

Lo sviluppo delle membrane per dialisi

R. Menta

*Hoechst Italia S.p.A. - Milano
Dipartimento Medico-Scientifico*

Negli ultimi 10 anni la grande cooperazione tra industria e medicina ha portato a progressi notevoli nell'ambito delle procedure di depurazione extracorporea. L'associazione tra medicina e industria, sotto la spinta delle ricerche cliniche condotte, ha favorito lo sviluppo di numerose membrane con diverse caratteristiche e capacità. Le dimensioni dei pori, la loro distribuzione, la carica elettrica, l'affinità biologica, sono alcune delle caratteristiche fondamentali delle membrane che hanno conosciuto un rapido e talvolta tumultuoso progresso. La ricerca clinica ha prodotto, anche se talvolta in modo non sistematico, una notevole quantità di risultati che hanno generato nuove interpretazioni del significato e della rilevanza biologica delle interazioni sangue-membrana. Sono imminenti, e in alcuni casi in avanzata fase di sperimentazio-

ne clinica, nuove applicazioni delle membrane che prevedono possibilità di intervento impensabili dieci anni fa: ne sono esempio gli studi sulla rimozione, tramite adsorbimento di prodotti biologici attivi quali immunocomplessi ed enzimi. Attraverso l'integrazione tra circuiti extracorporei ed anticorpi monoclonali o altre sostanze, anche l'interpretazione del sistema depurazione extracorporea sta cambiando. Questo significa che in un prossimo futuro la dialisi non andrà più intesa in termini strettamente riferibili alla correzione dell'uremia acuta o cronica, ma questa modalità di terapia extracorporea sarà applicata all'insufficienza epatica, a neoplasie e ad un'ampia gamma di malattie autoimmuni. Si tenterà di seguito di produrre evidenza di quanto sinora accertato e, nel contempo, di lanciare uno sguardo a futuribili, ma ormai sempre più realizzabili applicazioni.

Le membrane da dialisi

La classificazione più tradizionale delle membrane per dialisi è quella che fa riferimento a 2 grandi categorie di membrane:

- a) membrane cellulosiche - quindi di origine naturale;
- b) membrane polimeriche di sintesi - quindi di origine sintetica, cioè composti il cui monomero non esiste in natura (1).

Per quanto riguarda le membrane polimeriche, è solitamente indispensabile nel processo di produzione utilizzare una fase di gelificazione che consente di stabilizzarne la struttura. Sulla base di questa necessità, diversi sono i meccanismi attraverso i quali la struttura dei vari polimeri è mantenuta. Sulla base dei meccanismi adottati, si può tentare una classificazione delle membrane sintetiche basate sul tipo di legame chimico utilizzato per rendere stabile queste strutture

TAB. I

Legame	Esempi
Covalente	PVA, PVP, PAAm, PHEMA
Ionico	PIC
Idrogeno	CA, C
Idrofobico	PMMA

PVA = polivinil alcool; PVP = polivinilpirrolidone; PAAm = poliamilamide; PHEMA = poliidrossietil metacrilato; PIC = poliionico complex membrane; CA = acetato di cellulosa; C = cellulosa; PMMA = polimetilmetacrilato

(Tab. I).

Questo aspetto del problema è estremamente importante poiché natura chimica e struttura della membrana determinano le prestazioni della membrana stessa: la struttura della membrana è determinata dalle tecniche di produzione adottate.

Il programma di sviluppo di un sistema di dialisi

Al fine di descrivere l'ideale evoluzione di una membrana, si assume ad esempio la membrana in PMMA. La descrizione della sua storia, della sua evoluzione e dello sviluppo dei suoi prototipi può essere assunta a paradigma dell'evoluzione delle moderne membrane. Nel 1974 la Toray e la Harvard University iniziarono un programma comune di sviluppo di membrana polimerica. Ciò si deve all'utilizzo e all'applicazione industriale di un'idea estesa ad un processo produttivo chimico formulata dal Dr. Carl W. Walter. L'applicazione di questa idea doveva servire a produrre dispositivi artificiali capaci di rilasciare lentamente antibiotici da inserire nel sacco congiuntivale per curare il tracoma. Il secondo aspetto del problema prevedeva lo sviluppo di un nuovo sistema di

rene artificiale. Il primo risultato nel 1974 fu la produzione del primo prototipo di filtro per dialisi a fibre cave, costruito utilizzando membrane non cellulose. Il processo chimico studiato e successivamente applicato su scala industriale fu il seguente:



La prima membrana così prodotta era una membrana ad alto flusso e venne chiamata Serie B1. Per le caratteristiche di elevata conduttività idrica, risultò idonea all'applicazione clinica nel campo dell'emofiltrazione (3). Le proprietà di questa membrana dimostrarono la validità del modello matematico di S.M. Ross (4) e la sua applicabilità ad un modello cinetico a doppio pool (5). La dimostrazione ottenuta con

questo modello consentì di verificare che l'applicazione di forze convettive al processo dialitico produce in linea pratica un incremento della clearance delle sostanze a p.m. medio-elevato, anche se questo vantaggio produce una modesta riduzione della clearance delle sostanze a basso p.m. (5-7).

Gli studi condotti in questa direzione indussero numerose ricerche per lo sviluppo di macchine da dialisi che facessero parte di un sistema integrato:

- a) membrana ad alto flusso;
- b) modulo con controllo del flusso di dialisato a single-pass;
- c) sistema di bilanciamento.

Le macchine da dialisi oggi in uso o che stanno per divenire tali sono state originate da queste idee e prevedono sistemi indipendenti di controllo che regolano la rimozione di piccoli soluti, di soluti a p.m. intermedio e la rimozione di fluidi. Tale sistema integrato ha consentito la riduzione dei tempi dialisi in maniera programmabile e sicura, di entità oscillante intorno al 20%. Il secondo prototipo sviluppato fu chiamato Serie B2 e servì come base per lo studio della biocompatibilità.

La biocompatibilità: la ricerca del "Feel Better"

Sin dal 1960 era noto il dato di una transitoria leucopenia che si poteva verificare in corso di dialisi tradizionale con membrane cellulose. Ottenuta grazie a queste membrane la sopravvivenza del paziente, un programma di ricerca indagò se fosse possibile eliminare alcune delle complicanze legate all'applicazione della dialisi su lungo termine (anemia, osteodistrofia, feno-

TAB. II - RISULTATI E RICERCHE IN CORSO NEL CAMPO DELLA BIOCAMPATIBILITÀ

	Breve periodo (singolo trattamento)	Medio periodo (settimane o mesi)	Lungo periodo (anni)
Sintomi clinici	First Use Syndrome Ipersensibilità ed anafilassi Reazioni allergiche	Infezioni (?) Anemia (?) Aumento sintomi	(?) Immunodeficienza Aumento (?) Mortalità e Morbilità Tunnel carpale
Dati biochimici	Leucopenia Riduzione capacità fagocitaria Ipossimia Attivazione del complemento Attivazione piastrinica	Eosinofilia Ab anti ETO Alterazioni dei neutrofil Alterazioni C3	Cambiamenti nelle IgE e IgG
Modelli animali	Aumento pressione arteriosa polmonare		

meni infettivi). Il NIH stanziò fondi per un programma finalizzato di ricerca su questi soggetti. Lo studio venne pianificato come studio di controllo cross-over. La comparazione venne eseguita tra membrane cellulose (CM) e 2 membrane non cellulose (PAN-AN69 e PMMA-B2). I risultati di questi studi sono sintetizzati nel seguente modo:

- 1) la leucopenia registrata in corso di dialisi è dipendente dal tipo di membrana usata ed in particolare è indotta dalle membrane cellulose in misura molto maggiore di quanto non facciano le membrane non cellulose testate (9);
- 2) tale fenomeno è parallelamente accompagnato da una riduzione della tensione di O₂ arteriosa nel paziente e da generazione di anafilossina C_{3a} (10);
- 3) questi effetti acuti si traducono in importanti conseguenze a medio e lungo termine nei pazienti dializzati (11).

I casi di anafilassi connessi con le metodiche di sterilizzazione e la dimostrazione del coinvolgimento dell'ossido di etilene nel determi-

smo di tali fenomeni ha rafforzato la convinzione generale che la biocompatibilità è una delle componenti del sistema dialisi più importanti. Una sinopsi delle implicazioni legate a questo concetto è mostrata nella Tabella II.

Questi sono gli argomenti ai quali gli studi di biocompatibilità devono dare risposta: a tal fine sarebbero auspicabili trial allargati ed internazionali al fine di razionalizzare gli investimenti di ricerca ed ottenere una migliore qualità dei risultati.

L'omeostasi del paziente in corso di terapia dialitica con membrane alternative

Solo negli ultimi anni, accanto a questi studi c'è stato un ritorno ad una più profonda attenzione a studi che valutano il bilancio elettrolitico e le modificazioni acute ad esso imposte dalla terapia dialitica. Se gli studi sul tampone utilizzato in dialisi sono stati numerosi (bicarbonato (1960) acetato (1980) bicarbonato (1990)), pochi sono i progressi volti a sviluppare membrane

“intelligenti”, cioè dotate di carica elettrica in grado di influenzare i movimenti degli ioni. Il concetto è cioè quello di influenzare questi trasporti non solo attraverso la dimensione dei pori, ma anche attraverso la carica di membrana: l'incorporazione di cariche elettriche dovrebbe quindi influenzare la permeabilità selettiva della membrana di dialisi. Un prototipo di PMMA anionico (B3-TK201) è stato sviluppato al fine di ridurre le oscillazioni del bilancio acido base durante la dialisi ad alta efficienza con membrane altamente permeabili in acetato dialisi. I risultati prodotti sono sintetizzabili in una riduzione della permeabilità agli ioni bicarbonato, conservando l'efficienza di rimozione di urea e creatinina. La sintomatologia intradialitica è risultata migliorata (12). Nello stesso set di esperimenti è stato inoltre dimostrato che la rimozione troppo rapida di fosfati induce transitoria ipofosforemia e specialmente in corso di emodialisi ad alti flussi ciò può generare un bilancio negativo di fosfati sul lungo termine se ad essa si associa malnutrizione o ipercatabolismo protratto (13). È stata

inoltre dimostrata un'alterazione dei processi glicolitici e sono allo studio possibili correzioni farmacologiche di questo fenomeno (14, 15).

Prospettive future: le nuove membrane e i nuovi approcci

Sono in avanzata fase di studio fibre a scambio ionico e colonne adsorbenti (polimixina B) da utilizzare nella terapia dello shock, allo scopo di bloccare le endotossine.

Questi nuovi trend da una parte fanno prevedere la possibilità che si stia per aprire una nuova era di sviluppo per la terapia depurativa extracorporea e che dal filtro si possa passare in futuro ad una struttura in grado di modificare in modo più prevedibile la risposta biologica. La manipolazione delle membrane ha prodotto inoltre un possibile approccio di diverso tipo al problema della coagulazione: l'introduzione delle membrane di Eval è il primo approccio, già disponibile sul mercato, ma nuovi polimeri ad elevata antitrombogenicità sono ormai usciti dalla fase di sperimentazione laboratoristica (Acus System) e ancora una volta sottolineano come il rapporto medicina-industria sia vantaggioso per il progresso dei trattamenti ad elevato contenuto tecnologico.

Un ulteriore aspetto che può essere discusso è quello relativo alla realizzazione di sistemi misti o biointegrati. È questo il caso del problema legato alla rimozione di B2-m.

Verranno di seguito esaminati questi tre aspetti di sviluppo.

Un sistema in grado di rimuovere endotossine deve essere considerato come un sistema reticolo-endoteliale artificiale. In breve, la polimixina B è immobilizzata su una fibra carrier stabilizzata con sottili

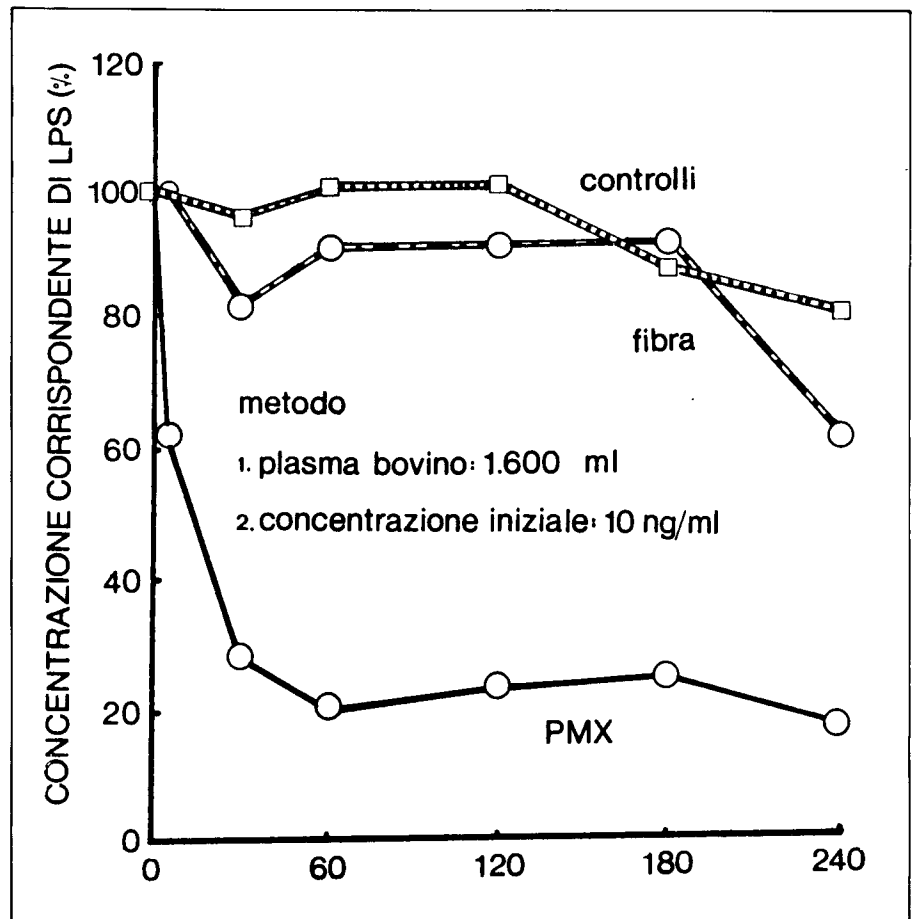


Fig. 1 - Curve di assorbimento di lipopolisaccaridi in un sistema di ricircolo. Control: nessuna fibra (solo plasma); carrier: fibra carrier senza polimixina B; PMX: polimixina B immobilizzata su fibra stabilizzata.

fibre di propilene. La parte interna delle fibre possiede un radicale sul quale è veicolata la polimixina B. La capacità di rimozione di questo sistema è mostrata nella Figura 1, che sintetizza i risultati ottenuti nel corso dei primi esperimenti pilota. Questo approccio a un problema di "depurazione" di sostanze biologicamente attive rappresenta una prima evoluzione del concetto di membrana per dialisi ed è foriero di sviluppi ulteriori al di là della indubbia importanza legata alla specifica applicazione.

Un secondo approccio di evoluzione ideale è quello che si riferisce ai sistemi antitrombogeni per terapia

depurativa. In questo caso all'idea di dialisi si accoppia quella dello sforzo della ricerca verso una maggiore biocompatibilità. Questo sistema è stato applicato alla modalità terapeutica della CAVH in casi selezionati nei quali la eparinizzazione era clinicamente controindicata. Con questo sistema si è ottenuto:

- 1) efficace UFR anche in situazioni di bassa pressione;
- 2) arresto dell'incremento di Cr e BUN con normalità degli elettroliti;
- 3) efficacia dialitica quando utilizzato dializzato.

Questo approccio è senza dubbio il

più avanzato allo stato attuale di sviluppo, vista la presenza di altre membrane con caratteristiche simili sul mercato. È necessario sottolineare che nell'ipotesi di una terapia depurativa antitrombogena solo l'utilizzo di un set (linee + filtro) antitrombogeno raggiunge l'obiettivo della completa abolizione della necessità di eparina. Ancora una volta, quindi, è il sistema dialisi di cui la membrana è la parte centrale che deve essere ripensata e ridisegnata.

Per sistemi misti o biointegrati si intendono sistemi nei quali l'approccio progettuale è volto ad una integrazione di componenti attivi cellulari e/o di cellule e membrane dialitiche. Tale approccio è stato tentato presso i laboratori Toray al fine di affrontare il problema legato all'accumulo di B₂-m non solo dal punto di vista della rimozione e/o dell'adsorbimento, ma cercando di realizzare la degradazione biologica della B₂-m. I dettagli concettuali di questo approccio sono mostrati in Figura 2.

In questo modello artificiale la membrana funziona quindi da supporto per cellule tubulari prossimali, cioè per le cellule che in natura degradano la B₂-m ad aminoacidi.

I risultati ottenuti sui livelli di B₂-m sono evidenziati nella Figura 3.

Conclusioni

La membrana per dialisi è quindi giunta veramente ad un punto della sua evoluzione particolarmente interessante soprattutto dal punto di vista della concezione ideale della membrana dialitica. Per sviluppare questo concetto in modo sufficientemente libero è necessario tenere in mente quanto fatto in circa 30 anni di applicazione della emodia-

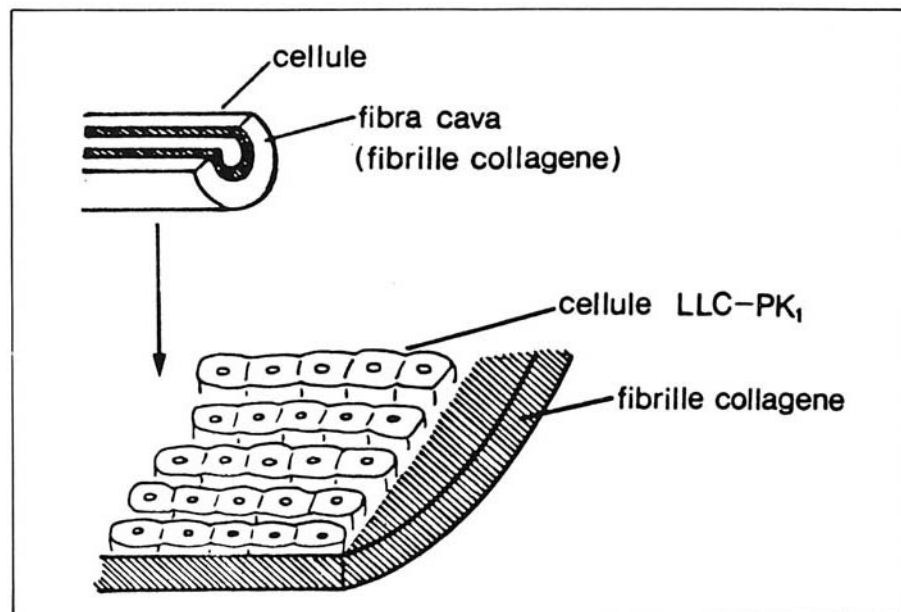


Fig. 2 - Schema di ibridazione extracorporea tra cellule tubulari renali (LLC-PK1) e membrane artificiali.

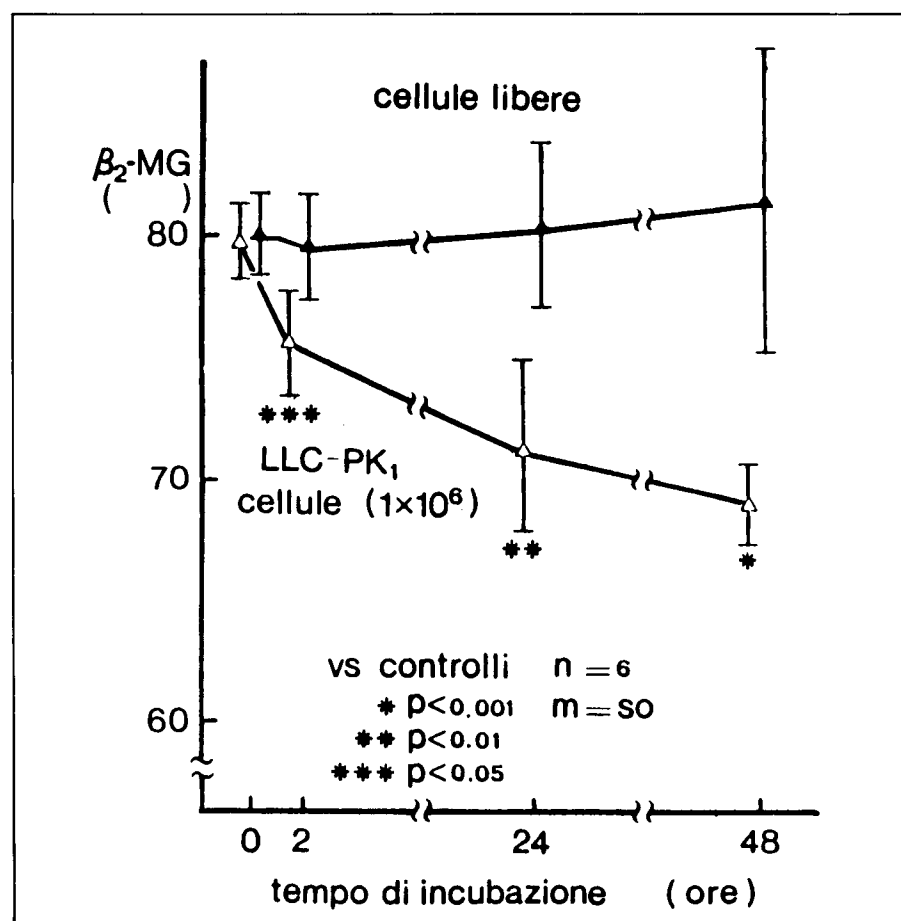


Fig. 3 - Rimozione di B₂-m in un rene artificiale ibridato con cellule tubulari prossimali.

lisi, ma cercare di avere sufficiente fantasia per uscire da schemi tradizionali e a volte eccessivamente costrittivi.

Bibliografia

1. Drioli E. Le membrane in processi di trattamento del sangue. In: Cambi V ed. Trattato Italiano di Dialisi. Milano: Wichtig Editore 1990; Sez 12 cap 4.
2. Kunitomo T. Development of new artificial kidney. *Am J Surg* 1984; 148: 594-8.
3. Kunitomo T, Lowrie EG, O'Brien M, et al. Performance and clinical use of a convertible hemodialysis (HD) ultrafiltration (UF) system. *Proc Clin Dial Transplant Forum* 1976; 6: 120-7.
4. Ross SM. A mathematical model of mass transport in a long permeable tube with radical convection. *J Fluid Mech* 1974; 63: 157-75.
5. Kunitomo T, Kirkwood RG, Kumazawa S, Lazarus JM, Gottlieb MN, Lowrie EG. Clinical evaluation of post-dilution dialysis with combined ultrafiltration (UF hemodialysis system) *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1978; 24: 169-76.
6. Kunitomo T, Lowrie EG, Kumazawa S, et al. Controlled ultrafiltration (UF) with hemodialysis (HD): analysis of coupling between convective and diffusive mass transfer in a new HD-UF system. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1977; 23: 234-42.
7. Kunitomo T. Personal communication.
8. Kirkwood RG, Kunitomo T, Lowrie EG. High rates of controlled ultrafiltration combined with optimal diffusion: recent advances in hemodialysis technique. *Nephron* 1978; 22: 175-81.
9. Hakim RM, Lowrie EG. Hemodialysis associated neutropenia and hypoxemia: the effect of dialysis membrane material. *Nephron* 1982; 32: 32-9.
10. Hakim RM, Lowrie EG. Effect of dialyzer reuse on leukopenia, hypoxemia and total hemolytic complement system. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1980; 26: 159-63.
11. Hakim RM, Feoron DT, Lazarus JM. Biocompatibility of dialysis membranes: effects of chronic dialysis with complement and non-complement activating membranes. *Kidney Int* (in press).
12. Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD. Molecular basis of proteinuria of glomerular origin. *New Engl J Med* 1978; 298: 826-33.
13. Sugisaki H, Onothara M, Kunitomo T. Dynamic behaviour of plasma phosphate in chronic dialysis patients. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1982; 28: 302-7.
14. Sugisaki H, Onobara M, Kunitomo T. Phosphate in dialysis patients. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1983; 29: 38-43.
15. Kunitomo T, Onobara M, Mishiumi J, Inagaki P, Sugisaki H. Phosphate in chronic hemodialysis patients. *Artif Organs* (in press).