

## Update sull'impiego della proteomica in emodialisi

### cap.4 Proteomica ed emodialisi

Mario Bonomini<sup>1</sup>, Vittorio Sirolli<sup>1</sup>, Silvia Baroni<sup>2</sup>, Andrea Urbani<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup> Clinica Nefrologica dell'Università degli Studi "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara, Ospedale Clinicizzato "SS. Annunziata", Chieti

<sup>2</sup> Istituto di Biochimica e Biochimica Clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

<sup>3</sup> Fondazione Santa Lucia- IRCCS, Roma



Mario Bonomini

#### ABSTRACT

La proteomica è diventata una delle discipline sperimentali di punta per meglio comprendere il ruolo chiave esercitato dalle proteine e dall'interazione tra miscele proteiche in ogni fase della funzione cellulare.

Le applicazioni della proteomica nella terapia emodialitica sono progressivamente aumentate nel corso degli ultimi anni e, dall'iniziale applicazione con elettroforesi bidimensionale, si è passati all'impiego di cromatografia liquida con spettrometria di massa. Queste analisi, più convenienti e riproducibili, hanno permesso di evidenziare nuove singole isoforme proteiche e modificazioni proteiche post-traslazionali, meglio definendo la natura biochimica dell'uremia.

La proteomica è stata infatti impiegata per la ricerca di nuove tossine uremiche, l'identificazione di biomarcatori, la valutazione dell'efficacia emodepurativa e della biocompatibilità delle membrane.

Nel presente lavoro verranno presentati i risultati delle più recenti ricerche di proteomica nell'ambito della terapia dialitica.

#### PAROLE CHIAVE:

Proteomica, emodialisi, membrana, tossine uremiche, biocompatibilità, adsorbimento, proteine.

#### ABSTRACT

Application of proteomics has become one of the leading experimental disciplines for increased understanding of the key role played by proteins and protein-protein interactions in all aspects of cell function. There is an increasing use of proteomic technologies for investigation into renal replacement therapy such as hemodialysis. In the last 10 years, the application of shotgun bottom-up liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry approaches has been successfully applied to research in uremic toxicity, with the discovery of novel uremic toxins and the potential to delineate a precise molecular approach to defining the biochemical nature of uremia.

Major investigations of proteomics in hemodialysis therapy include molecular definition of uremic toxicity, identification of prognostic biomarkers, blood purification efficiency testing, and biocompatibility assessment of the dialyzer membrane materials.

In this article, we review the results of recent proteomic investigations in the setting of chronic hemodialysis therapy.

#### KEYWORDS:

Proteomic, hemodialysis, membrane, uremic toxins, biocompatibility, adsorption, proteins.

## INTRODUZIONE

---

L'emodialisi (HD) rappresenta la modalità più comunemente impiegata nel trattamento della malattia renale cronica (MRC) terminale. Il principale fattore determinante successo e qualità della terapia sostitutiva è rappresentato dalla membrana artificiale presente negli emodializzatori. Le membrane sono sottili barriere in grado di rimuovere acqua e soluti al fine di permettere un adeguato controllo chimico-biofisico, consentendo la sopravvivenza del paziente ed un (variabile) miglioramento della sua qualità di vita.

Durante la procedura dialitica extracorporea, i meccanismi in grado di rimuovere dal circolo le tossine ritenute ed i fluidi in eccesso includono diffusione, convezione ed adsorbimento. La diffusione e la convezione modulano la rimozione dei piccoli soluti, la prima, e delle medio-grandi molecole attraverso il movimento di massa dei fluidi, la seconda. A questi meccanismi si aggiungono le proprietà adsorbitive di alcune membrane idrofobiche sintetiche, che contribuiscono ad una significativa clearance di composti nocivi quali Beta<sub>2</sub>-microglobulina, *tumor necrosis factor* e peptidi, anche se un eccessivo adsorbimento può limitare la performance emodepurativa di una membrana, riducendone così le proprietà terapeutiche. Occorre anche ricordare che la rimozione intradialitica dei soluti, qualunque ne sia il meccanismo alla base, non è specifica, per cui per ogni singolo biomateriale si potranno avere favorevoli effetti previsti/attesi ma anche rimozione non intenzionale di sostanze utili all'organismo. Inoltre, l'adsorbimento di proteine plasmatiche sulla membrana susseguente al contatto con il sangue durante la procedura dialitica extracorporea è di critica importanza per la biocompatibilità del materiale.

L'applicazione della proteomica è diventata una delle discipline scientifiche di punta per meglio comprendere il ruolo chiave esercitato dalle proteine e l'interazione tra miscele proteiche in ogni fase delle funzioni cellulari. La proteomica è la scienza omica che studia il proteoma (l'insieme di proteine espresse dal genoma) e comprende una serie di tecniche che permettono di identificare, quantizzare e caratterizzare un set globale di proteine e peptidi presenti in un campione biologico. Le proteine svolgono le loro funzioni all'interno di una gerarchia strutturale che comporta l'interazione tra molte catene polipeptidiche. Pertanto l'approccio proteomico alla definizione della fisiopatologia del rene rappresenta una fondamentale evoluzione del principio di Linus Pauling sulle relazioni struttura e funzione. L'interesse nella terapia emodialitica è progressivamente aumentato negli ultimi 10 anni e, dall'iniziale applicazione con elettroforesi bidimensionale, si è passati all'impiego di cromatografia liquida con spettrometria di massa. Queste metodiche, più convenienti e riproducibili, hanno permesso di evidenziare nuove singole isoforme proteiche e modificazioni proteiche post-traslazionali, meglio definendo la natura biochimica dell'uremia.

I principali campi di applicazione della proteomica in HD comprendono la ricerca di nuove tossine uremiche, l'identificazione di biomarcatori, la valutazione dell'efficacia emodepurativa e della biocompatibilità delle membrane (1, 2).

## PROTEOMICA E TOSSICITA' UREMICA

Molti sforzi sono stati fatti per caratterizzare nuove tossine uremiche mediante tecniche proteomiche (3). Ad oggi più di 115 tossine sono state identificate (4) ma indubbiamente molte ne restano da scoprire. In uno studio pilota sull'espressione proteica sierica, l'analisi proteomica SELDI-TOF MS (Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) ha mostrato come, nei pazienti in HD, 15 proteine fossero maggiormente espresse e 15 meno espresse, rispetto ai soggetti sani (5). Nell'ultrafiltrato ottenuto durante HD con dializzatori ad alto flusso, sono state identificate quali potenziali tossine uremiche sei peculiari proteine presenti in 21 isoforme (6). Indagini di proteomica in pazienti emodializzati affetti da prurito, sintomo piuttosto frequente in tali pazienti, hanno mostrato che l'utilizzo della membrana in polimetilmetacrilato leggermente anionica migliorava tale disturbo,

verosimilmente per un aumentato adsorbimento di sostanze con peso molecolare (PM) superiore a 160 kDa in grado di stimolare il rilascio di istamina dalle mast-cellule (7). Più recentemente, uno studio olistico su ampia scala ha documentato la presenza di 2054 proteine nel plasma di pazienti in HD (8). Di queste, 127 in minore e 206 in maggiore quantità rispetto al proteoma plasmatico di pazienti con MRC stadio 2-3. L'analisi delle vie molecolari ha poi indicato il possibile coinvolgimento di queste proteine in complicanze uremiche quali infiammazione, danno vascolare ed alterata emostasi (8). Recenti indagini proteomiche hanno anche dimostrato alterazioni funzionali e di composizione a carico delle lipoproteine ad alta densità (HDL) in pazienti emodializzati. Ventidue proteine sono risultate significativamente aumentate, mentre sei significativamente ridotte (9), alterazioni che potrebbero compromettere le proprietà cardioprotettive delle HDL (9, 10) e contribuire all'aumentato rischio cardiovascolare di tali pazienti.

Mediante impiego dell'elettroforesi capillare con spettrometria di massa, un confronto tra l'ultrafiltrato ottenuto da pazienti in trattamento emodialitico con filtri low-flux e high-flux ha documentato la presenza, rispettivamente, di 1639 e 2515 differenti polipeptidi con PM differente (maggiore per i filtri high-flux) (11). Uno studio simile ha mostrato la presenza nell'ultrafiltrato ottenuto durante HD con filtri high-flux di  $\geq 58$  picchi SELDI con massa per carica di 2000-150000, mentre durante HD con filtri low-flux sono stati identificati solo 6-10 spettri nel range 2000-12000 (12). Tali differenze riflettono una minore efficacia di rimozione delle tossine uremiche da parte delle membrane a basso flusso. Tuttavia, all'interno del gruppo dei filtri ad alto flusso possono esservi differenze nella capacità di rimozione dei vari soluti, anche per membrane con il medesimo materiale di base. Uno studio randomizzato, cross-over che ha comparato 3 membrane in polisulfone di nuova generazione (helixone, purema, amembris), ha posto in evidenza significative differenze (non rilevabili con le determinazioni ematiche) nella rimozione di soluti di medio-elevato PM (8-60 kilodaltons) (13). Anche un più recente studio randomizzato cross-over ha confermato che possono esservi significative differenze tra dializzatori high-flux (14). Valutando e comparando la rimozione di soluti proteici durante emodiafiltrazione in post-diluizione con 2 membrane, polisulfone (amembris) e poliamide, sono state identificate nel dialisato 277 proteine, con una capacità di rimozione superiore con la membrana in polisulfone. Gli Autori hanno quindi caratterizzato le singole proteine rimosse ed hanno notato come, oltre alla rimozione di sostanze tossiche (ad esempio, Beta<sub>2</sub>-microglobulina e fattore D del complemento), ve ne fossero altre come ad esempio la proteina legante la vitamina D, la cui rimozione non è favorevole per l'organismo. Tale studio rappresenta un importante tentativo di indirizzare la ricerca verso una miglior conoscenza delle tossine uremiche da rimuovere e del bilancio tra sostanze rimosse volutamente e non.

La proteomica può inoltre essere impiegata per caratterizzare le proprietà depurative di nuove membrane, confrontandole con quelle di membrane già presenti. Cuoghi et al. (15) hanno esaminato 14 pazienti trattati con HFR (emodiafiltrazione con reinfusione endogena) con 3 diverse membrane in polietersulfone impiegate nella componente convettiva del filtro: polifenilene alto flusso, polifenilene a super alto flusso, e la nuova membrana Synclear 0.2. L'indagine proteomica ha evidenziato una maggiore e specifica permeabilità con la nuova membrana, risultata in particolare in grado di rompere il cosiddetto "muro dell'albumina" con rimozione di soluti tossici a medio-alto PM preservando le sostanze utili, con conseguente miglioramento della efficacia emodepurativa (15).

Un'eterogenea classe di tossine uremiche dotate di proprietà pro-infiammatorie e pro-ossidanti è rappresentata dai prodotti di danno proteico (16). L'uremia è caratterizzata da un aumento sia dello stress ossidativo che dello stress carbonilico, che possono provocare modificazioni chimiche alle proteine e un accumulo di prodotti finale della glicosilazione avanzata (AGEs) (17). In particolare, le proteine possono subire modificazioni post-traslazionali, rilevabili mediante metodologia proteomica ma non con le tecniche analitiche standard, in grado di renderle tossiche. Ad esempio, la glicazione della Beta<sub>2</sub>-microglobulina si ritiene sia implicata nella genesi dell'amiloidosi associata alla dialisi (18) e nell'aumentata esposizione di fosfatidilserina sulla superficie esterna degli eritrociti (19), un'alterazione

quest'ultima che può avere diverse conseguenze fisiopatologiche di rilievo (20-22) e che può essere influenzata dal tipo di trattamento extracorporeo (23).

Nell'uremia le proteine plasmatiche possono inoltre subire un processo di carbonilazione a seguito di legami con derivati carbonilici. La carbonilazione si associa in genere ad una perdita permanente della funzione svolta dalle proteine, cui consegue disfunzione cellulare e danno tissutale (24). Non solo le principali proteine, ma anche quelle presenti in circolo in piccole quantità possono risultare carbonilate nel paziente emodializzato (25). L'emodialisi di per sé può favorire questa alterazione esacerbando lo stress carbonilico (26, 27). D'altro canto, alcune membrane di dialisi possono adsorbire sulla propria superficie proteine carbonilate, rimuovendole così dal sangue (27). Il trattamento emodialitico può pertanto influenzare significativamente il bilancio carbonilico, ed una migliore comprensione dei meccanismi coinvolti nella carbonilazione da dialisi potrebbe essere d'ausilio nella scelta della miglior strategia dialitica da attuare. Non va dimenticato infatti che lo "stress carbonilico" potrebbe essere coinvolto in varie complicanze a lungo termine della malattia uremica (28): basti pensare che la carbonilazione del fibrinogeno può alterare la normale attività coagulativa dei pazienti in HD (29), che lo stress carbonilico può contribuire alle alterazioni funzionali del ventricolo sinistro (28), e che la carbonilazione dell'albumina può svolgere un ruolo importante nella fase iniziale dell'aterogenesi producendo un danno diretto sull'endotelio (25).

## **PROTEOMICA E ADSORBIMENTO PROTEICO SULLA MEMBRANA**

Durante la seduta emodialitica il contatto del sangue con la membrana si associa a deposizione ed adsorbimento di proteine plasmatiche sulla superficie artificiale, in gran parte dipendenti proprio da caratteristiche della membrana stessa, quali idrofilia, rugosità, carica e composizione chimica (30). Oltre a rappresentare un meccanismo di rimozione dal circolo, l'adsorbimento proteico è il principale fattore determinante la bio(in)compatibilità delle membrane. L'interazione con proteine adsorbite sulla superficie di membrana può difatti attivare il sistema del complemento, la cascata coagulativa, il sistema fibrinolitico e meccanismi cellulari (31, 32). Le proprietà di adsorbimento di un materiale impiegato quale membrana per HD, andrebbero pertanto attentamente valutate in relazione a quantità, composizione e cambiamenti conformazionali delle proteine adsorbite (33). Tuttavia ciò è stato a lungo impedito a causa della mancanza di adeguate tecniche di separazione ed identificazione proteica. A questo limite può ovviare l'impiego della proteomica.

Il nostro gruppo, tra i primi a farlo, ha caratterizzato attraverso l'ausilio della proteomica l'adsorbimento proteico di 2 membrane dialitiche (diacetato di cellulosa ed etilenvinilalcol), utilizzando un sistema in vitro che prevedeva il flusso continuo di sangue di soggetti sani in minifiltri a fibre cave (34). Nello specifico si osservavano 10 proteine maggiormente espresse sui filtri in diacetato, mentre 4 erano principalmente adsorbite con etilenvinilalcol. Per meglio definire il ruolo del biomateriale, abbiamo successivamente sviluppato (35) un apparato ex vivo in cui due diverse membrane dialitiche (triacetato di cellulosa e helixone) venivano perfuse simultaneamente dal sangue dello stesso soggetto (volontari sani), correlando le caratteristiche chimiche delle superfici con il proteoma attraverso l'analisi MALDI-TOF/TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight/Time-of-Flight). Il totale di proteine adsorbite sostanzialmente non differiva tra i 2 biomateriali studiati. Tuttavia, mentre 179 spots proteici erano visualizzati per l'helixone, oltre 239 proteine erano ritenute dal triacetato di cellulosa. Molte di queste appartenevano al gene trascritto dell'albumina; al contrario l'helixone legava solo piccole quote di albumina, ma risultava particolarmente attivo nel trattenere sostanze legate alla cascata coagulativa (isoforme del fibrinogeno e frammenti di basso PM del fibrinogeno), suggerendo un'importante attività fibrinolitica e pro-coagulante in seguito al contatto del sangue con la membrana (35). Ciò è stato evidenziato anche in uno studio cross-over in vivo, che ha confermato come l'adsorbimento proteico sia principalmente da attribuire alle proprietà di ciascuna singola membrana e non alle caratteristiche del

paziente (36). In un più recente lavoro sull'eluato proteico ottenuto da membrane in triacetato di cellulosa o helixone dopo la seduta di HD, abbiamo impiegato sistemi di bioinformatica in grado di caratterizzare funzionalmente le proteine identificate (37). L'analisi ha evidenziato il coinvolgimento delle proteine adsorbite in importanti processi molecolari, quali trasporto e metabolismo lipidico, cascata coagulativa, differenziazione e comunicazione cellulare, supportando l'importante ruolo che la proteomica oggi è in grado di svolgere nello studio delle membrane per HD.

Altri Autori hanno focalizzato l'attenzione sulle molecole coinvolte nelle interazioni sangue-membrana durante HD con polisulfone a basso flusso (38), riscontrando con tecniche proteomiche 10 spot proteici con intensità nell'eluato ottenuto dalla membrana a fine seduta, significativamente diversa da quella del plasma, suggerendo un adsorbimento preferenziale. Questi 10 spot proteici includevano ficolina-2 e clasterina, due molecole coinvolte nell'attivazione del complemento, indicando un possibile ruolo della via lectinica del complemento nella bio(in)compatibilità del filtro (38).

## CONCLUSIONI

---

La proteomica oltre a farci meglio conoscere la biochimica e la tossicità dell'uremia, può dare un significativo contributo nella valutazione delle capacità emodepurative e delle proprietà adsorbitive delle membrane utilizzate nel trattamento emodialitico, ottimizzandone l'efficacia terapeutica ed in prospettiva, migliorando la prognosi del paziente. Idealmente, una membrana dovrebbe essere in grado di rimuovere soluti uremici ritenuti in un definito range di PM e indurre una minima attivazione delle componenti ematiche a seguito del contatto sangue/materiale durante la seduta dialitica extracorporea. Le indagini di proteomica, associando informazioni genomiche con insight funzionali sui meccanismi coinvolti nelle interazioni tra sangue e membrane, potrebbero fornire un'adeguata conoscenza per la generazione di biomateriali di terza generazione, più biocompatibili ed efficienti, nell'ottica di una "precision healthcare", con potenziale beneficio per il paziente uremico.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bonomini M, Sirolli V, Pieroni L, Felaco P, Amoroso L, Urbani A. Proteomic investigations into hemodialysis therapy. *Int J Mol Sciences* 2015; 16: 29508-21.
2. Bonomini M, Sirolli V, Magni F, Urbani A. Proteomics and nephrology. *J Nephrol* 2012; 25: 865-71.
3. Schiffer E, Mischak H, Vanholder RC. Exploring the uremic toxins using proteomic technologies. *Contrib Nephrol* 2008; 160: 159-71.
4. Vanholder R, Baurmeister U, Brunet P, Cohen G, Glorieux G, Jankowski JA. Bench to bedside view of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 863-70.
5. Langlois RG, Trebes JE, Dalmaso EA, et al. Serum protein profile alterations in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2004; 24: 268-74.
6. Ward RA, Brinkley KA. A proteomic analysis of proteins removed by ultrafiltration during extracorporeal renal replacement therapy. *Contrib Nephrol* 2004; 141: 280-91.
7. Aoike I. Clinical significance of protein adsorbable membranes-long-term clinical effects and analysis using proteomic technique. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 13-9.
8. Glorieux G, Mullen W, Durantou F, et al. New insights in molecular mechanisms involved in chronic kidney disease using high-resolution plasma proteome analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30: 1840-52.
9. Shao B, de Boer I, Tang C, et al. A cluster of proteins implicated in kidney disease is increased in high-density lipoprotein isolated from hemodialysis subjects. *J Proteome Res* 2015; 14: 2792-806.
10. Mangé A, Goux A, Badiou S, et al. HDL proteome in hemodialysis patients: A quantitative nanoflow liquid chromatography-tandem mass spectrometry approach. *PLoS ONE* 2012; 7: e34107.
11. Kaiser T, Hermann A, Kielstein JT, et al. Capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry to establish polypeptide patterns in dialysis fluids. *J Chromatogr A* 2003; 1013: 157-71.
12. Dihazi H, Muller CA, Mattes H, Muller GA. Proteomic analysis to improve adequacy of hemo- and peritoneal dialysis: Removal of small and high molecular weight proteins with high- and low-flux filters or a peritoneal membrane. *Proteomics Clin Appl* 2008; 2: 1167-82.
13. Ficheux A, Gayraud N, Szwarc I, et al. The use of SDS-PAGE scanning of spent dialysate to assess uremic toxin removal by dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 2281-9.
14. Pedrini LA, Krisp C, Gmerek A, Wolters DA. Patterns of proteins removed with high-flux membranes on high-volume hemodiafiltration detected with a multidimensional LC-MS/MS strategy. *Blood Purif* 2014; 20: 115-26.
15. Cuoghi A, Caiazzo M, Monari E, et al. New horizon in dialysis depuration: Characterization of a polysulfone membrane able to break the "albumin wall". *J Biomater Appl* 2015; 29: 1363-71.
16. Galli F. Protein damage and inflammation in uraemia and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (Suppl. S5): v20-v36.
17. Miyata T, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K, Baynes JW. Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: Origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications. *Kidney Int* 1999; 55: 389-99.
18. Miyata T, Oda O, Inagi R, et al.  $\beta$ 2-Microglobulin modified with advanced glycation end products is a major component of hemodialysis-associated amyloidosis. *J Clin Invest* 1993; 92: 1243-52.
19. Pavone B, Bucci S, Sirolli V, et al.  $\beta$ 2-Microglobulin causes abnormal phosphatidylserine exposure in human red blood cells. *Mol Biosyst* 2011; 7: 651-8.
20. Bonomini M, Sirolli V, Reale M, and Arduini A. Involvement of phosphatidylserine exposure in the recognition and phagocytosis of uremic erythrocytes. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 807-14.
21. Bonomini M, Sirolli V, Merciaro G, et al. Red blood cells may contribute to hypercoagulability in uraemia via enhanced surface exposure of phosphatidylserine. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 361-6.
22. Bonomini M, Pandolfi A, Di Pietro N, et al. Adherence of uremic erythrocytes to vascular endothelium decreases endothelial nitric oxide synthase expression. *Kidney Int* 2005; 67: 1899-906.
23. Bonomini M, Ballone E, Di Stante S, Bucciarelli T, Dottori S, Arduini A, Urbani A, Sirolli V. Removal of uraemic plasma factor(s) using different dialysis modalities reduces phosphatidylserine exposure in red blood cells. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 68-74.
24. Dalle Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 389-406.
25. Pavone B, Sirolli V, Giardinelli A, et al. Plasma protein carbonylation in chronic uremia. *J Nephrol* 2011; 24: 453-64.
26. Ward RA, Ouseph R, McLeish KR. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int* 2003; 63: 353-9.
27. Pavone B, Sirolli V, Bucci S, et al. Adsorption and carbonylation of plasma proteins by dialyser membrane material: in vitro and in vivo proteomics investigations. *Blood Transfus* 2010; 8 (Suppl. S3): s113-9.
28. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. AGEs and carbonyl stress: Potential pathogenetic factors of long-term uraemic complications. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 7-11.
29. Michelis R, Gery R, Sela S, et al. Carbonyl stress induced by intravenous iron during hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 924-30.
30. Werner C, Jacobasch H. Surface characterization of polymers for medical devices. *Int J Artif Organs* 1999; 22: 160-76.
31. Johnson RJ. Complement activation during



- extracorporeal therapy: Biochemistry, cell biology and clinical relevance. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9 (Suppl. S2): 36–45.
32. Franck RD, Weber J, Dresbach H, Thelen H, Weiss C, Floege J. Role of contact system activation in hemodialyzer-induced thrombogenicity. *Kidney Int* 2001; 60: 1972–81.
33. Vienken J. Polymers in nephrology. Characteristics and needs. *Int J Artif Organs* 2002; 25: 470–9.
34. Bonomini M, Pavone B, Sirolli V, et al. Proteomics characterization of protein adsorption onto hemodialysis membranes. *J Proteom Res* 2006; 5: 2666–74.
35. Urbani A, Lupisella S, Sirolli V, et al. Proteomic analysis of protein adsorption capacity of different hemodialysis membranes. *Mol Biosyst* 2012; 8: 1029–39.
36. Urbani A, Sirolli V, Lupisella S, et al. Proteomic investigations on the effect of different membrane materials on blood protein adsorption during hemodialysis. *Blood Transfus* 2012; 10 (Suppl. S2): s101–12.
37. Pieroni L, Levi Mortera S, Greco V, et al. Biocompatibility of hemodialysis membrane materials by proteomic investigations. *Mol Biosyst* 2015; 11: 1633–43.
38. Mares J, Thongbookerd V, Tumaz Z, Moravec J, Matejovic M. Specific adsorption of some complement activation proteins to polysulfone dialysis membranes during hemodialysis. *Kidney Int* 2009; 76: 404–13.

**Corrispondenza a:**

Prof. Mario Bonomini,  
Clinica Nefrologica, Ospedale Clinicizzato “SS. Annunziata”,  
Via dei Vestini, 66013 Chieti,  
tel. 0871/358658; fax 0871/574736;  
e-mail: mario.bonomini@unich.it