

POLITECNICO DI MILANO

Scuola di Ingegneria dei Sistemi
Corso di Laurea Magistrale/Specialistica in Ingegneria Biomedica



**SVILUPPO, IMPLEMENTAZIONE E
VALIDAZIONE DI UN MODELLO
MATEMATICO PER
L'EMODIAFILTRAZIONE ON-LINE**

Relatore: Prof. Ing. Maria Laura Costantino
Correlatore: Dott. Ing. Giustina Casagrande

Tesi di Laurea di:
Luigi Antelmi, matricola 724647
Nicoletta Dandrea, matricola 751368

Anno Accademico 2010-2011

Indice

Sommario	4
Summary	6
I Introduzione	9
1 Anatomia e fisiopatologia renale	13
1.1 Anatomia del rene	13
1.2 Fisiologia renale	16
1.3 Patologie renali	16
1.4 Terapie	18
1.5 Conclusioni	22
2 <i>On-line</i> HDF	23
2.1 <i>On-line</i> HDF	23
2.2 Emodiafiltrazione con pre-diluizione	25
2.3 Emodiafiltrazione con post-diluizione	26
2.4 Emodiafiltrazione a diluizione mista	26
2.5 Stato dell'arte sulla modellistica HDF	28
II Materiali e Metodi	31
3 Modellistica Matematica	33
3.1 La scienza (e l'arte) della modellistica	33
3.2 Ottimizzazione di un modello	34
4 Relazioni Costitutive	37
4.1 Proprietà generalizzate dei sistemi	37
4.2 Le membrane	39
4.3 Diffusione	40
4.4 Effetto Donnan	41
4.5 Trasporto Convettivo	42
4.6 Osmosi	42
4.7 Pressione Oncotica	44
4.8 Trasporto attraverso la membrana cellulare	45
4.9 Caratteristiche generali del dializzatore	47
4.10 Caratteristiche del dializzatore per HD	48
4.11 Caratteristiche del dializzatore per HDF	49

5	Modello dell'<i>on-line</i> HDF	53
5.1	Sistema <i>on-line</i>	54
5.2	Modello del paziente	56
5.3	Inizializzazione del sistema	62
5.4	Implementazione	64
5.5	Scelta dei parametri da ottimizzare	64
6	Procedura di ottimizzazione	67
6.1	Analisi di sensitività	67
6.2	Ottimizzazione	68
III	Risultati e Discussione	71
7	Capacità descrittive del modello	73
7.1	Calcolo degli errori	73
7.2	Analisi dei risultati	74
8	Capacità predittive del modello e applicabilità clinica	81
8.1	Parametri ottimizzati sulla prima seduta	81
8.2	Parametri ottimizzati sulle prime due sedute	83
8.3	Applicabilità clinica: pre- <i>vs</i> post-diluizione	84
9	Conclusioni e sviluppi futuri	87
IV	Appendici e Bibliografia	89
A	Parametri del modello “paziente”	91
A.1	Coefficienti di Donnan - α_d	91
A.2	Coefficienti di equilibrio cellulare - β	91
B	Parametri del modello “dializzatore”	93
B.1	Dialisance/Clearance	93
B.2	Coefficienti di Staverman - σ	93
B.3	Coefficienti di Donnan - α_d	94
C	Acquisizione dati e parametri pazienti	97
D	Implementazione in Matlab	99
D.1	Pre-processing	99
D.2	Implementazione del modello	100
D.3	Ottimizzazione	104
	Bibliografia	106

Sommario

Le procedure dialitiche di depurazione del sangue dalle tossine uremiche, inducono un complesso scambio di fluidi e di sostanze fra i vari compartimenti dell'organismo umano: da quello plasmatico, più facilmente accessibile, a quello intracellulare, più profondo e inaccessibile. È importante, a fini terapeutici, essere in grado di descrivere e predire queste dinamiche, così che si possa personalizzare al meglio la terapia in base anche alle esigenze di ogni singolo paziente e in base alle opzioni tecniche oggi disponibili. Infatti, rispetto al recente passato in cui la principale terapia di depurazione era quella dell'*emodialisi*, oggi è possibile scegliere fra più alternative, fra le quali vi è l'*emodiafiltrazione* (HDF). L'uso della modellistica matematica può essere d'aiuto nella scelta della terapia dialitica più adatta, e il presente lavoro di tesi ha come obiettivo quello di fornire un tale strumento per il caso particolare dell'*on-line* HDF.

Il modello qui proposto è basato sulla descrizione della cinetica di alcuni soluti presenti nel sangue che si ritiene importante monitorare durante la dialisi (sodio, potassio, cloro, calcio, fosfato inorganico, magnesio, urea, creatinina, proteine), sulla descrizione degli scambi di fluidi tra i diversi compartimenti e delle variazioni pressorie, durante una seduta dialitica effettuata con la tecnica dell'emodiafiltrazione. In particolare, si è cercato di sintetizzare matematicamente in un unico sistema di equazioni differenziali ordinarie, le interazioni che avvengono tra i seguenti tre sistemi:

1. il sistema “paziente”, descritto come composto da tre compartimenti (plasmatico, interstiziale e intracellulare) separati fra loro da membrane semipermeabili;
2. il sistema di produzione “on-line” del fluido dializzante e del fluido sostitutivo del plasma¹;
3. il filtro dializzatore, sede degli scambi di massa e volume fra plasma e liquido di dialisi.

Nel sistema “paziente”, lo scambio di massa è bicompartimentale e avviene fra compartimento intracellulare e compartimento extracellulare, quest'ultimo formato dal compartimento plasmatico e interstiziale. Lo scambio di fluidi è di tipo tri-compartimentale (plasma, interstizio, cellule).

Il modello è stato implementato utilizzando il software per il calcolo numerico Matlab[®] 7 (R14), e richiede l'immissione dei dati iniziali del paziente e delle impostazioni della macchina dializzatrice. Nel modello sono stati inseriti e analizzati in particolare tre parametri: il coefficiente di trasferimento di massa alla membrana cellulare k , il parametro adimensionale ρ , che tiene conto della variabilità della permeabilità dei capillari, e il coefficiente η , che rappresenta la capacità di estrazione del dializzatore, influenzata dallo strato proteico che si forma lungo il

¹in questa tesi ci riferiremo a questo fluido come fluido di sostituzione o fluido di diluizione, per distinguerlo dal fluido dializzante.

capillare del filtro nel corso della dialisi. Per questi parametri è stata effettuata un'analisi di sensitività al fine di poter comprendere quali tra essi influenzano in maniera preponderante le uscite del modello; i valori iniziali di questi parametri sono stati fatti variare singolarmente del $\pm 10\%$ mantenendo costanti tutti gli altri valori e calcolando così gli scostamenti rispetto al valore di riferimento. Quello che si è dedotto dall'analisi è che il parametro relativo ad un determinato soluto influenza sia, come era prevedibile, la dinamica del soluto stesso, ma anche quella degli altri soluti, evidenziando così il fatto che il modello è stato sviluppato con i soluti che convivono e interagiscono in un unico ambiente.

Uno degli obiettivi finali è stato quello di valutare per quanto tempo i parametri di una seduta potessero risultare validi per la predizione delle sedute successive, in modo da poter fornire al personale medico un utile strumento di predizione. Il modello qui esposto mostra nel complesso risultati conformi e vicini a quelli ottenuti tramite rilevazioni cliniche e può quindi essere ritenuto un valido strumento di simulazione. Gli scostamenti relativi alle concentrazioni plasmatiche dei soluti di interesse, risultano infatti quasi tutti inferiori al 20%. In particolare i risultati migliori sono stati ottenuti per sodio, potassio, cloro, calcio e magnesio, con scostamenti sempre inferiori al 10%. Considerando invece i valori medi degli scostamenti, le percentuali d'errore scendono per tutti al di sotto del 10%. In relazione ai risultati ottenuti vengono fornite analisi dettagliate per ogni soluto, affinché possano essere apportate al modello modifiche e accorgimenti che ne aumentino la capacità descrittiva.

Infine, si è mostrato come sia possibile utilizzare il modello per individuare delle differenze fra le tecniche di diluizione durante on-line HDF (pre, post), valutandone i diversi effetti sulle dinamiche di scambio dei soluti nel corso della dialisi. Si sono individuati il grado di compartimentazione e la carica elettrica dei soluti come fattori che determinano la capacità estrattiva dell'una o dell'altra tecnica di diluizione tra quelle disponibili per l'on-line HDF.

Summary

Dialysis is a treatment allowing to purify the blood from uremic toxins. Dialysis also induce a complex dynamic of fluid and substances exchange between the various compartments of the human body: from the plasma compartment, which is the most superficial, to the intracellular one, deeper and inaccessible. It is important for therapeutic purposes, to be able to describe and predict these dynamics, so that we can better tailor the therapy on every patient, by choosing among the technical options available nowadays. In fact, with respect to the recent past when the main treatment was the *hemodialysis*, now is possible to choose several alternatives, among which we can find the *hemodiafiltration* (HDF). The use of mathematical modeling can help in the choice of the most suitable dialysis, and this thesis aims to provide such a tool for the special case of *on-line* HDF.

The model here developed is based on the description of the kinetics of some blood solute considered to be important to monitor (sodium, potassium, chloride, calcium, inorganic phosphate, magnesium, urea, creatinine, proteins), the exchange of fluids between the different compartments, and pressure changes during a dialysis session performed with the HDF technique. In particular, we have tried to mathematically synthesized in a single system of ordinary differential equations, the interactions that occur between the following three systems:

1. the “patient” system, described as three-compartmental (plasma, interstitial and intracellular) separated by semipermeable membranes;
2. the “online” system for the production of the dialysate and replacement fluids;
3. the dialyzing filter, which is the site where mass and volume exchange take place.

In the “patient” system, the mass exchange is two-compartmental (the intracellular compartment and the extracellular one, the latter formed by the plasma compartment plus the interstitial one). The exchange volume is three-compartmental (plasma, interstitial cells).

The model, implemented in the software for the numerical calculation Matlab[®] 7 (R14), requires the input of initial data from the patient and from the dialysis machine.

Three parameters were introduced and analyzed: the mass transfer coefficient to the cell membrane k , the dimensionless parameter ρ , accounting for the variability of permeability in capillary walls, and the coefficient η , defined as the dialyzer extraction capability, which is dependent on the thickness of protein layer formed along the filter capillaries throughout the dialysis. Sensitivity analysis was also performed in order to understand which one of these parameters affect most the output of the model. In order to assess sensitivity, parameters' values were individually changed ($\pm 10\%$ of their reference values) while keeping constant all the others and variations in the output were recorded. Outcoming results show that the parameter for a given solute influences both, predictably, the dynamics of the solute itself,

but also that of other solutes, thus highlighting the fact that the model has been developed with solutes coexisting and interacting in the same environment.

One of the ultimate goals was to evaluate for how long the parameters identified in the first session would be valid for the prediction of the following ones, so that we can provide a useful tool for medical simulation. The model presented here shows overall results in line and close to those obtained by clinical observations and can therefore be considered, with few exceptions, a valid tool for prediction. In fact, deviations from real plasma concentrations of almost all solutes considered here, are at most 20%. In particular, the best results were obtained for sodium, potassium, chlorine, calcium and magnesium, with deviation of at most 10%. If we consider the average values, all the descriptive errors falls below 10%. Detailed analysis for every solute is given in the last chapters, along with some comments on how to improve the model descriptive capabilities.

Eventually, it is shown how the model can be used to evaluate the differences between the available dilution techniques, and their effect on the dynamics of solutes during dialysis. It was found that the degree of compartmentalization and the electrical charge of solutes may determine which of the two modes of dilution (pre- or post-dilution) would be the most effective.

Parte I

Introduzione

Struttura della tesi

Il presente lavoro è composto da nove capitoli e quattro appendici, raggruppati in quattro parti principali:

- **Parte I:** Introduzione;
- **Parte II:** Materiali e Metodi;
- **Parte III:** Risultati e Discussioni;
- **Parte IV:** Appendici e Bibliografia.

Parte I: Introduzione. La parte introduttiva (Cap. 1) è dedicata ad una breve descrizione della fisiologia dei reni umani e delle principali patologie che li colpiscono, seguita da un'esposizione delle possibili tecniche dialitiche per la sostituzione della funzionalità renale. Il Cap. 2 è interamente dedicato alla descrizione dell'on-line HDF, tecnica oggetto di modellizzazione in questa tesi.

Parte II: Materiali e Metodi. In questa parte, dopo il breve Cap. 3 di presentazione della modellistica matematica in generale, si passa, nel Cap. 4, all'enunciazione delle principali leggi empiriche, dette relazioni costitutive, costituenti i pezzi fondamentali che compongono il modello finale, descritto successivamente nel Cap. 5. Nel Cap. 6 è descritta la procedura seguita per l'ottimizzazione dei parametri usati per la simulazione numerica, procedura basata sull'analisi della matrice di sensitività relativa al modello.

Parte III: Risultati e Discussioni. In questa parte sono analizzate le proprietà descrittive (Cap. 7) e predittive (Cap. 8) del modello. Relativamente alle concentrazioni plasmatiche dei soluti di interesse, gli scostamenti percentuali relativi fra simulazione numerica e realtà clinica sono mediamente inferiori al 20%. Sugli elettroliti gli errori di predizione medi sono ancora più bassi e inferiori al 10%. Questa parte si conclude con delle considerazioni finali e l'indicazione di alcuni possibili sviluppi futuri (Cap. 9).

Parte IV: Appendici e Bibliografia. Nell'Appendice A e B sono indicati alcuni calcoli accessori utili per la modellistica lato paziente e lato dializzatore. Nell'appendice C si descrive il protocollo di acquisizione dei dati raccolti presso il centro dialisi di riferimento. Nell'appendice D si riporta infine il listato completo del codice usato per l'implementazione del modello.

Capitolo 1

Anatomia e fisiopatologia renale

“La fixité du milieu intérieur est la condition de la vie libre et indépendante”

CLAUDE BERNARD (1813 - 1878)

Claude Bernard, fisiologo francese, riuscì a mostrare che la medicina basata su esperimenti e fatti era superiore a quella basata su teorie e precedenti storici. Fece capire, inoltre, come per conseguire tale obiettivo i medici avessero bisogno di una esperienza molto più profonda di ciò che accade nel corpo, non soltanto nel corpo sano ma anche in quello malato. Uno dei concetti più importanti che introdusse fu quello del *milieu intérieur* e notò che «tutti i meccanismi vitali, per quanto possano essere differenti, hanno un unico scopo: quello di mantenere costanti le condizioni vitali nel sistema interno»¹. Questa teoria ha avuto enormi conseguenze. Nel 1926 indusse Walter Cannon, fisiologo di Harvard, a sviluppare il concetto di *omeostasi*, cioè dell'insieme di diversi processi fisiologici atti a conservare il nostro corpo in equilibrio, nonostante le fluttuazioni delle condizioni ambientali. La stessa idea doveva portare, più tardi, alla formulazione della nozione di *feedback* da parte del matematico, e padre della cibernetica², Norbert Wiener [1].

L'omeostasi del *milieu intérieur*, compresi il volume, la composizione e la distribuzione dei fluidi corporei, è quindi essenziale per la sopravvivenza. Per bilanciare l'assorbimento quotidiano di cibo e acqua, e mantenere l'omeostasi, sono necessari meccanismi di escrezione controllati finemente. Parallelamente ai contributi di intestino, polmoni e cute, la funzione di controllo sulla quantità e composizione di fluidi e soluti è svolta dai reni.

1.1 Anatomia del rene

I due reni giacciono sulla parete posteriore dell'addome, all'esterno della cavità peritoneale (Fig. 1.1). Ciascun rene presenta, nella parte mediana, una rientranza detta *ilo*. Dall'ilo entrano e fuoriescono: arteria e vena renali, i vasi linfatici, i nervi e l'uretere. Quest'ultimo convoglia l'urina prodotta dal rene verso la vescica, dalla

¹H. Hellman, *“Le dispute della medicina. Dieci casi esemplari”* Raffaello Cortina Editore.

²dal greco *κυβερνήτης* (timoniere). Wiener coniò il termine *cibernetica* per descrivere l'applicazione della “teoria del controllo” alla fisiologia, anche se, al giorno d'oggi, il termine è spesso associato alla robotica.

quale è espulsa successivamente allo stimolo della minzione. Per una descrizione anatomica più dettagliata si consulti Guyton et al. [2].

Il flusso sanguigno in ingresso ai reni ammonta a circa un quarto della gittata cardiaca, nonostante per garantire la funzionalità non occorra ad essi più di un decimo dell'ossigeno totale in circolo nell'organismo [3]. La perfusione è quindi di gran lunga sovradimensionata rispetto alle esigenze metaboliche locali, e ciò si riconduce alla funzione filtrante che i reni svolgono. La maggior parte del flusso ematico renale è infatti convogliato verso i nefroni, che sono le unità funzionali attraverso cui il sangue è continuamente filtrato e purificato.

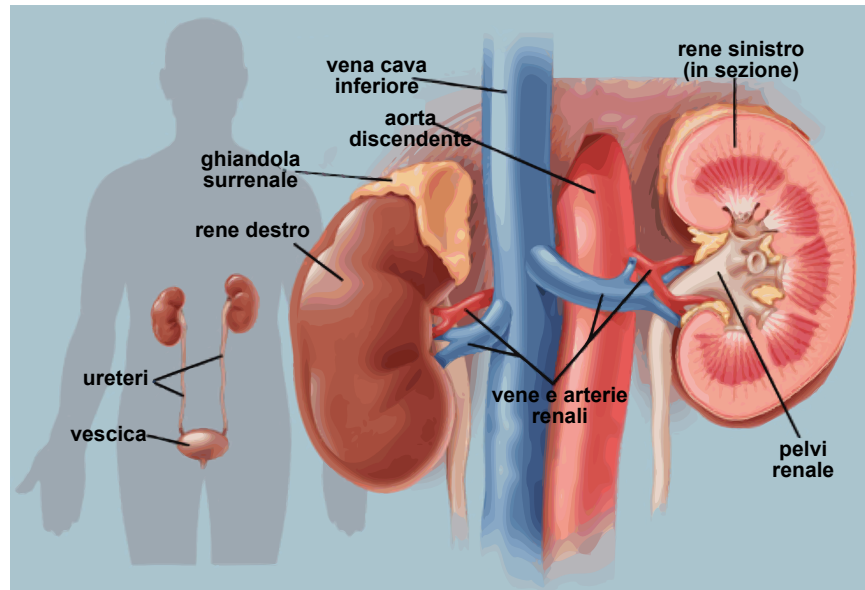


Fig. 1.1: Localizzazione anatomica dei reni.

1.1.1 Il Nefrone [2]

Ogni rene è costituito da circa un milione di nefroni. La Fig. 1.2 mostra in dettaglio il nefrone, che è composto da due strutture principali:

- il **glomerulo**, cioè un groviglio di capillari in cui il sangue è filtrato sotto la spinta della pressione arteriosa;
- il **tubulo renale**, nel quale il filtrato glomerulare è in parte riassorbito e in parte convogliato verso gli ureteri.

Il glomerulo è costituito da una fitta rete di capillari ramificati e rivestiti da cellule epiteliali; l'involucro che avvolge il glomerulo si chiama *capsula di Bowman*. Il liquido filtrato dai capillari glomerulari è raccolto nella capsula di Bowman e convogliato nel *tubulo prossimale*, localizzato nella parte corticale del rene. Dal tubulo prossimale il liquido passa nell'*ansa di Henle*, situata nella zona midollare, in cui avviene il riassorbimento di sostanze utili e la secrezione di cataboliti da e verso il lume dell'ansa. Con un tratto ascendente il percorso del filtrato prosegue verso la *macula densa*, che ha un ruolo di *feedback* molto importante per la modulazione della capacità filtrante del nefrone. Dopo la macula densa il liquido giunge, attraverso una serie di dotti collettori, nel *bacinetto renale* e di lì, attraverso gli *ureteri*, nella vescica, dalla quale è espulso per minzione.

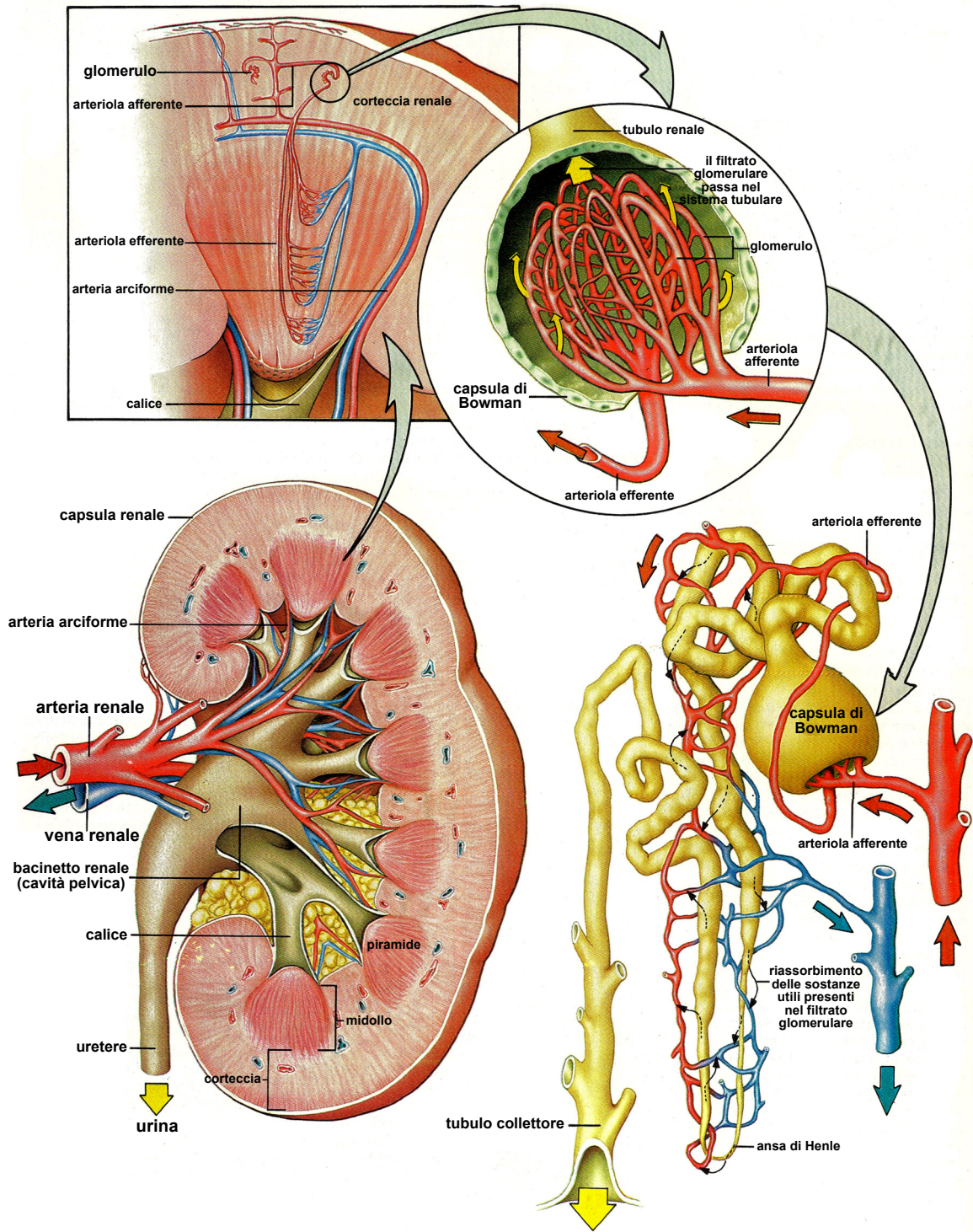


Fig. 1.2: Dettagli anatomici del rene.

1.2 Fisiologia renale

L'eliminazione continua dal plasma dei fluidi in eccesso e di tutte le impurità, contribuendo all'omeostasi dell'organismo, è solo una delle funzioni dei reni. I reni intervengono anche nella regolazione ormonale dei processi metabolici, perché sono anche dotati di un sistema endocrino. Un esempio è la capacità di controllo della pressione arteriosa attraverso la liberazione seriale di ormoni che agiscono direttamente sullo stato vasopressivo del circuito arterioso (sistema *renina-angiotestina-aldosterone*). In sintesi, le funzioni principali svolte dal rene sono:

- eliminazione dei cataboliti e riassorbimento di sostanze utili;
- regolazione dell'osmolarità e della volemia dei liquidi corporei;
- controllo del bilancio elettrolitico e dell'equilibrio acido-base;
- regolazione della pressione arteriosa.

Nei prossimi paragrafi si illustreranno a grandi linee gli stati di malattia del rene e le possibili terapie.

1.3 Patologie renali

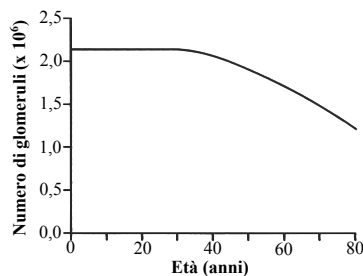


Fig. 1.3

L'eziologia delle patologie renali è molto varia e può essere genetica, infettiva, traumatica, vascolare, immunologica, batteriologica o degenerativa [4]. In un soggetto sano, come mostrato nella Fig. 1.3, la performance renale diminuisce gradualmente a partire dai 40 anni fino a dimezzarsi intorno agli 80 anni, senza tuttavia risultare invalidante. Nei casi patologici, quando la funzionalità renale si riduce al 20-25% di quella normale, la sopravvivenza dell'individuo è vincolata alla qualità della terapia dialitica cui deve periodicamente sottoporsi. Le

patologie renali possono essere riferite a due categorie generali [2], che sono:

- l'insufficienza renale **acuta**, in cui i reni cessano all'improvviso di funzionare completamente o quasi, ma possono eventualmente recuperare la funzionalità normale;
- l'insufficienza renale **cronica**, nella quale un numero crescente di nefroni perde progressivamente le proprie funzioni, con conseguente degenerazione della funzionalità renale.

1.3.1 Insufficienza renale acuta [2]

In base alla sede della disfunzione, l'insufficienza renale acuta può essere di tipo:

- **pre-renale**, quando l'alterazione si verifica a monte del rene; la sindrome prerenale può verificarsi a seguito di insufficienza cardiaca o a diminuzione del volume del sangue associata a un brusco calo della pressione arteriosa, come nel caso di una grave emorragia;
- **intra-renale**, quando le alterazioni sono interne al rene stesso e riguardano i vasi, i glomeruli o i tubuli renali; questa tipologia di disfunzione è solitamente irreversibile e nei casi più gravi sono necessarie cure dialitiche;

- **post-renale**, che comporta l'ostruzione del sistema di raccolta dell'urina in qualunque punto, dai calici agli ureteri alle vie di uscita della vescica; le cause principali di ostruzione delle vie urinarie sono i calcoli renali, facilmente eliminabili con tecniche di litotrizzazione a ultrasuoni o, nei casi più gravi, con la chirurgia.

In presenza di insufficienza renale acuta, l'immediato effetto fisiologico è la ritenzione nel sangue e nell'interstizio di acqua, elettroliti e prodotti di scarto del metabolismo, con conseguente ipertensione e edema. In più, l'eccessiva ritenzione di potassio causa aritmie compromettendo la funzionalità cardiaca. Nei casi gravi di insufficienza renale acuta si ha totale anuria che, se non corretta con la dialisi, conduce rapidamente al decesso.

1.3.2 Insufficienza renale cronica [2]

Quando la funzionalità renale si riduce fino al 20 – 25% di quella normale, le lesioni che i nefroni superstiti subiscono portano a un'ulteriore riduzione della funzionalità renale e, quindi, a un lento circolo vizioso progressivo che si conclude con lo stadio terminale della patologia renale (Fig. 1.4). Può quindi accadere che un danno iniziale al rene ne comporti il progressivo deterioramento fino al punto in cui il soggetto, per sopravvivere, deve essere sottoposto a dialisi o a trapianto di rene.

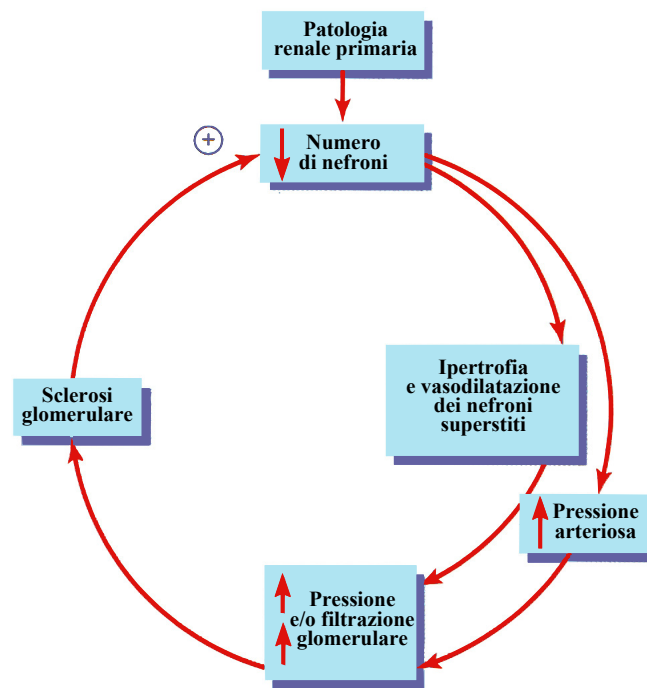


Fig. 1.4: Circolo vizioso che può instaurarsi per una patologia renale primaria. La perdita di nefroni causati dalla patologia può aumentare il flusso e la pressione nei capillari glomerulari restanti; ciò a sua volta può danneggiare anche i capillari sani, causando la loro sclerosi progressiva e alla fine la loro perdita. (Guyton et al. [2])

1.4 Terapie

Sono numerose le malattie che possono danneggiare i reni ed alcune di queste portano inesorabilmente alla perdita della loro funzionalità. Quando questo avviene le uniche possibilità terapeutiche per il paziente sono il trapianto di rene e la dialisi.

1.4.1 Trapianto [5]

L'intervento chirurgico di trapianto prevede l'anastomosi dei vasi del rene con i vasi iliaci del ricevente, e l'attacco dell'uretere, proveniente dallo stesso donatore, alla vescica. Come è necessario nel caso di tutti i trapianti di organo o tessuto, anche nel caso del trapianto di rene devono essere somministrati farmaci immunosoppressori per evitarne il rigetto. Il trapianto può essere eseguito prelevando l'organo da cadavere o da un donatore vivente. Il vantaggio del trapianto di rene da donatore vivente è legato alla sua programmabilità e ad una probabilità di successo superiore al trapianto da cadavere. L'individuo che volontariamente si offre ad una donazione di rene esegue una serie di accertamenti che mirano ad escludere la possibilità che egli stesso abbia una nefropatia latente o una patologia che ne favorisca lo sviluppo in futuro. L'atto chirurgico del prelievo del rene può essere eseguito per via laparoscopica e quindi con ridotta invasività.

1.4.2 Dialisi

Col termine *dialisi* ci si riferisce a un processo di purificazione di un fluido per mezzo di un'altro fluido, detto dializzante, separato dal primo attraverso una membrana semipermeabile, artificiale o biologica. A seconda della tecnica di dialisi, gli scambi di massa attraverso la membrana avvengono per diffusione e/o convezione.

Dialisi peritoneale

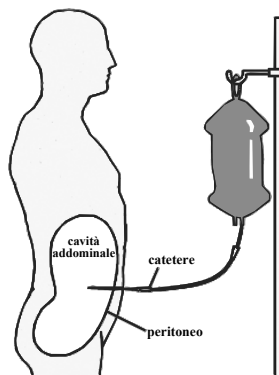


Fig. 1.5

La dialisi peritoneale sfrutta come membrana semipermeabile il peritoneo, che è la membrana che costituisce il rivestimento della cavità addominale (Fig. 1.5). Attraverso un catetere trans-dermico si riempie l'addome col liquido dializzante, permettendo così uno scambio diffusivo di soluti fra i vasi del peritoneo e il fluido dializzante. È anche possibile, oltre ai cataboliti, estrarre fluidi corporei in eccesso (ultrafiltrazione) giocando sull'osmolarità del liquido dializzante. Il dialisato è mantenuto nella cavità addominale per il tempo necessario agli scambi. Il ciclo è ripetuto fino a dieci volte al giorno, talvolta con l'ausilio notturno di un dispositivo automatico per il riempimento e svuotamento dell'addome [6]. Questa tecnica *auto-terapica* richiede molta diligenza da parte del paziente, ma facendo uso di

dispositivi semplici e poco ingombranti, rende il soggetto in dialisi (quasi) indipendente dai centri specializzati.

Emodialisi

L'emodialisi (HD) è una terapia che permette di purificare il sangue del paziente tramite un filtro detto *dializzatore*, ovvero rene artificiale. Diversamente dal rene biologico che è in grado anche di riassorbire attivamente sostanze utili dal filtrato glomerulare, il rene artificiale esercita sulla composizione del plasma un ruolo puramente passivo. L'eliminazione delle sostanze di scarto (urea, creatinina ed altre)

avviene semplicemente ponendo a contatto, tramite la membrana del dializzatore, il sangue da filtrare con una soluzione dializzante di composizione simile a quella che fisiologicamente dovrebbe avere il plasma.

Il dializzatore, rudemente schematizzato in Fig. 1.6, è costituito da una membrana semipermeabile artificiale che trattiene i globuli rossi e le proteine del plasma e permette la diffusione delle molecole di scarto, a basso peso molecolare, dal plasma al liquido dializzante. La concentrazione dei soluti nel plasma, elevata all'inizio della seduta, diminuisce nel corso della dialisi fino a raggiungere, in teoria, la stessa concentrazione del dialisato. Inoltre, per permettere l'eliminazione dei fluidi accumulati durante il periodo interdialitico, è necessario mantenere una modesta differenza di pressione idraulica tra il compartimento ematico e quello del dialisato, in modo che parte del solvente (acqua) dal sangue attraversi la membrana e venga eliminata. Al processo di diffusione allora si aggiunge quindi anche quello di convezione. La quantità di acqua così eliminata, circa mezzo litro l'ora, deve essere controllata nel corso della dialisi insieme alle condizioni generali del paziente, poiché una brusca e notevole diminuzione del volume plasmatico può portare al collasso cardio-circolatorio.

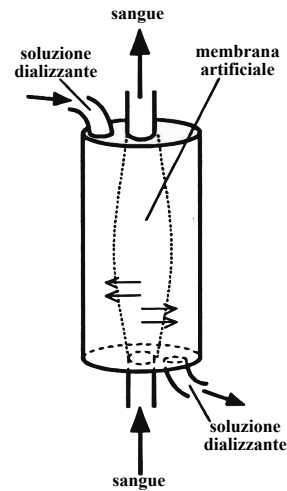


Fig. 1.6

Emofiltrazione

L'emofiltrazione (HF) è una tecnica dialitica in cui la rimozione di soluti avviene quasi esclusivamente per convezione. Per l'alta porosità delle membrane qui usate, se si applica un'adeguata pressione di trans-membrana è possibile rimuovere un elevato volume di acqua, dell'ordine della decina di litri a seduta, la quale trasporta con sé le sostanze in essa disciolte; poiché una perdita così elevata di fluidi non è sostenibile dall'organismo umano, è necessario reinfondere la maggior parte del volume filtrato con un adeguato flusso di liquido di sostituzione, ovvero di diluizione, a monte o a valle rispetto al dializzatore, cioè in pre- o post-diluizione. La porosità della membrana è un parametro importante nel trasporto per convezione, perché rende possibile la rimozione prodotti di scarto di peso molecolare medio/alto, cosa che con non è possibile con le normali membrane per emodialisi.

Emodiafiltrazione

Il termine *emodiafiltrazione* (HDF) fu utilizzato per la prima volta da Leber et al. [7] in Germania e fu proposto come un nuovo metodo per la purificazione del sangue ottenuta tramite la combinazione equilibrata di diffusione e convezione. L'HDF può difatti essere definita come una tecnica di dialisi che utilizza membrane altamente permeabili, nelle quali la diffusione e la convezione sono equamente determinanti per la rimozione di soluti/tossine di vario peso molecolare. Uno dei grandi risultati dell'HDF è infatti quello di poter rimuovere non solo soluti a basso peso molecolare, come accade per l'emodialisi, ma anche molecole ritenute dannose, come le β_2 -microglobuline (11,8 *kDa*), che fanno parte della categoria delle sostanze a medio/alto peso molecolare. Inizialmente nella dialisi erano i soli processi diffusivi a regolare la purificazione del sangue e ciò a causa della bassa permeabilità idraulica delle membrane e della porosità insufficiente a permettere alti flussi. Grazie allo sviluppo di polimeri sintetici, con una struttura ibrida idrofila e idrofoba e uno spessore di membrana ridotto, si è potuto sfruttare anche il processo convet-

tivo di purificazione ematica e dare quindi il via alla tecnica dell'emodiafiltrazione. Nell'HDF il trasporto di soluti può avvenire e per diffusione e per convezione. Il trasporto diffusivo è descritto dalla legge di Fick, espressa matematicamente da

$$J_d = -D_s \frac{dC_s}{dx}$$

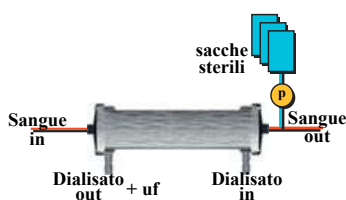
dove J_d è il flusso netto diffusivo, D_s il coefficiente di diffusione del soluto in esame e C_s la sua concentrazione. Il trasporto convettivo è invece caratterizzato dalla filtrazione di fluido attraverso la membrana come conseguenza di un gradiente locale di pressione; in formule:

$$J_c = L_p \left(\Delta P - \Delta \Pi \right) C_M$$

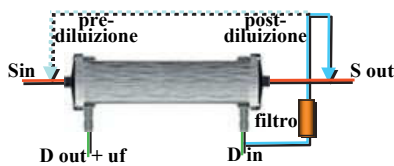
dove L_p è la permeabilità idraulica della membrana, ΔP il gradiente idraulico e $\Delta \Pi$ il gradiente osmotico a cavallo della membrana e C_M la concentrazione di membrana media del soluto trasportato. L'efficienza dell'HDF è influenzata, come per l'emodialisi, dalla portata di sangue prelevato dalla fistola o dal catetere venoso, dalla portata del dialisato, dall'ematocrito e dal proteinocrito (dall'inglese *protocrit*, cioè la frazione di proteine nel plasma). L'efficienza dipende anche dalla modalità di infusione del fluido di sostituzione (pre-diluizione o post-diluizione). A parità di altre condizioni, in post-diluizione la *clearance* delle molecole a basso/medio peso molecolare è maggiore rispetto all'emodialisi. Il sangue però rischia di coagulare all'interno del dializzatore a seguito dell'emoconcentrazione che avviene lungo i capillari. In pre-diluizione invece il sangue ha proprietà reologiche meno favorevoli alla coagulazione ma, a causa della diluizione, la clearance dei soluti risulta diminuita [8].

Tipologie di HDF

L'emodiafiltrazione è una combinazione di emodialisi e emofiltrazione che rende possibile la rimozione simultanea e ottimale di soluti a basso e alto peso molecolare. Il contributo relativo della convezione rispetto alla diffusione, aumenta all'aumentare del peso molecolare del soluto da rimuovere. Questi concetti sono stati applicati nella pratica clinica portando allo sviluppo di diverse tipologie di HDF, descritte in Ronco [9], che illustreremo nei prossimi paragrafi.



HDF classica. Questa tipologia di trattamento è caratterizzata da portate di reinfusione di circa 3-15 L a seduta, tipicamente in post-diluizione. Il liquido di diluizione è contenuto in apposite sacche sterili. Per ottenere regimi di ultrafiltrazione pressori di trans-membrana accettabili, sono necessarie portate ematiche superiori ai 300 mL/min. Questa tecnica è stata utilizzata per molti anni fino a quando non sono state disponibili modalità più economiche di produzione del fluido di diluizione (cfr. *on-line* HDF).

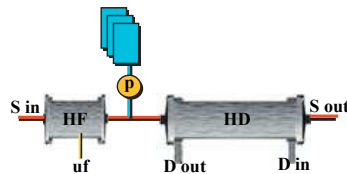


On-line HDF. La necessità di alternative per l'elevato costo delle sacche di reinfusione, e il miglioramento delle tecnologie per la preparazione del liquido di dialisi, hanno permesso lo sviluppo di una nuova tecnica chiamata *on-line* HDF. In questa modalità, del dialisato ultrapuro è preparato al momento dell'uso dalla macchina dializzatrice. La qualità del fluido prodotto è eccellente, ed è garantita dalla ridondanza dei sistemi di

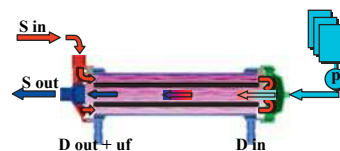
filtraggio. Attraverso celle conduttimetriche e pompe, la macchina regola automaticamente la diluizione delle soluzioni concentrate, per ottenere i valori giusti di concentrazione impostati per lo specifico paziente. Questa procedura rende disponibile immediatamente e a basso costo una grande quantità di liquido di sostituzione e l'HDF può essere portata a termine con un elevato ricambio di fluido (intorno ai $40 L/sessione$) utilizzando la pre- o la post-diluizione o, ancora in fase sperimentale [10], un mix delle due modalità.

Internal-Filtration HDF. Quando un dializzatore ad alta permeabilità è usato in condizioni di minima ultrafiltrazione, si può erroneamente pensare che il processo di scambio avvenga, per pura diffusione. Gli scambi convettivi, mascherati invece dalla cinetica interna della *retro-filtrazione*, non sono affatto trascurabili. Il fenomeno è del tutto paragonabile a ciò che avviene nel letto capillare umano secondo l'ipotesi di Starling (Fig. 4.5): man mano che si avvanza nel lato sangue lungo i capillari del dializzatore, la pressione idraulica diminuisce fino al punto in cui è possibile che la pressione di trans-membrana si inverta, richiamando liquido dializzante nel lume ematico. Questo fenomeno può essere amplificato applicando, per esempio, una restrizione verso la metà del fascio di capillari, oppure riducendo il diametro interno delle fibre. In questo modo la retro-filtrazione può raggiungere valori di $40-50 mL/min$ con un dializzatore da $1.8 m^2$ in regime di ultrafiltrazione netta nulla. Anche se questo fenomeno avviene in qualsiasi dializzatore ad alta permeabilità, quando specifici accorgimenti e particolari design sono usati per favorire la retro-filtrazione, la tecnica dialitica prende il nome di internal-HDF.

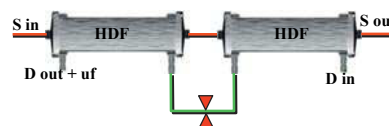
Paired Filtration. Questa tipologia di HDF è stata concepita per la prima volta in Italia. È caratterizzata da due dializzatori posti in serie: il primo è molto poroso e la convezione è dominante, il secondo è un classico emodializzatore nel quale è la diffusione il fenomeno dominante. Il fluido di diluizione è immesso nel circuito tra un filtro e l'altro. Lo scopo di questo design è quello di minimizzare le interazioni sfavorevoli tra convezione e diffusione, di prevenire la retro-filtrazione e di ottenere misure più accurate sull'ultrafiltrato essendo questo provvisto di una linea separata dalla linea di uscita del dialisato.



Mid-dilution HDF. Per questo tipo di HDF è necessario un filtro particolare costituito da due compartimenti longitudinali posti idraulicamente in serie. Il sangue entra nel primo compartimento in contro-corrente al dialisato; qui avviene l'ultrafiltrazione. Quando il sangue, emoconcentrato, giunge alla fine del primo compartimento viene diluito col fluido di sostituzione e immesso nel secondo compartimento, iso-corrente al dialisato. Il sangue in uscita lascia il dializzatore da una porta vicina a quella di ingresso.



Double High-Flux HDF. Si utilizzano due dializzatori ad alta porosità posti in serie. La filtrazione avviene nell'unità prossimale e la retro-filtrazione in quella distale. La retro-filtrazione, ovvero la portata del fluido di diluizione, può essere modulata da una resistenza idraulica posta sulla linea del dialisato congiungente i dializzatori. Quando si riescono a raggiungere alti flussi di fistola ($> 500 mL/min$)



l'alta efficienza di questa metodologia permette trattamenti della durata inferiore alle due ore [11].



Push-Pull HDF. Con questa tecnica è possibile variare il rapporto fra filtrazione e retro-filtrazione. La rotazione della pompa pre-filtro (mentre quella post-filtro è ferma) produce filtrazione; la rotazione della pompa post-filtro (mentre è ferma quella pre-filtro) genera una

pressione negativa nel compartimento ematico e quindi retro-filtrazione. Le pompe di modulazione possono in alternativa essere poste sulla linea del dialisato.

1.5 Conclusioni

In questo capitolo sono state descritte le problematiche che una patologia renale comporta e, molto sinteticamente, le varie terapie dialitiche usate in ambito clinico per depurare l'organismo a seguito di tale patologia. Nel prossimo capitolo si descriverà in maniera più approfondita la tecnica oggetto di modellizzazione in questa tesi: l'*on-line* HDF.

Capitolo 2

On-line HDF

Sin dalla prima introduzione della terapia dialitica, si è cercato di sfruttare sia la diffusione che la convezione come fenomeni fisici per la purificazione del sangue. È del 1967 il primo articolo sull'uso dell'ultrafiltrazione e della diluizione del sangue come metodi dialitici. Nel 1969 si teorizzò la possibile applicazione simultanea di diffusione e convezione in dialisi e otto anni più tardi, nel 1977, H. Leber mise in pratica quelle teorie, pubblicando il primo articolo in cui si coniava il termine *emodiafiltrazione* [12].

L'emodiafiltrazione (acronimo HDF) è, a parità di membrana dializzatrice usata, un trattamento dialitico più efficace rispetto all'emofiltrazione e all'emodialisi, grazie soprattutto alla simultaneità di diffusione e convezione, che rendono possibile la rimozione di soluti sia a basso peso molecolare (diffusione) che a medio-alto peso molecolare (convezione). Inoltre, i sintomi tipicamente indotti dalla dialisi (pirogenicità, ipotensione, crampi) risultano essere meno frequenti in HDF [13]. Esistono quindi almeno due vantaggi con l'utilizzo dell'HDF:

- ampliamento del range dei pesi molecolari delle tossine uremiche rimosse;
- miglioramento della biocompatibilità del trattamento dialitico, con riduzione degli effetti negativi a lungo termine della dialisi.

Nei prossimi paragrafi verrà spiegato il significato del termine *on-line* quando ci riferisce all'HDF e si descriveranno le modalità di *pre-diluizione*, *post-diluizione* e *diluizione mista*, confrontandone i pro e i contro relativamente all'efficacia nella rimozione delle tossine uremiche.

2.1 *On-line* HDF

L'*on-line* HDF è stata introdotta principalmente per contenere i costi del liquido di reinfusione rispetto all'HDF classica, in cui tale liquido era fornito in sacche sterili e in quantità limitate. Col termine *on-line* ci si riferisce pertanto alla produzione sul luogo e al momento del liquido da reinfondere nel paziente.

L'HDF condivide con le altre modalità dialitiche il sistema di ultra-purificazione dell'acqua e il circuito idraulico che miscela l'acqua ultra-pura con opportune soluzioni concentrate al fine di ottenere il fluido da convogliare al dializzatore. La particolarità dell'HDF (e dell'HF) è quella di possedere, a valle del sistema di miscelamento, un filtro in più (filtro per la *cold sterilization*) che garantisce la non pirogenicità e in generale l'emo-compatibilità del fluido che sarà iniettato direttamente nel compartimento ematico per la diluizione (Fig. 2.1, Fig. 2.3). Con

la semplice aggiunta di questo filtro l'HDF perde quel vincolo, cioè quello dell'uso "parsimonioso" della diluizione, che impediva di sfruttare al massimo delle loro potenzialità i fenomeni di trasporto convettivi.

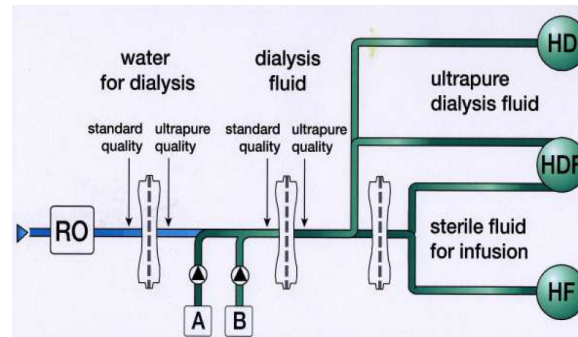


Fig. 2.1: circuito di produzione del dialisato e del liquido di sostituzione durante varie tipologie di dialisi.

L'acqua, che deve essere processata ed utilizzata nel circuito di dialisi, passa attraverso una fase di pretrattamento e una fase di dissalazione per osmosi inversa (RO), al fine di creare acqua ultra-pura che rientri nelle seguenti caratteristiche: per ogni millilitro batteri per un massimo di 100 unità formanti colonie ed endotossine inferiori a 0.25 unità (Fig. 2.2). Il trattamento tramite osmosi inversa oltre

acqua dalla rete idrica	acqua per dialisi	fluido standard per dialisi	fluido ultra-puro per dialisi	fluido di diluizione sterile non-pirogenico
	pre-trattamento osmosi inversa	mix con le soluzioni concentrate	ultra-filtrazione	ultra-filtrazione
Qualità Microbiologica:				
- UFC/ml	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ⁻¹	SAL > 6
- UE/ml	< 0,25	< 0,50	< 0,03	< 0,03
Applicazioni in dialisi:				
	base per la preparazione di tutti i fluidi	fluido di dialisi low-flux con membrane sintetiche	fluido di dialisi per tutte le forme di HD e HDF	soluzione di diluizione in HD e HDF

Fig. 2.2: processo di preparazione del liquido di dialisi, partendo da semplice acqua fino alla creazione di liquido sterile e non pirogenico. Il termine CFU sta per *colony-forming units*, EU per *endotoxin units* e SAL per *sterility assurance level*

a fornire acqua ultra pura è anche un'eccellente barriera verso i principali contaminanti chimici e batterici. Il passo successivo è quello della preparazione del liquido di dialisi che si ottiene miscelando l'acqua ultrapura con i concentrati acidi e basici. Dopo la miscelazione c'è un'ulteriore ultrafiltrazione prima che il liquido di dialisi possa essere convogliato verso il filtro dializzatore. Nel caso di HDF o HF vi è ancora un altro filtro che dà al liquido di dialisi le caratteristiche per poter essere infuso nel compartimento ematico. La reinfusione, o diluizione, è gestita via software per mezzo di una pompa roller e di una valvola per la selezione di pre- o post-diluizione. L'utilizzo di due filtri, e addirittura tre per la tecnologia sviluppata da Gambro, è quindi necessario per ottenere una purificazione ottimale del liquido di dialisi affinché possa essere immesso, senza rischi, direttamente nel compartimento ematico del paziente [14].

Con l'introduzione dell'HDF sono sorti numerosi interrogativi, in particolare

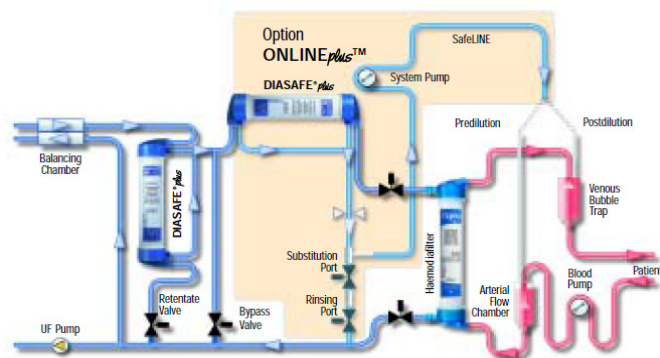


Fig. 2.3: circuito di produzione di dialisato e liquido di sostituzione durante una seduta di on-line HDF

riguardo al metodo di diluizione da preferire (pre *vs* post) [15, 16]. Nei prossimi paragrafi si indicheranno i vantaggi e gli svantaggi delle differenti modalità di diluizione disponibili per l'HDF.

2.2 Emodiafiltrazione con pre-diluzione

In questa modalità di HDF il liquido di diluizione è miscelato al sangue prima che questo entri nel filtro dializzatore (Fig.2.4), migliorandone le proprietà reologiche e abbassando a tal punto la probabilità di coagulazione del sangue, da richiedere dosi di eparina minori (o addirittura nulle) rispetto ad altri tipi di dialisi. Permette

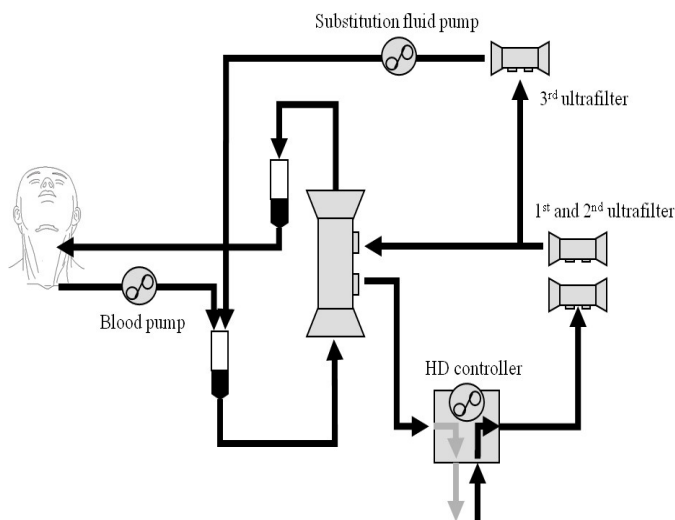


Fig. 2.4: circuito dell'on-line HDF tramite pre-diluzione. Il fluido di sostituzione sterile viene prodotto on line dal dialisato tramite tre filtri; questo viene in seguito reinfuso pre-filtro tramite l'utilizzo di una pompa.

inoltre di effettuare ultrafiltrazioni spinte anche in pazienti con portate ematiche (da fistola o da catetere centrale) basse o con alto ematocrito, senza che pressioni

di trans-membrana¹ (TMP) troppo alte riducano l'efficienza del dializzatore. Con la pre-diluizione si verifica una diminuzione dell'efficacia del fenomeno diffusivo. Questo accade perchè i soluti uremici nel dializzatore, essendo diluiti, presentano tra lato sangue e lato dialisato un gradiente di concentrazione (la forza motrice della diffusione) ridotto. Gli alti volumi di reifusione, nonostante la ridondanza dei sistemi filtranti, aumentano a lungo termine il rischio di contaminazione da sostanze nocive, potenzialmente presenti nei fluidi utilizzati per la miscela dialitica. Inoltre ad alti volumi di reinfusione seguono necessariamente alte portate di ultrafiltrazione² che potrebbero trascinare, oltre alle tossine uremiche, anche sostanze utili all'organismo come vitamine e oligoelementi [16].

2.3 Emodiafiltrazione con post-diluizione

In questa modalità di HDF il liquido di diluizione è miscelato al sangue dopo che questo è uscito dal filtro dializzatore e prima che venga reimmesso nel paziente. Essendo il sangue in ingresso al dializzatore non pre-diluito, il fenomeno diffusivo non subisce deterioramenti. Tuttavia, rispetto alla pre-diluizione, c'è il rischio che a causa dell'ultrafiltrazione comunque alta, l'emoconcentrazione lungo i capillari del filtro arrivi a tal punto da generare emolisi e coaguli. I coaguli, otturando i capillari del dializzatore, rendono necessario, a parità di ultrafiltrazione impostata, l'uso di una TMP più elevata, con conseguente aumento di probabilità di otturazione dei capillari superstiti. L'aumento della TMP può anche portare ad una perdita di proteine per adsorbimento sulla membrana del dializzatore (lato sangue), fenomeno che oltre a costituire un problema per il paziente (in quanto ne altera il bilancio osmotico) fa aumentare ulteriormente la TMP richiesta per la dialisi, creando così un circolo vizioso che termina con l'otturazione completa del filtro.

In uno studio effettuato da Meert et al. [17] si è fatta una comparazione fra diverse strategie convettive, analizzando l'efficacia della rimozione di soluti diversi. La valutazione è stata fatta basandosi su tre quantità: l'evoluzione temporale della concentrazione dei soluti in ingresso e uscita dal dializzatore (Fig.2.5), il rapporto di riduzione ($RR = (C_{start} - C_{end})/C_{end}$) dopo quattro ore dall'inizio del trattamento e la clearance istantanea dopo un'ora. La pre- e la post-diluizione sono state paragonate utilizzando la stessa portata di sangue, la stessa durata della seduta e stesso volume di liquido reinfuso e ultrafiltrato. Nei grafici in Fig.2.5 sono mostrati i valori di concentrazione di alcuni soluti all'uscita dal dializzatore. Se ci concentriamo sulle barre di color bianco, rappresentanti la post-diluizione, e quelle grigie, riferite alla pre-diluizione, si osserva come la capacità di estrazione sia sempre più elevata con la post-diluizione. Possiamo estendere questo risultato affermando che lo stesso accade anche per altre molecole a basso e a medio peso molecolare. Quindi sembra che la post-diluizione abbia, rispetto alla pre-diluizione, una capacità estrattiva maggiore.

2.4 Emodiafiltrazione a diluizione mista

Sebbene esistano sul mercato macchine dializzatrici in grado di eseguire cicli a diluizione mista (*mixed*-HDF), il loro uso non è ancora popolare; tuttavia in ambito sperimentale sono già state eseguite delle procedure dialitiche di *mixed*-HDF [10, 18, 19]. Questa nuova metodica nasce principalmente con lo scopo di raggruppare i vantaggi che la pre- e la post-diluizione possiedono singolarmente, contenendo però i rispettivi svantaggi.

¹per pressione di trans-membrana si intende la differenza di pressione a cavallo della membrana del dializzatore necessaria all'estrazione dei fluidi dal compartimento ematico.

²se così non fosse nell'organismo si avrebbe un accumulo di fluidi fino a 40 litri, incompatibile con la vita.

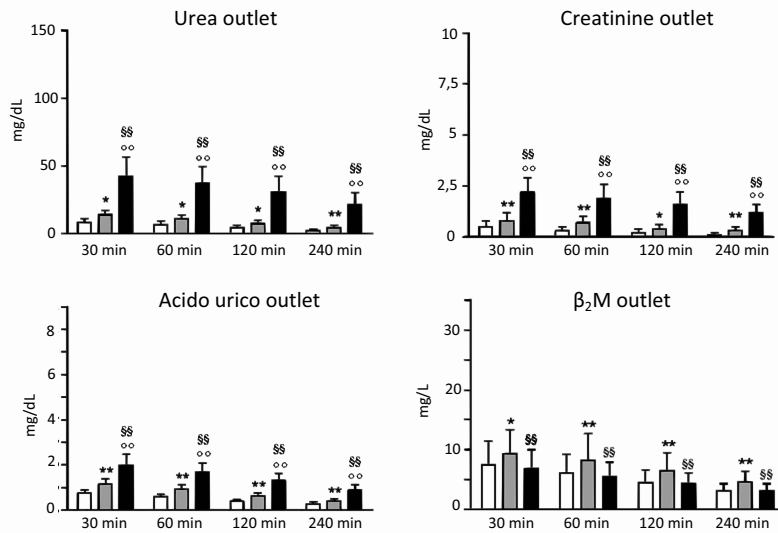


Fig. 2.5: Evoluzione delle concentrazioni in uscita dal dializzatore di alcuni soluti a differenti istanti di tempo. Barre bianche: Post-HDF; barre grigie: pre-HDF; barre nere: pre-HF. Nel caso della post-HDF il campionamento è stato eseguito a valle della diluizione. Simbolo singolo $P < 0,0172$; simbolo doppio $P < 0,001$. (*) pre-HDF vs post-HDF; (o) pre-HF vs post-HDF; (§) pre-HF vs pre-HDF.

Tra i criteri per stabilire in che modo la portata di diluizione totale debba essere divisa fra pre- e post-diluizione vi è quello di mantenere la frazione di filtrazione (FF , cioè il rapporto fra liquido filtrato dal dializzatore e liquido in ingresso) al più alto valore possibile (solitamente intorno a 0,5), di stabilire un range in cui contenere la TMP (solitamente tra 250 e 300 $mmHg$) e di implementare un sistema a feedback che dirotti una piccola quantità di fluido verso la pre-diluizione, nel caso la TMP superi il valore massimo, e verso la post-diluizione se scende a valori inferiori al limite impostato. Nel primo caso, l'aumento di pre-diluizione farà diminuire la FF e la TMP, riportandola nel range di ammissibilità; nel secondo caso, l'aumento di post-diluizione sarà fatto a spese della pre-diluizione, facendo aumentare così la FF e la TMP, riportandola nuovamente nel range di ammissibilità. Il meccanismo appena descritto è rappresentato in Fig.2.6. Riassumendo, questo sistema di controllo a diluizione mista nasce con l'intento di ottenere, durante la seduta, la più alta FF possibile, compatibilmente con la reologia locale, in modo da massimizzare la rimozione dei soluti. Gli studi effettuati su questa tipologia di HDF ne hanno mostrato le potenzialità e la fattibilità [10, 18, 19]. Nel lavoro presentato da Pedrini e De Cristofaro [19], si è studiato l'effetto della *mixed* HDF nel rimuovere soluti di medie dimensioni. Oltre a limitare il deterioramento delle caratteristiche idrauliche della membrana dializzatrice (Fig.2.7), si è mostrato che questa tecnologia sembra migliorare le capacità depurative dell'HDF sfruttando al massimo il meccanismo di rimozione dei soluti per convezione. Inoltre, l'alta biocompatibilità dovuta all'uso di membrane sintetiche e di dialisato e fluido di sostituzione ultra puro, tipiche dell'HDF in generale, combinato con la capacità particolarmente efficace della *mixed* HDF di rimuovere molecole sia a basso che a medio/alto peso molecolare, sembrano indicare la *mixed* HDF come un'efficace strategia in grado di evitare le complicazioni a lungo termine che caratterizzano le tradizionali metodologie dialitiche. Queste ricerche sono ancora agli albori e non

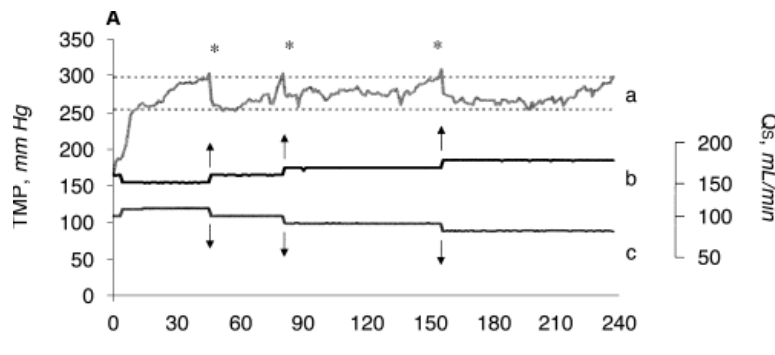


Fig. 2.6: Linea a: rappresentazione grafica dell'andamento della pressione transmembrana in una seduta di HDF. La linea b descrive l'andamento della portata infusa in pre diluizione, la c invece quella in post. Ogni qualvolta la TMP supera i valori soglia viene aumentata la portata di infusione in pre diluizione così da stabilizzare la pressione attorno a valori sicuri.

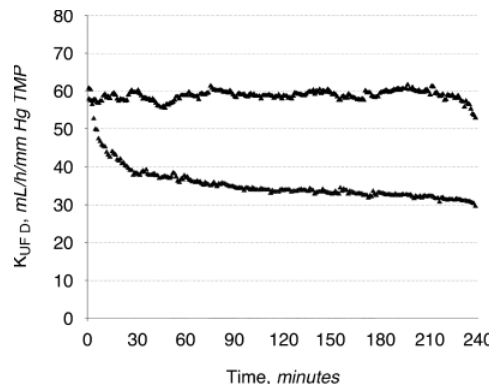


Fig. 2.7: Comportamento del coefficiente di ultrafiltrazione del dializzatore $K_{uf,D}$. Questo valore è calcolato dal rapporto della Q_{UF} e la pressione transmembrana media. Viene utilizzato per valutare le modifiche istantanee della permeabilità della membrana durante la seduta. La curva superiore rappresenta la seduta di mixed HDF mentre quella inferiore la seduta di post HDF.

c'è ancora stato alcuno studio multicentrico con un ampio campione statistico di pazienti per poter fare delle affermazioni certe su quale tecnica sia effettivamente la migliore. Bisognerà anche stabilire se l'uso di frazioni di filtrazione troppo spinte possano rimuovere, oltre alle tossine, anche soluti utili all'organismo e in questo caso reinfondere i soluti utili con metodiche di tipo autologo [20] oppure reinfondendoli con preparati chimici opportuni.

2.5 Stato dell'arte sulla modellistica HDF

In Ursino et al. [21] è descritto un modello matematico per l'emodiafiltrazione con rigenerazione on-line dell'ultrafiltrato (HFR). Si tratta di una tecnica analoga alla *paired filtration*³ ma, a differenza di questa, nell'HFR tutto l'ultrafiltrato in uscita

³nella *paired filtration* (§ 1.4.2) ci sono due filtri posti in serie: il primo è un emodiafiltro, cioè un filtro per HDF, e il secondo è un filtro per emodialisi. La diluizione avviene fra i due filtri.

dall'emodiafiltro è usato per diluire il sangue in ingresso all'emofiltro, così che non ci sia bisogno di ulteriori fluidi per la diluizione forniti dall'esterno. La vera ultrafiltrazione avviene nell'emofiltro, secondo le dinamiche dell'emodialisi. Il vantaggio di questa tecnica consiste nell'utilizzare un fluido di diluizione autologo, che viene rigenerato prima della sua reimmissione nel circuito attraverso il passaggio da una cartuccia adsorbente a base di resine polimeriche. Il modello adottato per questo tipo di emodiafiltrazione è lo stesso utilizzato dagli stessi autori per simulare sedute di emodialisi, con alcune modifiche tuttavia non riguardanti il filtro dializzatore. Al momento non è nota l'esistenza di alcun modello matematico per la simulazione dell'on-line HDF.

In questa tesi lo sviluppo della modellistica si basa su lavori precedenti riguardanti la simulazione di sedute di emodialisi convenzionali [6, 22, 23, 24, 25] modificati sia nelle equazioni per la simulazione del paziente, sia, soprattutto, nelle equazioni riguardante il filtro dializzatore. Le modifiche sono state effettuate tenendo conto della letteratura esistente sulla descrizione dei fenomeni indotti dalla dialisi sull'organismo umano [26, 27, 28] e della letteratura riguardante filtri dializzatori e membrane artificiali [29, 30, 31, 32, 33].

Parte II

Materiali e Metodi

Capitolo 3

Modellistica Matematica

*“Grazie al modello matematico posso dirvi
Come è nato l’universo. Non il Perché.”*

STEPHEN HAWKING (1942 – vivente)

Nella descrizione di una gran parte di fenomeni nelle scienze applicate si fa uso di modelli matematici. Le scienze applicate non sono solo quelle classiche; oltre alla fisica e alla chimica, la modellistica matematica è entrata pesantemente in discipline complesse come la finanza, la biologia, la medicina. Per “modello” intendiamo un insieme di equazioni in grado di catturare le caratteristiche della situazione in esame e poi di descriverne, prevederne e controllarne lo sviluppo.

Un modello matematico è in generale costruito a partire da due mattoni principali [34]: *leggi generali* e *relazioni costitutive*. Le leggi generali sono quelle della chimica e della fisica e si presentano come leggi di conservazione o di bilancio (della massa, dell’energia, del momento . . .). Le relazioni costitutive sono invece di natura sperimentale e dipendono dalle caratteristiche contingenti del fenomeno in esame. Ne sono esempi la legge di Fourier per il flusso di calore e quella di Fick per la diffusione di una sostanza o la legge di Ohm per la corrente elettrica. Il risultato della combinazione dei due mattoni è di solito un’equazione o un sistema di equazioni differenziali.

3.1 La scienza (e l’arte) della modellistica

La modellistica matematica è un linguaggio usato per descrivere in maniera disambigua, concisa e consistente un dato fenomeno [1]. Disambigua perché consente a differenti ricercatori di usare e testare lo stesso modello senza essere confusi riguardo alle ipotesi usate nel modello. Concisa perché le equazioni impiegate nel modello essendo basate, almeno in larga parte, su una conoscenza pregressa del fenomeno in esame, sono utili per archiviare in forma compatta tali informazioni. Infine la consistenza del modello deriva dalle regole operative proprie della matematica. Il rovescio della medaglia consiste nel fatto che le ipotesi insite nel modello sono, appunto, solo ipotesi. Esse rappresentano ciò che si ritiene essere alla base di un dato fenomeno, e spesso si tratta di ipotesi incorrette o troppo semplicistiche. Di conseguenza il comportamento del modello solitamente differisce dal comportamento della realtà che si vuole studiare. Ciononostante la potenza della modellistica matematica sta nell’uso del metodo scientifico: la discrepanza fra *previsioni* e *osservazioni* può essere usata come *feedback* per stabilire l’inadeguatezza di una o più

ipotesi. Ciò consente di tornare alla fase di sviluppo del modello, modificarne le ipotesi, e osservarne di nuovo il comportamento. Questo altalenarsi di *deduzione* e *abduzione*¹ continua finché non si sia soddisfatti di ciò che il modello è in grado di spiegare definendolo, a questo punto, un “buon” modello. In seguito alla fase appena descritta, detta di *validazione*², è possibile usare il modello per prevedere l’esito sperimentale di un fenomeno sotto condizioni non ancora indagate. Tali previsioni potranno servire da guida per la pianificazione e progettazione di futuri esperimenti.

3.2 Ottimizzazione di un modello

L’ottimizzazione è una parte integrante del processo di validazione. Consiste nello stimare, qualora non fossero già noti dalla letteratura o da precedenti ottimizzazioni, i parametri del modello in modo che questi minimizzino (o massimizzino) una qualche *criterion function*² che indichi il grado di scarto (o corrispondenza) fra modello e realtà. La *criterion function* più usata è la somma degli scarti quadratici fra output reale e output del modello, cioè:

$$J = \sum_n (y(n) - y_{pred}(n))^2 = \sum_n e(n)^2$$

Qui n sono gli istanti temporali scelti per il calcolo dei valori; si tratta degli istanti di tempo in cui sono state effettuate le misure reali sul sistema fisiologico. Con la *criterion function* così definita l’obiettivo dell’ottimizzazione è trovare la combinazione dei valori dei parametri che la minimizzano. In figura Fig.3.1 è mostrato lo schema del processo di ottimizzazione. Bisogna notare che se il modello fornisse una descrizione accurata della dinamica del sistema fisiologico, allora gli errori residui $e(n)$ dovrebbero essere dello stesso ordine di grandezza degli errori di misura. Dopo quella della *criterion function* un’altra scelta importante è quella dell’algoritmo di ottimizzazione. La classe di algoritmi più comunemente usata è quella della *discesa del gradiente*: ipotizzando di voler stimare due parametri, J è una funzione dei parametri θ_1 e θ_2 , e il metodo del gradiente consiste nell’inizializzare i parametri con un valore arbitrario all’interno del loro range di validità, identificato dal punto P nello spazio tridimensionale generato dagli assi cartesiani θ_1 , θ_2 e J . Successivamente si calcola il gradiente di J nel punto P e ci si muove nella direzione discendente. La dimensione dello *step* di discesa differisce a seconda del particolare metodo utilizzato.

I metodi del gradiente sono i più dispendiosi dal punto di vista computazionale perché, per ogni step iterativo, richiedono il calcolo delle derivate di J rispetto ad ogni parametro; inoltre, nel caso in cui la superficie J sia irregolare, tendono a restituire come risultato un falso minimo globale. Un’alternativa più efficiente, che non richiede alcun calcolo di derivate, è l’algoritmo del *simplexso* di Nelder-Mead [35]. Per un problema a due parametri il *simplexso* prende la forma di un triangolo, mentre per un problema a tre parametri quella di un tetraedro. La funzione che in Matlab implementa il metodo del *simplexso* è `fminsearch`. Con questa funzione non è però possibile stabilire dei limiti al dominio di ricerca dei parametri. Tali limiti sono indispensabili per contenere i parametri di riferimento all’interno di un range

¹la *deduzione* è un tipo di ragionamento che opera mediante ipotesi esatte; è un ragionamento certo, nel senso che la conclusione segue necessariamente dalle ipotesi, ma non è informativo, non aggiunge nessuna nuova informazione a quella che già era implicita nelle ipotesi; l’*abduzione* invece è un ragionamento col quale, date certe conclusioni, si tenta di trovare delle possibili ipotesi che le spieghino; non c’è garanzia che le ipotesi trovate siano quelle giuste, ma l’abduzione «è l’unico tipo di ragionamento che genera una nuova idea» ed è «il primo passo del ragionamento scientifico». (C. S. Peirce. *Opere*. Bompiani, 2003).

²per *criterion function* si intende una funzione $J : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}$, di solito quadratica, che prende in ingresso gli n parametri da ottimizzare e dà in uscita un valore reale.

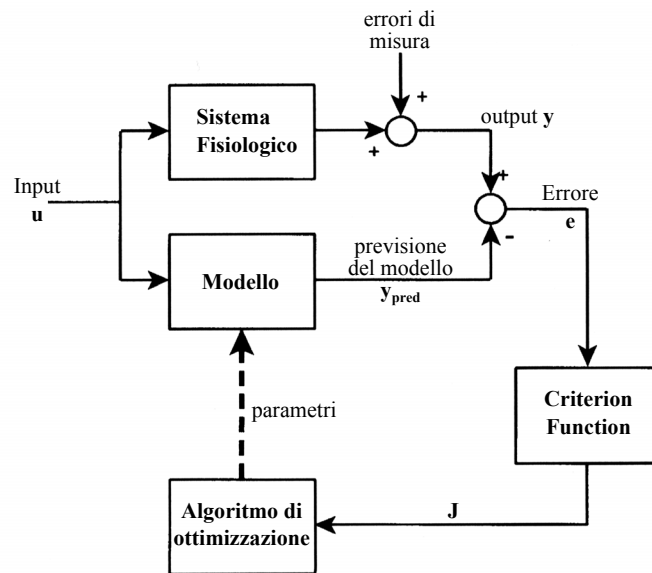


Fig. 3.1: Diagramma schematico del processo di ottimizzazione di un modello.

fisiologico accettabile. Per questo motivo si è scelto di usare la funzione `fmincon`, che richiede come ingressi la criterion function da minimizzare, il punto di partenza e il dominio di ricerca del parametro da ottimizzare. Tale funzione, infatti, permette di risolvere problemi di ottimizzazione non lineare vincolata, utilizzando un metodo di programmazione quadratica sequenziale (SQP). Per informazioni più dettagliate si consulti la documentazione di Matlab.

Capitolo 4

Relazioni Costitutive

“Finché le leggi della matematica si riferiscono alla realtà, non sono certe, e finché sono certe non si riferiscono alla realtà.”

ALBERT EINSTEIN (1879 – 1955)

Col termine *relazioni costitutive* si intendono quelle relazioni matematiche sperimentali che, attingendo ai concetti della fisica classica, servono per descrivere macroscopicamente e in maniera schematica i fenomeni naturali. In questo capitolo saranno trattate tutte le relazioni utili alla costruzione di un modello per la descrizione dell'interazione fra organismo umano e macchina dializzatrice.

4.1 Proprietà generalizzate dei sistemi

I modelli relativi a sistemi anche molto diversi fra loro hanno proprietà che possono essere caratterizzate dalla stessa espressione matematica. Ognuno di noi è familiare col concetto della resistenza elettrica (R) definita dalla legge di Ohm come:

$$V = RI$$

dove V è il voltaggio, o differenza di potenziale, ai capi del resistore e I rappresenta la corrente che fluisce attraverso di esso. Notate che V è una variabile “ai capi” e rappresenta una misura della *forza* elettrica applicata; I è una variabile “attraverso” e rappresenta una misura di *flusso* di carica. Se ora definiamo con ψ una variabile di forza generalizzata e con ζ una variabile di flusso generalizzato, la legge di Ohm diventa:

$$\psi = R\zeta$$

in cui R rappresenta ora una resistenza generalizzata. La Fig. 4.1 mostra questo concetto di resistenza generalizzata applicato a diversi tipi di sistemi. Nello smorzatore meccanico, quando ai suoi capi è applicata una forza F , si ha un allungamento con una velocità v proporzionale a F . Se facciamo corrispondere F e v rispettivamente a ψ e ζ otteniamo nuovamente la legge di Ohm generalizzata. La costante di proporzionalità R_m , che è correlata alla viscosità del fluido all'interno dello smorzatore, fornisce una misura della resistenza meccanica alla quale ci si riferisce col termine *coefficiente di smorzamento*. In fluidodinamica la legge di Ohm generalizzata assume la forma della legge di Poiseuille, la quale afferma che il flusso volumetrico di fluido Q attraverso un condotto rigido è proporzionale alla differenza di pressione

ΔP ai capi del tubo; la resistenza fluidodinamica R_f è direttamente proporzionale alla viscosità del fluido e alla lunghezza del condotto e inversamente proporzionale alla potenza quarta del raggio. Nella legge di trasmissione del calore di Fourier il flusso di calore Q condotto attraverso un dato materiale è direttamente proporzionale alla differenza di temperatura ΔT ai capi della stessa. Si può mostrare che la resistenza termica R_t è in relazione con l'inverso della *conduttanza termica* del materiale. Infine, nei sistemi chimici il flusso ϕ di un soluto attraverso una membrana permeabile è proporzionale alla differenza di concentrazione ΔC del soluto fra i capi della membrana. La resistenza al flusso chimico R_c è inversamente proporzionale alla *diffusività*.

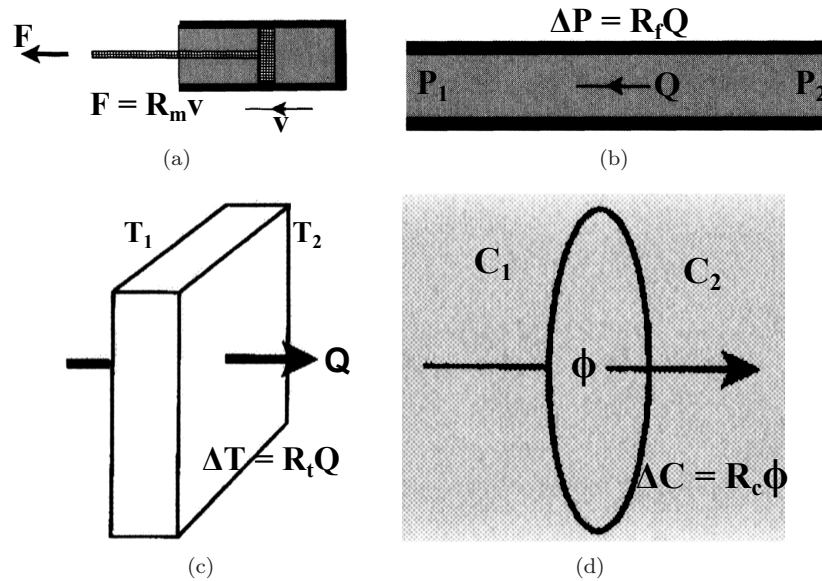


Fig. 4.1: Legge di Ohm generalizzata nel caso di un sistema (a) meccanico, (b) fluidodinamico, (c) termodinamico e (d) chimico.

La seconda proprietà generalizzata dei sistemi è quella dell'*accumulo*, che nei sistemi elettrici prende la forma della *capacitanza* definita come la quantità di carica elettrica q accumulata nel tempo per unità di voltaggio ai capi del condensatore, cioè:

$$C = \frac{q}{V} \quad \text{con} \quad q = \int_0^t I dt$$

Riscrivendo il risultato in forma generalizzata si ottiene la seguente espressione:

$$\psi = \frac{1}{C} \int_0^t \zeta$$

Nei sistemi meccanici il termine di accumulo è chiamato *compliance*. Nel caso di una molla elastica, per una data forza applicata, la compliance meccanica determina il grado con cui la molla sarà estesa o compressa. Questa proprietà è anche inversamente correlata con la *rigidità*, o modulo elastico, della molla. Più la molla è compliant e più si estenderà sotto l'azione di una forza. Analogamente, in fluidodinamica, la compliance determina quanto un volume compartimentato si contrarrà o espanderà a seguito di una variazione unitaria di pressione transmurale. Nei sistemi termodinamici il termine di accumulo si identifica nella capacità termica, che dipende dalle dimensioni e dal calore specifico del mezzo di trasmissione. Infine, nei sistemi chimici, il termine di accumulo è rappresentato dal volume di solvente in cui

una specie chimica è disciolta; cioè per un dato volume, la massa totale della specie chimica presente è proporzionale alla sua concentrazione, proprietà che di fatto è usata per la definizione di concentrazione.

L'ultima proprietà generalizzata dei sistemi è l'*inerzanza*, usata per esprimere l'accumulo di *energia cinetica*. Nei sistemi elettrici è chiamata *induttanza* (L), ed è definita come la tensione richiesta per produrre una variazione unitaria del flusso di corrente:

$$V = L \frac{dI}{dt}$$

Sostituendo V e I con le rispettive variabili generalizzate si ottiene:

$$\psi = L \frac{d\zeta}{dt}$$

Nel contesto della meccanica ψ è la forza e ζ la velocità, così che l'equazione appena scritta altro non è che la seconda legge della dinamica di Newton: $F = m \cdot a$. In questo caso quindi l'inerzanza è semplicemente la massa inerziale del sistema. L'inerzanza è presente anche nei sistemi fluidodinamici in cui l'accelerazione del fluido è proporzionale alla variazione istantanea di pressione applicata. Per quanto riguarda i sistemi termici e chimici non c'è alcun elemento che rappresenti l'inerzanza: in questi sistemi infatti non è possibile accumulare energia cinetica [1].

4.2 Le membrane

Dal punto di vista geometrico le membrane, siano esse biologiche o artificiali, possono essere schematizzate come pareti aventi spessore Δx e fori cilindrici di raggio R (Fig. 4.2a). Indicando con V il *volume*, è possibile definire un *coefficiente di partizione* nel modo seguente:

$$\alpha = \frac{V_{pori}}{V_{membrana}} = \frac{N_p \pi R^2 \Delta x}{A \Delta x} = n \pi R^2 \quad (4.1)$$

in cui N_p è il numero dei pori, A è l'area della superficie della membrana e $n = N_p/A$ è la densità superficiale dei pori. Si noti che per $\alpha = 0$ la membrana è massiccia e priva di fori, mentre $\alpha = 1$ identifica una membrana virtuale, praticamente inesistente. Il coefficiente di partizione rappresenta quindi la frazione di *vuoto* della membrana.

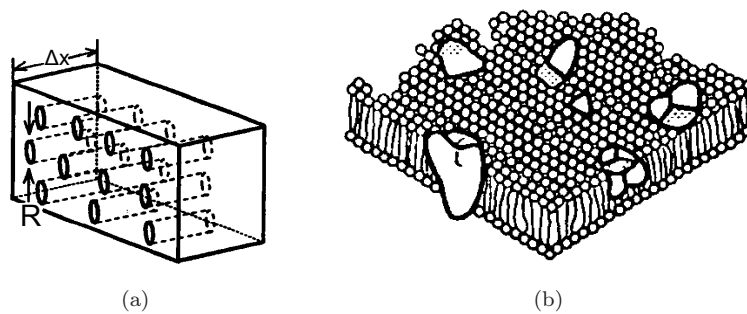


Fig. 4.2: (a) Caratteristiche geometriche di una membrana. I fori hanno sezione media pari a πR^2 mentre Δx rappresenta lo spessore medio della membrana. (b) Esempio di membrana biologica: doppio strato fosfolipidico con proteine di transmembrana come pori.

Le membrane biologiche (Fig. 4.2b) consentono il passaggio di sostanze tramite due meccanismi: fisici, o *passivi*, e biochimici, o *attivi*. Fra i meccanismi passivi vi

sono la *diffusione*, la *convezione* e l'*osmosi* e si tratta di fenomeni che avvengono spontaneamente fino al raggiungimento dell'equilibrio termodinamico. I meccanismi attivi richiedono invece l'uso di energia, solitamente fornita dall'idrolisi dell'ATP, in quanto si tratta di fenomeni di trasporto contro gradiente che tendono in generale a far diminuire lo stato entropico del sistema.

4.3 Diffusione

Per diffusione si intende il *trasporto di materia dovuto al moto molecolare del mezzo in cui essa è immersa* [34]. Gli atomi e le molecole di cui sono composti i fluidi sono in continuo movimento casuale: questo fenomeno è chiamato *agitazione termica* perché dipende dalla temperatura. Dalla termodinamica statistica si sa che l'energia cinetica di una particella di massa m e velocità v dipende dalla temperatura T proporzionalmente alla costante di Boltzmann¹ k_B secondo la relazione:

$$E_{cin} = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{3}{2}k_B T$$

Come si può osservare la velocità delle molecole aumenta all'aumentare della temperatura e, in un mezzo a temperatura costante, è inversamente proporzionale al loro peso molecolare. Bisogna fare attenzione a non confondere questa velocità, che è di tipo vibrazionale, con la velocità media di percorrenza dello spazio, o velocità di diffusione; quest'ultima infatti, a causa dei continui urti e deviazioni che la molecola subisce, è molto più piccola della velocità vibrazionale dovuta all'agitazione termica. A titolo esemplificativo, in acqua a $20^\circ C$ la molecola di ossigeno ha una velocità di diffusione di circa $1mm/s$ a fronte di una velocità vibrazionale di circa $5m/s$ [36].

Il fenomeno della *diffusione libera* si ha quando il soluto diffonde liberamente a seguito dell'agitazione termica; questo fenomeno è descritto dalla legge di Fick:

$$\phi_d = -D \frac{\Delta C}{\Delta x} \quad (4.2)$$

in cui ϕ_d è il flusso diffusivo di soluto attraverso la membrana, reale o virtuale, di spessore Δx ; D è la diffusività del mezzo in cui avviene la diffusione. Il coefficiente D dipende principalmente dalla temperatura assoluta, ma anche dal tipo di urti che si instaurano tra molecole di soluto e molecole di solvente, e quindi dalle caratteristiche chimico-fisiche delle specie interagenti. La più semplice relazione per D è la formula di *Einstein-Stokes* valida per particelle che si muovono in un mezzo viscoso:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

dove r è il raggio efficace del soluto e η la viscosità del solvente. Il coefficiente di diffusione attraverso una membrana può essere messo in relazione con quello libero considerando che la molecola di raggio efficace r , per attraversare la membrana, deve introdursi in uno dei suoi pori di raggio R senza urtarne il bordo (altrimenti rimbalzerebbe tornando indietro). Questo fa sì che, come mostra la Fig. 4.3a, l'area efficace di ingresso nel poro non sia πR^2 ma:

$$\pi(R-r)^2 = \pi R^2 \left(1 - \frac{r}{R}\right)^2 = \pi R^2 \varepsilon_1$$

dove il coefficiente ε_1 è il fattore correttivo che tiene conto della geometria del poro e della molecola. Un'ulteriore limitazione alla diffusione è data dall'urto delle molecole

¹ $k_B = 1.38 \cdot 10^{-23} J/K$

con le pareti interne del poro (Fig. 4.3b) che riduce ancora il coefficiente D di un fattore ε_2 anche esso funzione della geometria degli urti². Ambedue i fattori ε_1 e ε_2 possono essere inglobati in un unico fattore ε detto di *hindrance*³ per giungere alla relazione:

$$D_p = \varepsilon_1 \varepsilon_2 D = \varepsilon D$$

Il coefficiente D_p così ricavato è il coefficiente di diffusione libera attraverso il singolo

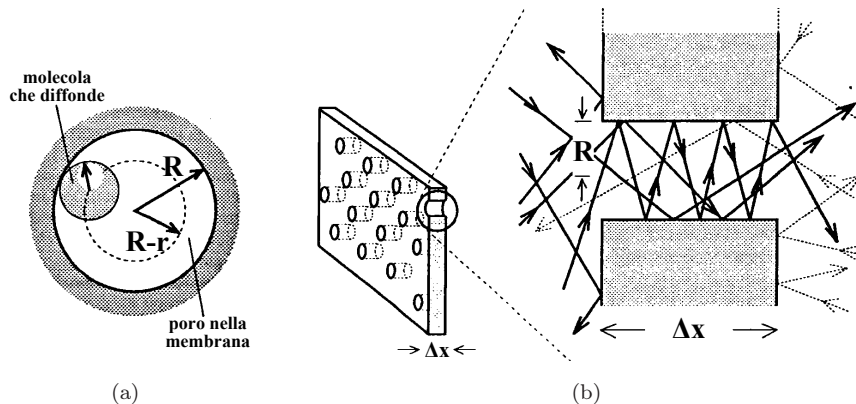


Fig. 4.3: (a) Il centro di una molecola sferica di raggio r , perché questa possa penetrare nel poro di raggio R , deve trovarsi all'interno della circonferenza tratteggiata di raggio $(R-r)$. (b) Una volta che la molecola è penetrata nel poro urta le pareti interne per cui le proprietà diffusive all'interno della membrana risultano differenti da quelle all'esterno.

poro della membrana, che, a causa della geometria di pori e molecole coinvolte nella diffusione, è minore di quello di diffusione libera nel solvente. Se ora si vuole ricavare il coefficiente D_m di diffusione dell'intera membrana a partire da quella del singolo poro, è necessario considerare la frazione di volume effettivo α che le molecole hanno a disposizione per diffondere. Effettuando le sostituzioni opportune, l'equazione 4.2 diventa:

$$\phi_d = -\varepsilon D \frac{\alpha \Delta C}{\Delta x} = -D_p \frac{\alpha \Delta C}{\Delta x} = -D_m \frac{\Delta C}{\Delta x} = -P_m \Delta C \quad (4.3)$$

in cui $D_m = \alpha D_p$, e $P_m = D_m / \Delta x$ è chiamato coefficiente di *permeabilità* della membrana. Le unità di misura di ϕ_d sono $[mol \cdot s^{-1}]$ e il pedice d indica che il trasporto è di tipo diffusivo.

4.4 Effetto Donnan

Quando una membrana è permeabile a uno o più soluti, due soluzioni a concentrazioni diverse separate da tale membrana tenderanno, per il fenomeno della diffusione, a raggiungere lo stato stazionario in cui il gradiente di concentrazione di ogni soluto si annulla. Tuttavia, in un sistema in cui due soluzioni contenenti elettroliti sono separate da una membrana permeabile alla maggior parte degli ioni, ma *im-permeabile ad almeno uno di essi*, si nota che le concentrazioni degli ioni permeanti (s), all'equilibrio, hanno gradiente non nullo ai capi della membrana, cioè:

$$C_{2,eq}^{(s)} = \alpha \cdot C_{1,eq}^{(s)} \quad (4.4)$$

²da relazioni sperimentali [37] si ricava che $\varepsilon_2 = 1 - 2.1 \cdot R/r + 2.09 \cdot (R/r)^3 - 0.95 \cdot (R/r)^5$.

³in termini statistici, il fattore di *hindrance* rappresenta la probabilità che una molecola attraversi il poro della membrana.

Questo fenomeno è dovuto all'effetto *Donnan* [38] e α è chiamato *coefficiente di Donnan*. C_1 è il compartimento in cui è presente la specie non diffondibile attraverso la membrana. Nella trattazione di seguito presentata la causa di questo effetto sono le proteine.

L'effetto Donnan, chiamato anche di *Gibson-Donnan*, è basato sul mantenimento dell'elettroneutralità nei due compartimenti separati dalla membrana. Si prenda come esempio la membrana capillare, che separa il compartimento sangue dall'interstizio o, analogamente, la membrana del dializzatore che separa il sangue dal liquido dializzante: si tratta di membrane praticamente impermeabili alle proteine. Nel compartimento sangue le proteine, cariche negativamente, tenderanno per interazione elettrostatica a trattenere i cationi e a respingere gli anioni, ostacolandone e facilitandone rispettivamente la diffusione. Di conseguenza, il fattore di Donnan α , definito per ogni soluto dall'equazione 4.4, sarà minore di uno per i cationi e maggiore di uno per gli anioni [25].

4.5 Trasporto Convettivo

Se ai capi dei pori è applicata una differenza di pressione idraulica ΔP , si avrà, come descritto dalla legge di Poiseuille, un flusso volumetrico Q proporzionale alla pressione idraulica esercitata, cioè:

$$Q = -N_p \frac{\pi R^4}{8\eta \Delta x} \Delta P = -N_p \frac{1}{R_p} \Delta P = -L_m \Delta P \quad (4.5)$$

dove R è il raggio del poro, η la viscosità del fluido, Δx la lunghezza del poro e N_p il numero totale di pori nella membrana. Con $R_p = (8\eta \Delta x)/(\pi R^4)$ si è indicata la resistenza del poro calcolata secondo la formula di Poiseuille mentre la grandezza $L_m = N_p/R_p$ prende il nome di *coefficiente di filtrazione* della membrana e si misura in $[m^3 \cdot s^{-1} \cdot mmHg^{-1}]$.

Il numero di moli di soluto che attraversano la membrana trasportati dal flusso Q è dato dal prodotto $Q \cdot C_M$ dove C_M è la concentrazione media di soluto all'interno della membrana. Al posto di C_M possiamo scrivere il valore medio fra le concentrazioni ai capi della membrana⁴ corretto per il coefficiente di partizione α . Queste considerazioni portano ad affermare che il soluto trasportato per convezione è:

$$\phi_t = -\varepsilon C_M Q = -\varepsilon \alpha \frac{C_1 + C_2}{2} Q \quad (4.6)$$

in cui si è introdotto il coefficiente ε per le stesse argomentazioni fatte in § 4.3. Il termine di flusso ϕ_t è misurato in $[mol \cdot s^{-1}]$ e il pedice t indica che il trasporto avviene per convezione. È da precisare che in presenza simultanea di diffusione e convezione si ha interazione *competitiva*: il soluto trasportato per convezione non sarà più a disposizione per essere trasportato col meccanismo diffusivo, rendendo quindi quest'ultimo meno efficiente di quanto lo sarebbe in assenza di convezione.

4.6 Osmosi

Consideriamo una membrana posta tra due compartimenti contenenti l'uno una soluzione e l'altro un puro solvente, ad esempio acqua, come schematizzato in

⁴in ragione dell'ipotesi che la concentrazione del soluto varia in modo lineare attraversando la membrana, il valor medio integrale è pari alla media fra i valori agli estremi e cioè $C_M = 1/\Delta x \int_a^b C(x) dx = (C_a + C_b)/2$

Fig. 4.4a. Se i pori della membrana hanno dimensioni tali da lasciar passare il

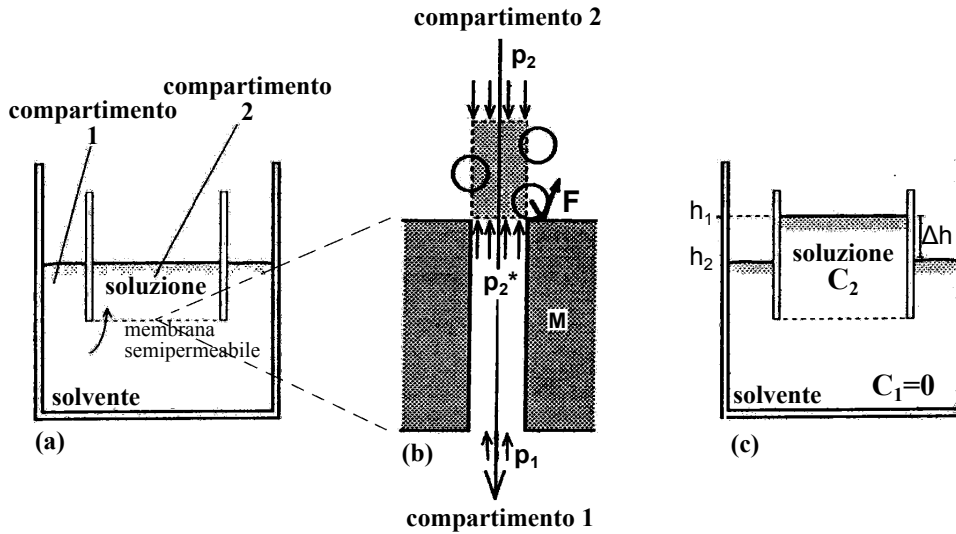


Fig. 4.4: Il fenomeno dell'osmosi: (a) i due compartimenti sono a contatto tramite una membrana semipermeabile attraverso cui fluisce il solvente; (b) le molecole di soluto rimbalzano sulla membrana provocando una diminuzione di pressione all'imbocco del poro; (c) il livello del compartimento del soluto si alza fino a che la pressione idrostatica equilibra quella osmotica.

solvente ma non il soluto, questo non potrà diffondere da un compartimento all'altro e la membrana si dirà *semipermeabile* al soluto. Nonostante non agisca alcuna pressione idrostatica, dopo un po' di tempo si osserva un innalzamento del livello della soluzione fino a una nuova posizione di equilibrio (Fig. 4.4c). L'innalzamento è tanto maggiore quanto più elevata è la concentrazione del soluto nel compartimento 2. Questo fenomeno è chiamato *osmosi*. Possiamo comprendere l'osmosi facendo alcune considerazioni fenomenologiche sulle forze che agiscono sulle molecole. Inizialmente le pressioni idrauliche ai due lati della membrana si equivalgono. Le molecole di soluto nel compartimento 2 non riescono a passare la membrana perché hanno dimensione maggiore di quella dei pori, e quindi rimbalzano sul bordo dei pori muovendosi in verso opposto a quello del gradiente di concentrazione. In *prossimità* dei pori questo moto unidirezionale delle molecole di soluto (Fig. 4.4b) trascina con se, per attrito viscoso, le molecole di solvente dall'interno dei pori verso il compartimento 2, creando all'interno dei pori una pressione idraulica $p_2^* < p_2$. Quindi ora, dato che $p_1 = p_2 > p_2^*$, si crea un flusso di solvente dal compartimento 1 verso il compartimento 2. Questo flusso di solvente si evidenzia tramite una "pressione efficace" poiché, nella situazione finale, i suoi effetti sono bilanciati dalla pressione idrostatica determinata dal dislivello Δh . A questa pressione di richiamo di solvente, che ha *vettorialmente*⁵ lo stesso verso del gradiente di concentrazione del soluto, si dà il nome di *pressione osmotica* e si indica con la lettera Π . Per soluzioni diluite vale la seguente relazione, analoga a quella per i gas perfetti, stabilita da *Van't Hoff*:

$$\Pi V = \delta n RT \quad (4.7)$$

⁵è importante ricordarsi di ciò nel momento in cui si fanno i bilanci pressori come nell'equazione 4.8: la pressione idraulica è una pressione di *spinta* e il fluido si muove verso le pressioni idrauliche minori; la pressione osmotica è una pressione di *risucchio* e il fluido si muove verso le pressioni osmotiche maggiori.

dove δ è il coefficiente di dissociazione elettrolitica, pari a uno se il soluto non si dissocia⁶, n è il numero di moli del soluto, R è la costante dei gas perfetti e T la temperatura assoluta del sistema. La pressione osmotica complessiva di una soluzione contenente più soluti è data dalla somma delle pressioni osmotiche parziali Π_i dei vari soluti presenti:

$$\Pi_{tot} = \sum_i \Pi_i = \frac{RT}{V} \sum_i \delta_i n_i$$

Trattandosi di una pressione idraulica *efficace*, la pressione osmotica va sommata algebricamente a quella idrostatica per calcolare il flusso effettivo di solvente attraverso la membrana. Considerando inoltre che la selettività di una membrana nei confronti di un soluto dipende dalla geometria di pori e molecole bisogna “pesare” il contributo osmotico per questa selettività: poiché il fattore di *hindrance* ε rappresenta la *probabilità* del passaggio di una molecola attraverso il poro, il complemento a uno di ε indica la probabilità che la molecola *non* passi il poro; ora, siccome una molecola che è respinta dalla membrana contribuisce all’effetto osmotico, il peso da utilizzare per la pressione osmotica è il fattore $z = (1 - \varepsilon)$ chiamato *fattore di riflessione*. Ricapitolando, l’equazione 4.5 che rappresenta il flusso volumetrico di solvente che attraversa la membrana sotto la sola spinta idrostatica, corretta per l’effetto osmotico diventa:

$$Q = -L_m(\Delta P - z\Delta\Pi) \quad (4.8)$$

4.7 Pressione Oncotica

La parete dei capillari del sangue è costituita da tessuto epiteliale con spessore di qualche μm . Tale parete separa il sangue dal liquido interstiziale e si comporta come una membrana semipermeabile: è infatti permeabile agli ioni e in generale ai *crystalloidi*, e impermeabile ai *colloidi* come le proteine.⁷ Fra il plasma nei capillari e il liquido interstiziale esiste pertanto una differenza di pressione osmotica determinata dalla presenza delle proteine nel plasma e dalla loro (quasi) assenza nell’interstizio. La pressione osmotica derivante dalla sola componente proteica viene chiamata pressione *oncotica*, oppure *colloido-osmotica*.

Affinché vi sia equilibrio dinamico tra plasma e liquido interstiziale, è necessario che la differenza di pressione osmotica tra i due compartimenti sia annullata da una differenza di pressione idraulica. La situazione, basata sull’*ipotesi di Starling*, è illustrata in Fig. 4.5. In media non vi è flusso netto di fluidi in entrata o in uscita dal capillare, ma poiché la pressione attraverso la parete non è costante lungo il capillare, vi sarà un flusso localizzato di fluidi in uscita dal capillare all’estremità arteriosa e in ingresso al capillare all’estremità venosa, tale però da annullare il flusso complessivo lungo tutto il capillare. In questo modo si verifica una *microcircolazione*⁸ attorno al capillare, consentendo il trasferimento di sostanze nutritive verso i tessuti e il richiamo di sostanze di scarto dai tessuti al sangue. Se si provasse a calcolare la pressione oncotica con la formula di *Van’t Hoff*

$$\Pi = \delta \frac{nRT}{V}$$

⁶per una mole di $NaCl$, $\delta = 2$ perché questo composto, in soluzione, si dissocia in due moli: una mole di Na^+ e una mole di Cl^- .

⁷i *crystalloidi* sono sostanze facilmente diffondibili attraverso la membrana endoteliale e comprendono ioni e composti a basso peso molecolare come sodio e glucosio; i *colloidi* sono sostanze non solvate e ad alto peso molecolare non diffondibili attraverso l’endotelio.

⁸un’alterazione della permeabilità della membrana, provocata ad esempio da uno stato infiammatorio, può causare uno sbilanciamento della microcircolazione con conseguente *edema*.

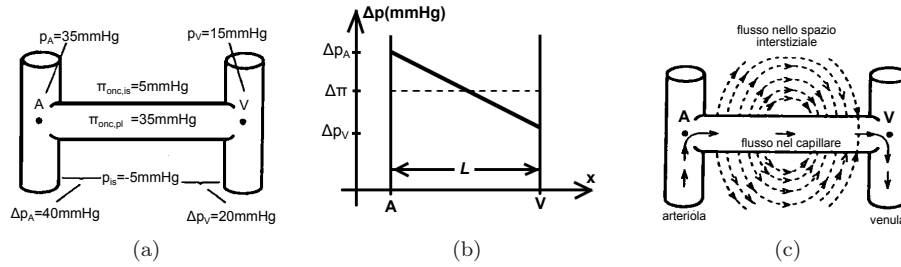


Fig. 4.5: Ipotesi di *Starling*: lungo il capillare la pressione idraulica diminuisce mentre quella osmotica dovuta alle proteine resta costante in modo che si verifichi una microcircolazione locale a flusso netto nullo.

si troverebbero dei valori molto diversi rispetto a quelli fisiologici. Il divario è dovuto al fatto che le proteine non sono neutre ma, a pH fisiologico, si trovano in forma anionica e tendono a influenzare la diffusibilità, e quindi l'effetto osmotico, delle altre molecole elettricamente cariche. Per calcolare la pressione oncotica, sia nel compartimento plasmatico che in quello interstiziale, si è utilizzata la seguente equazione di *Landis-Pappenheimer* [39, 40]:

$$\Pi_{onc} = 2.1 \cdot T_p + 0.16 \cdot T_p^2 + 0.009 \cdot T_p^3 \quad (4.9)$$

che restituisce valori in $mmHg$ se la concentrazione delle proteine totali T_p è espressa in gr/dL . Considerando che all'equilibrio le proteine totali plasmatiche sono circa pari a $7 gr/dL$ e che le proteine interstiziali sono un sesto di quelle plasmatiche [2], la differenza di pressione osmotica fra plasma e interstizio risulta pari a circa:

$$\Pi_{onc}(7) - \Pi_{onc}(7/6) = 23 mmHg$$

4.8 Trasporto attraverso la membrana cellulare

La struttura della membrana cellulare, illustrata in Fig. 4.2b, consiste in un doppio strato fosfolipidico idrofobico che mantiene l'ambiente cellulare ben compartimentato da quello extracellulare. Macromolecole proteiche che attraversano tale membrana fungono da pori. Il passaggio di ioni e molecole attraverso la membrana cellulare avviene secondo uno dei due meccanismi fondamentali, rappresentati dalla *diffusione* e dal *trasporto attivo*. Della diffusione, che è un movimento spontaneo delle molecole finalizzato ad annullare il proprio gradiente di concentrazione, si è già discusso in § 4.3. Verrà ora descritto il meccanismo del trasporto attivo.

4.8.1 Trasporto attivo

Il processo di diffusione non permette di spiegare perché alcune sostanze presentano *stabilmente* alte differenze di concentrazione fra liquido extra- e intra-cellulare, come accade ad esempio per il sodio e il potassio. Poiché il processo di diffusione tenderebbe ad equilibrare le concentrazioni ai lati della membrana è plausibile che esista un meccanismo di trasporto contro-gradiente che, in condizioni stazionarie, annulli l'effetto della diffusione. Questo meccanismo è chiamato *trasporto attivo* [2], e a differenza di quello passivo (diffusivo) impiega dell'energia, solitamente fornita dall'idrolisi dell'ATP.

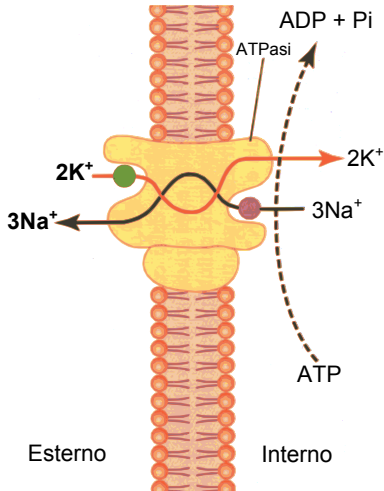


Fig. 4.6: Na-K ATPasi.

l'esplosione. Il controllo osmotico è esercitato proprio dalla Na^+K^+ ATP-asi perchè il rapporto *tre a due* di scambio fra gli ioni sodio e potassio equivale a una perdita netta di ioni da parte della cellula, che limita il richiamo osmotico di acqua verso l'interno. Quando per vari motivi una cellula inizia a gonfiarsi, la pompa Na^+K^+ aumenta la sua attività trasferendo all'esterno un numero ancora più elevato di ioni, svolgendo pertanto una continua funzione di controllo nel mantenimento del normale volume cellulare.

Tra le sostanze che vengono trasferite mediante trasporto attivo sono compresi il sodio, il potassio, il cloro e altri ioni. Il trasporto attivo più studiato è la *pompa sodio-potassio* che usa l'ATP e il cui funzionamento è illustrato in Fig. 4.6. La pompa tramite attività enzimatica, scinde l'ATP, fornendo l'energia per il trasporto di tre ioni sodio all'esterno della cellula e il contemporaneo afflusso di due ioni potassio verso l'interno. Questa pompa è responsabile del mantenimento delle differenze di concentrazione di questi ioni e contribuisce a instaurare un potenziale elettrico negativo all'interno delle cellule. Ha inoltre un ruolo importante nel controllo del volume cellulare. Il controllo del volume si basa sul fatto che all'interno della cellula sono presenti molte proteine e altri composti organici che non potendo passare la membrana fosfolipidica generano una forza osmotica che richiama acqua verso l'interno della cellula e che in assenza di controllo ne provocherebbe

4.8.2 Cinetica della membrana cellulare

Volendo ricavare una relazione quantitativa che descriva il comportamento della membrana cellulare, oltre ai meccanismi di trasporto passivo occorre tener conto anche di quelli attivi. E' possibile quindi usare la seguente equazione:

$$\phi_{ic} = \underbrace{k(C_{is} - C_{ic})}_{\text{trasporto passivo}} + \underbrace{\lambda C_{is}}_{\text{trasp.attivo}} \quad (4.10)$$

in cui si è indicato con ϕ_{ic} il flusso di un generico soluto verso lo spazio intracellulare ($mmol/sec$), con k la velocità (L/sec) della diffusione, diffusione che è proporzionale alla differenza di concentrazione fra spazio interstiziale e intracellulare, e con λ la velocità del trasporto attivo, proporzionale alla concentrazione interstiziale [41]. Introducendo il coefficiente adimensionale $\beta = (k + \lambda)/k$, è possibile riscrivere l'equazione 4.10 in maniera più compatta, cioè:

$$\phi_{ic} = -k(C_{ic} - \beta C_{is}) \quad (4.11)$$

Resta da chiarire con cosa si possa identificare il coefficiente β ora introdotto. Si può osservare che in condizioni stazionarie, cioè quando ogni soluto è presente in quantità fisiologiche ai capi della membrana cellulare, trasporto passivo e attivo si bilanciano per dare un flusso netto nullo ($\phi_{ic} = 0$). In questa condizione il coefficiente β è uguale al rapporto $C_{ic,eq}/C_{is,eq}$, dove il pedice *eq* sta ad indicare lo stato di equilibrio.

4.9 Caratteristiche generali del dializzatore

Durante il trattamento dialitico, il dializzatore è il luogo in cui avviene il trasporto di massa sia *dal* paziente (es. potassio e cataboliti) che *verso* il paziente (es. bicarbonato). Qui avviene anche il trasporto di acqua dal paziente al dialisato. Questi due tipi di trasporto sono regolati dalla *differenza di concentrazione* nel caso dei soluti, e dalla *differenza di pressione* nel caso dell'acqua.

In un dializzatore è possibile regolare, in base alle circostanze, sia la portata di sangue in ingresso che la portata del dialisato. Poiché dialisato e filtrato (cioè l'acqua estratta dal sangue durante il passaggio nel dializzatore) sono fluidi omogenei, la misura dei loro flussi è pari alla loro portata volumetrica. Il sangue, invece, è un fluido eterogeneo contenente una parte corpuscolata, gli eritrociti, e una parte in sospensione acquosa, le proteine; pertanto la portata volumetrica di sangue è sempre superiore alla portata di acqua che effettivamente esso contiene, ed è la sola portata di acqua che bisogna considerare nei calcoli dei processi di trasporto. Tale portata di acqua si calcola nel seguente modo:

$$Q_b = Q_B \left(1 - \frac{Hct}{100}\right) F_p \quad (4.12)$$

dove Q_b è la portata effettiva di acqua (L/sec), Q_B è la portata del prelievo ematico, $(1 - Hct/100)$ è la frazione di plasma nel sangue e F_p è la frazione di acqua nel plasma, quest'ultima calcolata con la formula di Colton et al. [29]:

$$F_p = 1 - 0.0107 \cdot T_p \quad (4.13)$$

in cui T_p è la concentrazione totale delle proteine plasmatiche, espressa in gr/dL . In questa trattazione si fa l'ipotesi che la membrana dell'eritrocita sia impermeabile e all'acqua e ai soluti⁹.

In Fig.4.7 è schematizzato un dializzatore, con le portate e concentrazioni dei fluidi in ingresso e in uscita.

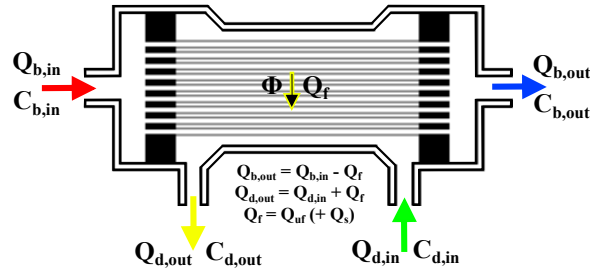


Fig. 4.7: Rappresentazione schematica dei flussi e delle concentrazioni per un dializzatore operante con flussi in contro-corrente. La grandezza Q_s è opzionale e dipende dalla modalità di dialisi.

Indipendentemente dalla modalità di dialisi (emodialisi o emodiafiltrazione), il bilancio ingresso-uscita riguardo al compartimento *sangue* è dato dal seguente sistema:

$$\begin{cases} Q_{b,out} C_{b,out} = Q_{b,in} C_{b,in} - \Phi & \text{bilancio di massa} \\ Q_{b,out} = Q_{b,in} - Q_f & \text{bilancio di volume} \end{cases} \quad (4.14)$$

⁹in realtà, anche i globuli rossi contengono acqua e soluti che partecipano, seppur in minima parte, agli scambi diffusivi e convettivi. Per approfondimenti si veda Sargent et al. [42]

in cui con Q_f si è indicata la portata di acqua filtrata dal dializzatore¹⁰. La quantità Φ di soluto eliminata nell'unità di tempo dal dializzatore è quindi:

$$\Phi = Q_{b_{in}}(C_{b_{in}} - C_{b_{out}}) + Q_f C_{b_{out}} \quad (4.15)$$

La *Dialisance* è un parametro unico per ogni coppia dializzatore-soluto, ed è definita come la “variazione di soluto nel sangue per unità di differenza di concentrazione (*utile* alla diffusione) fra compartimento sangue e dialisato, in assenza di ultrafiltrazione”, ovvero:

$$D := \frac{Q_{b_{in}}(C_{b_{in}} - C_{b_{out}})}{\alpha C_{b_{in}} - C_{d_{in}}}$$

Il termine *utile* si riferisce all'effetto *Donnan* (§4.4), codificato dal coefficiente α ; $C_{d_{in}}$ è la concentrazione in ingresso, del soluto disciolto nel liquido dializzante, d'ora in poi indicata con C_d . Alla luce di ciò si può riscrivere la (4.15) come:

$$\Phi = D \left(\alpha C_{b_{in}} - C_d \right) + Q_f C_{b_{out}} \quad (4.16)$$

L'equazione (4.16) è valida in generale per qualsiasi dializzatore, indipendentemente dalla modalità di dialisi. L'obiettivo è però quello di cercare una formula per Φ che sia dipendente dai soli parametri di portata, dialisance e dalle sole concentrazioni in ingresso, perché più facilmente determinabili nella pratica clinica. Lo scopo dei prossimi due paragrafi è appunto quello di ricavare un'espressione per l'emodialisi e per l'emodiafiltrazione che abbia tali caratteristiche. Per snellire la scrittura si userà il pedice i al posto del pedice b_{in} per riferirsi alla portata e alla concentrazione della soluzione plasmatica in ingresso al dializzatore.

4.10 Caratteristiche del dializzatore per HD

Nel caso dell'emodialisi il flusso di massa Φ estratto dal dializzatore è prevalentemente di tipo diffusivo, cioè:

$$\Phi = \Phi_d \quad (4.17)$$

in cui il pedice d indica appunto la natura diffusiva dello scambio. Sostituendo le equazioni (4.16) e (4.17) nel sistema (4.14) e ricavando Φ_d , si ottiene:

$$\Phi_d = D(\alpha C_i - C_d) \left(1 - \frac{Q_f}{Q_i} \right) + Q_f C_i \quad (4.18)$$

In questa equazione, il termine di trasporto convettivo $Q_f C_i$ non deve essere considerato come un effettivo meccanismo *fisico* di trasporto perché, nell'emodialisi, il passaggio di soluto non avviene per convezione. Si tratta invece di un termine di trasporto *matematico* di correzione, che tiene conto dell'influenza positiva dell'ultrafiltrazione sull'aumento del gradiente di concentrazione a cavallo della membrana e, quindi, sull'aumento della diffusione attraverso di essa [42].

Viene definita *frazione di filtrazione* il rapporto fra l'acqua filtrata e l'acqua in ingresso al dializzatore:

$$FF := \frac{Q_f}{Q_i}$$

La frazione di filtrazione, a meno che non vengano filtrati anche globuli rossi e proteine, assume valori fra zero e uno. Si può dunque riscrivere la (4.18) nel modo seguente:

$$\Phi_d = (1 - FF) \cdot D(\alpha C_i - C_d) + FF \cdot Q_i C_i \quad (4.19)$$

¹⁰nell'emodialisi Q_f è pari all'ultrafiltrazione Q_{uf} , cioè alla quantità di liquido da togliere al paziente nell'unità di tempo affinché raggiunga, a fine dialisi, il peso desiderato. Nell'emodiafiltrazione, Q_f è dato da Q_{uf} sommata alla portata Q_s del fluido di diluizione.

Si noti ora che il flusso Φ_d è composto da due termini: il primo diffusivo, proporzionale a $(1 - FF)$, cioè alla frazione di acqua non filtrata dal dializzatore; il secondo di correzione, proporzionale alla frazione di acqua che filtra nel compartimento del dialisato. Facendo un calcolo esemplificativo per una seduta emodialitica *standard*, in cui si imposta un flusso di filtrazione pari a $1 L/h$ e un flusso di fistola di $300 mL/min$, si ottiene:

$$FF < 0.06$$

$$(1 - FF) > 0.94$$

e cioè che nell'emodialisi, la correzione da aggiungere al fenomeno di trasporto principale ha un basso indice di importanza.

4.11 Caratteristiche del dializzatore per HDF

In letteratura è più volte affermato che nell'emodiafiltrazione, a causa di un'interazione di tipo competitiva fra convezione e diffusione, il trasporto combinato non è dato dalla somma dei singoli fenomeni, ma è più complesso [8, 13]. Questi tipi di flusso sono quindi dipendenti l'uno dall'altro, e dipendono anche da Q_f , cioè:

$$\Phi(Q_f) = \Phi_d(Q_f, \Phi_t) + \Phi_t(Q_f, \Phi_d) \quad (4.20)$$

Si può ipotizzare che, in presenza simultanea delle due modalità di trasporto, e a parità delle altre condizioni fluidodinamiche, la capacità di purificazione dell'HDF sia maggiore delle singole *performance* di emodialisi ed emofiltrazione. Si può quindi ipotizzare che almeno in prima approssimazione i fenomeni di trasporto convettivo e diffusivo siano additivi. Se così non fosse, nessun medico avrebbe finora scelto l'HDF come tecnica dialitica per i propri pazienti. Un'altra ipotesi è che all'aumentare della portata di filtrazione, lo strato proteico che si deposita all'interno della membrana del dializzatore renda meno efficiente lo scambio di soluti [29]. Con queste considerazioni, la più semplice funzione per Φ è di tipo quadratica¹¹, in particolare una parabola con la concavità verso il basso (Fig. 4.8); una funzione di questo tipo, infatti, descrive bene sia l'additività dei due fenomeni di trasporto a bassi regimi di filtrazione che il calo di prestazioni a frazioni di filtrazione più elevate.

La portata di filtrazione Q_f varia da un minimo di zero a un massimo di Q_i (non è possibile infatti estrarre dal dializzatore più di quanto non vi entri). La funzione che si sta cercando ha quindi la forma:

$$\Phi(Q_f) = a \cdot Q_f^2 + b \cdot Q_f + c, \quad Q_f \in [0 - Q_i] \quad (4.21)$$

I coefficienti a , b e c possono essere ricavati imponendo le seguenti condizioni al contorno:

$$\Phi(0) = \Phi_d \quad (4.22a)$$

$$\Phi(Q_i) = \eta \cdot Q_i C_i \quad (4.22b)$$

$$\left. \frac{d\Phi}{dQ_f} \right|_{Q_f=0} = \frac{\partial \Phi_d}{\partial Q_f} + \frac{\partial \Phi_t}{\partial Q_f} \quad (4.22c)$$

La condizione (4.22a) indica che in assenza di filtrazione il flusso Φ è puramente diffusivo e pari a (4.18); la condizione (4.22b) indica che quando Q_f è massimo,

¹¹la funzione più semplice non può essere di tipo lineare perché, per i motivi spiegati, in HDF non vale il principio di *sovrapposizione degli effetti*.

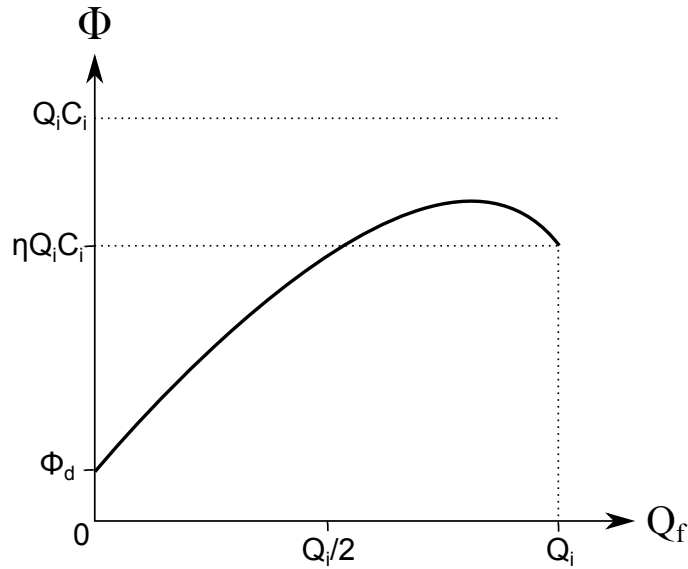


Fig. 4.8: ipotetica funzione per $\Phi(Q_f)$

il soluto estratto dal compartimento ematico è pari al flusso di soluto in ingresso al dializzatore, corretto dal coefficiente $\eta < 1$, per tener conto della limitazione introdotta dallo strato proteico; la condizione (4.22c) è stata invece ricavata col seguente ragionamento. Considerando la (4.20) e calcolandone il differenziale si ottiene:

$$d\Phi = \frac{\partial\Phi_d}{\partial Q_f} \cdot dQ_f + \frac{\partial\Phi_d}{\partial\Phi_t} \cdot d\Phi_t + \frac{\partial\Phi_t}{\partial Q_f} \cdot dQ_f + \frac{\partial\Phi_t}{\partial\Phi_d} \cdot d\Phi_d \quad (4.23)$$

È possibile ipotizzare che quando $Q_f \approx 0$, i flussi Φ_d e Φ_t siano indipendenti l'uno dall'altro; infatti, in questa condizione, il flusso trasportato per convezione è anche esso trascurabile, e non influenza il gradiente di concentrazione a cavallo della membrana utile alla diffusione; allo stesso modo, un eventuale passaggio di soluto per diffusione non influenza il flusso convettivo (4.25b) poiché il soluto trasportato, essendo pari al valor medio $(C_i + C_D)/2$ (§4.5), resta invariato, in quanto una diminuzione di C_i è compensata da un aumento di pari entità di C_D . Per le considerazioni fatte ora, i termini $\partial\Phi_d/\partial\Phi_t$ e $\partial\Phi_t/\partial\Phi_d$ nella (4.23) possono considerarsi nulli. Quindi, con l'ipotesi di Q_f trascurabile, la derivata del flusso totale di soluto rispetto alla portata di filtrazione è:

$$\left. \frac{d\Phi}{dQ_f} \right|_{Q_f=0} = \frac{\partial\Phi_d}{\partial Q_f} + \frac{\partial\Phi_t}{\partial Q_f} \quad (4.24)$$

che corrisponde alla terza condizione al contorno, necessaria per identificare univocamente la funzione parabolica. Le funzioni delle quali interessa calcolare le derivate parziali da inserire nella (4.24) sono:

$$\Phi_d = D(\alpha C_i - C_D) \left(1 - \frac{Q_f}{Q_i} \right) + Q_f C_i \quad (4.25a)$$

$$\Phi_t = Q_f \varepsilon C_M \quad (4.25b)$$

dove l'equazione per Φ_d è la stessa della (4.18), e l'equazione per Φ_t è analoga alla

(4.6). Le derivate parziali, calcolate rispetto al flusso di filtrazione, sono:

$$\frac{d\Phi_d}{dQ_f} = C_i - \frac{D}{Q_i}(\alpha C_i - C_d) \quad (4.26a)$$

$$\frac{d\Phi_t}{dQ_f} = \varepsilon C_M \quad (4.26b)$$

Le (4.26) sostituite nella (4.24) esplicitano la condizione al contorno (4.22c). Risolvendo ora la (4.21) con le condizioni al contorno (4.22) si ottengono i seguenti valori per i coefficienti a , b e c :

$$\begin{aligned} a &= -\frac{1}{Q_i} \cdot \left[(1 - \eta)C_i + \varepsilon C_M \right] \\ b &= C_i - \frac{1}{Q_i} D(\alpha C_i - C_d) + \varepsilon C_M \\ c &= D(\alpha C_i - C_d) \end{aligned}$$

La formula per il flusso complessivo Φ in presenza contemporanea di dialisi ed emofiltrazione è pertanto:

$$\begin{aligned} \Phi_{hdf} &= D(\alpha C_i - C_d) \left(1 - \frac{Q_f}{Q_i} \right) + Q_f C_i + Q_f \varepsilon C_M \left(1 - \frac{Q_f}{Q_i} \right) - (1 - \eta) \frac{Q_f^2}{Q_i} C_i \\ &= (1 - FF) \cdot \left[D(\alpha C_i - C_d) + \Phi_t \right] + FF \cdot \left[Q_i - (1 - \eta)Q_f \right] C_i \end{aligned} \quad (4.27)$$

Il flusso Φ_{hdf} è composto da due termini: il primo, somma di diffusione e convezione, proporzionale alla frazione di acqua non filtrata dal dializzatore; il secondo di correzione, proporzionale alla frazione di filtrazione. Gli algoritmi interni della macchina dializzatrice fanno sì che, sia in pre- che in post-diluizione, la frazione di filtrazione sia pari a circa 0,5. Il termine correttivo, a differenza del caso dell'emodialisi, ha quindi un peso molto importante nella determinazione della performance del dializzatore. Il coefficiente η dovrà essere identificato per ogni seduta e per ogni soluto in quanto dipenderà dalla concentrazione proteica, variabile ad ogni seduta, e dall'interazione dello strato proteico coi diversi soluti.

A supporto del risultato teorico appena esposto, si mostrano i risultati sperimentali (Fig.4.9) ottenuti da Pedrini et al. [18]. Le *clearance* dei tre soluti presentano

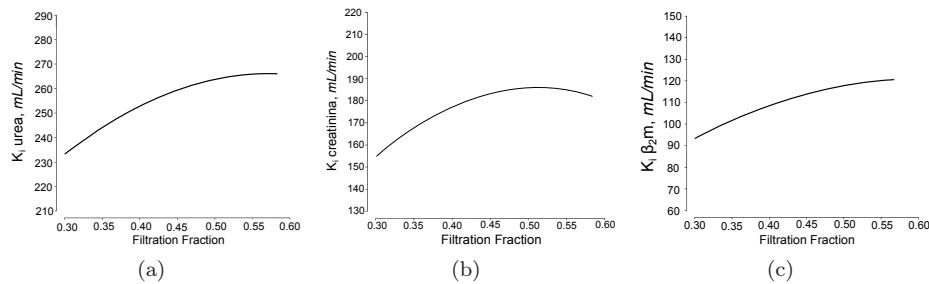


Fig. 4.9: Interpolazione polinomiale del secondo ordine dei dati relativi alle *clearance* (K_i) di (a) urea, (b) creatinina, e (c) β_2m , vs FF .

un andamento parabolico con concavità verso il basso; in più possiamo considerare la clearance e il termine Φ , ricavato in questo paragrafo, linearmente dipendenti (per l'omogeneità delle unità di misura). Per questi motivi i risultati di Fig.4.9 sembrano non smentire la teoria fin qui sviluppata.

Capitolo 5

Modello dell'*on-line* HDF

Si immagini di costruire il modellino di un'abitazione, utilizzando quei mattoncini di plastica che i bambini usano solitamente per giocare. Per fare ciò è indispensabile possedere i mattoncini (in forme e dimensioni variabili), conoscere le regole per impilarli (ad esempio, diremo che un mattoncino è impilato correttamente ad un altro se risultano saldamente incastrati fra loro), e utilizzare la propria creatività per creare un modello di abitazione che sia il più vicino possibile a quella ideale che si vuole costruire. La costruzione di un modello matematico non è molto diverso dal gioco delle costruzioni. I mattoncini sono le relazioni costitutive illustrate nel capitolo precedente (si tratta di equazioni fisico-empiriche a sè stanti e diverse fra loro), le regole per l'incastro dei mattoncini sono le leggi generali di conservazione (massa, volume, ...), e in questo capitolo verrà mostrato come, conoscendo a grandi linee come funziona l'organismo umano e la macchina dializzatrice e come questi due apparati sono connessi (Fig.5.1), con un po' di creatività e buon senso si riuscirà a costruire un modello matematico per l'emodiafiltrazione.

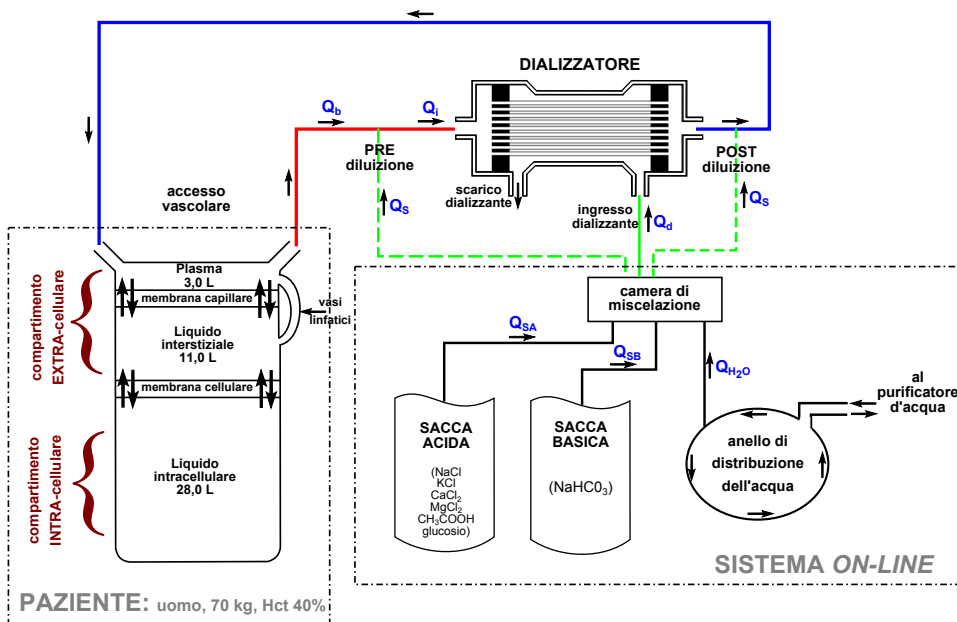


Fig. 5.1: Schema generale dell'*on-line* HDF.

5.1 Sistema *on-line*

Il sistema di produzione del liquido di dialisi, schematizzato in Fig. 5.2, è gestito automaticamente dalla macchina dializzatrice. Nel caso in esame sono state studiate macchine *Fresenius 5008s*, commercializzate da *Fresenius Medical Care AG*, Frankfurt, 2005. La macchina dializzatrice, prendendo in ingresso i dati della seduta dialitica, con un algoritmo interno è in grado di miscelare opportunamente il concentrato acido e basico con l'acqua di dialisi, in modo che il liquido dializzante e di diluizione abbiano le portate e le concentrazioni di sodio e bicarbonato prescritte per lo specifico paziente.

5.1.1 Sacca acida

È possibile scegliere fra più sacche acide, diverse fra loro per composizione. Le composizioni delle uniche due sacche utilizzate al centro dialisi sono espone in Tab. 5.1. Come si nota, l'unica differenza fra le sacche è data dal *cloruro di potassio*. La scelta della sacca è effettuata dal medico in base alla potassiemia basale del paziente. Conoscendo come si dissociano i sali presenti nella sacca acida, è possibile

Tab. 5.1: Composizione delle sacche acide *Fresenius*. Valori in *mmol/L*

Codice	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	CH ₃ COOH	C ₆ H ₁₂ O ₆
AX03	4725	90	67,5	22,5	135	249,78
A161	4725	135	67,5	22,5	135	249,78

costruire un'altra tabella in cui compaiono le concentrazioni degli elettroliti e soluti che ci interessa monitorare attraverso il modello numerico. Si tratta di un semplice calcolo stechiometrico il cui risultato è mostrato in Tab. 5.2. È evidente che le concentrazioni di questi elettroliti non sono quelle fisiologiche. Il contenuto della sacca acida infatti, prima di essere immesso nel dializzatore, deve prima essere miscelato con la soluzione basica e diluito con l'acqua pura fino a raggiungere i valori prescritti dalla terapia.

Tab. 5.2: Composizione delle sacche acide. Valori in *mmol/L*

Codice	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	C ₆ H ₁₂ O ₆
AX03	4725	90	4995	67,5	22,5	249,78
A161	4725	135	5040	67,5	22,5	249,78

5.1.2 Sacca basica

La sacca basica (*Fresenius biBag[®]*) contiene bicarbonato di sodio (*NaHCO₃*) in polvere. Per poterlo utilizzare, la macchina versa sul bicarbonato dell'acqua, la quale viene ripescata dal fondo della sacca quando ormai si è saturata di bicarbonato. Pertanto la concentrazione del liquido basico è quella che assume una soluzione satura di bicarbonato di sodio. I valori di saturazione dell'acqua sono riportati in Tab. 5.3. Con un interpolazione lineare di questi valori si ottiene che, alla temperatura di circa 25°C dell'ambiente in cui il paziente dializza, la concentrazione di sodio (*Na⁺*) e dello ione bicarbonato (*HCO₃⁻*) contenuti nel liquido basico vale circa 1246 *mmol/L*.

Tab. 5.3: Solubilità di $NaHCO_3$ in acqua

Temperatura ambiente ($^{\circ}C$)	0	20	60
Conc. di saturazione (g/L)	69	96	165

5.1.3 Preparazione del liquido di dialisi

Il liquido di dialisi e il liquido di sostituzione hanno la stessa composizione di soluti, gestita automaticamente dal software della macchina dializzatrice. Gli operatori

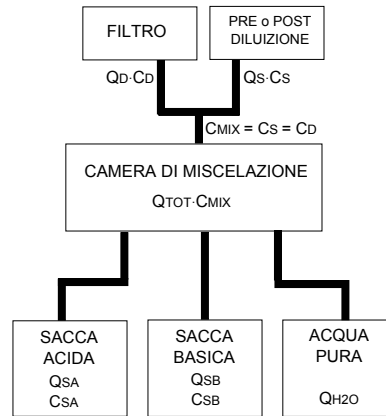


Fig. 5.2: Schema del sistema *on-line*. Q = portate, $C^{(s)}$ = concentrazione del soluto $^{(s)}$, S_A = sacca acida, S_B = sacca basica.

sanitari devono solo impostare sul monitor le concentrazioni prescritte di sodio e bicarbonato, e la macchina, in base alla tipologia della sacca acida e dei parametri fluidodinamici, creerà la giusta miscela. Il sistema di produzione dei fluidi di dialisi è schematizzato in Fig. 5.2. Di questo sistema conosciamo solo alcune quantità mentre altre sono incognite. Queste quantità sono elencate in Tab.5.4. Per ricavare

Tab. 5.4: Dati e incognite del sistema *on-line*.

	dati noti	incognite
Portate	Q_d, Q_s	Q_{sa}, Q_{sb}, Q_{H_2O}
Concentrazioni	$C_d^{Na^+}, C_d^{HCO_3^-}$, concentrazione di tutti i soluti nelle sacche acida e basica	$C_d^{K^+}, C_d^{Cl^-}, C_d^{Ca^{++}}, C_d^{Mg^{++}}$, fosfato inorganico

le quantità incognite si procede nel modo seguente. Per la conservazione delle portate è possibile scrivere:

$$Q_{tot} = Q_s + Q_d = Q_{SA} + Q_{SB} + Q_{H_2O} \quad (5.1)$$

Per la conservazione del bicarbonato, che proviene dalla sola sacca basica, vale:

$$Q_{SB} \cdot C_{SB}^{(HCO_3^-)} = Q_{tot} \cdot C_{mix}^{(HCO_3^-)} \quad (5.2)$$

dove $C_{mix} = C_d = C_s$ e da cui si ricava l'incognita:

$$Q_{SB} = \frac{C_{mix}^{(HCO_3^-)}}{C_{SB}^{(HCO_3^-)}} \cdot Q_{tot} \quad (5.3)$$

Per la conservazione dello ione sodio, che proviene sia dalla sacca acida che da quella basica, è possibile scrivere:

$$Q_{tot} \cdot C_{mix}^{(Na^+)} = Q_{SA} \cdot C_{SA}^{(Na^+)} + Q_{SB} \cdot C_{SB}^{(Na^+)} \quad (5.4)$$

da cui si ricava l'incognita:

$$Q_{SA} = \frac{Q_{tot} \cdot C_{mix}^{(Na^+)} - Q_{SB} \cdot C_{SB}^{(Na^+)}}{C_{SA}^{(Na^+)}} \quad (5.5)$$

Scrivendo ora l'equazione di conservazione della massa per il generico soluto (s):

$$Q_{tot} \cdot C_{mix}^{(s)} = Q_{SA} \cdot C_{SA}^{(s)} + Q_{SB} \cdot C_{SB}^{(s)} \quad (5.6)$$

si può ricavare, per ogni soluto, il valore di concentrazione nel liquido di dialisi:

$$C_d^{(s)} = C_s^{(s)} = C_{mix}^{(s)} = \frac{Q_{SA} \cdot C_{SA}^{(s)} + Q_{SB} \cdot C_{SB}^{(s)}}{Q_{tot}} \quad (5.7)$$

in cui i valori delle incognite Q_{SB} e Q_{SA} sono rispettivamente forniti dalle equazioni (5.3) e (5.5). Per quanto riguarda la portata di acqua Q_{H_2O} , che non interessa conoscere ma può essere utile per stimare i consumi, essa può semplicemente essere calcolata per differenza con l'Eq.(5.1).

5.2 Modello del paziente

L'organismo umano è un sistema molto complesso, formato da molti sottosistemi interagenti fra loro e altrettanto complessi, come ad esempio il sistema cardio-circolatorio, nervoso, respiratorio, digerente, . . . La dialisi è una procedura terapeutica che serve a ristabilire, per quanto possibile, un equilibrio chimico e volumetrico dell'organismo e, per questo motivo, verrà considerata solo quella parte dell'organismo direttamente coinvolta negli scambi di liquidi e soluti, ignorando tutto il resto.

Quello che è racchiuso in Fig. 5.1 dalla linea tratteggiata grigia e recante l'etichetta "PAZIENTE" rappresenta ciò che può essere considerato il paziente nel contesto dialitico: si tratta di un recipiente, formato da tre compartimenti sempre più profondi e capienti, separati da due membrane semipermeabili: la membrana capillare e la membrana cellulare. Questo schema è tratto da Guyton et al. [2]. Nella realtà fisiologica, tuttavia, non esistono compartimenti e membrane così ben definiti. Nell'organismo umano infatti le cellule, e ciò che racchiudono, sono distribuite in maniera omogenea in tutto il volume corporeo; lo spazio interstiziale è un ambiente identificato topologicamente dal percorso che i metaboliti compiono per passare dall'apparato circolatorio alle cellule; il volume plasmatico è contenuto nelle arterie, vene e capillari dell'organismo. Per le membrane cellulari e capillari il discorso è analogo: esistono numerose membrane di ambo i tipi sparse omogeneamente all'interno del volume corporeo. Per agevolare la trattazione matematica si è deciso di semplificare il problema andando a "concentrare" i volumi cellulari, interstiziali ed ematici distribuiti nell'organismo, in tre compartimenti nettamente separati dalle membrane appropriate. Questa semplificazione risulta essere una pratica ampiamente consolidata nella modellizzazione del paziente sottoposto a dialisi [6, 22, 25].

5.2.1 Bilancio di massa nel compartimento intra-cellulare

L'equazione che descrive il bilancio di massa per uno specifico soluto, all'interno del compartimento intracellulare è:

$$\frac{dM_{ic}}{dt} = G_{ic} + \Phi_{ic} \quad (5.8)$$

dove:

- G_{ic} è il tasso di generazione del soluto all'interno delle cellule;
- Φ_{ic} è il flusso di massa del soluto verso l'interno del compartimento intracellulare.

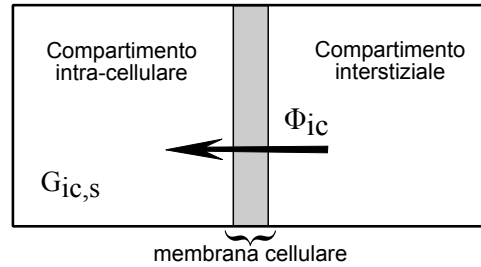


Fig. 5.3: Scambio di massa fra compartimento intra-cellulare e interstiziale.

La formula per Φ_{ic} è data dall'Eq. (4.11) e cioè:

$$\Phi_{ic} = -k(C_{ic} - \beta C_{is}) \quad (5.9)$$

in cui, come già spiegato in §4.8:

- k è il coefficiente di trasferimento di massa del soluto attraverso la membrana cellulare;
- β è il rapporto all'equilibrio fra concentrazione intracellulare e interstiziale del soluto.

La concentrazione di un soluto può essere espressa in funzione della quantità e del volume in cui è distribuito. Per il compartimento intracellulare vale ovviamente:

$$C_{ic} = \frac{M_{ic}}{V_{ic}} \quad (5.10)$$

Se si considera l'effetto Donnan (§ 4.4), si può scrivere la concentrazione interstiziale in funzione di quella plasmatica, ovvero:

$$C_{is} = \alpha_d \cdot C_{pl} \quad (5.11)$$

in cui α_d è il coefficiente di Donnan, specifico per ogni soluto, il cui calcolo è esposto in Appendice A. Ora, poiché il compartimento extracellulare è formato dal compartimento interstiziale più quello plasmatico, per la conservazione della massa vale che:

$$\begin{aligned} M_{ex} &= M_{is} + M_{pl} \\ &= C_{is}V_{is} + C_{pl}V_{pl} \end{aligned}$$

e considerando l'Eq. (5.11) è possibile scrivere:

$$M_{ex} = C_{is}V_{is} + \frac{C_{is}}{\alpha_d}V_{pl} \quad (5.12)$$

da cui si ricava:

$$C_{is} = \frac{M_{ex}}{V_{is} + V_{pl}/\alpha_d}$$

A questo punto, considerando nullo il tasso di generazione intracellulare¹, si può riscrivere l'Eq. (5.8) nel seguente modo:

$$\frac{dM_{ic}}{dt} = -k \left(\frac{M_{ic}}{V_{ic}} - \beta \frac{M_{ex}}{V_{is} + V_{pl}/\alpha_d} \right) \quad (5.13)$$

5.2.2 Bilancio di massa nel compartimento extra-cellulare

Il bilancio di massa nel compartimento extra-cellulare tiene conto degli scambi di massa attraverso la membrana dei capillari e attraverso la membrana del dializzatore e si tratta, per convenzione, di flussi in uscita e quindi negativi; in formule:

$$\frac{dM_{ex}}{dt} = -\Phi_{ic} - \Phi_{hdf} + Q_s \cdot C_s \quad (5.14)$$

in cui:

- Q_s è la portata del fluido di sostituzione (ovvero la portata di pre- o post-diluzione), letta sul monitor della macchina;
- C_s è la concentrazione del soluto nel liquido di diluizione, calcolata con l'Eq. (5.7);
- Φ_{ic} è data dall'Eq. (5.9);
- Φ_{hdf} è calcolata con l'Eq. (4.27).

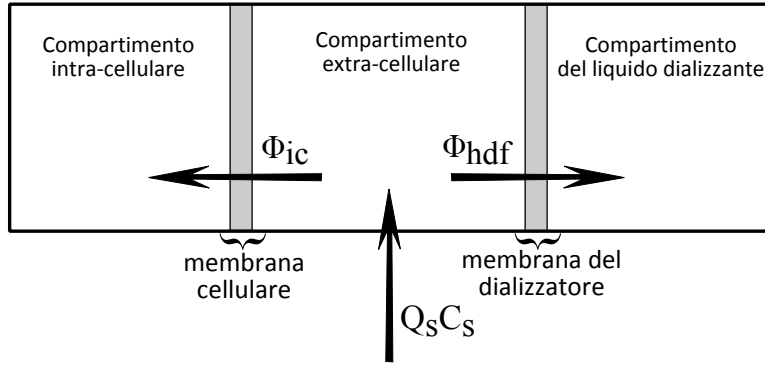


Fig. 5.4: Scambio di massa fra compartimento extracellulare, intracellulare e dializzatore.

Vale la pena precisare ancora il calcolo di Φ_{hdf} . Dal calcolo teorico esposto in § 4.11, risulta:

$$\begin{aligned} \Phi_{hdf} = (1 - FF) \cdot \left[D(\alpha_d C_{in} - C_d) + \Phi_t \right] + \dots \\ + FF \cdot \left[Q_{in} - (1 - \eta)Q_f \right] C_{in} \quad (5.15) \end{aligned}$$

¹è possibile fare questa semplificazione perché la dinamica di generazione di qualsiasi soluto è molto lenta rispetto alla dinamica degli scambi indotta dalla dialisi.

col termine convettivo pari a:

$$\Phi_t = Q_f(1 - \sigma) \frac{C_{in} + C_d}{2}$$

Si ricordi che FF è la frazione di filtrazione, pari al rapporto Q_f/Q_{in} fra acqua filtrata e acqua in ingresso al dializzatore. Il calcolo dei coefficienti D , α_d , σ è affrontato in Appendice B. I valori di concentrazione C_d dei soluti nel liquido di dialisi sono forniti dall'Eq. (5.7).

5.2.3 Bilancio di fluidi nel compartimento intra-cellulare

La variazione nel tempo del volume intracellulare, dipende, attraverso il coefficiente K_f (permeabilità della membrana cellulare all'acqua), dalla differenza osmotica fra spazio intracellulare e spazio interstiziale. In formule:

$$\begin{aligned} \frac{dV_{ic}}{dt} &= Q_{ic} \\ &= \gamma K_f \cdot \Delta Osm \\ &= \gamma K_f \sum_j \sigma_j \left(C_{ic}^{(j)} - C_{is}^{(j)} \right) \end{aligned} \quad (5.16)$$

in cui $\gamma = 0,93$ è il coefficiente di correzione che tiene conto dell'interazione osmoti-

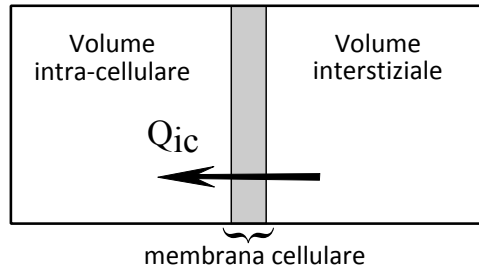


Fig. 5.5: Scambio di fluido fra cellule e interstizio.

ca fra i soluti; σ_j è il coefficiente di riflessione della membrana cellulare nei confronti del soluto j (ricordiamo che l'effetto osmotico è dovuto ai soluti che *non* passano la membrana). In condizioni di equilibrio, e cioè qualora si sostituissero alle concentrazioni intracellulari e interstiziali dell'Eq. (5.16) gli opportuni valori ricavati dalla Tab. A.1 in Appendice A, si dovrebbe ottenere, per definizione di "condizione di equilibrio", che la variazione temporale del volume intracellulare si annulli. Così come è scritta, l'Eq. (5.16) non soddisfa questa condizione. Ciò è dovuto al fatto di non aver considerato, nella sommatoria, tutti i soluti presenti nell'organismo, solo parte dei quali è tabulata in Tab. A.1. Ovviamente è impossibile, data la loro numerosità, considerarli tutti. Ciò non toglie che comunque, nel calcolo dei flussi osmotici, si generi involontariamente un disequilibrio causato dai soluti mancanti all'appello. Per risolvere questo problema si è pensato di ipotizzare che ogni soluto, in maniera indipendente dagli altri, tenda asintoticamente verso un proprio stato di equilibrio in cui non vi sia più alcun tipo di variazione dinamica, ovvero verso uno stato in cui tutte le derivate temporali che lo riguardano sono nulle.

A questo punto, è doveroso fare un breve *excursus* per precisare cosa intendiamo, quantitativamente, per "stato di equilibrio". In questa trattazione si è deciso di definire come stato di equilibrio quello stato, calcolato ad ogni iterazione, in cui le concentrazioni plasmatiche, interstiziali e intracellulari, abbiano fra loro *gli stessi*

rapporti numerici di quelli di Tab. A.1. Analogamente, definiamo i *volumi di equilibrio* quei volumi plasmatici, interstiziali e intracellulari, che hanno fra loro *gli stessi rapporti numerici* di quelli in Tab. 5.5. Precisiamo che queste quantità di equilibrio, che il sistema asintoticamente tende a raggiungere, devono essere ricalcolate ad ogni iterazione.

Per ricavare i volumi asintotici di equilibrio, ad ogni iterazione si eseguirà il seguente algoritmo di calcolo:

$$V_{tot,\infty} = V_{ic} + V_{is} + V_{pl} \quad \text{con } V_{ic}, V_{is}, V_{pl}, \text{ valori correnti} \quad (5.17)$$

$$V_{pl,\infty} = 3/42 \cdot V_{tot,\infty} \quad (5.18)$$

$$V_{is,\infty} = 11/42 \cdot V_{tot,\infty} \quad (5.19)$$

$$V_{ic,\infty} = 28/42 \cdot V_{tot,\infty} \quad (5.20)$$

$$(5.21)$$

Per ricavare le concentrazioni asintotiche:

$$\begin{aligned} M_{tot,\infty} &= M_{ic} + M_{ex} \quad \text{con } M_{ic}, M_{ex}, \text{ valori correnti} \\ &= V_{pl,\infty} \cdot C_{pl,\infty} + V_{is,\infty} \cdot C_{is,\infty} + V_{ic,\infty} \cdot C_{ic,\infty} \\ &= V_{pl,\infty} \cdot C_{pl,\infty} + V_{is,\infty} \cdot \alpha_d C_{pl,\infty} + V_{ic,\infty} \cdot \alpha_d \beta C_{pl,\infty} \\ &= C_{pl,\infty} \left(V_{pl,\infty} + \alpha_d (V_{is,\infty} + \beta V_{ic,\infty}) \right) \end{aligned}$$

da cui si ricava:

$$C_{pl,\infty} = \frac{M_{ic} + M_{ex}}{V_{pl,\infty} + \alpha_d (V_{is,\infty} + \beta V_{ic,\infty})} \quad (5.22)$$

$$C_{is,\infty} = \alpha_d C_{pl,\infty} \quad (5.23)$$

$$C_{ic,\infty} = \beta C_{is,\infty} \quad (5.24)$$

Si torni ora ad occuparsi dell'equazione che descrive la variazione del volume intracellulare. Alla luce di tutte le considerazioni fatte sin ora, è possibile costruire il termine *differenza osmotica asintotica* nel seguente modo:

$$\Delta Osm_\infty = \sum_j \sigma_j (C_{ic,\infty}^{(j)} - C_{is,\infty}^{(j)}) \quad (5.25)$$

Affinché l'Eq. (5.16) con la quale si è partiti possa soddisfare la condizione che una volta inseriti valori di equilibrio la derivata temporale si annulli in un tempo finito, deve essere modificata e assumere la seguente forma:

$$\begin{aligned} \frac{dV_{ic}}{dt} &= Q_{ic} \\ &= \gamma K_f (\Delta Osm - \Delta Osm_\infty) \end{aligned} \quad (5.26)$$

che esplicitata diventa:

$$\frac{dV_{ic}}{dt} = \gamma K_f \left(\sum_j \sigma_j (C_{ic}^{(j)} - C_{is}^{(j)}) - \sum_j \sigma_j (C_{ic,\infty}^{(j)} - C_{is,\infty}^{(j)}) \right)$$

5.2.4 Bilancio di fluidi nel compartimento interstiziale

La variazione nel tempo del volume interstiziale dipende sia dalla portata Q_{ic} di liquido che dall'interstizio passa nel compartimento intracellulare, sia dalla portata

Q_{fc} di liquido che filtra, attraverso le pareti capillari, dal compartimento plasmatico. Quantitativamente:

$$\frac{dV_{is}}{dt} = -Q_{ic} + Q_{fc} \quad (5.27)$$

la portata Q_{ic} si ricava dall'Eq. (5.26). Per quanto riguarda la portata di filtrazione

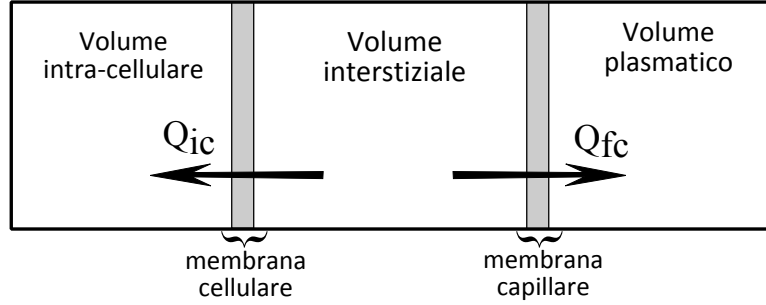


Fig. 5.6: Scambio di fluidi fra plasma, interstizio e cellule.

capillare, essa dipende dalla permeabilità della membrana capillare e dalla differenza di pressione cui è sottoposta. In formule:

$$Q_{fc} = \rho(L_a + L_v) \cdot P_{fc} \quad (5.28)$$

I parametri L_a e L_v rappresentano rispettivamente le permeabilità nella zona arteriosa e venosa della membrana capillare²; il parametro adimensionale ρ serve a dare variabilità alla permeabilità dei capillari, in quanto questa varia da paziente a paziente in base a comorbidità quali diabete, stato infiammatorio, . . . La pressione di filtrazione P_{fc} dipende dalla pressione idraulica media nel letto capillare, dalla pressione idraulica dell'interstizio, e dalla differenza di pressione oncotica fra plasma e interstizio, cioè:

$$P_{fc} = \left(\frac{P_{ac} + P_{vc}}{2} - P_{is} \right) - \Delta\Pi \quad (5.29)$$

in cui la differenza di pressione oncotica $\Delta\Pi$ è calcolata con la formula di Landis-Pappenheimer in base alla concentrazione proteica dei rispettivi compartimenti. Le pressioni idrauliche si calcolano a partire dai volumi, attraverso i valori di *compliance* o *elastanza* dei relativi compartimenti:

$$P_{is} = E_{is}(V_{is} - V_{is,0}) + P_{is,0} \quad \text{con } E_{is} = \text{elastanza dell'interstizio} \quad (5.30)$$

$$P_{ac} = \frac{1}{C_C}(V_{pl} - V_{pl,0}) + P_{is,0} \quad \text{con } C_C = \text{compliance capillare} \quad (5.31)$$

$$P_{vc} = 15 \text{ mmHg} \quad \text{costante} \quad (5.32)$$

Se ora si dà nuovamente uno sguardo al riquadro “paziente” di Fig.5.1, si nota che è stato tralasciato un importante dettaglio di bilancio fra plasma e interstizio: il sistema linfatico. Il sistema linfatico, quando non è compromesso da particolari patologie, svolge l'importante funzione di regolare il bilancio di fluidi fra plasma e interstizio favorendo, ad esempio in caso di edema interstiziale, lo spostamento di liquidi e proteine dall'interstizio al plasma [2]. Per tenere in considerazione anche il sistema linfatico si ipotizza che la sua funzione possa essere identificata da una pressione *efficace*, che bilancia la pressione di filtrazione capillare P_{fc} . Questa

²questi elementi sono in parallelo fra loro e, poiché la permeabilità idraulica è analoga alla conduttanza elettrica, la permeabilità/conduttanza totale di due elementi posti in parallelo è data dalla somma delle singole permeabilità/conduttanze.

pressione efficace è pari, in modulo, alla pressione di filtrazione capillare quando questa è calcolata utilizzando i valori asintotici di equilibrio, cioè:

$$P_{fc,\infty} = \left(\frac{1/C_c \cdot V_{pl,\infty} + P_{vc}}{2} - E_{is} \cdot V_{is,\infty} \right) - \Delta\Pi_\infty \quad (5.33)$$

Con quanto appena esposto, l'Eq. (5.28) diventa:

$$Q_{fc} = \rho \cdot (L_a + L_v)(P_{fc} - P_{fc,\infty}) \quad (5.34)$$

ed effettuando le sostituzioni opportune, la variazione nel tempo del volume interstiziale è descritta dall'equazione:

$$\frac{dV_{is}}{dt} = -\gamma K_f (\Delta Osm - \Delta Osm_\infty) + \rho(L_a + L_v) \cdot (P_{fc} - P_{fc,\infty}) \quad (5.35)$$

5.2.5 Bilancio di fluidi nel compartimento plasmatico

La variazione nel tempo del volume plasmatico è descritta dall'equazione:

$$\frac{dV_{pl}}{dt} = -Q_{fc} - Q_{uf} \quad (5.36)$$

in cui Q_{fc} è dato dall'Eq. (5.34); Q_{uf} è la portata di ultrafiltrazione, cioè la portata

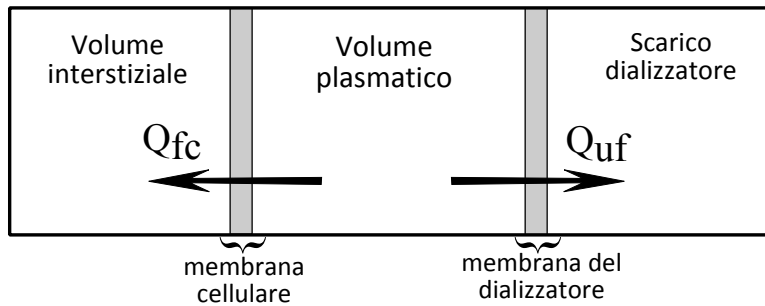


Fig. 5.7: Scambio di fluido fra interstizio, plasma e dializzatore.

che permette la perdita di peso del paziente durante la seduta dialitica. Bisogna fare attenzione a non confondere la portata di ultrafiltrazione con la portata di filtrazione del filtro dializzatore. Quest'ultima è infatti data dalla somma di ultrafiltrazione e portata di diluizione. Nell'Eq. (5.36) non compare la portata di diluizione proprio perché tutto il liquido di diluizione immesso nel circuito ematico viene filtrato dal dializzatore.

5.3 Inizializzazione del sistema

Le equazioni differenziali che descrivono la dinamica dei soluti durante l'emodifiltrazione, illustrate singolarmente nei precedenti paragrafi, sono raggruppate nel

seguinte sistema:

$$\dot{M}_{ic}^{(s)} = \Phi_{ic}^{(s)} \quad (5.37)$$

$$\dot{M}_{ex}^{(s)} = -\Phi_{ic}^{(s)} - \Phi_{hdf}^{(s)} + Q_s C_s^{(s)} \quad (5.38)$$

$$\dot{V}_{ic} = Q_{ic} \quad (5.39)$$

$$\dot{V}_{is} = -Q_{ic} + Q_{fc} \quad (5.40)$$

$$\dot{V}_{pl} = -Q_{fc} - Q_{uf} \quad (5.41)$$

$$\dot{P}_{ac} = \frac{1}{C_c} \dot{V}_{pl} \quad (5.42)$$

$$\dot{P}_{is} = E_{is} \dot{V}_{is} \quad (5.43)$$

Questo è un sistema di $2N + 5$ equazioni differenziali, in cui N è il numero di soluti di cui si vuole descrivere la dinamica³. Trattandosi di un sistema del primo ordine, affinché sia risolvibile è necessario fornire i valori iniziali delle variabili.

Per quanto riguarda i volumi, in Guyton et al. [2] si afferma che in un uomo adulto che pesa 70 kg l'acqua totale presente nell'organismo ammonta a circa il 60% del peso corporeo⁴, ed è distribuita nei tre compartimenti principali come indicato in Tab. 5.5. A partire da queste informazioni, se si indica con W_0 il peso a inizio

Tab. 5.5: Distribuzione dei fluidi corporei (fonte: Guyton et al. [2])

	Plasma	Interstizio	Cellule	Totale
Volume (Litri)	3	11	28	42

dialisi del paziente, è possibile inizializzare i volumi dei tre compartimenti con le seguenti equazioni:

$$V_{tot,0} = 0,6 \cdot W_0$$

$$V_{pl,0} = 3/42 \cdot V_{tot,0}$$

$$V_{is,0} = 11/42 \cdot V_{tot,0}$$

$$V_{ic,0} = 28/42 \cdot V_{tot,0}$$

Proseguendo con l'inizializzazione delle variabili, è possibile combinare le equazioni (5.10) e (5.12) con i calcoli accessori esposti in appendice A e ricavare il seguente algoritmo di inizializzazione delle masse molari dei soluti:

$$C_{pl,0} = \text{dati clinici noti}$$

$$C_{is,0} = \alpha_d \cdot C_{pl,0}$$

$$C_{ic,0} = \beta \cdot C_{is,0}$$

$$M_{ic,0} = C_{ic,0} \cdot V_{ic,0}$$

$$M_{ex,0} = C_{is,0} \cdot (V_{pl,0}/\alpha_d + V_{is,0})$$

Le pressioni ai capillari arteriosi e nell'interstizio sono inizializzate come in Ursino et al. [25], cioè:

$$P_{ac,0} = 35 \text{ mmHg}$$

$$P_{is,0} = -5,97 \text{ mmHg}$$

³in questa trattazione $N = 9$, e i soluti sono: sodio, potassio, cloro, calcio, fosfato inorganico, magnesio, urea, glucosio e proteine.

⁴questa percentuale puo variare a seconda dell'età, del sesso e del grado di obesità.

5.4 Implementazione

Il modello matematico è stato implementato in Matlab[®] 7 (R14). Il sistema di equazioni differenziali ordinarie (ODE) è stato risolto utilizzando il *solver* `ode45` di Matlab, basato sul metodo esplicito di Runge-Kutta del quarto ordine. L'implementazione è mostrata sinteticamente nel seguente listato in pseudo-codice:

```
>> function emodiafilt(paziente)
>> load dati_paziente;
>> ... % calcoli di inizializzazione
>> Y0 = ... % vettore contenente le variabili inizializzate
>> [T,Y] = ode45(@ODEemodiafilt,tempo,Y0); % Integrazione numerica
>> plotResults(T,Y)
```

Il listato completo è fornito in appendice D.

5.5 Scelta dei parametri da ottimizzare

I pazienti sottoposti a dialisi presentano caratteristiche cliniche anche molto diverse fra loro. Il sesso, l'età, la presenza o meno di comorbidità (diabete, cardiomiopatie, obesità ...), e molti altri fattori difficilmente indagabili rendono la risposta alla terapia dialitica molto varia. Per poter adattare il modello allo specifico paziente è necessario quindi usare dei parametri personalizzati. I parametri che si è scelto di ottimizzare sono:

- ρ** : il coefficiente adimensionale che, all'interno dell'Eq. (5.34), regola la permeabilità della membrana capillare, membrana situata fra compartimento plasmatico e interstiziale;
- k** : il coefficiente di trasferimento di massa (L/s) che, all'interno dell'Eq. (5.13), regola per ogni soluto il trasporto diffusivo attraverso la membrana cellulare;
- η** : il coefficiente adimensionale che, all'interno dell'Eq. (5.15), regola per ogni soluto la capacità di estrazione del dializzatore.

Inizialmente si era pensato di calibrare solo i parametri **ρ** e **η** , recuperando i valori per il parametro **k** da precedenti lavori [6, 22]. Dopo aver misurato gli errori relativi percentuali fra simulazione e dati clinici di vari pazienti secondo la formula:

$$e\%(n) = \frac{C_{pl,sim}(n) - C_{pl,cli}(n)}{C_{pl,true}(n)} \cdot 100 \quad (5.44)$$

in cui n rappresenta l' n -esimo istante di campionamento dei dati ematici per un totale di 225 misure, e i pedici *sim* e *true* indicano rispettivamente misure provenienti dalla simulazione numerica e dalla realtà clinica, si è fatto il confronto tra la distribuzione degli errori che si commettono quando si calibrano solo due parametri rispetto a quando invece se ne calibrano tre. In Fig. 5.8 sono mostrati gli istogrammi delle frequenze di tali errori (due parametri in alto a sinistra; tre parametri in alto a destra). Nella stessa figura, in basso, è mostrata la stima gaussiana di tali errori⁵, dalla quale si riscontra che con la calibrazione a tre parametri gli errori, sebbene ci sia qualche *outlier*, si riducono rientrando nella fascia $\pm 20\%$.

⁵il test di Shapiro-Wilk conferma, con un p-value inferiore a 0,001, la gaussianità delle due distribuzioni.

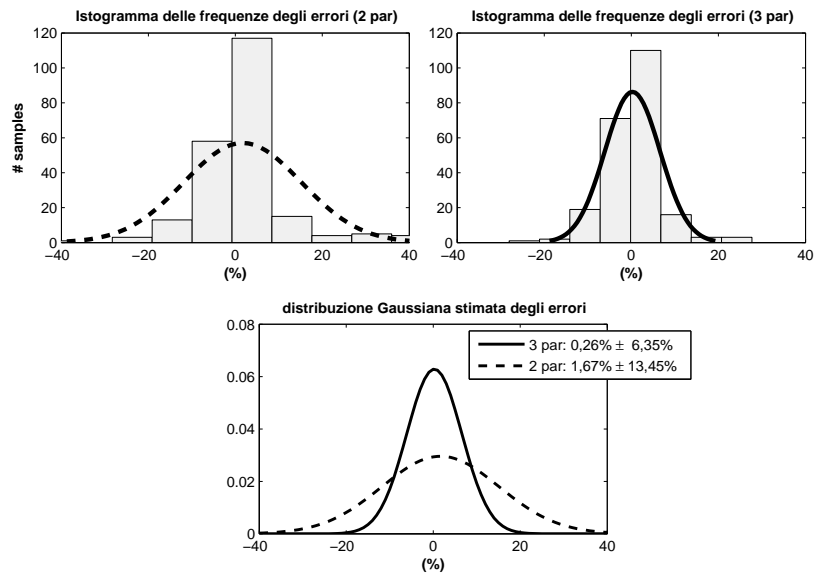


Fig. 5.8: In alto: confronto fra ottimizzazione a due (ρ, η) e tre parametri (ρ, k, η). In basso: distribuzione stimata degli errori di simulazione.

Capitolo 6

Procedura di ottimizzazione

In questo capitolo si descrive la procedura utilizzata e descritta schematicamente nel Capitolo 3, per ottimizzare i parametri del modello. Poiché si tratta di un modello non lineare che descrive lo scambio transmembrana di soluti contemporaneamente presenti nello stesso ambiente, non è improbabile che alcuni parametri introdotti specificatamente per un soluto possano influenzare indirettamente anche la dinamica di altri soluti. È quindi necessario stabilire delle *regole* di ottimizzazione, che ci permettano di assegnare un ordine gerarchico ai parametri e di capire in che misura ogni parametro influenza ogni soluto. Si è scelto di ricavare queste regole sfruttando le informazioni derivanti dall'analisi di sensitività del modello.

6.1 Analisi di sensitività

L'analisi di sensitività serve a stabilire quanto i parametri utilizzati in un modello ne influenzino l'uscita. L'argomento è molto vasto e complesso e di non semplice applicazione [43, 44, 45], e in questo sede se ne sfrutteranno le potenzialità, al fine di individuare opportune regole di ottimizzazione dei parametri del modello sviluppato. Non si indagheranno invece né il problema dell'*identificabilità strutturale* dei parametri né l'eventuale loro ridondanza [1].

Limitatamente alle uscite di nostro interesse (le concentrazioni plasmatiche dei soluti) e ai parametri di nostro interesse (ρ , k , η) possiamo valutare la variazione di ogni uscita rispetto alla variazione di ogni parametro, costruendo una *matrice di sensitività* \mathbf{S} formata dagli elementi:

$$S_{ij} = \frac{\partial y_j}{\partial \theta_i}$$

in cui con y_j si è indicata la concentrazione plasmatica a fine dialisi del soluto j -esimo, e con θ_i il parametro i -esimo. Si precisa che le N uscite da valutare sono le concentrazioni plasmatiche dei 9 soluti studiati, proteine incluse. I parametri θ_i sono invece di tre tipi: uno generale (ρ) e due specifici (k , η) per ogni soluto, proteine escluse¹. In totale vi sono quindi $2(N - 1) + 1$ parametri da valutare, cioè 17 parametri. La matrice \mathbf{S} è pertanto una matrice con 17 righe e 9 colonne.

Poiché si sta trattando un modello numerico, e quindi discreto, bisogna approssimare le derivate necessarie al calcolo degli elementi di \mathbf{S} con dei rapporti incrementali. È possibile sfruttare la teoria delle serie di Taylor e approssimare le

¹per ipotesi la massa (non la concentrazione) delle proteine all'interno di ogni compartimento è ritenuta costante lungo il corso della dialisi, perché si ritiene che siano impermeabili alla membrana cellulare, capillare e a quella del dializzatore. Non ha senso quindi introdurre per le proteine dei parametri che ne descrivono il trasporto attraverso le rispettive membrane.

derivate $\partial y_j / \partial \theta_i$ con una precisione del secondo ordine. Si considerino le relazioni:

$$\begin{aligned} y &= y(\theta, \dots) \\ y^+ &= y(\theta + \delta, \dots) \\ y^- &= y(\theta - \delta, \dots) \end{aligned}$$

Per ogni coppia i, j si possono scrivere le seguenti espansioni in serie di Taylor:

$$\begin{aligned} y_j^+ &= y_j + \frac{\partial y_j}{\partial \theta_i} \cdot \delta_i + \frac{\partial^2 y_j}{\partial \theta_i^2} \cdot \frac{\delta_i^2}{2} + O(\delta_i^3) \\ y_j^- &= y_j - \frac{\partial y_j}{\partial \theta_i} \cdot \delta_i + \frac{\partial^2 y_j}{\partial \theta_i^2} \cdot \frac{\delta_i^2}{2} + O(\delta_i^3) \\ y_j^+ - y_j^- &= 2\delta_i \cdot \frac{\partial y_j}{\partial \theta_i} + O(\delta_i^3) \end{aligned}$$

da cui è possibile ricavare un'espressione approssimata al secondo ordine per calcolare gli elementi della matrice \mathbf{S} :

$$S_{ij} = \frac{\partial y_j}{\partial \theta_i} \approx \frac{y_j^+ - y_j^-}{2\delta_i} \quad (6.1)$$

Le derivate dell'equazione precedente devono essere calcolate in un punto di riferimento, identificato dal vettore θ_{ref} . Gli elementi di θ_{ref} sono i 17 parametri di riferimento, ricavati dalla letteratura o per mezzo di ipotesi; in particolare tutti i parametri k , eccetto quello della creatinina, sono stati ricavati da fonti bibliografiche [6, 22]. Per la creatinina si è ipotizzato un valore di un ordine di grandezza inferiore a quello dell'urea². Il parametro ρ è stato scelto pari a 1, in quanto tale valore attribuisce alla permeabilità capillare lo stesso valore utilizzato in Ursino et al. [25]. I parametri η sono stati scelti tutti pari a 0,5. Gli incrementi $\pm\delta_i$ sono stati presi pari al $\pm 10\%$ dei valori nominali dei parametri θ_i .

In Fig. 6.1 è mostrato, a titolo esemplificativo, il risultato del calcolo della matrice \mathbf{S} per un paziente generico. Per rendere immediatamente interpretabile la matrice, i valori numerici sono stati convertiti in scala di grigio, in cui al bianco corrisponde sensitività nulla e al nero sensitività massima. Dalla figura si nota immediatamente che in questo particolare caso il parametro k del fosfato ha la massima influenza sull'uscita stessa del fosfato, mentre i parametri k del calcio e η del fosfato non hanno alcuna influenza su nessuna uscita considerata del modello, pertanto potrebbero anche essere omessi dalla fase di ottimizzazione.

La matrice di sensitività tende a svilupparsi maggiormente lungo le diagonali, indice del fatto che ogni parametro specificatamente introdotto per un particolare soluto ha la sua massima influenza su quel soluto. Al di fuori delle diagonali ci sono comunque livelli di grigio che stanno ad indicare ciò che si è anticipato all'inizio del capitolo, e cioè che esiste una interazione non trascurabile fra i parametri di un particolare soluto e le variazioni di altri soluti.

6.2 Ottimizzazione

La difficoltà dell'ottimizzazione dei parametri θ_i è imputabile alla loro numerosità: serve un criterio per stabilire in che ordine è più opportuno ottimizzarli. Il procedimento è paragonabile all'operazione di voler pesare una massa sconosciuta utilizzando una bilancia a due bracci servendosi di alcuni pesi campione (1 kg, 100 gr,

²il parametro k è il coefficiente di diffusione attraverso la membrana cellulare (§ 4.8). Si ipotizza che il rapporto di compartimentazione β (*ibidem*) sia inversamente proporzionale a k e, poiché $\beta_{\text{creatinina}}$ è più grande di circa un ordine di grandezza rispetto a β_{urea} (A.1), si è ipotizzato per $k_{\text{creatinina}}$ un valore dieci volte inferiore a k_{urea} .

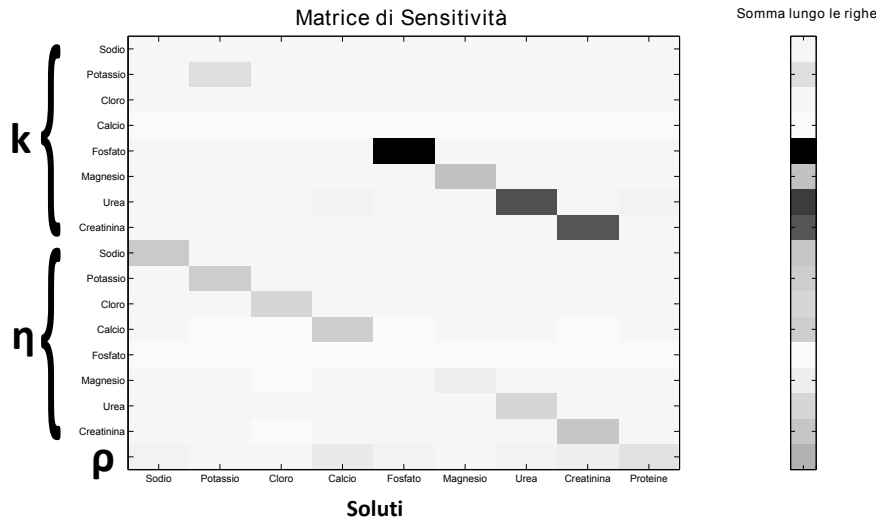


Fig. 6.1: Matrice di sensitività di un paziente generico. La somma lungo le righe di \mathbf{S} è usata come criterio di ordine per la fase di ottimizzazione. Codice colori: scala di grigio lineare da zero (bianco) al valore massimo (nero).

1 *gr* ...). La procedura più rapida è quella di utilizzare per primi i pesi campione più pesanti e successivamente affinare la misura coi pesi campione più leggeri. Allo stesso modo, utilizzando la matrice \mathbf{S} , possiamo individuare quali siano i parametri più influenti e ottimizzarli per primi. La somma dei contributi lungo le righe di \mathbf{S} è un indice di questa "influenza". Così facendo è possibile ottenere il vettore colonna mostrato a destra della matrice \mathbf{S} in Fig. 6.1. Ordinando il vettore dal parametro più pesante a quello più leggero, ovvero dal colore più scuro a quello più chiaro, si è stabilito un plausibile ordine per ottimizzare in sequenza i parametri θ_i .

Il passo successivo è quello di costruire delle *criterion function* opportune che minimizzate restituiscano come valore il parametro ottimo cercato (§ 3.2). Si utilizzerà come criterion function i -esima la seguente funzione:

$$J_i = \sum_{j=1}^N E_{ij} \quad \text{in cui} \quad E_{ij} = \sum_t (y_{j,sim}(\theta_i, t) - y_{j,true}(t))^2 \quad (6.2)$$

la quale restituisce un valore reale positivo misura del grado di scarto fra simulazione numerica e realtà clinica. Una funzione del genere non tiene conto della diversa influenza di ogni parametro θ_i sulle diverse uscite, e non diversifica gli scarti E_{ij} in base alla loro importanza relativa. Per tenere invece conto del fatto che ogni parametro ha un effetto diverso su ogni soluto, si può introdurre un vettore di pesi w_{ij} che assegni ad ogni parametro θ_i una misura del suo effetto sull'uscita y_j . La nuova funzione J_i diventa pertanto:

$$J_i = \sum_{j=1}^N w_{ij} E_{ij} \quad (6.3)$$

mantenendo per E_{ij} la stessa formulazione usata nell'Eq. (6.2). Resta ora il problema di identificare i pesi w_{ij} . Si può ancora una volta sfruttare la matrice di sensitività \mathbf{S} e utilizzare come pesi w_{ij} gli elementi dei vettori riga relativi a ogni parametro θ_i , scalati per la somma degli stessi elementi lungo la riga i -esima, cioè:

$$w_{ij} = \frac{S_{ij}}{\sum_j S_{ij}} \quad (6.4)$$

In questo modo si è creata una *matrice dei pesi* \mathbf{W} in cui la somma degli elementi lungo le righe dà come risultato 1, confermando che si tratta di coefficienti di peso ben definiti. In Fig. 6.2 è illustrata la matrice dei pesi ricavata da quella di

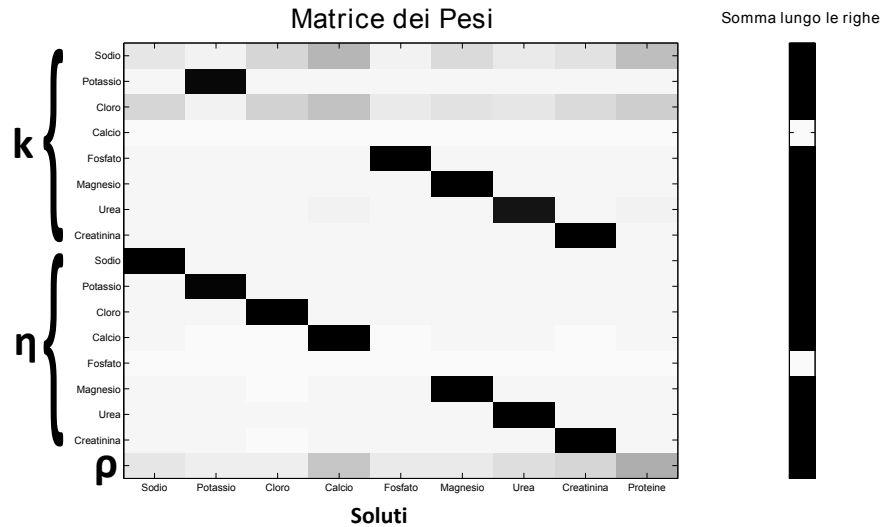


Fig. 6.2: Matrice \mathbf{W} dei pesi ricavata dalla matrice \mathbf{S} . Scala lineare di grigio: Nero = 1, Bianco = 0. La somma pari a 1 lungo le righe di \mathbf{W} mostra che i pesi dei parametri utili all'ottimizzazione sono ben definiti. I parametri dei pesi a somma nulla sono ininfluenti e pertanto esclusi dall'ottimizzazione.

sensibilità. Per la matrice dei pesi il codice dei colori è sempre in scala di grigio lineare dove al nero corrisponde il valore numerico 1 e al bianco il valore numerico 0. Si nota che i parametri ininfluenti (in questo particolare caso k del calcio e η del fosfato) hanno somma dei pesi pari a zero, e pertanto sono esclusi dalla fase di ottimizzazione.

La matrice \mathbf{W} ha un contenuto informativo minore della matrice \mathbf{S} , ma mette in risalto delle proprietà dei parametri altrimenti poco visibili. La tendenza alla diagonalizzazione è molto più marcata nella matrice dei pesi, e risultano più evidenti i fenomeni di interazione fra i parametri e i soluti del modello: il parametro k di sodio e cloro e il parametro ρ sembrano avere un'influenza generalizzata e non specifica per un soluto in particolare. Che il parametro ρ mostri questa proprietà è facilmente spiegabile se si considera che si tratta di un parametro generale, che influenza la permeabilità all'acqua della membrana capillare e quindi influenza potenzialmente la concentrazione plasmatica di ogni soluto. Influenza specialmente le proteine la cui massa compartimentata, ritenuta costante, le rende più suscettibili alle variazioni di concentrazione a seguito di trasferimenti di volume fra plasma e interstizio. L'influenza generalizzata sul modello che invece mostrano i parametri di sodio e cloro può essere dovuta al fatto che questi soluti sono quelli che, rispetto a tutti gli altri, hanno una concentrazione plasmatica maggiore (Tab. A.1) e quindi sono i soluti che danno il maggior contributo all'osmolarità plasmatica, la quale poi influenza i fenomeni di trasporto che riguardano tutti gli altri soluti.

Parte III

Risultati e Discussione

Capitolo 7

Capacità descrittive del modello

In questo capitolo sono analizzate le capacità *descrittive* del modello sviluppato. Gli errori di simulazione che si commettono quando i parametri del modello utilizzati per simulare una particolare seduta, sono ricavati dall'ottimizzazione della stessa specifica seduta, sono stati quantificati e analizzati nella loro distribuzione. Solo nel capitolo successivo saranno indagate le capacità *predittive* del modello, ovvero saranno quantificati gli errori di simulazione che si commettono quando i parametri del modello sono ricavati dall'ottimizzazione sulle sedute precedenti dello stesso paziente.

7.1 Calcolo degli errori

Dopo aver ottimizzato i parametri di ogni seduta attraverso la procedura di ottimizzazione descritta nel Capitolo 6, sono state effettuate le relative simulazioni (6 pazienti x 4 sedute = 24 simulazioni, numero di prelievi per simulazione: variabile) e calcolati gli errori rispetto ai dati ematici. Se si indica con $y_{i,modello}$ la concentrazione plasmatica del soluto i ricavata dalla simulazione, e con $y_{j,reale}$ la stessa concentrazione plasmatica ricavata dai dati ematici clinicamente rilevati, si può definire la seguente misura dell'errore percentuale di stima:

$$e_i = 100 \cdot \frac{y_{i,modello} - y_{i,reale}}{y_{i,reale}} \quad (7.1)$$

Questo tipo di errore quantifica lo scarto simulazione-realtà e dà un'informazione sulla direzione dello scarto: se positivo il dato simulato sovrastima il dato reale; viceversa se negativo il dato simulato sottostima il dato reale. In Tab.7.1 sono riassunti, per ogni soluto, i risultati relativi agli errori di stima e_i in termini di media e deviazione standard della distribuzione di tali errori, più il valore massimo e minimo. Gli stessi indici sono stati calcolati per le distribuzioni formate dai valori assoluti degli errori di stima $|e_i|$. L'introduzione dei valori assoluti degli errori di stima si è resa necessaria per fornire un indice meno ambiguo che mostri le effettive capacità descrittive del modello: ipoteticamente, se ci fossero solo due valori da valutare e questi valori fossero pari a +10% e -10% la media di e_i sarebbe zero, e si potrebbe erroneamente pensare che il modello in media non commetta errori. Questo non si verifica se si calcola la media degli elementi $|e_i|$. In altre parole, mentre il primo indice (cioè la media di e_i) fornisce una misura della *polarizzazione* degli errori, il secondo (cioè la media di $|e_i|$) dà l'effettiva quantificazione degli errori di simulazione.

Tab. 7.1: Capacità descrittiva del modello: errori di stima e_i ed errori assoluti di stima $|e_i|$. Media (μ) e deviazione standard (σ). ($N_{sample} = 87$).

Soluto	Errori di simulazione (%)							
	e_i				$ e_i $			
	μ	σ	min	max	μ	σ	min	max
Sodio	0,11	0,93	-1,93	2,70	0,78	0,51	0,01	2,70
Potassio	-0,51	4,44	-11,86	9,43	3,33	2,96	0,02	11,86
Cloro	-0,02	0,59	-1,32	1,82	0,45	0,37	0,01	1,82
Calcio	0,20	1,91	-5,18	10,62	1,29	1,42	0,03	10,62
Fosfato	1,92	9,42	-15,93	32,98	6,93	6,62	0,05	32,98
Magnesio	3,10	5,35	-7,94	18,23	4,80	3,89	0,05	18,23
Urea	-3,13	10,53	-23,34	18,83	8,88	6,40	0,35	23,34
Creatinina	-3,79	10,03	-26,67	16,42	8,83	6,02	0,06	26,67
Proteine	7,10	4,65	-3,32	18,55	7,23	4,44	0,16	18,55

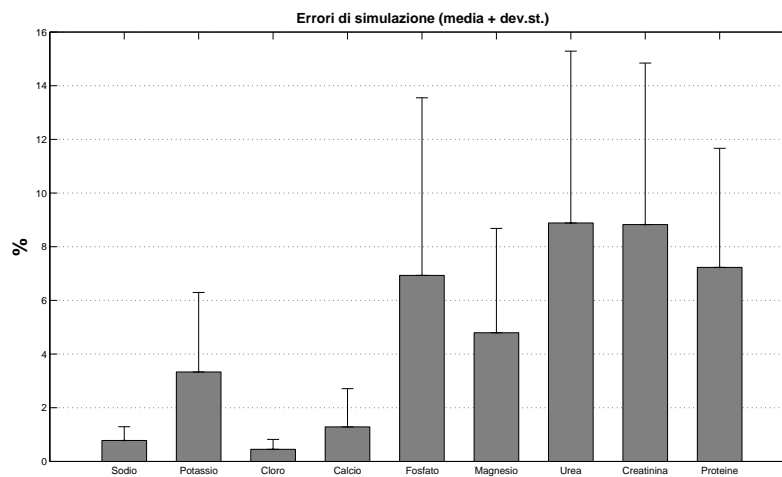


Fig. 7.1: Media + dev. st. degli errori di simulazione $|e_i|$ ($N_{sample} = 87$).

7.2 Analisi dei risultati

Prima di commentare i dati della Tab. 7.1 è doveroso fare una considerazione. Gli errori, calcolati secondo l'Eq.(7.1), sono misure di scarto *rapportate* al valore vero rispetto al quale si calcola lo scarto. Questo vuol dire che se il valore vero è molto alto, gli errori relativi tenderanno ad essere bassi, dando l'impressione che il modello simuli bene la realtà clinica. È questo il caso, ad esempio, del sodio per il quale il valore di riferimento è intorno alle 142 mmol/L (Tab. A.1). Viceversa, quando il valore vero è molto basso lo scarto relativo diventa grande, dando l'impressione che il modello simuli male la realtà clinica. È questo il caso della creatinina per la quale il valore di riferimento è intorno alle $0,2 \text{ mmol/L}$ (*ibidem*). Con questa precisazione si vuole dare un ulteriore elemento che sia utile per l'interpretazione critica dei risultati.

Proteine: analizzando le medie degli errori di stima e_i , si nota che la concentrazione delle proteine è sempre sovrastimata. Si è individuato, a posteriori, che il *bias* è dovuto alle ipotesi riguardanti la dinamica delle proteine: si

era ipotizzato infatti che le proteine non fossero coinvolte in alcuno scambio di massa, perché ritenute non permeanti le membrane considerate nel modello (membrana capillare, cellulare, del dializzatore). La concentrazione plasmatica delle proteine quindi, poiché nel corso della dialisi il volume plasmatico diminuisce sempre, non può che aumentare. Questa ipotesi cade dopo che si controllano i risultati delle analisi del sangue effettuate sui campioni provenienti dalla realtà dialitica. In Fig. 7.2 sono mostrati i grafici relativi all'evoluzione della concentrazione plasmatica delle proteine di due sedute dialitiche di due diversi pazienti. Si nota che tale concentrazione resta sempre al

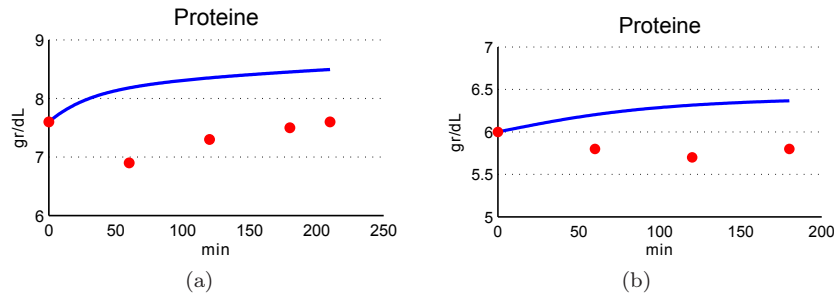


Fig. 7.2: Simulazione (linea continua) *vs* dati clinici (puntini). La concentrazione plasmatica delle proteine nel corso della dialisi presenta valori inferiori rispetto a quelli iniziali, e ciò fa cadere le ipotesi fatte nel modello sulle proteine. (a) codice dialisi = MAR4, (b) codice dialisi = VAS2

di sotto di quella a inizio seduta, fatto questo inspiegabile col modello attuale. Questo particolare andamento non emerge nei lavori precedenti riguardanti l'emodialisi [6, 22], nei quali le proteine tendono sempre a concentrarsi lungo il corso della seduta. È perciò possibile ipotizzare che questo comportamento sia tipico dell'HDF. Per quanto riguarda quindi la dinamica delle proteine è necessaria una modifica strutturale del modello. Delle modifiche che possono essere apportate sono (in ordine di plausibilità):

- separare dalle proteine totali il contributo dell'albumina e considerare una possibile filtrazione di questa frazione proteica.
- introdurre un termine di perdita dal compartimento plasmatico che tenga conto dell'*adsorbimento*¹ delle proteine sulla membrana del dializzatore;
- verificare che il rapporto fra diluizione e ultrafiltrazione resti costante durante il corso della dialisi per escludere o includere un eventuale intervento della macchina dializzatrice nella determinazione degli scambi volumetrici;
- considerare che il sistema linfatico tende a creare uno spostamento di proteine fra plasma e interstizio bypassando la membrana capillare [2].

Nonostante le ipotesi riguardanti la dinamica delle proteine siano state invalidate dai dati clinici, considerando un valore di riferimento di circa 7 *gr/dL* l'errore massimo compiuto nella simulazione delle proteine, pari al 17%, corrisponde ad un errore sulla loro concentrazione di circa 1,26 *gr/dL*, che secondo la formula di Landis-Pappenheimer, dà un contributo oncotico di circa 3 *mmHg*, ben tamponato e compensato dai processi di feedback dell'organismo umano [2].

¹l'adsorbimento è il fenomeno attraverso il quale delle molecole restano adese ad una superficie.

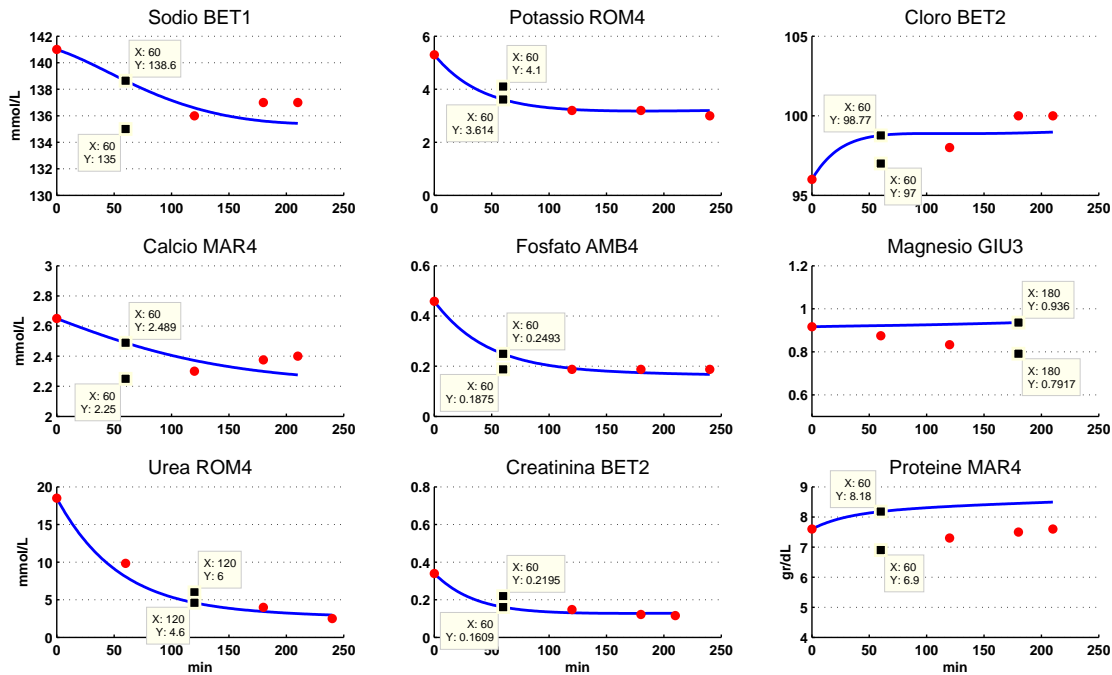


Fig. 7.3: Casi in cui l'errore di simulazione è massimo in valore assoluto (vedi l'ultima colonna di Tab. 7.1). Simulazione (linea continua blu), dati veri (puntini rossi), punti di errore massimo (quadrati neri).

Sodio: l'errore massimo in valore assoluto sul sodio è del 2,70%, il che potrebbe essere considerato accettabile. Se però si guarda alla Fig. 7.3, si scopre che tale errore corrisponde a una sovrastima di 3,6 $mmol/l$ della reale concentrazione plasmatica. Bisogna tener presente che uno dei sintomi più frequenti in dialisi sono i crampi muscolari, imputabili principalmente alle variazioni del sodio plasmatico e, sebbene l'HDF riduca tali sintomi rispetto all'emodialisi convenzionale [9], un errore nella predizione della dinamica del sodio potrebbe comportare, qualora un medico basasse le proprie decisioni sul modello descritto in questa tesi, l'insorgenza di crampi muscolari. Prima di decidere se un errore massimo del 2,70% sul sodio è accettabile o meno, bisognerebbe stabilire quale sia la variazione accettabile sulla sua concentrazione plasmatica.

Potassio: l'errore massimo in valore assoluto sul potassio è pari all'11,86% e corrisponde ad una sottostima di circa 0,49 $mmol/L$ rispetto al valore vero. L'accettabilità dell'errore è subordinata all'accettabilità della sottostima. Il potassio è un soluto importante per la ritmicità del battito cardiaco e una decisione clinica basata su un errore di valutazione di questo soluto potrebbe a lungo termine costituire un pericolo per il paziente. Tuttavia, per le valutazioni di lungo termine dobbiamo considerare l'errore medio di simulazione sul soluto, che per il potassio vale 3,33% (ca. 0,12 $mmol/L$).

Cloro: rammentando che, dopo quella del sodio, la concentrazione plasmatica basale del cloro è la più alta fra i restanti soluti, e che quindi bisogna porre

Per confermare l'esistenza di tale fenomeno potrebbe essere utile pesare il filtro dializzatore prima e dopo la dialisi.

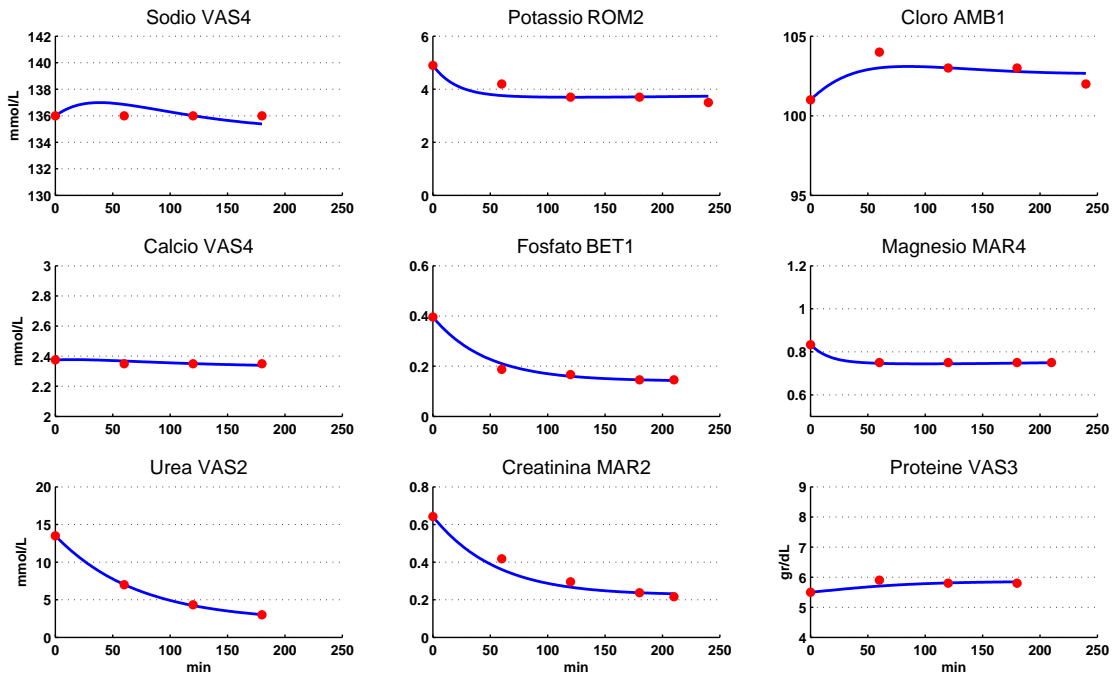


Fig. 7.4: Casi in cui l'errore di simulazione è minimo in valore assoluto. Simulazione (linea continua blu), dati veri (puntini rossi).

attenzione alla valutazione degli errori, l'errore massimo in valore assoluto sul cloro è dell'1,82% (ca. $1,77 \text{ mmol/L}$), e sembra quindi essere il soluto meglio simulato dal modello.

Calcio: unico fra gli elettroliti in virtù dell'enorme differenza di concentrazione fra l'esterno e l'interno della cellula², il calcio ha un ruolo cruciale nell'accoppiamento eccitazione-contrazione nella muscolatura scheletrica, miocardica e liscia [2]. Eventuali problematiche di ipo- o ipercalcemia si sviluppano nel lungo termine, il che ci permette di usare come valutazione della bontà del modello l'errore medio assoluto³, pari per il calcio plasmatico all'1,42% (ca. $0,24 \text{ mmol/L}$).

Magnesio: nel caso presentato in Fig. 7.3 la dinamica simulata del magnesio è completamente diversa da quella reale: la prima è crescente mentre la seconda è decrescente e l'errore assoluto massimo è pari al 18,23%. Fra tutte le 24 sedute analizzate, solo in altri quattro casi si nota un andamento analogo. Nelle restanti 19 sedute si ha un andamento simile a quello di Fig. 7.4. Valutazioni cliniche erronee basate sulla simulazione di questo soluto potrebbero non avere conseguenze gravi in quanto la quantità di magnesio plasmatico corrisponde a solo il 3,7% circa del magnesio totale nell'organismo (Tab. A.1) e che il magnesio legato nell'osso rappresenta una *pool* rapidamente scambiabile che funge da riserva per mantenere costante la concentrazione extracellulare di magnesio [2]. Quest'ultima considerazione suggerisce che un modo per

²il calcio intracellulare è quasi inesistente. Nel modello il calcio intracellulare è stato inizializzato con il valore `eps`, che in Matlab rappresenta il limite di precisione numerica.

³dopo aver anche verificato che in nessun paziente ci siano delle deviazioni preferenziali, cioè sempre superiori o sempre inferiori, rispetto allo scostamento medio.

migliorare la simulazione di questo soluto è quello di usare un modello a tre compartimenti che tenga conto dell'interazione del magnesio col sistema osseo. Un'alternativa possibile è quella di rimuovere questo soluto dal modello sviluppato. Il contributo del magnesio sull'osmolarità plasmatica totale ammonta ad appena lo 0,27% (Tab. A.1) e pertanto un'esclusione di questo soluto dal modello non comporterebbe variazioni significative sugli altri soluti.

Fosfato: è il soluto in cui gli errori assoluti sono fra i più dispersi e di cui l'errore massimo supera il 30%. È anche il soluto che, insieme alla creatinina, ha la concentrazione plasmatica basale più bassa, e ciò contribuisce sicuramente ad amplificare la misura, effettuata secondo l'Eq. 7.1, degli errori di simulazione. La causa può anche essere attribuita alla modellizzazione della cinetica del soluto. Infatti, nella letteratura medica [46] il fosfato plasmatico, durante il corso della dialisi, presenta un andamento bifasico decrescente/crescente, tale per cui se la concentrazione del fosfato scende al di sotto di una certa soglia, entra in azione un meccanismo che tende a farne rialzare la concentrazione plasmatica. Effettivamente possiamo constatare che in alcuni pazienti (esempio in Fig. 7.5), la concentrazione a fine dialisi del fosfato è superiore rispetto alle rilevazioni immediatamente precedenti. Per ridurre gli errori nella simulazione del fosfato, bisognerebbe considerare di implementare un modello a tre o addirittura quattro compartimenti, come è stato fatto in lavori precedenti riguardanti l'emodialisi [23, 24]. Dalla Tab. 7.2 si può tuttavia constatare che a fine dialisi nessun errore sul fosfato supera il 20% e che oltre la metà di essi è comunque inferiore al 5%.

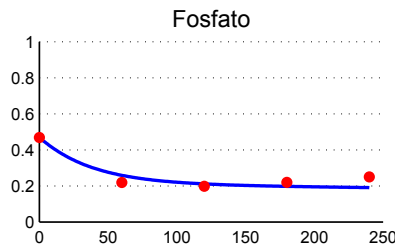


Fig. 7.5: Simulazione (linea continua) vs dati clinici (puntini). Il fosfato reale mostra un andamento bifasico modellizzabile con l'introduzione di altri compartimenti. Codice dialisi: AMB3.

Urea: l'errore massimo in valore assoluto sull'urea è del 23,34% ($1,4 \text{ mmol/L}$). Il punto in cui è calcolato questo errore corrisponde alla seconda ora della seduta dialitica (Fig. 7.3). Per questo soluto è più importante valutare la concentrazione a fine dialisi in quanto è il valore col quale il paziente lascia la seduta dialitica e che tenderà ad aumentare fino alla seduta successiva. Come si vede dalla Tab. 7.2 a fine dialisi oltre il 50% degli errori commessi è inferiore al 10% che corrisponde a circa $0,4 \text{ mmol/L}$ (rif. a fine dialisi di 4 mmol/L).

Creatinina: l'errore massimo in valore assoluto sulla creatinina è del 26,67% ($0,06 \text{ mmol/L}$). Il punto in cui è calcolato questo errore corrisponde alla prima ora della seduta dialitica (Fig. 7.3). Per questo soluto, come per l'urea, è più importante valutare la concentrazione a fine dialisi in quanto è il valore col quale il paziente lascia la seduta dialitica e che tenderà ad aumentare fino alla seduta successiva. Come si vede dalla Tab. 7.2 anche per la creatinina a fine dialisi oltre il 50% degli errori commessi è inferiore al 10%, che corrisponde a circa $0,02 \text{ mmol/L}$ (rif. a fine dialisi di $0,2 \text{ mmol/L}$).

Tab. 7.2: Distribuzione degli errori di simulazione dopo un'ora e alla fine della seduta dialitica.

Soluto	Distribuzione degli errori di simulazione $ e_i $ (%)							
	60 min				fine dialisi			
	$\leq 5\%$	5 – 10%	10 – 20%	$> 20\%$	$\leq 5\%$	5 – 10%	10 – 20%	$> 20\%$
Sodio	100,00	–	–	–	100,00	–	–	–
Potassio	54,17	25,00	20,83	–	66,67	33,33	–	–
Cloro	100,00	–	–	–	100,00	–	–	–
Calcio	95,83	–	4,17	–	95,83	4,17	–	–
Fosfato	33,33	8,33	45,83	12,50	54,17	29,17	16,67	–
Magnesio	45,83	50,00	4,17	–	50,00	29,17	20,83	–
Urea	29,17	33,33	33,33	4,17	37,50	20,83	41,67	–
Creatinina	20,83	41,67	33,33	4,17	20,83	41,67	37,50	–
Proteine	20,83	45,83	33,33	–	45,83	37,50	16,67	–

La valutazione della bontà del modello non può basarsi, per quanto anticipato all'inizio del paragrafo, solo sull'analisi degli errori percentuali, perché si corre il rischio di dare poco peso agli errori più gravi in termini di $mmol/L$ (e.g. sodio), oppure di criticare scostamenti che gravi potrebbero non essere (e.g. fosfato, urea, creatinina). Per questo si è cercato, in queste pagine, di fornire anche considerazioni di tipo clinico, che siano di ausilio, dove possibile, per la corretta interpretazione degli errori di simulazione.

Capitolo 8

Capacità predittive del modello e applicabilità clinica

In questo capitolo sono descritte le capacità *predittive* del modello, ovvero sono quantificati gli errori di simulazione che si commettono quando i parametri del modello utilizzati per simulare una particolare seduta sono ricavati dall'ottimizzazione sulle sedute precedenti dello stesso paziente. Si confronteranno gli errori di descrizione, ricavati nel capitolo precedente (*gold standard*), con quelli di predizione.

8.1 Parametri ottimizzati sulla prima seduta

La Tab. 8.1 mostra gli errori assoluti $|e_i|$ che si commettono sulla simulazione delle concentrazioni plasmatiche, calcolati in due casi:

1. quando le sedute 2, 3 e 4 sono simulate dopo aver ottimizzato i parametri sulle stesse sedute;
2. quando le sedute del punto precedente sono simulate identificando i parametri sulla seduta 1.

Lo scopo di questo confronto è quello di valutare la possibilità di utilizzare il modello per predire l'andamento di sedute successive alla prima, dopo aver identificato i parametri su un set di dati provenienti dalle sedute precedenti. Gli errori di predizione sono sempre mediamente più alti rispetto al gold standard, ad eccezione delle proteine e del magnesio in cui questi errori si mantengono sullo stesso livello. Sul caso delle proteine c'è da aggiungere che le ipotesi di simulazione che le riguardano dovranno essere comunque parzialmente riviste.

Sodio: in fase di previsione gli errori di simulazione raggiungono un valore massimo del 21,73%, che corrisponde a circa 31 *mmol/L* (valore di riferimento 142 *mmol/L*). Poiché il sodio è il soluto che influisce maggiormente sull'osmolarità plasmatica, gli errori di predizione sul sodio (non tascurabili) potrebbero influenzare la simulazione della dinamica degli altri soluti.

Potassio: gli errori di predizione raggiungono un valore massimo del 12,93%, che corrisponde a circa 0,5 *mmol/L* (rif. 4,2 *mmol/L*). Se per una valutazione di lungo termine consideriamo i valori medi, allora l'errore di predizione è inferiore alle 0,3 *mmol/L*.

Cloro: in fase di previsione gli errori di simulazione presentano una media del 3,74%, che corrisponde a circa 4 *mmol/L* (rif. 108 *mmol/L*). Come per il

Tab. 8.1: Errori $|e_i|$ descrittivi a confronto con quelli predittivi sulle sedute 2, 3 e 4. $N_{sample} = 65$. I parametri per la predizione sono identificati sui dati della seduta 1.

Soluto	Errori di simulazione $ e_i $ (%)					
	descrittivi			predittivi		
	μ	σ	max	μ	σ	max
Sodio	0,78	0,48	2,12	5,05	3,61	12,93
Potassio	3,31	3,05	11,86	6,97	4,85	21,73
Cloro	0,46	0,38	1,82	3,74	2,27	8,45
Calcio	1,48	1,57	10,62	14,25	10,31	35,38
Fosfato	6,69	6,32	32,98	12,41	11,14	37,27
Magnesio	5,28	4,16	18,23	6,44	3,96	14,90
Urea	9,13	6,74	23,34	14,41	9,18	34,92
Creatinina	9,21	6,27	26,67	13,01	8,37	35,08
Proteine	7,51	4,66	18,55	7,96	4,51	18,48

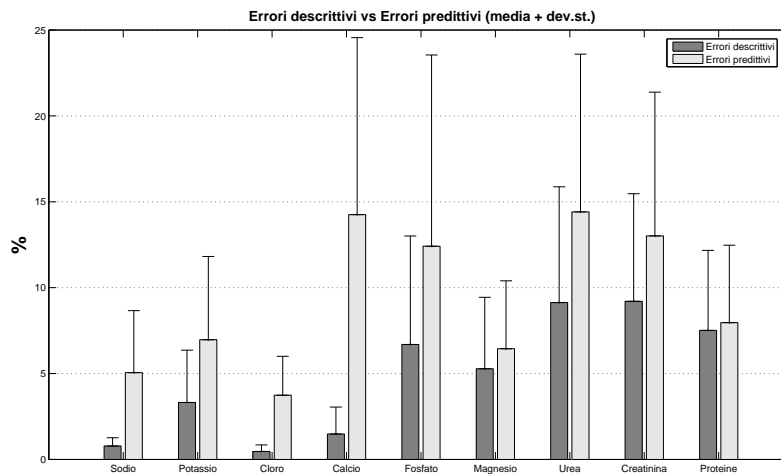


Fig. 8.1: Media + deviazione standard degli errori descrittivi confrontati con quelli predittivi (sedute 2, 3 e 4, $N_{sample} = 65$). I parametri per la predizione sono stati identificati sulla seduta 1.

sodio, anche il cloro ha un effetto importante sull'osmolarità plasmatica, e un errore di simulazione sul cloro potrebbe quindi avere effetti anche sulla simulazione degli altri soluti.

Calcio: in questo caso gli scostamenti fra gold standard e predizione sono evidenti. Gli errori medi, infatti, passano da 1,48% al 14,25%. Prima di utilizzare il modello sviluppato a scopi predittivi sarebbe opportuno rivedere la modellizzazione del soluto aggiungendo un terzo compartimento. È plausibile pensare ad un buffer identificato dal periostio, lo strato che riveste le ossa, dal quale e verso il quale il calcio può essere velocemente mobilizzato [24].

Fosfato: in fase di previsione gli errori di simulazione raggiungono un valore massimo del 37,27%, che corrisponde a circa 0,75 $mmol/L$ (rif. 2 $mmol/L$). Ricordiamo che il modello per questo soluto dovrebbe essere aggiornato con l'aggiunta di uno o due compartimenti interagenti con quello plasmatico.

Magnesio: per questo elettrolita non si notano differenze significative con quanto descritto nel capitolo precedente.

Urea: in fase di previsione gli errori di simulazione raggiungono un valore massimo del 34,92%, che corrisponde a circa 1,4 $mmol/L$ (rif. 4 $mmol/L$). Ipotizzando nel peggiore dei casi che questo sia un errore di sottostima a fine dialisi, e cioè che, basandosi sulla previsione del modello si rischia di mandare a casa il paziente con più urea del previsto, si potrebbe compensare l'incertezza prolungando il tempo di dialisi.

Creatinina: in fase di previsione gli errori di simulazione raggiungono un valore massimo del 35,08%, che corrisponde a circa 0,07 $mmol/L$ (rif. 0,2 $mmol/L$). Anche in questo caso, come per l'urea, si potrebbe pensare, a scopi cautelativi, di prolungare il tempo di dialisi.

8.2 Parametri ottimizzati sulle prime due sedute

La Tab. 8.2 mostra gli errori assoluti $|e_i|$ che si commettono sulla simulazione delle concentrazioni plasmatiche, calcolati in due casi:

1. quando le sedute 3 e 4 sono simulate dopo aver ottimizzato i parametri sulle stesse sedute;
2. quando le sedute 3 e 4 sono simulate coi parametri identificati e mediati sulle due sedute precedenti.

Lo scopo di questo confronto è quello di valutare la possibilità di utilizzare il modello per poter fare previsioni sulle sedute future, dopo aver identificato i parametri su un set di dati provenienti da due sedute. Come nel caso della previsione basata su un'unico processo identificativo (§ 8.1), gli errori di previsione sono sempre mediamente più alti rispetto al gold standard.

In Fig. 8.3 sono messi a confronto gli errori di previsione, commessi dopo l'identificazione dei parametri su una seduta con quelli commessi dopo l'identificazione su due sedute. Si tratta del confronto diretto fra gli errori predittivi di Tab. 8.1 con quelli di Tab. 8.2. Non si notano differenze sostanziali fra gli istogrammi, e sembra quindi che l'identificare i parametri su più di una seduta non comporti miglioramenti sulla previsione delle sedute successive.

Tab. 8.2: Errori $|e_i|$ descrittivi a confronto con quelli predittivi sulle sedute 3 e 4. $N_{sample} = 43$. I parametri per la previsione sono identificati sui dati delle sedute 1 e 2 e mediati fra loro.

Soluto	Errori di simulazione $ e_i $ (%)					
	descrittivi			predittivi		
	μ	σ	max	μ	σ	max
Sodio	0,78	0,52	2,12	4,60	3,55	11,40
Potassio	3,17	2,98	11,86	7,63	7,74	31,82
Cloro	0,39	0,33	1,62	3,03	2,79	9,55
Calcio	1,70	1,85	10,62	14,39	14,23	51,90
Fosfato	6,25	6,73	32,98	16,17	13,12	42,88
Magnesio	5,33	4,69	18,23	7,24	4,17	14,77
Urea	8,78	6,60	23,34	13,81	7,83	34,61
Creatinina	8,88	6,00	21,80	12,12	6,49	26,20
Proteine	8,24	4,56	18,55	8,75	4,15	18,71

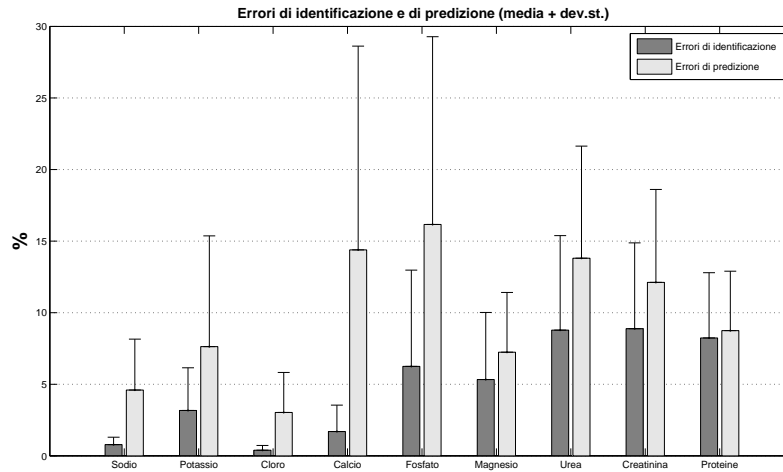


Fig. 8.2: Media + deviazione standard degli errori descrittivi confrontati con quelli predittivi (sedute 3 e 4, $N_{sample} = 43$). I parametri per la predizione sono stati identificati e mediati sulle sedute 1 e 2.

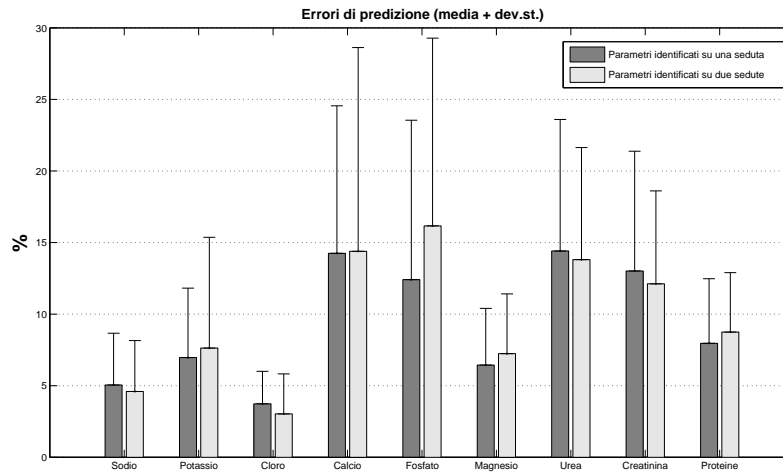


Fig. 8.3: Media + deviazione standard degli errori di predizione. Confronto fra gli errori commessi dopo l'identificazione dei parametri su una seduta e quelli commessi dopo l'identificazione su due sedute. Non si notano differenze sostanziali.

8.3 Applicabilità clinica: pre- vs post-diluizione

Uno degli aspetti più controversi dell'emodiafiltrazione riguarda la modalità di diluizione da utilizzare: pre- o post-diluizione. Entrambe le metodiche possiedono sia vantaggi che svantaggi (Capitolo 2), ed è quindi auspicabile capire quale sia quella più adatta a scopi clinici. In post-diluizione è maggiore la clearance delle molecole a basso peso molecolare, ma è anche maggiore il rischio di perdite di albumina a causa delle elevate pressioni di transmembrana. Dall'altra parte, con la pre-diluizione queste perdite di albumina sono scongiurate, ma la clearance dei soluti a basso peso molecolare è ridotta a causa della diluizione a monte del dializzatore

(riduzione del gradiente di concentrazione) [15, 16].

Le sedute simulate in questa tesi sono state effettuate tutte in post-diluzione. Tuttavia nel modello proposto è possibile simulare ambedue le modalità di diluizione, specificandola nei dati in ingresso attraverso una stringa (`type_hdf='pre'` oppure `type_hdf='post'`). In Fig. 8.4 è stata simulata la stessa seduta sia in pre- che in post-diluzione. Precisamente la post-diluzione è stata simulata utilizzando come dati in ingresso la media dei dati in ingresso delle 24 sedute dialitiche seguite nel periodo di studio. Per la simulazione della prediluzione si sono utilizzati gli stessi dati di ingresso, modificando opportunamente la portata di diluizione Q_s in modo da mantenere, in ambedue le simulazioni, la stessa frazione di filtrazione FF . Rispetto a fosfato, magnesio, urea e creatinina (escludendo dall'analisi le proteine

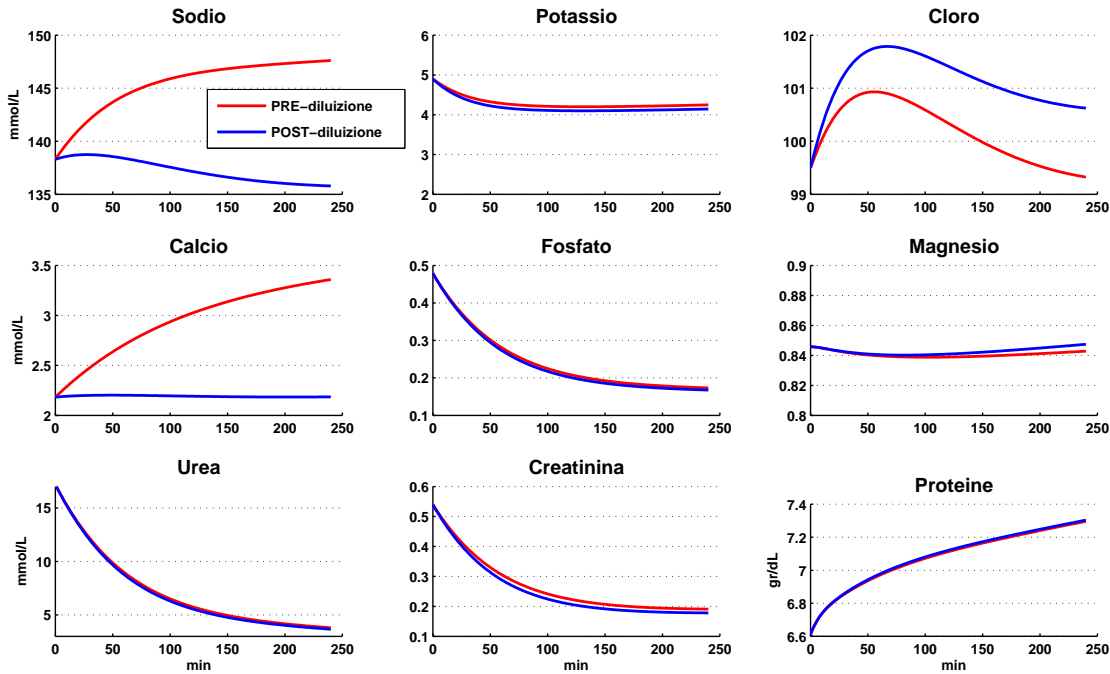


Fig. 8.4: Confronto fra pre-diluzione (linea rossa) e post-diluzione (linea blu). La seduta dialitica originale è quella in post-diluzione. Per la pre-diluzione sono stati utilizzati gli stessi parametri e le stesse condizioni iniziali della post-diluzione, ad eccezione della portata di infusione Q_s che è stata modificata per ottenere la stessa frazione di filtrazione (FF) pari a 0,51.

per le quali si è ipotizzato che non interagiscono col dializzatore) non si notano differenze significative fra le due modalità. Fra gli elettroliti, il sodio, il cloro e il calcio mostrano una clearance maggiore in post-diluzione, il che è confermato dalla letteratura quando si afferma che i soluti a basso peso molecolare sono meglio rimossi in post-diluzione [15]. Il cloro, pur essendo un soluto a basso peso molecolare, mostra però un comportamento opposto agli altri elettroliti. Essendo l'unico elettrolita con carica negativa a mostrare una marcata differenza, si potrebbe pensare di attribuire questa differenza alla carica, ma allora non si spiegherebbe perché il fosfato con tre cariche negative non mostri un simile andamento. Nel caso del fosfato tuttavia le differenze non sono molto marcate, e ciò può essere dovuto alla sua compartimentazione prettamente intracellulare (coeff. $\beta > 1$). Dopo queste considerazioni

possiamo individuare una teoria che spieghi le differenze fra pre e post-diluizione basata sulla compartimentazione e sulla carica elettrica dei soluti. Le differenze fra pre e post-diluizione possono essere dovute in primo luogo alla compartimentazione, e quindi al coefficiente β (Appendice A.2). Ad un coefficiente $\beta > 1$ corrisponde una compartimentazione prettamente intracellulare e quindi la pre- o la post-diluizione hanno uno scarso effetto nel diluire la concentrazione plasmatica già bassa. Questo è il caso di potassio, fosfato e magnesio. Viceversa, per i soluti con coefficiente $\beta < 1$ corrisponde una compartimentazione prettamente extracellulare e pertanto la pre-diluizione ha un effetto maggiore nel diluirne la concentrazione plasmatica. Questo è il caso di sodio, cloro e calcio, che infatti mostrano una differenza marcata fra pre- e post-diluizione. Fra i soluti con $\beta < 1$, la carica elettrica potrebbe determinare quale delle due modalità di diluizione sarà la più efficace nella rimozione del soluto: se positiva (sodio, calcio) la post-diluizione comporta una capacità di estrazione maggiore; viceversa se negativa (cloro) sarà con la pre-diluizione che si avrà una clearance maggiore.

Capitolo 9

Conclusioni e sviluppi futuri

Lo scopo principale di questa tesi è stato quello di sviluppare e implementare un modello matematico che permetta la simulazione di una procedura dialitica chiamata *emodiafiltrazione on-line*. Ad oggi, nella letteratura di pertinenza, non si trovano modelli che permettano di progettare a priori tale tipo di trattamento. Per questo lavoro ci si è basati su modelli precedenti, sviluppati per la simulazione di sedute di emodialisi (§ 2.5), le cui equazioni sono state riviste e adattate per descrivere la nuova tecnica dialitica (Capitolo 5). Dopo aver constatato alcune limitazioni del modello sviluppato nel descrivere e predire la dinamica dei soluti di interesse (Capitoli 7 e 8), si sono identificati dei possibili spazi d'azione per delle modifiche strutturali volte al miglioramento del modello stesso (introduzione dei fenomeni di adsorbimento per le proteine e dinamiche multicompartimentali per calcio, fosfato e magnesio).

I dati relativi alle sedute dialitiche sono stati registrati manualmente, in base alle informazioni lette sul monitor della macchina di dialisi ad inizio seduta e, periodicamente, in concomitanza dei prelievi ematici orari. Da queste letture si è verificata la tendenza della macchina a mantenere invariati i parametri di dialisi (es. Q_{uf}), tranne nei casi in cui si verificano otturazioni degli accessi vascolari. La possibilità di reperire questi dati in maniera automatica dalla dializzatrice permetterebbe di utilizzare questo flusso informativo come ingresso diretto al modello, aumentandone la precisione ed eliminando il problema di possibili errori umani di immissione dati. Si potrebbe anche usare il contenuto informativo delle pressioni di transmembrana del dializzatore per pilotare, nel modello, il fenomeno di trasporto convettivo.

Attualmente la dinamica di ogni soluto è regolata attraverso due parametri specifici (il coefficiente di trasferimento di massa attraverso la membrana cellulare k e il coefficiente della capacità estrattiva del filtro dializzatore η) più un terzo parametro di carattere generale (coefficiente di permeabilità capillare ρ). Un ampio spazio per l'individuazione di possibili modifiche migliorative è fornito dall'analisi di sensitività di questi parametri sulle uscite del modello (Capitolo 6).

Successivamente alla riduzione degli errori di simulazione, si è pensato di indagare quali differenze ci siano fra la pre- e la post-diluizione e a cosa siano dovute, individuando nel grado di compartimentazione e nella carica elettrica dei soluti due possibili elementi che, insieme alla modalità di diluizione, ne influenzano l'andamento. A questo risultato si è giunti per via teorica, e fra gli sviluppi futuri ci sarebbe sicuramente da includere una conferma sperimentale di quanto teorizzato.

Parte IV

Appendici e Bibliografia

Appendice A

Parametri del modello “paziente”

A.1 Coefficienti di Donnan - α_d

Come spiegato in §4.4, sono le proteine plasmatiche, che a pH fisiologico si trovano in forma anionica e sono impermeanti alla membrana capillare, che causano l'effetto Donnan. Considerando l'Eq. (4.4) e la Tab. A.1, all'equilibrio il coefficiente di Donnan α , relativo a un generico soluto, si calcola attraverso la formula:

$$\alpha = \frac{C_{is,eq}}{C_{pl,eq}} \quad (\text{A.1})$$

in cui i valori plasmatici e interstiziali di equilibrio sono ricavati dalla Tab. A.1. Ci si aspetta che tale coefficiente, per la fisica dell'effetto Donnan, vari in funzione della concentrazione plasmatica delle proteine (T_p espressa in gr/dL). In questa sede si ipotizza che:

- l'effetto Donnan sia linearmente dipendente dalla concentrazione plasmatica delle proteine;
- che l'effetto si annulli in assenza di proteine, cioè che $\alpha_d = 1$ se $T_p = 0$;
- che α_d assuma i valori forniti dall'Eq.(A.1) quando $T_p = 7 \text{ gr/dL}$.

Il problema, così esposto, diventa semplicemente quello di trovare l'equazione di una retta passante per due punti. L'equazione cercata è:

$$\alpha_d = \frac{\alpha - 1}{7} \cdot T_p + 1 \quad (\text{A.2})$$

A.2 Coefficienti di equilibrio cellulare - β

Da quanto spiegato in § 4.8.2, il coefficiente β rappresenta il rapporto di equilibrio fra concentrazione intracellulare ed interstiziale. Tale rapporto di equilibrio lo ricaviamo dalla Tab. A.1, e pertanto l'equazione che ci permette di calcolare la costante β per ogni soluto è:

$$\beta = \frac{C_{ic,eq}}{C_{is,eq}} \quad (\text{A.3})$$

Tab. A.1: Sostanze osmolari nel compartimento plasmatico, interstiziale e intracellulare, tratte da Guyton et al. [2]. Valori all'equilibrio.

	Plasma (<i>mOsm/L_{H2O}</i>)	Interstiziale (<i>mOsm/L_{H2O}</i>)	Intracellulare (<i>mOsm/L_{H2O}</i>)
Na^+	142,0	139,0	14,0
K^+	4,2	4,0	140,0
Ca^{++}	1,3	1,2	0,0
Mg^{++}	0,8	0,7	20,0
Cl^-	108,0	108,0	4,0
HCO_3^-	24,0	28,3	10,0
$HPO_4^{--}, H_2PO_4^-$	2,0	2,3	11,0
SO_4^-	0,5	0,5	1,0
Fosfocreatina			45,0
Carnosina			14,0
Aminoacidi	2,0	2,0	8,0
Creatinina	0,2	0,2	9,0
Lattato	1,2	1,2	1,5
Adenosina trifosfato			5,0
Esoso monofosfato			3,7
Glucosio	5,6	5,6	
Proteina	1,2	0,2	4,0
Urea	4,0	4,0	4,0
Altri	4,8	3,6	7,0
<i>mOsm/L</i> totali	301,8	300,8	301,2
Attività osmotica corretta	282,0	281,0	281,0

Appendice B

Parametri del modello “dializzatore”

B.1 Dialisance/Clearance

Il filtro utilizzato nel centro dialisi per le sedute di *on-line* HDF è il filtro *Fresenius HF80s*, le cui caratteristiche di clearance sono tabulate in Tab. B.1 in base al peso molecolare PM e alla portata Q_B di sangue intero in ingresso al dializzatore, in regime di filtrazione nulla. Il valore di clearance/dialisance per i soluti di interesse

Tab. B.1: Clearance di alcuni soluti. Filtro *Fresenius HF80s*, $Q_f = 0$.

Soluto	PM	Clearance (mL/min)	
		($Q_B = 200 \text{ mL/min}$)	($Q_B = 300 \text{ mL/min}$)
Urea	60	192	248
Creatinina	113	180	225
Vitamina B_{12}	1355	135	155
Inulina	5200	110	120

(sodio, potassio, ...) è calcolato in base a una doppia interpolazione dei valori di Tab. B.1: la prima interpolazione di tipo logaritmica, in base al peso molecolare; la seconda lineare in base alla portata volumetrica in ingresso al dializzatore. A titolo esemplificativo, in Fig.B.1 mostriamo con una linea nera tratteggiata il risultato della doppia interpolazione per una vasta gamma di pesi molecolari quando in ingresso al dializzatore si ha una portata di 250 mL/min . La portata volumetrica in ingresso al dializzatore è calcolata nel seguente modo:

$$Q_B = Q_{fistola} \quad , \text{ in POST-diluizione}$$
$$Q_B = Q_{fistola} + Q_s \quad , \text{ in PRE-diluizione}$$

dove Q_s è la portata del fluido di diluizione.

B.2 Coefficienti di Staverman - σ

Nell'Eq. (4.25b) che descrive il flusso convettivo attraverso la membrana del dializzatore, compare il fattore di *hindrance* ε . Il complemento a uno di ε è chiamato *coefficiente di riflessione*, o di *Staverman*, e si indica con la lettera σ . Da correlazioni

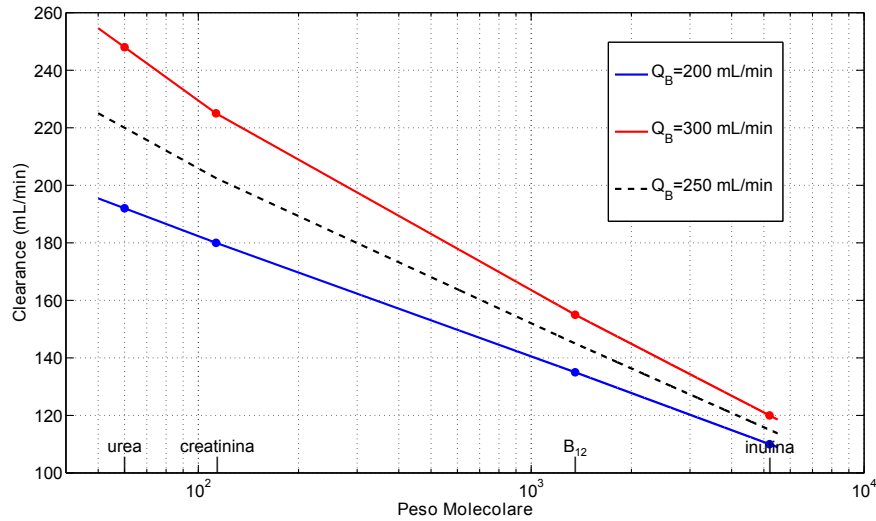


Fig. B.1: Clearance del filtro HF80s, in regime di filtrazione nulla ($Q_f = 0$).

sperimentali [30] si ricava che:

$$\sigma_s = \left(1 - \left(1 - r_s/r_p\right)^2\right)^2 \quad (\text{B.1})$$

dove r_s/r_p è il rapporto fra il raggio del soluto s e del poro della membrana. In Liao et al. [30] si trova che per l'inulina ($r_s = 1,47 \text{ nm}$) il filtro HF80s ha un coefficiente σ_s pari a 0,56. Da questi dati, usando l'Eq. (B.1), possiamo ricavare il raggio (medio efficace) dei pori del filtro HF80s. Successivamente, conoscendo il raggio dei soluti che vogliamo introdurre nel modello, possiamo usare la stessa formula per calcolare il loro coefficiente di riflessione. Il risultato del calcolo è mostrato in Tab. B.2, in cui i valori dei raggi delle molecole sono stati in parte ricavati dal testo di fisiologia di Boron [47].

Tab. B.2: Calcolo di σ per alcuni soluti

Soluto	r_s (μm)	σ_s	$(1 - \sigma_s)$
Na^+	100	0,004	0,996
K^+	140	0,009	0,991
Cl^-	180	0,014	0,986
HCO_3^-	156	0,010	0,990
Ca^{++}	100	0,004	0,996
Mg^{++}	72	0,002	0,998
PO_4^{3-}	238	0,024	0,976
Urea	160	0,011	0,989
Creatina	300	0,036	0,964
Glucosio	330	0,045	0,955
Albumina	3550	0,919	0,081

B.3 Coefficienti di Donnan - α_d

L'effetto Donnan è dovuto principalmente all'impermeabilità attraverso una membrana porosa di alcuni soluti elettricamente carichi. Poiché sono le proteine ad

essere la causa preponderante di questo effetto e poiché sia la membrana capillare che quella del dializzatore sono entrambi impermeabili alle proteine, possiamo ipotizzare che il coefficiente α_d che compare nell'equazione che descrive il flusso di massa attraverso il dializzatore, e il coefficiente α_d che compare nell'equazione che descrive il flusso di massa verso il compartimento intracellulare, abbiano gli stessi valori numerici calcolati con l'Eq. (A.2) riproposta qui di seguito:

$$\alpha_d = \frac{\alpha - 1}{7} \cdot T_p + 1 \quad \text{con} \quad \alpha = \frac{C_{is,eq}}{C_{pl,eq}} \quad (\text{B.2})$$

in cui i valori di equilibrio sono presi dalla Tab. A.1. Bisogna fare attenzione alla concentrazione di proteine totali T_p da inserire nell'equazione. Mentre nel caso della post-diluizione si utilizza la stessa concentrazione plasmatica, nel caso della PRE-diluizione bisogna tener conto del fatto che il liquido in ingresso al dializzatore sarà diluito in proporzione pari alla portata di diluizione, e pertanto si avrà una concentrazione di proteine totali minore rispetto a quella plasmatica, da calcolare con un opportuno bilancio di massa.

Appendice C

Acquisizione dati e parametri pazienti

La scelta dei pazienti da arruolare durante studi clinici può seguire due diverse logiche. La prima individua delle regole volte a minimizzare le differenze fra pazienti, sia per quanto riguarda gli aspetti antropometrici (età, peso, altezza, ...) , sia per quelli relativi alla dialisi (Q_{uf} , età dialitica, tempo di dialisi, ...) in modo da ottenere un campione il più omogeneo possibile, al fine di indagare gli effetti di parametri specifici (e.g. pre- vs post-diluizione). Con la seconda logica, detta *random trial*, il campione da analizzare presenta caratteristiche meno omogenee al fine di individuare tutte le possibili cause relative a un particolare effetto. In questo lavoro sarebbe stato preferibile utilizzare la prima logica, per meglio individuare gli effetti dovuti alla modalità di diluizione. In pratica, poiché il numero dei soggetti era limitato, non è stata effettuata alcuna selezione, e si sono rilevati i dati di tutti e solo i pazienti che hanno fornito il loro consenso informato per lo studio. Qui di seguito sono elencati i dati raccolti.

Dati relativi al paziente

- dati anagrafici (nome, cognome, sesso, età);
- sito di prelievo (fistola, catetere venoso centrale);
- peso secco.

Dati della seduta dialitica

- Macchina dializzatrice (tutte Fresenius 5008S);
- codice del filtro, codice della sacca acida, sacca basica;
- tipologia HDF (pre- o post-diluizione);
- Volume dell'ultrafiltrato e tempo di dialisi impostato a inizio seduta;
- Ematocrito e proteinocrito impostati sulla macchina¹
- Portata del fluido di dialisi (impostata automaticamente dalla macchina);
- Portata di diluizione (impostata automaticamente dalla macchina);
- Peso iniziale del paziente;

¹non coincidenti con l'ematocrito e proteinocrito reali iniziali del paziente.

- Tempistica dei prelievi ematici (inizio seduta, ogni ora, fine seduta);
- Annotazioni di anomalie e assunzione di cibo o bevande.

Registro infermieristico della seduta: dati rilevati con cadenza oraria

- peso del paziente;
- pressione sistolica e diastolica;
- frequenza cardiaca;
- pressione della linea venosa e arteriosa.

Le sedute si sono svolte presso il centro dialisi San Faustino, situato in via S. Faustino 27, 20134 Milano (MI), avendo come referente il dr. Raffaele Galato. Qui sono stati monitorati, per quattro sedute consecutive, 6 pazienti sottoposti ad emodiafiltrazione, tutti in post-diluizione. I prelievi ematici sono stati effettuati dalla linea arteriosa in uscita dal paziente a inizio seduta, dopo ogni ora e a fine seduta. I campioni di sangue, raccolti in provette da 5 *mL*, sono stati conservati in frigorifero fino alla fine della seduta dialitica e successivamente trasportati in un contenitore termoisolante presso il laboratorio di analisi, per essere analizzati. Da questi campioni, dopo la centrifugazione a 3500 *rpm* per 15 *min*, è stato prelevato 1 *mL* di plasma e conservato a -80°C . I campioni sono conservati presso il LaBS (Laboratorio di meccanica delle Strutture Biologiche) del Politecnico di Milano.

Appendice D

Implementazione in Matlab

Il modello di equazioni differenziali ordinarie, che simula una seduta dialitica secondo la modalità dell'*on-line* HDF, è stato implementato utilizzando il software per il calcolo numerico Matlab[®] 7 (R14).

D.1 Pre-processing

Per *pre-processing* si intende l'immissione nel calcolatore dei dati necessari per la simulazione e della loro conversione nelle giuste unità di misura. I dati raccolti durante la dialisi, insieme ai risultati delle analisi dei campioni ematici, sono salvati nel calcolatore attraverso il seguente *script*:

```
input_dati.m
-----
nome      = '*****';
cogmone   = '*****';
ID        = 'AMB1' ; % identificativo paziente\seduta

5 %-----
%----- PRELIEVI EMATICI -----
%-----
t_sample = [      0      60      120      180      240      ]'; % min

10 urea  = [      84      50      35      26      20      ]; % mg/dL
    gluc = [      141     91      74      72      74      ]; % mg/dL
    creat = [      7.46    4.26    3.29    2.64    2.31    ]; % mg/dL
    Na    = [      142     140     140     140     140    ]; % mEq/L
    K     = [      4.6      4      4      3.8     3.8    ]; % mEq/L
15 Cl    = [      101     104     103     103     102    ]; % mEq/L
    Ca    = [      8.6      9      9.2     9.6     9.6    ]; % mg/dL
    P     = [      4.7      2.1     1.9     1.9     1.9    ]; % mg/dL
    Mg    = [      1.8      1.8     1.8     1.7     1.7    ]; % mg/dL
    Tp    = [      6.6      6.6     6.8     7.1     7.3    ]; % gr/dL
20 alb   = [      3432    3419    3592    3666    3903    ]; % mg/dL
%-----

Ht0      = 37 ; % Ematocrito iniziale
W0       = 61 ; % [Kg]
25 type_hdf = 'post'; % 'pre' 'post'
Vuf      = 1.3 ; % [Litri] Volume da ultrafiltrare
Td       = 240 ; % [min] tempo di dialisi
Qb       = 250 ; % [mL/min] portata ematica
Qs       = 90 ; % [mL/min] portata diluizione
30 Qd     = 375 ; % [mL/min] flusso dializzante

sacca_m = 'AX03' ; % codice sacca 'AX03' 'A161' sul monitor
sacca   = 'A161' ; % codice sacca 'AX03' 'A161' realmente usata
C_Na    = 140; % [mmol/L] sodio prescritto
35 C_Bic  = 34; % [mmol/L] HCO3- prescritto

eval(['save ',char(ID)])
-----
```

Dopo aver salvato i dati primitivi nel file `*.mat` opportuno, la conversione nelle unità di misura utilizzate nel modello è effettuata con il seguente *script*:

```
pre_processing.m


---


function pre_processing(ID)

eval(['load ',char(ID)]); % carica i dati

5 n_sample = length(t_sample);
  Cpl = zeros(n_sample,8);

  soluto = { 'Na', 'K', 'Cl', 'Ca', 'P', 'Mg', 'urea', 'creat' };
  MW = [ 23 39 35 40 96 24 60 113 ]; %peso molec.

10 %-----
  %-- TRAFORMAZIONE in mmol/L dei dati ematici per i soluti di interesse ----
  %-----
  for i=1:n_sample
15   Cpl(i,:) = [ Na(i) K(i) Cl(i) Ca(i)/MW(4)*10 P(i)/MW(5)*10 ...
                Mg(i)/MW(6)*10 urea(i)/MW(7)*10 creat(i)/MW(8)*10
                ];

  end
  Cpl0 = Cpl(1,:); % [mmol/L] Cpl dei soluti a inizio seduta
  Tp0 = Tp(1); % [gr/dL] Proteine a inizio seduta

20 Ht0 = Ht0/100; % [adim.]
  Qb = Qb/1000/60; % [L/sec]
  Qs = Qs/1000/60; % [L/sec]
  Qd = Qd/1000/60; % [L/sec]

25 %-- Assegnare i parametri rho, k, eta se non sono ancora stati specificati --
  if exist('RHO')==0, RHO=1; end
  if exist('PAR')==0
    % 'Na', 'K', 'Cl', 'Ca', 'P', 'Mg', 'urea', 'creat
30   PAR(:,1)=[ 2.5e-3 1.67e-4 1.67e-4 1.67e-4 3.5e-4 1.67e-4 1.3e-3 1.3e
               -4];
    PAR(:,2)=0.5*ones(8,1);
  end %-----

eval(['save ',char(ID)])


---


```

D.2 Implementazione del modello

Quella che segue è la *function* principale, quella che, terminata la fase di pre-processing (§D.1) e di ottimizzazione (§D.3), avvia la simulazione numerica. In questa *function* dopo che si sono dichiarate le variabili globali e caricato i dati dello specifico paziente, si passa ai calcoli di inizializzazione del sistema. La soluzione numerica è infine calcolata col solver `ode45` basato sul metodo esplicito di Runge-Kutta del quarto ordine.

```
function [TT, YY] = emodifilt(paziente)

global Donnan hind rho Vrc Tp0 Tpis0 Vpl0 Vis0 Pac0 Pis0 alpha Rp gamma ...
  kf sigma k beta Gic type_hdf eff Td Quf Qf Qb CL Cd Cs Qs Pvc ...
5   LP La Lv Pn_eq Cc Eis soluto

eval(['load ',char(paziente)])

%-----
10 %-- INIZILIAZZAZIONE DELLE COSTANTI ----
  %-----
  Tamb = 25; % [°C] Temperatura ambiente
  kf = .004; % [L^2/mmol/sec] perm. della membr. cell. all'acqua
  gamma = .93; % [adim] coefficiente di attività
15 Eis = 2.45; % [mmHg/L] elastanza del compart. interstiziale
  Pis0 = -5.97; % [mmHg] pressione interstiziale iniziale
  Pac0 = 35; % [mmHg] pressione iniziale ai capillari arteriosi
  Pvc = 15; % [mmHg] pressione ai capillari venosi: costante
  rho = RHO; % [adim] coef. di permeabilità relativa dei capillari
20 La = 3e-4/60; % [L/mmHg/sec] coef. di perm. capillari arteriosi
```

```

Lv      = 1.86e-3/60; % [L/mmHg/sec]      coef. di perm. capillari      venosi
rHF80s = 1/(1-sqrt((1-sqrt(.56))))*1470; % [pm]      raggio pori filtro HF80s

%-----
25 % FORMULE UTILI -----
%
Rp = @(x) (1-.0107.*x); % [gr/dL]->[adim]      frazione di acqua nel plasma
LP = @(c) 2.1*c + .16*c.^2 + .009*c.^3; % formula di Landis-Pappenheimer
Staverman = @(r) (1-(1-r/rHF80s).^2).^2; % calcolo coeff. Staverman

30 %-----
% DATI E PARAMETRI DEI SOLUTI -----
%
Tpis0 = .2/1.2*Tp0; % [gr/L] proteine interstiziali totali iniziali
35 soluto = {'Na+', 'K+', 'Cl-', 'Ca++', 'P03-', 'Mg++', 'urea', 'creat'};
MW = [ 23 39 35 40 96 24 60 113 ];
rs = [ 100 140 180 100 238 72 160 300 ];
alpha = [139/142 4/4.2 108/108 1.2/1.3 2.3/2 .7/.8 4/4 .2/.2 ];
beta = [ 14/139 140/4 4/108 eps 11/2.3 20/.7 4/4 9/.2 ];
40 Donnan = @(Tp) (alpha-1)*Tp/7 +1; %coeff. di Donnan in funz. di alpha e Tp
k = PAR(:,1); % coeff. trasferimento di massa alla membr. cell.
sigma = ones(8,1); % coeff. di riflessione alla membr. cell.
hind = 1 - Staverman(rs); % coeff. di hindrance della membr. capillare
eff = PAR(:,2); % parametro di "efficienza" del dializzatore
45 Gic = zeros(8,1); % tasso di generazione intracellulare

%-----
% IMPOSTAZIONI INIZIALI MACCHINA DIALIZZATRICE (FRESENIUS 5008S) -----
%
50 Quf = Vuf/Td/60; % [L/sec] portata di ultrafiltrazione
Qf = Qs + Quf; % [L/sec] portata di filtrazione

% Composizione delle sacche ACIDE contenente Sodio e altri soluti (mmol/L)
%-----
55 C_a = [ 4725 90 4995 67.5 0 22.5 0 0 ;... % AX03
4725 135 5040 67.5 0 22.5 0 0 ]; % A161
if sacca_m == 'AX03', C_a = C_a(1,:);
elseif sacca_m == 'A161', C_a = C_a(2,:); end

60 % Composizione della sacca BASICA contenente Bicarbonato di Sodio (mmol/L)
% FRESENIUS biBag® (soluzione satura di Bicarbonato di sodio) -----
Csat_bic = interp1([0 20 60],[69 96 165]/84, Tamb, 'linear', 'extrap')*1000;
%-----
% 'Na', 'K', 'Cl', 'Ca', 'P', 'Mg', 'urea', 'creat'
C_b = [ Csat_bic 0 0 0 0 0 0 0 ];

65 % Composizione del liquido dializzante e/o di sostituzione -----
Qtot = Qd + Qs; % [L/sec] flusso totale dopo il miscelamento
Q_b = Qtot * C_Bic/Csat_bic; % [L/sec] portata basica
70 Q_a = ( Qtot*C_Na - Q_b*Csat_bic )/C_a(1); % [L/sec] portata acida

% Composizione delle sacche ACIDE contenente Sodio e altri soluti (mmol/L)
%-----
% 'Na', 'K', 'Cl', 'Ca', 'P', 'Mg', 'urea', 'creat'
C_a = [ 4725 90 4995 67.5 0 22.5 0 0 ;... % AX03
4725 135 5040 67.5 0 22.5 0 0 ]; % A161
75 if sacca == 'AX03', C_a = C_a(1,:);
elseif sacca == 'A161', C_a = C_a(2,:); end

for i = 1:8
80 Cd(i) = ( Q_a*C_a(i) + Q_b*C_b(i) )/Qtot; %[mmol/L] liquido dializzante
end
Cs = Cd

%-----
% CALCOLO DEI VALORI DI CLEARANCE: Filtro HF80s -----
%
%-----
% Urea Creat. B12 Inulina
mw = [ 60 113 1355 5200]; % peso molecolare
c1200 = [192 180 135 110]; % clearance a 200 mL/min
90 c1300 = [248 225 155 120]; % clearance a 300 mL/min

CL200 = interp1(log(mw), c1200, log(MW), 'linear', 'extrap'); % interp. log
CL300 = interp1(log(mw), c1300, log(MW), 'linear', 'extrap'); % interp. log

95 if type_hdf == 'pre'
CL=interp1([200 300],[CL200' CL300']',(Qb+Qs)*1000*60,'linear','extrap');
else
CL=interp1([200 300],[CL200' CL300']',Qb*1000*60,'linear','extrap');
end
100 CL = CL/1000/60; % [mL/min] -> [L/sec] Clearance dei soluti

```

```

%-----
%-- CALCOLO DEI VALORI INIZIALI -----
%-----
105 Vtot0 = .6*W0;          % Vtot = 60% del peso corporeo [Guyton et al.]
    Vpl0 = 3/42*Vtot0 ; % [ibidem]
    Vis0 = 11/42*Vtot0 ; % [ibidem]
    Vic0 = 28/42*Vtot0 ; % [ibidem]
    Vemo0 = Vpl0/(1-Ht0); % Calcolo del volume ematico in funzione de Vpl e Hct
110 Vrc = Vemo0 - Vpl0; % Volume eritrocitario: costante per ipotesi
    a_d0 = Donnan(Tp0) ; % coeff. di Donnan in funz. della conc. di proteine

    Qic_eq = 0;          % flusso di liquido verso il compartimento intracellulare
    for s=1:8
115     Cis0(s) = a_d0(s) * Cpl0(s);          % Conc. INTERSTIZIALI iniziali
        Cic0(s) = beta(s) * Cis0(s);        % Conc. INTRACELLULARI iniziali
        Mic0(s) = Cic0(s)*Vic0;            % massa intracell. iniziale
        Mex0(s) = Cis0(s)*(Vpl0/a_d0(s) + Vis0); % massa extrac. iniziale
        Qic_eq = Qic_eq + gamma * kf * sigma(s) * ( Cic0(s) - Cis0(s) );
120 end

    Cc=inf; % compliance dei capillari

    % Pressione netta di filtrazione (idraulica+colloidosmotica) all'equilibrio
125 Pn_eq = ((Pac0+Pvc)/2 - Pis0) - ( LP(Tp0) - LP(Tpis0) );

    global Y0 %Vettore contenente i dati iniziali in ingresso al sistema di ODE
    Y0 = [Mic0(1:8) Mex0(1:8) Vic0 Vis0 Vpl0 Pac0 Pis0];

130 %-----
%-- INTEGRAZIONE NUMERICA DEL SISTEMA DI ODE -----
%-----

    %options = odeset('OutputFcn',@odeplot);
135 [TT,YY] = ode15s(@ODE_emodifilt,[0:60:60*Td],Y0);

%-----
%-- RISULTATI DELLA SIMULAZIONE -----
%-----
140 plotResults(TT,YY,'r',char(paziente))

```

Nella *function* seguente è implementato il sistema di equazioni differenziali usato dal solver `ode45` per risolvere il problema numerico. Come si nota questa *function* condivide con quella precedente le stesse variabili globali.

```

function dy = ODE_emodifilt(t,y)

global Donnan hind rho Vrc Tp0 Tpis0 Vpl0 Vis0 Pac0 Pis0 alpha Rp gamma ...
      kf sigma k beta Gic type_hdf eff Td Quf Qf Qb CL Cd Cs Qs Pvc ...
5      LP La Lv Pn_eq Cc Eis soluto

%-----
%-- VALORI ODE IN ENTRATA -----
%-----
10 for i=1:8
    Mic(i) = y(i); % 1..8 : Na..Gluc intracellulare
    Mex(i) = y(i+8); % 12..19 : Na..Gluc extracellulare
end

15     Vic = y(17); % Volume intracellulare
        Vis = y(18); % Volume plasmatico
        Vpl = y(19); % Volume interstiziale
        Pac = y(20); % Pressione ai capillari arteriosi
        Pis = y(21); % Pressione interstiziale

%-----
20     Ht = 1/(1+Vpl/Vrc); % ematocrito
        Tp = Tp0*Vpl0/Vpl; % proteinocrito
        Tpis = Tpis0*Vis0/Vis; % proteine interstiziali
        Fp = Rp(Tp); % frazione di acqua nel plasma
25     ad = Donnan(Tp); % coeff. di Donnan

%-- Coefficiente di donnan ai capillari del dializzatore -----
    if type_hdf == 'pre'
        ad_f = Donnan(Tp/(1+Qs/(Qb*(1-Ht))));
30     else
        ad_f=ad;
    end
end
%-----

```

```

35 %- Valori asintotici di equilibrio ( *_eq ) -----
    Vtot_eq = Vic+Vis+Vpl ;
    Vpl_eq  = 3/42*Vtot_eq;
    ad_eq   = Donnan(Tp0*Vpl0/Vpl_eq);
    Vis_eq  = 11/42*Vtot_eq ;
40 Vic_eq  = 28/42*Vtot_eq ;
    Pac_eq  = Pac0 + 1/Cc*(Vpl_eq - Vpl0);
    Pis_eq  = Pis0 + Eis*(Vis_eq-Vis0) ;
    Pn_eq   = ( (Pac_eq+Pvc)/2 - Pis_eq) ...
              - ( LP(Tp0*Vpl0/Vpl_eq) - LP(Tpis0*Vis0/Vis_eq) );
45 Qic_eq = 0 ;
    for i=1:8
        Mtot(i) = Mic(i)+Mex(i);
        Cpl_eq(i) = Mtot(i)/(Vpl_eq + ad_eq(i)*(Vis_eq+beta(i)*Vic_eq));
        Cis_eq(i) = ad_eq(i)*Cpl_eq(i);
50 Cic_eq(i) = beta(i)*Cis_eq(i) ;
        Qic_eq  = Qic_eq + gamma * kf * sigma(i) * ( Cic_eq(i) - Cis_eq(i) );
    end
    %-
55 Qic = 0 ; % flusso intracellulare di liquido
    for s=1:8 % Concentrazioni intra-cellulari, interstiz., plasm. Na+...Gluc
        Cic(s) = Mic(s)/Vic;
        Cis(s) = Mex(s)/(Vpl/ad(s)+Vis);
        Cpl(s) = Cis(s)/ad(s);
60 Qic = Qic + gamma * kf * sigma(s) * ( Cic(s) - Cis(s) );
    end
    Qic_eff = ( Qic - Qic_eq );

    dVic = Qic_eff; % flusso di liquidi in entrata nel compart. intra-cellulare
65 for s=1:8 % Calcolo dei flussi di massa verso il compart. intra-cellulare
        phi(s) = - k(s)*( Cic(s) - beta(s)*Cis(s) );
        dMic(s) = phi(s) + Gic(s);
    end

70 %- Calcolo della variazione della massa extracellulare -----
    if type_hdf == 'pre'
        Qi = Qs + Qb*(1-Ht)*Fp;
        for s=1:8
            Ci(s) = ( Qb*(1-Ht)*Cpl(s) + Qs*Cs(s) )/Qi;
75 phi_t(s) = Qf*hind(s)*( Ci(s)+Cd(s) )/2;
            PHI(s) = ( 1-Qf/Qi )*( CL(s)*( ad_f(s)*Ci(s)-Cd(s) )+phi_t(s) )...
                    + Qf/Qi*(Qi-(1-eff(s))*Qf)*Ci(s);

            if PHI(s) > Qi*Ci(s), PHI(s) = Qi*Ci(s); end
            dMex(s) = - phi(s) + Qs*Cs(s) - PHI(s);
80 if t > Td*60, dMex(s) = - phi(s); end
        end
    elseif type_hdf == 'post'
        Qi = Qb*(1-Ht)*Fp;
        for s=1:8
            Ci(s) = Cpl(s)/Fp;
85 phi_t(s) = Qf*hind(s)*( Ci(s)+Cd(s) )/2;
            PHI(s) = ( 1-Qf/Qi )*( CL(s)*( ad_f(s)*Ci(s)-Cd(s) )+phi_t(s) )...
                    + Qf/Qi*(Qi-(1-eff(s))*Qf)*Ci(s);

            if PHI(s) > Qi*Ci(s), PHI(s)=Qi*Ci(s); end
90 dMex(s) = - phi(s) - PHI(s) + Qs*Cs(s);
            if t > Td*60, dMex(s) = - phi(s); end
        end
    end
    %-
95 Pn = ( (Pac+Pvc)/2 - Pis )-( LP(Tp)-LP(Tpis) ); % Pres. di filtr. capillare

    if t > Td*60, Quf=0; end
    if Vpl > 0
100 dVpl = - Quf - rho*(La+Lv)*(Pn - Pn_eq);
    else % il volume plasmatico non può diventare negativo!
        dVpl = 0;
    end

105 if Vis > 0
        dVis = - Qic_eff + rho*(La+Lv)*(Pn - Pn_eq);
    else % il volume interstiziale non può diventare negativo!
        dVis = 0;
    end

110 if Pac>Pvc || dVpl > 0
        dPac = 1/Cc * dVpl; % variazione di pressione ai capillari arteriosi
    else % fenomeno del blocco di portata in un condotto non rigido

```

```

        dPac = 0;
115 end

        dPis = Eis * dVis;      % variazione di pressione nel compart. interstiziale

%-----
120 %- VALORI ODE IN USCITA -----
%-----
        for i=1:8
            dy(i) = dMic(i);
            dy(i+8) = dMex(i);
125 end
            dy(17) = dVic;
            dy(18) = dVis;
            dy(19) = dVpl;
            dy(20) = dPac;
130         dy(21) = dPis;
%-----
        dy = dy';

```

D.3 Ottimizzazione

L'algoritmo di ottimizzazione ricerca i parametri del modello secondo lo schema di Fig. 3.1. La funzione nativa di Matlab usata per ricercare il minimo della *criterion function* J_CF (righe 16, 18 e 20 del listato seguente) è `fmincon`, che ci permette di impostare un dominio di ricerca per i parametri da ottimizzare ($\rho \in [0; 10]$, $k \in [0; 1]$, $\eta \in [-1; 1]$).

`ottimizzazione.m`

```

function ottimizzazione(ID)

eval([char(ID)])
pre_processing(char(ID))
5 global S RHO PAR paziente
paziente = ID;

for RIPETIZ=1:5 % ciclo per ripetere più volte l'ottimizz. dei parametri
eval(['load ',char(paziente), ' RHO PAR'])
10 P=[PAR(:); RHO];

eval(['load ord_',char(ID), ' y']) % carica l'ordine di ottimizz.

for S = y
15 if S==17
[P(S)] = fmincon( @J_CF,P(S) ,[],[],[],[], 0,10,[], );
elseif S<=8
[P(S)] = fmincon( @J_CF,P(S) ,[],[],[],[], 0, 1,[], );
else
20 [P(S)] = fmincon( @J_CF,P(S) ,[],[],[],[], -1, 1,[], );
end

RHO = P(end);
PAR(:) = P(1:16);
25 eval(['save ',char(paziente), ' RHO PAR -append']) % aggiorna param.
end
end

```

Tutti i parametri sono ottimizzati attraverso un'unica *criterion function* che al suo interno richiama, a seconda del parametro, i coefficienti per pesare adeguatamente gli scarti fra simulazione numerica e realtà clinica.

`J_CF.m`

```

function J = J_CF(par)

global RHO PAR S paziente ...

eval(['load ',char(paziente)])

```

```

... % qui calcoli intermedi
if S==17
    rho = par;
else
    PAR(S)=par;
end

... % qui calcoli intermedi

%-----
%- INTEGRAZIONE NUMERICA DEL SISTEMA DI ODE -----
%-----
[TT,YY] = ode15s(@ODE_emiafilt,[0:60:60*Td],Y0);

%-----
%- RISULTATI -----
%-----
    MIC = YY(t_sample+1,[1:8]) ; % 1..8 : Na..Urea intracellulare
    MEX = YY(t_sample+1,[1:8]+8); % 12..19 : Na..Urea extracellulare

    VIC = YY(t_sample+1,17); % Volume intracellulare
    VIS = YY(t_sample+1,18); % Volume interstizio
    VPL = YY(t_sample+1,19); % Volume plasma
%-----
TP = Tp0*YY(1,19)./VPL;
ad = Donnan(TP');

VTOT=VPL+VIS+VIC;
for i=1:length(t_sample)
    CIC(i,:) = MIC(i,:)./VIC(i);
    CIS(i,:) = MEX(i,:)./(VIS(i)+VPL(i)./ad([1:8],i)');
    SIM(i,:) = CIS(i,:)./ad([1:8],i)'; %CPL simulazione
end

eval(['load pesi_',char(paziente)]) % carica i pesi relativi a paz./seduta

E = ([SIM TP] - [Cpl(:,[1:8]) Tp']) ./ [Cpl(:,[1:8]) Tp'];
E = pesi(S,:)*E';
J = sqrt(sum(E.^2));
disp([num2str(S), ' : ', num2str(par), ' J = ', num2str(J)])

```

Bibliografia

- [1] Michael C.K. Khoo. *Physiological Control Systems. Analysis, simulation, and estimation*. Wiley-IEEE Press, 2000.
- [2] Arthur C. Guyton and John E. Hall. *Fisiologia medica*, chapter 4, 25–31. Masson, 2006.
- [3] Alan C. Burton. *Fisiologia e biofisica della circolazione*, chapter 1. Il pensiero scientifico editore, 1983.
- [4] J. D. Bronzino. *The Biomedical Engineering Handbook*, chapter 130: Artificial Kidney. CRC Press, 1999.
- [5] Fondazione San Raffaele del Monte Tabor di Milano. Trapianto di rene <http://www.sanraffaele.org/61903.html>, giugno 2011.
- [6] G. Casagrande. *Hydro-electrolytic equilibrium and cardiac mechanics alterations in hemodialysis patients*. PhD thesis, Politecnico di Milano, 2007. Research Doctorate course in Bioengineering, XIX cycle.
- [7] H. W. Leber, V. Wizemann, G. Goubeaud, P. Rawer, and G. Schutterle. Hemodiafiltration: a new alternative to hemofiltration and conventional hemodialysis. *Artif Organs*, 2:150–153, 1978.
- [8] N. A. Hoenich. Membranes and filters for haemodiafiltration. *Contrib Nephrol*, 158:57–67, 2007.
- [9] C. Ronco. Evolution of hemodiafiltration. *Contrib Nephrol*, 158:9–19, 2007.
- [10] L. A. Pedrini and S. Zerbi. Mixed-dilution hemodiafiltration. *Contrib Nephrol*, 158:123–130, 2007.
- [11] J. H. Miller, B. von Albertini, P. W. Gardner, and J. H. Shinaberger. Technical aspects of high-flux hemodiafiltration for adequate short (under 2 hours) treatment. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 30:377–381, 1984.
- [12] C. Ronco and D. Cruz. Hemodiafiltration history, technology, and clinical results. *Adv Chronic Kidney Dis*, 14:231–243, 2007.
- [13] B. Canaud. Online hemodiafiltration. Technical options and best clinical practices. *Contrib Nephrol*, 158:110–122, 2007.
- [14] H. D. Polaschegg and T. Roy. Technical aspects of online hemodiafiltration. *Contrib Nephrol*, 158:68–79, 2007.
- [15] I. Masakane. Selection of dilutional method for on-line HDF, pre- or post-dilution. *Blood Purif.*, 22 Suppl 2:49–54, 2004.

- [16] G. Colussi and G. Frattini. Quantitative analysis of convective dose in hemofiltration and hemodiafiltration: predilution vs. postdilution reinfusion. *Hemodial Int.*, 11:76–85, Jan 2007.
- [17] N. Meert, S. Eloot, M. A. Waterloos, M. Van Landschoot, A. Dhondt, G. Glorieux, I. Ledebo, and R. Vanholder. Effective removal of protein-bound uraemic solutes by different convective strategies: a prospective trial. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 24:562–570, 2009.
- [18] L. A. Pedrini, V. De Cristofaro, B. Pagliari, and F. Sama. Mixed predilution and postdilution online hemodiafiltration compared with the traditional infusion modes. *Kidney Int.*, 58:2155–2165, 2000.
- [19] L. A. Pedrini and V. De Cristofaro. On-line mixed hemodiafiltration with a feedback for ultrafiltration control: effect on middle-molecule removal. *Kidney Int.*, 64:1505–1513, 2003.
- [20] M. L. Wratten and P. M. Ghezzi. Hemodiafiltration with endogenous reinfusion. *Contrib Nephrol.*, 158:94–102, 2007.
- [21] M. Ursino, L. Coli, E. Magosso, P. Capriotti, A. Fiorenzi, P. Baroni, and S. Stefoni. A mathematical model for the prediction of solute kinetics, osmolarity and fluid volume changes during hemodiafiltration with on-line regeneration of ultrafiltrate (HFR). *Int J Artif Organs.*, 29:1031–1041, 2006.
- [22] R. Gatti. Modello tricompartimentale del trasporto di massa nel paziente emodialitico, Tesi di Laurea Specialistia - Politecnico di Milano - AA 2004–2005.
- [23] C. Silvestri and S.M. Terenghi. Studio del trasporto di massa paziente dipendente durante emodialisi., Tesi di Laurea Specialistia - Politecnico di Milano - AA 2006–2007.
- [24] P. Merulla. Modello matematico degli equilibri idro-elettrolitici durante emodialisi : ottimizzazione della cinetica di calcio e fosfato, analisi del plasma refilling., Tesi di Laurea Specialistia - Politecnico di Milano - AA 2009–2010.
- [25] M. Ursino, L. Coli, C. Brighenti, L. Chiari, A. de Pascalis, and G. Avanzolini. Prediction of solute kinetics, acid-base status, and blood volume changes during profiled hemodialysis. *Ann Biomed Eng.*, 28:204–216, 2000.
- [26] M. Ursino and M. Innocenti. Modeling arterial hypotension during hemodialysis. *Artif Organs.*, 21:873–890, 1997.
- [27] C. C. Gyenge, B. D. Bowen, R. K. Reed, and J. L. Bert. Transport of fluid and solutes in the body I. Formulation of a mathematical model. *Am. J. Physiol.*, 277:H1215–1227, 1999.
- [28] C. C. Gyenge, B. D. Bowen, R. K. Reed, and J. L. Bert. Transport of fluid and solutes in the body II. Model validation and implications. *Am. J. Physiol.*, 277:H1228–1240, 1999.
- [29] C. K. Colton, L. W. Henderson, C. A. Ford, and M. J. Lysaght. Kinetics of hemodiafiltration. I. In vitro transport characteristics of a hollow-fiber blood ultrafilter. *J. Lab. Clin. Med.*, 85:355–371, 1975.
- [30] Z. Liao, E. Klein, C.K. Poh, Z. Huang, J. Lu, P.A. Hardy, and D. Gao. Measurement of hollow fiber membrane transport properties in hemodialyzers. *Journal of membrane science*, 256:176–183, 2005.

- [31] W. Samtleben, C. Dengler, B. Reinhardt, A. Nothdurft, and H. D. Lemke. Comparison of the new polyethersulfone high-flux membrane DIAPES HF800 with conventional high-flux membranes during on-line haemodiafiltration. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 18:2382–2386, 2003.
- [32] L. A. Pedrini, A. Gmerek, and J. Wagner. Efficiency of post-dilution hemodiafiltration with a high-flux α -polysulfone dialyzer. *Int J Artif Organs*, 34:397–404, 2011.
- [33] A. Ficheux, P. G. Kerr, P. Brunet, and A. Argiles. The ultrafiltration coefficient of a dialyser (KUF) is not a fixed value, and it follows a parabolic function: the new concept of KUF max. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 26:636–640, Feb 2011.
- [34] Sandro Salsa. *Equazioni a derivate parziali. Metodi, modelli e applicazioni*. Springer, 2007.
- [35] Jeffrey C. Lagarias, James A. Reeds, Margaret H. Wright, and Paul E. Wright. Convergence properties of the Nelder-Mead simplex method in low dimensions. *SIAM Journal of Optimization*, 9:112–147, 1998.
- [36] F. Borsa and Scannicchio D. *FISICA con applicazioni in biologia e in medicina*. Unicopli, 1992.
- [37] M. L. Costantino. Progettazione di sistemi di supporto alla vita. Dispense del corso, 2011.
- [38] F. G. Donnan. The theory of membrane equilibria. *Chemical Reviews*, 1(1):73–90, 1924.
- [39] E. M. Landis and J. R. Pappenheimer. *Exchange of substances through the capillary walls*. Chapter 29 in Handbook of Physiology, edited by Field J, Hamilton WF, Dow P, Washington, D.C., American Physiological Society, 1963, section 2, vol. 2, pp. 961–1034.
- [40] S. Nitta, T. Ohnuki, K. Ohkuda, T. Nakada, and N. C. Staub. The corrected protein equation to estimate plasma colloid osmotic pressure and its development on a nomogram. *Tohoku J. Exp. Med.*, 135:43–49, 1981.
- [41] A. Ciandrini, S. Severi, S. Cavalcanti, F. Fontanazzi, F. Grandi, M. Buemi, C. Mura, P. Bajardi, F. Badiali, and A. Santoro. Model-based analysis of potassium removal during hemodialysis. *Artif Organs*, 33:835–843, 2009.
- [42] J. A. Sargent and A. Gotch. Principles and biophysics of dialysis. In *Replacement of renal function by dialysis (4th ed.)*, chapter 2.
- [43] A. Saltelli, M. Ratto, T. Andres, F. Campolongo, J. Cariboni, D. Gatelli, M. Saisana, and S. Tarantola. *Global Sensitivity Analysis. The primer*. Wiley, 2008.
- [44] F. M. Hemez and Y. Ben-Haim. The good, the bad, and the ugly of predictive science. *4th International Conference on Sensitivity Analysis of Model Output. Santa Fe, NM, USA, March 8-11, 2004*.
- [45] J. I. Myung, Y. Tang, and M. A. Pitt. Evaluation and comparison of computational models. *Meth. Enzymol.*, 454:287–304, 2009.
- [46] E. M. Spalding, P. W. Chamney, and K. Farrington. Phosphate kinetics during hemodialysis: Evidence for biphasic regulation. *Kidney Int.*, 61:655–667, 2002.
- [47] Walter F. Boron. *Medical Physiology: A Cellular And Molecular Approach*. Elsevier/Saunders, 2005.