

LE TECNICHE DIALITICHE MISTE CONVETTIVE-DIFFUSIVE

L.A. Pedrini, G. Cozzi

U.O. Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliera "Bolognini", Seriate (BG)

Convective and mixed dialysis technique

Hemodiafiltration is the dialytic strategy enabling the high potential of hydraulic and solute permeability of synthetic membranes to be most properly exploited, thus greatly enhancing removal of small and middle-molecular toxic compounds. Several of those solutes have a pathogenic role or are recognized as marker of the most frequent long-term complications and causes of death in HD patients, such as dialysis related amyloidosis, cardiovascular disease, secondary hyperparathyroidism, inflammation and malnutrition. Improved survival in dialysis has been associated, in observational studies, with the use of high-flux membranes and hemodiafiltration with high volume exchange. On-line production of unlimited amount of sterile dialysate at low cost has favored its extensive diffusion in the recent years, and optimal biocompatibility of synthetic high-flux membranes and the quality of the ultra-pure dialysate have contributed to the promising results of the technique. However, to optimize its clinical application and achieve safely the most efficient convective transport, knowledge is required of dialysis systems, dialyzer characteristics and performances, and of the complex interactions between patient and membrane. New hemodiafiltration techniques have been proposed in these years with the aim to improve the efficiency and safety of the technique. More generally, technical aspects and requirements, and experimental and clinical results of the convective-mixed treatments are examined here. (G Ital Nefrol 2007; 24: 498-509)

KEY WORDS:

β_2 -microglobulin,
Hemo(dia)filtration,
High-flux,
Membranes,
Transmembrane
pressure,
Dialysis
strategies

PAROLE CHIAVE:

β_2 -microglobulina,
Emodiafiltrazione,
High-flux,
Membrane,
Pressione trans-
membrana,
Tecnica dialitica

✉ Indirizzo degli Autori:

Dr. Luciano A Pedrini,
U.O. Nefrologia e Dialisi
Ospedale Bolognini di Seriate
Via Paderno, 21
24068 Seriate (BG)
email: nefrologia.seriate@bolognini.bg.it

INTRODUZIONE

Negli anni scorsi studi osservazionali e di Registro su estese popolazioni dialitiche hanno riportato significativi vantaggi clinici e una riduzione della mortalità nei pazienti in emodialisi (HD) cronica con membrane *high-flux* rispetto a quelli trattati con membrane *low-flux* (1-6). In alcuni di questi studi la migliore sopravvivenza è stata associata ad una maggiore rimozione convettiva di soluti tossici medio-molecolari ottenuta con le membrane *high-flux* (4, 6), indipendentemente dagli effetti favorevoli legati alla maggiore biocompatibilità di tali membrane. L'*HEMO Study*, condotto negli USA su un rigoroso disegno statistico prospettico e pubblicato nel 2002, non ha confermato tali risultati (7). Tuttavia nello stesso studio l'incidenza di morte cardiovascolare è risultata minore del 20% nei trattamenti

high-flux rispetto a quelli *low-flux*, e in un'analisi di sottogruppo è stata descritta una maggiore sopravvivenza nei pazienti in HD *high-flux* da più di 3.7 anni (8). Un altro dato rilevante emerso dallo studio è stata l'associazione statistica dei livelli basali di β_2 -microglobulina (β_2 -m) con la mortalità dei pazienti (9). Nell'*HEMO Study la clearance* (K) della β_2 -m, pur significativamente differente fra i due gruppi di pazienti confrontati, era relativamente bassa anche in HD *high-flux* (34 ± 11 mL/min contro 4 ± 7 mL/min in HD *low-flux*). Ciò potrebbe aver impedito la dimostrazione di una più chiara differenza in termini di mortalità generale fra i due gruppi. Infatti, la "filtrazione interna", quale meccanismo di trasporto dei soluti in HD *high-flux* aggiunto alla diffusione, opera ad un flusso convettivo stimato attorno a 30 mL/min con un flusso ematico tra 300 e 400 mL/min (10),

nettamente minore di quello possibile in emodiafiltrazione (HDF) o in emofiltrazione (HF) ad elevati volumi di reinfusione, che consentono di sfruttare al meglio le elevate capacità di trasporto convettivo delle membrane sintetiche *high-flux*. I risultati dello studio *Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study* (DOPPS) su 2165 pazienti di 5 nazioni Europee osservati prospetticamente dal 1998 al 2001 (11), hanno riportato un rischio di morte ridotto del 35% nei pazienti trattati con HDF rispetto a quelli in HD sia *low-flux* che *high-flux*. Tali favorevoli risultati si riferiscono al solo gruppo di pazienti in HDF ad elevato volume di scambio (maggiore di 15 litri/seduta), mentre nessuna differenza è stata rilevata tra HD e HDF a minori volumi di infusione. Pur se indicazioni cliniche definitive devono essere supportate da rigorosi studi prospettici, lo studio DOPPS è suggestivo ad indicare che solo una aumentata rimozione di soluti tossici medio-molecolari con meccanismo convettivo possa significativamente ridurre la mortalità dialitica.

LA CAPACITÀ DEPURATIVA DELLE MEMBRANE HIGH-FLUX

Rimozione di soluti in HD *high-flux*. Rispetto alle membrane *low-flux* le membrane *high-flux* consentono la rimozione di un maggior numero e quantità di soluti a medio peso molecolare (PM) e di piccoli soluti legati alle proteine a cinetica multicompartimentale. Molecola *marker* del primo gruppo è la β_2 -m, la cui aumentata rimozione con membrane *high-flux* in HD (12) ha dimostrato di poter ridurre drasticamente i livelli basali del soluto nel lungo termine (13-16). Dei soluti legati alle proteine come l'omocisteina e alcuni AGEs, solo la frazione libera può essere rimossa in corso di HD *high-flux*. Questa non è sufficiente tuttavia ad indurre nel lungo termine una significativa riduzione dei livelli basali pre-dialisi (17), ottenibile soltanto con l'uso di membrane "*superflux*" ad elevatissima permeabilità (18, 19), ma al prezzo di un importante *leakage* proteico. Tra gli effetti favorevoli della HD *high-flux* in recenti studi controllati è stato riportato anche un significativo miglioramento del quadro dislipidico e delle alterazioni lipoproteiche ossidative dell'uremia, con riduzione dei livelli basali di AGE-Apolipoproteina-B (20) e dei trigliceridi, e aumento delle *high-density* lipoproteine e della lipoprotein lipasi (21, 22). Tuttavia tali vantaggi non erano stati evidenziati in altri studi controllati (23).

Rimozione di soluti nelle tecniche convettivo-miste. Rispetto alla HD *high-flux*, le tecniche convettive e miste quali l'HDF e l'HF possono ottenere una maggiore rimozione intradialitica e, nel lungo termine, più bassi livelli pre-dialitici di soluti in un più

ampio spettro molecolare (Tab. I). Ciò è stato dimostrato da diversi recenti studi controllati sia per molecole piccole, quali l'urea (24-26), la creatinina (24), e il fosforo (27-31), ma soprattutto per soluti a peso molecolare medio-alto come la β_2 -m (11.8 kD) (15, 24-26, 32, 33), la mioglobina (17.2 kD) e l'osteocalcina (5.8 kD) (34), per soluti legati alle proteine quali il p-cresolo (35), la pentosidina e gli AGEs a basso peso molecolare (28, 36), per alcune frazioni del complemento, come il fattore D (24 kD) (37, 38), la cui rimozione induce una ridotta generazione di composti attivi della via alternativa del complemento. Il meccanismo convettivo, con una variabile partecipazione dell'adsorbimento di membrana, ha evidenziato la capacità di rimuovere efficacemente altre frazioni complementari, quali la frazione Ba (33 kD) (37), il C3a (8.9 kD) e il C5a (11 kD) (39) e di citokine pro-infiammatorie come il TNF- α (17 kD) (40, 41) e le interleukine 1 (17 kD) (41), 6 e 8 (40). L'aumentata rimozione di dimetil-arginina asimmetrica (202 D) in corso di HDF (42) non sembra sufficiente a determinare livelli basali più bassi del soluto nel lungo termine (33, 43).

EFFETTI CLINICI DELL'HIGH-FLUX

Molti composti medio-molecolari di cui sopra hanno un ruolo patogenetico o sono *markers* delle più frequenti complicazioni a lungo termine e cause di morte nei pazienti in trattamento dialitico, quali la β_2 -m amiloidosi, la patologia cardio-vascolare, l'iperparatiroidismo secondario, l'infiammazione e la malnutrizione. Un ridotto accumulo o una maggiore rimozione intradialitica e quindi più bassi livelli basali di questi soluti possono prevenire o ritardare la comparsa di tali complicanze. Minori concentrazioni di β_2 -m, oltre ad essere state recentemente correlate ad una minore mortalità generale dialitica nei pazienti arruolati nell'*HEMO Study* (9), hanno dimostrato di poter diminuire l'incidenza e le conseguenze dell'amiloidosi dialitica (14, 44) e della sindrome del tunnel carpale (2, 45, 46). L'elevata capacità di rimozione del fosforo delle tecniche convettivo-miste, ottiene nel lungo termine più bassi livelli pre-dialitici, contribuendo ad un miglior controllo dell'iperparatiroidismo e dell'anemia secondari all'uremia. I livelli basali di fosforo sono stati associati ad un'aumentata sopravvivenza in dialisi in una larga *coorte* di pazienti di due studi speciali dell'*United States Renal Data System* (47). Diversi lavori hanno indagato il ruolo delle membrane *high-flux* in HD e nelle tecniche convettive nel controllo dell'anemia (Tab. II). I più recenti studi randomizzati riportano un significativo aumento dei livelli di emoglobina e/o riduzione del dosaggio di eritropoietina in pazienti

TABELLA I - EFFETTO DEI TRATTAMENTI CONVETTIVI E MISTI SULLE CONCENTRAZIONI BASALI DI SOLUTI E MARKERS UREMICI. STUDI PROSPETTICI RANDOMIZZATI

Soluto	Autore	Anno	Tipo di studio	Effetto della tecnica e P stat.	n. pazienti	Follow-up
β_2 -microglobulina	Beerenhout (33)	2005	HF vs <i>low-flux</i> HD	↓ <0.01	27	1 anno
	Ding (31)	2002	HDF/AFB vs HD	↓ <0.05	12	9 mesi
	Lin (25)	2001	HDF vs <i>high-flux</i> HD	↓ <0.001	112	7.9 mesi
	Wizemann (32)	2000	HDF vs <i>low-flux</i> HD [§]	↓ <0.01	44	2 anni
	Locatelli (15)	1996	HDF vs <i>high/low flux</i> HD	↓ 0.032	380	2 anni
Fosforo	Vaslaki (28)	2006	HDF vs <i>low-flux</i> HD [§]	↓ <0.05	70	6 mesi
	Minutolo (29)	2002	HDF vs <i>low-flux</i> HD*	↓ <0.05	12	3 mesi
	Ding (31)	2002	HDF/AFB vs HD [§]	↓ <0.05	12	9 mesi
Omocisteina	Beerenhout (33)	2005	HF vs <i>low-flux</i> HD	↓ <0.05	27	1 anno
ADMA	Beerenhout (33)	2005	HF vs <i>low-flux</i> HD	- NS	27	1 anno
AGEs	Vaslaki (28)	2006	HDF vs <i>low-flux</i> HD	↓ <0.001	70	6 mesi
	Beerenhout (33)	2005	HF vs <i>low-flux</i> HD	- NS	27	1 anno
p-cresolo	Bammens (35)	2004	HDF vs <i>high-flux</i> HD	↓ <0.05	14	studio in acuto

↓ Indica una riduzione significativa del livello del soluto nelle tecniche convettive/miste rispetto alla HD.

* A parità di dose (Kt/V) e durata di HD.

§ Dose di HD (Kt/V) maggiore in HDF/AFB che in HD.

TABELLA II - EFFETTO DEI TRATTAMENTI *HIGH-FLUX* DIFFUSIVI E CONVETTIVI SUL CONTROLLO DELL'ANEMIA SECONDARIA NEL PAZIENTE DIALIZZATO. STUDI PROSPETTICI RANDOMIZZATI

Autore	Anno	Giornale	Tipo di studio	Effetto della tecnica	N. Pazienti	Follow-up
Vaslaky (28)	2006	Blood Purif	HDF vs <i>low-flux</i> HD [§]	↑	70	6 mesi
Lin (49)	2001	Ren Fail	HDF vs <i>high-flux</i> HD [§]	↑	111	15 mesi
Wizemann (32)	2000	Nephrol Dial Transplant	HDF vs <i>low-flux</i> HD*	NS	44	2 anni
Ward (38)	2000	Nephrol Dial Transplant	HDF vs <i>high-flux</i> HD [§]	NS	44	1 anno
Schrande-vd Meer (54)	1998	Nephrol Dial Transplant	AFB vs <i>low-flux</i> HD [§]	NS	20	1 anno
Eiselt (55)	2000	Int J Artif Organs	AFB vs <i>low-flux</i> HD*	↑	20	1 anno
Basile (56)	2001	Nephrol Dial Transplant	AFB vs <i>low-flux</i> HD*	NS	23	1 anno
Ayli (48)	2004	J Nephrol	HD <i>high-</i> vs <i>low-flux</i> *	↑	48	6 mesi
Richardson (51)	2003	Am J Kidney Dis	HD <i>high-</i> vs <i>mid-flux</i> *	NS	211	7 mesi
Opatrny (52)	2002	Artif Organs	HD <i>high-</i> vs <i>low-flux</i> *	NS	25	2 mesi
Locatelli (53)	2000	Nephrol Dial Transplant	HD <i>high-</i> vs <i>low-flux</i> *	NS	84	3 mesi

↑ Indica un miglioramento del controllo dell'anemia in termini di aumento di Hb o riduzione del dosaggio di ESA.

* A parità di dose (Kt/V) e durata di HD.

§ Dose di HD (Kt/V) maggiore in HDF/AFB che in HD, o in HD *high-* vs *low-flux*.

trattati in HD *high-flux* rispetto alla HD *low-flux* a parità di dose dialitica (Kt/V) (48), e in HDF *on-line* rispetto alla HD *high-flux* (28, 49), possibilmente per una maggiore rimozione di inibitori medio-molecolari dell'eritropoiesi (50). Tali osservazioni non sono in accordo con le conclusioni di precedenti studi (32, 38, 51-

53), e non sono state confermate in Biofiltrazione Senza Acetato (AFB), in cui è risultato controverso il beneficio della tecnica nel miglioramento del controllo dell'anemia in pazienti adeguatamente depurati e non carenti di ferro o vitamine (54-56).

TEST DI VERIFICA

1) Lo studio DOPPS ha confrontato la mortalità dei pazienti di 5 nazioni Europee in trattamento con diverse tecniche dialitiche. Quale, fra le seguenti, è stata l'osservazione conclusiva dello studio circa la mortalità:

- È minore in HDF rispetto alla HD *high-flux*
- È sovrapponibile in HD *high-flux* e in HDF a qualsiasi volume di scambio
- È significativamente minore in HDF ad elevato volume di scambio (>15L) rispetto sia alla HD *low-flux* che alla HD *high-flux*
- È minore in HDF indipendentemente dal volume scambiato rispetto alla HD tradizionale
- Non è stata valutata.

2) La "filtrazione interna" in HD *high-flux* rappresenta un meccanismo di rimozione convettiva delle medie molecole. A quali valori è stimato il flusso convettivo transmembrana a valori di flusso ematico da 300 a 400 mL/min?

- 100 mL/min
- Quasi nullo
- 30 mL/min
- Non valutabile
- Variabile in rapporto al flusso di reinfusione.

3) Quale/i di queste affermazioni è vera?

- La dialisi *high-flux* consente di rimuovere significative quantità di soluti tossici legati alle proteine
- Le tecniche convettivo-miste, rispetto alla HD *low-flux* e *high-flux* rimuovono una maggiore quantità solo di soluti a medio peso molecolare ma non quelli a basso peso molecolare
- Il livelli di fosforo non sono modificati nel medio-lungo termine dalle tecniche convettivo-miste
- Livelli basali ridotti di β_2 -microglobulina sono stati associati ad una minore prevalenza di amiloidosi dialitica e a una migliore sopravvivenza in dialisi
- Vi è una chiara evidenza che l'HD *high-flux* non possa influenzare positivamente il quadro dislipidemico nel paziente in trattamento dialitico.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

LE TECNICHE CONVETTIVE-MISTE

Deve essere riconosciuto il ruolo storico delle tecniche emodiafiltrative con reinfusione in sacca sterile, quali la AFB (57), che utilizza un dialisato senza tampone e reinfusione di soluzioni di NaHCO_3 a varie concentrazioni, proposta per evitare gli effetti vasodilatatori ipotensivanti dell'acetato, e la *Paired Filtration-Dialysis* (58) con la quale, mediante la separazione dei processi di convezione e diffusione in un filtro a doppia camera, si è postulata una migliore stabilità emodinamica durante il trattamento. In seguito l'Emodiafiltrazione con ultrafiltrato endogeno (HFR) (59) con filtro a doppia camera ha eliminato l'uso di sacche sterili e introdotto nella tecnica emodiafiltrativa l'utilizzo dei sorbenti, carbone e/o resina, contenuti in una cartuccia interposta nel circuito extracorporeo, che rimuovono per adsorbimento i soluti tossici dall'ultrafiltrato prodotto nella prima camera del filtro prima della sua reinfusione nella seconda camera. Pur comportando un significativo miglioramento in termini di biocompatibilità di membrana e di efficienza depurativa rispetto alle tecniche dialitiche tradizionali, tali varianti della HDF classica hanno trovato i loro limiti nella ridotta quantità di reinfusione (e convezione) possibile, sia per i costi delle sacche sterili sia per la necessità, in AFB, di evitare l'alcalosi metabolica conseguente a eccessiva infusione di basi. Nel caso della HFR una più efficiente rimozione è limitata dalla ridotta superficie adsorbitiva della cartuccia, e la quota di ultrafiltrato (e reinfusato) dalla superficie relativamente bassa della sezione del filtro, oltre che dalla frazione di filtrazione ottenibile.

La possibilità di produrre *on-line* e infondere illimitate quantità di liquido di reinfusione, preparato sterilmente e a basso costo dal dialisato, ha favorito negli ultimi anni una più estesa applicazione delle tecniche *on-line*, soprattutto dell'HDF che, rispetto all'HF, consente anche una maggiore rimozione di soluti tossici a basso peso molecolare (PM). I migliori risultati clinici e di outcome sono stati ottenuti in tali tecniche *on-line* operando ad elevati volumi di scambio (11, 25). Tuttavia l'ottimizzazione dell'HDF/HF *on-line* in termini di efficienza depurativa e di sicurezza alla elevata ultrafiltrazione (UF) applicata richiede una conoscenza delle performance del dializzatore, delle complesse interazioni membrana-sangue in corso di trattamento e dei sistemi di controllo delle apparecchiature. In HDF *on-line* la modalità di reinfusione condiziona in modo variabile i regimi pressori nel dializzatore e la permeabilità idraulica e ai soluti della membrana (60). Inoltre l'infusione di grandi quantità di una soluzione a concentrazione elettrolitica uguale a quella del dialisato modifica la dinamica degli scambi ionici transmembrana, ed anche in questo caso un ruolo cruciale è

esercitato dal metodo di reinfusione (61). Infine la qualità e la purezza del dialisato e della soluzione infusionale sono ulteriori elementi che possono influenzare in modo determinante i risultati clinici della metodica a breve e lungo termine.

TRASPORTO DI ACQUA E SOLUTI IN HDF ON-LINE

Convezione. I parametri di un dializzatore che ne definiscono la permeabilità idraulica e la capacità di rimozione convettiva dei soluti sono il coefficiente di ultrafiltrazione del dializzatore ($K_{UF}D$, mL/h/mm Hg) e il coefficiente di *sieving* (SC).

Il $K_{UF}D$ è definito *in vitro* in condizioni standard dalla *slope* dell'equazione di regressione lineare tra la pressione *trans*-membrana (TMP) applicata e l'UF ottenuta (62). Nelle membrane *high-flux* tale relazione è lineare fino ad una TMP di 200-300 mmHg, e il valore del $K_{UF}D$ dipende dalla superficie e dalle caratteristiche della membrana (principalmente dal raggio dei pori) oltre che dalla geometria del dializzatore. Il $K_{UF}D$ si riduce *in vivo* per effetto dell'adsorbimento sulla superficie interna della membrana di uno strato proteico (*fouling* di membrana). A bassa UF, in HD, la riduzione non è significativa ed è costante nel corso della seduta (63). In HDF, a più elevata UF o frazione di filtrazione (FF), la polarizzazione per concentrazione delle proteine sul lato ematico della membrana (62, 64, 65) riduce in modo anche sostanziale la permeabilità di membrana. In conseguenza di ciò la relazione TMP-UF assume un andamento curvilineo fino ad un *plateau*, funzione soprattutto del flusso ematico (Q_b), al livello del quale un ulteriore incremento di TMP non ottiene un aumento di UF (62).

Il coefficiente di *sieving* di un dato soluto, misurato *in vitro* in assenza di diffusione, è il rapporto tra la concentrazione del soluto nell'ultrafiltrato e la sua concentrazione media plasmatica. Il S_C è inversamente proporzionale al PM del soluto e dipende dalle caratteristiche di membrana (struttura, composizione elettro-chimica, diametro e conformazione dei pori (60, 65-67). *In vivo* il valore del S_C per i soluti a medio PM, analogamente al $K_{UF}D$, varia anche con il variare delle condizioni operative e dei fattori legati al paziente e per tale motivo è definito "S_C apparente". Una riduzione fino a valori vicini allo zero è stata osservata per il S_C della β_2 -m in HF in post-diluizione ad elevata UF (68) in conseguenza degli stessi fenomeni di polarizzazione proteica, descritti sopra, che riducono la permeabilità idraulica della membrana ad UF molto elevate.

Diffusione. In HDF *on-line*, ancor più che in HD, è impossibile differenziare gli effetti della diffusione da quelli della convezione, per le complesse interazioni

fra i due meccanismi di trasporto. Per un dato dializzatore, superficie, Q_b e flusso del dialisato (Q_d) influenzano maggiormente la rimozione diffusiva, in modo diverso secondo il coefficiente di diffusività del soluto alle condizioni operative. In HDF ad infusione costante aumenti di superficie del dializzatore ottengono modesti aumenti delle *clearances* diffusive secondo una curva che tende ad un *plateau* più rapidamente per i soluti a più basso PM. Il livello del *plateau* dipende dalla permeabilità diffusiva della membrana. Aumenti del Q_b determinano significativi aumenti della K dei piccoli soluti fino a Q_b elevati (500-600 mL/min), mentre la K delle medie molecole non migliora sensibilmente oltre Q_b di 200-250 mL/min (69). Un aumento del Q_d da 500 a 800 mL/min induce un modesto aumento della rimozione dei piccoli soluti, ma non di quelli a più alto PM (70).

Adsorbimento. L'adsorbimento in superficie di soluti prevalentemente a medio PM, per lo stabilirsi di legami elettrochimici con il polimero di membrana, è rilevante come meccanismo di rimozione soprattutto nel caso di certe membrane *high-flux*, quali il poliacrilonitrile e il polimetilmetacrilato (40, 71, 72). Il triacetato di cellulosa ha minori capacità di adsorbimento e rimuove le medie-molecole più per diffusione (40). La poliamide mostra caratteristiche intermedie e combina diffusione e convezione con minore capacità di adsorbimento (40). Il polisulfone (PSF) mostra scarso adsorbimento e rimuove le medie molecole (MM) principalmente per convezione (40, 71).

TEST DI VERIFICA

4) Quale/i di queste affermazioni è vera:

- Il coefficiente di ultrafiltrazione è un indice della permeabilità idraulica di una membrana (K_{UF} , mL/ora/mmHg di TMP/m²) o di un dializzatore (K_{UFD} , mL/ora /mmHg di TMP/)
- Il coefficiente di Sieving SC dipende dalle caratteristiche di membrana, indipendentemente dal tipo di soluto trasportato per convezione
- Un aumento del flusso ematico al filtro Q_b determina un aumento sostanziale delle *clearance* delle piccole molecole più che delle medie molecole
- Il meccanismo principale della rimozione di frazioni del complemento e di citokine con membrane *high-flux* è quello convettivo con una minima partecipazione dell'adsorbimento di membrana

e. Lo spessore del *secondary layer* che si forma per polarizzazione delle proteine sul lato ematico della membrana è proporzionale alla pressione di filtrazione applicata.

5) Per quale/i motivo il *Sieving coefficient* di un soluto medio-molecolare si riduce nel corso di una seduta di emo(dia)filtrazione:

- Per il fenomeno della polarizzazione proteica sulla membrana, progressivo con il progredire della seduta
- Per l'emoconcentrazione e la riduzione del flusso di acqua plasmatica ultrafiltrabile
- Per la progressiva riduzione di concentrazione del soluto
- Per la riduzione della pressione arteriosa del paziente
- Per il fenomeno di adsorbimento sulla superficie della membrana.

6) Quale/i di queste affermazioni relative alle membrane dialitiche *high-flux* è vera:

- La capacità adsorbitiva del PAN (AN69) consente di rimuovere con una certa efficacia una quota di citokine circolanti (TNF- α , interleukine)
- La maggiore capacità di trasporto convettivo è posseduta da triacetato di cellulosa
- Polisulfone e poliamide hanno uguali caratteristiche
- Il polisulfone rimuove le medie molecole principalmente per convezione, con scarso apporto dei meccanismi diffusivo e adsorbitivo
- Il Polimetilmetacrilato non esiste in versione *high-flux*.

TECNICHE E MODALITÀ DI INFUSIONE IN HDF ON-LINE

L'Emodiafiltrazione in post-diluizione è quella che rimuove più efficacemente le MM (24, 69). Ma essa è anche quella in cui più frequentemente si verifica una riduzione a livelli critici della permeabilità della membrana. Ematocrito (Htc) e proteine totali basali variano da paziente a paziente e nello stesso paziente durante la seduta in rapporto alla deidratazione programmata ma soprattutto alla capacità di *refilling* di fluido dallo spazio extra-vascolare. Un elevato Htc può essere presente per effetto di terapie con agenti stimolanti l'eritropoiesi. Con il progredire della sessione di trattamento, l'emoconcentrazione eccessiva riduce il flusso di acqua plasmatica ultrafiltrabile con riflessi negativi sul trasporto di soluti, e, oltre un certo limite, causa coagulazione di fibre fino alla coagulazione in toto del dializzatore. La progressiva concentrazione delle proteine, oltre ad aumentare l'effetto di polarizzazione di

membrana proporzionalmente all'UF applicata, esercita una crescente pressione osmotica che si oppone all'UF stessa (64, 65). Q_B elevati, per un elevato *shear rate*, contrastano questo meccanismo, esercitando un'azione di "stiramento" che assottiglia lo strato limite proteico all'interfaccia sangue membrana. A Q_B costante il $K_{UF}D$ si riduce durante la sessione, e TMP sempre più elevate sono necessarie per mantenere l'UF programmata (60). Valori di TMP molto elevati possono peraltro determinare danni cellulari e denaturazione proteica (62).

L'Emodiafiltrazione in pre-diluizione garantisce migliori condizioni reologiche e pressorie, consentendo quindi maggiori infusioni e UF. Il flusso intracapillare aumentato assicura un elevato *shear rate* che preserva più efficacemente le caratteristiche di permeabilità della membrana. Tuttavia, in termini di efficienza, questo vantaggio può essere vanificato dall'effetto di diluizione dei soluti all'ingresso del filtro, che ne riduce la concentrazione disponibile per il *transfer* diffusivo e convettivo, e quindi la rimozione cumulativa. La diluizione crea un gradiente di concentrazione più favorevole al passaggio transcellulare nel sangue di piccoli soluti diffusibili quali l'urea (73), ma significative perdite di efficienza del trattamento sono evitabili solo aumentando l'infusione e l'UF fino a circa il doppio rispetto alla post-diluizione (69).

Se, come detto, l'obiettivo dell'HDF *on-line* è quello di incrementare la rimozione convettiva soprattutto dei composti medio-molecolari, l'elevata permeabilità delle membrane sintetiche *high-flux* deve essere sfruttata appieno. L'HDF in post-diluizione richiede quindi un buon flusso ematico dall'accesso vascolare, elevate quote di reinfusione e frazioni di filtrazione (FF) (60) e una buona stabilità cardio-vascolare del paziente, garantita da un efficace *refilling* extra-intravascolare. Tali caratteristiche sono sempre più spesso assenti nei pazienti di età avanzata, diabetici e cardiopatici, con funzione cardiaca e nervosa autonoma frequentemente ridotta e apparato vascolare compromesso. In tali pazienti, nei quali possono più spesso mancare le condizioni che garantiscono un buon flusso convettivo, e più facilmente verificarsi le condizioni di rischio sopra descritte, appare più indicata la scelta della pre-diluizione, attuabile in modo efficace anche a flusso ematico non particolarmente spinto e più bassa FF.

L'Emodiafiltrazione mista (pre e post-diluizione), finora sperimentata in un *setting* ristretto, consente di minimizzare i problemi e i rischi tipici della pre e post-diluizione (26, 60). Recenti lavori hanno mostrato che in tale tecnica la reinfusione simultanea in pre e post-diluizione, meglio preserva le caratteristiche di permeabilità idraulica e ai soluti del dializzatore, e quindi mantiene condizioni operative reologiche e pressorie più sicure nel dializzatore rispetto all'HDF in post-diluizione indi-

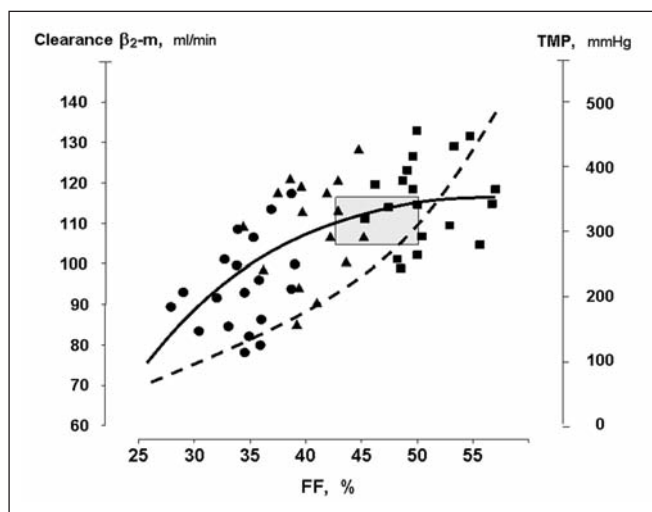


Fig. 1 - Correlazione tra clearance media della β_2 -microglobulina (valori sull'asse delle ordinate sinistro, $r = 0.52$, $p < 0.05$), pressione trans-membrana (TMP, asse delle ordinate destro, $r = 0.96$, $p < 0.001$) e frazione di filtrazione ($FF = Q_{UF}/Q_{PW}$, %) in HDF in prediluzione (cerchi), in post-diluzione (quadrati) e in HDF mista (triangoli) (60). Il trasporto convettivo massimo del soluto in condizioni idrauliche ottimali di sicurezza è ottenibile nel range di valori inclusi nel quadrato a sfondo grigio (v. testo).

pendentemente dalle condizioni operative e del paziente (60), ottenendo inoltre una migliore efficienza nella rimozione dei soluti di piccolo e medio PM (26). Tale tecnica opera ottimizzando in continuo ed automaticamente nel corso della sessione il rapporto tra pre e post-infusione con l'obiettivo di mantenere la massima UF possibile e quindi il massimo trasporto convettivo, sotto il controllo di un *feedback* computerizzato che modula l'UF in base alla TMP rilevata *on-line* (26, 74).

L'**Emodiafiltrazione in mid-dilution**, descritta in recenti lavori come tecnica ad infusione mista ad alta efficienza (75, 76), utilizza un filtro particolare con membrana in polietersulfone (OLpur™ MD190) composto da un fascio di fibre capillari ad U con una porta per infusione al punto medio del fascio tra la branca discendente della U, dove viene attuata l'HDF in post-diluzione e quella ascendente in cui si attua la prediluzione. Il dialisato fluisce in controcorrente al sangue nella sezione discendente e in co-corrente in quella ascendente.

SISTEMI DI CONTROLLO DELL'ULTRAFILTRAZIONE

Ad ogni Q_b impostato la massima efficienza nella rimozione convettiva di MM si ottiene alla FF più elevata (60), raggiungibile in post-diluzione ma non in prediluzione. Tuttavia nella pratica clinica della HDF in post-diluzione è difficoltoso impostare e mantenere in ogni seduta la FF più elevata compatibile con una

TMP non rischiosa, a causa delle variazioni della permeabilità di membrana e delle condizioni di flusso intracapillare durante il trattamento. Poiché la TMP è correlata esponenzialmente alla FF e la *slope* della curva è funzione del $K_{UF} D$, in corso di HDF in post-diluzione ad UF elevata si possono verificare picchi improvvisi di TMP (77), causati da motivi tecnici o eventi clinici legati spesso a un deficit di *refilling*, soprattutto in pazienti cardiopatici, diabetici o tendenti all'ipotensione intradialitica (Fig. 1). Il limite oltre il quale si verificano gli effetti sfavorevoli delle elevate TMP e della emocostrazione è stato storicamente definito, solo in modo empirico (62) a una FF di 0.5, o a valori di Hct del 50% secondo un modello matematico (77). In realtà solo pochi studi hanno investigato negli ultimi anni gli aspetti reologici e le caratteristiche di trasporto di acqua e soluti nelle diverse modalità di infusione dell'HDF.

Fino a tempi recenti il volume di infusione totale di una seduta di HDF veniva stabilito empiricamente in base al flusso sangue del paziente e alle caratteristiche *in vitro* del dializzatore, spesso non ripetibili *in vivo*. I sistemi di controllo delle apparecchiature tradizionali regolano la TMP in modo da ottenere l'UF programmata, ma la variabilità anche individuale delle condizioni reologiche e idrauliche all'interno dei filtri richiede l'applicazione di pressioni di filtrazioni spesso estremamente diverse per ottenere UF simili. Non sono definiti limiti massimi di TMP per operare clinicamente in regime di sicurezza e inoltre la TMP è calcolata come la differenza delle pressioni rilevate all'uscita sangue e dialisato, valore non rappresentativo, se non approssimativamente, dei regimi pressori reali che si verificano lungo le fibre capillari, soprattutto in caso di eventi tecnici o clinici improvvisi. A fronte di queste difficoltà applicative l'atteggiamento comune, dettato dalla prudenza, è stato quello di impostare quote di reinfusione e UF moderate, che non sfruttano appieno le elevate potenzialità di rimozione convettiva della tecnica. È provato che la K della β_2 -m aumenta proporzionalmente all'UF impostata (24, 69), ma per operare con sicurezza nel *range* di ultrafiltrazione ottimale è necessario disporre di sistemi di controllo efficienti. I risultati ottimali descritti con l'HDF mista sono stati ottenuti con l'applicazione sperimentale al sistema Fresenius 5008 di un *feedback* di controllo computerizzato della TMP che, nel corso della sessione, opera ottimizzando *on-line* il rapporto tra pre e post-infusione al fine di mantenere la maggior quota di reinfusione/ultrafiltrazione e la massima FF possibile e quindi il massimo trasporto convettivo in ogni tipo di paziente e con qualsiasi dializzatore ad alto flusso (26, 74). Il *feedback* favorisce la reinfusione in post-diluzione fino a raggiungere e mantenere un regime ottimale di TMP tra 270 e 300 mmHg, mentre tende a dirigere l'infusione in predilui-

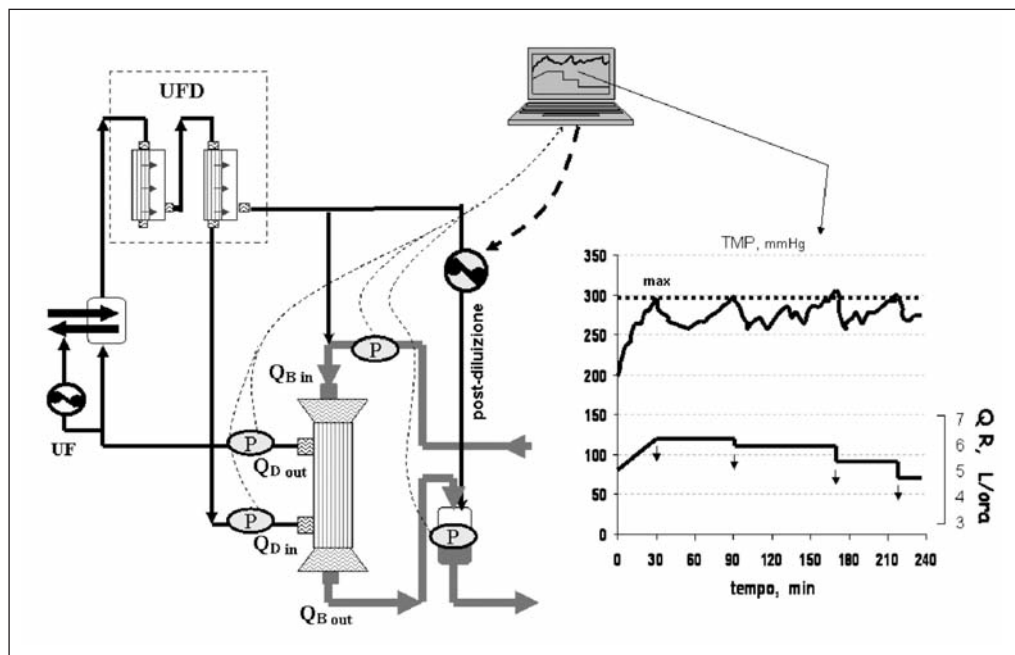


Fig. 2 - Schema di feedback TMP. Infusione/ultrafiltrazione in HDF on-line in post-diluzione. La TMP viene calcolata dai valori di pressione rilevati da sensori (P) su 3 o 4 punti del circuito (pre e post-filtro lato sangue e dialisato) ed elaborata dal software interno all'apparecchiatura. Il feedback opera attraverso aumenti o diminuzioni di velocità della pompa di infusione. Il liquido di infusione è preparato on-line mediante doppia ultrafiltrazione. A destra, ingrandito, schema del grafico di controllo proiettato sul monitor dell'apparecchiatura, dal quale si rilevano le automatiche riduzioni di flusso di infusione (freccie) tendenti a ottimizzare la TMP e a evitarne aumenti pericolosi nel corso della seduta. In HDF mista il flusso totale di infusione non viene ridotto, ma una quota di esso viene spostata in pre-diluzione (non mostrato nella figura).

zione quando, nel corso della seduta, si deteriora la permeabilità di membrana o si verifica una emocoagulazione critica conseguente a un'insufficiente *refilling* del paziente. Peraltro tale sistema di controllo consente l'applicazione di profili di TMP e/o di ultrafiltrazione, risultati ulteriormente vantaggiosi nel preservare la permeabilità selettiva della membrana e ridurre a quote trascurabili la perdita proteica, che si verifica soprattutto a membrana integra all'inizio delle sedute per un'eccessivo *stretching* da pressioni di filtrazione elevate (78, 79). I sistemi di controllo della TMP in HDF on-line in post-diluzione recentemente implementati sui monitor AK 200 Ultra Gambro e 5008 Fresenius operano in modo simile adattando la quota di infusione e l'UF alle variazioni della TMP, regolata su livelli clinicamente ottimali (Fig. 2). Le problematiche della sicurezza del trattamento non appaiono ancora del tutto risolte nell'applicazione della HDF in *mid-dilution*, in cui le *clearances* delle medie molecole, pur elevate, sono ottenute tuttavia con pressioni di filtrazione e regimi pressori all'interno del dializzatore che, in assenza di un'efficace sistema di controllo, possono raggiungere valori molto elevati soprattutto nella sezione in post-diluzione (80).

IL RUOLO DEL DIALISATO "ULTRAPURO"

Endotossine e altri derivati batterici lipo-polisaccaridici e proteici presenti nel dialisato contaminato possono attraversare per diffusione le membrane di dialisi e indurre un'attivazione di monociti e PMN cir-

colanti e la produzione di diverse *citokine* pro-infiammatorie (81), ritenute responsabili sia di attività biologiche con effetti immediati quali anoressia, sonnolenza e induzione delle proteine della fase acuta che dell'infiammazione cronica (82) *trigger* delle degenerazioni aterosclerotiche dei pazienti dializzati. La capacità di adsorbimento delle membrane sintetiche oppone un'efficace barriera al passaggio di derivati batterici, per il formarsi di legami tra costituenti lipidici e protidici batterici e i siti idrofobici del polimero di membrana. Una ulteriore barriera è costituita dallo strato proteico polarizzato sul lato ematico della membrana. Tuttavia la capacità di assorbimento può essere saturata ad elevata contaminazione del dialisato, con conseguente passaggio di endotossine nel sangue e induzione di *citokine* (81). Studi non controllati hanno evidenziato livelli ridotti di IL-1 e IL-6 (82) di proteina C reattiva (CRP) (83) e ridotta formazione di AGEs (84) in pazienti trattati a lungo termine con un dialisato ultrapuro. In altri studi il tipo di membrana utilizzata più che la qualità del dialisato è stata associata all'aumentata stimolazione *citokinica* (85), mentre, in un recente studio prospettico, il livello di CRP è risultato indipendente da entrambi i fattori (86). Pur in assenza di una definitiva conclusione l'utilizzo di un dialisato ultrapuro è un requisito fortemente raccomandato dalle Linee Guida Italiane sui liquidi per dialisi, soprattutto in HD *high-flux* (87). Ma risulta evidente che il rischio maggiore nelle tecniche on-line è quello della infusione diretta di elevate quantità di soluzione preparata dal dialisato e potenzialmente contaminata. Le più diffuse apparecchiature

re per dialisi sono dotate di ultrafiltri per la produzione di dialisato ultrapuro e di infusato sterile con membrane sintetiche ad elevata capacità selettiva. È essenziale che l'infusato, ma anche il dialisato, rispondano ai requisiti di purezza rientrando nei limiti tollerabili di contaminazione batterica e concentrazione di endotossine, raccomandati dalle Linee Guida Italiane ed Europee. Queste forniscono precise indicazioni anche sulla composizione e manutenzione appropriata degli impianti di produzione dell'acqua per dialisi (raccomandato un doppio stadio di osmosi inversa), degli anelli di distribuzione, e sulla disinfezione e i periodici controlli chimico-fisici e batteriologici necessari per verificare e garantire la qualità dell'acqua prodotta (87).

TEST DI VERIFICA

7) Se nel corso di una seduta di emodiafiltrazione in post-diluizione la pressione transmembrana raggiunge valori critici (> 300 mmHg) è necessario:

- Ridurre il flusso ematico al filtro
- Aumentare il flusso ematico
- Ridurre il flusso del dialisato
- Ridurre la quota di reinfusione
- Sostituire il filtro.

8) L'emodiafiltrazione in prediluizione, determinando condizioni operative reologiche e pressorie all'interno del filtro diverse da quelle della post-diluizione, in quali tipi di pazienti appare più indicata?

- Pazienti con scarso *refilling* extra-intravascolare per compromissione della funzione cardiaca e nervosa autonoma (es. diabetici)
- Pazienti con ipertensione
- Pazienti di sesso femminile
- Anziani in generale
- Pazienti con problemi coagulatori.

9) Il dialisato ultrapuro è un requisito ottimale:

- In tutte le tecniche dialitiche
- In emodialisi standard (HD)
- Solo nelle tecniche di emo(dia)filtrazione (HDF) *on-line* perché viene infuso
- Solo in HD *high-flux* in cui si verifica il fenomeno della *backfiltration*
- Non è necessario.

CONCLUSIONI

L'utilizzo di membrane sintetiche *high-flux* in tecniche dialitiche quali l'HDF *on-line*, sfruttando più estesamente il meccanismo convettivo, ottiene una maggiore

rimozione di soluti tossici medio-molecolari accumulati nell'uremia cronica, a cui si associano i vantaggi dell'uso di materiali altamente biocompatibili e di un dialisato ultrapuro. Tali effetti si traducono in più bassi livelli basali di alcune sostanze tossiche o *marker* di patologie spesso fatali associate o secondarie all'uremia, con una ridotta espressione clinica e progressione della patologia stessa. Attraverso questo e altri possibili meccanismi è ragionevole ipotizzare che le tecniche convettivo-miste ad elevato volume di scambio abbiano la potenzialità di ridurre sostanzialmente l'elevata mortalità dei pazienti in trattamento dialitico. Pur in assenza di un'evidenza definitiva da studi prospettici su grandi numeri, i risultati di alcuni studi osservazionali su larga base (11, 88) suggeriscono tale possibilità. In accordo con quanto raccomandato dalle *European Best Practice Guide Lines* (EBPG) (89), sussistono pertanto forti indicazioni all'uso di strategie dialitiche che garantiscano un'aumentata rimozione di tossine uremiche medio-molecolari. Vi è peraltro ampio spazio per ulteriori sostanziali miglioramenti della tecnica *on-line* riguardo alle modalità di infusione, alle performance dei dializzatori e all'implementazione di *devices* e *feedbacks* di controllo che rendano più sicura l'applicazione di elevate ultrafiltrazioni anche nei pazienti più critici. Tuttavia le tecniche *on-line* sono oggetto di interesse di ricerca e di sperimentazione per uno scarso numero di Nefrologi e, pur se in rapida espansione soprattutto in Italia rispetto ad altri Paesi Europei, sono ancora limitatamente diffuse nella pratica clinica nonostante presentino un miglior rapporto costo/beneficio rispetto alla dialisi tradizionale. Le membrane *high-flux* sono commercializzate in molte realtà al costo di quelle *low-flux* e la produzione di elevate quantità di soluzione di reinfusione avviene a costi irrisori con la tecnica *on-line*, mentre le forme di approvvigionamento mediante *service* sono diffusamente utilizzate per superare i problemi di finanziamento di impianti e apparecchiature. È impressione che ciò possa verificarsi anche per una certa inerzia al cambiamento e un adattamento all'ineluttabilità di percentuali sempre più elevate di insuccessi della terapia dialitica a fronte dell'aggravarsi delle co-morbidità e dell'aumentare dell'età anagrafica dei pazienti dializzati.

RIASSUNTO

L'emodiafiltrazione consente di sfruttare al massimo l'elevata permeabilità delle membrane high-flux e di rimuovere per convezione un'aumentata quantità di soluti tossici uremici sia a basso che a medio peso molecolare. Molti di questi ultimi hanno un ruolo patogenetico o sono markers delle più frequenti patologie invali-

danti e causa di morte nella popolazione dialitica, come quelle cardio-vascolari, l'infiammazione, la malnutrizione, l'iperparatiroidismo secondario e l'amiloidosi dialitica. Una riduzione di mortalità nei pazienti in dialisi è stata associata all'uso di membrane high-flux e all'emodiafiltrazione a elevato volume di scambio. La diffusione di questa è stata facilitata negli anni più recenti dalla disponibilità illimitata di soluzioni di infusione sterili prodotte on-line. La tecnica convettiva, anche grazie all'uso di un dialisato ultrapuro e all'elevata biocompatibilità delle membrane sintetiche, ha contribuito ad ottenere promettenti risultati clinici, che dovranno essere però confermati da studi prospettici. Tuttavia, per ottimizzare l'applicazione clinica delle tec-

niche convettivo-miste e sfruttarne al massimo la capacità di rimozione dei soluti medio molecolari, è necessaria un'approfondita conoscenza dei sistemi dialitici, delle caratteristiche delle membrane e delle complesse interazioni paziente-membrana durante il trattamento. Inoltre la sicurezza dei trattamenti deve essere garantita da sistemi di controllo in grado di modulare flussi e pressioni adattandoli alle performances in vivo delle membrane. Nuove tecniche infusionali e nuovi sistemi di controllo sono stati proposti recentemente al fine di facilitarne l'applicazione e renderla sicura ed altamente efficace. Tali aspetti tecnici ed i risultati clinici disponibili dell'applicazione delle tecniche miste convettive verranno di seguito rivisti.

BIBLIOGRAFIA

- Hornberger JC, Chernew M, Petersen J, Garber AM. A Multivariate Analysis of Mortality and Hospital Admissions With High-Flux Dialysis. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 1227-37.
- Koda Y, Nishi S, Miyazaki S, et al. Switch From Conventional to High-Flux Membrane Reduces the Risk of Carpal Tunnel Syndrome and Mortality of Hemodialysis Patients. *Kidney Int* 1997; 52: 1096-101.
- Bloembergen WE, Hakim RM, Stannard DC, et al. Relationship of Dialysis Membrane and Cause-Specific Mortality. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 1-10.
- Leyboldt JK, Cheung AK, Carroll CE, et al. Effect of Dialysis Membranes and Middle Molecule Removal on Chronic Hemodialysis Patient Survival. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 349-55.
- Woods HF, Nandakumar M. Improved Outcome for Haemodialysis Patients Treated With High-Flux Membranes. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (Suppl. 1): 36-42.
- Port FK, Wolfe RA, Hulbert-Shearon TE, et al. Mortality Risk by Hemodialyzer Reuse Practice and Dialyzer Membrane Characteristics: Results From the Usrds Dialysis Morbidity and Mortality Study. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 276-86.
- Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, et al. Effect of Dialysis Dose and Membrane Flux in Maintenance Hemodialysis. *N Engl J Med* 2002; 347: 2010-9.
- Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, et al. Cardiac Diseases in Maintenance Hemodialysis Patients: Results of the HEMO Study. *Kidney Int* 2004; 65: 2380-9.
- Cheung AK, Rocco MV, Yan G, et al. Serum Beta-2 Microglobulin Levels Predict Mortality in Dialysis Patients: Results of the HEMO Study. *J Am Soc Nephrol* 2005; 17: 546-55.
- Mineshima M, Ishimori I, Ishida K, et al. Effects of Internal Filtration on the Solute Removal Efficiency of a Dialyzer. *ASAIO J* 2000; 46: 456-60.
- Canaud B, Bragg-Gresham JL, Marshall MR, et al. Mortality Risk for Patients Receiving Hemodiafiltration Versus Hemodialysis: European Results From the DOPPS. *Kidney Int* 2006; 69: 2087-93.
- Bonomini M, Fiederlin B, Bucciarelli T, et al. A New Polymethylmethacrylate Membrane for Hemodialysis. *Int J Artif Organs* 1996; 19: 232-9.
- Ward RA, Schaefer RM, Falkenhagen D, et al. Biocompatibility of a New High-Permeability Modified Cellulose Membrane for Haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 47-53.
- Kuchle C, Fricke H, Held E, Schiffel H. High-Flux Hemodialysis Postpones Clinical Manifestation of Dialysis-Related Amyloidosis. *Am J Nephrol* 1996; 16: 484-8.
- Locatelli F, Mastrangelo F, Redaelli B, et al. Effects of Different Membranes and Dialysis Technologies on Patient Treatment Tolerance and Nutritional Parameters. The Italian Cooperative Dialysis Study Group. *Kidney Int* 1996; 50: 1293-302.
- Ayli M, Ayli D, Azak A, et al. The Effect of High-Flux Hemodialysis on Dialysis-Associated Amyloidosis. *Ren Fail* 2005; 27: 31-4.
- Klemm A, Franke C, Busch M, et al. Influence of Hemodialysis Membrane Permeability on Serum Levels of Advanced Glycation End Products (AGEs) and Homocysteine Metabolites. *Clin Nephrol* 2004; 61: 191-7.
- De Vriese AS, Langlois M, Bernard D, et al. Effect of Dialyzer Membrane Pore Size on Plasma Homocysteine Levels in Haemodialysis Patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2596-600.
- Van Tellingen A, Schalkwijk CG, Teerlink T, et al. Influence of Different Haemodialysis Modalities on AGE Peptide Levels: Intradialytic Versus Long-Term Results. *Nephron Clin Pract* 2005; 100: c1-7.
- Fishbane S, Bucala R, Pereira BJ, et al. Reduction of Plasma Apolipoprotein-B by Effective Removal of Circulating Glycation Derivatives in Uremia. *Kidney Int* 1997; 52: 1645-50.
- Goldberg IJ, Kaufman AM, Lavarias VA, Vanni-Reyes T, Levin NW. High Flux Dialysis Membranes Improve Plasma Lipoprotein Profiles in Patients With End-Stage Renal Disease. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11 (Suppl. 2): 104-7.
- Wanner C, Bahner U, Mattern R, et al. Effect of Dialysis Flux and Membrane Material on Dyslipidaemia and Inflammation in Haemodialysis Patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2570-5.
- Ottosson P, Attman PO, Knight C, et al. Do High-Flux Dialysis Membranes Affect Renal Dyslipidemia? *ASAIO J* 2001; 47: 229-34.

24. Lornoy W, Becaus I, Billioux JM, et al. Remarkable Removal of Beta-2-Microglobulin by on-Line Hemodiafiltration. *Am J Nephrol* 1998; 18: 105-8.
25. Lin CL, Yang CW, Chiang CC, et al. Long-Term on-Line Hemodiafiltration Reduces Predialysis Beta-2-Microglobulin Levels in Chronic Hemodialysis Patients. *Blood Purif* 2001; 19: 301-7.
26. Pedrini LA, De Cristofaro V. On-Line Mixed Hemodiafiltration With a Feedback for Ultrafiltration Control: Effect on Middle-Molecule Removal. *Kidney Int* 2003; 64: 1505-13.
27. Zehnder C, Gutzwiller JP, Renggli K. Hemodiafiltration: a New Treatment Option for Hyperphosphatemia in Hemodialysis Patients. *Clin Nephrol* 1999; 52: 152-9.
28. Vaslaki L, Major L, Berta K, et al. On-Line Haemodiafiltration Versus Haemodialysis: Stable Haematocrit With Less Erythropoietin and Improvement of Other Relevant Blood Parameters. *Blood Purif* 2006; 24: 163-73.
29. Minutolo R, Bellizzi V, Cioffi M, et al. Postdialytic Rebound of Serum Phosphorus: Pathogenetic and Clinical Insights. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1046-54.
30. Lornoy W, De Meester J, Becaus I, et al. Impact of Convective Flow on Phosphorus Removal in Maintenance Hemodialysis Patients. *J Ren Nutr* 2006; 16: 47-53.
31. Ding F, Ahrenholz P, Winkler RE, et al. Online Hemodiafiltration Versus Acetate-Free Biofiltration: a Prospective Crossover Study. *Artif Organs* 2002; 26: 169-80.
32. Wizemann V, Lotz C, Techert F, Uthoff S. On-Line Haemodiafiltration Versus Low-Flux Haemodialysis. A Prospective Randomized Study. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (Suppl. 1): 43-8.
33. Beerenhout CH, Luik AJ, Jeuken-Mertens SG, et al. Pre-Dilution on-Line Haemofiltration Vs Low-Flux Haemodialysis: a Randomized Prospective Study. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1155-63.
34. Maduell F, Navarro V, Cruz MC, et al. Osteocalcin and Myoglobin Removal in on-Line Hemodiafiltration Versus Low- and High-Flux Hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 582-9.
35. Bammens B, Evenepoel P, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Removal of the Protein-Bound Solute P-Cresol by Convective Transport: a Randomized Crossover Study. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 278-85.
36. Lin CL, Huang CC, Yu CC, et al. Reduction of Advanced Glycation End Product Levels by on-Line Hemodiafiltration in Long-Term Hemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 524-31.
37. Kaiser JP, Oppermann M, Gotze O, et al. Significant Reduction of Factor D and Immunosuppressive Complement Fragment Ba by Hemofiltration. *Blood Purif* 1995; 13: 314-21.
38. Ward RA, Schmidt B, Hullin J, Hillebrand GF, Samtleben WA. Comparison of on-Line Hemodiafiltration and High-Flux Hemodialysis: a Prospective Clinical Study. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 2344-50.
39. Jorstad S, Smeby LC, Balstad T, Wideroe TE. Generation and Removal of Anaphylatoxins During Hemofiltration With Five Different Membranes. *Blood Purif* 1988; 6: 325-35.
40. Bouman CS, van Olden RW, Stoutenbeek CP. Cytokine Filtration and Adsorption During Pre- and Postdilution Hemofiltration in Four Different Membranes. *Blood Purif* 1998; 16: 261-8.
41. Goldfarb S, Golper TA. Proinflammatory Cytokines and Hemofiltration Membranes. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 228-32.
42. Schroder M, Riedel E, Beck W, Deppisch RM, Pommer W. Increased Reduction of Dimethylarginines and Lowered Interdialytic Blood Pressure by the Use of Biocompatible Membranes. *Kidney Int* 2001; 59 (Suppl. 78): 19-24.
43. Kalousova M, Kielstein JT, Hodkova M, et al. No Benefit of Hemodiafiltration Over Hemodialysis in Lowering Elevated Levels of Asymmetric Dimethylarginine in ESRD Patients. *Blood Purif* 2006; 24: 439-44.
44. Van Ypersele DS, Jadoul M, Malghem J, Maldague B, Jamart J. Effect of Dialysis Membrane and Patient's Age on Signs of Dialysis-Related Amyloidosis. The Working Party on Dialysis Amyloidosis. *Kidney Int* 1991; 39: 1012-9.
45. Locatelli F, Marcelli D, Conte F, et al. Comparison of Mortality in ESRD Patients on Convective and Diffusive Extracorporeal Treatments. The Registro Lombardo Dialisi e Trapianto. *Kidney Int* 1999; 55: 286-93.
46. Gejyo F, Kawaguchi Y, Hara S, et al. Arresting Dialysis-Related Amyloidosis: a Prospective Multicenter Controlled Trial of Direct Hemoperfusion With a Beta2-Microglobulin Adsorption Column. *Artif Organs* 2004; 28: 371-80.
47. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of Serum Phosphorus and Calcium x Phosphate Product With Mortality Risk in Chronic Hemodialysis Patients: a National Study. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 607-17.
48. Ayli D, Ayli M, Azak A, et al. The Effect of High-Flux Hemodialysis on Renal Anemia. *J Nephrol* 2004; 17: 701-6.
49. Lin CL, Huang CC, Chang CT, et al. Clinical Improvement by Increased Frequency of on-Line Hemodiafiltration. *Ren Fail* 2001; 23: 193-206.
50. Bonomini M, Ballone E, Di Stante S, et al. Removal of Uraemic Plasma Factor(s) Using Different Dialysis Modalities Reduces Phosphatidylserine Exposure in Red Blood Cells. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 68-74.
51. Richardson D, Lindley EJ, Bartlett C, Will EJ. A Randomized, Controlled Study of the Consequences of Hemodialysis Membrane Composition on Erythropoietic Response. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 551-60.
52. Opatrny K Jr, Reischig T, Vienken J, et al. Does Treatment Modality Have an Impact on Anemia in Patients With Chronic Renal Failure? Effect of Low- and High-Flux Biocompatible Dialysis. *Artif Organs* 2002; 26: 181-8.
53. Locatelli F, Andrulli S, Pecchini F, et al. Effect of High-Flux Dialysis on the Anaemia of Haemodialysis Patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1399-409.
54. Schrandt-vd Meer AM, ter Wee PM, Donker AJ, van Dorp WT. Dialysis Efficacy During Acetate-Free Biofiltration. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 370-4.
55. Eiselt J, Racek J, Opatrny K Jr. The Effect of Hemodialysis and Acetate-Free Biofiltration on Anemia. *Int J Artif Organs* 2000; 23: 173-80.
56. Basile C, Giordano R, Montanaro A, et al. Effect of Acetate-Free Biofiltration on the Anaemia of Haemodialysis Patients: a Prospective Cross-Over Study. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1914-9.
57. Santoro A, Ferrari G, Spongano M, Badiali F, Zucchelli P. Acetate-Free Biofiltration: a Viable Alternative to Bicarbonate Dialysis. *Artif Organs* 1989; 13: 476-9.
58. Ghezzi PM, Frigato G, Fantini GF, et al. Theoretical Model and First Clinical Results of the Paired Filtration-Dialysis (PFD). *Life Support Syst* 1983; 1 (Suppl. 1): 271-4.
59. de Francisco AL, Pinera C, Heras M, et al. Hemodiafiltration With on-Line Endogenous Reinfusion. *Blood Purif* 2000; 18: 231-6.
60. Pedrini LA, De Cristofaro V, Pagliari B, Sama F. Mixed Predilution and Postdilution Online Hemodiafiltration Compared With the Traditional Infusion Modes. *Kidney Int* 2000; 58: 2155-65.
61. Pedrini LA, De Cristofaro V, Pagliari B, Ruggiero P. Dialysate/Infusate Composition and Infusion Mode in on-Line Hemodiafiltration. *Contrib Nephrol* 2002; 137: 344-9.
62. Henderson LW. Biophysics of ultrafiltration and hemofiltration. In: Maher JF, ed. Replacement of Renal Function by

- Dialysis. Dordrecht: Kluwer Academic, 1989; 300-26.
63. Bosch T, Schmid B, Samtleben W, Gurland HJ. Effect of Protein Adsorption on Diffusive and Convective Transport Through Polysulfone Membranes. *Contrib Nephrol* 1985; 46: 14-22.
 64. Vilker VL, Colton CK, Smith KA. Concentration Polarization in Protein Ultrafiltration. *Am Inst Chem Enginr* 1981; 47: 632-9.
 65. Rockel A, Hertel J, Fiegel P, et al. Permeability and Secondary Membrane Formation of a High Flux Polysulfone Hemofilter. *Kidney Int* 1986; 30: 429-32.
 66. Ronco C, Brendolan A, Cappelli G, et al. In Vitro and in Vivo Evaluation of a New Polysulfone Membrane for Hemodialysis. Reference Methodology and Clinical Results. (Part 1: in Vitro Study). *Int J Artif Organs* 1999; 22: 604-15.
 67. Morti SM, Zydney AL. Protein-Membrane Interactions During Hemodialysis: Effects on Solute Transport. *ASAIO J* 1998; 44: 319-26.
 68. David S, Cambi V. Hemofiltration: Predilution Versus Postdilution. *Contrib Nephrol* 1992; 96: 77-85.
 69. Wizemann V, Kulz M, Techert F, Nederlof B. Efficacy of Haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 (Suppl. 4): 27-30.
 70. Hauk M, Kuhlmann MK, Riegel W, Kohler H. In Vivo Effects of Dialysate Flow Rate on Kt/V in Maintenance Hemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 105-11.
 71. Chanard J, Caudwell V, Valeire J, et al. Kinetics of 131I-Beta2 Microglobulin in Hemodialysis Patients: Assessment Using Total Body Counting. *Artif Organs* 1998; 22: 574-80.
 72. Fujimori A, Naito H, Miyazaki T. Adsorption of Complement, Cytokines, and Proteins by Different Dialysis Membrane Materials: Evaluation by Confocal Laser Scanning Fluorescence Microscopy. *Artif Organs* 1998; 22: 1014-7.
 73. Cheung AK, Alford MF, Wilson MM, Leypoldt JK, Henderson LW. Urea Movement Across Erythrocyte Membrane During Artificial Kidney Treatment. *Kidney Int* 1983; 23: 866-9.
 74. Pedrini LA, De Cristofaro V, Pagliari B, Filippini M, Ruggiero P. Optimization of Convection on Hemodiafiltration by Transmembrane Pressure Monitoring and Biofeedback. *Contrib Nephrol* 2002; 137: 254-9.
 75. Krieter DH, Collins G, Summerton J, et al. Mid-Dilution on-Line Haemodiafiltration in a Standard Dialyser Configuration. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 155-60.
 76. Krieter DH, Falkenhain S, Chalabi L, et al. Clinical Cross-Over Comparison of Mid-Dilution Hemodiafiltration Using a Novel Dialyzer Concept and Post-Dilution Hemodiafiltration. *Kidney Int* 2005; 67: 349-56.
 77. Jenkins RD, Funk JE, Chen B, Golper TA. Operational Instability in Extracorporeal Filtration of Blood. *Blood Purif* 1992; 10: 292.
 78. Kim ST, Yamamoto C, Taoka M, Takasugi M. Programmed Filtration, a New Method for Removing Large Molecules and Regulating Albumin Leakage During Hemodiafiltration Treatment. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: S220-3.
 79. Pedrini LA, Cozzi G, Faranna P, et al. Transmembrane Pressure Modulation in High-Volume Mixed Hemodiafiltration to Optimize Efficiency and Minimize Protein Loss. *Kidney Int* 2006; 69: 573-9.
 80. Feliciani A, Riva A, Zerbi S, Cozzi G, Pedrini LA. New Strategies in Haemodiafiltration (HDF): Prospective Comparative Analysis Between on-Line Mixed HDF and Mid-Dilution HDF. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1672-9.
 81. Lonnemann G, Sereni L, Lemke HD, Tetta C. Pyrogen Retention by Highly Permeable Synthetic Membranes During in Vitro Dialysis. *Artif Organs* 2001; 25: 951-60.
 82. Schindler R, Lonnemann G, Schaffer J, et al. The Effect of Ultrafiltered Dialysate on the Cellular Content of Interleukin-1 Receptor Antagonist in Patients on Chronic Hemodialysis. *Nephron* 1994; 68: 229-33.
 83. Schiffl H, Lang SM, Stratakis D, Fischer R. Effects of Ultrapure Dialysis Fluid on Nutritional Status and Inflammatory Parameters. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1863-9.
 84. Gerdemann A, Wagner Z, Solf A, et al. Plasma Levels of Advanced Glycation End Products During Haemodialysis, Haemodiafiltration and Haemofiltration: Potential Importance of Dialysate Quality. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1045-9.
 85. Schouten WE, Grooteman MP, van Houte AJ, et al. Effects of Dialyser and Dialysate on the Acute Phase Reaction in Clinical Bicarbonate Dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 379-84.
 86. Van Tellingen A, Grooteman MP, Schoorl M, et al. Intercurrent Clinical Events Are Predictive of Plasma C-Reactive Protein Levels in Hemodialysis Patients. *Kidney Int* 2002; 62: 632-8.
 87. Alloatti S, Bolasco P, Canavese C, et al. Guidelines on Water and Solutions for Dialysis. Italian Society of Nephrology. *G Ital Nefrol* 2005; 22: 246-73.
 88. Chauveau P, Nguyen H, Combe C, et al. Dialyzer Membrane Permeability and Survival in Hemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 565-71.
 89. Tattersall J, Martin-Malo A, Pedrini LA, et al. EBPG Guideline on Dialysis Strategies. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (Suppl. 2): ii5-21.