

EMODIAFILTRAZIONE CON REINFUSIONE ENDOGENA (HFR)

Filippo Aucella

Direttore S.C. di Nefrologia e Dialisi, Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza" IRCCS, San Giovanni Rotondo (FG)

Hemodiafiltration with endogenous reinfusion

The dialysis population continues to increase in age and also the number of comorbidities is on the rise in this population. Replacement therapy techniques need to take these clinical challenges into account. Hemofiltrate reinfusion (HFR) is a type of hemodiafiltration where the replacement fluid consists of ultrafiltrate from the patient regenerated through a cartridge containing hydrophobic styrene resin. HFR may offer a good compromise between the optimization of toxin removal and the possible loss of beneficial physiological substances. Patients with a high comorbidity rate benefit in terms of reduced inflammation and improved nutrition. Moreover, the recent development of HFR Aequilibrium, a dialysis technique based on the combination of HFR with dialysate Na⁺ and UF profiles, has proved to be effective in stabilizing the intradialytic hemodynamics and to be a useful tool in the dialysis routine. HFR appears to be a useful technique for patients with complex risk factors such as malnutrition, inflammation and atherosclerosis.

Conflict of interest: The author is a board member of the Collaborative Research Club supported by Bellco SpA

Financial support: None.

KEY WORDS:

Hemodiafiltration with endogenous reinfusion, Inflammation, Intradialytic hypotension, Malnutrition, Sorbent, Uremic toxins

PAROLE CHIAVE:

Emodiafiltrazione con reinfusione endogena, Infiammazione, Ipotensione intradialitica, Malnutrizione, Sorbenti, Tossine uremiche

Indirizzo degli Autori:

Dr. Filippo Aucella
Struttura Complessa di Nefrologia e Dialisi
Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza", IRCCS
71013 San Giovanni Rotondo (FG)
e-mail: f.aucella@operapadrepio.it

INTRODUZIONE

Attualmente circa due terzi dei pazienti sottoposti a emodialisi si avvalgono dell'uso di membrane *high-flux* con l'obiettivo di migliorare la prognosi attraverso una più ampia rimozione di tossine uremiche (1). Una recente indagine ha altresì mostrato come la modalità di trattamento sia prevalentemente l'emodiafiltrazione (HDF) nei paesi europei e la bicarbonato dialisi *high-flux* nel resto del mondo (2). Tuttavia, se si considera la modalità abituale di erogazione della terapia sostitutiva extracorporea, ovvero tre sedute settimanali di quattro ore, solo l'HDF *on-line* oggi offre un significativo aumento della depurazione che si traduce in benefici clinici evidenti, il che significa un'opzione primaria per l'organizzazione sanitaria attuale (1, 3).

Rispetto all'emodialisi *standard* l'HDF offre un profilo decisamente più bionico in quanto adotta il metodo di trasporto utilizzato dal glomerulo, quello convettivo (4); non riesce invece a sopperire la funzione tubulare,

ovvero il rimpiazzo del volume ultrafiltrato, funzione per la quale si ricorre a un espediente non bionico, un liquido di reinfusione esogeno, sia pure *on-line* (4). Ne consegue che nella metodica HDF rimangono insiti alcuni limiti o potenziali rischi (1): la rimozione di sostanze utili, l'interferenza tra diffusione e convezione e la qualità e quantità del liquido di reinfusione.

Rimozione di sostanze utili

Ogni trattamento sostitutivo deve garantire depurazione ottimale (tossine uremiche), sottrazione di liquidi (raggiungimento del peso secco) e correzione degli squilibri elettrolitici e acido-base. Questo però può associarsi a una perdita di sostanze utili e può pertanto verificarsi una deplezione in stretto rapporto con l'entità del Quf: è il caso degli aminoacidi (AA) essenziali e a catena ramificata e delle vitamine idrosolubili (vit. C), che sono allontanati sia per diffusione che per convezione, contribuendo in modo significativo al peggior-

ramento dello stato nutrizionale di pazienti spesso già critici. Utilizzando convezione ad alti volumi è difficile escludere la possibilità della rimozione di sostanze utili (5): la letteratura segnala in corso di HDF una notevole perdita di AA, ed è chiaro che questa è tanto più elevata quanto più alta è la permeabilità idraulica della membrana utilizzata (6-8). Non sorprende quindi che anche la vitamina C subisca un'importante deplezione e necessiti di essere supplementata (9).

La perdita di proteine nobili, quali l'albumina, è funzione del tipo di membrana e della pressione transmembrana applicata. Per esempio, la stessa membrana *high-flux* usata in post-diluizione o in emodiafiltrazione mista aumenta la perdita di cinque volte rispetto alla pre-diluizione (10); la perdita può essere limitata con l'utilizzo di sistemi di controllo della TMP come quelli usati nell'emodiafiltrazione mista che consentono di ridurre la perdita di albumina di circa la metà (11). Ma se si cerca di limitare la perdita di sostanze utili, allo stesso tempo si limita la depurazione di sostanze con peso molecolare simile o maggiore dell'albumina. Infatti, il peso e la dimensione molecolare di questa proteina possono essere ritenuti come un limite di sicurezza che deve essere rispettato con il *cut-off* della membrana. Per ottenere *cut-off* elevati che possano avvicinarsi senza rischio al muro dell'albumina, è necessario sviluppare membrane con una distribuzione regolare e calibrata dei pori, in modo da ridurre al minimo quelli con dimensione tale da permetterne il passaggio e quindi la perdita. In questi termini si parla di selettività di una membrana. Ma anche se tale selettività raggiungesse la perfezione, nessuna HDF convenzionale (sia in pre- che in post- che in pre-/post-diluizione) potrebbe garantire la depurazione di sostanze di peso molecolare simile o superiore a quello dell'albumina, in quanto ciò comporterebbe, specie nel trattamento sostitutivo del paziente uremico cronico, perdite proteiche clinicamente insostenibili (12).

Interferenza tra diffusione e convezione

In HDF la *clearance* convettiva (e quindi il trasferimento di massa) di un soluto diffusibile non si identifica con l'entità del flusso di ultrafiltrazione (Quf), in quanto i processi diffusivi simultanei a quelli convettivi diminuiscono la sua concentrazione (1). Pertanto, la *clearance* convettiva sarà tanto più bassa quanto maggiore è quella diffusiva: infatti la componente convettiva della depurazione agisce su un'acqua plasmatica che viene già parzialmente depurata per diffusione nel percorso all'interno del filtro. La concentrazione dei soluti nell'ultrafiltrato rispecchia tale situazione e i soluti passano quindi per convezione in una concentrazione inferiore a quella dell'acqua plasmatica all'ingresso del sistema (13). Questo fenomeno è insito nella metodica e non ne può essere separato.

Quantità e qualità dei liquidi di reinfusione

Per migliorare la resa depurativa e sfruttare al meglio le caratteristiche dell'HDF si utilizzano elevati valori di reinfusione, ovviamente nei limiti imposti dal Qb, dall'ematocrito (Hct), dalle proteine totali (Tp) e quindi dalla frazione di filtrazione (ff%). Ne consegue la necessità di notevoli quantità di soluzione di reinfusione, la cui composizione e qualità debbono essere garantite. L'uso di sacche prodotte dall'industria farmaceutica pone notevoli problemi di maneggevolezza (connessioni ripetute, stoccaggio) e di costi, e questo giustifica il ricorso a sistemi di produzione *on-line* di soluzioni sterili e ultrapure a partire dalla stessa soluzione dializzante. I risultati riportati dalla letteratura sono positivi per quanto concerne la qualità, il miglioramento delle *performances* depurative legato alla possibilità di elevati Quf, il risparmio economico e gestionale rispetto alle soluzioni preparate dall'industria e il buon rapporto costo/beneficio. Il limite invece non valicabile è dato dalla rigidità di utilizzo: la composizione del liquido di reinfusione risulta la stessa del bagno dialisi, sia nel contenuto di tamponi che di elettroliti, cosa che non consente la personalizzazione del trattamento nel bilancio di basi e di elettroliti (4).

SVILUPPO E RAZIONALE DELLA METODICA

Se quindi per molti aspetti l'HDF può ritenersi il *gold standard* attuale della terapia emodialitica, è possibile superarne i limiti con altri modelli di trattamento? Certamente sì, e l'uovo di Colombo in questo caso è dato dalla separazione dei processi diffusivi da quelli convettivi con la simultanea produzione di un ultrafiltrato endogeno utilizzato come liquido di reinfusione.

Già da tempo era nota la possibilità di eliminare la reciproca interferenza tra diffusione e convezione separandole fisicamente. Nel 1983 Ghezzi et al hanno proposto un'HDF in grado di realizzare diffusione e convezione simultanee ma separate, attraverso un sistema a doppia camera composto da due filtri in serie: il primo con una membrana ad alta permeabilità idraulica per l'allontanamento convettivo dei soluti, il secondo con una membrana ad alta permeabilità diffusiva, ma a bassa permeabilità idraulica per l'allontanamento diffusivo e il controllo del peso del paziente (14, 15). Fra i due settori del doppio filtro era reinfusa una soluzione di sostituzione in quantità uguale al Quf, in modo da ricostituire il flusso ematico originario (Qb). Il metodo è stato chiamato *Paired Filtration Dialysis* (PFD). La disponibilità continua di ultrafiltrato, caratteristica della PFD, ha suggerito poi l'ipotesi di un suo utilizzo, dopo un processo di rigenerazione, quale liquido di reinfusione endogeno. Nel 1992 è

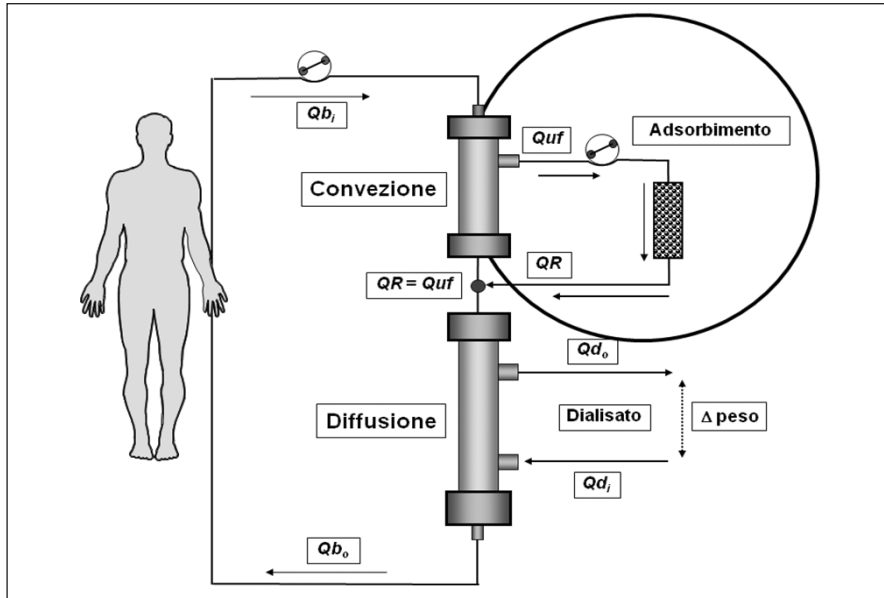


Fig. 1 - Schema della hemo filtrate reinfusion, HFR.

stato messo a punto un sistema di rigenerazione a circuito chiuso costituito da una cartuccia contenente 130 mL di carbone non ricoperto inserita nel circuito di ultrafiltrazione (16-19). La nuova metodica è stata denominata **Hemo Filtrate Reinfusion (HFR)**. A differenza dell'emoperfusione, in cui la cartuccia è perfusa da sangue intero, in questo caso si utilizza l'ultrafiltrato, ottenendo due principali vantaggi: *in primis*, poiché l'uf è nettamente inferiore al Q_b , si ha un maggiore tempo di contatto all'interno della cartuccia e quindi un maggiore adsorbimento di tossine; inoltre, in assenza di cellule del sangue, vengono aboliti i fenomeni di emolisi, coagulazione e incompatibilità tipici dell'emoperfusione. Negli anni la cartuccia ha subito diverse ottimizzazioni, passando prima un sistema misto di 120 mL di carbone minerale non ricoperto e di 20 mL di resina a interazione idrofobica (20, 21), quindi a una nuova configurazione contenente solo resina stirenica (22). L'eliminazione del carbone se da un lato non ha comportato perdite di efficienza depurativa, dall'altro ha consentito l'eliminazione di alcuni effetti collaterali, prevalentemente gastro-enterici, legati all'interazione con ace-inibitori o sartanici che determinava l'attivazione del Fattore XII e la produzione di callicreina (23).

Pertanto l'HFR è una metodica che si caratterizza per la coesistenza priva di interferenze di tre sistemi di depurazione (24) (Fig. 1):

quella convettiva, che avviene nel primo settore di un filtro a doppia camera, dotato di membrana *polyphenylene high-flux*;

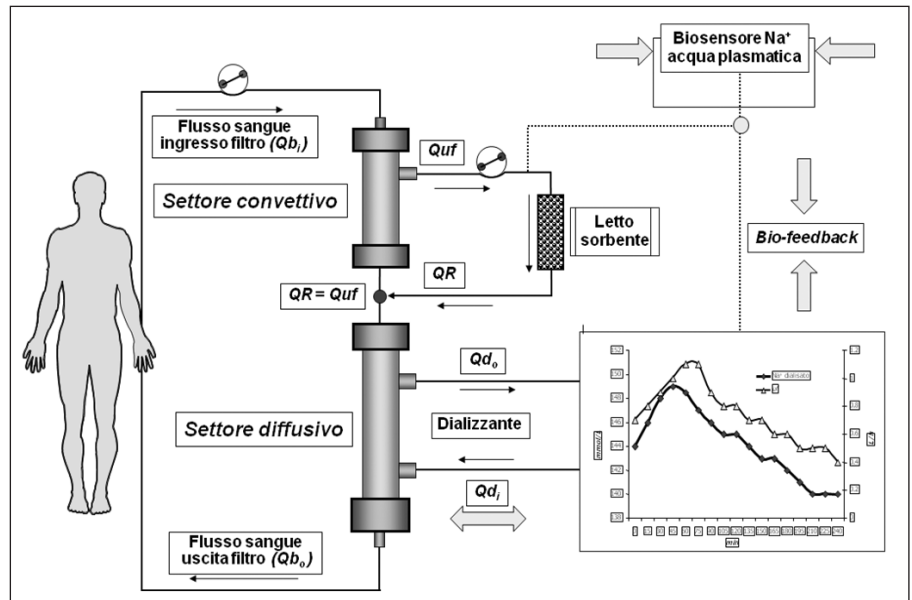
l'adsorbimento, che avviene durante il passaggio dell'ultrafiltrato nella cartuccia;

infine, la depurazione diffusiva che ha luogo nel secondo settore del filtro con membrana *polyphenylene low-flux*.

Dal primo settore convettivo viene ottenuto l'uf che viene fatto passare *on-line* attraverso una cartuccia di resina stirenica idrofobica costituita da granuli con pori e canali che raggiungono una superficie complessiva estremamente elevata, approssimativamente 700 m²/g, con un'alta affinità per molte tossine uremiche a medio-alto peso molecolare. Tali tossine vengono pertanto adsorbite "purificando" l'uf che viene reinfuso nel circuito ematico in una porta inserita fra il primo e il secondo settore del filtro. Il primo stadio di convezione-adsorbimento non ha alcun compito di rimozione dei fluidi, essendo l'entità dell'uf esattamente uguale a quella reinfusa.

Le proprietà della resina sono state ottimizzate attraverso studi di cinetica per determinare il massimo adsorbimento a differenti flussi di uf, differenti dimensioni della cartuccia e varie quantità di resina. La cartuccia di resina ha una grande affinità per svariate tossine uremiche e per le medie molecole quali la β_2 -microglobulina, l'omocisteina, l'angiogenina, la leptina, il paratormone, nonché varie citochine e chemochine (21, 22, 24). Invece, l'urea, elettroliti quali sodio, potassio e calcio e inoltre bicarbonati e fosfati non sono assorbiti dalla resina e quindi le loro concentrazioni rimangono invariate. Ne consegue che l'ultrafiltrato reinfuso o "rigenerato" è un liquido di sostituzione ultrapuro endogeno con un contenuto fisiologico di bicarbonati. Il sangue, miscelato con la soluzione di reinfusione così ottenuta, è depurato per diffusione nel secondo stadio del filtro come in una tradizionale

Fig. 2 - Schema operativo dell'HFR Aequilibrium.



HD, e a questo livello viene realizzata, attraverso la modulazione della pressione transmembrana, anche la necessaria perdita di peso occorrente al paziente.

Negli ultimi anni la metodica ha avuto almeno tre importanti sviluppi, l'**HFR Aequilibrium**, l'**HFR Supra** e l'utilizzo di concentrati *acetate-free* (**Lympha**).

HFR Aequilibrium

L'**HFR Aequilibrium** nasce dallo sfruttamento di una caratteristica tipica dell'HFR, ovvero la disponibilità continua di uf non diluito con il dialisato. Sull'acqua plasmatica prelevata dalla camera convettiva viene misurata la conducibilità, conoscendo direttamente e in modo non invasivo la sodiemia iniziale del paziente trattato. Questo è reso possibile dal sensore di sodio "Natrium", in grado di determinare in continuo la concentrazione sodica nell'ultrafiltrato mediante una sonda *disposable* integrata nel circuito di infusione endogena. È stato quindi messo a punto un sistema a *biofeedback* implementato sull'HFR *standard* che ha dato quindi vita all'HFR *Aequilibrium* (Fig. 2).

La strategia di HFR *Aequilibrium* prevede di mantenere la stabilità osmolare durante tutto il trattamento in modo da prevenire fenomeni e sintomi legati alla riduzione rapida o eccessiva del volume ematico. In pratica, per potenziare l'effetto stabilizzante emodinamico dell'HFR, questa tecnica è stata combinata con l'impiego dei profili di conducibilità del dialisato e dell'ultrafiltrazione con un *software* basato su un modello matematico utilizzato routinariamente in bicarbonato dialisi *standard* da diversi anni (25). Tale modello è in grado di elaborare, in totale automatismo, i profili di

conducibilità del dialisato e di ultrafiltrazione per ottenere la stabilizzazione emodinamica intradialitica del paziente (26). L'efficacia dei profili nella stabilizzazione pressoria intradialitica è stata oggetto di una serie di recenti *reviews* che hanno confermato l'attualità clinica dei profili nella stabilizzazione intradialitica del paziente (27), nonché di un recente studio multicentrico (28). L'accuratezza predittiva del modello in HFR, con l'elaborazione di profili più efficaci nel raggiungere l'obiettivo di stabilizzazione intradialitica del volume ematico, è poi garantita dal sensore del sodio *Natrium*. La determinazione fornisce automaticamente al modello il valore reale a inizio dialisi della sodiemia del paziente, realizzando un *feedback* sul modello, che acquisendo tale valore, elabora i profili su un dato reale (29).

In ogni singola seduta vengono personalizzati i profili di uf e di conducibilità del dialisato: aumentando tale conducibilità nella prima fase del trattamento, infatti, si previene il calo l'abbassamento dell'osmolarità plasmatica dovuto alla rapida eliminazione di soluti prevalentemente di basso peso molecolare e, allo stesso tempo, viene garantito un buon *refilling* dal comparto interstiziale mantenendo un Quf importante. Nella seconda parte del trattamento, invece, quando la maggior parte della perdita di peso è già stata conseguita, viene ridotta l'uf oraria e contemporaneamente viene intensificata la rimozione del sodio attraverso la riduzione della conducibilità del dialisato. È questo l'andamento di massima del modello *Aequilibrium*, ma il punto di forza del sistema consiste nella vera e propria personalizzazione che avviene a ogni singola seduta: infatti le condizioni dello stesso paziente non possono essere generalizzate neanche per brevi inter-

valli temporali.

La valutazione dell'efficacia clinica dell'HFR *Aequilibrium*, in termini di stabilizzazione emodinamica intradialitica, è stata oggetto di uno studio multicentrico internazionale, randomizzato e comparativo con l'HFR *Standard*, l'*Aequilibrium International Multicentric Study*, **AIMS** (30). I risultati dello studio, (31) confermano la maggiore stabilità clinica intradialitica dei pazienti in HFR *Aequilibrium*, oltre alla minore incidenza dei sintomi da intolleranza dialitica, nel rispetto del bilancio sodico del paziente.

HFR *Supra*

Da molti anni si studiano membrane a sempre maggiore permeabilità idraulica al fine di rimuove-

re tossine uremiche di peso molecolare più elevato, ma questa strategia comporta il rischio di eliminare, insieme ai soluti tossici, una quantità importante di sostanze utili se non addirittura essenziali. La soglia del rischio è rappresentata dal *muro dell'albumina*: il peso e la dimensione molecolare di questa proteina possono essere ritenuti come un limite di sicurezza non oltrepassabile dal *cut-off* della membrana sia in *high-flux* dialisi che in HDF. La reinfusione endogena, esclusiva caratteristica dell'HFR, può offrire una vera e propria depurazione ad ampio spettro, grazie alla combinazione di convezione e adsorbimento: anche in presenza di *cut-off* elevati la resina stirenica non adsorbe l'albumina presente nell'uf, che pertanto viene reinfusa (Fig. 3), mentre è in grado di adsorbire altri soluti in modo selettivo indipendentemente dal loro peso molecolare.

Questo ha consentito di mettere a punto, per la sezione convettiva del filtro HFR, una membrana in *polyphenylene Super high-flux (SHF)* caratterizzata da un *cut-off* superiore a quello delle altre membrane *high-flux* usualmente utilizzate in HDF e da un *sieving coefficient* che mima molto più da vicino quello del glomerulo (Fig. 4). Rispetto alla membrana in *polyphenylene HF* utilizzata nella tradizionale HFR, grazie alla maggiore dimensione dei pori, l'uf estratto attraverso la membrana di *polyphenylene SHF* contiene concentrazioni sensibilmente superiori di molecole a medio-alto peso come, per esempio, IL-6 (24.5 kD), Fattore D del complemento (25 kD), α 1 glicoproteina (43.5 kD) e, ovviamente, albumina (62 kD). Parallelamente all'adozione di questa membrana, è stata incrementata anche la quantità di resina stirenica, portata da 40 a 50 mL, con ottimizzazione delle proprietà

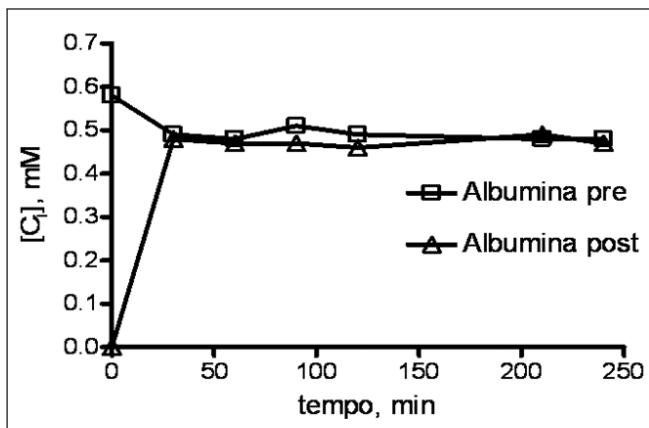


Fig. 3 - Assenza di assorbimento di albumina da parte della cartuccia di resina.

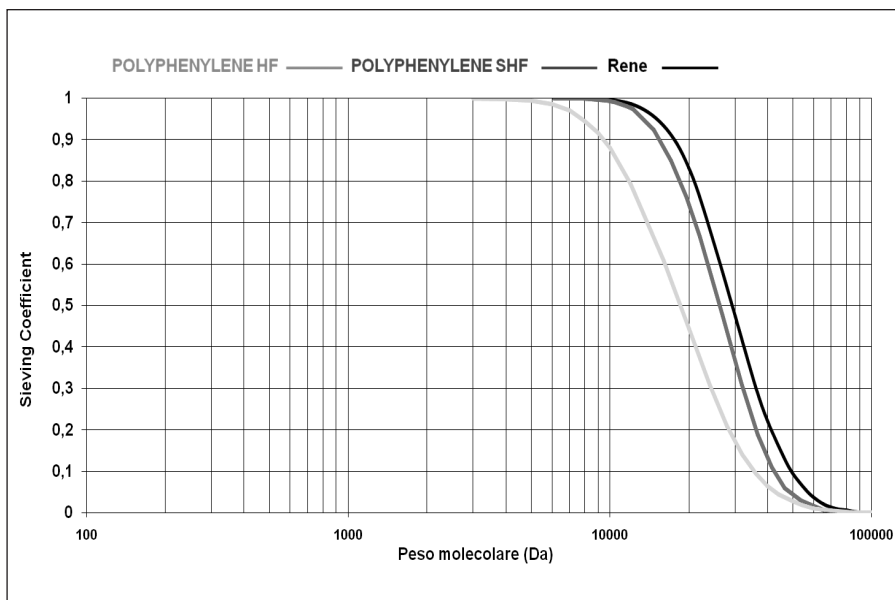


Fig. 4 - Sieving coefficient delle membrane in *polyphenylene HF* e *super HF*.

adsorbitive per IL-6, Fattore D del complemento e $\alpha 1$ glicoproteina. Questo nuovo sistema ha preso il nome di **HFR Supra**.

HFR acetate-free Lympha

Da diversi anni è noto che anche piccole concentrazioni di acetato nel dialisato, 3-5 mMol/L, generalmente mantenute per stabilizzare il pH di soluzioni contenenti bicarbonato, possono avere effetti negativi sui pazienti in emodialisi. L'acetato, quando incubato con cellule endoteliali, è in grado di attivare il rilascio di ossido nitrico tramite l'induzione dell'enzima iNOS (32); se mantenuto in metodiche di *on-line*-HDF, in cui oltre al dialisato va tenuto conto della quota reinfusa, determina un aumento delle concentrazioni di acetate-mia di ben 6 volte (33). Al contrario, un'HDF condotta con bagno totalmente privo di acetato ha dimostrato di poter ottenere una migliore stabilità emodinamica e minime alterazioni della contrattilità miocardica (34). Per questi motivi anche in corso di HFR si è testato l'utilizzo di bagni privi di acetato e con l'aggiunta di acido cloridrico; le prime esperienze segnalate in letteratura mostrano un miglioramento di fattori predittivi di danno miocardico, come i livelli di troponina (35). Questa variante dell'HFR viene chiamata **HFR acetate-free Lympha**.

INDICAZIONI E CONTROINDICAZIONI ALLA METODICA

I vantaggi di questa tecnica sono stati così riassunti (29): elevata rimozione di $\beta 2$ -microglobulina (36), miglioramento dell'assetto nutrizionale per perdita aminoacidica intradialitica trascurabile e sovrapponibile all'emodialisi *standard*, assenza di perdita di albumina (37), elevato effetto antinfiammatorio (38), basso effetto pro-ossidante (39). Tali caratteristiche rendono l'HFR particolarmente indicata nel trattamento dei pazienti con sindrome da malnutrizione-infiammazione (24).

La modalità **HFR Aequilibrium** consente di trattare adeguatamente anche i pazienti che presentano ipotensione intradialitica e sensibilità elevata alla sindrome da disequilibrio.

La modalità **HFR Supra** potrebbe essere ragionevolmente impiegata nel trattamento di alcune condizioni specifiche quali la malattia da accumulo di catene leggere. Nel mieloma vi è un'eccessiva produzione di catene leggere libere nel siero (FLCs). Queste si suddividono in due classi maggiori κ e λ a seconda della sequenza aminoacidica nella porzione costante del polipeptide. Le catene leggere κ sono usualmente monomeri del peso di 22 kD e quelle λ dimeri del peso di 44 kD. Per trattare questa condizione Hutchison et al (40) hanno descritto una strategia alternativa di HD

intensiva con filtri con membrane a elevata permeabilità (poliariletersulfone con un *cut-off* di 45 kD) in grado di allontanare in modo significativo le catene libere in eccesso, metodica però associata a un'importante e difficilmente sostenibile perdita di albumina di 20-40 g/seduta. Recentemente Testa et al (41) hanno pubblicato risultati clinici positivi relativi all'impiego dell'HFR per l'allontanamento delle catene leggere libere nel siero. Sono stati studiati due diversi gruppi di pazienti, l'uno con produzione policlonale di catene leggere e l'altro con produzione monoclonale, sottoposti a trattamento con HFR: i risultati hanno dimostrato che questo trattamento, grazie alla capacità adsorbitiva della cartuccia Selecta, permette una riduzione significativa del tasso di FLCs in ambedue i gruppi (di entità maggiore per le catene κ rispetto a quelle λ). L'analisi dell'uf all'ingresso e all'uscita della cartuccia sorbente ha confermato la capacità adsorbitiva del sistema e, dato di estrema rilevanza clinica, non è stata registrata alcuna perdita di albumina. Da sottolineare che questi dati sono stati ottenuti con la modalità *standard* dell'HFR e non con HFR *Supra* che, ragionevolmente, dovrebbe consentire risultati migliori. HFR *Supra* potrebbe rivelarsi il trattamento di elezione anche per i pazienti cronici che hanno livelli elevati di catene leggere come avviene nel mieloma o nell'amiloidosi.

Non sussistono specifiche controindicazioni alla metodica HFR a patto di poter disporre di un Qb sufficiente per sfruttarne le potenzialità con un'adeguata quota convettiva nel primo filtro, ovvero superiore a 250 mL/min. Le reazioni indesiderate precedentemente segnalate erano legate alla concomitanza dell'uso di ace-inibitori e della presenza del carbone nella cartuccia (23), ormai abolito.

ASPETTI TECNICI

Le macchine

I *monitor* che consentono la metodica HFR sono rappresentati dalle apparecchiature *Bellco Formula 2000 Plus* e *Bellco Formula Therapy* sui quali è stato messo a punto un sistema automatico di controllo in *feedback*, basato sulla monitoraggio e sulla regolazione automatiche della TMP e della ff del settore convettivo. Infatti, in tutte le metodiche depurative con unica o prevalente componente convettiva, è presente una significativa correlazione inversa fra pressione transmembrana (TMP), frazione di filtrazione (ff%) ed efficienza del *mass transfer*. Con l'HFR i migliori risultati nell'allontanamento dei soluti, valutati come riduzione percentuale (RR%) dei livelli plasmatici di $\beta 2$ microglobulina e in relazione alla tipologia della membrana utilizzata e alla sua superficie (0.7 m²), sono ottenibili in un *range* di ff compreso fra il 20% e il

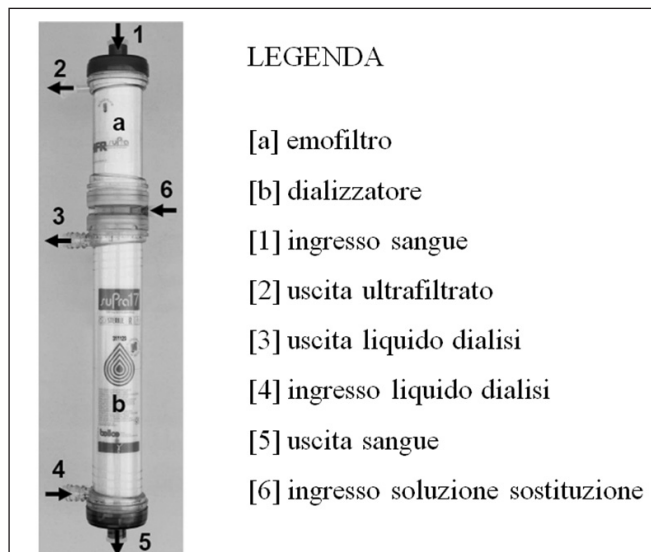


Fig. 5 - Connessioni ematiche, del dialisato e dell'ultrafiltrato in HFR.

30%. Per garantire questi valori è necessario un sistema automatico in *feedback*: esso acquisisce il valore della pressione transmembrana dell'emofiltro (TMPH). Ciò è reso possibile grazie all'impiego di due diversi trasduttori di pressione, posti in cima al gocciolatore arterioso (pressione pre-filtro) e prima della pompa di infusione (pressione di aspirazione dell'uf. In tal modo è possibile ottimizzare anche la *linear velocity* dell'uf in rapporto alla geometria idraulica della cartuccia rigenerante. Tale parametro riveste grande importanza in quanto garantisce un corretto tempo di contatto fra ultrafiltrato e resina permettendo un ottimale adsorbimento dei soluti.

L'HFR *Aequilibrium* è una terapia in *biofeedback* gestita automaticamente dal *monitor* per dialisi *Bellco Formula 2000 Plus* e *Bellco Formula Therapy*. Il cuore del sistema è il modello matematico bicompartimentale *Profiler* che durante la seduta dialitica consente di modulare l'ultrafiltrazione oraria e la concentrazione di sodio nel liquido di dialisi per garantire una maggiore stabilità del volume ematico e quindi una maggiore stabilità pressoria intradialitica, in funzione della risposta del paziente. Con la terapia HFR *Aequilibrium* il paziente è controllato istante per istante dal biosensore *Natrium*, che verifica in continuo la sua natremia mediante una sonda *disposable* integrata nel circuito di infusione endogena.

Filtri e circuito

Come già accennato, l'HFR utilizza un filtro a doppia camera formato da un primo settore in *polyphenylene high-flux* per la convezione in serie con un secondo settore in *polyphenylene low-flux* per la diffusione, re-

alizzando in tal modo una completa separazione fra i due processi.

Esistono in commercio due superfici disponibili per la sezione *low-flux*, esattamente da 1.3 e da 1.7 m², mentre la sezione convettiva è sempre da 0.7 m² (rispettivamente HFR 13 e HFR 17). Il coefficiente di ultrafiltrazione della membrana *high-flux* è di 28 mL/h/mmHg, mentre quello della membrana *low-flux* è di 10 mL/h/mmHg nella configurazione HFR 13 e di 13 mL/h/mmHg nella configurazione HFR 17.

Nella modalità **HFR *Supra*** la sezione convettiva ha un Kuf di 36 mL/h/mmHg sia in *Supra 13* che in *Supra 17*, mentre le sezioni diffusive hanno rispettivamente Kuf di 10 e 13 mL/h/mmHg.

La doppia camera è sterilizzata a raggi γ , invece la cartuccia di resina stirenica, riempita di fisiologica, viene sterilizzata con il calore umido.

Il collegamento delle linee ematiche al doppio filtro va effettuato collegando sempre la linea arteriosa alla parte convettiva e quella venosa a quella diffusiva. Il dialisato entra nel filtro diffusivo in basso e in senso caudo-craniale e ne esce dalla parte superiore, in controcorrente rispetto al flusso sanguigno (Fig. 5).

Prescrizione dialitica e Conduzione della seduta

Nelle prime esperienze con HFR sono stati segnalati problemi relativi a impaccamento del settore convettivo, scadente estrazione di $\beta 2$ -microglobulina e modesti valori di KT/V (42). Un eccessivo valore del Quf nel settore convettivo può causare un aumento eccessivo della TMP che a sua volta causa l'impaccamento delle fibre e infine la loro esclusione funzionale. Conseguenza altresì una riduzione della permeabilità e del *mass transfer*. Spia di questi fenomeni è la comparsa di micro bolle nell'ultrafiltrato. In queste condizioni non era rara la necessità di interrompere la seduta. È stato chiarito che in HFR vi è una significativa relazione inversa tra ff% e RR% di $\beta 2$ -microglobulina (43): i migliori risultati si ottengono con un *range* di ff compreso fra il 20% e il 30%. La metodica oggi dispone di una completa automatizzazione del sistema HFR che assolve appieno le problematiche emergenti dalla correlazione inversa fra pressione transmembrana (TMP), frazione di filtrazione (ff) ed efficienza del *mass transfer*. La macchina valuta in tempo reale la TMP del settore convettivo, stabilendo il miglior Quf in rapporto ai parametri di settaggio del *monitor*, ovvero TMPH massima (200 mmHg o 250 mmHg in SUPRA-HFR) e flusso di infusione massimo (50 mL/min in HFR e 60 mL/min in SUPRA-HFR); con questi accorgimenti si evita ogni problema correlato con eccessive ff. Il Quf è usualmente più elevato all'inizio del trattamento e viene automaticamente ridotto, se necessario,

in rapporto diretto con l'emoconcentrazione. Proprio per tale automatismo è ovvio che i volumi reinfusi in HFR/HFR-SUPRA siano generalmente non superiori ai 3.000-3.600 mL/h rispettivamente, quindi inferiori a quelli ottenuti in metodiche *on-line* sia in pre- che in post-diluzione.

In HFR *Aequilibrium* il profilo della conducibilità e dell'uf viene creato dal modello matematico *Profiler* affinché non si crei nessuna differenza di osmolarità tra i vari compartimenti corporei (25-29). Va sottolineato che non si tratta di un'applicazione di profili preimpostati aprioristicamente con i quali, se la profilazione del sodio non è correttamente eseguita, la sete provocata dall'accumulo di sodio può aumentare l'incremento ponderale interdialitico e può creare ipertensione. In questo caso il parametro di *input* non è un valore di conducibilità del liquido di dialisi, ma bensì il valore plasmatico che il paziente deve raggiungere al termine del trattamento, che viene definito "sodio secco" e che viene scelto dal clinico. Il principale vantaggio di impostare il "sodio secco", anziché di un valore di conducibilità, consiste proprio nella rimozione del solo sodio che il paziente ha assunto nel periodo interdialitico riportando il paziente all'equilibrio. Infatti, dato che al termine di una seduta HFR *Aequilibrium* il paziente avrà raggiunto la natremia richiesta, durante il trattamento successivo la rimozione di sodio che verrà attuata, calcolata automaticamente dall'apparecchiatura, corrisponderà quindi solo al guadagno sodico interdialitico evitando rimozioni eccessive che potrebbero provocare ipotensioni intradialitiche oppure rimozioni troppo basse che farebbero aumentare il senso di sete nel paziente.

Il sensore *Natrium* e il *biofeedback Profiler* iniziano a "dialogare" dal 15° minuto di trattamento garantendo al paziente di raggiungere l'*end point* della natremia a fine dialisi impostata. Il *Profiler* gestisce la rimozione del peso e l'estrazione di sodio focalizzandosi nella prima metà della seduta sulla rimozione del peso, mentre nella seconda metà avviene la rimozione del sodio; tali rimozioni sono realizzate mediante modulazioni di conducibilità e ultrafiltrazione oraria.

COMPLICANZE

In HFR *evolution* la completa automatizzazione del sistema HFR assolve appieno le problematiche emergenti dalla correlazione inversa fra pressione transmembrana (TMP), frazione di filtrazione (ff) ed efficienza del *mass transfer*.

Ovviamente nel sistema *Aequilibrium* diviene fondamentale la scelta del "sodio secco": un'errata

definizione del parametro impostato potrà causare fenomeni di eccessivo guadagno di sodio, sete e/o ipertensione o, all'inverso, la mancata correzione se non il peggioramento dell'instabilità emodinamica intradialitica.

BENEFICI CLINICI

Sull'HFR sono fioriti numerosi studi che, per la gran parte, hanno dimostrato effetti positivi su variabili biologiche direttamente correlate all'infiammazione, alla malnutrizione o all'aterosclerosi (24, 29), ovvero hanno dimostrato una riduzione delle complicanze intradialitiche (26, 29). In particolare, sono stati descritti benefici in soggetti diabetici, anziani o con comorbidità cardiovascolari.

Potremmo suddividere questi studi in quattro vaste aree:

- riduzione dell'infiammazione;
- migliore controllo dell'anemia uremica;
- ridotta perdita di nutrienti;
- effetti sulla stabilità intradialitica con la modalità *Aequilibrium*.

Una prima serie di studi ha dimostrato una riduzione dei fenomeni infiammatori grazie all'HFR (40, 41, 44-48).

In uno studio in acuto che confrontava una seduta dialitica in bicarbonato dialisi con due in HFR Aucella et al dimostravano come l'incremento intradialitico di IL-6 fosse nettamente ridotto con quest'ultima metodica (46). L'effetto positivo dell'HFR sulla microinfiammazione era poi confermato sia da Bolasco et al (48) che documentavano una significativa riduzione della CRP nei pazienti trattati con HFR quando paragonati a quelli trattati con BHD *standard* sia da Panichi et al (40) paragonando questa volta in uno studio *cross-over* HFR e HDF *on-line*. Altri Autori hanno potuto osservare un'elevata rimozione di citochine quali IL-6 e TNF α (44, 45) e di omocisteina, senza peraltro nessuna rimozione di folati o vitamina B12: questa peculiarità potrebbe conferire un'importante protezione cardiovascolare (47). Uno studio recente ha valutato nel lungo termine le variazioni nell'espressione genica in pazienti trattati con HFR (41). Gli Autori hanno osservato in HFR una ridotta produzione di mRNA e dell'espressione di p22 phox e dell'inibitore-1 dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1), entrambi implicati nell'infiammazione e nello stress ossidativo, rispetto alla BHD. L'HFR era altresì in grado di ottenere un significativo decremento dei livelli di LDL ossidate (oxLDL) (41). Lo stesso gruppo ha poi confermato questi risultati nel lungo termine e li ha ampliati documentando non solo una riduzione dello stress ossidativo e dei parametri infiammatori, bensì anche un

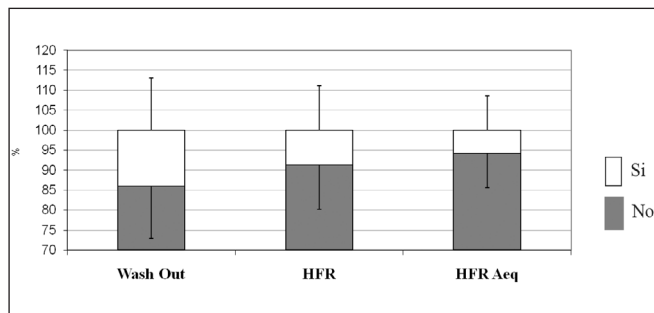


Fig. 6 - Incidenza di sintomatologia intradialitica nello studio AIMS (31).

aumento dell'eme-ossigenasi-1, molecola con effetti protettivi sull'apparato cardiovascolare (49): quest'ultimo studio attesta la grande biocompatibilità e le potenzialità cardioprotettive dell'HFR.

L'HFR sembra avere altresì un effetto positivo sull'anemia uremica. Poiché l'uso di membrane a elevata convezione è in grado di rimuovere le medie molecole, l'HDF *on-line* dovrebbe essere in grado di migliorare la correzione dell'anemia sia tramite la rimozione di inibitori dell'eritropoiesi sia tramite la purezza della reinfusione. Al momento, però, i risultati rimangono ancora dubbi (50). I dati relativi all'HFR in tal senso sono stimolanti. In uno studio *in vitro* condotto testando siero uremico su colture di precursori eritroidi *Burst Forming Unit* (BFU-E), Aucella et al (51) mostrarono una maggiore proliferazione dopo trattamento con HFR e una stabilità, se non un peggioramento, dopo HD *standard*. Questi risultati rafforzano l'ipotesi della rimozione di inibitori, magari tramite la funzione di adsorbimento della cartuccia. I risultati positivi sono stati però documentati anche *in vivo*. Bolasco et al (52) hanno condotto uno studio multicentrico su 16 pazienti provenienti dalla BHD *standard* e immessi, per 9 mesi, in un programma di HFR con e senza acetato nella SD. I risultati hanno dimostrato un incremento statisticamente significativo di Hb in HFR vs BHD (da 11.22 a 11.66 g/dL, $p < 0.05$), mentre per gli ESAs è stato registrato un contemporaneo decremento significativo da 29.188 a 16.750 IU/mese ($p = 0.01$). Questo effetto favorevole sembra essere indipendente sia dalla dose di dialisi (determinata con il calcolo del Kt/V), sia dal *replacement fluid volume*, sia dalla presenza o meno di acetato nella SD.

Ancora, HFR ha dimostrato di essere una metodica di emodiafiltrazione in cui si ha la stessa perdita di nutrienti di una bicarbonato dialisi *standard* (53-55).

Ragazzoni et al (53) e De Simone et al (54) hanno dimostrato durante HFR un significativo risparmio di AA essenziali, a catena ramificata e totali in paragone con la HDF *on-line*. Un ulteriore studio (55) mul-

ticentrico in acuto ha paragonato il comportamento degli AA in 44 pazienti uremici in trattamento sostitutivo, 24 in HFR e 20 in AFB: a parità di livello di AA plasmatici nelle due popolazioni a inizio seduta, è stato possibile dimostrare una diminuzione significativa ($p < 0.05$) degli AA sia totali che essenziali che a catena ramificata in AFB (-25%, -16%, -17%, rispettivamente) contro un incremento (+4%, +15%, +7%) in HFR, dovuto alla mancata correzione per l'emocostrazione. Allo stesso tempo è stato possibile dimostrare, attraverso dosaggi nell'uf all'ingresso e all'uscita della cartuccia sorbente, il mancato adsorbimento degli AA da parte della resina.

Infine, la modalità **HFR Aequilibrium** (26, 29) ha fornito dati estremamente incoraggianti sulla stabilità emodinamica intradialitica (30, 31). Nel confronto con la bicarbonato dialisi e con la stessa HFR *standard* (Fig. 6), si riducono le sedute complicate e i fenomeni ipotensivi, migliorando la stabilità dei parametri cardiovascolari quali pressione arteriosa e frequenza cardiaca.

CONCLUSIONI

Le varianti tecniche oggi disponibili dell'HDF consentono al nefrologo di poter selezionare il trattamento più idoneo per le caratteristiche cliniche del paziente. Nonostante ciò i pazienti con uremia terminale, dato anche l'aumento dell'età media e del carico di comorbidità, mostrano sempre più problemi legati allo stato infiammatorio, alla malnutrizione e alla patologia cardiovascolare.

In questa ottica l'HFR si presenta come una moderna risposta biotecnologica per un trattamento adeguato di pazienti così complicati. Il suo schema operativo può altresì rappresentare un modello in cui ogni stadio può essere reso flessibile per specifici scopi: la divisione spaziale e l'assenza di interferenze reciproche fanno sì che sia possibile studiare possibili applicazioni di un aumento dell'adsorbimento, tramite variazioni della cartuccia, della convezione o della diffusione con modifiche dei rispettivi filtri in serie. Non è un caso quindi se dallo schema originario sono già gemmati tre ulteriori modelli di trattamento quali l'HFR *Aequilibrium*, l'HFR *Supra* e l'*acetate free HFR Lympa*.

Molti sono ancora gli studi in corso su tale metodica e sembra alquanto probabile che i suoi benefici, già effettivi o potenziali, siano ancora in fase di definizione.

RIASSUNTO

La popolazione uremica mostra un progressivo aumento dell'età anagrafica e delle comorbidità ed è

quindi necessario adottare strategie dialitiche che tengano conto di tali condizioni cliniche. L'HFR si basa sulla separazione della convezione dalla diffusione e sull'infusione di ultrafiltrato endogeno depurato per adsorbimento e si può associare, nella variante HFR Aequilibrium, all'impiego di profili di sodio nel dializzato e di ultrafiltrazione elaborati automaticamente "a priori" da un modello matematico. Per la caratteristica compresenza senza reciproche interferenze di tre diversi tipi di depurazione, convettiva, tramite adsorbimento e diffusiva, tale metodica può rappresentare una valida opzione terapeutica per i pazienti con quadri di infiammazione, malnutrizione e aterosclerosi. Inoltre, l'utilizzo della variante HFR Aequilibrium consente altresì una maggiore stabilità clinica intradialitica e una minore incidenza dei sintomi da intolleranza dialitica, nel rispetto del bilancio sodico del paziente.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

L'Autore fa parte del board del Collaborative Research Club supportato da Bellco SpA.

CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

L'Autore dichiara di non aver ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo.

BIBLIOGRAFIA

- Blankestijn PJ, Ledebro I, Canaud B. Hemodiafiltration: clinical evidence and remaining questions. *Kidney Int* 2010; 77 (7): 581-7.
- Ledebro I, Ronco C. The best dialysis therapy? Results from an international survey among nephrology professionals. *NDT Plus* 2008; 1: 403-8.
- den Hoedt CH, Mazairac AH, van den Dorpel MA, Groote-man MP, Blankestijn PJ. Effect of hemodiafiltration on mortality, inflammation and quality of life. *Contrib Nephrol* 2011; 168: 39-52.
- Pacitti A, Bermond F. La reinfusione esogena vs quella endogena in emodiafiltrazione. [Exogenous vs endogenous reinfusion in HDF]. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S17-22.
- Wizeman V. Hemodiafiltration -- to be or not to be? *Blood Purif* 1984; 2: 76-80.
- Ikizler TA, Flakoll PJ, Parker RA, Hakim RM. Amino acid and albumin losses during hemodialysis. *Kidney Int* 1994; 46 (3): 830-7.
- Navarro JF, Marcen R, Teruel JL, et al. Effect of different membranes on amino-acid losses during hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 (1): 113-7.
- Navarro JF, Mora C, Leon C, et al. Amino acid losses during hemodialysis with polyacrylonitrile membranes: effect of intradialytic amino acid supplementation on plasma amino acid concentrations and nutritional variables in nondiabetic patients. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (3): 765-73.
- Fehrman-Ekholm I, Lotsander A, Logan K, et al. Concentrations of vitamin C, vitamin B12 and folic acid in patients treated with hemodialysis and on-line hemodiafiltration or hemofiltration. *Scand J Urol Nephrol* 2008; 42: 74-80.
- Krieter DH, Canaud B. High permeability of dialysis membranes: what is the limit of albumin loss? *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 651-4.
- 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.
- Ward RA. Protein-leaking membranes for hemodialysis: a new class of membranes in search of an application? *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2421-30.
- Gupta BB, Jaffrin MY. In vitro study of combined convection diffusion mass transfer in hemodialyzers. *Int J Artif Organs* 1984; 5: 263-8.
- 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.
- Ghezzi PM, Sanz-Moreno C, Gervasio R, et al. Technical requirements for rapid high-efficiency therapy in uremic patients. Paired Filtration-Dialysis (PFD) with a two-chamber technique. *ASAIO* 1987; 33: 546-50.
- Ghezzi PM, Gervasio R, Tessore V, Sartoris AM, Botella J. Hemodiafiltration without replacement fluid. An experimental study. *ASAIO J* 1992; 38: 61-5.
- Sanz-Moreno C, Botella J. Hemodiafiltration in two chambers without replacement fluid. A clinical study. *Artif Organs* 1995; 19: 407-10.
- De Francisco AL, Botella J, Escallada R, et al. Hemodiafiltration with sorbent regenerated ultra filtrate as replacement fluid: a multi center study. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 528-34.
- La Grega C, Brendolan A, Ghezzi PM, et al. The concept of sorbent in hemodialysis. *Int J Artif Organs* 1998; 21: 303-8.
- De Nitti C, Giordano R, Gervasio R, et al. Choosing new adsorbents for endogenous ultrapure infusion fluid: performances, safety and flow distribution. *Int J Artif Organs* 2001; 24: 765-76.
- Tetta C, Ghezzi PM, DE Nitti C, et al. New options for on-line hemodiafiltration. *Contrib Nephrol* 2002; 137: 212-20.
- Wratten ML, Sereni L, Lupotti M, Ghezzi PM, Atti M, Formica M. Ottimizzazione di una cartuccia rigenerante per HFR nei confronti di soluti ad alto peso molecolare. [Optimization of a HFR sorbent cartridge for high molecular weight uremic toxins]. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S67-70.
- Atti M, Wratten ML, Sereni A, Ghezzi PM, De Nitti C, Formica M. L'attivazione della fase di contatto durante emodiafiltrazione con tecnica HFR può verificarsi con alcuni tipi di carbone attivato. [Contact phase activation can occur with certain types of activated carbon]. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S62-6.
- Wratten ML, Ghezzi PM. Hemodiafiltration with endogenous reinfusion. *Contrib Nephrol* 2007; 158: 94-102.

25. Coli L, Ursino M, Dalmastrì V, et al. A simple mathematical model applied to selection of the sodium profile during profiled haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 (2): 404-16.
26. Ursino M, Coli L, Magosso E, et al. A mathematical model for the prediction of solute kinetics, osmolarity and fluid volume changes during hemodiafiltration with on-line regeneration of ultrafiltrate (HFR). *Int J Artif Organs* 2006; 29 (11): 1031-41.
27. Davenport A. Can advances in hemodialysis machine technology prevent intradialytic hypotension? *Semin Dial* 2009; 22 (3): 231-6.
28. Coli L, La Manna G, Comai G, et al. Automatic adaptive system dialysis for hemodialysis-associated hypotension and intolerance: a noncontrolled multicenter trial. *Am J Kidney Dis* 2011; 58 (1): 93-100.
29. Coli L, Cuna V, Ferri A, Donati G, Cianciolo G, Stefoni S. Hemodiafiltration reduces mortality and prevents comorbidities? Technical innovations to improve hemodynamics and efficacy. *G Ital Nefrol* 2010; 27 (Suppl. 52): S55-9.
30. Locatelli F, Stefoni S, Petitclerc T, et al. AIMS (HFR AEQUILIBRIUM INTERNATIONAL MULTICENTRIC STUDY) Protocol Study: impact of HFR Aequilibrium on cardiovascular stability. WCN 2011 Vancouver.
31. Locatelli F, Stefoni S, Petitclerc T, et al. Effect of a plasma sodium biofeedback system applied to HFR on the intradialytic cardiovascular stability. Results from a randomized controlled study. *Nephrol Dial Transplant* 2012 May 4. [Epub ahead of print]
32. Amore A, Cirina P, Mitola S, et al. Acetate intolerance is mediated by enhanced synthesis of nitric oxide by endothelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1431-6.
33. Pizzarelli F, Cerrai T, Dattolo P, et al. On-line haemodiafiltration with and without acetate. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1648-51.
34. Selby NM, Fluck RJ, Taal MW, et al. Effects of acetate-free doublechamber hemodiafiltration and standard dialysis on systemic hemodynamics and troponin T levels. *ASAIO J* 2006; 52: 62-9.
35. Bolasco P, Ghezzi PM, Serra A, et al. Sardinian Polycentric Study on Acetate-Free Haemodiafiltration. Effects of acetate-free haemodiafiltration (HDF) with endogenous reinfusion (HFR) on cardiac troponin levels. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26 (1): 258-63.
36. Bolasco P, Ghezzi PM, Ferrara R, et al. Ichnusa Sardinian Polycentric Study on HFR On-Line. New method for phosphate kinetics estimation during hemodialysis and on-line hemodiafiltration with endogenous reinfusion. *Blood Purif* 2006; 24 (3): 301-8.
37. De Simone W, De Simone M, De Simone A, et al. Aspects of the on-line hemodiafiltration with regeneration and reinfusion of the ultrafiltrate (HFR): multicenter study. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S161-7.
38. Panichi V, Manca-Rizza G, Paoletti S, et al. Effects on inflammatory and nutritional markers of haemodiafiltration with online regeneration of ultrafiltrate (HFR) vs online haemodiafiltration: a cross-over randomized multicentre trial. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (3): 756-62.
39. Calò LA, Naso A, Carraro G, et al. Effect of haemodiafiltration with online regeneration of ultrafiltrate on oxidative stress in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (5): 1413-9.
40. Hutchison CA, Cockwell P, Reid S, et al. Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 886-95.
41. Testa A, Gentilhomme H, Le Carrer D, Orsonneau JL. In vivo removal of high- and low-molecular-weight compounds in hemodiafiltration with on-line regeneration of ultrafiltrate. *Nephron Clin Pract* 2006; 104: c55-60.
42. Ghezzi PM. Emodiafiltrazione con reinfusione endogena (HFR): evoluzione della metodica. [Hemodiafiltration with endogenous reinfusion (HFR): evolution of the method]. *G Ital Nefrol* 2005; 22 (Suppl. 31): S105-10.
43. Emiliani G, Briganti M, Montanari A, et al. Emodiafiltrazione on-line con reinfusione endogena (HFR): rimozione di 2-microglobulina vs frazione di filtrazione. [On-line haemodiafiltration with sorbent-regenerated ultrafiltrate as replacement fluid: Beta2-microglobulin removal versus filtration fraction]. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S80-4.
44. Meloni C, Ghezzi P M, Cipriani S, et al. One year of experience in postdilution hemofiltration with online reinfusion of regenerated ultrafiltrate. *Blood Purif* 2004; 22: 505-9.
45. Meloni C, Ghezzi PM, Cipriani S, et al. Hemodiafiltration with postdilution reinfusion of the regenerated ultrafiltrate: a new on-line technique. *Clin Nephrol* 2005; 63: 106-12.
46. Aucella F, Gesuete A, Sereni L, et al. Emodiafiltrazione con reinfusione endogena (HFR): profilo di biocompatibilità in acuto. [Acute biocompatibility of hemodiafiltration with endogenous reinfusion (HFR)]. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S185-9.
47. Splendiani G, De Angelis S, Tullio T, et al. Selective adsorption of homocysteine using an HFR online technique. *Artif Organs* 2004; 28: 592-5.
48. Bolasco PG, Ghezzi PM, Ferrara R, et al. Effect of on-line hemodiafiltration with endogenous reinfusion (HFR) on the calcium-phosphorus metabolism: medium-term effects. *Int J Artif Organs* 2006; 29: 1042-52.
49. Calò LA, Naso A, Davis Pa, et al. Hemodiafiltration With Online Regeneration of Ultrafiltrate: Effect on Heme-Oxygenase-1 and Inducible Subunit of Nitric Oxide Synthase and Implication for Oxidative Stress and Inflammation. *Artif Organs* 2011; 35 (2): 183-7.
50. Locatelli F, Manzoni C, Del Vecchio L, Di Filippo S, Pontoriero G, Cavalli A. Management of anemia by convective treatments. *Contrib Nephrol* 2011; 168: 162-72.
51. Aucella F, Scalzulli RP, Vigilante M, Stallone C. The hemodiafiltration with endogenous reinfusion reduces the erythroid progenitor inhibition by uremic serum. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S128-32.
52. Bolasco PG, Ghezzi PM, Serra A, et al. Hemodiafiltration (HDF) with endogenous reinfusion (HFR) with and without acetate-free dialysis solutions: effects on ESAs requirement. *Blood Purif* 2011; 31 (4): 235-42.
53. Ragazzoni E, Carpani P, Agliata S, et al. HFR vs. HDF on-line: valutazione della perdita aminoacidica plasmatica. [HFR vs HDF-ON line: plasmatic amino acids loss evaluation]. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S85-90.
54. De Simone W, De Simone M, De Simone A, et al. Aspetti dell'emodiafiltrazione online con rigenerazione e reinfusione dell'ultrafiltrato (HFR). Studio multicentrico. [Aspects of the on-line hemodiafiltration with regeneration and reinfusion of the ultrafiltrate (HFR): multicenter study]. *G Ital Nefrol* 2004; 21 (Suppl. 30): S161-7.
55. Borrelli S, Minutolo R, De Nicola L. Intradialytic changes of plasma amino acid levels: effect of hemodiafiltration with endogenous reinfusion versus acetate-free biofiltration. *Blood Purif* 2010; 30 (3): 166-71.