu_i^0 + \bar{V}_i p + RT \ln a_i + z_i F \varphi$$

Dove:

- $\eta_i$  è il potenziale elettrochimico della specie i-esima
- $\mu_i$  è il potenziale chimico della specie i-esima
- $\varphi$  è il potenziale elettrico
- $z_i$  è la valenza della specie i-esima
- $F$  è la costante di Faraday
- $\mu_i^0$  è il potenziale chimico della specie i-esima nello stato standard
- $p$  è la pressione idrostatica
- $\bar{V}_i$  è il volume molare parziale
- $a_i$  è l'attività della specie chimica i-esima
- $R$  è la costante dei gas
- $T$  è la temperatura assoluta

In questa equazione compare l'attività della specie chimica ( $a_i$ ) che è una funzione della concentrazione della specie chimica in soluzione e risulta:  $a_i = C \cdot \gamma_i$  dove  $\gamma_i$  è il coefficiente di attività della specie chimica in soluzione. Sostituendo questa espressione nell'equazione precedente e derivandola lungo la direzione del trasporto di massa  $x$  (perpendicolare alla superficie della membrana) otteniamo:

$$\frac{d\eta_i}{dx} = \bar{V}_i \frac{dp}{dx} + RT \frac{d \ln(C_i \gamma_i)}{dx} + z_i F \frac{d\varphi}{dx}$$

Nei processi di elettrodialisi e, in generale, di separazione ionica tramite membrane selettive, la differenza di pressione idrostatica a cavallo della membrana viene mantenuta a livelli più bassi possibile per minimizzare il flusso viscoso sulla sua superficie. Tramite

questa assunzione possiamo, quindi, trascurare il termine  $\vec{V}_i \frac{dp}{dx}$  e, riscrivendo il termine  $RT \frac{d \ln(C_i \gamma_i)}{dx}$  come  $\frac{RT}{C_i} \left(1 + C_i \frac{d \ln \gamma_i}{dC_i}\right) \frac{dC_i}{dx}$ , otteniamo:

$$\frac{d\eta_i}{dx} = \frac{RT}{C_i} \left(1 + C_i \frac{d \ln \gamma_i}{dC_i}\right) \frac{dC_i}{dx} + z_i F \frac{d\varphi}{dx}$$

Per l'equazione di Stefan-Maxwell quando il flusso di un componente  $i$  in una soluzione è costante, la somma di tutte le forze agenti su di esso è uguale alla somma delle forze di frizione tra tutti gli altri componenti presenti in soluzione e il componente  $i$  e risulta che:

$$X_i = \sum_k \frac{f_{ik}}{C_i} (v_i - v_k) = \sum_k \frac{RT}{\mathfrak{D}_{ik} C_i} (J_i - J_k)$$

Dove:

- $X_i$  è la forza esterna che agisce sul componente  $i$
- $C$  è la concentrazione
- $v_i$  e  $v_k$  sono le velocità lineari del componente  $i$  e dei componenti  $k$
- $\mathfrak{D}$  è il coefficiente di diffusione di Stefan-Maxwell
- $f$  è il coefficiente di frizione ( $= \frac{RT}{\mathfrak{D}}$ )

Se consideriamo la variazione di potenziale elettrochimico  $\eta$  come la forza dominante nel processo di trasporto di massa e sostituiamo le velocità con i flussi, l'equazione diventa:

$$\frac{RT}{C_i} \left(1 + C_i \frac{d \ln \gamma_i}{dC_i}\right) \frac{dC_i}{dx} + z_i F \frac{d\varphi}{dx} = \frac{RT}{C_i} \sum_k \left( \frac{J_k - J_i}{\mathfrak{D}_{ik}} \right)$$

Da cui si ottiene:

$$J_i = -\mathfrak{D}_i \left[ \left(1 + C_i \frac{d \ln \gamma_i}{dC_i}\right) \frac{dC_i}{dx} + \frac{z_i C_i F}{RT} \frac{d\varphi}{dx} \right] + v_k C_i$$



Se la soluzione di interesse viene ritenuta ideale, ovvero se l'attività del componente  $i$ -esimo varia in maniera identica con la sua concentrazione, allora il coefficiente di diffusione di Stefan-Maxwell può essere sostituito con il coefficiente di diffusione di Fick e l'equazione viene semplificata fino ad ottenere:

$$J_i = -D_i \frac{dC_i}{dx} - D_i \frac{z_i C_i F}{RT} \frac{d\phi}{dx} + v_k C_i$$

Dove  $D_i$  è il coefficiente di diffusione di Fick.

Quest'ultima equazione rappresenta il modello esteso di Nernst-Planck per la soluzione del problema del trasporto di massa all'interno di una soluzione elettrolitica in cui siano presenti membrane a scambio ionico. Il primo termine dell'equazione rappresenta il contributo dato dalla diffusione, il secondo rappresenta la migrazione dovuta al campo elettrico e la terza rappresenta il trasporto convettivo dato dalla velocità lineare di tutti i componenti  $k$  presenti nella soluzione.

## **2.7 Determinazione del coefficiente di diffusione degli elettroliti attraverso le membrane a scambio ionico**

Quando vengono utilizzate membrane a scambio ionico per processi di separazione, un lato della membrana è a contatto con una soluzione concentrata mentre l'altro è a contatto con una soluzione diluita. Spesso, nelle applicazioni pratiche, si cerca di ottenere il massimo gradiente di concentrazione per il componente di interesse a cavallo della membrana. Ciò permette la diffusione di tale componente attraverso la membrana. La determinazione del coefficiente di diffusione di una particolare specie chimica attraverso la membrana può essere effettuata tramite una procedura standard denominata "*metodo time-lag*" [20]. In questo tipo di procedura una membrana a scambio ionico separa due soluzioni: una contiene il componente di cui si vuole determinare il coefficiente di diffusione in una certa concentrazione, mentre l'altra è completamente priva di tale componente. A questo punto si lascia che le due soluzioni all'interfaccia con la membrana vadano all'equilibrio e si misura il flusso del componente di interesse in funzione del tempo. In un primo momento (stato di transizione) il flusso del componente di interesse aumenta esponenzialmente con il tempo. Dopo un certo intervallo di tempo l'aumento del flusso diviene lineare e il sistema

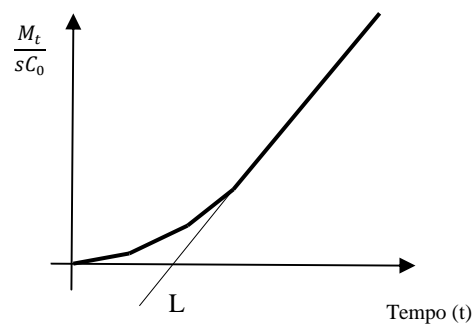
raggiunge la condizione di equilibrio (stato stazionario). Allo stato stazionario il flusso di massa per il componente analizzato risulta uguale a:

$$M_t = \frac{DC_0}{s} \left( t - \frac{s^2}{6D} \right)$$

Dove  $M_t$  è il flusso di massa allo stato stazionario per il componente da testare attraverso la membrana,  $C_0$  è la sua concentrazione iniziale nella soluzione originaria,  $s$  è lo spessore della membrana e  $D$  è il coefficiente di diffusione del componente di interesse nella membrana.

Se viene estrapolata la parte lineare della curva  $\frac{M_t}{sC_0}$  in funzione del tempo risulta un grafico come quello di figura 2.5, dove l'intersezione tra l'asse delle ascisse e la parte lineare della curva è chiamato time-lag  $L$ . Esso risulta essere uguale a:

$$L = \frac{s^2}{6D}$$



**Figura 2.5:** Rappresentazione schematica che illustra la determinazione del coefficiente di diffusione tramite il metodo time-lag.

Per un dato spessore di membrana ( $s$ ) il coefficiente di diffusione può essere determinato con l'utilizzo dell'equazione precedente.

Il metodo “*time-lag*” risulta essere molto conveniente per determinare il coefficiente di diffusione di una determinata specie chimica. Tuttavia, i risultati possono essere, talvolta, viziati dal trasferimento di acqua per osmosi attraverso la membrana, a causa di grandi gradienti di concentrazione ai due lati. Per eliminare questi inconvenienti possono essere utilizzate tecniche che utilizzano radio traccianti.

## 2.8 Circuito di simulazione modificato

Alla luce delle considerazioni effettuate precedentemente, si può supporre che trattando il liquido interstiziale con un sistema di elettrodialisi come quello descritto in figura 2.4-B si dovrebbe ottenere un aumento degli ioni potassio all'interno della soluzione di simulazione del liquido interstiziale e una conseguente diminuzione della concentrazione del sodio.

Se si immagina, quindi, di far rientrare il liquido trattato nella vasca rigida che simula il compartimento interstizio-cellulare è possibile ottenere uno sbilancio della concentrazione di questi due ioni tra il lato interstizio-cellulare e quello plasmatico rappresentato dai filtri a fibre cave immersi nella vasca rigida. In particolare si dovrebbe ottenere una concentrazione di potassio maggiore dal lato interstizio-cellulare, mentre dal lato plasmatico si dovrebbe avere una concentrazione di sodio maggiore.

Questo sbilanciamento delle concentrazioni dovrebbe portare gli ioni sodio a fluire dal compartimento plasmatico a quello interstizio-cellulare, mentre gli ioni potassio verrebbero spinti ad entrare nel compartimento plasmatico grazie alla differenza di concentrazione presente a cavallo della membrana capillare. Questo passaggio si traduce in un aumento della concentrazione del potassio all'interno del compartimento plasmatico.

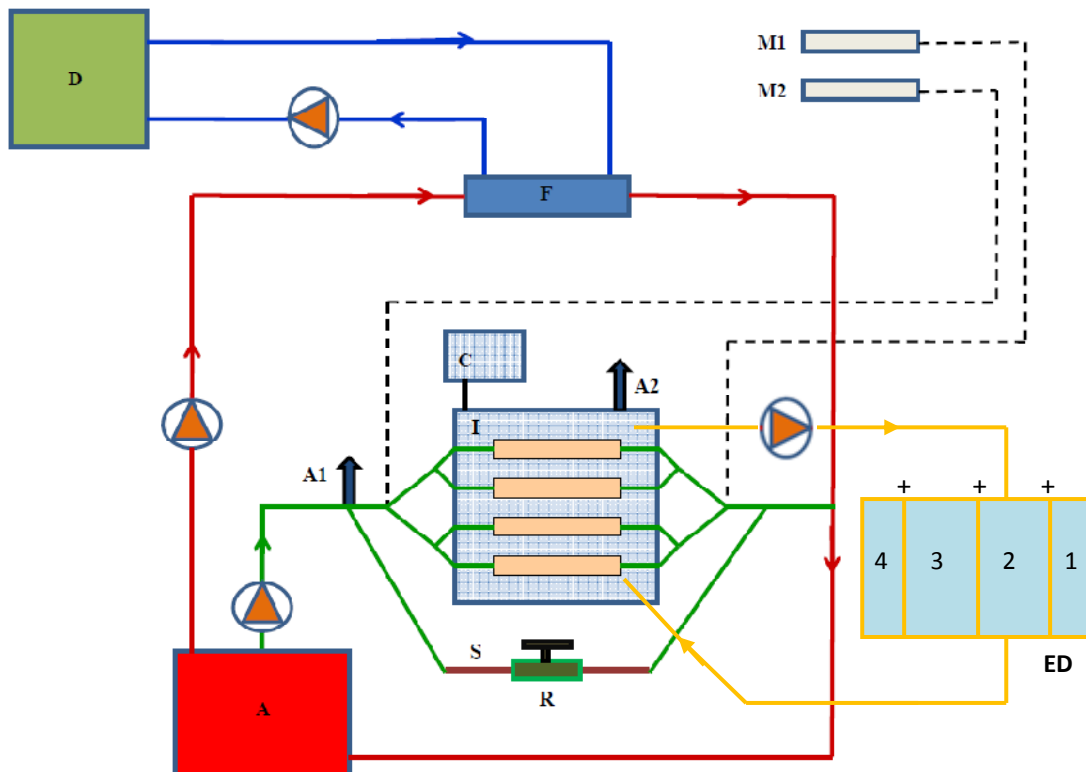
In figura 2.6 è riprodotto uno schema rappresentativo del circuito di simulazione della terapia di dialisi modificato con l'introduzione del sistema di elettrodialisi per il liquido contenuto nella vasca interstizio-cellulare. Il liquido viene prelevato dalla vasca grazie ad una pompa che lo inietta nel sistema di elettrodialisi. Va fatta particolare attenzione nel porre il punto di prelievo del liquido interstizio-cellulare sul fondo della vasca rigida, per evitare che le variazioni del volume interstizio-cellulare durante la terapia non permettano alla pompa di pescare il fluido da inviare al sistema di elettrodialisi. Un altro accorgimento utile da adottare sarebbe porre la vasca rigida sopra ad un agitatore magnetico, in modo che, mettendo in moto il fluido, la concentrazione della soluzione sia omogenea in tutti i punti della vasca.

I parametri che devono essere stabiliti nel sistema di elettrodialisi sono:

- Differenza di potenziale ai capi degli elettrodi (o corrente imposta da un generatore pilotato)
- Superficie di scambio delle membrane

- Portata del fluido in ingresso al sistema

La portata di fluido da inviare al sistema di elettrodialisi potrebbe essere intorno ai 500 ml/min. In questo modo, calcolando che approssimativamente nella vasca sono contenuti 40 litri di liquido, si può concludere che in circa 1 ora e 30 minuti tutto il fluido contenuto nella vasca sia stato trattato.



**Figura 2.6:** Circuito di simulazione della terapia di dialisi equivalente a quello di figura 2.3 in cui è stato introdotto il sistema di elettrodialisi di figura 2.4B (ED), per aumentare la concentrazione di potassio.

La superficie di scambio delle membrane contenute nel sistema di elettrodialisi dipende dalle specifiche di costruzione della cella. In commercio esistono molti tipi di sistemi per elettrodialisi, per lo più costruiti per esigenze industriali. Questi sistemi sono molto grandi e adottano superfici di membrana anche superiori al  $m^2$ . Tuttavia, negli ultimi tempi, sono stati realizzati anche sistemi di elettrodialisi da banco per soddisfare le esigenze relative ai nuovi studi su questa tecnica. I sistemi per elettrodialisi da banco montano membrane che

vanno dai 64 ai 200 cm<sup>2</sup> di superficie. Per le esigenze del presente lavoro questi tipi di sistemi potrebbero essere adatti.

Per quanto riguarda la differenza di potenziale da imporre agli elettrodi che racchiudono il sistema di membrane, questa deve essere stabilita a priori, in modo da ottenere uno scambio ionico equivalente alle esigenze di lavoro. Per stabilire la differenza di potenziale necessaria per ottenere il passaggio di ioni nella quantità voluta è necessario eseguire calcoli sulla base delle leggi matematiche del trasporto di massa precedentemente descritte. Nel prossimo capitolo verrà presentato il metodo per il calcolo della differenza di potenziale elettrico da applicare per ristabilire la concentrazione di potassio nel compartimento plasmatico, nonché una previsione sui risultati finali dell'intero processo di elettrodialisi e di simulazione della terapia di dialisi.

### 3. RISULTATI

#### 3.1 Principi operativi per i sistemi di elettrodialisi [6]

Per progettare un sistema di elettrodialisi che presenti le caratteristiche descritte nei capitoli precedenti è necessario conoscere o determinare i seguenti parametri:

- Composizione della soluzione di ingresso
- Proprietà di scambio della membrana
- Struttura del sistema di membrane
- Area di membrana richiesta
- Densità di corrente richiesta
- Potenziale elettrico da applicare per ottenere la densità di corrente voluta
- Tempo di permanenza della soluzione nel sistema di elettrodialisi (ovvero il flusso di soluzione attraverso le celle)

Tutti questi parametri possono essere calcolati mediante un bilancio del trasporto di massa all'interno del sistema di elettrodialisi.

Il grado di dissalazione di una soluzione è determinato dal numero di ioni rimossi dalla soluzione di ingresso e trasferiti ad un'altra soluzione. Esso è dato dalla differenza tra la concentrazione iniziale di una data specie chimica all'ingresso del sistema di elettrodialisi e quella presente in uscita dal sistema. Questa quantità è funzione del tempo di permanenza della soluzione nella cella di elettrodialisi, ovvero della portata di fluido in ingresso, e della densità di corrente applicata [6].

Si vuole realizzare un sistema di elettrodialisi come quello di figura 2.4B; in cui sono presenti le seguenti soluzioni:

- Soluzione di KCl (camera 4): si sceglie di realizzare una soluzione molto concentrata in modo da avere maggiore disponibilità di ioni potassio, si utilizzerà ad esempio una soluzione 4 M
- Soluzione di simulazione del liquido interstiziale (camera 3), la cui composizione è descritta in tabella 2.3
- Soluzione di NaCl o di un qualsiasi componente in cui sia presente uno ione monovalente positivo che realizzi il trasporto di massa (camera 2). È necessario

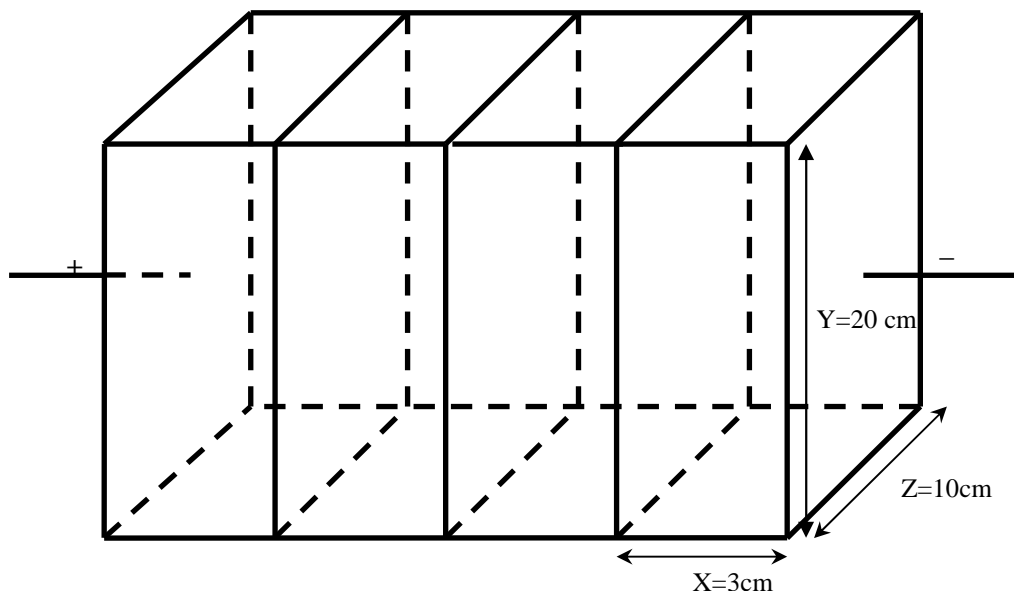
che questa soluzione presenti un contenuto di sodio simile a quello del liquido di simulazione interstizio-cellulare, infatti, se tale concentrazione fosse sensibilmente più alta, il trasporto di ioni positivi verso il catodo (migrazione) verrebbe ostacolato dal trasporto per gradiente di concentrazione (diffusione) verso la camera 3.

- Soluzione di NaOH (camera 1): si sceglie per questa soluzione una concentrazione intermedia, ad esempio 1 M.

La geometria e le dimensioni del sistema di elettrodialisi sono riportate in figura 3.1; per quanto riguarda le membrane, si ipotizza di scegliere membrane a scambio cationico Nafion117<sup>®</sup> DuPont<sup>™</sup> le cui caratteristiche sono presentate in tabella 3.1 [21].

Area	200 cm <sup>2</sup>
Spessore	180 μm
Resistenza	0,25 Ω·cm <sup>2</sup>
Conduttività	0,10 S/cm

**Tabella 3.1:** Caratteristiche del Nafion 117<sup>®</sup> DuPont, membrana a scambio cationico



**Figura 3.1:** geometria e dimensioni del sistema di elettrodialisi

Nell'elettrodialisi si assume che la corrente totale attraverso il sistema di celle sia portata interamente dagli ioni; quindi si ha che:

$$i = \frac{I}{A} = F \sum_i z_i J_i$$

Dove:

- $i$  è la densità di corrente
- $I$  è la corrente
- $A$  è la superficie di membrana
- $F$  è la costante di Faraday
- $z_i$  è la valenza dello ione studiato
- $J_i$  è il flusso di tale ione attraverso la membrana

Introducendo l'equazione di Nernst-Planck nell'espressione precedente e trascurando il termine legato al trasporto convettivo si ottiene:

$$i = F \sum_i z_i J_i = -F^2 \sum_i z_i^2 \frac{C_i D_i}{RT} \left( \frac{RT}{z_i C_i F} \frac{dC_i}{dx} + \frac{d\varphi}{dx} \right)$$

Dove:

- $i$  è la densità di corrente
- $C_i$  è la concentrazione dello ione  $i$ -esimo
- $F$  è la costante di Faraday
- $\varphi$  è il potenziale elettrico
- $z_i$  è la valenza dello ione  $i$ -esimo
- $D_i$  è il coefficiente di diffusione del componente  $i$ -esimo
- $R$  è la costante dei gas
- $T$  è la temperatura assoluta

Il termine  $\frac{RT}{z_i C_i F} \frac{dC_i}{dx}$  ha le dimensioni di un gradiente di potenziale elettrico e rappresenta il potenziale che si stabilisce tra due soluzioni elettrolitiche con diverse concentrazioni. Il termine che rappresenta il contributo della convezione nel trasporto di ioni è stato trascurato tenendo conto del fatto che il gradiente di pressione osmotica a cavallo delle membrane a scambio ionico, nei processi di elettrodialisi, è mantenuto al livello più basso possibile.



La densità di corrente  $i$  è data dalla differenza di potenziale imposta agli elettrodi in soluzione e, per la presente configurazione, si ha che:

$$i = \frac{U}{\frac{l}{\Lambda_s^{IC} C_s^{IC}} + \frac{l}{\Lambda_s^{LD} C_s^{LD}} + \frac{l}{\Lambda_s^{AD} C_s^{AD}} + \frac{l}{\Lambda_s^{CD} C_s^{CD}} + 3 \cdot R^{cm}}$$

Dove:

- $U$  è il potenziale applicato agli elettrodi immersi in soluzione
- $l_c^{IC}$  è la larghezza della cella contenente il liquido interstizio-cellulare di simulazione
- $l_c^{LD}$  è la larghezza della cella contenente il liquido per elettrodialisi
- $\Lambda_s^{IC}$  è la conduttività molare della soluzione interstizio-cellulare di simulazione
- $\Lambda_s^{LD}$  è la conduttività molare della soluzione dializzante
- $\Lambda_s^{AD}$  è la conduttività molare della soluzione presente alla camera dell'anodo
- $\Lambda_s^{CD}$  è la conduttività molare della soluzione presente alla camera del catodo
- $C_s^{IC}$ ,  $C_s^{LD}$ ,  $C_s^{AD}$  e  $C_s^{CD}$  sono rispettivamente le concentrazioni di sali nel liquido interstizio-cellulare, nel liquido di dialisi, nella soluzione all'anodo e nella soluzione al catodo
- $R^{cm}$  è la resistenza per unità di area della membrana a scambio cationico

La conduttività di una soluzione elettrolitica viene espressa solitamente come conduttività molare e viene definita come:

$$\Lambda_{mol} = \frac{\sigma}{C \cdot (v_a z_a + v_c z_c)}$$

Dove:

- $\sigma$  è la conduttività della soluzione
- $C$  è la concentrazione dei sali in soluzione
- $v_a$  e  $v_c$  sono i coefficienti stechiometrici rispettivamente degli anioni e dei cationi
- $z_a$  e  $z_c$  sono le valenze rispettivamente di anioni e cationi

La conduttività molare può essere espressa come somma dei contributi dati dagli anioni e dai cationi in questo modo:

$$\Lambda_{\text{mol}} = \nu_a z_a \lambda_a + \nu_c z_c \lambda_c$$

Dove  $\lambda_a$  e  $\lambda_c$  sono le conduttività equivalenti di anioni e cationi. Esse possono essere calcolate come:

$$\lambda_i = u_i F$$

Dove  $u_i$  è la mobilità ionica del componente  $i$ -esimo nel solvente e ha dimensioni [ $\text{m}^2\text{s}^{-1}\text{V}^{-1}$ ],  $F$  è la costante di Faraday. La conduttività equivalente di una soluzione elettrolitica è funzione della concentrazione di soluto e della temperatura esterna; in particolare essa diminuisce all'aumentare della concentrazione e aumenta all'aumentare della temperatura. In tabella 3.2 sono riportate le conduttività equivalenti di alcune soluzioni elettrolitiche in funzione della concentrazione. Di particolare interesse risultano essere quella del cloruro di potassio, del cloruro di sodio e della soda caustica, necessarie per il calcolo della densità di corrente voluta [22, 23].

Concentrazione [eq/L]	$\lambda(\text{NaCl})$ [S·cm <sup>2</sup> /eq]	$\lambda(\text{KCl})$ [S·cm <sup>2</sup> /eq]	$\lambda(\text{NaOH})$ [S·cm <sup>2</sup> /eq]
0.0	126.5	149.9	248.9
0.0005	124.5	147.8	
0.001	123.7	146.9	245.49
0.005	120.7	143.6	241.25
0.01	118.5	141.3	238.39
0.05	111.1	133.4	227.9
0.1	106.7	128.9	221.2
0.2	101.7	124.1	212.8
0.5	93.6	117.3	197.5
1.0	85.8	111.9	179.2
1.5	79.9	108.3	
2.0	74.7	105.2	148.8
3.0	65.6	99.5	123.4
4.0	57.2	93.5	100.8

**Tabella 3.2:** Conduttività equivalenti a 25° per soluzioni di NaCl, KCl e NaOH a diverse concentrazioni.

Non è nota, invece, la conduttività equivalente del liquido di simulazione interstizio-cellulare. Si può supporre, comunque, che, essendo una soluzione abbastanza diluita e costituita da 3 tipi di sali (NaCl, CaCl<sub>2</sub> e MgCl<sub>2</sub>) e una base (KOH), presenti un valore di conduttività medio intorno ai 100 S·cm<sup>2</sup>/mol. La concentrazione equivalente per una soluzione contenente più di un composto si calcola nel seguente modo:

$$C_{eq} = \sum_s \frac{|z_c \nu_c| + |z_a \nu_a|}{2} C_s = \sum_c z_c \nu_c C_s = \sum_a |z_a| \nu_a C_s$$

Per la soluzione di simulazione del liquido interstizio-cellulare si ha, quindi, che  $C_{eq} \approx 150$  meq/L.

Sostituendo i dati precedentemente riportati nell'equazione della densità di corrente, si ottiene il seguente valore di resistenza totale per unità di area del sistema di elettrodialisi:

$$\begin{aligned} R [\Omega \cdot \text{cm}^2] &= \frac{l}{\Lambda_s^{IC} C_s^{IC}} + \frac{l}{\Lambda_s^{LD} C_s^{LD}} + \frac{l}{\Lambda_s^{AD} C_s^{AD}} + \frac{l}{\Lambda_s^{CD} C_s^{CD}} + 3 \cdot R^{cm} \\ &= (200 + 192 + 8 + 17 + 3 \cdot 0.25) \Omega \cdot \text{cm}^2 = 417,25 \Omega \cdot \text{cm}^2 \end{aligned}$$

### 3.2 Dimensionamento dei flussi in gioco

Per progettare correttamente il sistema di elettrodialisi oggetto del presente studio occorre conoscere la quantità di potassio da reimmettere nella soluzione di simulazione del liquido interstiziale, con l'obiettivo di ottenere una curva di concentrazione di tale ione all'interno del compartimento plasmatico variabile nello stesso range di valori rilevabile durante il trattamenti clinico di pazienti uremici.

I dati a disposizione per effettuare questo calcolo sono:

- L'andamento della concentrazione del potassio all'interno del compartimento plasmatico in funzione del tempo, per un soggetto trattato clinicamente con terapia di dialisi
- Il coefficiente di clearance del potassio all'interno del filtro dializzatore utilizzato
- I volumi di fluido in gioco

Conoscendo queste quantità è possibile impostare un bilancio di massa per lo ione potassio in questo modo:

$$V_{PL}(t) \frac{dC_{PL}}{dt} = (Q_s C_{PL})_u - (Q_s C_{PL})_i + Q_{k^{+}ic}(t)$$

Dove:

- $V_{PL}(t)$  è il volume del compartimento plasmatico (funzione del tempo)
- $C_{PL}(t)$  è la concentrazione dello ione potassio all'interno del compartimento plasmatico, variabile nel tempo
- $(Q_s C_{PL})_i$  è la portata di potassio in ingresso al dializzatore
- $(Q_s C_{PL})_u$  è la portata di potassio in uscita dal dializzatore
- $Q_{k^{+}ic}(t)$  è la portata di potassio dal compartimento interstizio-cellulare al compartimento plasmatico, variabile nel tempo

A questo punto, se si considera la concentrazione di potassio entrante nel filtro dializzatore coincidente con quella presente nel paziente in quel momento, ovvero  $C_i=C_u=C_{PL}$ , si può riscrivere l'equazione nella forma:

$$V_{PL}(t) \frac{dC_{PL}}{dt} + CL \cdot C_{PL}(t) = Q_{k^{+}ic}(t)$$

Dove  $CL$  rappresenta il coefficiente di clearance del potassio per il dializzatore utilizzato. Tale coefficiente è definito come il rapporto tra la differenza di quantità di soluto in ingresso e uscita e la concentrazione di soluto in ingresso al dializzatore, ovvero:

$$CL = \frac{Q_{si}C_{PL}(t) - Q_{su}C_{PL}(t)}{C_{PL}(t)}$$

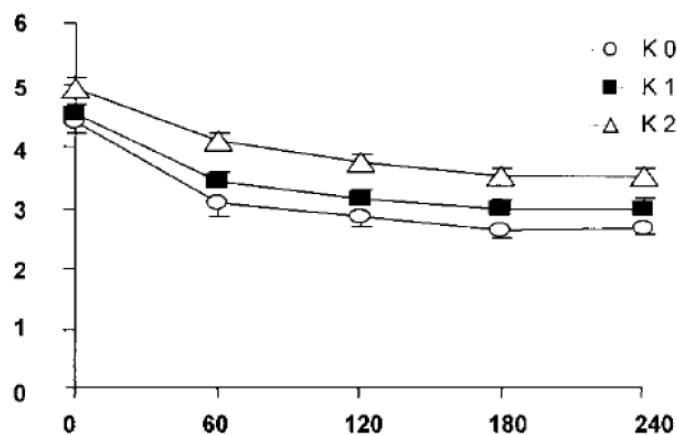
L'equazione precedente può essere dunque riscritta in questo modo:

$$V_{PL}(t) \cdot C'_{PL}(t) + CL \cdot C_{PL}(t) = Q_{k^{+}ic}(t)$$

Dove  $C'_{PL}(t)$  è la derivata rispetto al tempo dell'andamento di concentrazione del potassio nel compartimento plasmatico.

Da questa equazione si vuole ricavare la portata  $Q_{k+ic}$ , ovvero la quantità di potassio che viene trasferita dal compartimento interstizio-cellulare verso quello plasmatico nell'unità di tempo, conoscendo l'andamento della concentrazione di potassio nel tempo all'interno del compartimento plasmatico.

In realtà, per tale andamento, si hanno a disposizione in letteratura scientifica solo alcuni dati rilevati a diversi intervalli di tempo (figura 3.2). [24]



**Figura 3.2:** Andamento della concentrazione del potassio nel tempo per pazienti sottoposti a trattamento dialitico, al variare della concentrazione di potassio nel fluido di dialisi (K0=0 mmol/l, K1=1 mmol/l, K2=2 mmol/l).

Per questo motivo è necessario eseguire un fitting dei dati disponibili utilizzando un'equazione esponenziale del tipo  $y = A \cdot e^{-t/\tau} + B$ .

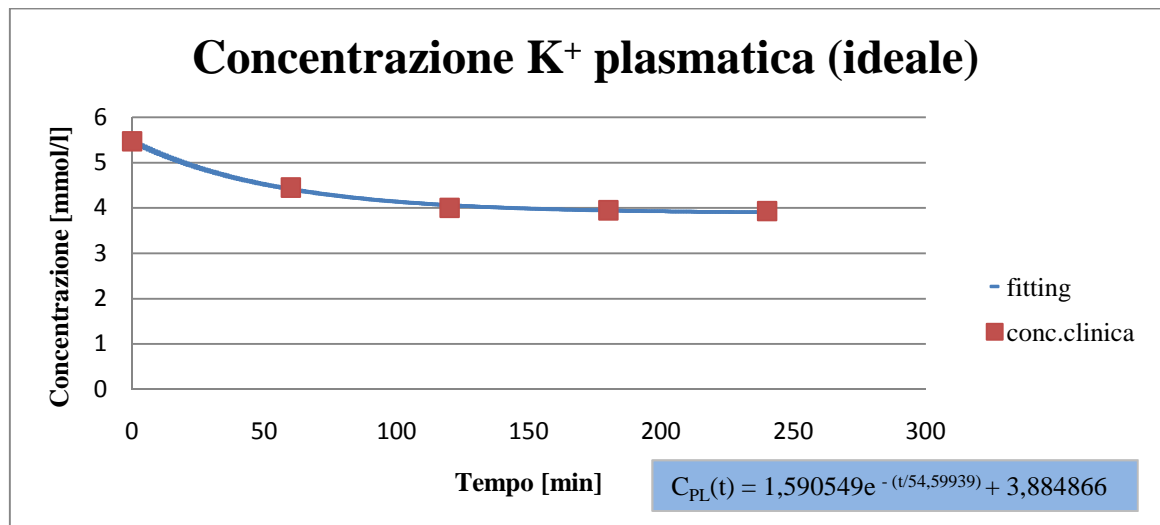
Nel presente studio, i dati a cui si fa riferimento sono quelli relativi ad un trattamento con concentrazione di potassio nel liquido di dialisi pari a 2 mmol/l.

I grafici di figura 3.3 e 3.4 mostrano le curve utilizzate per il fitting dell'andamento della concentrazione di potassio nel compartimento plasmatico in funzione del tempo e per la variazione di volume di fluido plasmatico nel tempo.

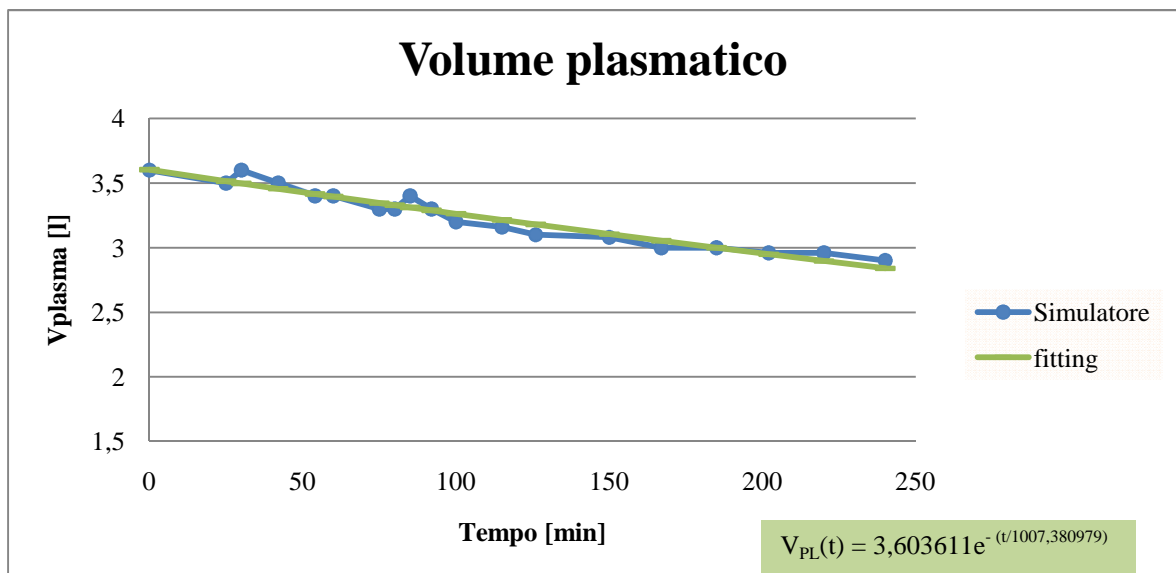
Le equazioni ottenute mediante il fitting dei dati sono:

$$C_{PL}(t) = 1,590549 \cdot e^{-\left(\frac{t}{54,59939}\right)} + 3,884866$$

$$V_{PL}(t) = 3,603611 \cdot e^{-\left(\frac{t}{1007,380979}\right)}$$



**Figura 3.3:** Andamento della concentrazione del potassio durante trattamento clinico di paziente uremico (rosso) e fitting dei punti con relativa equazione della curva (blu).



**Figura 3.4:** Andamento del volume plasmatico durante un trattamento clinico di dialisi (blu) e fitting dei dati con relativa equazione dell curva (verde).

A questo punto è possibile calcolare anche la derivata prima rispetto al tempo dell'equazione che rappresenta l'andamento della concentrazione plasmatica di potassio nel tempo. Tale derivata risulta essere:

$$C'_{PL}(t) = -0,029131 \cdot e^{-\left(\frac{t}{54,59939}\right)}$$

Sostituendo queste equazioni nel bilancio di massa:

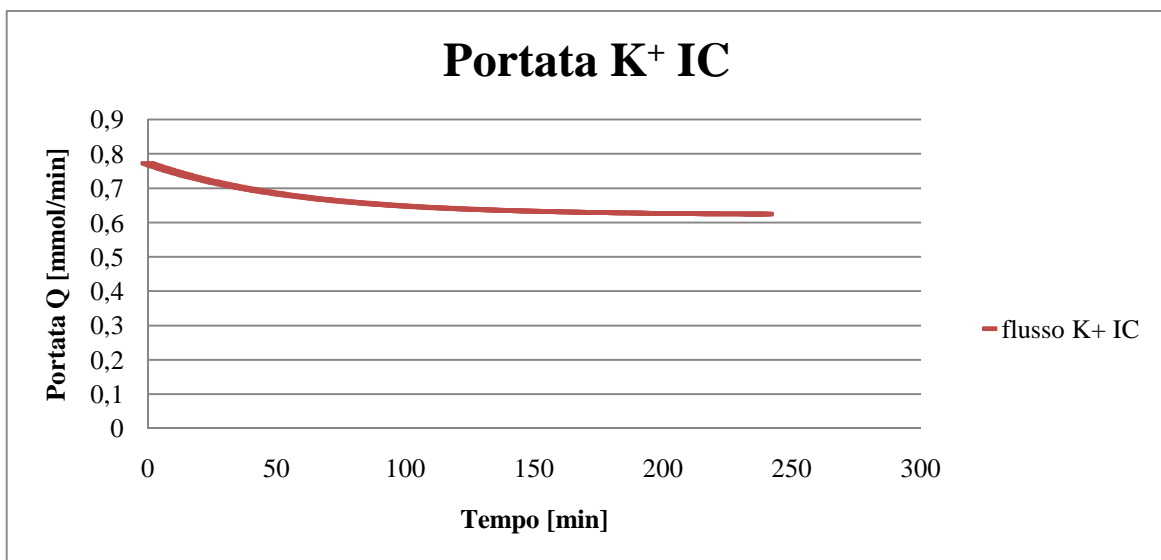
$$V_{PL}(t) \cdot C'_{PL}(t) + CL \cdot C_{PL}(t) = J_{k^{+}ic}(t)$$

è possibile ottenere il valore della portata:

$$Q_{k^{+}ic}(t) = \left[ \left( 3,603611 \cdot e^{-\left(\frac{t}{1007,380979}\right)} \right) \cdot \left( -0,029131 \cdot e^{-\left(\frac{t}{54,59939}\right)} \right) \right] + \left[ CL \cdot \left( 1,590549 \cdot e^{-\left(\frac{t}{54,59939}\right)} + 3,884866 \right) \right]$$

Dove  $CL = 0,1602$  l/min, rappresenta il coefficiente di clearance ricavato dai dati presenti in letteratura scientifica per il filtro utilizzato. [25]

In figura 3.5 è riportato l'andamento della curva di portata  $Q_{k^{+}ic}$  in funzione del tempo, ottenuto mediante il plot della funzione precedentemente riportata.



**Figura 3.5:** Andamento della portata di potassio dal compartimento interstizio-cellulare a quello plasmatico nel tempo.

Conoscendo il flusso di massa dello ione potassio dal compartimento interstizio-cellulare a quello plasmatico, è possibile stimare l'andamento della concentrazione interstizio-cellulare di tale ione durante un trattamento di terapia dialitica. In particolare, questo

andamento di concentrazione può essere ricavato tramite un secondo bilancio di massa, conoscendo il valore iniziale di concentrazione all'interno del compartimento interstizio-cellulare:

$$V_{IC}(t) \frac{dC_{IC}}{dt} = -J_{k^{+}ic}(t)$$

Come è possibile notare, in questo caso non si hanno portata entrante e uscente, in quanto nella vasca rigida che rappresenta il compartimento interstizio-cellulare il fluido rimane lo stesso durante tutta la simulazione del trattamento dialitico. La variazione della concentrazione di potassio all'interno di tale compartimento nel tempo è rappresentata unicamente dalla quantità di potassio che viene trasferita per diffusione e convezione attraverso la membrana capillare verso il compartimento plasmatico, ovvero  $J_{k^{+}ic}(t)$ .

La curva che esprime la variazione del volume interstizio-cellulare può essere interpolata con un'esponenziale del tipo ' $y = e^{-t/\tau}$ ', e dall'analisi dei risultati sperimentali si ottiene:

$$V_{IC}(t) = 39,1 \cdot e^{-(t*0,0003)}$$

Conoscendo questo andamento è possibile integrare l'equazione del bilancio di massa, ottenendo:

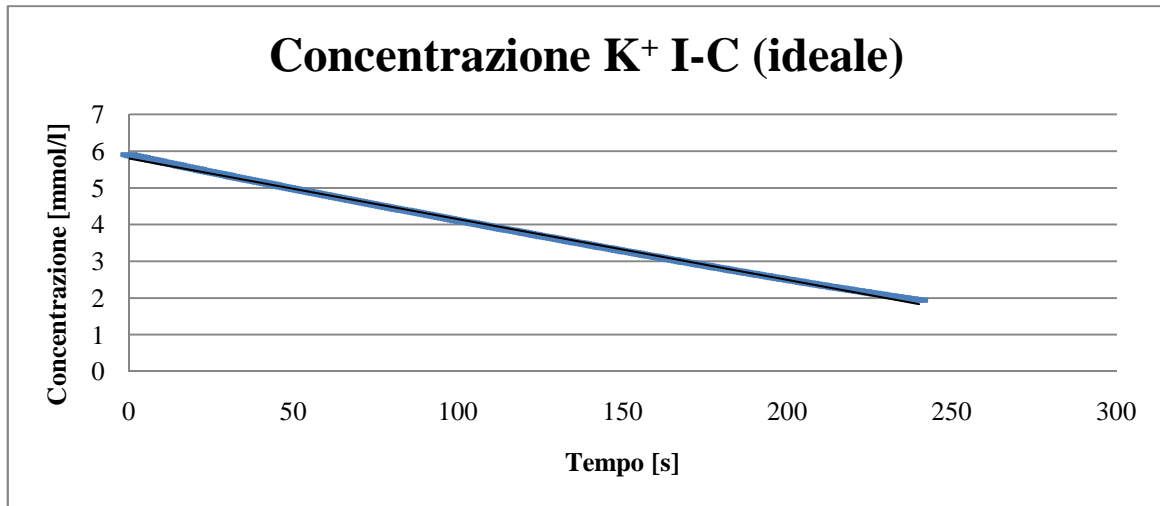
$$C_{IC}(t) = - \int \frac{J_{k^{+}ic}(t)}{V_{IC}(t)} dt + K$$

Risolvendo l'integrale nel tempo della funzione  $\frac{J_{k^{+}ic}(t)}{V_{IC}(t)}$  tramite l'ausilio del programma di computazione MATLAB, imponendo la condizione al contorno  $C_{IC}(0) = 5,9$  mmol/l, si ottiene il valore della costante di integrazione K, che risulta essere:

$$K = 5,9 \text{ mmol/l}$$

Si ottiene quindi il grafico di figura 3.6, che riporta l'andamento ideale della curva di concentrazione del potassio all'interno del liquido interstizio-cellulare, durante la simulazione del trattamento dialitico. Essa è stata ricavata analiticamente, tramite la procedura appena descritta, a partire dai dati clinici di pazienti sottoposti a dialisi.

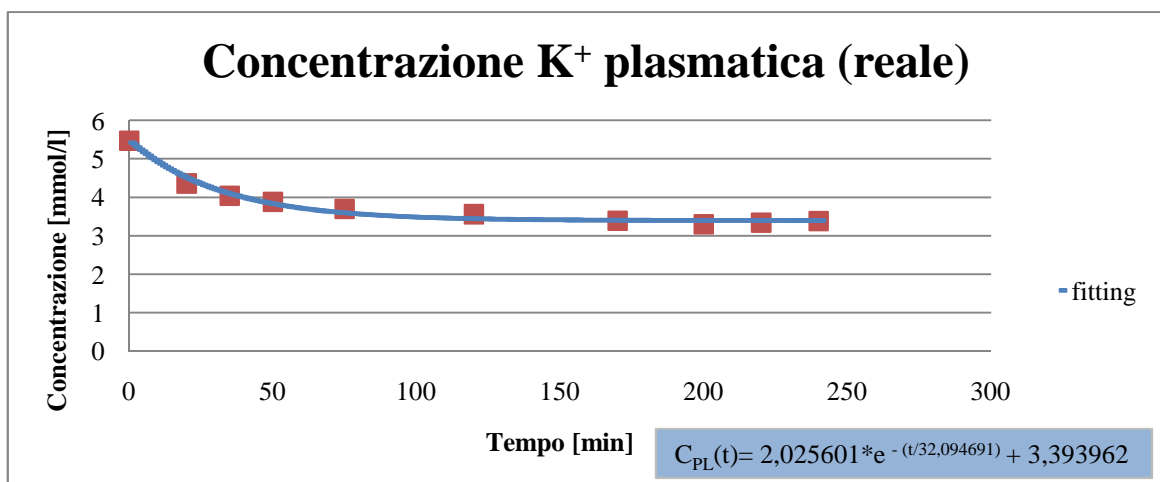




**Figura 3.6:** Andamento ideale della concentrazione di potassio all'interno del compartimento interstiziale durante la simulazione di una dialisi di 4 ore.

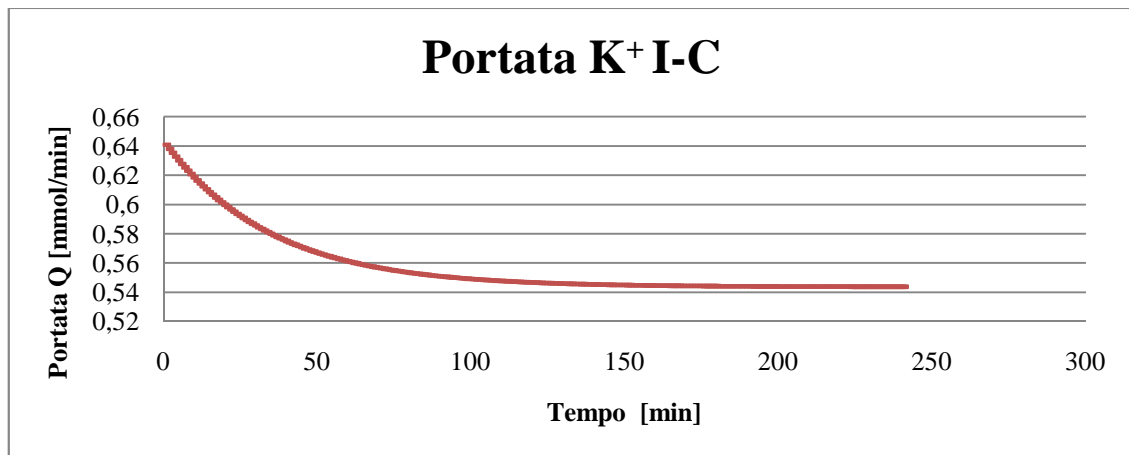
Per conoscere come varia la concentrazione di potassio nel liquido interstiziale rispetto al caso ideale (dati clinici di pazienti sottoposti a dialisi), durante la simulazione con un modello bicompartimentale di una dialisi di 4 ore, è necessario eseguire lo stesso procedimento utilizzato per ricavare tale concentrazione partendo però, in questo caso, dai dati di concentrazione plasmatica del potassio ottenuti durante le prove sperimentali del simulatore, effettuate da Borlotti e Carugo per il loro lavoro di tesi [5].

Nel grafico di figura 3.7 sono mostrati i dati relativi all'andamento della concentrazione plasmatica di potassio rilevata durante una simulazione di dialisi e l'equazione della curva che rappresenta il best fitting di tale andamento.



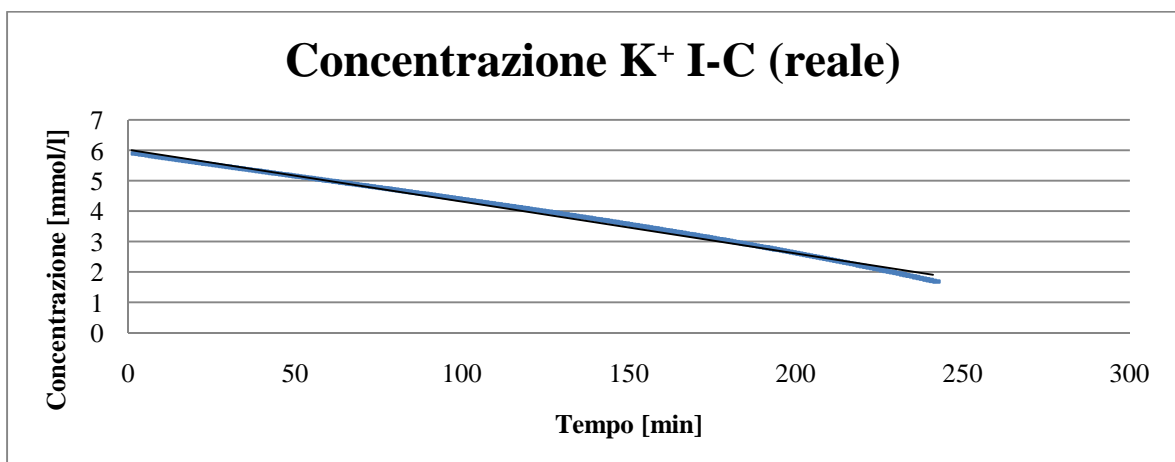
**Figura 3.7:** Dati relativi all'andamento della concentrazione di potassio nel compartimento plasmatico durante una simulazione di dialisi e fitting dei dati con relativa equazione.

Nel grafico di figura 3.8 è mostrato l'andamento della portata di potassio dal compartimento interstizio-cellulare a quello plasmatico nel tempo, durante la simulazione di dialisi. L'andamento è stato ricavato tramite il procedimento analitico precedentemente mostrato.

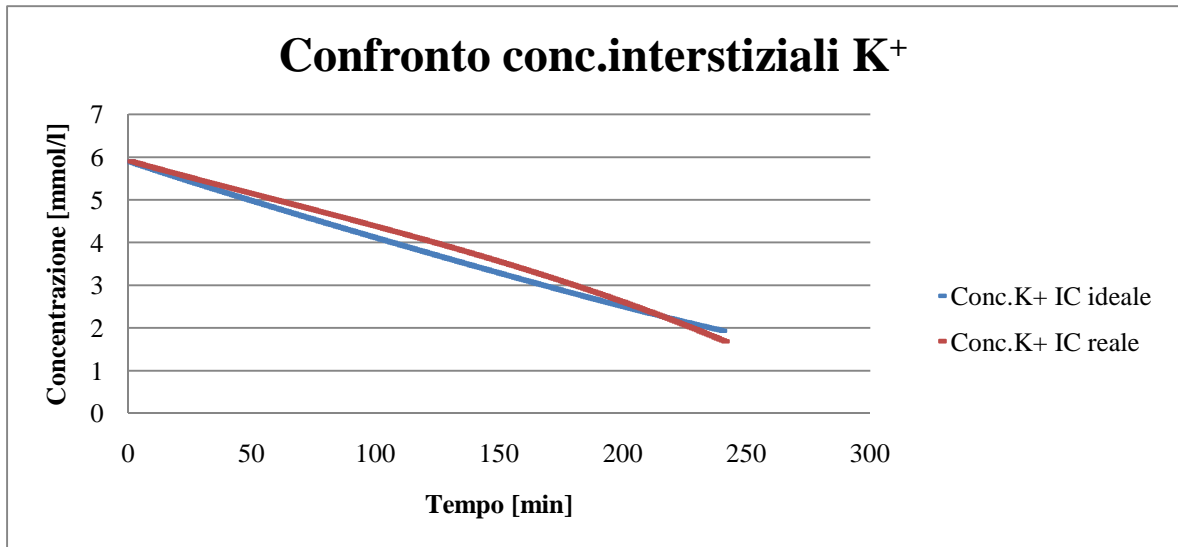


**Figura 3.8:** Portata di potassio dal compartimento interstizio-cellulare a quello plasmatico durante una simulazione di dialisi

I grafici di figura 3.9 e figura 3.10 mostrano l'andamento della concentrazione di potassio nel compartimento interstizio-cellulare durante la simulazione di una terapia di dialisi nel caso reale e il confronto tra tale andamento e quello trovato per il caso ideale, in cui la concentrazione plasmatica era stata ottenuta a partire dai dati clinici di pazienti sottoposti a dialisi.

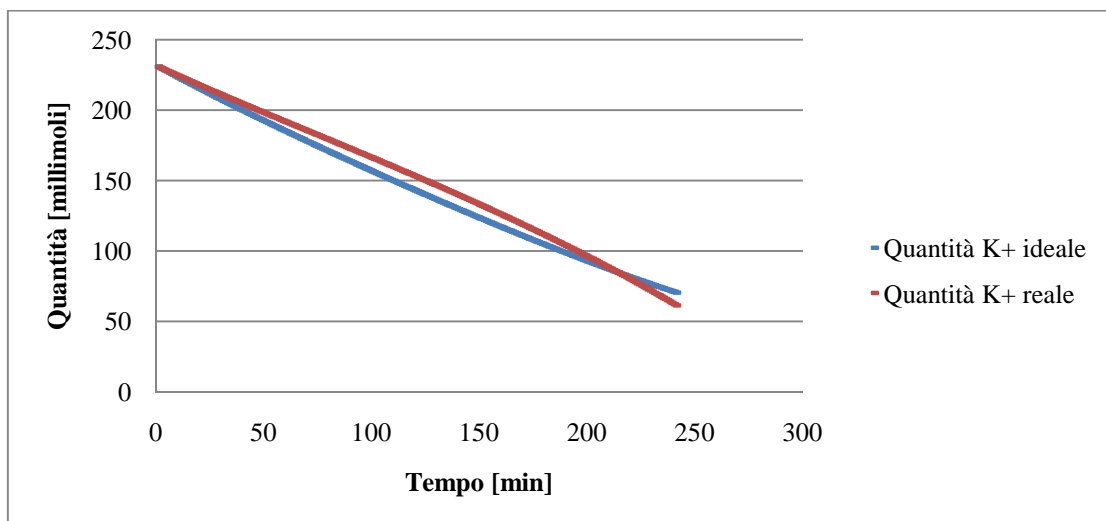


**Figura 3.9:** Andamento reale della concentrazione di potassio nel compartimento interstizio-cellulare durante una simulazione di dialisi di 4 ore.



**Figura 3.10:** Confronto tra andamento ideale e andamento reale della concentrazione di potassio nel compartimento interstizio-cellulare di simulazione.

È stata infine calcolata la quantità totale di potassio presente nel liquido interstizio-cellulare durante la simulazione della terapia di dialisi nei due casi analizzati. L'andamento, che rispecchia in modo abbastanza fedele quello delle concentrazioni, è mostrato nel grafico di figura 3.11.



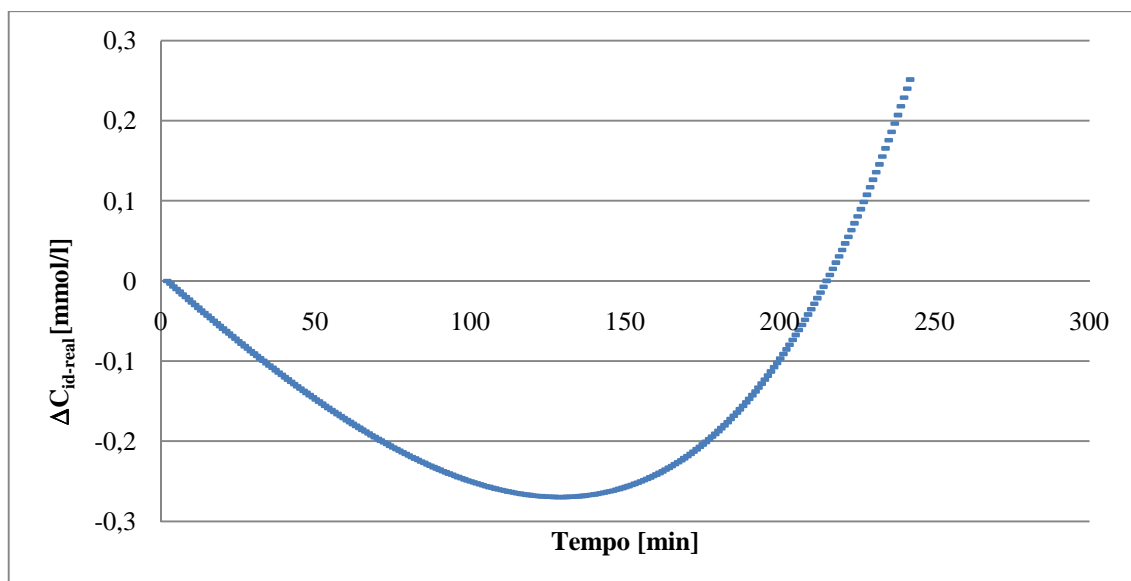
**Figura 3.11:** Confronto tra le quantità di potassio presenti nel liquido interstizio-cellulare nel caso ideale (dati clinici di pazienti) e nel caso reale in funzione del tempo.

### 3.3 Discussione dei risultati

Alla luce dei risultati emersi dallo studio effettuato sugli scambi di potassio tra fluido interstizio-cellulare e fluido plasmatico di simulazione, si può concludere che, per ottenere un andamento che rispecchi i dati clinici rilevati su pazienti in trattamento di dialisi, la concentrazione di potassio nel liquido interstizio cellulare deve essere abbassata per la prima parte della simulazione per poi essere aumentata negli ultimi 30 minuti.

Nel grafico di figura 3.11 è possibile visualizzare l'andamento della curva che rappresenta la differenza tra la concentrazione di potassio nel caso ideale (dati clinici dei pazienti) e nel caso di simulazione reale utilizzando un modello bicompartimentale come descritto sopra.

Questo tipo di andamento mostra che la necessità di aumentare la concentrazione del potassio nel liquido interstizio-cellulare di simulazione si ha solo negli ultimi 30 minuti circa di simulazione della terapia. Ciò significa che per i primi 200 minuti circa della simulazione è necessario individuare una tecnica di rimozione del potassio dalla soluzione interstizio-cellulare.



**Figura 3.11:** andamento della differenza di concentrazione di potassio nel caso ideale (dati clinici) e nel caso reale.

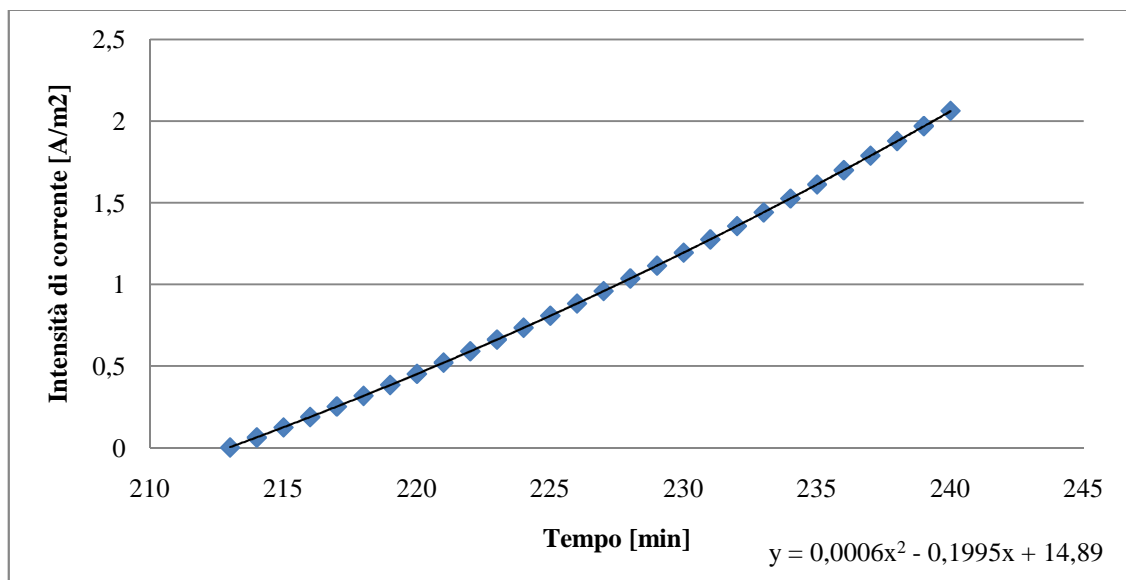
Per quel che riguarda gli ultimi 30 minuti della simulazione di terapia dialitica è possibile invece utilizzare un sistema di elettrodialisi come quello descritto nei capitoli precedenti.

In particolare, nel grafico di figura 3.12, è mostrata l'intensità di corrente necessaria per generare un flusso di ioni potassio tale da ristabilire la concentrazione di tale ione ai valori riscontrati clinicamente nei pazienti che hanno subito il trattamento. Essa è stata calcolata mediante la formula [6]:

$$\Delta C_{k^+} = \frac{A_m}{Q_{ED}} \cdot J_{k^+}^m = \frac{i}{z_c \cdot \nu_c \cdot F \cdot Q_{ED}} \cdot A_m$$

Dove:

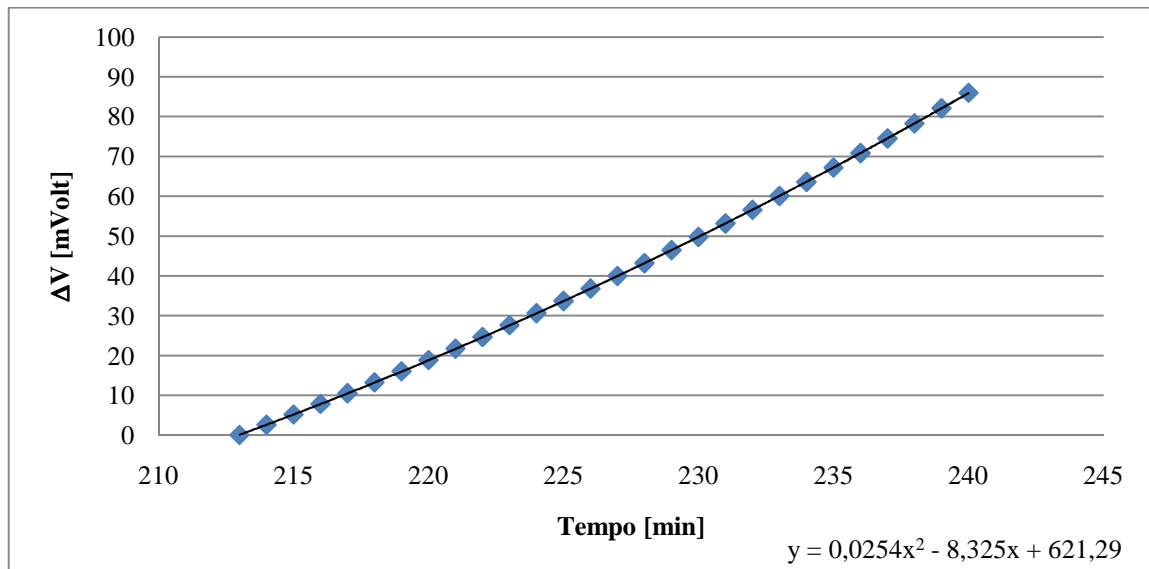
- $\Delta C_{k^+}$  è la differenza di ioni potassio calcolata precedentemente
- $J_{k^+}^m$  è il flusso di ioni positivi attraverso la membrana in  $\frac{mol}{(s \cdot m^2)}$
- $i$  è la densità di corrente in  $A/m^2$
- $z_c$  e  $\nu_c$  sono rispettivamente la valenza e il coefficiente stechiometrico del potassio
- $F$  è la costante di Faraday pari a 96485 C/mol
- $Q_{ED}$  è la portata volumica del fluido in ingresso alla cella di elettrodialisi posto pari a 1 litro/minuto
- $A_m$  è l'area di scambio posta pari a 200  $cm^2$



**Figura 3.12:** Intensità di corrente da applicare al sistema di elettrodialisi negli ultimi 30 minuti di simulazione.

Nel grafico di figura 3.13 è riportato l'andamento della differenza di potenziale da applicare ai capi degli elettrodi per ottenere un'intensità di corrente come quella ricavata

precedentemente. Essa è stata ricavata mediante la misura di resistività effettuata nella prima parte del capitolo.



**Figura 3.13:** andamento della differenza di potenziale da applicare ai capi degli elettrodi del sistema di elettrodialisi negli ultimi 30 minuti di simulazione.

I limiti e le controindicazioni nell'uso della tecnica di elettrodialisi sono difficilmente valutabili a priori ma risiedono comunque nel fatto che alcuni ioni positivi quali sodio, calcio e magnesio potrebbero essere persi dalla soluzione di simulazione del fluido interstizio-cellulare, andando a sbilanciare l'equilibrio di questi altri componenti, che nel modello originale di simulazione seguivano un andamento simile a quello riscontrato clinicamente in pazienti che hanno subito una terapia dialitica.

Una valutazione più accurata di questi inconvenienti potrebbe essere ottenuta con una prova sperimentale, che porterebbe a caratterizzare meglio gli scambi che avvengono tra le soluzioni complesse utilizzate e a conoscere più precisamente le caratteristiche delle membrane a scambio cationico in termini di coefficiente di diffusione e permeabilità dei vari ioni all'interno di esse.

Per quanto riguarda i primi 200 minuti di simulazione, nei quali si ha la necessità di diminuire la concentrazione del potassio all'interno del fluido interstizio-cellulare, non si può, invece, utilizzare un sistema di elettrodialisi. Questo perché, in un sistema progettato per rimuovere ioni positivi dalla soluzione, gli ioni che verrebbero prelevati dal liquido di

simulazione sarebbero per la maggior parte ioni sodio, in quanto la concentrazione di tali ioni nella soluzione risulta molto più elevata rispetto a quella del potassio.

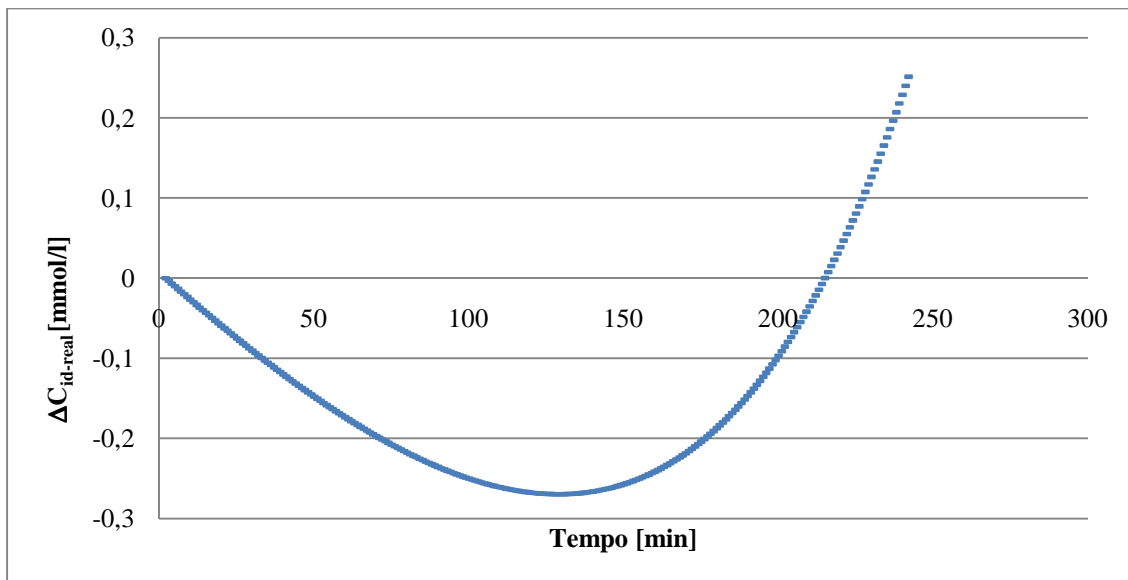
Per ottenere, quindi, una rimozione selettiva solo per il potassio è necessario utilizzare un altro tipo di tecnica. Per la prima fase della simulazione, un'ipotesi che potrebbe realizzare l'obiettivo voluto, potrebbe essere mettere a contatto, tramite una membrana a scambio cationico, il fluido interstizio-cellulare di simulazione con una soluzione progettata ad hoc che contenga gli stessi componenti del fluido interstizio-cellulare nelle medesime concentrazioni, tranne che per il potassio di cui dovrebbe risultare priva. In questo modo per semplice diffusione libera si realizzerebbe un passaggio di ioni potassio, dalla soluzione di simulazione del liquido interstizio-cellulare alla soluzione di lavaggio progettata con le caratteristiche appena descritte. Il limite di questo tipo di tecnica consiste nel fatto che, a differenza della tecnica dell'elettrodialisi, questo tipo di soluzione non permette di controllare la diffusione del potassio, come avveniva con l'imposizione di una corrente all'interno della soluzione nella tecnica dell'elettrodialisi. Tramite la diffusione libera è possibile solamente impostare lo scambio di potassio tramite la scelta della concentrazione iniziale di tale ione all'interno della soluzione di lavaggio.

Anche in questo caso, una valutazione più accurata dei fenomeni di trasporto in gioco per questo tipo di apparato potrebbe essere effettuata a livello sperimentale, per capire quale debba essere la concentrazione iniziale ideale per ottenere una rimozione degli ioni potassio che segua l'andamento desiderato.

## 4. CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

### 4.1 Conclusioni

Osservando lo studio effettuato nel presente lavoro di tesi si può concludere che, all'interno del compartimento plasmatico in una simulazione bicompartimentale di terapia dialitica, per poter riportare l'andamento di concentrazione dello ione potassio ai valori clinici rilevati su pazienti che hanno subito il trattamento, la concentrazione di tale ione all'interno del compartimento interstizio-cellulare deve essere diminuita in una prima fase per poi essere aumentata durante l'ultima fase (figura 4.1).



**Figura 4.1:** Differenza tra andamento ideale e andamento reale della concentrazione di potassio nel liquido interstizio-cellulare di simulazione.

La spiegazione fisica di questo risultato risiede nella valutazione delle caratteristiche di scambio di massa per il potassio dei filtri che rappresentano la membrana capillare all'interno della simulazione bicompartimentale. Dal precedente lavoro sperimentale di tesi effettuato su questo argomento [5] è stato verificato che durante la simulazione di una terapia dialitica si ha uno scambio di potassio più basso rispetto a quello che effettivamente avviene a cavallo della membrana capillare, nei vasi sanguigni. In altre parole, durante una terapia di dialisi effettuata su un soggetto umano il compartimento plasmatico assorbe più potassio di quanto non avvenga durante una simulazione bicompartimentale della dialisi. Si pensa che questa differenza sia dovuta da un lato alla semplificazione del modello reale,



che prevede la separazione del compartimento interstiziale da quello intracellulare tramite la membrana citoplasmatica (modello tricompartimentale classico), sia dalle caratteristiche di scambio dei filtri a fibre cave, che non rispecchiano in modo esatto quelle della membrana capillare, che separa il compartimento plasmatico da quello interstizio-cellulare. Dal presente studio si può ipotizzare che, durante una simulazione di terapia di dialisi, in una prima fase, i filtri a fibre cave siano più permeabili al potassio se la concentrazione di tale ione nel liquido interstizio-cellulare viene leggermente abbassata e che, invece, nell'ultima fase ci sia bisogno di aumentare la quantità di potassio in soluzione. Questo potrebbe essere dovuto sia alle dinamiche del trasferimento di massa di tutti gli altri componenti all'interno della soluzione, che possono andare a influenzare la permeabilità per il potassio nelle membrane dei filtri a fibre cave, sia alle reazioni che avvengono all'interno della soluzione di simulazione del liquido interstizio-cellulare quali ad esempio associazioni tra i vari componenti presenti e il potassio e conseguente precipitazione dei soluti nella fase finale della simulazione su banco prova che dà origine ad uno scambio inferiore di potassio tra liquido interstizio-cellulare e liquido plasmatico.

Tuttavia queste ipotesi andrebbero verificate sperimentalmente ripetendo la procedura di simulazione e facendo attenzione a rilevare tutti i dati relativi alle concentrazioni interstizio-cellulari durante l'intera durata del processo. La mancanza di dati sperimentali relativi al compartimento interstizio-cellulare, sia per quanto riguarda il trattamento su soggetti umani, sia per la parte relativa alla simulazione su banco prova, rappresenta sicuramente il maggior limite per questo tipo di studio. A causa di questo problema nel presente lavoro di tesi è stato presentato un metodo indiretto per il calcolo delle portate e il dimensionamento dei flussi. Ciò ha portato inevitabilmente ad effettuare alcune approssimazioni, soprattutto nell'interpolazione dei dati sperimentali a disposizione, che non sempre possono essere trascurate, tanto più quando si parla di variazioni dell'ordine di frazioni di millimole.

La formulazione di ipotesi, sulla base di dati ricavati a livello indiretto, può essere utile per impostare correttamente una nuova sessione di prove sperimentali di validazione del circuito di simulazione.

## **4.2 Sviluppi futuri**

Nonostante tutti questi limiti, l'idea originaria di trattare il liquido interstizio-cellulare in modo da modificarne la composizione, introducendo di fatto un terzo compartimento

all'interno della simulazione della terapia dialitica, rappresenta sicuramente una possibile evoluzione di questo tipo di tecnologia e una sfida per la ricerca futura che potrebbe portare a risultati utili per quanto riguarda la caratterizzazione delle membrane dei filtri a fibre cave e per la loro innovazione.

L'utilizzo delle membrane a scambio ionico per controllare selettivamente il passaggio di ioni, tramite l'imposizione di una corrente dall'esterno nella soluzione di interesse, potrebbe essere una strategia efficace per correggere l'andamento della concentrazione di alcuni ioni di interesse riportandone la concentrazione ai valori clinici.

Nei sistemi per elettrodialisi, il design della cella di scambio e le membrane a scambio ionico in essa montate rappresentano i fattori chiave per controllare il trasferimento di massa di uno ione o una serie di ioni. L'architettura della cella presentata nel presente lavoro di tesi può funzionare solo per una piccola parte della simulazione della dialisi, ma tramite una verifica sperimentale del suo funzionamento potrebbe essere ottimizzata ed eventualmente modificata, laddove si riscontrasse un'esigenza diversa di funzionamento e comunque rappresenta un prototipo che potrebbe essere oggetto di una prova sperimentale.

Il limite maggiore nell'utilizzo di questa tecnica è il fatto che i flussi che si riescono a generare non sono mai unicamente associati ad un componente, ma prevedono l'accoppiamento del trasporto tra componenti di diversa carica o di carica identica al fine di mantenere le condizioni di elettroneutralità del fluido trattato. Questo aspetto va considerato come un limite nell'utilizzo di tale tecnica in quanto la correzione della concentrazione di uno ione all'interno del fluido trattato potrebbe dare origine allo sbilanciamento dell'andamento di un altro componente rispetto ai valori clinici.

I primi studi effettuati sull'elettrodialisi di fluidi corporei risalgono alla prima metà del '900, quando la tecnologia per quanto riguarda le membrane era agli albori. I risultati poco confortanti ottenuti in quegli anni hanno portato alla chiusura della ricerca in quel settore e in letteratura scientifica sono presenti pochi articoli o studi recenti sull'elettrodialisi di fluidi biologici. Nonostante questo le ricerche in questo campo hanno numerosissime applicazioni, anche perché la separazione di soluzioni saline tramite la tecnica dell'elettrodialisi risulta essere efficiente e relativamente a basso costo. Le membrane a scambio ionico rimangono il fattore principale che determina le caratteristiche della cella per elettrodialisi. A questo proposito si può affermare che sono stati fatti numerosi progressi nell'ambito della progettazione e della produzione di membrane altamente selettive al passaggio di ioni associate a celle di scambio ottimizzate per il trasporto di ioni [21,13]. Nei sistemi di simulazione bicompartimentale della dialisi il trattamento del

liquido interstizio cellulare in un compartimento separato con la tecnica dell'elettrodialisi potrebbe rappresentare uno sviluppo verso un sistema tricompartimentale più aderente al sistema fisiologico.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- [1] **Guyton & Hall**, *Fisiologia medica*, II edizione, EdiSES, 2007;
- [2] **Gunther Schonweib**, *Dialyse*, Ed. Momento Medico, 1992; 25/05/2011  
[http://www.renalgate.it/LA\\_DIALISI\\_libro.pdf](http://www.renalgate.it/LA_DIALISI_libro.pdf)
- [3] **The Ottawa Hospital (TOH)**, *Guide: Treatment options for chronic kidney disease*, Ottawa, Ontario: The Ottawa Hospital Riverside Campus, 2008
- [4] **Daugirdas J.T. et al.**, *Handbook of Dialysis*, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007
- [5] **Borlotti e Carugo**, *Progettazione e realizzazione di un simulatore bicompartimentale del trasporto di massa nel filtro e nel paziente durante la dialisi*, Tesi di Laurea, Politecnico di Milano, 2008
- [6] **H.Strathmann**, *Ion Exchange Membrane Separation Processes*, Membrane Science And Technology Series Vol.9, Ed. Elsevier, 2004
- [7] **Donnan F. G. and Harris A. B.**, *J. Chem. Soc. Pag. 99/155*, 1911
- [8] **F.Bergsma et al.**, *Ion-exchange membranes*, Fortschr. Hochpolym.-Forsch., Num.21, pag. 307-362, 1961
- [9] **F. Helfferich**, *Ion-Exchange*, Ed. McGraw-Hill, New York, 1962
- [10] **Toshikatsu Sata, Ryuji Izuo and Kuniaki Takata.**, *Electrodialytic properties of cation-exchange membranes in the presence of N-dodecyl pyridyl compounds*, J. Membr. Sci., pag. 151-201, 1986
- [11] **T.Zschocke et al.**, 1985

- [12] **G.E. Molau**, *Heterogeneous ion-exchange membranes*, *J. Membrane Sci.*, Volume 8, Issue 3, Pages 309-330, 1981
- [13] **P.Altmeier**, *Electrodialysis Cell Unit*, Instruction of use, PCCell GmbH, 2009, 20/04/2011 <http://www.pca-gmbh.com/pccell/index.html>
- [14] **Bernhard A. and Beaver J. J.**, *The electrodialysis of human blood serum*. Jour. Biol. Chem., Num.69 pag. 113-124, 1926.
- [15] **D.Lytle**, *Electrodialysis of blood using ion-exchange membranes*, Ulster Med Journal, Num.31 pag. 79-80, 1962
- [16] **Francis Quéméneur, Jean-Pierre Schlumpf, Loubna Firdaous, Mohamed Stitou, Jean-Pierre Malériat, Pascal Jaouen**, *Modification of ionic composition of natural salt-waters by electrodialysis*, *Desalination*, Num.149 pag. 411–416, 2002
- [17] **Berkowitz H. and Bluemle L. W. Jr**, *Eletrodialysis of blood: some problems and approaches to their solution.*, *Trans Am Soc. Artif. Intern. Organs*, Num. 9 pag. 97-104, 1963
- [18] **Wesselingh J.A., Vonk P. and Kraaijeveld G.**, *Exploring the Maxwell-Stefan description of ion exchange*, *Biochem. Eng. Journ.*, pag. 57-75, 1995
- [19] **R. Schlögl**, *Stofftransport durch Membranen*, Steinkopff-Verlag, Darmstadt, 1964
- [20] **J. Crank and G. S. Park**, *Diffusion in Polymers*, Ed. Academic Press, London and New York, pag. 41-73 (1986)
- [21] **DuPont Fuel Cell**, *Dupont™ Nafion® Membranes*, 2009, 20/03/2011, [http://www2.dupont.com/FuelCells/en\\_US/assets/downloads/dfc101.pdf](http://www2.dupont.com/FuelCells/en_US/assets/downloads/dfc101.pdf)

- [22] **R.A.Robinson e R.H.Stokes**, *Electrolyte solutions*, Butterworth Publisher London, 1970
- [23] **W.J.Hamer e H.J.DeWane**, *Electrolytic conductivity of aqueous solutions of the alkali metal hydroxides*, National Bureau of standards report, 1970
- [24] **Zehnder C., Gutzwiller J.P., Huber A. et al.** *Low potassium and glucose-free dialysis maintains urea but enhances potassium removal*. Nephrology Dialysis Transplantation; vol 16, pp 78-84, 2001
- [25] **International Standard ISO 8637:2004**. *Cardiovascular implants and artificial organs – Haemodialysers, haemodiafilter, haemofilters and haemoconcentrators*, 2004