



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Análisis multidisciplinar de la eficiencia depurativa en la hemodiafiltración en línea post-dilucional

Miguel Gomez Umbert

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

**Análisis multidisciplinar de la eficiencia
depurativa en la hemodiafiltración en línea
post-dilucional.**

Memoria presentada por:
Miguel Gomez Umbert

Para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Barcelona

Co-directores:
Dr. Francesc Maduell Canals
Dra. Elisenda Bañón Maneus

Tutor:
Dr. Josep M. Campistol Plana

Programa de Doctorado en Medicina e Investigación Traslacional
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Universidad de Barcelona

2021

A mi mujer Dori y mi hija Ilíria
A mis padres Pablo e Isabel
A mis suegros Gaspar (¡Cocomelin!) y Loli

INT. ESTANCIA ILUMINADA CON VELAS

PEDRO y Don MIGUEL DE CERVANTES, ambos con atuendo del siglo XVI, se hallan debatiendo en el escritorio del primero, que toma notas a pluma en un grueso volumen.

CERVANTES De todos modos, Maese Pedro, una cosa importante.
Maese Pedro, una cosa importante.

PEDRO ¿Eh?

CERVANTES (excitado) Yo lo que quiero escribir, de verdad, de verdad, de verdad es... ¡Un tocho!
Un tocho...

PEDRO ¡Un tocho!

CERVANTES ...y de humor!

PEDRO ¡De humor!

CERVANTES Un libro, tocho, de humor.

PEDRO Ahí está. Sí señor, sí señor.
Ahí está.
Ahí, ahí nos lo vamos a llevar.

CERVANTES Un tocho de humor. Porque la gente ya está harta de desgracias...

PEDRO ...un tocho.

CERVANTES ...y de la Armada Invencible... no...
¡Quiere reírse!

PEDRO ... reírse. (gesticulando con las manos)
Así. ¿Cómo de grande?

CERVANTES (exagerando el tamaño) ¡Así!

PEDRO ¡Así!

CERVANTES (exagerando el tamaño aún más) ¡ASÍ!

PEDRO (resignado) Bueno, usted es el autor...

Faemino y Cansado
Fragmento del "sketch" Miguel de Cervantes

AGRADECIMIENTOS

La elaboración de una tesis doctoral es como una larga excursión a la montaña. Aunque el mérito recae en el que alcanza la cima, la inestimable ayuda y consejo de los demás excursionistas durante la ascensión, hace posible llegar a la cumbre. Por este motivo no puedo dejar de escribir unas palabras de agradecimiento a todos aquellos que, en mayor o menor medida, han participado en la consecución de este trabajo.

En primer lugar expresar mi más sincera gratitud hacia los doctores Josep M. Campistol y Francesc Maduell, promotores visionarios del *Centre de Diàlisi i Recerca Aplicada Clínic* (DIRAC), por la inestimable (y casi ciega) confianza depositada en mí, y sin los cuales este trabajo no habría sido posible. Asimismo, quiero agradecer a la Dra. Elisenda Bañón por sus importantes consejos, asesoría y creatividad en la manipulación de muestras biológicas.

Agradecer también a todo el personal sanitario vinculado al DIRAC; médicos (Marta, Néstor, Jose, Lida, Manel, Raquel...), coordinadoras de enfermería (Mercè Pocino y Marta Quintela), enfermeras (Sonia, Eva, Pilar, Carol, Marta(s), Núria, Gloria, Teresa...), TCAEs (Mar, Meri, Nadia, Montse, Bea...), administrativas (Montse(s) Escartín y Franco) y fisioterapeuta (Anna, aquí vas tu) por su *over the top* dedicación profesional y su desinteresado soporte en todos los proyectos de investigación, en especial los que en este texto se incluyen.

Por descontado, mil gracias al resto del personal del *Laboratori Experimental de Nefrologia i Trasplantament, LENIT* (Jordi, Mari, Natalia, Marta, Dani...) por su constante (y no siempre adecuadamente retribuida) dedicación a la ciencia y su infinita paciencia en las innumerables horas compartidas procesando y analizando muestras.

Agradecer a todos aquellos que han aportado su pequeño (o no tan pequeño) grano de arena a la elaboración de este trabajo: Dr. Juan Sanchez, Dra. Marta Net, Néstor Rodríguez, Ceci García, Adrià Hernandez, Pau Viladomiu, David Badía, Máximo Arias...

Por último, agradecer a mi hermano Héctor su gran ayuda con la gramática inglesa y a toda mi familia por su apoyo y paciencia.

A todos vosotros,

Gracias.

FINANCIACIÓN

El desarrollo del presente trabajo de tesis ha sido posible gracias a las siguientes fuentes de financiación:

- Premio Fondo para el Fomento y Ayuda a la Investigación en Diálisis Baxter-Gambro Renal 2016, otorgado por la Sociedad Española de Nefrología.
- Redes Temáticas De Investigación Cooperativa En Salud, REDINREN (RD16/0009/0023), con el apoyo de ISCIII-Subdirección General de Evaluación y Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) 'Una manera de hacer Europa'.
- Fondo de Investigación Sanitaria, FIS (PI17/00108).

Enumeración de los artículos que componen la tesis

Este trabajo de tesis se presenta en el formato de compendio de artículos.

La tesis plantea 3 objetivos principales desarrollados en 3 publicaciones.

1- Assessment of removal and adsorption enhancement of high-flux hemodialyzers in convective therapies by a novel in vitro uremic matrix.

Autores: Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén y Francisco Maduell.

Revista: Scientific Reports 10, 17403 (2020). DOI 10.1038/s41598-020-74528-5
JCR Journal Rank: Q1 SCImago Journal Rank: Q1
Factor de Impacto JCR: 3.998 SJR: 1.34

2- Distinct solute removal patterns by similar surface high-flux membranes in haemodiafiltration. The adsorption point of view.

Autores: Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén, Néstor Fontseré, José Jesús Broseta, Raquel Ojeda y Francisco Maduell.

Revista: Blood Purification, (2021). DOI: 10.1159/000514936
JCR Journal Rank: Q2 SCImago Journal Rank: Q2
Factor de Impacto JCR: 2.116 SJR: 0.84

3- A unidimensional diffusion model applied to uremic toxin kinetics in haemodiafiltration treatments.

Autores: Miquel Gomez y Francisco Maduell.

Revista: Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA, 36, 223-240 (2019). DOI: 10.1093/imammb/dqy008
JCR Journal Rank: Q3 SCImago Journal Rank: Q2
Factor de Impacto JCR: 1.392 SJR: 0.56

Índice

Nomenclatura	VII
1. Introducción	1
1.1. El riñón	1
1.2. La enfermedad renal crónica	3
1.3. Toxinas urémicas	3
1.4. Hemodiálisis	7
1.4.1. Descripción del sistema extracorpóreo	7
1.4.2. Hemodializador	8
1.4.2.1. Propiedades estructurales	9
1.4.2.2. Principios físicos y mecanismos de transporte	11
1.4.2.3. Propiedades macroscópicas	14
1.4.2.4. Biofísica del hemodializador	17
1.4.2.4.1. Propiedades de la sangre y reología	17
1.4.2.4.2. Modelos de obstrucción de poros	18
1.4.2.5. Materiales de hemodializadores comerciales	19
1.4.3. Marcadores de eficiencia depurativa y dosis de hemodiálisis	22
1.4.4. Modalidades de hemodiálisis	24
1.4.4.1. Hemodiálisis de alto flujo, HD	24
1.4.4.2. Hemodiafiltración, HDF	25
1.4.5. Matrices para experimentación <i>in vitro</i>	27
1.4.5.1. Solución salina	27
1.4.5.2. Sangre de procedencia animal	28
1.4.5.3. Sangrías terapéuticas o flebotomías	28
1.4.5.4. Restitución de plasma urémico con hematíes expirados	28
1.5. Modelización de la cinética de toxinas urémicas en hemodiálisis	29
1.5.1. Modelo monocompartmental	29
1.5.2. Modelo bicompartimental	30
1.5.3. Otros modelos	31
2. Hipótesis	33
3. Objetivos	35

4. Resumen de los resultados propios de cada objetivo	37
4.1. Objetivo 1. Validar la restitución de plasma urémico con hematíes expirados como matriz precursora en tratamientos de hemodiálisis <i>sham</i>	37
4.2. Objetivo 2. Evaluar las propiedades depurativas y adsorptivas de hemodializadores de diferente material y estructura, sometidos a tratamientos convectivos y no convectivos	41
4.3. Objetivo 3. Desarrollar y validar un modelo cinético difusivo unidimensional	53
5. Discusión	103
6. Conclusiones	117
7. Líneas futuras	119
Bibliografía	121
Anexos	141

Listado de figuras

1.1. Fisiología renal	2
1.2. Relación entre tamaño y peso molecular para diferentes moléculas	7
1.3. Elementos más importantes del sistema de diálisis	9
1.4. Estructura de la pared capilar	10
1.5. Esquema de la sección sagital de una fibra capilar	12
1.6. Comparación de diferentes perfiles de cribado	15
1.7. Efecto Fåhræus-Lindqvist	18
1.8. Esquemas de obstrucción de poros	20
1.9. Modelo bicompartimental	31
1.10. Modelo matemático regional	32
4.1. Hemólisis de concentrados de hematíes	39
4.2. Tasa de reducción de diferentes toxinas según membrana y tratamiento (<i>in vitro</i>)	42
4.3. Masa extraída y adsorbida de cada toxina según membrana y modalidad de tratamiento (<i>in vitro</i>)	44
4.4. Masa extraída, adsorbida y detectada en el dializado para la albúmina (<i>in vitro</i>)	44
4.5. Tasa de reducción de diferentes toxinas según membrana y tratamiento (<i>in vivo</i>)	48
4.6. Índice de deprecación global (<i>in vivo</i>)	49
4.7. Masa adsorbida de cada toxina según membrana y modalidad de tratamiento (<i>in vivo</i>)	50
4.8. Evolución simulada mediante modelo unidimensional de la concentración según modalidad de tratamiento	54
4.9. Solución espacial y temporal del modelo unidimensional	56

Listado de tablas

1.1. Estadios de la ERC	4
1.2. Características de diversos hemodializadores	22
4.1. Aclaramiento estimado de diferentes toxinas (<i>in vitro</i>)	43
4.2. Índice de depuración global (<i>in vitro</i>)	45
4.3. Valores de los parámetros cinéticos α y k	55
4.4. Valor de la función error, ϵ	55
5.2. Comparativa de parámetros cinéticos	116

Nomenclatura

Símbolos

α	Tasa de eliminación unidimensional	$1/min$
ΔC	Gradiente de concentración	kg/m^3
Δl	Longitud de un capilar	m
ΔP	Presión hidrostática sobre el capilar	$mmHg$
ΔP_i	Caída de presión entre extremos de un capilar	$mmHg$
Δt_a	Tiempo de transición depurativa	-
Δx	Grosor de la pared capilar	μm
δ	Función de actuación	-
γ	Resistencia de la membrana eritrocitaria	-
μ	Viscosidad	kg/ms
μ_p	Viscosidad plasmática	kg/ms
π	Presión oncótica	$mmHg$
σ	Coefficiente de reflexión de Staverman	-
τ	Tortuosidad	-
ζ	Potencial Z	mV
A	Superficie total de la membrana	m^2
A_k	Porosidad	-
C_{Bi}	Concentración en sangre aferente	mg/mL
C_{Bo}	Concentración en sangre eferente	mg/mL
C_{Do}	Concentración en dializado eferente	mg/mL
C_M	Concentración promedio en la pared capilar	kg/m^3

Nomenclatura

CV	Volumen convectivo	L
D	Dialisancia	mL/min
D_s	Coefficiente de difusión	m^2/s
$eGFR$	Filtrado glomerular de la creatinina	$mL/min/1,73m^2$
eKt/V_{urea}	Dosis de diálisis equilibrada	-
F_P	Fracción de agua plasmática	-
F_R	Fracción de agua eritrocitaria	-
GRS	Índice de depuración global	-
Ht	Hematocrito	%
Ht_i	Hematocrito a la entrada de la membrana	%
Ht_{out}	Hematocrito a la salida de la membrana	%
J_s	Flujo de soluto por unidad de área	kg/m^2s
J_{vo}	Flujo osmótico for unidad de área	m/s
J_{vu}	Flujo de ultrafiltrado por unidad de área	m/s
J_v	Flujo volumétrico por unidad de área	m/s
K	Aclaramiento del dializador	mL/min
k	Difusividad en modelo unidimensional	$1/min$
K_0A	Coefficiente de transferencia de masa	mL/min
K_c	Coefficiente de paso intercompartimental	mL/min
K_d	Aclaramiento del dializador 'bicompartimental'	mL/min
k_o	Coefficiente de obstrucción	$m^{n-2}s^{1-n}$
Kt	Dosis de diálisis no estandarizada	L
Kt/V_{urea}	Dosis de diálisis	-
Kuf	Coefficiente de ultrafiltración de la membrana	$mL/min \cdot mmHg$
L	Longitud efectiva del poro	μm
L_p	Permeabilidad hidráulica	m^2s/kg
P_B	Presión en compartimento sanguíneo	$mmHg$

P_D	Presión en compartimento de dializado	$mmHg$
PM	Peso molecular	Da
PTM	Presión transmembrana	$mmHg$
Q_B	Flujo sanguíneo	mL/min
Q_b	Flujo de sangre por un capilar	mL/min
Q_D	Flujo de baño de diálisis	mL/min
Q_E	Flujo efectivo de sangre	mL/min
Q_i	Flujo de sustitución	mL/min
Q_{UF}	Flujo de ultrafiltración	mL/min
r_c	Radio interno del capilar	μm
R_D	Ratio de partículas con carga eléctrica	-
R_{gs}	Constante de los gases	$J/Kmol$
r_p	Radio de poro	nm
r_s	Radio de Stokes	nm
RR	Tasa de reducción	-
S	Coefficiente de cribado o <i>sieving</i>	-
T	Temperatura absoluta	K
t	Tiempo de tratamiento	min
T_R	Coefficiente de transmitancia	mL/min
UF	Volumen de sobrehidratación	mL

Abreviaturas

2,3-DPG	Ácido bifosfoglicérico
ADH	Hormona antidiurética
AGA	α_1 -glicoproteína ácida
ATP	Trifosfato de adenosina
BVM	Blood Volume Monitor
EPO	Eritropoyetina

ERC	Enfermedad renal crónica
HD	Hemodiálisis de alto flujo
HDF	Hemodiafiltración post-dilucional
HF	Hemofiltración
IS	Indoxil sulfato
MCO	Membranas de punto de corte medio
PA	Poliamida
PAES	Poliariletersulfona
PAN	Poliacrilonitrilo
PBUT	Toxinas con adhesión proteica
PCR	Tasa de catabolismo proteico
PCs	P-cresil sulfato
PES	Polietersulfona
PFTE	Politetrafluoroetileno
PMMA	Polimetilmetacrilato
PS	Polisulfona
PVP	Polivinilpirrolidona
TAC	Triacetato de celulosa
TACA	Triacetato de celulosa asimétrico

1. Introducción

1.1. El riñón

Los riñones son órganos pertenecientes al sistema excretor ubicados en la región lumbar, a ambos lados de la columna vertebral y siendo su tamaño medio de unos 12 cm de longitud, 5 de anchura y unos 2.5 de grosor, con una marcada depresión en la zona media denominada hilio, otorgándole así una característica forma de judía y color pardo. Una primera observación de la sección del riñón (Figura 1.1 A.) revela una estructura muy singular con una clara separación entre una zona más externa o corteza y una más interna o médula. En esta región más interna se distinguen una formaciones de aspecto cónico, las pirámides renales, encontrándose entre 12 y 18 en un riñón humano y separadas entre ellas por las columnas renales o columnas de Bertin.

La unidad funcional básica que conforma el riñón es la nefrona (Figura 1.1 B.), cuyo número se estima entre 1.5 y 2 millones para un sujeto adulto (1), y se compone por del glomérulo, la cápsula de Bowman, el túbulo proximal, el asa de Henle, el túbulo distal y el tubo colector. Si bien los glomérulos se ubican en la corteza, dependiendo de la longitud y profundidad de inserción del asa de Henle en la médula, se distinguen entre nefronas corticales y yuxtamedulares (2).

El proceso de depuración de la sangre y la formación de orina se inicia en el corpúsculo glomerular (Figura 1.1 C.). Aquí, la sangre cargada de productos de deshecho procedentes de procesos metabólicos accede a través de la arterial renal donde las diversas ramificaciones derivan en la arteriola aferente y la subsiguiente formación de un ovillo o madeja (glomérulo), donde las fuerzas de Starling causan el ultrafiltrado de plasma hacia una estructura en forma de copa (cápsula de Bowman) a través de la barrera de filtración glomerular. Esta barrera es una compleja estructura compuesta por el endotelio glomerular y sus aberturas o fenestraciones de entre 40 y 100 nm, la membrana basal glomerular (con un grosor de entre 0.24-0.34 μm y compuesta principalmente de colágeno) y los podocitos, cuyas ramificaciones (o pedicelos) crean aperturas porosas que alcanzan un valor mínimo de 2 a 4 nm, permitiendo la filtración selectiva de moléculas de tamaño inferior a la albúmina (3-5).

A continuación, este plasma filtrado es conducido hacia el del túbulo contorneado proximal, una tortuosa sección de unos 14 mm de longitud y envuelto por los capilares peritubulares

(que provienen de la arteriola eferente glomerular) permitiendo la reabsorción, hacia el torrente sanguíneo, de agua, cloruro y sodio así como bicarbonato, azúcares y aminoácidos. Siguiendo el túbulo proximal se encuentra una sección más estrecha que desciende hacia la médula, se curva en forma de U y asciende de nuevo, formando el asa de Henle, que permite la regulación del NaCl por osmolaridad. Seguidamente, en el túbulo distal, se produce un ensanchamiento de la sección ascendente, cuyas paredes son impermeables al agua pero permiten el intercambio de electrolitos como el Na^+ , K^+ y Cl^- . Cabe resaltar aquí la presencia del aparato yuxtaglomerular, una región del túbulo distal con células diferenciadas (formando la mácula densa) situadas en las proximidades del glomérulo y en contacto con las arteriolas aferentes y eferentes, región donde las células yuxtaglomerulares sintetizan la renina, enzima encargada de la regulación de la tensión arterial. Posteriormente, el túbulo distal enlaza con el tubo colector, donde se modula la excreción Na^+ y K^+ , además de la cantidad de agua, regulando la permeabilidad mediante la hormona ADH.

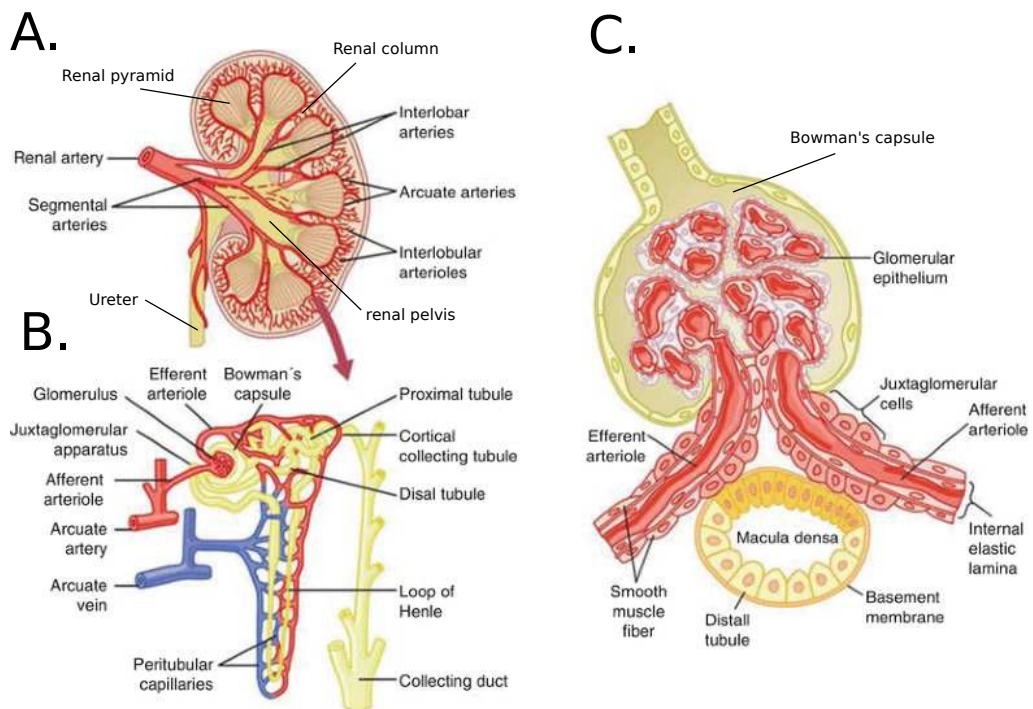


Figura 1.1: Partes más relevantes del riñón (A.), la nefrona (B.) y el glomérulo (C.). Adaptado de Samraj et al. *Applied Renal Physiology in the PICU* (con permiso de reproducción).

Finalmente, el tubo colector desciende por la pirámide renal, convergiendo en los cálices y la pelvis renal, permitiendo la circulación del fluido obtenido, en forma de orina, hacia la vejiga a través del uréter. Toda la compleja estructura descrita tiene como objetivo la regulación de diversos procesos biológicos esenciales como el control del balance hidrodinámico (sobrehidratación) y electrolítico de los tejidos, la eliminación de una plétora de desechos producidos por el metabolismo así como la producción de la renina y la eritropoyetina (EPO), siendo esta última la reguladora de producción eritrocitaria.

1.2. La enfermedad renal crónica

La presentación de cualquier anomalía en el correcto desarrollo de las funciones del riñón indica la presencia de daño renal, pudiendo afectar a estructuras concretas o a todo el órgano, desencadenando la aparición de una variedad de patologías. Según el grado y duración de la afectación, se puede clasificar la insuficiencia renal como aguda, sub-aguda o crónica. Las guías internacionales KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes (6)) consideran daño renal crónico siempre que se detecten valores anómalos en marcadores urinarios o sanguíneos (proteinuria o elevada creatinina respectivamente) (7), así como anomalías patológicas u obtenidas mediante imagen por un tiempo superior a 3 meses.

En este sentido, la enfermedad renal crónica (ERC) supone actualmente un importante reto para la salud pública por su elevada prevalencia, afectando aproximadamente a 697.5 millones de personas en todo el mundo en el año 2017 (8) estando asociada además a una elevada morbi-mortalidad cardiovascular (9) y con un sustancial coste económico del tratamiento multidimensional de una población cada vez más envejecida (10) y pluripatológica con elevada prevalencia de diabetes mellitus e hipertensión.

La ERC es una enfermedad progresiva, cuya evolución está estratificada en una escala de cinco estadios basada en el filtrado glomerular de la creatinina (11) (eGFR, Tabla 1.1), alcanzando el estado terminal cuando el valor de eGFR no supera los 15 mL/min, planteándose a partir de ese momento el tratamiento conservador o una terapia renal sustitutiva como el trasplante renal anticipado, la diálisis peritoneal o la hemodiálisis, destacando esta última por ser la opción de elevada prevalencia a nivel mundial (12) y una incidencia predominante en nuestro país (13).

1.3. Toxinas urémicas

Como ya se ha mencionado, una de las principales funciones del riñón consiste en la depuración de moléculas procedentes de diferentes procesos metabólicos. En el caso del paciente renal terminal, la acumulación de estas moléculas, las denominadas toxinas urémicas, repercute en la acentuación del síndrome urémico en detrimento de la calidad y esperanza de vida (14). Para que un soluto sea considerado toxina urémica (15) debe ser una molécula identificable en fluidos biológicos, tener elevados niveles en diferentes tejidos de pacientes urémicos en comparación a sujetos sanos, que estos elevados títulos estén relacionados con disfunción urémica y que la actividad biológica de estas moléculas sea demostrable tanto *in vivo* como *in vitro*.

En la actualidad hay identificadas cerca de 90 toxinas urémicas (16) clasificadas en tres grandes grupos según su peso molecular (PM) y afinidad de adhesión a proteínas (17),

Tabla 1.1: Prognosis de la ERC según el filtrado glomerular de la creatinina y la presencia de albuminuria (ratio albúmina/creatinina). Adaptado de Levey A. et al. Chronic kidney disease. The Lancet, 379(9811):165–180, 2012 (con permiso de reproducción).

				Albuminuria (mg/g)				
				A1		A2	A3	
				Óptimo y normal		Elevado	Muy elevado y nefrótico	
				<10	10-29	30-299	300-1999	≥2000
eGFR (mL/min/1.73m ²)	G1	Elevado y óptimo	>105					
			90-104					
	G2	Leve	75-89					
			60-74					
	G3a	Leve-moderado	45-59					
	G3b	Moderado-severo	30-44					
	G4	Severo	15-29					
G5	Fallo renal	<15						

estando asociada la acumulación de cada una de ellas, tanto al deterioro de estructuras renales específicas, como a la aparición de diversas patologías. A continuación se describen estos grupos, detallando algunas de las moléculas más relevantes de cada grupo y haciendo especial énfasis en aquellas que han sido analizadas en este trabajo de tesis, pudiendo abarcar así un amplio abanico de PM.

Pequeñas moléculas solubles en agua. Son toxinas con un PM arbitrariamente definido inferior a 500 Da y una afinidad proteica despreciable. En este grupo se pueden encontrar los compuestos de guanidina, el oxalato, las metilaminas, las poliaminas o el ácido úrico entre otras, destacando la urea y la creatinina por su relevancia y tradicional aplicación clínica.

Urea: Tiene un PM de 60 Da y es un compuesto nitrogenado, generado como consecuencia del metabolismo proteico y la catabolización del amoníaco en la mitocondria del tejido hepático (18), siendo esta molécula una de las mayores fuentes de nitrógeno circulante en el organismo, depurada en un 90 % por los riñones. Fue la primera sustancia en relacionarse con daño renal al incrementar significativamente su concentración en animales con nefrectomia bilateral (19), estableciéndose como marcador de dosificación en los actuales tratamientos de hemodiálisis (20). En relación a su toxicidad, se había clasificado durante décadas como

biológicamente inerte (21). Recientes estudios han logrado refutar esta afirmación, asociando la concentración de este compuesto con efectos lesivos como daño endotelial (22) y apoptosis celular (23).

Creatinina: Se trata de un compuesto de 113 Da producto del catabolismo de la fosfocreatina y creatina, generado principalmente en el tejido muscular (24). Su concentración en sangre está menos influenciada por la ingesta proteica que la urea (25). Además, su marcada filtración glomerular y despreciable reabsorción tubular ha permitido establecer este compuesto como estándar para la estimación del eGFR mediante la ecuación propuesta por Cockcroft y Gault (26). Su toxicidad no está claramente definida, encontrándose publicaciones que reportan valores extremadamente elevados (27–29) compatibles con la vida.

Toxinas unidas a proteínas. Las toxinas con adhesión proteica (*PBUT* en inglés) son moléculas de PM pequeño generadas mayoritariamente en el intestino (30) y relacionadas con una variedad de marcadores pro-inflamatorios. Su gran afinidad de adhesión hacia proteínas plasmáticas de dimensiones muy superiores hace incrementar enormemente su tamaño aparente, lo que dificulta su eliminación mediante técnicas dialíticas convencionales. De entre ellas destacan los cresoles, fenoles, indoles y sus derivados.

P-cresil sulfato: Con 188 Da y una afinidad del 95 % de adhesión reversible hacia la albúmina plasmática (31), se genera en el intestino por la metabolización de aminoácidos como la tirosina y fenilalanina. En sujetos sanos, la fracción libre se depura en el glomérulo mientras que la parte con adhesión proteica es secretada por las células tubulares. Su acumulación en el organismo ha demostrado estar relacionada con diferentes procesos como la inducción de estrés oxidativo (32), contribución a la apoptosis de células tubulares (33), daño renal y fibrosis (34).

Indoxil sulfato: Tiene un PM de 213 Da, se genera en el cólon por la metabolización de triptófano y tiene una afinidad de adhesión del 90 % hacia proteínas plasmáticas (35). Su lugar de depuración principal es el túbulo proximal. Los valores elevados de este compuesto se han relacionado con el deterioro de la función renal, daño cardiovascular (36), disfunción ventricular (37) e incluso deterioro cognitivo (38).

Moléculas medianas Son péptidos y pequeñas proteínas de tamaño superior a 500 Da que en condiciones normales son capaces de atravesar la barrera de filtración glomerular. En este nutrido grupo se encuentran, entre otras, moléculas como la cistatina C, el factor del Complemento D, las citocinas, las interleucinas

IL-6, IL-8 e IL-10, el factor de tumor necrótico (TNF- α), las cadenas ligeras κ y λ o el factor de crecimiento de fibroblasto (FGF-23) además de las que seguidamente se detallan:

β_2 -microglobulina: Es un polipéptido de 11.800 Da generado continuamente en las células nucleadas y considerada la prototípica toxina urémica de tamaño medio. Si bien su depuración es por filtración glomerular, un 99.9 % es reabsorbida en el túbulo proximal, resultando así en una muy reducida concentración en orina (39). En el caso de fallo renal, su concentración puede incrementar hasta 60 veces respecto a sujetos sanos, provocando la formación de fibras amiloides (40) dando lugar a la aparición de la amiloidosis (41–46) por depósito en diferentes tejidos, ocasionando, entre otras patologías, síndrome del túnel carpiano (47, 48).

Mioglobina: Es un polipéptido simple compuesto de 153 aminoácidos envolviendo el grupo heme prostético, con un PM aproximado de 17.000 Da y detectada principalmente en el tejido muscular (49). Su principal función es la de almacenaje temporal de oxígeno. Títulos elevados de mioglobina en sangre indican daño muscular severo (quemaduras o shock eléctrico entre otras causas) en forma de rabdomiólisis (50), pudiendo desencadenar daño tubular agudo (51).

Prolactina: Es una hormona de unos 23.000 Da, formada por 199 aminoácidos, generada principalmente en la glándula pituitaria y en menor medida en otros tejidos como la próstata, piel o tejido adiposo (52) y asociada con funciones reproductivas, metabólicas, osmoreguladoras y de activación plaquetaria (53, 54). En enfermos renales, los niveles de prolactina se ven alterados por su incrementada producción y limitada depuración (55), efecto relacionado con la disfunción sexual (56) y daño cardiovascular (57).

α_1 -microglobulina: Es una proteína de unos 30.000 Da (26-33 kDa) sintetizada mayoritariamente en el hígado y cuya función principal es inmunoreguladora y antioxidante (58). La fracción libre de α_1 -microglobulina tiene una importante reabsorción en el túbulo proximal, de ahí que esta molécula sea utilizada como biomarcador en la detección de daño renal tubular (59, 60).

La clasificación de las toxinas urémicas se hace tradicionalmente basándose en su PM. Hay que resaltar que tanto su tamaño como configuración eléctrica influirán de manera significativa en sus propiedades de transporte. Además, las moléculas descritas suelen tener configuraciones estructurales diferentes debido a su capacidad de plegado (61, 62). Aún

así, se les puede asimilar a una estructura esférica con un radio promedio o radio de Stokes (r_s) (Figura 1.2) con la misma difusividad según su peso molecular (63, 64).

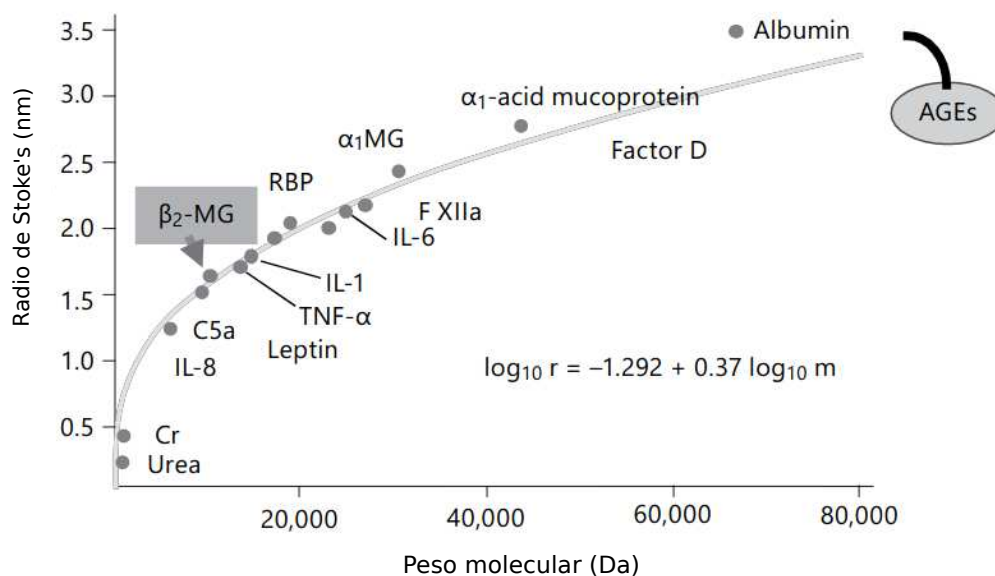


Figura 1.2: Relación entre el peso molecular y el tamaño (radio de Stokes asociado) de diferentes moléculas. Adaptado de I. Masakane, K. Kikuchi, and H. Kawanishi. Contrib. Nephrol. 189:17–23, 2016 (con permiso de reproducción).

1.4. Hemodiálisis

En la sección anterior se ha expuesto la relación entre niveles elevados de toxinas urémicas y sus efectos adversos en el organismo, desencadenando diversas patologías que incrementan la morbilidad y mortalidad de la población en ERC. Por ello, la óptima eliminación de estas toxinas es fundamental para alargar y mejorar la vida de los pacientes renales. En este sentido, la hemodiálisis es un tratamiento sustitutivo renal que emplea una membrana porosa semipermeable en un sistema de circulación sanguíneo extracorpóreo, a fin de reproducir algunas funciones esenciales del riñón como el control de la sobrehidratación, la regulación del balance electrolítico y la depuración de toxinas urémicas. Para el correcto desarrollo de un tratamiento de hemodiálisis se precisan tres elementos indispensables: un adecuado acceso vascular (comúnmente una fístula arteriovenosa nativa o protésica o un catéter), preceptiva anticoagulación del sistema y un filtro de diálisis o hemodializador.

1.4.1. Descripción del sistema extracorpóreo

El sistema o monitor de diálisis está compuesto por elementos de control y seguridad necesarios para la adecuada circulación de la sangre, su depuración y su retorno al paciente. Se puede distinguir un circuito sanguíneo y un circuito de baño de diálisis (dializado o

permeado) claramente diferenciados (Figura 1.3), cuyos flujos son introducidos en el hemodializador en sentidos opuestos para optimizar la depuración.

En el circuito sanguíneo, la sangre que proviene del paciente es impulsada a un flujo (Q_B) mediante una bomba peristáltica y monitorizada mediante un sensor de temperatura y un sensor de ultrasonidos (BVM), que permite estimar la tasa de hemoconcentración mediante la medida indirecta de la concentración de proteínas y hemoglobina (extrapolando también para el hematocrito) de acuerdo con la variación de la velocidad de propagación de un pulso ultrasónico (65). Posteriormente este flujo sanguíneo alcanza el hemodializador, donde tiene lugar todo el proceso depurativo y la extracción de agua plasmática en forma de flujo de ultrafiltración (Q_{UF}). Una vez la sangre ha sido sometida al intercambio de solutos y depurada, se retorna al paciente, controlando su temperatura y posible formación de microburbujas mediante diversos sensores.

En el circuito del baño de diálisis (integrado en el sistema de hemodiálisis), el agua purificada obtenida del suministro corriente se calienta a unos $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se mezcla con un concentrado ácido (cuya composición de mayor a menor cantidad es cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, cloruro magnésico, glucosa y ácido acético) y bicarbonato sódico (que actúa de solución tampón) a fin de obtener un flujo constante (Q_D) de líquido hemocompatible y libre de patógenos con un pH y nivel electrolítico óptimos, que irriga la membrana del hemodializador. Esta mezcla se realiza en una relación 1:35 o 1:45 según la composición del concentrado, siendo, para esta última, de la manera siguiente: 1 L de concentrado ácido, 1.8 L de bicarbonato y 42.2 L de agua. Diversos sensores de temperatura y conductividad se encargan de monitorizar permanentemente la calidad de la mezcla así como la posible hemólisis y/o coagulación en el hemodializador (mediante un sensor óptico de turbidez y uno de presión).

1.4.2. Hemodializador

El filtro de diálisis o hemodializador es el elemento central y más importante del sistema extracorpóreo, ya que es donde se encuentra la membrana semipermeable y tiene lugar el intercambio y la depuración de solutos, así como la extracción del exceso de agua plasmática para controlar el estado de sobrehidratación del paciente.

La constante evolución de los hemodializadores a lo largo de la historia (66) ha permitido la producción de los actuales filtros de hemodiálisis, compuestos de un haz de fibras capilares huecas (entre 10,000-14,000) de unos 25 cm de longitud, elaboradas de un material poroso y formando una superficie de intercambio de entre $1.4\text{-}2.4\text{ m}^2$ según el modelo. Este haz de fibras se encuentra encapsulado en una carcasa cilíndrica habitualmente de material plástico (policarbonato, poliestireno o polipropileno) con cuatro puertos, siendo dos de ellos utilizados para el flujo de sangre y dos para el flujo de baño de diálisis. Un sellado habitualmente de poliuretano, permite la circulación de la sangre exclusivamente

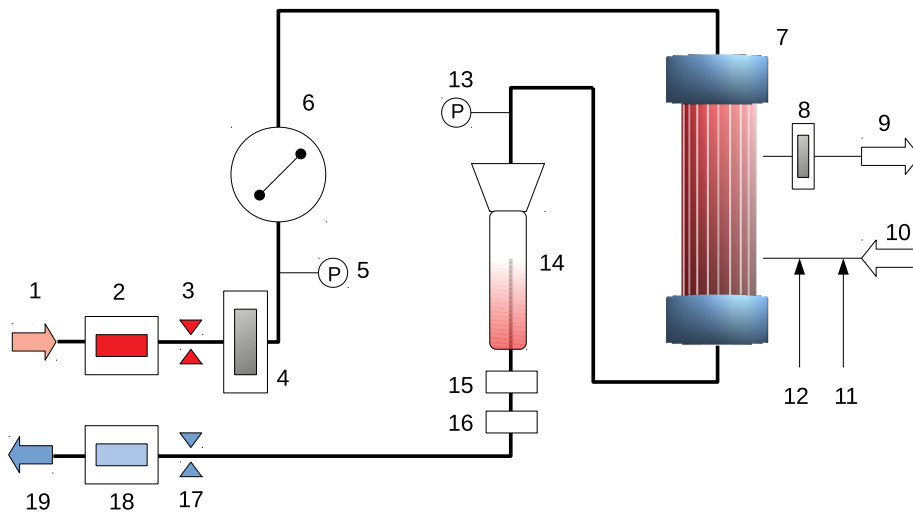


Figura 1.3: Elementos más importantes del sistema de diálisis. 1) sangre proveniente del paciente. 2) sensor de temperatura arterial. 3) clamp arterial. 4) medidor de hematocrito. 5) sensor de presión arterial. 6) bomba peristáltica. 7) hemodializador. 8) sensor de turbidez. 9) desagüe de permeado. 10) admisión de agua purificada. 11) admisión concentrado ácido. 12) admisión bicarbonato. 13) sensor de presión venosa. 14) cubeta atrapaburbujas. 15) detector óptico. 16) detector de microburbujas. 17) clamp venoso. 18) sensor de temperatura venosa. 19) retorno al paciente. Adaptado del manual de usuario del sistema de hemodiálisis 5008, N^o de ref. M43 257 1

por el interior de las fibras capilares.

Para obtener un correcto irrigado de las fibras y una distribución óptima del flujo sanguíneo y así mantener una superficie de intercambio homogénea y sin 'zonas muertas', las fibras suelen estar espaciadas mediante unos filamentos sólidos (*space yarns*) o estar dispuestas con una ligera ondulación (disposición Moiré) (67, 68).

1.4.2.1. Propiedades estructurales

Según el proceso de fabricación (69), las fibras capilares obtienen unas características estructurales muy concretas que tendrán relación directa con sus propiedades depurativas. Las más relevantes se describen a continuación:

Radio interno del capilar, (r_c) Denominado también luz o lúmen, tiene un valor alrededor de $100 \mu\text{m}$. El control preciso de este parámetro determinará en gran medida la depuración de moléculas de tamaño medio (70).

Radio de poro, (r_p) Es el radio promedio de todos los poros ubicados en la sección estructural de la membrana que actúa de barrera separadora. Su rango habitual es de 2 a 5 nm, valor muy similar a las aperturas de la membrana basal glomerular.

Grosor de la pared capilar, (Δx) En esta zona se extiende la estructura porosa tridimensional donde tiene lugar el intercambio de solutos. Suele tener un grosor de entre 15-100 μm (71) y puede presentar una distribución homogénea (membrana simétrica) o una estructura porosa variable (membrana asimétrica), donde una delgada lámina normalmente de entre 1-5 μm actúa de barrera separadora (*skin layer*) mientras que el resto del grosor ofrece estabilidad estructural (*stroma*), tal y como se muestra en la Figura 1.4.

Porosidad, (A_k) Área total de los poros de la barrera separadora por unidad de superficie. Se trata de una medida de ausencia de material y se puede calcular mediante:

$$A_k = \frac{N\pi r_p^2}{A}, \quad (1.1)$$

donde N es el número total de poros y A la superficie total de la membrana.

Hidrofobia Representa la energía superficial de un material y está relacionada con la afinidad de la membrana a interactuar con la polaridad del agua, dando lugar a dominios de alta o baja interacción. Se determina mediante la medida del ángulo de contacto (72, 73).

A) Poly(methyl methacrylate) (Toray Medical)



B) Helixone (Fresenius Medical Care)

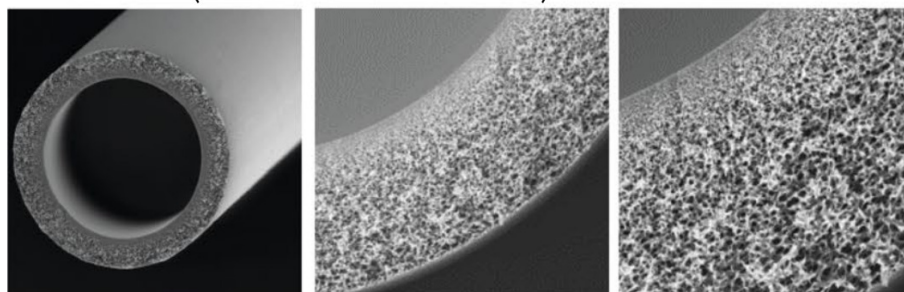


Figura 1.4: Imágenes tomadas por microscopio electrónico (SEM) de: **A)** una fibra capilar de estructura simétrica y **B)** estructura asimétrica. Adaptado de C. Ronco y W.R. Clark. Haemodialysis membranes. Nature Reviews Nephrology, 14(6):394–410, 2018 (con permiso de reproducción).

Tortuosidad, (τ) Idealmente el poro se considera como un canal cilíndrico y rectilíneo que atraviesa el grosor de la pared capilar. En realidad, este canal puede contener ciertas torsiones, incrementando la longitud efectiva (L) y la resistencia al paso de las moléculas que transitan por su interior (74, 75). Por ello el concepto de tortuosidad se define como:

$$\tau = \frac{L}{\Delta x} \quad (1.2)$$

Permeabilidad hidráulica, (L_p) Capacidad de un fluido de viscosidad μ de atravesar la membrana por unidad de área. Está relacionada con los parámetros estructurales anteriormente descritos de la siguiente manera (76, 77):

$$L_p = \frac{r_p^2 A_k}{8\mu\tau\Delta x} \quad (1.3)$$

Potencial Z, (ζ) La composición química de la fibra caracterizará un potencial eléctrico o carga eléctrica superficial que influirá en la interacción electrostática entre la membrana y los solutos que circulan por su interior (78, 79).

Coefficiente de reflexión de Staverman, (σ) Parámetro que indica la interacción entre soluto y membrana según la relación entre el radio de la molécula (r_s) y el radio de poro. Tiene un valor comprendido entre 0 y 1, estableciendo 0 el valor de nula reflexión (o total permeabilidad). Para un poro cilíndrico se puede calcular mediante (80):

$$\sigma = \left(1 - \left(1 - \frac{r_s}{r_p} \right)^2 \right)^2 \quad (1.4)$$

Para ofrecer una visión más clarificadora, algunas de las características estructurales anteriormente mencionadas se encuentran detalladas en el esquema propuesto en la Figura 1.5.

1.4.2.2. Principios físicos y mecanismos de transporte

Una vez descritas las propiedades estructurales esenciales de las fibras capilares, es pertinente describir los principios físicos que permiten el transporte e intercambio de solutos a través de las estructuras porosas de las paredes capilares. En esencia, existen cuatro mecanismos principales de transporte: difusión, ultrafiltración (también denominada convección), ósmosis y adsorción.

Difusión El intercambio de solutos se produce exclusivamente por la diferencia de concentración (o gradiente) entre la sangre (cargada de toxinas) y el baño de diálisis (libre de estas) creando un flujo neto de soluto, J_s , desde el interior hacia

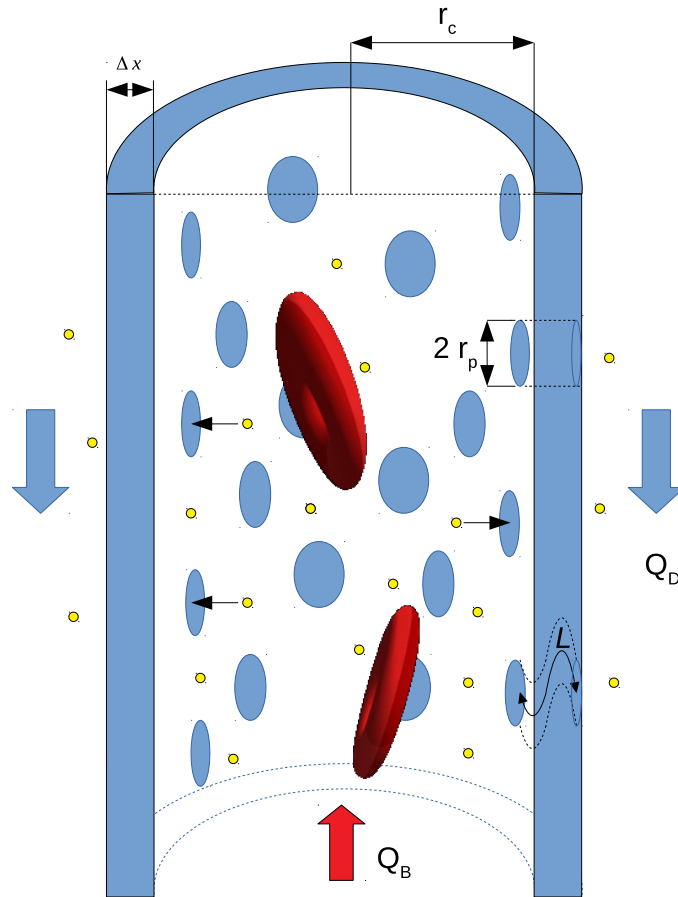


Figura 1.5: Esquema de la sección sagital de una fibra capilar simétrica donde se detallan las diferentes características estructurales. Los poros están representados por círculos azules. Nótese, además, la esquematización de un poro ideal y uno con tortuosidad. Se ha añadido la representación de moléculas pequeñas como la urea (en amarillo) y eritrocitos (en rojo) así como los flujos de sangre (Q_B) y de dializado (Q_D).

el exterior de la membrana capilar. Este fenómeno está descrito por la ley de Fick (81) mediante la relación:

$$J_s = -D_s \frac{\Delta C}{\Delta x}, \quad (1.5)$$

donde D_s es el coeficiente de difusión del soluto en el medio (que depende de la temperatura, de la viscosidad del medio y del tamaño del soluto), mientras que $\frac{\Delta C}{\Delta x}$ es el gradiente de concentración en el grosor de la pared capilar. El signo negativo denota el flujo en sentido de mayor a menor concentración (habitualmente del interior hacia el exterior).

Ósmosis Es un tipo de transporte difusivo. A diferencia de la difusión, la ósmosis está provocada por los solutos que no pueden atravesar la membrana semipermeable. Debido a esto, un flujo volumétrico es inducido en sentido opuesto (hacia el interior del capilar) para restablecer el equilibrio termodinámico del sistema e

igualar las concentraciones. Se describe mediante:

$$J_{vo} = -\sigma L_p R_{gs} T \Delta C, \quad (1.6)$$

donde R_{gs} y T son la constante de gases y la temperatura respectivamente.

Ultrafiltración Es una modalidad de transporte convectivo producido por la sobrepresión ejercida en el lumen de los capilares de la membrana a fin de promover la extracción de un importante volumen de agua plasmática que llevará consigo asociada una depuración de toxinas por arrastre. Se describe mediante la ley de Darcy:

$$J_{vu} = L_p \Delta P, \quad (1.7)$$

donde ΔP es la presión hidrostática ejercida sobre el capilar, es decir, la diferencia entre la presión en el compartimento de sangre, P_B , y de dializado P_D . Esta ultrafiltración provocará a su vez un desequilibrio de concentraciones proteicas que dará lugar a la presión oncótica (π). Así, el balance global de presiones (presión transmembrana o PTM) a la que se ve sometido el capilar se puede expresar como:

$$PTM = \Delta P - \pi = P_B - P_D - \pi \quad (1.8)$$

Matemáticamente, los mecanismos de difusión, ultrafiltración y ósmosis se pueden unificar en las ecuaciones de transporte a través de un sistema poroso propuestas por Kedem y Katchalsky (82, 83):

$$\begin{aligned} J_v &= L_p \Delta P - \sigma L_p R_{gs} T \Delta C \\ J_s &= C_M (1 - \sigma) J_v + D_s \frac{\Delta C}{\Delta x}, \end{aligned} \quad (1.9)$$

siendo C_M la concentración promedio en el grosor de pared capilar Δx .

Adsorción Además de los mecanismos anteriores, la interacción entre la sangre y la intrincada estructura porosa de un material exógeno, como es la membrana de hemodiálisis, da lugar a un proceso dinámico de depósito (reversible o irreversible) de diferentes componentes sanguíneos sobre la superficie interna de los capilares (84). Esta interacción está gobernada por diversos parámetros como el material del capilar, el tamaño de poro y la porosidad, el pH, la carga eléctrica superficial y el tamaño de las diferentes moléculas (85).

1.4.2.3. Propiedades macroscópicas

Algunas de las características más relevantes descritas en el apartado anterior tienen su magnitud homóloga como propiedad global o integrada para toda la superficie de la membrana y suelen reportarse en las hojas técnicas de los hemodializadores facilitados por el fabricante. Esto es especialmente útil ya que permite seleccionar de antemano el hemodializador con las características operativas óptimas según las modalidad de tratamiento en la cual será empleado. Las más relevantes se detallan a continuación:

Coefficiente de ultrafiltración, (K_{uf}) Capacidad de la membrana de extraer un flujo acuoso según la presión transmembrana ejercida. Es el valor integrado de L_p para toda la superficie del hemodializador. Se calcula como el cociente entre el flujo de ultrafiltración obtenido en función de la presión transmembrana ejercida (86, 87), mediante la relación 1.10

$$K_{uf} = \frac{Q_{UF}}{PTM} \quad (1.10)$$

El coeficiente K_{uf} permite identificar inmediatamente el rango operativo de un hemodializador de acuerdo con la capacidad extractiva de agua plasmática del paciente, considerando 20 mL/h/mmHg/m² como el valor que distingue membranas de alta y baja permeabilidad hidráulica (88, 89).

Coefficiente de cribado o *sieving*, (S) Es la capacidad potencial de una molécula de atravesar la pared porosa del capilar expresado como valor adimensional entre 0 y 1, donde la unidad indica una permeabilidad total. En la literatura se pueden encontrar hasta cuatro maneras diferentes de definirlo si bien todas ellas se basan en la ratio de concentraciones a ambos lados de la pared capilar (90, 91).

$$\begin{aligned} S &\approx 1 - \sigma \\ S &= \frac{C_{Do}}{C_{Bi}} \\ S &= \frac{2C_{Do}}{C_{Bi} + C_{Bo}} \\ S &= \frac{C_{Do}}{\sqrt{C_{Bi} \cdot C_{Bo}}}, \end{aligned} \quad (1.11)$$

siendo C_{Do} , C_{Bi} y C_{Bo} las concentraciones de la molécula en el lado de dializado y la entrada y salida del filtro en el compartimento sanguíneo respectivamente.

Las propiedades de cribado de una membrana estarán estrechamente relacionadas tanto con el tamaño de poro como la porosidad (i.e., la distribución y homogeneidad de los poros). En este sentido una distribución muy regular de poros del mismo tamaño dará lugar a una membrana con marcada caída en su capacidad de cribado, mientras que una distribución mucho más irregular, tendrá el efecto de

ensanchar esta línea de caída, reduciendo la selectividad de dicha membrana (92).

Además, esta relación entre tamaño y distribución de poros dará lugar al punto de corte o *cutoff*, que es el peso molecular estimado de las moléculas con poca probabilidad de atravesar la membrana, atribuido a un valor de cribado inferior o 0.1 ($S < 0.1$) (93). Cabe destacar que la fabricación de las membranas de hemodiálisis está en constante evolución a fin de obtener un perfil depurativo lo más semejante a la barrera basal glomerular (Figura 1.6) y por tanto, conseguir unas propiedades depurativas lo más cercanas al riñón nativo.

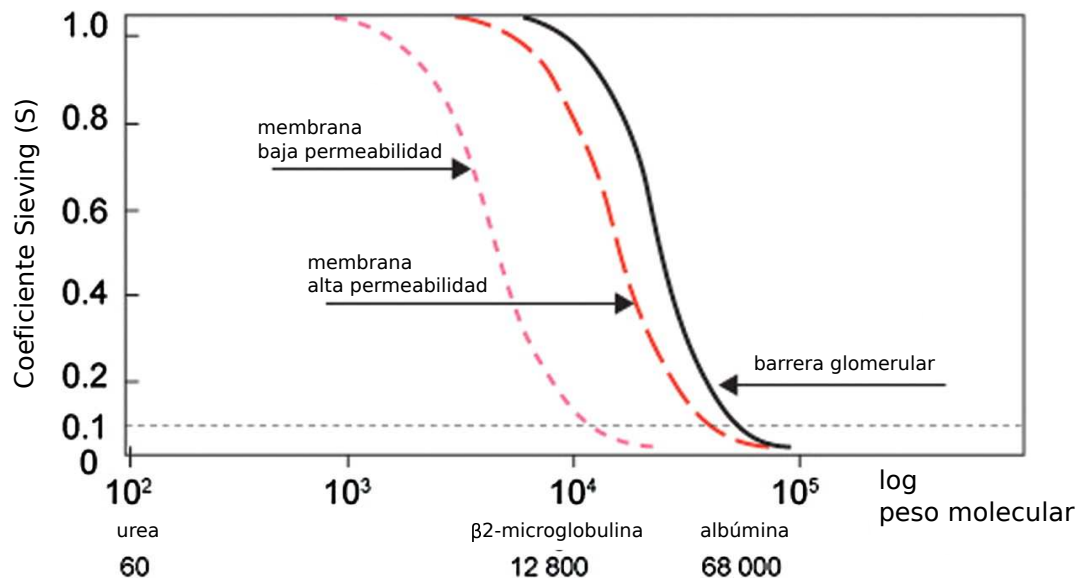


Figura 1.6: Perfiles de cribado en un amplio rango de pesos moleculares para membranas de hemodiálisis de diferente permeabilidad y la barrera basal glomerular. I. Ledebø & P. Blankestijnen. Haemodiafiltration—optimal efficiency and safety. NDT Plus, 3(1):8–16, 2010 (con permiso de reproducción).

Aclaramiento, (K) Se define como el cambio de concentración de un soluto en el dializador en relación a los flujos de sangre, dializado y ultrafiltrado. Se calcula mediante el balance de masa siguiente:

$$K = \underbrace{Q_B \frac{(C_i - C_o)}{C_i}}_{Dif.} + \underbrace{Q_{UF} \frac{C_o}{C_i}}_{Conv.} \quad (1.12)$$

Se puede observar como la ecuación 1.12 está diferenciada en un coeficiente difusivo y uno convectivo. En realidad estos dos componentes no actúan de manera independiente y suelen interferirse entre ellos.

Así, el aclaramiento K se puede describir alternativamente (94) como:

$$\begin{aligned} K &= K_{Dif.} + Q_{UF} \cdot T_R \\ T_R &= S(1 - K_{Dif.}/Q_B), \end{aligned} \quad (1.13)$$

donde $K_{Dif.}$ es el aporte difusivo, explicitado en la relación 1.12, S es el coeficiente de cribado y T_R el coeficiente de transmitancia. Es directo comprobar que si la relación $K_{Dif.}/Q_B$ tiene valores relativamente bajos, el coeficiente de transmitancia tendrá un valor aproximado de $T_R \simeq S \cdot Q_{UF}$.

Hay que resaltar que cuando se consideran solutos cuya concentración incidente en el baño de diálisis no es nula (e.g., electrólitos u otros componentes), la relación 1.12 se modifica ligeramente para considerar estos solutos, dando lugar al concepto general de dialisancia (D). En el Anexo 1 se incluye el desarrollo formal de la relación de dialisancia para un hemodializador con flujos de sangre y dializado en contrasentido.

Además, en la relación 1.12 aparece destacado el flujo de sangre Q_B . Es pertinente puntualizar aquí que el valor de Q_B debe ser considerado como una disolución coloidal, donde solo la parte plasmática tiene capacidad de interaccionar con la membrana y por tanto ser depurada. Por este motivo, tanto el hematocrito (Ht), la fracción acuosa de proteínas plasmáticas (F_P) y de glóbulos rojos (F_R) se substraen de este flujo, ya que no participan activamente en la depuración, por lo que se define un flujo efectivo Q_E descrito como (95–97):

$$Q_E = Q_B \left[F_P - \frac{Ht}{100} (F_P - F_R \gamma R_D) \right], \quad (1.14)$$

donde γ representa el coeficiente de resistencia que algunas sustancias presentan a atravesar la membrana eritrocitaria (siendo $\gamma=1$ para resistencia nula) y el factor R_D considera el efecto Donnan para la posible acción de partículas con carga eléctrica. Si bien todos los parámetros de la ecuación anterior tienen cierta variación, se suele establecer que la fracción de proteínas plasmáticas es del 6 %, i.e. $F_P=0.94$.

Coefficiente de transferencia de masa, (K_0A) Es una característica de transferencia pasiva de cada membrana y soluto y se define como el producto de la permeabilidad de la membrana hacia un soluto determinado (K_0) y el área total. Su valor se calcula en función del aclaramiento experimental (1.12) obtenido según los flujos de sangre y dializado empleados (98):

$$K_0A = \frac{Q_D Q_B}{Q_B - Q_D} \ln \left[\frac{1 - \frac{K}{Q_B}}{1 - \frac{K}{Q_D}} \right] \quad (1.15)$$

En particular, las hojas técnicas de los hemodializadores suelen informar del valor K_0A para la urea, ofreciendo un indicador de depuración para solutos de pequeño tamaño. La relación 1.15 está deducida suponiendo flujos de sangre y dializado en sentidos opuestos y se puede consultar su desarrollo en el Anexo 1.

1.4.2.4. Biofísica del hemodializador

Para analizar en detalle las propiedades depurativas de las membranas de diálisis, hay que resaltar algunos aspectos básicos que aparecen de la interacción de la sangre con las fibras capilares.

1.4.2.4.1. Propiedades de la sangre y reología La sangre como fluido se puede considerar una matriz coloidal formada mayoritariamente por eritrocitos, leucocitos y plaquetas, todos ellos suspendidos en plasma como fase líquida. La composición tan heterogénea de la sangre le otorga propiedades reológicas complejas que tienen un impacto importante en su dinámica como fluido en el interior de los capilares del hemodializador.

Por ejemplo, el flujo volumétrico y laminar de un fluido viscoso e incompresible (viscosidad constante) en el interior de una cavidad cilíndrica o capilar, Q_b , se describe mediante la ley de Hagen-Poiseuille como (99–101):

$$Q_b = \frac{\pi r_c^4}{8\mu\Delta l} \Delta P_i, \quad (1.16)$$

siendo Δl la longitud y ΔP_i la diferencia de presión entre los extremos para un capilar. De aquí se deriva la velocidad de propagación, descrita mediante un perfil parabólico en función de la distancia al eje de propagación

$$v(r) = \frac{\Delta P_i}{4\mu\Delta l} (r_c^2 - r^2). \quad (1.17)$$

Toda esta formulación solo es aplicable a fluidos incompresibles (o newtonianos), donde μ es una constante. En el caso de la sangre, tales simplificaciones no son asumibles por diversos factores. En primer lugar, la velocidad de deformación de la sangre no es linealmente proporcional a la fuerza de cizalladura aplicada (*shear force*). Esto es debido a que su viscosidad depende la viscosidad plasmática (μ_p) (102), el hematocrito (Ht) (103) y de la temperatura (104). Esta dependencia provocará que el perfil de velocidades difiera de la suposición parabólica (105).

Además de lo anterior, los eritrocitos tienden a aglomerarse hacia el eje del movimiento cuando la sangre fluye por capilares de radio inferior a $500 \mu m$ (efecto Fåhræus (106)), desplazando el plasma hacia las paredes. Este fenómeno está directamente relacionado con el efecto Fåhræus-Lindqvist (107, 108) que describe la variación de la viscosidad aparente de la sangre al circular por capilares de entre $10\text{-}1000 \mu m$ (Figura 1.7).

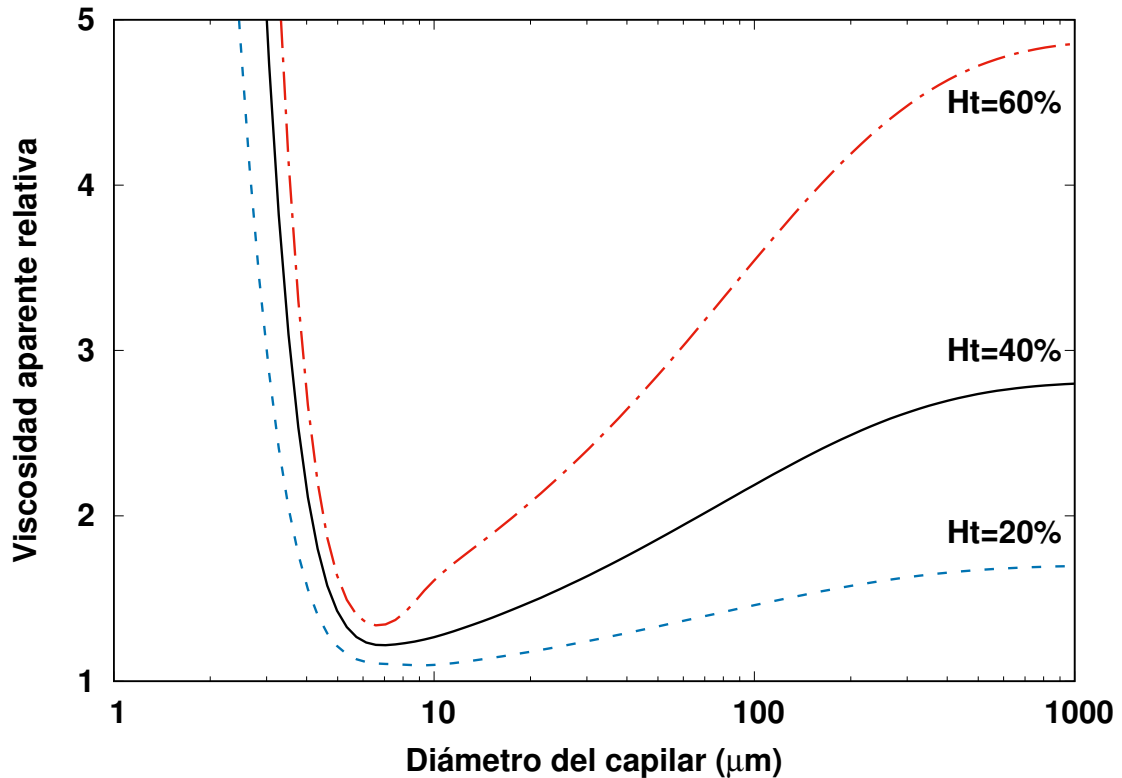


Figura 1.7: Variación de la viscosidad aparente de la sangre en función del diámetro del capilar y del hematocrito, ilustrando el fenómeno Fåhræus-Lindqvist.

Todo lo anterior pone de manifiesto los importantes efectos de frontera que repercutirán en la interacción entre el plasma sanguíneo y la paredes capilares dando lugar, entre otros fenómenos, a la formación de un gradiente de polarización proteica (*concentration polarization*) y posterior formación de una vaina proteica (*protein cake*) que promoverá la constricción u obstrucción de los poros, especialmente provocado por moléculas suficientemente grandes, es decir, con un valor $S \sim 0$ y por consiguiente, mayor dificultad para atravesar la pared capilar.

1.4.2.4.2. Modelos de obstrucción de poros Uno de los aspectos a destacar de todos los procesos de filtración de soluciones coloidales es la inevitable obstrucción paulatina de los poros que conforman la membrana utilizada. La descripción formal de este proceso relaciona la reducción en el flujo volumétrico ultrafiltrado, $J_v = \frac{dv}{dt}$, según la configuración en que se realice el depósito de partículas en la estructura porosa (109–111).

Según los diferentes modelos teóricos, existen hasta cuatro posibles regímenes de obstrucción (Figura 1.8) según los sitios preferenciales de depósito de moléculas en el entramado poroso de la membrana. A continuación se detallan de manera simplificada los diferentes procesos obstructivos.

Bloqueo total. El bloqueo total (*complete blocking*, Figura 1.8 a) consiste en la obstrucción completa de la entrada al canal poroso por moléculas de tamaño mucho mayor a 2 veces r_p , impidiendo tanto la extracción de un flujo volumétrico como el acceso a otras partículas. Se puede considerar matemáticamente un modelo inyectivo de bloqueo, ya que asume que cada partícula obstruye un poro diferente.

Bloqueo estándar. Es un mecanismo de obstrucción por constricción del poro (Figura 1.8 b) mediante el cual, las partículas de menor tamaño son capaces de depositarse en el interior del canal poroso, reduciendo su radio aparente y por tanto su capacidad de filtrado.

Bloqueo intermedio. Este mecanismo supone que no todas las partículas con capacidad de adhesión lo hacen sobre los canales porosos disponibles, sino que existe una probabilidad de adherirse a otras moléculas ya depositadas (Figura. 1.8 c), indicando un modelo de obstrucción no individual sino cooperativo. Se podría asumir como un modelo matemáticamente exhaustivo de bloqueo.

Formación de gel. En el caso de la formación de una capa de gel proteico, (*protein cake*, Figura 1.8 d) toda la superficie interna de la membrana se encuentra obstruida por una gruesa película de moléculas adheridas, reduciendo drásticamente el filtrado, siendo este únicamente posible entre los pequeños canales disponibles.

Los cuatro mecanismos de obstrucción anteriores se pueden obtener basándose en un planteamiento matemático formal, describiendo la reducción del flujo volumétrico en función del número de poros accesibles o la constricción de estos (112). Sorprendentemente, estos mecanismos se pueden resumir matemáticamente en una sola ecuación:

$$\frac{d^2t}{dv^2} = k_o \left(\frac{dt}{dv} \right)^n, \quad (1.18)$$

donde k_o es la constante de obstrucción o resistencia y n indica el valor del régimen de bloqueo ($n=0$ para bloqueo total, $n=1$ para bloqueo intermedio, $n=1.5$ para bloqueo estándar y $n=2$ para la formación de gel).

Cabe resaltar que toda la formulación anterior es válida para fluidos newtonianos y con la suposición de poros sin tortuosidad.

1.4.2.5. Materiales de hemodializadores comerciales

Si bien ha habido una evolución de los materiales utilizados en su elaboración, las membranas usadas actualmente se pueden clasificar en dos grandes grupos según el material del que están compuestas principalmente sus fibras capilares (113). Cada distribuidor ofrece hemodializadores con diferentes prestaciones (y nombre comercial, Tabla 1.2) a fin de cubrir la posible demanda.

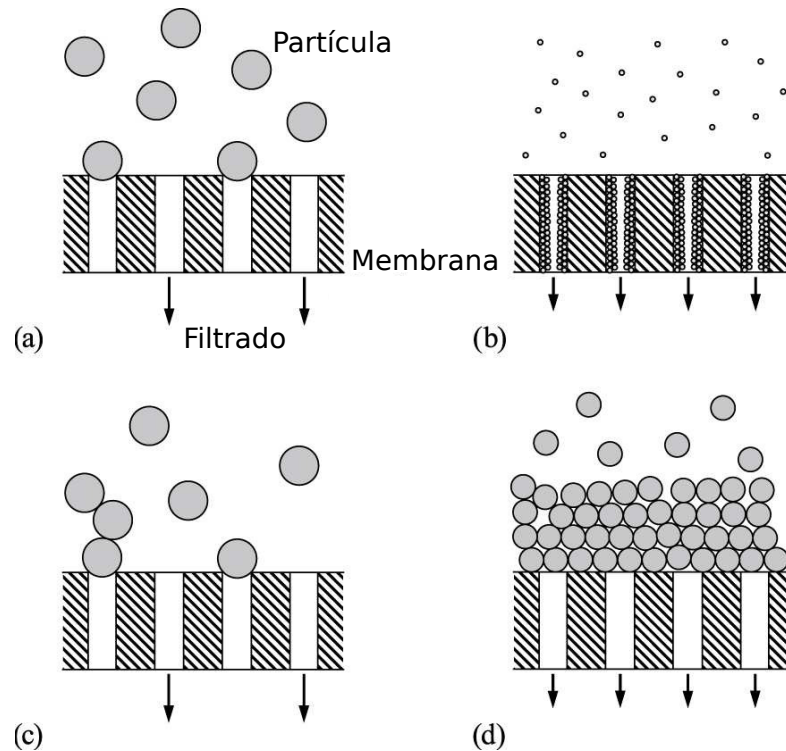


Figura 1.8: Esquematización de los posibles modelos de obstrucción de poros. a) bloqueo total, b) bloqueo estándar, c) bloqueo intermedio, d) formación de gel proteico. Adaptado de E. Iritani & N. Katagiri. *Developments of Blocking Filtration Model in Membrane Filtration*. KONA Powder and Particle Journal, 33:179–202, 2016 (con permiso de reproducción).

Membranas celulósicas. Históricamente fueron las primeras en utilizarse debido a la experiencia de la industria textil en el hilado de fibras de algodón. Partiendo de celulosa sin modificar, las subsiguientes evoluciones se han obtenido de acuerdo con la sustitución de radicales hidroxilo por grupos acetilo, obteniendo diacetatos y triacetatos de celulosa (TAC) (114) respectivamente. Las actuales fibras de TAC presentan un comportamiento altamente hidrofílico y suelen tener un grosor de capilar de $15\ \mu\text{m}$ con estructura simétrica (115). Sin embargo, la mejora en el proceso de fabricación ha permitido la obtención de fibras celulósicas asimétricas (TACA) con mejor soporte estructural y propiedades depurativas optimizadas (116).

Membranas sintéticas. A diferencia de las membranas de procedencia celulósica, los capilares de origen sintético se obtienen a partir de la polimerización de una disolución precursora (117). Existen una gran variedad de polímeros con características diferenciadas comercializados por diferentes proveedores. De entre ellos destacan los siguientes:

Poliacrilonitrilo, (PAN) Se caracteriza por haber sido la primera membrana sintética en ser desarrollada. Tiene estructura simétrica y alta capacidad de adsorción debido a su carga eléctrica ($\zeta = -70\ \text{mV}$). Esta

electronegatividad se ha asociado también con la alteración de marcadores inflamatorios mediante la activación del sistema calicreína-cinina y la producción de bradicinina en el dializador AN69[®] de HospalTM (118). El tratamiento de esta membrana mediante el depósito de una capa de polietilenimina, reduce drásticamente su potencial ζ además de fijar heparina a la estructura, opción de anticoagulación interesante en terapias continuas (119).

Polimetilmetacrilato, (PMMA) La unión de polimetilmetacrilato isotáctico y sindiotáctico da lugar al material con que se elabora la membrana simétrica BG-2.1U[®] de TorayTM, que presenta alta adsorción de proteínas, citocinas y β_2 microglobulina (120), si bien ha mostrado también una no negligible adhesión de plaquetas (121).

Polisulfona, (PS) La polisulfona es un polímero con propiedades muy interesantes para su uso como membrana de diálisis debido a su biocompatibilidad (122), resistencia mecánica a todos los tipos de tratamiento así como la capacidad de ser esterilizada mediante varios métodos (123). Se utiliza como co-polímero de un gran abanico de derivados (polietersulfona, PES, o poliariletersulfona, PAES, entre otros). De entre los múltiples proveedores de este tipo de membranas, Fresenius Medical CareTM ofrece la gama Fx-Cordiax, cuyas propiedades depurativas han sido optimizadas con la obtención de capilares asimétricos compuestos por una delgada capa interna de 1 micra y alta homogeneidad en el tamaño de poro debido a su proceso de nanoestructurado (124), seguida de 34 μm de una estructura esponjosa que otorga estabilidad estructural (125) dando lugar, entre ellas, a la membrana Fx-1000 Cordiax[®] con excelentes prestaciones (126).

Poliamida, (PA) La poliamida se utiliza como copolímero en los hemodializadores Polyflux-210H[®] comercializados por GambroTM. En concreto, el material del que está compuesto esta membrana es una aleación de poliamida y poliariletersulfona, dando lugar a una membrana asimétrica de tres regiones diferenciadas (127, 128) con un diámetro promedio de 40 nm por poro y baja porosidad, cuyo grosor de capilar es de unas 45 micras (129).

Hay que mencionar que la gran mayoría de membranas sintéticas son inherentemente hidrofóbicas. Por ese motivo todas incorporan un agente hidrofílicador al material intrínseco de la membrana, comúnmente la polivinilpirrolidona (PVP).

Tabla 1.2: Características estructurales y operacionales de los hemodializadores más relevantes descritos en la sección 1.4.2.5. Los valores mostrados se han obtenido tanto de las hojas técnicas de los hemodializadores como de las referencias mostradas.

	Nombre comercial			
	BG-2.1U ¹ (PMMA)	FX1000-Cordiax ² (PS)	Sureflux21UX ³ (TAC)	Polyflux-210H ⁴ (PA)
Estructura	Simétrica	Asimétrica	Simétrica	Asimétrica
$2r_c$ (μm)	200	210	200	215
Δx (μm)	30	35	15	50
r_p (nm)	7	3.3 [†]	7.2 [§]	20 [‡]
A (m^2)	2.1	2.3	2.1	2.1
S_{β_2-m}	-	0.9	-	0.82
$S_{mioglobina}$	-	0.5	0.625	0.37
ζ (mV) [*]	-25	-5	-20	-
Kuf ($mL/h \cdot mmHg$)	41	76	46	85

¹ <https://www.toray-medical.com/en/products/dialysis>.

² [http://fmc-au.com/pdf/machines/FX %20CorDiax.pdf](http://fmc-au.com/pdf/machines/FX%20CorDiax.pdf).

³ <https://www.nipro-group.com/en/products-services/surefluxtm>.

⁴ <https://renalcare.baxter.com/products/polyflux-h>.

[§] Ref. (115).

[†] Ref. (124).

[‡] Refs. (128, 129).

^{*} Adaptado de la Ref. (118).

1.4.3. Marcadores de eficiencia depurativa y dosis de hemodiálisis

Además de las propiedades intrínsecas de las membranas de hemodiálisis, es fundamental validar marcadores de eficiencia para poder evaluar la eficacia depurativa del tratamiento de hemodiálisis en el paciente. En este sentido hay dos parámetros fundamentales que se emplean en la práctica clínica.

Tasa de reducción, (RR) La tasa de reducción o *reduction ratio* es un sencillo índice que relaciona la concentración sérica inicial (C_{pre}) y final (C_{post}) en el paciente para un determinado soluto. Se calcula como:

$$RR = \frac{C_{pre}}{C_{post}} \quad (1.19)$$

Este índice se usa muy extensamente ya que permite determinar de manera simple en qué medida se ha reducido la concentración de una sustancia en sangre. Además se puede emplear para la comparación directa de eficiencias depurativas entre diferentes configuraciones de tratamiento. Sin embargo presenta dos claros inconvenientes. En primer lugar no considera la posible redistribución de

fluidos al finalizar el tratamiento dialítico. Por ello, los valores C_{post} para moléculas de mediano y alto PM suelen corregirse mediante la relación establecida por Bergström y Wehle (130). Además, este índice ofrece una información muy fragmentada del rendimiento depurativo de un tratamiento ya que reporta valores individuales para cada molécula. Hasta la fecha no hay un marcador sencillo que aúne las propiedades depurativas en un amplio rango de pesos moleculares.

Dosis de diálisis, (Kt/V_{urea}) El producto entre el aclaramiento (K), el tiempo de diálisis (t) y su división por el volumen de distribución de la urea (V_{urea}) permite calcular un parámetro adimensional que se ha mantenido en uso durante décadas como el estándar de dosis de la diálisis (131). Este valor indica la fracción del volumen de distribución de urea completamente depurado. El cálculo de este parámetro se obtiene de las ecuaciones propuestas por Daugirdas (132) sobre la base de las concentraciones pre y post tratamiento (ecuación 1.20) y tiene en consideración el catabolismo proteico, (PCR), relacionando la ingesta de proteínas con la generación de urea (133–136).

$$Kt/V_{urea} = -\ln \left(\frac{C_{pre}}{C_{post}} - 0,008t \right) + \left(4 - 3,5 \frac{C_{pre}}{C_{post}} \right) \frac{UF}{W} \quad (1.20)$$

En la ecuación anterior, los valores de C_{pre} y C_{post} son las concentraciones de urea al inicio y al final del tratamiento, t es el tiempo de diálisis (en horas), UF es la pérdida de volumen o ultrafiltración y W es el peso post-diálisis (peso seco o teórico). Aún así, cabe señalar que esta formulación puede depender del acceso vascular propuesto (137). Además, se ha estimado clínicamente que la concentración de urea se re-equilibra entre tejidos aproximadamente a los 30 minutos de terminar el tratamiento (138). Para corregir las posibles interferencias en el cálculo, se propuso el parámetro equilibrado de Kt/V_{urea} (o eKt/V) utilizando como medida C_{post} la concentración de urea una vez transcurrido este tiempo de equilibrio (139–141).

En el ámbito de la aplicación clínica, las recomendaciones derivadas del estudio HEMO (142), precisaban de un valor de Kt/V_{urea} superior a 1.2 (143) para garantizar una adecuada dosis de diálisis en pacientes con regímenes de 3 sesiones por semana, valor que sigue vigente en la actualidad (144). Recientemente y debido al uso de membranas y modalidades de diálisis cada vez más eficientes, algunos autores plantean la evolución de este parámetro como indicador de dosificación (145–147) ya que no ofrece información de la eficiencia depurativa de moléculas de mediano y alto peso molecular.

En referencia al parámetro Kt/V_{urea} , cabe resaltar que algunos proveedores de sistemas de diálisis ofrecen en sus monitores diversas técnicas no invasivas para

determinar su valor en tiempo real. En este sentido, el sistema OCM[®] (Online Clearance Monitor) (148) de Fresenius Medical Care utiliza dos sondas para medir la conductividad del cloruro de sodio (NaCl, peso molecular 58 Da) y así determinar su dialisancia en el líquido de diálisis. Al tener un tamaño aproximado a la urea (60 Da) se les asocia un aclaramiento similar. En el caso de los monitores de BBraun, un espectrómetro calibrado de ultravioleta (Adimea[®]) registra continuamente la absorbancia de un haz de luz permitiendo así determinar la cantidad de urea presente en el líquido de diálisis efluente (149). Estos sistemas permiten la obtención experimental del valor K , que junto con el tiempo de tratamiento transcurrido t y el volumen de distribución V_{urea} , obtenido de datos antropométricos del paciente, permite el cálculo de Kt/V_{urea} sin necesidad de realizar analíticas en cada sesión de diálisis.

Finalmente cabría puntualizar en este apartado que algunos autores sugieren el empleo del factor Kt y no de Kt/V_{urea} como marcador más robusto de dosis de diálisis debido a la intrínseca incertidumbre añadida en la medida del volumen de distribución de la urea (150, 151).

1.4.4. Modalidades de hemodiálisis

Existe una amplia variedad de modalidades de administración del tratamiento dialítico, ya sea para un paciente agudo o crónico mediante terapias continuas o intermitentes (152–154) cada una con sus ventajas e inconvenientes. Sin embargo, todas estas modalidades tienen un esquema común ya descrito en la Figura 1.3 y sólo se distinguen dependiendo de la aplicación (o no) de un baño de diálisis, del flujo de sangre operativo, del régimen convectivo utilizado o del perfil depurativo de la membrana utilizada. En este sentido existen tres modalidades claramente diferenciadas que son la hemodiálisis de alto flujo (HD), la hemofiltración (HF) y la hemodiafiltración (HDF). Este trabajo hace especial énfasis en las dos modalidades mayormente empleadas en los pacientes crónicos en el centro de *Diàlisi i Recerca Aplicada Clínic (DIRAC)*, que son la HD y la HDF post-dilucional, en un régimen de unas 4 a 5 horas de tratamiento, tres días por semana.

1.4.4.1. Hemodiálisis de alto flujo, HD

En esta modalidad de tratamiento, el intercambio de solutos se produce primordialmente por difusión pasiva entre el compartimento sanguíneo y el baño de diálisis. Así, los parámetros que mas repercusión tienen son los flujos de sangre y de dializado Q_B y Q_D . Como ya se ha comentado anteriormente, la disposición de estos flujos en sentidos opuestos se establece para mantener el gradiente de concentraciones a lo largo del dializador, aprovechando así toda la longitud del capilar en el intercambio (155, 156).

Diferentes estudios se han focalizado también en establecer la relación de los flujos de sangre y dializado sobre parámetros como el K , K_0A , Kt/V_{urea} o la depuración de pequeñas y medianas moléculas (157–159). Estos estudios han dado como resultado que el incremento del flujo de sangre tiene mayor repercusión sobre los marcadores de depuración si bien podría comportar la presencia de microburbujas (160) mientras que un aumento en el flujo de dializado influye modestamente en la depuración de moléculas de mediano peso molecular (161). Hay que resaltar que un incremento en el Q_D produce un significativo consumo de agua por tratamiento. En este sentido, el compromiso entre eficiencia depurativa y coste se establece para una tasa Q_D/Q_B entre 1.2-1.5.

Otros autores han intentado optimizar esta modalidad de tratamiento explotando la variación de variables como la temperatura del dializado y su implicación tanto en la prevención de la hipotensión intradiálisis como sobre la eficiencia depurativa, obteniendo resultados más modestos (162, 163) o incluso mediante la implementación de vibración mecánica con el objetivo de mitigar los efectos obstructivos (164, 165).

Si bien la HD es una modalidad primordialmente difusiva, se precisa la aplicación de una ligera sobrepresión a fin de inducir un flujo de ultrafiltración Q_{UF} necesario para reducir el volumen de sobrehidratación (UF) y controlar la volemia del paciente. En este sentido, los monitores de hemodiálisis permiten establecer perfiles individualizados de la tasa o flujo de ultrafiltración (166, 167).

Por último cabría mencionar que una de las principales limitaciones de la hemodiálisis de alto flujo es su reducida depuración de toxinas urémicas situadas en el rango medio de pesos moleculares (entre 12 y 30 kDa) en comparación con técnicas convectivas como la hemodiafiltración post-dilucional (168–170), siendo esta última, la configuración preferente para un óptimo tratamiento depurativo. Aún así, la reciente incorporación de membranas de mediano punto de corte (*medium cutoff*, MCO) (171–173), con un tamaño de poro incrementado y su implementación en la denominada hemodiálisis extendida (174, 175), ha permitido optimizar el rango de PM de las toxinas eliminadas eficazmente mediante técnicas puramente difusivas, evitando asimismo una excesiva depuración de albúmina (176–178).

1.4.4.2. Hemodiafiltración, HDF

Esta modalidad de tratamiento emplea de manera simultánea difusión y alta convección que promueve una significativa tasa de ultrafiltración, incrementando la depuración de toxinas por arrastre. En este sentido, los capilares son sometidos a una considerable sobrepresión, produciendo un elevado flujo de agua plasmática ultrafiltrada ($Q_{UF} \sim 100$ mL/min). Por ello y a fin de evitar la pérdida excesiva de volemia, un flujo de restitución (flujo de sustitución o de infusión, $Q_i < Q_{UF}$), con la misma composición que el baño de diálisis, se añade al circuito sanguíneo. Esta infusión se puede realizar en alguno de

los tres puntos más relevantes del circuito de sangre; antes de su llegada a la membrana (pre-dilucional) (179), en el interior de la membrana (mid-dilución (180)) o después de su paso por el filtro (post-dilucional), obteniendo el tratamiento post-dilucional, mejores resultados en múltiples estudios en cuanto a depuración de toxinas de medio y alto peso molecular (181–184), así como de toxinas unidas a proteínas (185, 186).

Además, con la finalidad de estandarizar el efecto de la convección en diferentes parámetros clínicos, se definió el concepto de volumen convectivo (CV) que representa el volumen total ultrafiltrado por sobrepresión:

$$CV = Q_{UF} \cdot t = Q_i \cdot t + UF \quad (1.21)$$

Este volumen convectivo se ha propuesto como indicador de supervivencia en los tratamientos de hemodiafiltración y varios ensayos clínicos de importante relevancia (187, 188) han puesto de manifiesto que un CV mayor de 20 L/sesión (189, 190) está asociado a mayor tasa de supervivencia en los pacientes en hemodiálisis.

Así, la consideración de un tratamiento de HDF esta definido por el uso de un hemodializador de alta permeabilidad, i.e., con un $K_{uf} > 20 \text{ mL/h/mmHg/m}^2$ y un coeficiente de cribado $S > 0,6$ para la β_2 -microglobulina además de ofrecer un CV mayor del 20% de la sangre procesada (SP), definida como el producto del flujo de sangre y el tiempo de tratamiento:

$$SP = Q_B \cdot t \quad (1.22)$$

Sin embargo, hay ciertos inconvenientes asociados a la HDF. Uno de ellos supone la significativa depuración o pérdida de albúmina al usar membranas de alto flujo en tratamientos convectivos (191, 192), alterando el balance de esta molécula y pudiendo desencadenar en hipoalbuminemia considerada como predictor de mortalidad (193, 194). Si bien no hay un consenso claro en el máximo tolerable de depuración en tratamientos de diálisis (195, 196), se sugiere que este valor sea inferior a 4 g/tratamiento (197) para un régimen de tres tratamientos semanales.

Además, otro efecto adverso es la sustancial hemoconcentración en el dializador producida por la aplicación de un alto régimen convectivo sobre las paredes capilares, pudiendo desencadenar una elevada ratio de poros obstruidos o incluso la coagulación y colapso del hemodializador (198). Es sencillo analizar el impacto que desempeña la relación entre el flujo de sangre Q_B y el flujo ultrafiltrado Q_{UF} sobre el incremento de hematocrito en la longitud de la membrana de diálisis (199).

En primer lugar, el flujo de ultrafiltración Q_{UF} vendrá descrito, en el caso convectivo, como:

$$Q_{UF} = Q_i + (UF/t) \quad (1.23)$$

Este valor tendrá una repercusión directa sobre la diferencia de hematocritos a la entrada (Ht_i) y salida (Ht_{out}) del hemodializador, descrito mediante (200):

$$Ht_{out} = Ht_i \left(\frac{1}{1 - \frac{Q_{UF}}{Q_B}} \right) \quad (1.24)$$

Cabe resaltar, como ya se ha expuesto en la sección 1.4.2.4.1, que la variación del hematocrito provocará un cambio sustancial de la viscosidad sanguínea y, por tanto, repercutirá en su mecánica como fluido. Por ello, la relación $\frac{Q_{UF}}{Q_B}$ suele estar limitada en los monitores de diálisis a un máximo de 30% por razones de seguridad (201), además de evitar la hiperviscosidad (202, 203).

En este sentido, los efectos producidos por la hemocentración se describen, de manera mucho más detallada, mediante modelos de filtración interna (204–207), pudiendo predecir matemática y experimentalmente los perfiles de hematocrito, proteínas y flujos de sangre, dializado y ultrafiltrado a lo largo del capilar.

1.4.5. Matrices para experimentación *in vitro*

A fin de explorar las propiedades depurativas de los filtros existentes o de evaluar la eficacia de nuevos diseños de membrana, es habitual el empleo de sistemas *in vitro* que permiten someter al hemodializador a parámetros extremos, evitando los posibles riesgos para el paciente. En este sentido, la hemodiálisis simulada o *sham* está constituida habitualmente de un recipiente contenedor donde se añade una matriz cargada de solutos o moléculas de los que se desea obtener su cinética de depuración. Las matrices habitualmente más empleadas se describen a continuación

1.4.5.1. Solución salina

Supone una matriz de sencilla implementación, aplicando una solución isotónica salina donde se añaden las moléculas a estudiar con una concentración inicial determinada. Sus ventajas son: la facilidad de obtención y manipulación, precio asequible e innecesaria anticoagulación. Se ha usado, por ejemplo, para el análisis de la interacción entre el sistema extracorpóreo y endotoxinas (208) y también en medicamentos (209, 210). Un inconveniente es su baja presión oncótica como consecuencia de la nula presencia de proteínas, eritrocitos u otras sustancias que se encuentran en la sangre pudiendo resultar en la sobreestimación de la depuración.

1.4.5.2. Sangre de procedencia animal

Una matriz tradicionalmente muy utilizada es la sangre procedente de animales. En particular, el uso de sangre bovina o porcina como matriz precursora ha sido extensamente utilizada (211–218) para evaluar la eficiencia del sistema extracorpóreo. Sin embargo este tipo de matriz tiene algunas contrapartidas. Las más destacadas suponen su menor trazabilidad en el caso de provenir de mataderos con diferentes protocolos o un coste moderado o elevado si se adquiere de distribuidores certificados para experimentación.

1.4.5.3. Sangrías terapéuticas o flebotomías

El uso de sangre para experimentación procedente de sujetos sanos está muy regulado por los Comités de Ética de cada centro, ya que es totalmente prioritario su implementación en el sistema de salud a fin de obtener todos los derivados sanguíneos útiles en la práctica hospitalaria (eritrocitos, plasma, plaquetas...).

Las flebotomías o sangrías terapéuticas son tratamientos aplicados en diferentes etiologías. En particular, las flebotomías se suelen aplicar habitualmente en pacientes diagnosticados de hemocromatosis (219) (exceso de hierro en sangre) o de poliglobulia (220) (mayor número de eritrocitos de lo normal). El contenido de estas sangrías no está totalmente regulado para uso terapéutico y por tanto se desecha, lo que no impide su uso en sistemas experimentales. Por ejemplo, se ha utilizado este tipo de matrices en la determinación *in vitro* de la interacción entre el sistema extracorpóreo y medicamentos en fase experimental (221). Sin embargo, uno de los posibles inconvenientes de este tipo de matrices es la insuficiente cantidad inicial de toxinas urémicas al ser obtenidas de pacientes sin afectación renal.

1.4.5.4. Restitución de plasma urémico con hematíes expirados

Una opción para los pacientes en espera de trasplante renal y con incompatibilidad hemolítica ABO, es la aplicación de la plasmaféresis terapéutica a fin de reducir significativamente los niveles de anticuerpos y así evitar el rechazo (222). En esta plasmaféresis, la sangre se separa en plasma y componentes celulares, siendo la fracción plasmática (entre 4 y 5 litros) rechazada y restituida a su vez mediante una solución coloidal. Al provenir de un paciente urémico, este plasma contendrá niveles significativos de toxinas urémicas si bien con menor carga proteica (223).

Además, añadiendo un componente eritrocitario se podría obtener una matriz precursora lo más semejante a la sangre de paciente urémico. Una alternativa muy apropiada es el uso de concentrados de hematíes expirados (considerando el límite de expiración cuando la hemólisis del concentrado supera el 0.8% (224) y que dependerá del medio conservante utilizado, siendo de 35 días para la solución citrato, fósforo, dextrosa y adenina, 'CPD-A' (225) y 42 días para salino, adenina, glucosa y manitol, 'SAG-M' (226, 227)).

Por todo lo anterior, la unión de recambios plasmáticos y concentrados de hematíes fuera de plazo para su uso en el circuito asistencial, permite obtener una matriz precursora muy similar a la sangre de paciente urémico, utilizando productos de deshecho o no aptos en la práctica clínica.

1.5. Modelización de la cinética de toxinas urémicas en hemodiálisis

Con la instauración de la hemodiálisis en la práctica clínica habitual surgió entre los nefrólogos las posibles estrategias para optimizar el tratamiento de acuerdo con las diferentes variables disponibles como el flujo de sangre y de dializado, la duración de la sesión o las características del dializador. Para ello se estableció un marco teórico sólido y consistente basado en la formulación de ecuaciones de conservación de masa en sistemas compartimentalizados (228–230) que permitía la predicción de la cinética de depuración global de diferentes moléculas y la eficiencia del tratamiento.

1.5.1. Modelo monocompartimental

El primer modelo riguroso aparece como la descripción cinética aplicada a la urea (231–234), basada en un modelo de un solo compartimento. Este modelo asume el volumen de distribución de la urea (V_{urea}) como el volumen total de agua corporal (aproximadamente un 56 % del peso seco o peso teórico (235)) con una concentración homogénea (C), donde la generación (G) proviene exclusivamente del catabolismo proteico y la depuración se considera (matemáticamente) de primer orden y está representada por dos términos: el aclaramiento del dializador (K_D) y la posible depuración renal residual (K_R).

La variación de la concentración (es decir su cinética de depuración), se puede describir mediante la ecuación de conservación de masa siguiente:

$$\frac{d(VC)}{dt} = G - (K_R + K_D)C \quad (1.25)$$

Asumiendo además una variación negligible de volumen ($dV \sim 0$) y agrupando $K = K_R + K_D$, la solución general es:

$$C(t) = C_0 \exp^{-\frac{Kt}{V_{urea}}} + \frac{G}{K} \left(1 - \exp^{-\frac{Kt}{V_{urea}}} \right), \quad (1.26)$$

donde C_0 es la concentración inicial. La ecuación 1.26 permite calcular la concentración de soluto en cualquier instante de tiempo durante el tratamiento dialítico siempre que se conozca o se estimen los valores de aclaramiento, generación y volumen de distribución. La solución general, asumiendo variación de volumen, se puede consultar en el Anexo 1.

Además, la generación suele ser muy inferior a la depuración de urea, pudiendo asumir entonces $\frac{G}{K} \sim 0$. Por consiguiente es posible simplificar la solución a la expresión:

$$C(t) = C_0 \exp^{-\frac{Kt}{V_{urea}}} \quad (1.27)$$

Esta solución describe la cinética de la urea como una caída exponencial de la concentración marcada por el término $\frac{Kt}{V_{urea}}$ (236).

1.5.2. Modelo bicompartimental

El modelo monocompartimental ha sido exhaustivamente aplicado a la cinética de la urea con relativa exactitud. Esto es debido en gran medida, como ya se ha comentado, a que la urea es una molécula que presenta una rápida redistribución entre tejidos, cuya duración no supera los 30 minutos post-diálisis.

Sin embargo, para otras toxinas, una vez terminada la sesión de diálisis aparece un incremento abrupto de su concentración en sangre. Fisiológicamente, este fenómeno de 'rebote' se atribuye al desequilibrio de concentraciones producido entre los tejidos con fácil acceso a la depuración en el dializador y tejidos que presentan cierta resistencia a la difusión (secuestro) de estas moléculas (237).

En consecuencia, para la descripción del modelo fisiológico propuesto, se precisa la consideración del volumen total de distribución (V_d) compuesto a su vez de dos sub-volúmenes, siendo uno de ellos (V_e) el que tiene acceso a la depuración del dializador K_d , mientras que el otro volumen (V_i) actúa como reserva, aportando solutos por difusión a V_e mediante el denominado coeficiente de paso intercompartimental K_c (Figura 1.9). Este coeficiente representa el promedio de flujo difusivo entre todos los posibles tejidos de reserva para una molécula dada. Además de lo anterior, se puede asumir un término de generación en cada uno de estos sub-volúmenes (G_i y G_e , respectivamente).

Así, el balance de masa del modelo anterior plantea las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \frac{d(V_e C_e)}{dt} &= K_c(C_i - C_e) - \delta K_d C_e + G_e \\ \frac{d(V_i C_i)}{dt} &= -K_c(C_i - C_e) + G_i, \end{aligned} \quad (1.28)$$

donde el parámetro δ toma el valor de 1 o 0 para indicar la actuación (o no) del hemodializador durante la hemodiálisis y la post-diálisis respectivamente. Cabe resaltar que las consideraciones de V_d , V_i y V_e dependerán de cada molécula a simular. Por ejemplo, en el caso de la urea o creatinina, se ha supuesto tradicionalmente el V_d como el volumen de agua corporal y se ha asumido V_i y V_e como los volúmenes intra- y extracelular respectivamente (238–242). Para moléculas como la β_2 -microglobulina, V_d se asume como el volumen extracelular, siendo V_i y V_e el volumen intersticial e intravascular respectivamente (243, 244).

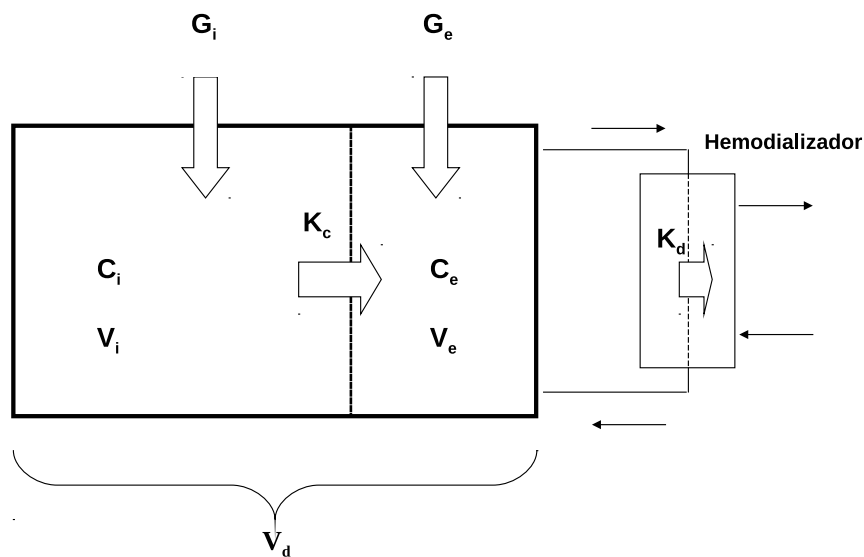


Figura 1.9: Representación esquematizada del modelo bicompartimental.

El modelo bicompartimental permite no solo la predicción del efecto rebote sino además la descripción de su perfil (incremento de concentración respecto C_{post} y duración en el tiempo) para cada molécula a analizar (245–247). Adicionalmente este tipo de modelos han sido empleados también para la estimación de parámetros cinéticos de toxinas con adhesión proteica (248), de antibióticos (249, 250) y otros fármacos (251).

1.5.3. Otros modelos

Como ya se ha detallado, los modelos bicompartimentales han sido utilizados extensivamente como una buena aproximación para estimar la cinética de depuración de una amplia variedad de moléculas durante la hemodiálisis.

Una formulación aún más fisiológica del modelo bicompartimental se puede encontrar en los denominados modelos regionales (RBF). Estos modelos dividen los dos volúmenes asumidos en el modelo bicompartimental según el régimen de perfusión sanguínea de los tejidos (Figura 1.10), ya que permiten considerar órganos con un pequeño porcentaje del volumen de distribución pero que reciben alta perfusión (e.g., corazón, hígado o riñón) y otros órganos de mayor volumen pero con menor irrigación (piel, tejido óseo o muscular), fenómeno que tendrá relación directa con la cinética de depuración (252–254). Además, los modelos RBF permiten añadir como parámetros cinéticos tanto el gasto cardíaco como las recirculaciones cardiopulmonar y del acceso vascular.

La continuación lógica en cuanto a la modelización global de la cinética de toxinas urémicas durante la hemodiálisis supone asumir cada compartimento como una entidad fisiológica. Este planteamiento es *a priori* aplicable (255, 256) pudiendo describir matemáticamente la

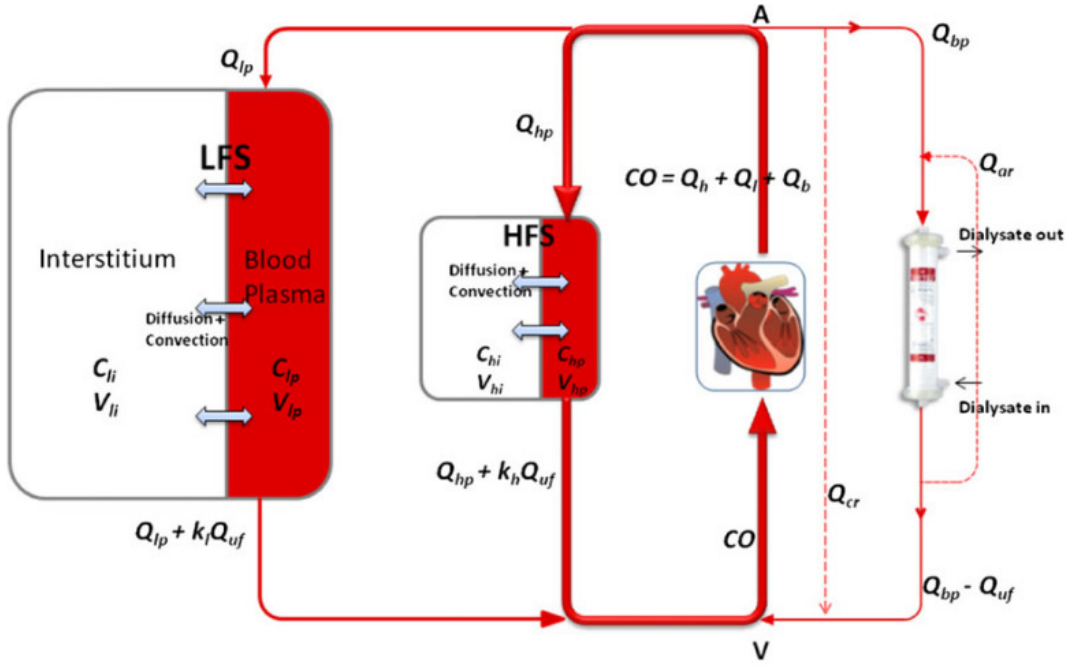


Figura 1.10: Esquema del un modelo regional aplicado a la β_2 -microglobulina. El volumen total de distribución se asume como el volumen intersticial y plasmático, divididos a su vez por zonas de alta y baja perfusión sanguínea (subíndices h y l respectivamente). Nótese la inclusión de variables fisiológicas como el gasto cardíaco (CO), la recirculación pulmonar (Q_{cr}) o del acceso vascular (Q_{ar}). V. Maheshwari et al. *Annals of Biomedical Engineering*, 39(12):2879–2890, 2011 (con permiso de reproducción).

variación en la concentración para un sistema multicompartimental de la siguiente manera:

$$\frac{dC_i}{dt} = \frac{1}{V_i} \left[G_i + \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n K_{ij}(C_j - C_i) - \left(K_{0i} + \frac{dV_i}{dt} \right) C_i \right] \quad i = 1, \dots, n, \quad (1.29)$$

donde V_i y dV_i son el volumen y su variación, G_i la generación y K_{0i} el aclaramiento propio de cada compartimento considerado. El factor K_{ij} considera todas las posibles transferencias entre compartimentos (excluyéndose a sí mismo).

Sin embargo, la formulación compartimental presenta dos importantes inconvenientes. En primer lugar, todos los modelos compartimentalizados dependen tanto de los volúmenes de distribución como de los sub-volúmenes considerados. El valor de estos no siempre es conocido o de fácil interpretación anatómica y, por tanto, son susceptibles de contener cierta incertidumbre en sus valores. Además de lo anterior, considerar un número elevado de compartimentos llevaría a la sobredimensionalización del modelo. A modo de ejemplo, un modelo de n compartimentos está asociado a $n(n + 4)$ variables y parámetros (entre volúmenes, concentraciones, generaciones, aclaramientos y transferencias entre compartimentos). Por ese motivo, sistemas con un número superior a tres (257) o cuatro compartimentos (258) son raramente utilizados debido a la gran cantidad de variables y parámetros a determinar y su incertidumbre asociada.

2. Hipótesis

Tanto el material como la disposición estructural y distribución de poros de las fibras capilares de las que se componen los diferentes hemodializadores utilizados en la práctica clínica, así como las diferentes configuraciones de tratamiento disponibles, suscitan una exploración en profundidad de varios aspectos relacionados con la interacción entre la sangre y el sistema extracorpóreo como la depuración y la adsorción de un amplio espectro de toxinas urémicas así como el efecto de la convección, pudiendo realizar este análisis desde un abordaje multidisciplinar, partiendo de la investigación básica (*In vitro*), la aplicación clínica (*In vivo*), así como de la modelización numérica (*In silico*). Por todo ello se plantean 2 hipótesis globales a desarrollar.

1- La elevada convección aplicada en tratamientos de hemodiafiltración post-dilucional tiene una significativa repercusión sobre las capacidades depurativas de diferentes membranas de hemodiálisis. Sin embargo, la fuerte hemoconcentración a lo largo del dializador puede estar asociada a una mayor tasa de adsorción de moléculas de mediano y alto peso molecular, en especial proteínas plasmáticas, incrementando así la depuración de toxinas con adhesión proteica. Por contra, esta elevada adsorción puede desencadenar en la obstrucción parcial o total de los poros de la membrana de hemodiálisis, reduciendo en gran medida su eficiencia depurativa. Toda esta interacción dependerá asimismo de la carga proteica de la matriz empleada.

2- La descripción matemática de la cinética de moléculas en hemodiálisis se basa habitualmente en la implementación de modelos difusivos compartimentales. Estos modelos dependen muy fuertemente de los volúmenes de distribución de cada soluto así como los atribuidos a cada compartimento. La implementación de un modelo matemático que pueda reproducir la misma cinética de depuración y establecer parámetros cinéticos comparables sin la necesidad de conocer el volumen de distribución de cada molécula analizada, ofrecería una interesante alternativa.

3. Objetivos

Objetivo principal

El objetivo principal de este trabajo es analizar detalladamente los efectos de la convección aplicada en hemodializadores de alto flujo sometidos a tratamientos de hemodiafiltración en línea post-dilucional sobre la capacidad depurativa de diferentes toxinas urémicas dependiendo de la matriz empleada. De este objetivo global se desprenden los objetivos específicos siguientes:

Objetivos específicos

Objetivo 1. Analizar la viabilidad de la restitución de recambios plasmáticos de paciente urémico con concentrados de hematíes expirados como matriz urémica precursora en un sistema de hemodiálisis simulada.

Objetivo 2. Evaluar las propiedades depurativas de hemodializadores de diferente material y estructura sometidos a tratamientos convectivos y no convectivos, con especial énfasis en las propiedades adsorptivas y su repercusión sobre los efectos obstructivos. Proponer y validar un índice de depuración global como resumen de la eficiencia depurativa sobre toxinas urémicas de mediano peso molecular para cada hemodializador utilizado.

Objetivo 2a. Evaluación en una matriz *in vitro*.

Objetivo 2b. Evaluación en pacientes crónicos en hemodiálisis.

Objetivo 3. Desarrollar y validar un modelo cinético difusivo unidimensional con independencia de volúmenes de distribución. Evaluar la predicción de la cinética de depuración de diferentes toxinas urémicas en tratamientos de hemodiafiltración post-dilucional de alta y baja convección. Comprobar su compatibilidad con modelos cinéticos bicompartimentales.

4. Resumen de los resultados propios de cada objetivo

4.1. Objetivo 1. Validar la restitución de plasma urémico con hematíes expirados como matriz precursora en tratamientos de hemodiálisis *sham*

Justificación del objetivo

La interacción entre los hemodializadores y el sistema extracorpóreo de hemodiálisis se suele analizar basándose en tratamientos simulados o diálisis *sham*. Las matrices empleadas habitualmente son suero fisiológico, sangre completa de procedencia animal o de voluntarios sanos. La restitución de recambios plasmáticos de paciente urémico con concentrados de hematíes expirados puede ofrecer una atractiva alternativa de muy bajo coste como matriz precursora y cuya ventaja reside en la composición de niveles significativos de una plétora de toxinas urémicas. Sin embargo una prolongada conservación de los hematíes incrementa significativamente la hemólisis. La validez y estabilidad de esta matriz en el circuito extracorpóreo no ha sido detallada hasta la fecha.

Material y métodos

Cinco recambios plasmáticos de paciente urémico en espera de trasplante ABO incompatible fueron cedidos por el departamento de Hemoterapia y Hemostasia del Hospital Clínico de Barcelona donde se analizaron, en el momento de su adquisición, los niveles de β_2 -microglobulina, mioglobina, prolactina, α_1 -microglobulina y albúmina. Asimismo, se obtuvieron diversas unidades de concentrados de hematíes conservados en suspensión de SAG-M y fuera de plazo para su uso asistencial (≥ 42 días). Tanto los recambios plasmáticos como las unidades de concentrados de hematíes se conservaron a 4 °C hasta su uso experimental.

La tasa de degradación del componente plasmático (ΔC) y su significación estadística se estimó re-analizando los niveles de las moléculas propuestas a las 16 semanas posteriores a su obtención, pudiendo comparar así las concentraciones inicial y final mediante el test no paramétrico de Wilcoxon para datos apareados.

Para evaluar la interacción entre los eritrocitos expirados y el sistema de hemodiálisis, se realizaron, cada 7 días desde la fecha de expiración, tratamientos simulados de hemodiálisis uniendo 125 mL de cada recambio plasmático (625 mL en total), 500 mL de concentrados de hematíes (2 unidades de grupo sanguíneo coincidente) y 2 mL de heparina sódica (aportando 1000 UI), todo ello en un recipiente estanco, equipado con 2 agujas para fístula (BBraun 17G) manteniendo moderada agitación y una temperatura de 37 °C. Previamente a la conexión al sistema extracorpóreo, se determinó manualmente el hematocrito inicial de la matriz restituída mediante la centrifugación de capilares. A continuación, se procedió a la realización de tratamientos simulados de hemodiafiltración post-dilucional utilizando parámetros habituales ($Q_B=400$ mL/min, $Q_D=600$ mL/min, $Q_i=134$ mL/min, $UF=10$ mL y $t=1$ hora) empleando el hemodializador FX-60 Cordiax y anotando el número de incidencias (activaciones) relacionadas con el sensor de turbidez en el circuito de dializado.

Resultados

La realización de la restitución propuesta resultó en una matriz con un hematocrito inicial del $33\pm 3\%$. La degradación mensual de las diferentes moléculas analizadas en los recambios plasmáticos (expresada como promedio \pm desviación estándar) resultó no significativa para la β_2 -microglobulina ($\Delta C=0.01\pm 0.06$ mg/L/mes, $p=0.593$), prolactina ($\Delta C=-0.02\pm 0.06$ ng/mL/mes, $p=0.686$) y albúmina ($\Delta C=0.5\pm 0.5$ g/L/mes, $p=0.102$), mientras que si se detectó una marcada reducción de la concentración mensual para la mioglobina ($\Delta C=-0.5\pm 0.5$ ng/mL/mes, $p=0.043$) y la α_1 -microglobulina ($\Delta C=-1.9\pm 1.6$ mg/L/mes, $p=0.043$).

En cuanto a la estimación indirecta de la hemólisis inducida en los eritrocitos y su viabilidad en el sistema extracorpóreo, el número de alarmas detectadas por el sensor de turbidez en el circuito de dializado resultó en un número inferior a 2 para concentrados conservados entre 42 y 70 días (Figura 4.1). Más allá de esta horquilla, el número de alarmas incrementó de manera exponencial hasta un número superior a 10, rebasados los 80 días de conservación.

Conclusion

La unión de recambios plasmáticos de paciente urémico y concentrados de hematíes expirados, conservados ambos a 4 °C, es una matriz con validez y estabilidad suficiente para ser utilizada en ensayos que necesiten hemodiálisis simulada siempre que sea utilizada dentro de los 30 días posteriores a la expiración de los eritrocitos. Más allá de este rango, la hemólisis detectada por el sensor óptico de turbidez en el circuito de dializado hace impracticable el tratamiento por detenciones continuas en el procedimiento.

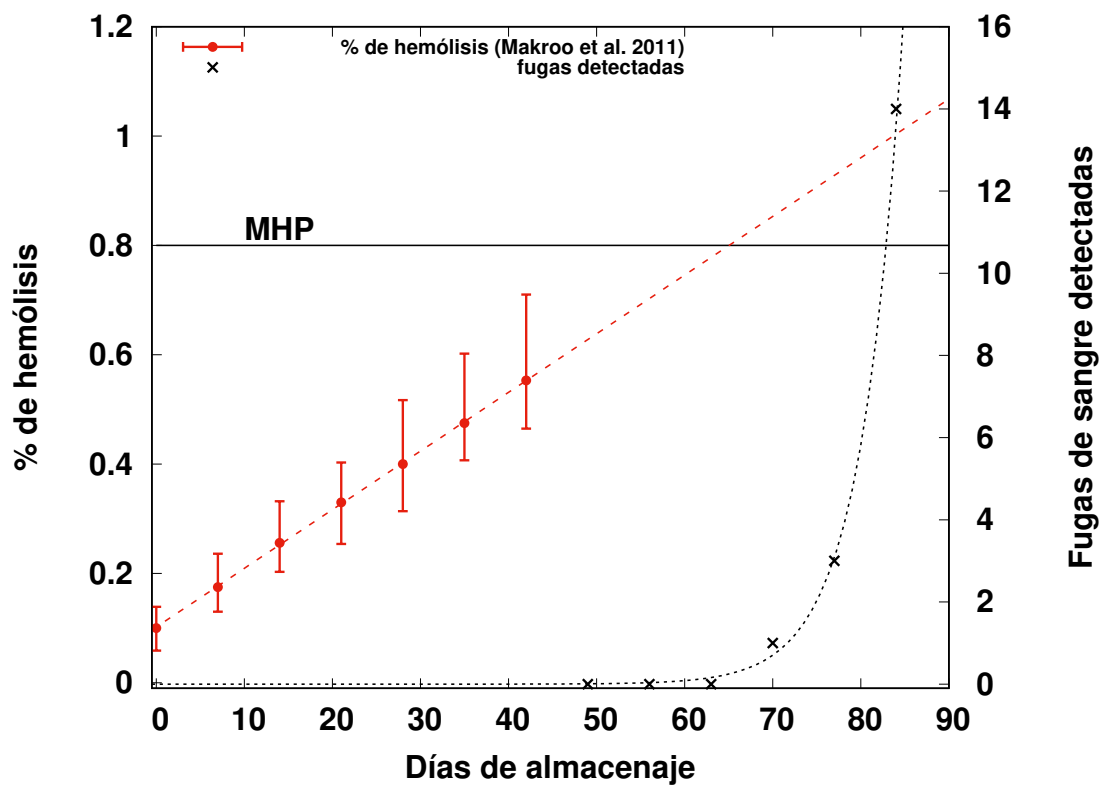


Figura 4.1: Hemólisis de los concentrados de hematíes según Makroo et al. y número de fugas de sangre detectadas en función de los días de almacenaje. Se ha señalado también la máxima hemólisis permitida (MHP) (*datos no publicados*).

Publicación relacionada con este objetivo

Assessment of removal and adsorption enhancement of high-flux hemodialyzers in convective therapies by a novel in vitro uremic matrix.

Sci Rep 10, 17403 (2020)

Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén y Francisco Maduell.

4.2. Objetivo 2. Evaluar las propiedades depurativas y adsorptivas de hemodializadores de diferente material y estructura, sometidos a tratamientos convectivos y no convectivos

Objetivo 2a. *In vitro*

Justificación del objetivo

Los principios físicos que gobiernan la depuración de toxinas en los tratamientos de diálisis son la difusión, la convección y la adsorción. Las propiedades adsorptivas de diferentes membranas usadas en hemodiálisis se han obtenido exclusivamente en tratamientos principalmente difusivos (HD) y evaluando únicamente marcadores inflamatorios o proteínas plasmáticas. La posible relación entre la elevada dosis de convección empleada en tratamientos de HDF, su consiguiente hemoconcentración y la influencia sobre la adsorción de solutos de medio y alto peso molecular así como toxinas urémicas unidas a proteínas, no se ha analizado en detalle.

Material y métodos

Se empleó la matriz obtenida mediante la restitución de recambios plasmáticos de paciente urémico con concentrados de hematíes expirados (Objetivo 1.) a fin de evaluar las propiedades depurativas y adsorptivas de cuatro hemodializadores de diferente estructura y material (polimetilmetacrilato *PMMA*, polisulfona *PS*, triacetato de celulosa *TAC* y copolímero de poliamida *PA*) pero superficie similar ($\sim 2.1 m^2$), sometidos a tratamientos de diálisis simulada tanto en HD como en HDF post-dilucional con los siguientes parámetros: $Q_B=400$ mL/min, $Q_D=600$ mL/min, $Q_i=134$ mL/min (0 en el caso de HD), $UF=10$ mL y $t=1$ hora.

Se tomaron muestras pre-filtro al inicio del tratamiento y a los 10, 20 y 60 minutos a fin de determinar los niveles de creatinina, β_2 -microglobulina, mioglobina, prolactina, α_1 -microglobulina y albúmina, así como toxinas con adhesión proteica como el p-cresil (PCs) e indoxil-sulfato (IS) y obtener la tasa de reducción (RR), la masa extraída (M_{ext}) y la estimación de su aclaramiento (K) para cada configuración de tratamiento. Además, se extrajo de manera continua 60 mL de dializado para determinar la pérdida de albúmina (M_{dial}). A la finalización del tratamiento, se aplicó a cada hemodializador un protocolo de extracción de toxinas para cuantificar la masa adsorbida (M_{ads}) de cada molécula.

Se calculó un índice global de depuración (GRS) como valor integrado de la tasa de depuración de las diferentes moléculas analizadas (sin adhesión proteica) y valorando la pérdida de albúmina como marcador negativo definido como:

$$GRS = \frac{\sum_i RR_i}{N} - RR_{albumina} \quad i = 1, \dots, N. \quad (4.1)$$

Finalmente se relacionaron los resultados obtenidos con los supuestos mecanismos de depósito de acuerdo con los modelos posibles de obstrucción de poros.

Resultados

La superioridad depurativa de los hemodializadores de PMMA y TAC en el rango de toxinas entre 12-30 kDa fue detectada por los diferentes marcadores de eficiencia analizados. En primer lugar la tasa de reducción RR resultó significativamente diferente para toxinas con peso molecular superior a 12 kDa entre los cuatro hemodializadores utilizados, alcanzando valores más elevados para el mismo tipo de membrana en HDF respecto a HD, y siendo superior en las membranas de simétricas PMMA y TAC en comparación a las asimétricas de PS y PA en la misma modalidad convectiva, tal como muestra la Figura 4.2. En la misma línea, los hemodializadores simétricos resultaron en los valores más elevados de aclaramiento K respecto a las membranas asimétricas para la mioglobina, prolactina y α_1 -microglobulina en HD y HDF (Tabla 4.1).

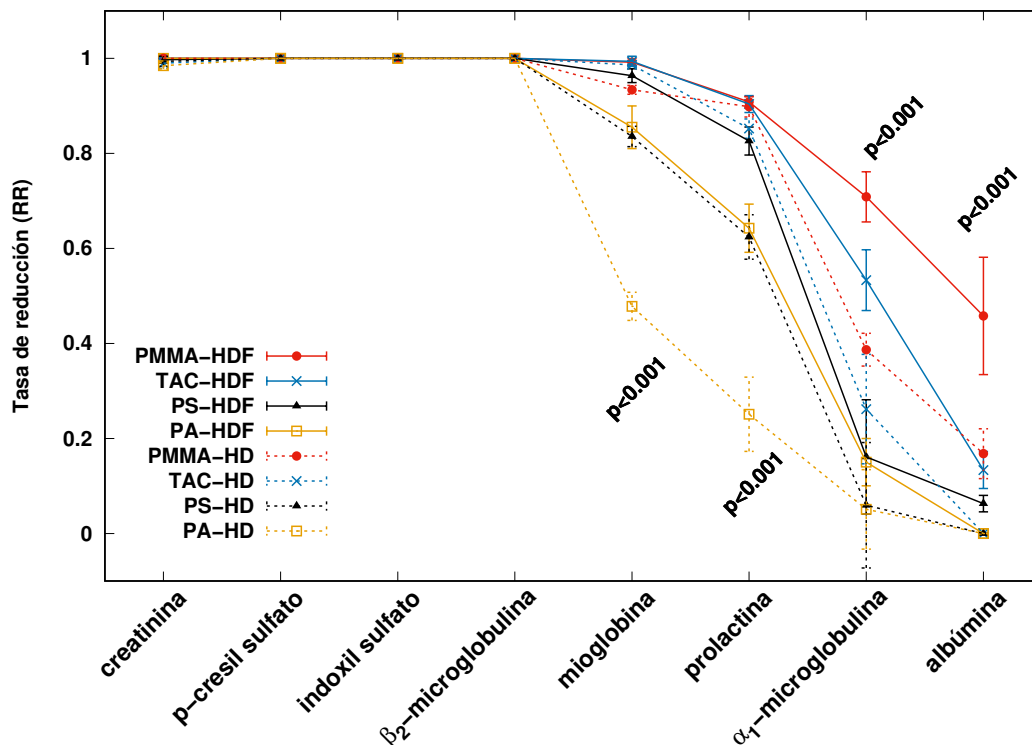


Figura 4.2: Tasa de reducción obtenida para cada toxina según el hemodializador y la modalidad convectiva. La significación estadística se ha obtenido mediante el test de ANOVA de un factor.

En referencia a la depuración, expresada como M_{ext} , se detectaron valores similares para la creatinina, β_2 -microglobulina, PCs e IS en las cuatro membranas tanto en HD y HDF.

En la Figura 4.3 se muestran la M_{ext} y M_{ads} para las diferentes toxinas según la convección y membrana seleccionada. Para toxinas como la prolactina y la α_1 -microglobulina, se obtuvieron valores significativamente diferentes de masa extraída, alcanzando las membranas de PMMA y TAC los valores más elevados respecto a las de PS y PA bajo la misma modalidad convectiva, destacando resultados superiores en HDF respecto a HD para el mismo tipo de hemodializador.

Tabla 4.1: Aclaramiento K en mL/min obtenido mediante ajuste exponencial en el decaimiento de la concentración para diferentes toxinas urémicas y configuraciones de tratamiento. La significación estadística (P) se obtuvo por el test ANOVA de un factor.

		Creat.	PCs	IS	β_2 -m.	Mio.	Prol.	α_1 -m.
HDF	PMMA	366±58	157±14	109±7	241±1	199±3	148±35	49±11
	TAC	458±140	163±14	133±18	202±6	180±6	112±2	19±5
	PS	381±70	160±28	115±14	241±4	93±7	52±6	4±4
	PA	312±25	131±21	94±13	182±25	52±9	24±1	4±3
HD	PMMA	313±18	119±10	83±5	194±1	95±5	140±11	12±2
	TAC	304±26	135±13	97±1	127±9	110±5	59±7	9±5
	PS	300±23	131±19	97±16	178±16	52±7	23±3	2±3
	PA	264±22	102±16	72±10	98±1	16±1	7±3	0±1
P		0.025	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

En relación a las propiedades adsorptivas, medidas mediante M_{ads} , se detectaron diferencias entre hemodializadores, destacando elevados valores de M_{ads} para las membranas de PMMA y TAC respecto a las de PS y PA, mientras que el efecto convectivo incrementó muy ligeramente el valor de la masa adsorbida para el mismo tipo de membrana. La excepción a este comportamiento se detectó en la negligible adsorción de β_2 -microglobulina a la membrana de TAC en ambas modalidades de tratamiento. No se logró determinar la M_{ads} para la creatinina debido a la metodología del procesado ni en PCs, IS y mioglobina por las limitaciones del método de análisis en los eluidos.

En el caso concreto de la albúmina (Figura 4.4), las membranas de PMMA y TAC destacaron por significantes valores de depuración y adsorción. El efecto convectivo de la HDF influyó muy marcadamente la depuración en estas dos membranas, con un aumento destacable de M_{ext} y M_{dial} , mientras que la M_{ads} solo incrementó sustancialmente su valor en el hemodializador de PS.

La eficacia depurativa de los diversos hemodializadores se resumió mediante el índice global de depuración GRS. En este sentido, las membranas asimétricas de PS y PA resultaron en un incremento relativo de sus valores en HDF respecto a HD en un 4 % y un 44 % respectivamente (Tabla 4.2) indicando la mejora depurativa en tratamientos convectivos. Por contra, la elevada depuración de albúmina de las membranas de PMMA y TAC penalizó el valor obtenido, resultando en una sustancial reducción de este índice.

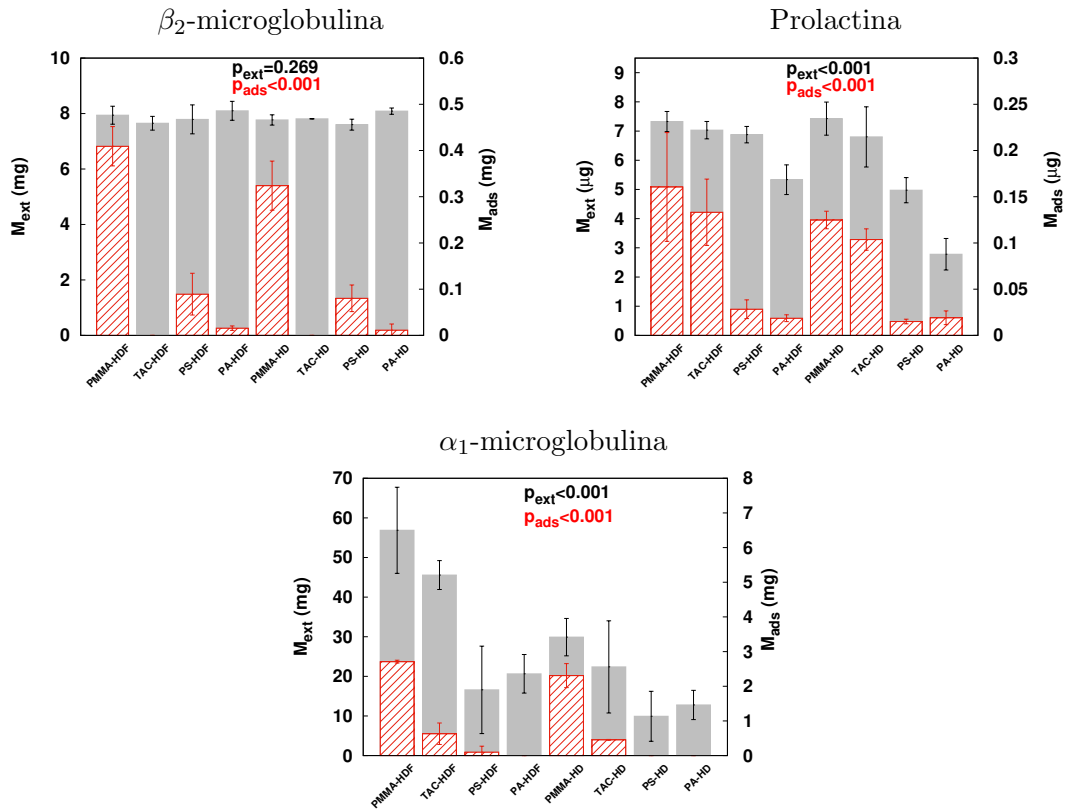


Figura 4.3: Promedio \pm desviación estándar de la masa extraída M_{ext} (barras grises sólidas, escala izquierda) y masa adsorbida M_{ads} (barras rojas rayadas, escala derecha) para cada tratamiento. p_{ext} y p_{ads} representan la significación estadística entre los valores obtenida por el test de ANOVA de un factor.

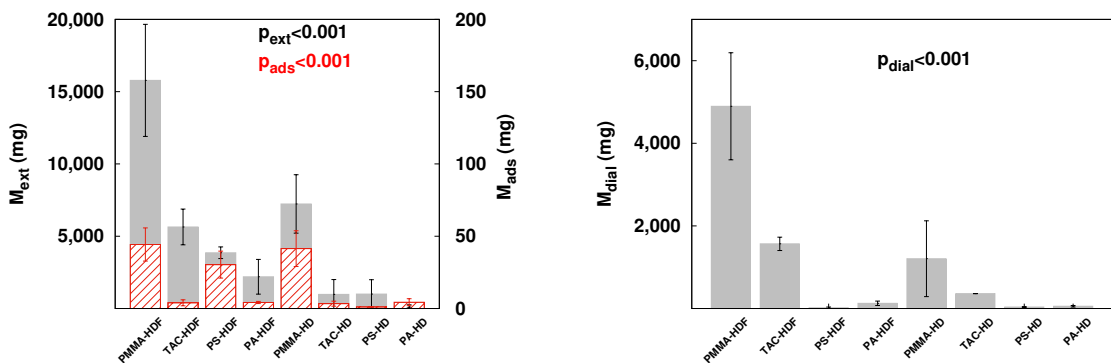


Figura 4.4: Promedio \pm desviación estándar de la M_{ext} y M_{ads} (izquierda) y de M_{dial} (derecha) para la albúmina. Se indica también la significación global entre valores.

Tabla 4.2: Media \pm desviación estándar del índice de depuración global (GRS) para cada membrana y modalidad de tratamiento. La penalización debida a la depuración de albúmina está claramente reflejada en el mínimo valor obtenido para la membrana de PMMA en HDF. ^a $p < 0.05$ vs. PMMA-HDF, ^b $p < 0.05$ vs. CTA-HD, ^c $p < 0.05$ vs. PA-HDF, ^d $p < 0.05$ vs. PA-HD and ^e $p < 0.05$ vs. PS-HDF.

	PMMA	TAC	PS	PA
HDF	0.38 \pm 0.08	0.75 \pm 0.02 ^a	0.73 \pm 0.04 ^a	0.72 \pm 0.03 ^{a,b}
HD	0.68 \pm 0.05 ^a	0.82 \pm 0.02 ^{a,c,d,e}	0.70 \pm 0.03 ^{a,b}	0.50 \pm 0.09 ^b

Publicación relacionada con este objetivo

Assessment of removal and adsorption enhancement of high-flux hemodialyzers in convective therapies by a novel in vitro uremic matrix.

Sci Rep 10, 17403 (2020)

Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén y Francisco Maduell.

Comunicación relacionada con este objetivo

- In vitro assessment of different material haemodialyzer clearance in high-flux haemodialysis and on-line haemodiafiltration.

Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, David Badia, Raquel Ojeda, Marta Arias-Guillén y Francisco Maduell. XLV Annual ESAO Congress, 12-15 Septiembre, 2018, Madrid.

Conclusiones

La HDF post-dilucional resultó en una mayor depuración de toxinas urémicas de medio y alto peso molecular en membranas de diferente estructura y material. Los filtros simétricos de PMMA y TAC destacaron por alcanzar elevados valores depurativos, incluyendo sustancial eliminación de albúmina, contraindicando por ello su uso en tratamientos convectivos.

Todas las membranas estudiadas presentaron adsorción de moléculas en el rango de 12-30 kDa siendo especialmente destacada en hemodializadores de PMMA y TAC, ambas simétricas y con poro incrementado. Este resultado sería atribuible al depósito de las moléculas en la estructura porosa mediante el mecanismo de bloqueo estándar. La convección ejercida en HDF incrementó muy ligeramente y de manera no significativa la adsorción detectada dentro del rango pesos moleculares analizados, representando únicamente un máximo del 7% de la depuración total.

Objetivo 2b. *In vivo*

Justificación del objetivo

Los resultados obtenidos en el Objetivo 2a. suponen una visión parcial de la relación de la convección con las capacidades adsorptivas de las membranas de hemodiálisis al haber utilizado una matriz *in vitro* con menor carga proteica en comparación a la sangre de paciente renal. En este sentido, se planteó evaluar la depuración y adsorción de los mismos filtros en un grupo de pacientes crónicos en hemodiálisis. La interacción entre la sobrepresión en los capilares debido a la convección de los tratamientos de HDF y el posible aumento de la adsorción de toxinas urémicas en diferentes tipos de hemodializadores no ha sido explorado en profundidad. Además, la posible formación de una capa proteica a consecuencia de esta convección podría influir en la depuración de moléculas con adhesión proteica como el PCs e IS.

Material y métodos

Se reclutaron 24 pacientes crónicos en diálisis que realizaron, en la segunda de sus tres sesiones semanales programadas, un tratamiento de HD o HDF post-dilucional usando uno de los cuatro hemodializadores empleados en el Objetivo 2a. (PMMA, PS, TAC y PA), siendo un total de 8 tratamientos por paciente. Se tomaron muestras pre-filtro al inicio y al final del tratamiento a fin de determinar los niveles de creatinina, β_2 -microglobulina, mioglobina, prolactina, α_1 -microglobulina, albúmina y proteínas totales (PT), así como toxinas con adhesión proteica como el PCs y el IS. Se calculó la tasa de reducción (RR) y el valor del índice de depuración global (GRS) para cada hemodializador y modalidad de tratamiento empleado, definido en este caso como:

$$GRS = \frac{\sum_i RR_i - RR_{albumina}}{5} \quad i = 1, \dots, 5. \quad (4.2)$$

Al término cada sesión, se anotaron los valores obtenidos de los parámetros más relevantes del tratamiento como la ultrafiltración, la pérdida de volumen, el flujo de dializado, la presión transmembrana promedio, el flujo de sangre, el volumen de sangre procesada, el tiempo de tratamiento, el flujo de infusión, el volumen de sustitución, el hematocrito y hemoglobina inicial y final así como los valores de K , Kt y Kt/V_{urea} . Además, cada hemodializador fue sometido al protocolo de extracción de toxinas validado en el Objetivo 2a. y así obtener los valores de M_{ads} con el fin de relacionar los resultados obtenidos con el material de cada filtro y la modalidad de tratamiento empleada.

Resultados

No se detectaron diferencias significativas de los valores pre-diálisis de las toxinas analizadas entre pacientes. En relación al tratamiento, sólo resultaron significativos los parámetros

estrechamente relacionados con la convección como la presión transmembra, el flujo de infusión, el volumen de sustitución y los parámetros de depuración K , Kt y Kt/V_{urea} , obteniendo valores superiores en HDF respecto a HD para todos los hemodializadores.

A nivel depurativo, todas las membranas incrementaron la tasa de reducción (RR) entre un 10 y un 30 % para las moléculas en el rango de 12-30 kDa al pasar de la modalidad no convectiva a HDF, siendo la membrana de PS la que alcanzó los más altos valores (Figura 4.5). La excepción a este comportamiento se observó en el hemodializador de triacetato de celulosa, que disminuyó su capacidad depurativa al ser utilizado en la modalidad convectiva. En relación a las moléculas con adhesión protéica, todas las membranas incrementaron la RR del PCs e IS al ser sometidas a HDF. Nótese como la adhesión proteica de estas toxinas resultó en una tasa de reducción similar a moléculas de peso molecular entre 20 y 30 kDa. Por último, no se detectaron diferencias significativas en la tasa de reducción de albúmina o de PT, alcanzado valores alrededor del 10 % independientemente de la membrana y convección empleadas.

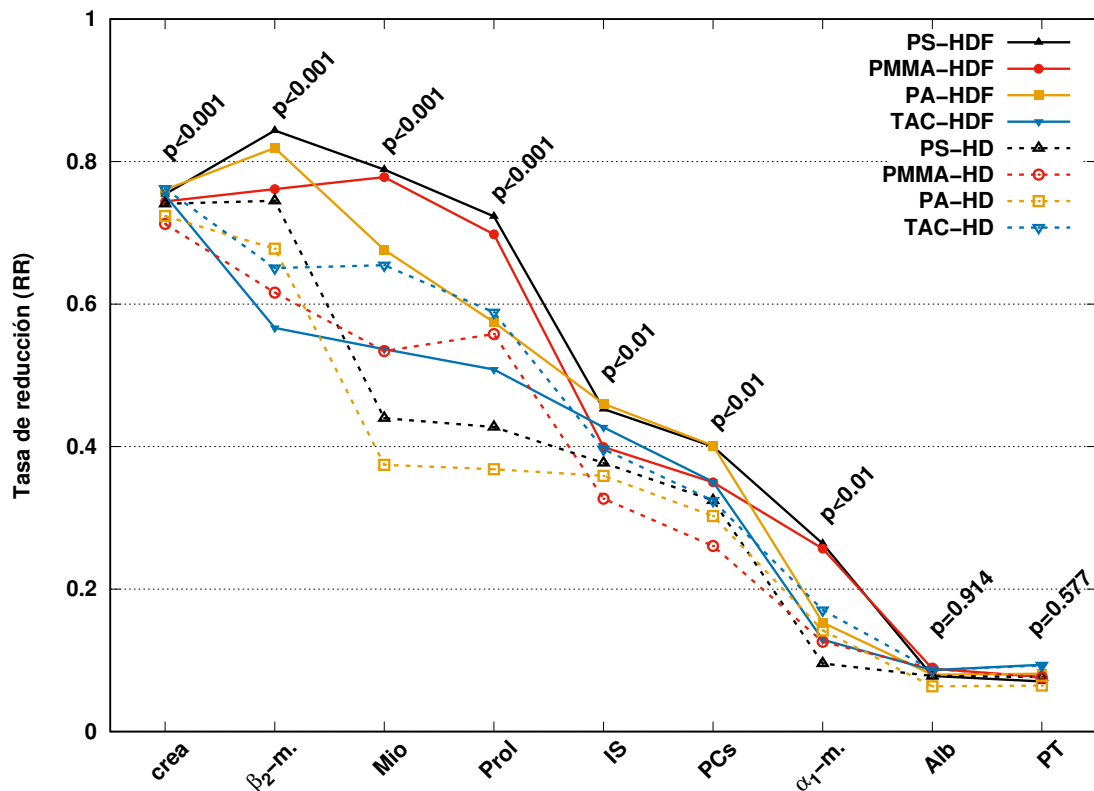


Figura 4.5: Tasa de reducción de diferentes toxinas en función de la membrana y convección empleada. La significación estadística se calculó mediante test de ANOVA de medidas repetidas.

Los valores de RR se resumieron mediante el índice GRS (Figura 4.6), obteniendo todas las membranas, excepto TAC, mayores valores de este índice en la modalidad convectiva y destacando las membranas de PS y PMMA.

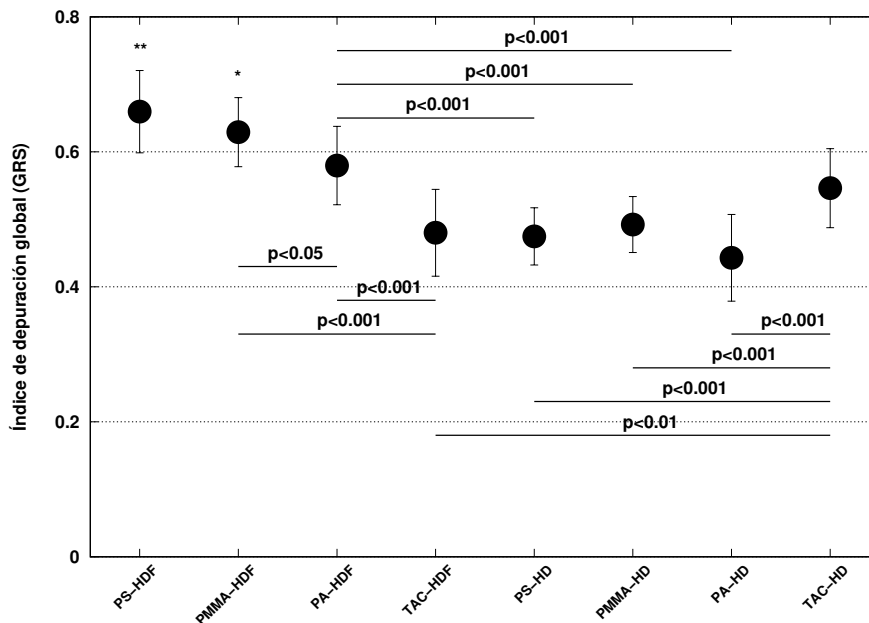


Figura 4.6: Índice de depuración global según la modalidad de tratamiento. Se detalla la significación mediante pruebas pos-hoc de Bonferroni del test ANOVA de medidas repetidas. ** $p < 0.001$ vs. todas las membranas y tratamientos excepto PMMA-HDF, * $p < 0.001$ vs. todas las membranas en HD.

En cuanto a las capacidades adsorptivas, la Figura 4.7 muestra la M_{ads} para cada toxina, hemodializador y modalidad de tratamiento. En el caso de la β_2 -microglobulina, el hemodializador de PMMA obtuvo resultados destacados, evidenciando la capacidad adsorptiva de esta membrana hacia esta molécula. Nótese, además, la ausencia de adsorción hacia la membrana de TAC. Para moléculas como la prolactina, la α_1 -microglobulina y la albúmina, los resultados confirmaron diferentes perfiles de adsorción, destacando una significativa adsorción de prolactina y α_1 -microglobulina hacia la membrana de TAC mientras que no se detectaron diferencias significativas entre los cuatro hemodializadores en cuanto a la adhesión de albúmina.

En relación al efecto de la convección sobre la adsorción, todas las membranas tendieron a incrementar el valor de M_{ads} al ser sometidas a HDF post-dilucional, resultando únicamente significativo este incremento para la β_2 -microglobulina en la membrana de PMMA ($p < 0.01$) y para la albúmina en el hemodializador de PS ($p < 0.01$).

En el caso concreto de las proteínas totales, la membrana de TAC destacó por su significativa capacidad adsorptiva respecto a los demás hemodializadores tanto en HD ($p < 0.01$ vs. PS, $p < 0.05$ vs. PMMA y PA) como en HDF post-dilucional ($p < 0.001$ vs. PA, $p < 0.01$ vs. PMMA y $p < 0.05$ vs. PS).

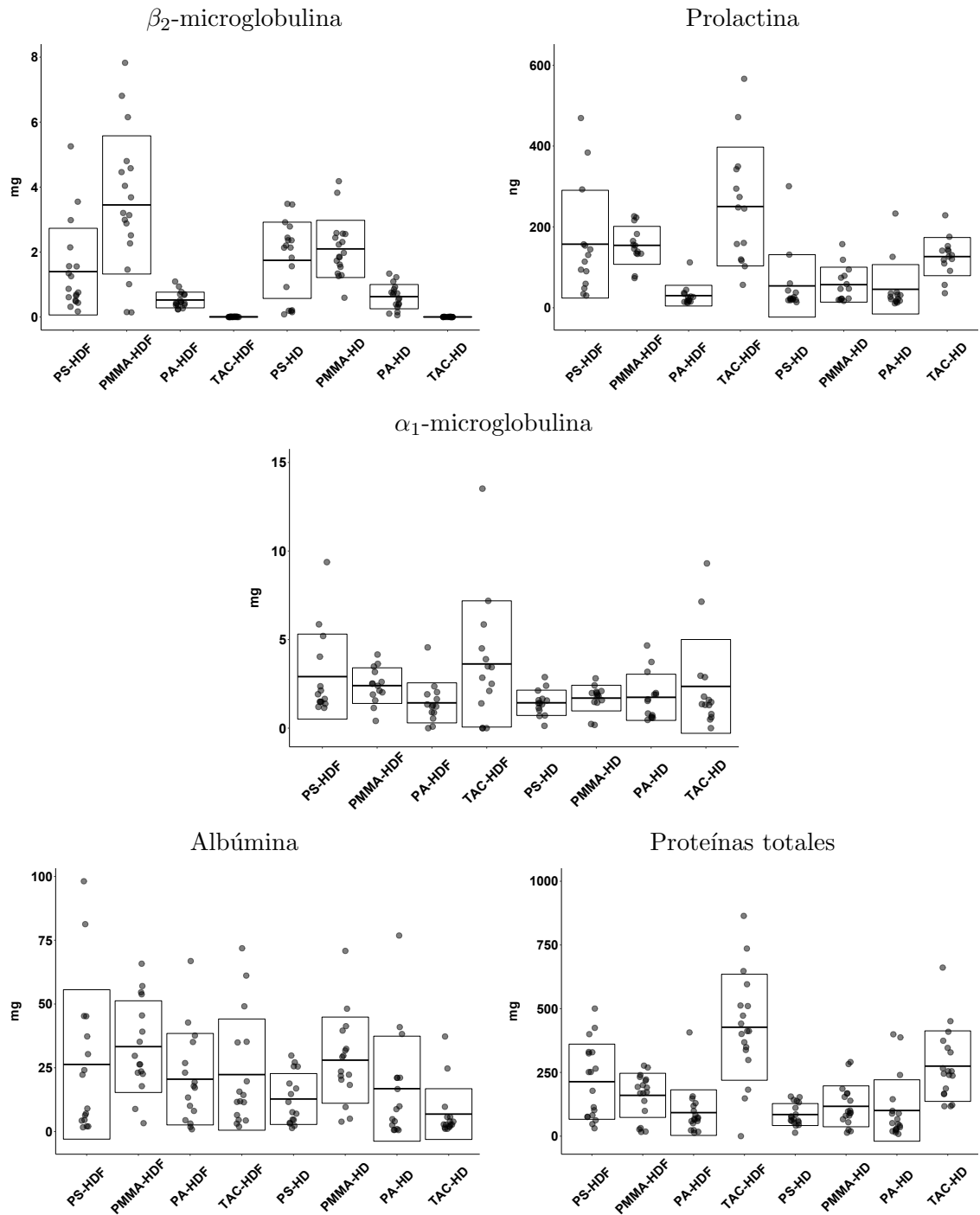


Figura 4.7: Masa adsorbida de cada toxina según membrana y modalidad de tratamiento. Los puntos representan las medidas individuales por paciente mientras que las cajas expresan promedio (línea central) y desviación estándar (extremos).

Publicación relacionada con este objetivo

Distinct solute removal patterns by similar surface high-flux membranes in haemodiafiltration. The adsorption point of view.

Blood Purification, (2021). DOI: 10.1159/000514936

Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén, Néstor Fontseré, José Jesús Broseta, Raquel Ojeda y Francisco Maduell.

Conclusiones

La HDF post-dilucional mejoró la depuración de toxinas urémicas en el rango 12-30 kDa, incluso aquellas con adhesión proteica, en todas las membranas excepto para TAC, cuyo perfil depurativo decreció en la modalidad convectiva.

A nivel adsorptivo, se constató la notable adhesión de β_2 -microglobulina en membranas de PMMA mientras que se observó su ausencia en las de TAC. En general, todas las membranas incrementaron su tasa de adsorción al ser sometidas a HDF, si bien este incremento no resultó estadísticamente significativo (salvo la prolactina en la membrana de PMMA y las PT en el hemodializador de PS).

La membrana de TAC destacó por su alta adsorción de PT. Este efecto no se acompañó de una incrementada depuración de PCs e IS respecto a otros hemodializadores resultando además en un peor perfil depurativo en HDF, indicando así una importante obstrucción de la estructura porosa.

4.3. Objetivo 3. Desarrollar y validar un modelo cinético difusivo unidimensional

Justificación del objetivo

La modelización de la cinética de toxinas urémicas en los tratamientos de hemodiálisis se basa en la resolución matemática de sistemas compartimentalizados en volúmenes definidos, donde el intercambio de solutos se produce por difusión pasiva, siendo los habituales parámetros cinéticos el aclaramiento en el dializador K_d y el paso intercompartimental K_c . Este tipo de modelización depende fuertemente del volumen de distribución (V_{dist}) de cada molécula, valor no siempre conocido o fácil de obtener y por tanto, estar sujeto a gran incertidumbre. Por ello se propone un modelo unidimensional alternativo con la finalidad de evaluar la cinética de algunas toxinas urémicas.

Material y métodos

La descripción de la cinética de toxinas urémicas se presentó como un modelo difusivo unidimensional aplicado en un dominio virtual de longitud unidad ($L=1$) representando el trayecto teórico de una molécula desde su lugar de partida en el punto más interno de los tejidos ($x=0$) hasta su depuración en el dializador ($x=1$), considerando la difusividad (k) y la tasa de depuración (α) como parámetros cinéticos. Se contrastó también la consideración de la generación homogénea en todo el dominio o con mayor aporte en solo sector (delimitado por el valor de n_p , $0 < n_p < 1$).

Aplicando las condiciones iniciales y de contorno más apropiadas, se resolvió numéricamente el modelo propuesto, implementando métodos espectrales basados en polinomios de Chebyshev mediante discretización espacial e integración temporal en $N=n_x+1$ puntos. Se utilizó dicho modelo para evaluar la repercusión del tiempo de tratamiento (4 u 8 horas) y la convección aplicada (Q_i de 50 o 100 mL/min) de tratamientos de hemodiafiltración post-dilucional sobre los parámetros cinéticos propuestos.

Se ajustó el modelo a los datos disponibles en nuestro laboratorio procedentes de paciente renal (Ref. (247)) y se calculó la bondad del ajuste por mínimos cuadrados de la función (ϵ), definida como la diferencia entre las concentraciones medidas analíticamente y las obtenidas del modelo. Además, se realizó un análisis de sensibilidad para determinar la robustez del modelo a juzgar por las pequeñas variaciones de k , α y n_p .

Resultados

En la Figura 4.8 se muestran las soluciones del modelo para las diferentes moléculas analizadas y modalidades de tratamiento. Un incrementado tiempo de tratamiento resultó en mayor eliminación de moléculas pequeñas como la urea o la creatinina mientras que el aporte convectivo no comportó mejora depurativa. Para la β_2 -microglobulina, tanto

el tiempo de tratamiento como la convección aplicada influyeron en el perfil depurativo. Para moléculas como la mioglobina o prolactina, la tasa de convección aplicada marcó notablemente la depuración, alcanzando los tratamientos de menor duración pero máxima convección, una mayor reducción de la concentración respecto a los tratamientos más extensos pero de menor tasa convectiva.

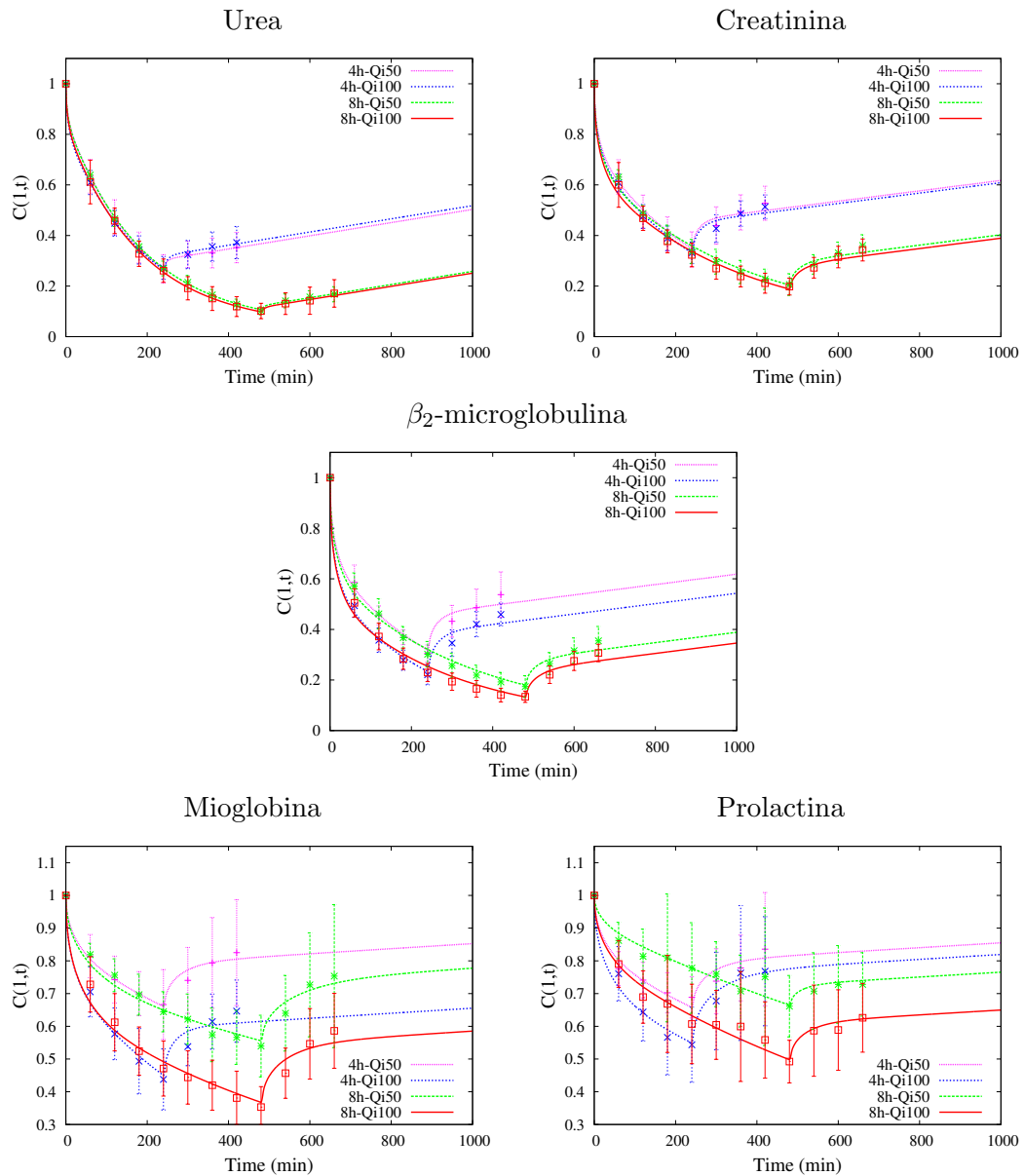


Figura 4.8: Evolución temporal de la concentración normalizada computada por el modelo en el punto extremo $C(1,t)$ y el promedio \pm desviación estándar (símbolos) de la concentración medida en pacientes. La escala temporal se ha limitado a 1000 minutos.

En la misma línea, el efecto de la convección aplicada sobre la eliminación de las diferentes moléculas fue claramente detectada en el parámetro de la tasa de depuración α (Tabla 4.3), siendo asimismo el más sensible del modelo. En este sentido, para el caso de moléculas pequeñas como la urea o la creatinina, el aumento de la convección influyó muy ligeramente

en la tasa de depuración con un incremento relativo del 7 % mientras que para toxinas de mayor peso molecular, el efecto de la convección fue muy marcado, incrementando el valor de α en un 30 % para la β_2 -microglobulina, más de un 122 % para la mioglobina y en valores superiores al 33 % para la prolactina. En cuanto al parámetro k , resultó inversamente proporcional al peso molecular, indicando su posible relación con la descripción fisiológica de la dificultad de difusión de solutos más grandes, simulando así un mayor desequilibrio entre tejidos para estos solutos.

Tabla 4.3: Promedio \pm 95 % intervalo de confianza de los valores obtenidos para α y k según soluto y tratamiento.

$\alpha \left[\frac{L}{min} \right] \cdot (10^{-2})$	4h-Qi50	4h-Qi100	8h-Qi50	8h-Qi100
Urea	0.62 \pm 0.05	0.63 \pm 0.06	0.62 \pm 0.05	0.65 \pm 0.07
Creat.	0.46 \pm 0.04	0.48 \pm 0.05	0.42 \pm 0.04	0.45 \pm 0.04
β_2 -m.	0.50 \pm 0.07	0.69 \pm 0.09	0.47 \pm 0.06	0.61 \pm 0.08
Mio.	0.12 \pm 0.03	0.29 \pm 0.06	0.09 \pm 0.02	0.20 \pm 0.04
Prol.	0.12 \pm 0.04	0.16 \pm 0.05	0.08 \pm 0.02	0.14 \pm 0.04
$k \left[\frac{L^2}{min} \right] \cdot (10^{-2})$				
Urea	1.35 \pm 0.27	0.97 \pm 0.19	1.27 \pm 0.25	1.15 \pm 0.23
Creat.	0.47 \pm 0.09	0.45 \pm 0.09	0.32 \pm 0.07	0.31 \pm 0.06
β_2 -m.	0.38 \pm 0.10	0.37 \pm 0.09	0.29 \pm 0.07	0.27 \pm 0.07
Mio.	0.20 \pm 0.08	0.31 \pm 0.12	0.10 \pm 0.04	0.14 \pm 0.06
Prol.	0.19 \pm 0.11	0.14 \pm 0.08	0.29 \pm 0.17	0.20 \pm 0.12

La predicción y ajuste del modelo difusivo fue muy satisfactorio en todas las modalidades, obteniendo valores de ϵ del orden de $\sim 10^{-3}$ (Tabla 4.4).

Tabla 4.4: Suma cuadrática de residuos, indicando el valor de la bondad de ajuste, ϵ , por tratamiento y soluto.

$\epsilon \cdot (10^{-3})$	4h-Qi50	4h-Qi100	8h-Qi50	8h-Qi100
Urea	0.06	0.29	0.16	0.29
Creat.	2.30	2.09	4.20	3.42
β_2 -m.	3.35	4.07	4.46	5.51
Mio.	1.52	5.29	4.95	8.08
Prol.	3.97	3.45	5.69	4.82

Por último, el modelo propuesto permitió obtener el perfil cinético mediante el hiperplano de concentraciones creado a lo largo del dominio en función del tiempo ($C(x, t)$), tal como se muestra en la Figura 4.9. Esta representación permitió evaluar visualmente la difusividad para cada molécula. A modo de ejemplo, se muestra este hiperplano para tratamientos de 8h y Qi=100 mL/min para la urea y para la mioglobina. Nótese como

para la urea (gráfico superior), la elevada tasa de difusión entre compartimentos (rápida redistribución entre tejidos) supuso una caída homogénea de la concentración a lo largo del eje de difusión (isolíneas de superficie muy paralelas) mientras que en el caso concreto de la mioglobina (gráfico inferior), una reducida difusividad resultó en un hiperplano con una característica ondulación (isolíneas curvas).

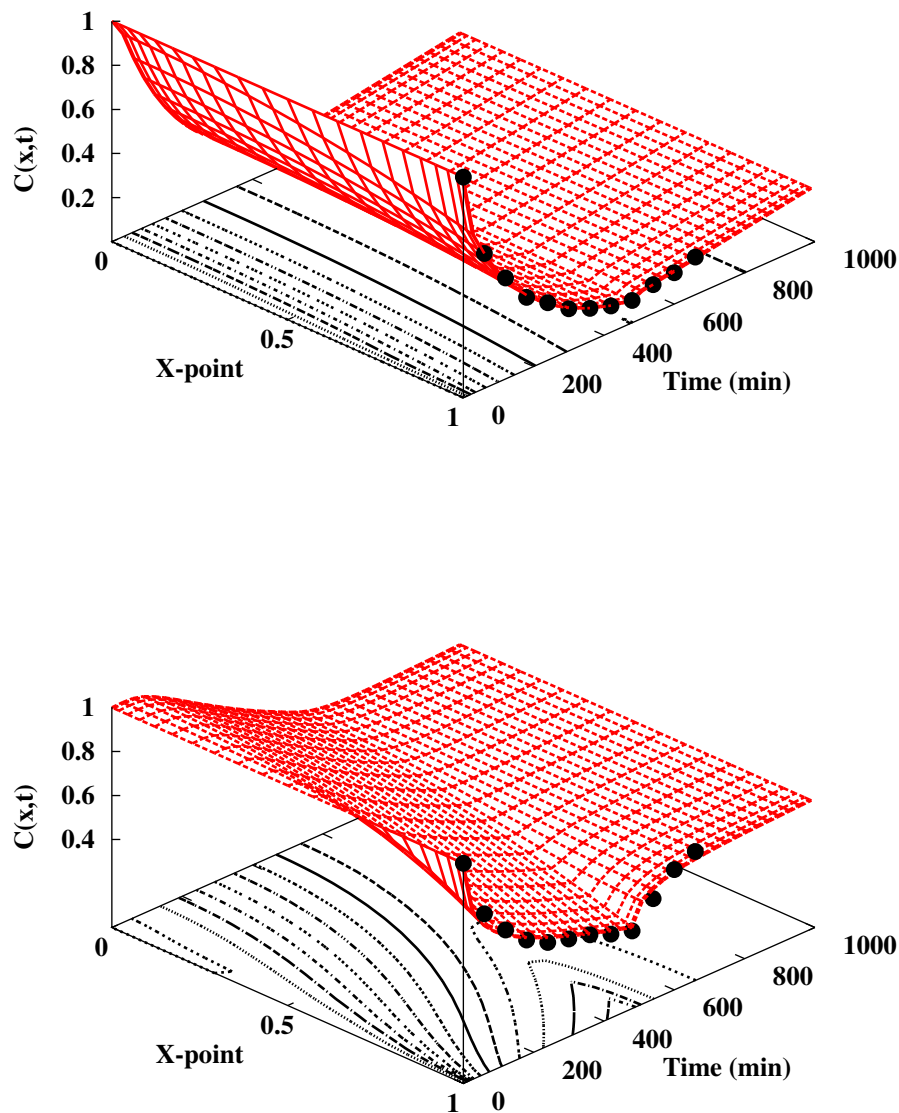


Figura 4.9: Representación del hiperplano generado por la solución de $C(x,t)$ para la urea (parte superior) y la mioglobina (parte inferior) en tratamientos de 8h-Qi100. La curvatura de las isolíneas de superficie (en la base del gráfico) representan el grado de desequilibrio a lo largo del dominio. Las barras de error de los datos analíticos en $C(1,t)$ se han omitido para mayor claridad.

Publicación relacionada con este objetivo

A unidimensional diffusion model applied to uremic toxin kinetics in haemodiafiltration treatments.

Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA, 36, 223-240 (2019)

Miquel Gomez y Francisco Maduell.

Conclusiones

El modelo unidimensional propuesto presentó una óptima predicción cinética para diversas moléculas y condiciones de tratamiento sin la necesidad de establecer valores del volumen de distribución para cada soluto.

Los valores obtenidos de α y k (análogos de K_d y K_c utilizados en los modelos compartimentales) remarcan la influencia del tiempo de tratamiento sobre la depuración de toxinas de pequeño tamaño mientras que el efecto convectivo incrementa sustancialmente la depuración de toxinas de mediano y alto peso molecular.



OPEN

Assessment of removal and adsorption enhancement of high-flux hemodialyzers in convective therapies by a novel in vitro uremic matrix

Miquel Gomez^{1✉}, Elisenda Bañon-Maneus^{1,2}, Marta Arias-Guillén³ & Francisco Maduell³

Adsorption properties of hemodialyzers are traditionally retrieved from diffusive treatments and mainly focused on inflammatory markers and plasma proteins. The possible depurative enhancement of middle and high molecular weight solutes, as well as protein-bound uremic toxins by adsorption in convective treatments, is not yet reported. We used discarded plasma exchanges from uremic patients and out-of-date erythrocytes as a novel in vitro uremic precursor matrix to assess removal and adsorption patterns of distinct material and structure but similar surface hemodialyzers in hemodialysis and on-line hemodiafiltration treatments. We further related the obtained results to the possible underlying membrane pore blocking mechanisms. Convection improved removal but slightly enhanced adsorption in the cellulosic and synthetic dialyzers tested. The polymethylmethacrylate hemodialyzer obtained the highest extracted (M_{ext}) and adsorbed (M_{ads}) mass values when submitted to hemodiafiltration for all molecules analyzed including albumin ($M_{ext} = 15.8 \pm 3.9$ g, $M_{ads} = 44.3 \pm 11.5$ mg), whereas the polyamide membrane obtained substantial lower results even for this molecule ($M_{ext} = 2.2 \pm 1.2$ g, $M_{ads} = 4.2 \pm 0.7$ mg) under the same treatment parameters. Hemodiafiltration in symmetric and enlarged pore hemodialyzers enhances removal and adsorption by internal pore deposition (intermediate pore-blocking) for middle and high molecular weight toxins but leads to substantial and deleterious albumin depuration.

Hemodialysis is a renal replacement therapy¹ which exploits the properties of a semipermeable membrane (or hemodialyzer) to maintain patient over-hydration, assess electrolyte balance and attain tolerable levels of uremic surrogates² through diffusive (high-flux hemodialysis, HD) or convective enhanced (hemodiafiltration, HDF) blood cleaning processes. Moreover, the interaction of blood with a particular exogenous material^{3,4} (cellulosic or synthetic) and structure (symmetric or asymmetric), like the hemodialysis hollow fiber capillary, may lead to adsorption^{5,6}. The precise mechanisms of adsorption in hemodialysis are not fully understood⁷ but are likely related to the interaction of solutes to the inner surface and the porous frame of the membrane^{8,9}. Up-to-date, the adsorption properties of distinct available hemodialyzers have been obtained mainly from HD treatments with very few exceptions¹⁰ and focused on cytokines and interleukins, β_2 -microglobulin, TNF- α and essential plasma proteins such as albumin^{11–15}. Thus, there is a lack of information regarding how convection and hemodynamic concentration in HDF and hydrodynamic phenomena, such as cell-free zone from the Fahraeus–Lindqvist effect¹⁶, may compress middle and high molecular weight (MW) uremic toxins toward the capillary inner wall and lead the formation of concentration polarization and a protein cake layer¹⁷. The promotion of adsorption by HDF may reduce hemodialyzer performance due to fouling as described by four possible blocking regimes in membrane filtration^{18,19} (i.e., complete, standard, intermediate and cake filtration) depending on the solute-pore preferential deposition sites. These models are, nevertheless, scantily implemented in hemodialysis^{20,21}. The evaluation of the depurative enhancement by adsorption in HDF treatments is of keen interest, especially regarding protein-bound uremic toxins such as p-cresyl sulfate (PCs)²² and indoxyl sulfate (IS)²³, poorly removed by conventional techniques^{24,25} due to their binding affinity.

¹Laboratori Experimental de Nefrologia i Trasplantament (LENIT), Fundació Clínic per la Recerca Biomèdica (FCRB), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain. ²Red de Investigación Renal (REDINREN), Madrid, Spain. ³Department of Nephrology, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain. ✉email: mgomez@clinic.cat

Treatment	Cr (mg)	β_2 (mg)	Myo (mg)	Pr (mg)	α_1 (mg)	Alb (g)	PCs (mg)	IS (mg)
PMMA-HDF (n = 5)	45.0 ± 2.4	7.9 ± 0.3	152.4 ± 14.1	8.0 ± 0.3	79.0 ± 12.1	33.2 ± 0.7	14.7 ± 0.4	2.12 ± 0.08
CTA-HDF (n = 3)	44.8 ± 1.3	7.6 ± 0.3	136.8 ± 14.3	7.7 ± 0.2	81.9 ± 2.1	31.7 ± 1.1	14.8 ± 0.3	2.13 ± 0.05
PS-HDF (n = 4)	45.0 ± 2.0	7.8 ± 0.5	142.0 ± 6.6	8.3 ± 0.2	83.6 ± 19.2	32.3 ± 0.9	14.1 ± 0.1	2.06 ± 0.15
PA-HDF (n = 4)	44.4 ± 1.0	8.1 ± 0.3	150.5 ± 3.2	7.9 ± 0.7	87.3 ± 11.7	32.4 ± 1.5	15.4 ± 0.5	2.00 ± 0.11
PMMA-HD (n = 3)	44.4 ± 0.8	7.8 ± 0.2	150.1 ± 8.6	8.2 ± 0.5	70.0 ± 7.5	32.7 ± 0.8	14.3 ± 0.2	2.05 ± 0.03
CTA-HD (n = 3)	40.4 ± 6.3	7.8 ± 0.1	142.3 ± 1.2	7.9 ± 1.0	71.4 ± 13.8	32.4 ± 1.3	14.9 ± 0.2	2.01 ± 0.11
PS-HD (n = 3)	43.7 ± 1.5	7.6 ± 0.2	143.9 ± 4.9	7.7 ± 0.2	71.2 ± 12.3	32.1 ± 1.6	14.5 ± 0.6	2.07 ± 0.09
PA-HD (n = 4)	39.6 ± 7.6	8.1 ± 0.1	144.5 ± 8.3	8.1 ± 0.3	77.0 ± 10.8	32.2 ± 1.7	15.1 ± 0.5	1.83 ± 0.08
<i>p</i>	0.397	0.269	0.335	0.746	0.520	0.827	0.003	0.010

Table 1. Mean ± standard deviation of the initial mass for each solute and treatment. The number of replicates is shown in parenthesis. Statistical significance was obtained by means of one-way ANOVA test. *Cr* creatinine, β_2 β_2 -microglobulin, *Myo* myoglobin, *Pr* prolactin, α_1 α_1 -microglobulin, *Alb* albumin, *PCs* total p-cresyl sulfate, *IS* total indoxyl sulfate.

To this end, we implemented for the first time an original in vitro set-up composed by discarded plasma exchanges from uremic patients and out-of-date erythrocytes as an inexpensive and filled uremic toxin precursor matrix aimed to evaluate the removal and adsorption properties of distinct commercial hemodialyzers (Sureflux-21UX by Nipro, CTA; BG-2.1U by Toray, PMMA; Fx-1000 Cordiax by Fresenius, PS and Polyflux-210H by Gambro, PA) submitted to HD and HDF through the quantification of total extracted and adsorbed mass. The understanding of removal and adsorption mechanisms of commercial hemodialyzers are of remarked interest to individualize and optimize the membrane and convective modality selection for each patient.

Results

Uremic toxin removal. The initial mass at the in vitro reservoir for each solute and treatment configuration is shown in Table 1. Similar values were obtained for every molecule in all treatment conditions and there were no significant differences for all the molecules except for protein-bound toxins. Moreover, the degradation of the implemented uremic matrix was reasonably slow as we found a slight decrease of less than 2 mg/L/month on the concentration levels for all molecules in the provided plasma exchanges.

The total extracted (M_{ext}) and adsorbed mass (M_{ads}) for the different solutes used in the tested hemodialyzers and treatment conditions are depicted in Fig. 1 whereas the concentration decay for each molecule and treatment is given as Supplementary Fig. S1. In general rule, a removal enhancement in the 17–30 kDa MW range due to convection was detected because all hemodialyzers obtained increased M_{ext} values in HDF therapies compared to their performance in the non-convective mode. Moreover, the amount of extracted mass was significantly different ($p_{ext} < 0.001$) among treatment conditions for solutes with MW over 17 kDa and remarked in the PMMA and CTA hemodialyzers. This behavior was clearly shown by the removal of α_1 -microglobulin in the convective modality, resulted in $M_{ext} = 56.9 \pm 10.9$ mg for PMMA-HDF ($p_{ext} < 0.05$ vs. PMMA-HD, PS-HD and PS-HDF; $p_{ext} < 0.01$ vs. PA-HD and PA-HDF) and $M_{ext} = 45.6 \pm 3.6$ mg for CTA-HDF ($p_{ext} < 0.01$ vs. PA-HD and PA-HDF). For PCs and IS, similar removal patterns were obtained for all hemodialyzers tested regardless of the applied convection. For these latter solutes, the amount of M_{ext} coincided with that to the initial mass as all post-treatment concentrations were below detection limits. Regarding adsorption profiles, all hemodialyzers obtained slightly increased M_{ads} values for all molecules in the convective modality respect their performance in HD. However, the amount of adsorbed mass was tenfold or lower than M_{ext} in all treatment conditions and molecules. Furthermore, the symmetrical and large pore hemodialyzers (i.e. PMMA and CTA) obtained the highest M_{ads} values compared to the asymmetrical membranes (i.e. PS and PA) except for β_2 -microglobulin. In this latter case, the adsorption properties of the PMMA hemodialyzer were confirmed as this particular membrane obtained the highest values compared to the other hemodialyzers tested, e.g., $M_{ads}^{PMMA-HDF} = 0.41 \pm 0.04$ mg ($p_{ads} < 0.05$ vs. PA-HD, PA-HDF, CTA-HD and CTA-HDF; $p_{ads} < 0.01$ vs. PS-HD and PS-HDF) and $M_{ads}^{PMMA-HD} = 0.32 \pm 0.05$ mg ($p_{ads} < 0.05$ vs. all other filters and treatment modalities except PMMA-HDF). This hemodialyzer also showed the highest adsorption values for the other molecules analyzed. However, the amount of β_2 -microglobulin M_{ads} in CTA hemodialyzers was negligible, regardless of the chosen modality. Finally, creatinine and myoglobin adsorbed mass was unable to determine as a consequence of sample processing and detection threshold respectively. Likewise adsorbed levels of PCs and IS were indeterminate. The extracted mass is given as a Supplementary Fig. S2.

Albumin removal. Albumin depuration was assessed by means of the quantification of M_{ext} and M_{ads} (Fig. 2 left) and additionally by the amount of mass recovered in the dialysate, M_{dial} (Fig. 2 right). This strategy allowed to relate the results to a complete transport description for this molecule. Thus, high values of M_{ext} and M_{dial} and reduced M_{ads} would represent preferential non-adsorptive removal for this solute. For instance, the PMMA hemodialyzer obtained the highest M_{ext} (15.8 ± 3.9 g), M_{ads} (44.3 ± 11.5 mg) and M_{dial} (4.9 ± 1.3 g) in the convective modality. However, in the particular case of the CTA membrane in HDF, values of $M_{ext} = 5.6 \pm 1.2$ g and $M_{dial} = 1.6 \pm 0.2$ g were obtained whereas adsorption mass was as low as 3.9 ± 2.1 mg. The PS-HDF treatment reached values of $M_{ext} = 3.9 \pm 0.4$ g and $M_{ads} = 30.4 \pm 9.3$ mg but had negligible $M_{dial} = 18 \pm 18$ mg.

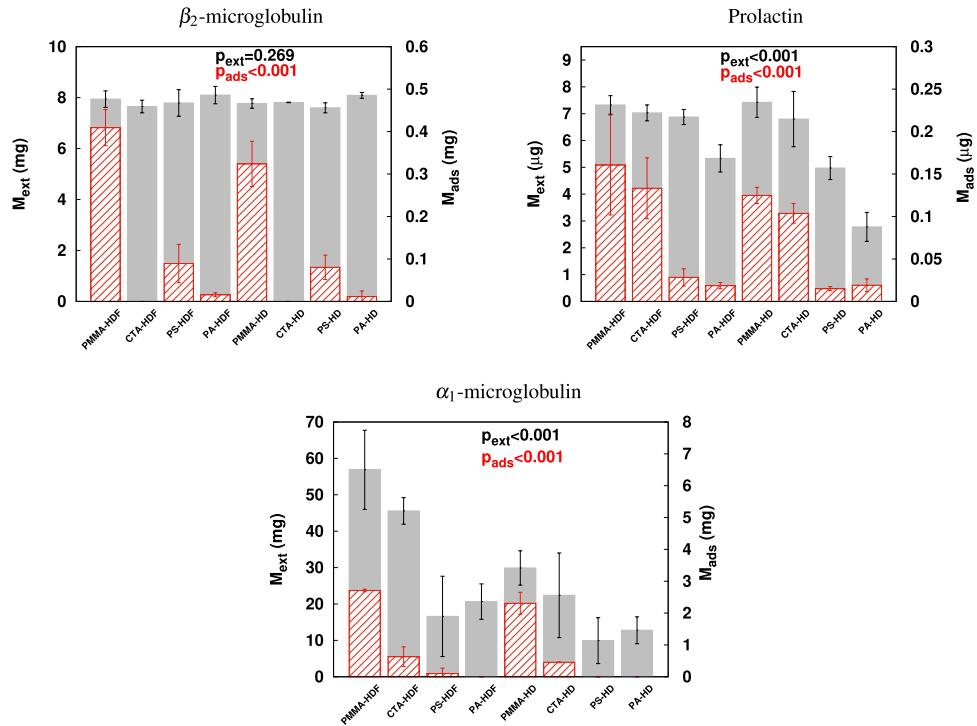


Figure 1. Mean \pm standard deviation of the calculated extracted mass M_{ext} (solid gray bars, left scale) and adsorbed mass M_{ads} (patterned red bars, right scale) for every treatment condition. Top p_{ext} and p_{ads} are the overall significance values for M_{ext} and M_{ads} respectively by means of one-way ANOVA test. Statistical significance among treatments is not shown for better clarity and can be found as Supplementary Table S1 and S2.

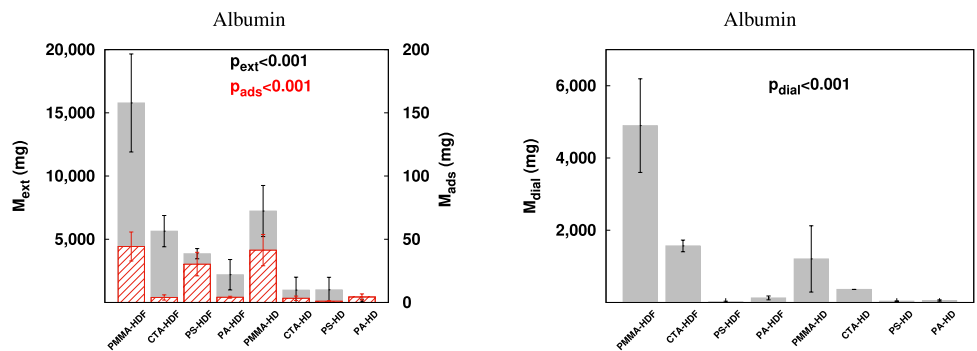


Figure 2. Mean \pm standard deviation of albumin M_{ext} (solid gray bars, left scale) and M_{ads} (patterned red bars, right scale) both at the left and M_{dial} (solid gray bars) at the right. p_{dial} is the overall statistical significance by means of the one-way ANOVA test. The PMMA membrane showed substantial depuration in both treatment modalities whereas the albumin removal by the CTA membrane was enhanced by HDF. The amount of M_{ads} for PS-HDF was notable.

Overall depuration. A global removal score, φ , as an overall depuration value over a wide range of MW solutes is summarized in Table 2. Mean values in the range 0.60–0.80 are expected for good removal efficiency in the MW range studied. However, lower values were found for PA-HD treatments as a consequence of moderated reduction ratio (RR) values for molecules with a MW higher than 12 kDa, i.e., $RR_{myoglobin} = 0.48 \pm 0.03$, $RR_{prolactin} = 0.25 \pm 0.08$ and $RR_{\alpha_1\text{-microglobulin}} = 0.05 \pm 0.08$. Furthermore, despite the significant RR for middle and high MW molecules obtained by PMMA-HDF treatment ($RR_{myoglobin} = 0.99 \pm 0.01$, $RR_{prolactin} = 0.91 \pm 0.01$ and $RR_{\alpha_1\text{-microglobulin}} = 0.71 \pm 0.05$), the strong penalization due to albumin removal ($RR_{albumin} = 0.46 \pm 0.12$) had a clear impact on the removal score, which resulted in the lowest value. The RR profile obtained for each treatment condition is given as Supplementary Fig. S3.

φ	PMMA	CTA	PS	PA
HD	0.68 ± 0.05 ^a	0.82 ± 0.02 ^{a,c,d,e}	0.70 ± 0.03 ^{a,b}	0.50 ± 0.09 ^b
HDF	0.38 ± 0.08	0.75 ± 0.02 ^a	0.73 ± 0.04 ^a	0.72 ± 0.03 ^{a,b}

Table 2. Mean ± standard deviation of the global removal score, φ , for each treatment condition. The penalization effect of albumin depuration is clearly seen in the lowest value obtained for PMMA in HDF treatments.^a $p < 0.05$ versus PMMA-HDF, ^b $p < 0.05$ versus CTA-HD, ^c $p < 0.05$ versus PA-HDF, ^d $p < 0.05$ versus PA-HD and ^e $p < 0.05$ versus PS-HDF.

Discussion

This study implemented successfully for the first time an innovative, inexpensive and blood equivalent physiological in vitro matrix filled with a plethora of distinct uremic toxins aimed to estimate and quantify the removal and adsorption properties of distinct material and structure high-flux hemodialyzers submitted to convective on-line hemodiafiltration.

The ongoing research in hemodialyzer technology has strongly focused on enhancing material biocompatibility and membrane design which may deliver different treatment outcomes. Thus, the fiber material, the configuration (plate or hollow fiber) and the structure of the capillary (sponge-like, finger-type, inner diameter, wall thickness, pore radius and density) have been continuously improved to deliver the most efficient renal replacement therapy. In addition, the conditions under hemodialyzers are used, i.e., blood and dialysate flows, ultrafiltration profiles and diffusive or convective modalities, may dramatically affect the performance.

The incorporation of high convective techniques proved to be clinically relevant in the depuration of middle and high MW solutes^{26,27}. This depuration enhancement was highlighted by our in vitro procedures as each hemodialyzer increased the amount of extracted mass compared to its performance in the non-convective mode. This outcome was especially marked for the symmetric PMMA and CTA hemodialyzers. To this regard, we suspect that the aforementioned membranes with a large pore radius, r_p (7 nm and 7.2 nm respectively) could ease the transport of solutes with a wider Stoke's radius r_s , such as α_1 -microglobulin ($r_s = 2.4$ nm²⁸) and albumin ($r_s = 3.6$ nm²⁹). Hence, the moderated solute-to-pore radius ratio ($\frac{r_s}{r_p} \sim 0.5$) ensures optimal solute movement through the pore channel towards the dialysate side. Of note, however, the poor results for the PA hemodialyzer, despite the large pore size of the innermost layer. According to Hedayat et al.³⁰, reduced porosity (i.e. less number of pores), rather than pore size, may affect the removal efficiency of this particular hemodialyzer in mid-range MW solutes.

Regarding adsorption mechanisms, we initially hypothesized that convection and the formation of a cell-free layer from the Fahraeus-Lindqvist effect could enhance the deposition of solutes at the inner wall of the membrane. Whilst the convective modality slightly enhanced M_{ads} , the obtained results were not substantially different for the same hemodialyzer when submitted to the non-convective modality. This behavior may be due to a prone surface-contact rather than a convective-related interaction. According to Rockel et al.³¹, a protein layer is formed mainly in the first 20–30 min of blood to membrane exposure. In our particular case, the performed 1-h experiments lasted enough to achieve a full protein layer regardless the transmembrane pressure applied. Thus, differences in the adsorbed mass due to convection were barely detected. Moreover, the specific adsorption potential of PA, PS and CTA membranes in HD were focused on essential proteins and immunoglobulins as obtained by several studies^{32–35}. Our results are in total agreement with the data presented, among others, by Urbani et al.³⁶, as we found that β_2 -microglobulin was detected in greater quantities in PS membranes than in CTA membranes, whereas albumin was more present in CTA than in PS in the non-convective modality. We additionally expanded the adsorption behavior of molecules such as prolactin and α_1 -microglobulin towards the aforementioned membranes.

Finally, we attempted to relate the adsorptive results obtained to simplified pore blocking models. According to our data, both the pore size and the wall structure and thickness may lead to a predominant pore-blocking behavior, which in turn is related to adsorption (Fig. 3). We hypothesize that symmetrical membrane frames (as for PMMA and CTA with 30 μ m and 15 μ m wall thickness respectively) and large pore sizes could allow middle and high MW molecules to enter the pore channel and be adsorbed along the capillary wall thickness. In these cases, the standard blocking model will be preferential and leads to pore constriction. Moreover, the increased M_{ads} obtained for the PMMA membrane compared to CTA could be explained as the wall thickness of the former is twice that of the latter. However, the singular behavior of the PS membrane with low albumin depuration but significant adsorption in HDF could be attributed to the reduced innermost layer pore radius (3.3 nm) of the hemodialyzer. The high convection and the structural configuration lead to a solute-to-pore radius of $\frac{r_s}{r_p} \sim 1$. Under these conditions, the standard blocking model is no longer applicable and intermediate blocking and cake filtration laws may be predominant, reducing the number of pores available and increasing transport resistance, which in turn, enhances the adsorption at the capillary innermost layer. The above-exposed behavior could be in concordance with the mechanisms exposed by Wang and Tarabara in³⁷ for membranes with a cut-off in the range of 30–100 KDa.

The present study has, nevertheless, several limitations. Our proposed in vitro procedures used a mixture of plasma exchanges from uremic patients and out-of-date erythrocytes. This reasonable stable matrix has not been reported previously in the literature but has provided similar results as other groups using bovine or healthy donor blood. However, we are concerned that the possible degradation and hemolysis of this matrix in

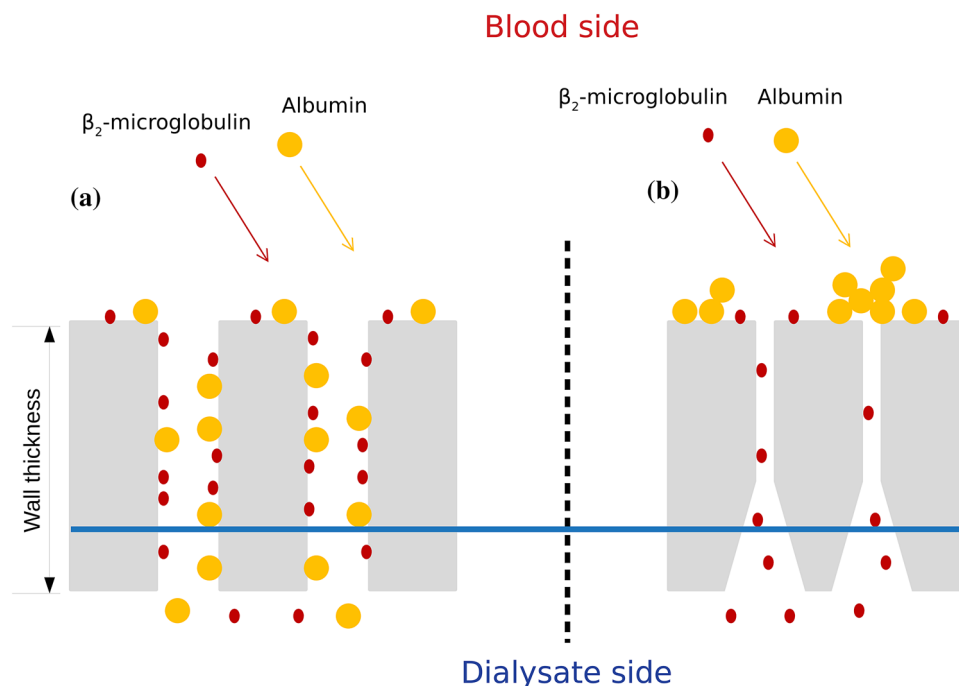


Figure 3. Schematic representation of adsorption regimens regarding structural configuration. A symmetric and large pore size membrane (a) may lead to a standard blocking model due to internal pore deposition. In an asymmetric and reduced pore size membrane (b) intermediate blocking or cake filtration laws could be the preferential mechanisms of adsorption for high-MW solutes, as these molecules tend to be deposited at the blood side of the pore channel.

an in vitro environment could have hampered some essential effects present in donor whole blood. Besides, the global removal score is presented as an overall depuration value for a wide MW uremic toxin range and in an in vitro performance. We are aware of the strong dependence of the selected solutes on performing the calculation. Further development of the proposed formula is therefore needed to obtain a validated score with clinical applicability. Moreover, the discussion related the obtained results to simplistic and straight pore models. This is a mere approximation as dialysis membranes are complex and intricate tortuous three-dimensional structures. In addition, solutes were considered as stand-alone solid spheres. The possible mechanisms of folding or defolding, which in turn may affect their relative sizes and hindrance factors, were not considered. Likewise, we did not take into account the interaction among the different solutes or the importance of solute and membrane hydrophilicity or electric potential. Finally, the statistical power of the tests applied was low due to the limited number of replicates.

In conclusion, our proposed innovative mixture of plasma exchanges and out-of-date erythrocytes offers an inexpensive and adequate uremic matrix to successfully evaluate removed and adsorbed mass of several molecules in hemodialysis membranes. Our results reinforce that hemodiafiltration enhances middle and high MW removal but slightly increases adsorption, mainly due to a standard blocking pore model for symmetrical and large pore hemodialyzers. However, the significant loss of albumin in these latter membranes do not lead to enhanced protein-bound toxin removal. The similar cost-per-unit of the analyzed hemodialyzers may suggest the preferential use of asymmetric membranes in hemodiafiltration to attain a remarkable removal profile over a wide range of MW solutes and avoid protein loss.

Methods

Experimental set-up. The present study was approved by the Ethical Committee of Hospital Clínic (code HCB/2016/0057) and was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki principles. Experiments were carried out in a novel uremic blood composed by an initial mixture of 625 mL of plasma exchanges from adult kidney ABOi transplant recipients (five subject pool), 500 mL of out-of-date (≤ 35 days) erythrocytes (final hematocrit $33 \pm 3\%$) and 1000 UI sodium heparin which was stirred and maintained at 37°C until being connected to a Fresenius Medical Care (FMC 5008) hemodialysis device. De-identified plasma exchanges, erythrocyte bags and informed consent from the subjects were obtained in cooperation with the local blood bank and the Departament de Hemoterapia i Hemostasia, Hospital Clínic de Barcelona. HD and HDF treatments were performed using commercial hemodialyzers (listed in Table 3) with the following parameters: blood flow (Q_b) of 400 mL/min, dialysate flow (Q_d) of 600 mL/min, ultrafiltration flow of 10 mL/h, substitution flow (Q_i) of 134 mL/min (0 in HD), and treatment time (t_d) of 60 min.

Characteristics	Filter commercial name			
	BG-2.1U (PMMA)	FX-1000 Cordiax (PS)	Sureflux-21UX (CTA)	Polyflux-210H (PA)
Main material	Polymethylmethacrylate ^a	Helixone plus ^b	Cellulose triacetate	Polyamix ^c
Structure	Symmetric	Asymmetric	Symmetric	Asymmetric
Inner diameter (μm)	200	210	200	215
Wall thickness (μm)	30	35	15	50
Av. blood-side pore radius (nm)	7	3.3	7.2	20
Kuf (mL/h/mmHg)	41	76	46	85
Area (m^2)	2.1	2.3	2.1	2.1
$S_{\beta_2\text{-microglobulin}}$	n.d.	0.9	n.d.	0.82
$S_{\text{myoglobin}}$	n.d.	0.5	0.625	0.37

Table 3. Characteristics of the tested hemodialyzers. Their hydraulic permeability (Kuf), the total area and the reported sieving coefficients are also shown. *n.d.* no available data. ^aIsotactic and syndiotactic polymethylmethacrylate polymer. ^bPolysulfone and polyvinylpyrrolidone blend. ^cPolyarylethersulfone, polyvinylpyrrolidone and polyamide blend.

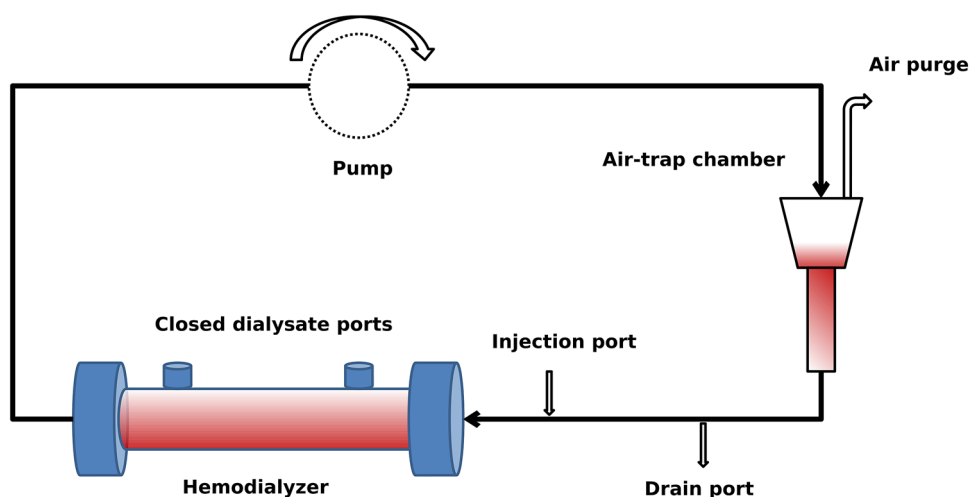


Figure 4. A closed circuit was implemented by the help of two 3-way keys (injection and drain ports) and a peristaltic Longerpump WT-600-2J to allow the introduction and extraction of the different solutions within the hemodialyzer fibers. The air-trap chamber was used exclusively to allow air removal from the circuit.

Blood samples were drawn from the arterial port prior to treatment initiation (triggered by the FMC 5008 optical blood sensor) and at times $t = 10'$, $20'$ and $60'$. Levels of creatinine, total p-cresyl and indoxyl sulfate, β_2 -microglobulin, myoglobin, prolactin, α_1 -microglobulin and albumin were measured. A constant extraction of dialysate (rate 10 mL/min, total 60 mL collected) was performed to quantify albumin loss (M_{dial}). Treatment parameters displayed by the hemodialysis device at the end of each treatment such as the dialysis dose Kt (L), ionic dialysance \bar{K} (mL/min), total blood processed V_{blood} (L), convective volume V_{sust} (L) and average transmembrane pressure (TMP, mmHg) were recorded (Supplementary Results Table S3).

Elution protocol. Once the hemodialysis treatment finished, an adapted elution protocol from Mares et al.³² was implemented. Firstly, 1 L of saline was single-passed at 30 mL/min to remove any residual blood. Afterwards, the dialyzer was placed into a closed circuit (Fig. 4) and 80 mL of PBS/EDTA (1 \times /3 mM) was introduced and left at 96 mL/min for 30 min. Then, 80 mL of 40% v/v acetic acid was introduced while the previous mixture was discarded by the help of 3-way connectors and was left again at 96 mL/min for 30 minutes. The next step consisted in the addition of 80 mL of a strong chaotropic solution containing urea (7 M), Thiourea (2 M), CHAPS (4% v/v), DTT (120 mM) and TRIS-BASE (3 mM), while discarding the previous mixture. The new mixture was allowed to stand at 96 mL/min for 1 h. Lastly, 80 mL of PBS (1 \times) was introduced to the circuit and all the obtained eluate (V_{eluate} , 160–250 mL) was collected into 50 mL polypropylene tubes and stored at -80°C until processing. To quantify the absorbed mass (M_{ads}) of each molecule, 40 mL of the obtained eluate was pre-filtered by a Filtrapor 0.45 μm filter to remove further cellular debris and was concentrated by means of a centrifugal concentrator of 5 kDa cut-off membrane to a final volume (V_{conc}) of ~ 2 –4 mL. Finally, 1 mL of the obtained concentrate was assayed to obtain concentration levels (C_{conc}) of total p-cresyl and indoxyl sulfate, β_2 -microglobulin, myoglobin, prolactin, α_1 -microglobulin and albumin.

Hemodialyzer removal parameters. The RR for each solute was calculated by Equation 1 as

$$\begin{aligned} RR &= \frac{C(0) - C(t_d)}{C(0)} & \text{if} & \quad C(t_d) < C(0) \\ RR &= 0 & \text{if} & \quad C(t_d) \geq C(0), \end{aligned} \quad (1)$$

where $C(0)$ and $C(t_d)$ are the concentration of each solute at the beginning and at the end of the treatment. Equation 1 avoids negative values of RR which would mean an increased post-treatment concentration due to the slightly ultrafiltered volume. In these particular cases, RR was assumed to be 0 (see also Eq. 4).

The extracted mass M_{ext} for each solute was calculated by Equation 2 as

$$M_{ext} = V(0)C(0) - V(t_d)C(t_d) \quad (2)$$

with $V(0)$ and $V(t_d)$ being the volume of the reservoir at the beginning and at the end of the treatment, respectively. The term $V(0)C(0)$ refers to the initial mass at the reservoir. The adsorbed mass M_{ads} was therefore calculated as

$$M_{ads} = C_{conc} V_{conc} \frac{V_{eluate}}{40} \quad (3)$$

Furthermore, a global removal score, φ , was calculated as

$$\begin{aligned} \varphi &= \frac{\sum_{i=1}^5 RR_i}{5} - RR_{albumin} & \text{for} & \quad RR_{albumin} > 0 \\ \varphi &= \frac{\sum_{i=1}^5 RR_i}{5} & \text{for} & \quad RR_{albumin} < 0, \end{aligned} \quad (4)$$

with i being the number of non-protein-bound uremic toxins considered, in our case five. This score, similar to the one presented by Maduell et al.³⁸ represents an overall depuration value over a wide range of MW for each treatment type and emphasizes the albumin removal as a strong deleterious effect. If there were a perfect hemodialyzer, the total depuration of solutes and no reduction of albumin would lead to $\varphi = 1$. In contrast, the worst possible scenario without toxin depuration and total depletion of albumin would lead to $\varphi = -1$. Under in vitro conditions, φ values around 0.60–0.80 are to be expected.

Statistical analysis. All variables are given by their mean and standard deviation. One-way ANOVA and post-hoc Games-Howell test for unbalance data was implemented, assuming $\alpha = 0.05$ and $\beta = 0.20$ to assess statistical significance among treatment conditions in all the studied variables using software package SPSS v.19.

Received: 12 June 2020; Accepted: 24 September 2020

Published online: 15 October 2020

References

- Pippas, M. et al. The European renal association—European dialysis and transplant association registry annual report 2014: A summary. *Clin. Kidney J.* **10**, 154–169. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfw135> (2017).
- Durantón, F. et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J. Am. Soc. Nephrol.* **23**, 1258–1270. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011121175> (2012).
- Huang, Z., Gao, D., Letteri, J. J. & Clark, W. R. Blood–membrane interactions during dialysis. *Semin. Dial.* **22**, 623–8. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2009.00658.x> (2009).
- Pieroni, L. et al. Biocompatibility assessment of haemodialysis membrane materials by proteomic investigations. *Mol. BioSyst.* **11**, 1633–1643. <https://doi.org/10.1039/c5mb00058k> (2015).
- Aucella, F., Gesuete, A., Vigilante, M. & Principe, M. Adsorption dialysis: From physical principles to clinical applications. *Blood Purif.* **35**(Suppl 2), 42–7. <https://doi.org/10.1159/000350847> (2013).
- Bonomini, M., Pieroni, L., Di Liberato, L., Sirolli, V. & Urbani, A. Examining hemodialyzer membrane performance using proteomic technologies. *Therap. Clin. Risk Manag.* **14**, 1–9. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S150824> (2018).
- Rabe, M., Verdes, D. & Seeger, S. Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces. *Adv. Colloid Interface Sci.* **162**, 87–106. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.12.007> (2011).
- Chelamcharla, M., Leyppoldt, J. K. & Cheung, A. K. Dialyzer membranes as determinants of the adequacy of dialysis. *Semin. Nephrol.* **25**, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2004.09.014> (2005).
- Sun, S., Yue, Y., Huang, X. & Meng, D. Protein adsorption on blood-contact membranes. *J. Membr. Sci.* **222**, 3–18. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(03\)00313-2](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(03)00313-2) (2003).
- Naseeb, U. et al. Differential hemoglobin a sequestration between hemodialysis modalities. *Biomol. Concepts* **8**, 125–129. <https://doi.org/10.1515/bmc-2017-0006> (2017).
- Clark, W. R., Macias, W. L., Molitoris, B. a & Wang, N. H. Membrane adsorption of beta 2-microglobulin: Equilibrium and kinetic characterization. *Kidney Int.* **46**, 1140–1146. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.377> (1994).
- 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* **22**, 1014–7 (1998).
- Chanard, J., Lavaud, S., Randoux, C. & Rieu, P. New insights in dialysis membrane biocompatibility: Relevance of adsorption properties and heparin binding. *Nephrol. Dial. Transpl.* **18**, 252–257. <https://doi.org/10.1093/ndt/18.2.252> (2003).
- Uchino, S. et al. Cytokine dialysis: An ex vivo study. *ASAIO J.* **48**, 650–653. <https://doi.org/10.1097/00002480-200211000-00013> (2002).
- Tomisawa, N. & Yamashita, A. C. Amount of adsorbed albumin loss by dialysis membranes with protein adsorption. *J. Artif. Organs Off. J. Jpn. Soc. Artif. Organs* **12**, 194–9. <https://doi.org/10.1007/s10047-009-0469-0> (2009).

16. Pries, A. R., Neuhaus, D. & Gaehtgens, P. Blood viscosity in tube flow: Dependence on diameter and hematocrit. *Am. J. Physiol.* **263**, H1770–H1778 (1992).
17. Ronco, C., Ghezzi, P. M., Brendolan, A., Crepaldi, C. & Greca, G. L. The haemodialysis system: Basic mechanisms of water and solute transport in extracorporeal renal replacement therapies. *Nephrol. Dial. Transpl.* **13**, 3–9 (1998).
18. Iritani, E. & Katagiri, N. Developments of blocking filtration model in membrane filtration <https://doi.org/10.14356/kona.2016024> (2016).
19. van Beijeren, P., Kreis, P. & Zeiner, T. Development of a generic process model for membrane adsorption. *Comput. Chem. Eng.* **53**, 86–101. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2013.03.005> (2013).
20. Ho, C.-C. & Zydney, A. L. A combined pore blockage and cake filtration model for protein fouling during microfiltration. *J. Colloid Interface Sci.* **232**, 389–399. <https://doi.org/10.1006/jcis.2000.7231> (2000).
21. Palacio, L., Ho, C.-C. & Zydney, A. A combined pore blockage and cake filtration model for protein fouling during microfiltration. *Biotechnol. Bioeng.* **79**, 260–270. <https://doi.org/10.1002/bit.10283> (2002).
22. Gryp, T., Vanholder, R., Vanechoutte, M. & Glorieux, G. p-cresyl sulfate. *Toxins* <https://doi.org/10.3390/toxins9020052> (2017).
23. Leong, S. & Sirich, T. Indoxyl sulfate-review of toxicity and therapeutic strategies. *Toxins* <https://doi.org/10.3390/toxins8120358> (2016).
24. Glorieux, G. & Tattersall, J. Uraemic toxins and new methods to control their accumulation: Game changers for the concept of dialysis adequacy. *Clin. Kidney J.* **8**, 353–362. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfv034> (2015).
25. Yamamoto, S. *et al.* Removal of uremic toxins by renal replacement therapies: A review of current progress and future perspectives. *Renal Replace. Ther.* <https://doi.org/10.1186/s41100-016-0056-9> (2016).
26. Maduell, F. *et al.* High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **24**, 487–497. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012080875> (2013).
27. Blankestijn, P., Grooteman, M., Nube, M. & Bots, M. Clinical evidence on haemodiafiltration. *Nephrol. Dial. Transplant.* **33**, iii53–iii58. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy218> (2018).
28. Masakane, I., Kikuchi, K. & Kawanishi, H. Evidence for the clinical advantages of predilution on-line hemodiafiltration. *Contrib. Nephrol.* **189**, 17–23. <https://doi.org/10.1159/000450635> (2016).
29. Shihamul, Islam M. & Jerzy, S. Study of dialyzer membrane (polyflux 210h) and effects of different parameters on dialysis performance. *Open J. Nephrol.* **3**, 161–167. <https://doi.org/10.4236/ojneph.2013.33029> (2013).
30. Hedayat, A. *et al.* Morphological characterization of the polyflux 210h hemodialysis filter pores. *Int. J. Nephrol.* <https://doi.org/10.1155/2012/304135> (2012).
31. Rockel, A. *et al.* Permeability and secondary membrane formation of a high flux polysulfone hemofilter. *Kidney Int.* **30**, 429–432. <https://doi.org/10.1038/ki.1986.202> (1986).
32. Mares, J. *et al.* Proteomic profiling of blood-dialyzer interactome reveals involvement of lectin complement pathway in hemodialysis-induced inflammatory response. *Proteomics Clin. Appl.* **4**, 829–838 (2010).
33. Urbani, A. *et al.* Proteomic analysis of protein adsorption capacity of different haemodialysis membranes. *Mol. BioSyst.* **8**, 1029–1039. <https://doi.org/10.1039/c2mb05393d> (2012).
34. Aoyagi, S. *et al.* Evaluation of blood adsorption onto dialysis membranes by time-of-flight secondary ion mass spectrometry and near-field infrared microscopy. *Anal. Bioanal. Chem.* **409**, 6387–6396. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0578-1> (2017).
35. Han, S. *et al.* Proteomic investigations into serum proteins adsorbed by high-flux and low-flux dialysis membranes. *Proteomics Clin. Appl.* <https://doi.org/10.1002/prca.201700079> (2017).
36. Urbani, A. *et al.* Proteomic investigations on the effect of different membrane materials on blood protein adsorption during haemodialysis. *Blood Transfus. Trasfusione del sangue* **10 Suppl 2**, s101–s112. <https://doi.org/10.2450/2012.014S> (2012).
37. Wang, F. & Tarabara, V. V. Pore blocking mechanisms during early stages of membrane fouling by colloids. *J. Colloid Interface Sci.* **328**, 464–469. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.09.028> (2008).
38. Maduell, F. *et al.* Medium cut-off dialyzer versus eight hemodiafiltration dialyzers: Comparison using a global removal score. *Blood Purif.* **48**, 167–174. <https://doi.org/10.1159/000499759> (2019).

Acknowledgements

The authors want to thank Dr. Miquel Lozano, Dr. Joan Cid and Mrs. Dolores Perea from Departament de Hemoteràpia i Hemostasia, Hospital Clínic de Barcelona in providing the plasma exchanges and the erythrocyte bags.

Author contributions

M.G. conceived and conducted the experiments. E.B. adapted and assisted in the elution protocol. All authors discussed the results and reviewed the manuscript.

Funding

This study was supported by “Fondo para el Fomento y Ayuda a la Investigación en Diálisis, Sociedad Española de Nefrología 2016” and “Redes Temáticas De Investigación Cooperativa En Salud, REDINREN (RD16/0009/0023) co-funded by ISCIII-Subdirección General de Evaluación and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) ‘Una manera de hacer Europa’”.

Competing interests

FM has received consultancy fees and lecture fees from Amgen, Baxter, BBraun, Fresenius Medical Care, Medtronic and Nipro. The other authors declare no conflicts of interest.

Additional information

Supplementary information is available for this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74528-5>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to M.G.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher’s note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020

Supplementary Information

Assessment of removal and adsorption enhancement of high-flux hemodialyzers in convective therapies by a novel in vitro uremic matrix

Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén and Francisco Maduell

Prolactin	CTA-HDF	PS-HDF	PA-HDF	PMMA-HD	CTA-HD	PS-HD	PA-HD
PMMA-HDF	0.877	0.468	0.010	1.000	0.969	0.015	<0.001
CTA-HDF		0.993	0.027	0.929	1.000	0.026	0.001
PS-HDF			0.034	0.764	1.000	0.035	0.001
PA-HDF				0.052	0.498	0.952	0.005
PMMA-HD					0.962	0.036	0.002
CTA-HD						0.350	0.590
PS-HD							0.190
α_1 -microglobulin							
PMMA-HDF	0.491	0.014	0.007	0.033	0.100	0.023	0.003
CTA-HDF		0.066	0.006	0.084	0.284	0.134	0.001
PS-HDF			0.994	0.495	0.994	0.962	0.994
PA-HDF				0.356	1.000	0.594	0.321
PMMA-HD					0.934	0.275	0.056
CTA-HD						0.762	0.824
PS-HD							0.992
Albumin-dialysate							
PMMA-HDF	0.189	0.097	0.100	0.013	0.111	0.097	0.098
CTA-HDF		0.015	0.010	0.990	0.026	0.016	0.015
PS-HDF			0.281	0.537	0.004	0.699	0.398
PA-HDF				0.598	0.074	0.385	0.532
PMMA-HD					0.747	0.546	0.556
CTA-HD						-	0.005
PS-HD							0.699

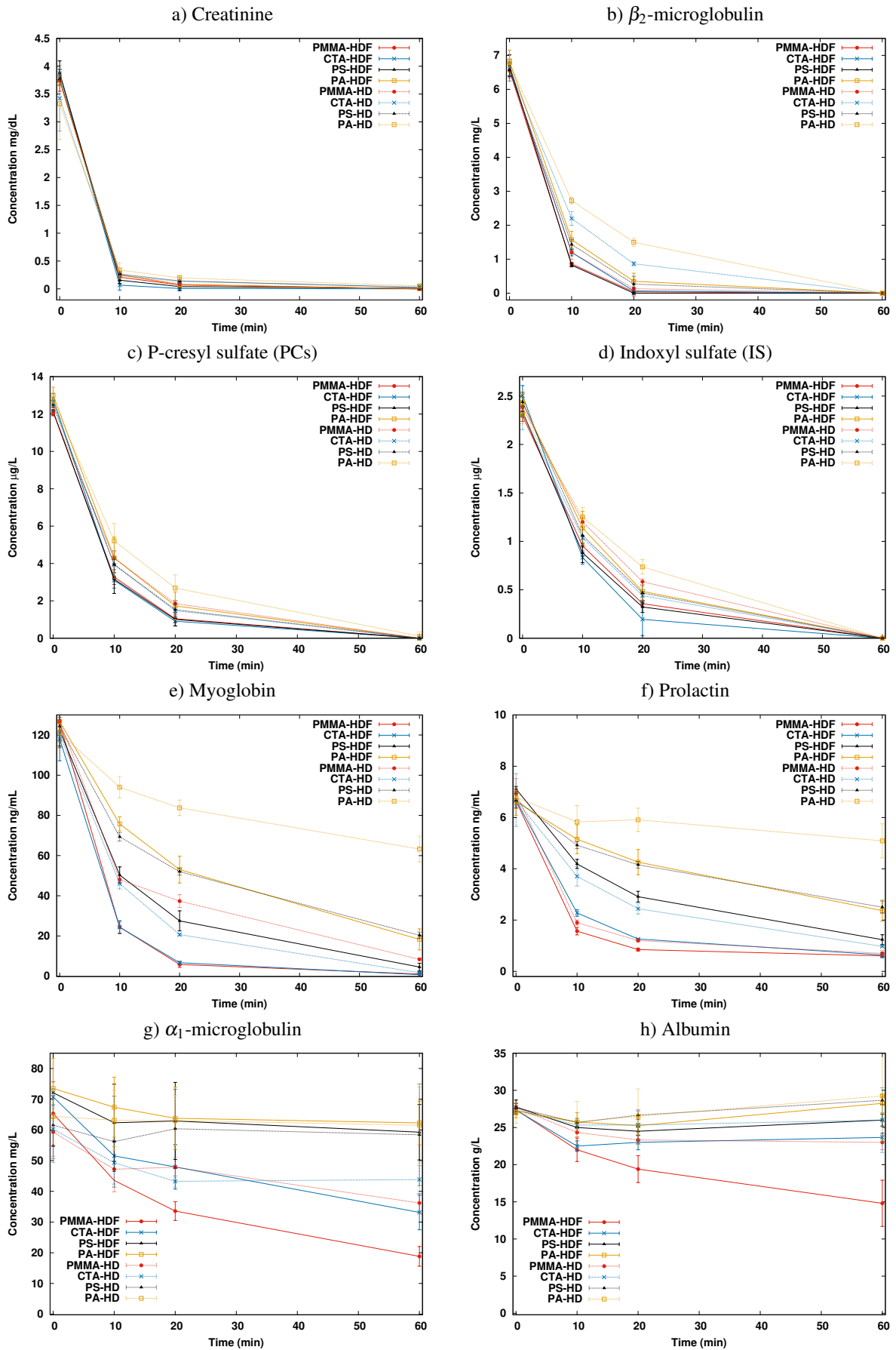
Supplementary Results Table S1. Games-Howell post-hoc statistical significance of the extracted mass, M_{ext} , among different treatment conditions for each solute.

β_2 -microglobulin	CTA-HDF	PS-HDF	PA-HDF	PMMA-HD	CTA-HD	PS-HD	PA-HD
PMMA-HDF	0.016	0.003	0.016	0.501	0.016	0.005	0.010
CTA-HDF		0.163	0.125	0.039	-	0.167	0.782
PS-HDF			0.251	0.028	0.163	1.000	0.218
PA-HDF				0.041	0.125	0.238	0.997
PMMA-HD					0.039	0.035	0.033
CTA-HD						0.167	0.782
PS-HD							0.193
Prolactin							
PMMA-HDF	0.993	0.464	0.438	0.955	0.833	0.429	0.438
CTA-HDF		0.141	0.128	1.000	0.845	0.122	0.122
PS-HDF			0.658	0.024	0.082	0.388	0.828
PA-HDF				0.073	0.130	0.831	1.000
PMMA-HD					0.612	0.084	0.032
CTA-HD						0.136	0.084
PS-HD							0.964
α_1 -microglobulin							
PMMA-HDF	0.163	0.004	<0.001	0.753	<0.001	<0.001	<0.001
CTA-HDF		0.584	0.508	0.153	0.963	0.508	0.508
PS-HDF			0.937	0.125	0.279	0.937	0.937
PA-HDF				0.169	0.031	-	-
PMMA-HD					0.208	0.169	0.169
CTA-HD						0.031	0.031
PS-HD							-
Albumin							
PMMA-HDF	0.103	0.727	0.110	1.000	0.102	0.097	0.099
CTA-HDF		0.151	1.000	0.353	1.000	0.505	1.000
PS-HDF			0.163	0.914	0.148	0.135	0.149
PA-HDF				0.360	0.987	0.076	1.000
PMMA-HD					0.349	0.335	0.351
CTA-HD						0.531	0.997
PS-HD							0.692

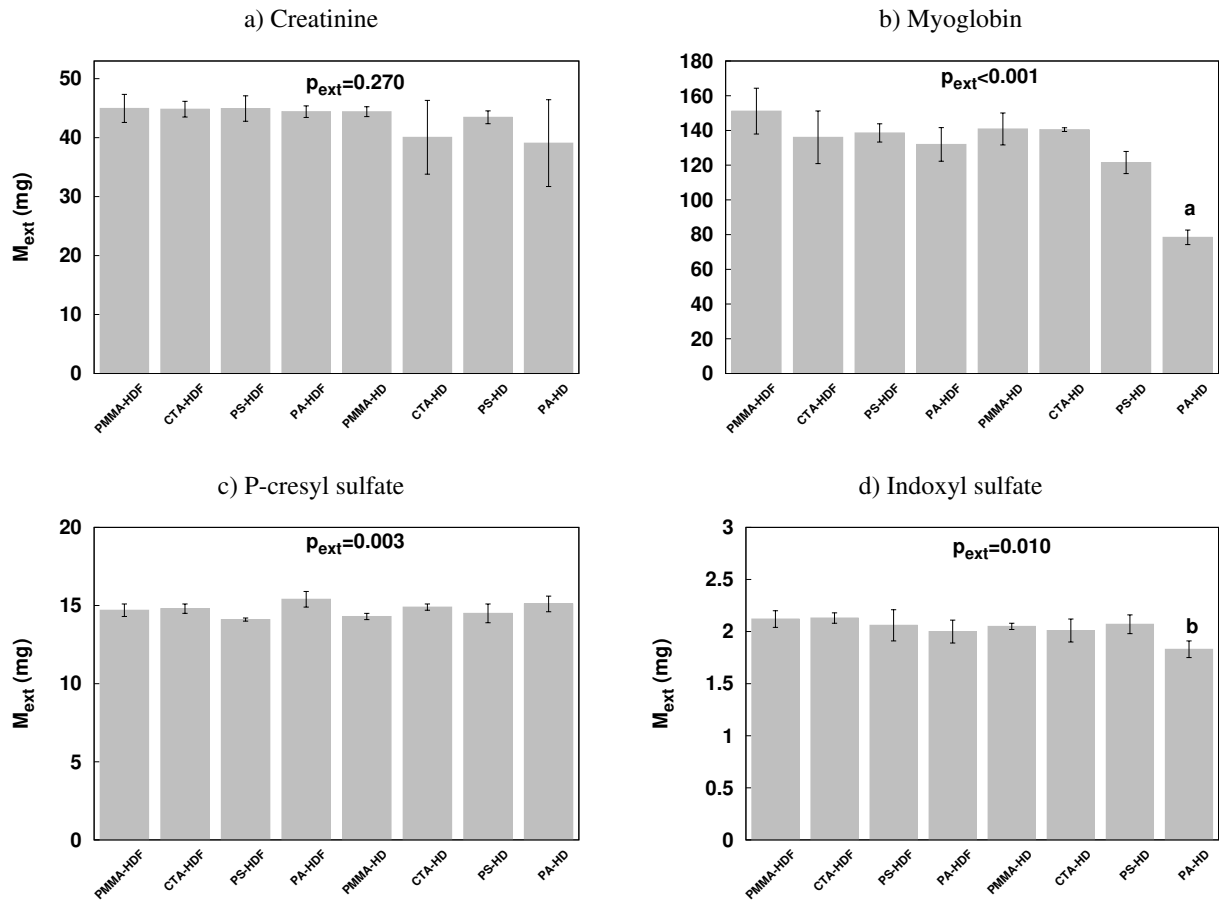
Supplementary Results Table S2. Games-Howell post-hoc statistical significance of the adsorbed mass, M_{ads} , among different treatment conditions for each solute.

Treatment	Kt (L)	K (mL/min)	V_{blood} (L)	V_{sust} (L)	TMP (mmHg)
PMMA-HDF (N=5)	15.2 ± 0.6	247.8 ± 10.6	23.1 ± 0.1	7.4 ± 0.0	203.0 ± 9.2
CTA-HDF (N=3)	15.8 ± 0.4	254.3 ± 5.9	23.5 ± 0.2	7.5 ± 0.1	133.3 ± 2.9
PS-HDF (N=4)	16.1 ± 0.2	254.7 ± 7.6	23.3 ± 0.1	7.5 ± 0.1	118.3 ± 7.6
PA-HDF (N=4)	15.6 ± 0.9	251.3 ± 14.5	23.5 ± 0.2	7.1 ± 0.6	76.3 ± 4.8
PMMA-HD (N=3)	7.4 ± 0.1	122.0 ± 1.0	23.5 ± 0.2	0.0	20.0 ± 0.0
CTA-HD (N=3)	7.1 ± 0.4	114.0 ± 5.6	23.9 ± 0.5	0.0	25.0 ± 5.0
PS-HD (N=3)	7.6 ± 0.1	123.3 ± 3.8	23.6 ± 0.6	0.0	20.0 ± 0.0
PA-HD (N=4)	8.1 ± 0.1	131.5 ± 4.2	23.2 ± 0.4	0.0	20.0 ± 0.0
p	<0.001	<0.001	0.071	<0.001	<0.001

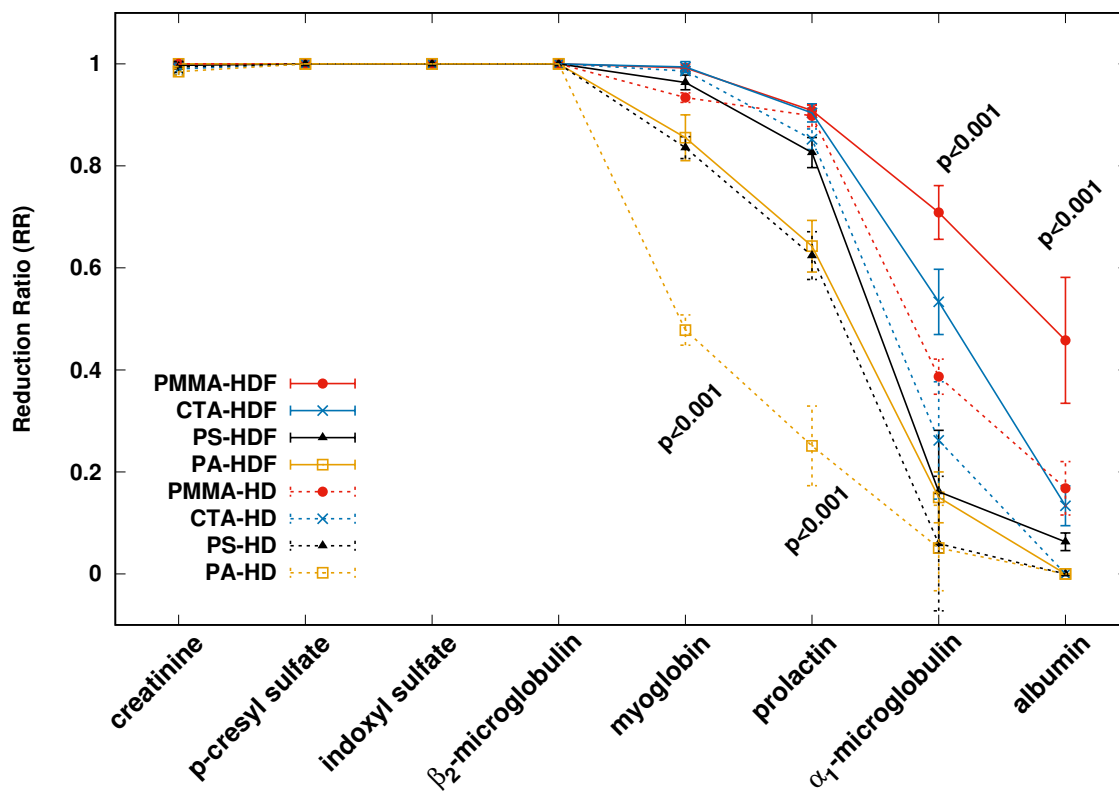
Supplementary Results Table S3. Mean ± standard deviation of dialysis dose (Kt), ionic dialysance (K), total blood processed (V_{blood}), convective volume (V_{sust}) and transmembrane pressure (TMP) for the different conditions tested. The number of replicates is shown in parenthesis. Statistical significance was obtained by the one-way ANOVA test. The removal enhancement due to convective transport is translated in an overall relative increase of K and Kt of 108% and 106% respectively, whilst the total amount of blood processed was nearly the same for all conditions. The lower TMP values obtained for PA-HDF treatments compared to the other convective modalities could be related to the large fiber inner diameter (215 μm) for this membrane.



Supplementary Results Figure S1. Mean and standard deviation (error bars) of concentration decay over time for each molecule and treatment configuration. Distinct removal profiles are evident for all solutes except creatinine.



Supplementary Results Figure S2. Mean and standard deviation (error bars) of the calculated extracted mass M_{ext} for creatinine, myoglobin, total p-cresyl sulfate (PCs) and total indoxyl sulfate (IS). The amount of adsorbed mass for creatinine was unable to determine as a consequence of the experimental processing of the samples. In the case of myoglobin, M_{ads} was below the detection limits in all treatment conditions. For PCs and IS, levels of M_{ads} were unable to obtain. Overall statistical significance between treatments is shown as p_{ext} . ^a $p<0.05$ vs. all other conditions; ^b $p<0.05$ vs. PMMA-HDF and CTA-HDF Games-Howell post-hoc analysis.



Supplementary Results Figure S3. Mean and standard deviation (error bars) for the reduction ratio (RR) for every hemodialyzer and treatment condition. Overall statistical significance among treatments is evident for molecules with a higher MW than β_2 -microglobulin. Symmetrical PMMA and CTA hemodialyzers showed remarkable removal profiles over the range of uremic toxins analyzed despite non-negligible albumin depuration in HDF. The poor depurative efficiency of the PA membrane is demonstrated as only reached a decent removal profile when submitted to HDF.

Distinct Solute Removal Patterns by Similar Surface High-Flux Membranes in Haemodiafiltration: The Adsorption Point of View

Miquel Gomez^a Elisenda Bañon-Maneus^{a, b} Marta Arias-Guillén^c
Néstor Fontseré^c José Jesús Broseta^c Raquel Ojeda^c Francisco Maduell^c

^aLaboratori Experimental de Nefrologia i Trasplantament (LENIT), Fundació Clínic per la Recerca Biomedica (FCRB), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain; ^bRed de Investigación Renal (REDINREN), Madrid, Spain; ^cDepartment of Nephrology, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

Keywords

Adsorption · Albumin · Dialysis membrane ·
Haemodiafiltration · Uraemic toxins

Abstract

Introduction: Haemodialysis (HD) allow depuration of uraemic toxins by diffusion, convection, and adsorption. Online haemodiafiltration (HDF) treatments add high convection to enhance removal. There are no prior studies on the relationship between convection and adsorption in HD membranes. The possible benefits conferred by intrinsic adsorption on protein-bound uraemic toxins (PBUTs) removal are unknown. **Methods:** Twenty-two patients underwent their second 3-days per week HD sessions with randomly selected haemodialysers (polysulfone, polymethylmethacrylate, cellulose triacetate, and polyamide copolymer) in high-flux HD and HDF. Blood samples were taken at the beginning and at the end of the treatment to assess the reduction ratio (RR) in a wide range of molecular weight uraemic toxins. A mid-range removal score (GRS) was also calculated. An elution protocol was implemented to quantify the amount of adsorbed mass (M_{ads}) for each molecule in every dialyser. **Results:** All synthetic membranes achieved higher RR for all toxins when used in HDF, specially the polysulfone haemodialyser, resulting in a $GRS = 0.66 \pm 0.06$ ($p < 0.001$ vs. cellu-

lose triacetate and polyamide membranes). Adsorption was slightly enhanced by convection for all membranes. The polymethylmethacrylate membrane showed expected substantial adsorption of β_2 -microglobulin ($M_{ads}^{HDF} = 3.5 \pm 2.1$ mg vs. $M_{ads}^{HD} = 2.1 \pm 0.9$ mg, $p = 0.511$), whereas total protein adsorption was pronounced in the cellulose triacetate membrane ($M_{ads}^{HDF} = 427.2 \pm 207.9$ mg vs. $M_{ads}^{HD} = 274.7 \pm 138.3$ mg, $p = 0.586$) without enhanced PBUT removal. **Discussion/Conclusion:** Convection improves removal and slightly increases adsorption. Adsorbed proteins do not lead to enhanced PBUTs depuration and limit membrane efficiency due to fouling. Selection of the correct membrane for convective therapies is mandatory to optimize removal efficiency.

© 2021 S. Karger AG, Basel

Introduction

The removal of uraemic toxins [1, 2] (small water-soluble, protein-bound, and middle- to high-molecular weight (MW) solutes through a semi-permeable membrane) is one of the objectives of haemodialysis (HD). Toxin depuration by haemodialysis improved by the shift from diffusive low- and high-flux HD treatments to high convective therapies such as online post-dilutional haemodiafiltration (HDF) as soon as the membrane design

Table 1. Main physicochemical characteristics of the tested haemodialysers

Haemodialyser	PMMA	PS	CTA	PA
Main material	Polymethylmethacrylate	Helixone plus	Cellulose triacetate	Polyamix
Structure	Symmetric	Asymmetric	Symmetric	Asymmetric
Area, m ²	2.1	2.3	2.1	2.1
Av. Blood-side pore radius, nm	7	3.3 (Ronco and Bowry 2001)	7.2 (Sunohara 2011)	20 (Hedayat et al. 2012) (Islam and Szpunar 2013)
Wall thickness, µm	30	35	15	50
Fibre inner diameter, µm	200	210	200	215
S _{β2} -microglobulin	nd	0.9	nd	0.82
Zeta potential, mV*	-25	-5	-20	nd
Kuf, mL/h/mm Hg	41	76	46	85

Data obtained from each haemodialyser brochure and stated references. nd, no data available; Kuf, ultrafiltration coefficient. Ronco and Bowry 2001. Nanoscale modulation of the pore dimensions, size distribution and structure of a new polysulfone-based high-flux dialysis membrane. *International Journal of Artificial Organs*. 24(10):726–35. Sunohara 2011. Cellulose triacetate as a high-performance membrane. *Contributions to Nephrology*. 173:156–63. Hedayat et al. 2012. Morphological characterization of the polyflux 210H hemodialysis filter pores. *International Journal of Nephrology* 2012:1–6. Islam and Szpunar 2013. Study of dialyzer membrane (Polyflux 210H) and effects of different parameters on dialysis performance. *Open Journal of Nephrology* 03(3):161–67. * As suggested by Renaux et al. *Kidney Int*. 1999;55:1097–1103.

achieved the requirements for this type of therapy [3], that is, an ultrafiltration coefficient greater than 20 mL/h/mm Hg/m², a sieving coefficient (S) for β₂-microglobulin greater than 0.6, and an effective convective volume of at least 20% of the total blood volume processed, which led to improvement of middle molecule depuration [4, 5]. Nowadays, a tremendous variety of hollow-fibre HD membranes from cellulosic or synthetic material arranged in a symmetrical or asymmetrical structure [6] that meet the aforementioned criteria are available.

The interaction between the blood and a specific exogenous material with the porous frame of membrane capillary promotes the formation of a concentration polarization (for membranes with $S < 1$) and a protein cake layer [7, 8], related to molecule deposition or adsorption [9–11]. Hitherto, the intrinsic adsorption properties of several haemodialysers have been obtained from HD treatments (with few exceptions [12]) and focussed on inflammatory cytokines and complement [13, 14] and plasma proteins [15, 16]; therefore, there is a lack of information regarding how the high convection in HDF could enhance the membrane adsorption capacities of middle and high MW toxins as well as protein-bound uraemic toxins (PBUTs).

The aim of this study was to obtain in vivo removal and adsorption profiles for a wide range of MW uraemic tox-

ins by 4 distinct materials and structures but with similar surface haemodialysers used in HD and HDF. The understanding of the adsorption mechanisms due to high convection for a given haemodialyser is especially relevant in order to use each dialysis membrane under the most appropriate treatment parameters.

Materials and Methods

Patients and Treatments

Chronic and stable HD patients were recruited. The inclusion criteria were as follows: (i) subject aged over 18 years, (ii) regular attendance at HD programme for more than 3 months, (iii) stable and functional vascular access, (iv) no allergic events for any haemodialyser tested, and (v) negligible residual urine output (<250 mL/day). Exclusion criteria were as follows: (i) allergic reactions to any of the haemodialysers, (ii) dysfunctional vascular access, and (iii) neoplasia or transplant. Each participant underwent the second scheduled 3-days per week HD session using a randomly selected membrane (polysulfone, “PS” FX-1000 Cordiax by Fresenius™; polymethylmethacrylate, “PMMA” BG-2.1U by Toray™; polyamide, “PA” copolymer Polyflux-210H by Gambro™; and cellulose triacetate, “CTA” Sureflux-21UX by Nipro™, see Table 1) in HD or HDF modalities (8 treatments per participant) using a FMC5008 HD device and acetate buffer.

Blood samples were drawn from the fistula needle prior to the patient connection and at the end of the treatment (by reducing the blood flow to 100 mL/min and waiting 15 s) to obtain concentra-

Table 2. Mean ± standard deviation of the parameters obtained by the Therapy Monitor in each treatment condition

	HDF				HD				p value
	PS	PMMA	PA	CTA	PS	PMMA	PA	CTA	
UF, mL/h	516±150	535±154	539±100	534±155	540±124	531±200	505±158	545±152	0.769
UV, mL	2,429±653	2,552±677	2,558±495	2,554±770	2,512±566	2,504±878	2,400±727	2,589±635	0.608
Qd, mL/min	400±1	405±24	400±0	400±0	406±24	406±24	406±24	400±0	0.478
TMP, mm Hg	184±19 ^a	199±22 ^a	182±27 ^a	180±22 ^a	28±3 ^{b-d}	36±6	34±6	31±3	<0.001
Qb, mL/min	403±20	393±32	401±23	401±21	403±20	392±39	398±15	403±30	0.245
Vp, L	113±11	112±12	113±10	113±9	112±12	111±14	113±10	115±11	0.967
td, min	280±21	283±17	280±17	280±17	277±23	282±18	283±21	283±18	0.652
Qi, mL/min	110±13 ^{a, j, k}	86±10 ^{a, i, k, l}	111±13 ^{a, j, k}	75±9 ^{a, i, j, l}	0±0	0±0	0±0	0±0	<0.001
SV, mL	30,464±4,673 ^{a, j, k}	24,073±2,837 ^{a, i, k, l}	30,820±3,901 ^{a, j, k}	20,398±2554 ^{a, i, j, l}	0±0	0±0	0±0	0±0	<0.001
Ht ₀ , %	31±6	32±5	30±6	31±4	32±4	30±4	31±6	30±3	0.239
Ht _f , %	38±6	39±6	37±6	37±5	38±5	37±6	37±6	37±5	0.746
Hg ₀ , g/dL	11±2	11±2	10±2	11±1	11±1	10±1	11±2	11±1	0.199
Hg _f , g/dL	13±2	13±2	12±2	12±1	13±1	12±2	12±2	12±1	0.733
K _{urea} , mL/min	236±26 ^{c, e}	225±14 ^{m, c}	245±19 ^{a, n}	237±13 ^a	218±12 ^f	202±16	212±18	221±14 ^c	<0.001
Kt, L	68.6±10.2 ^c	66.1±5.8 ^{c, h}	71.3±6.9 ^a	69.1±5.8 ^{c, e, h}	62.3±6.6	58.5±6.1 ^g	62.4±7.4	64.9±6.2	<0.001
Kt/V	1.96±0.46 ^f	1.92±0.41 ^f	2.03±0.35 ^{b-d}	1.97±0.36 ^{b, c}	1.79±0.38	1.66±0.27	1.76±0.31	1.85±0.39	0.007

Initial and final haematocrit (Ht₀ and Ht_f) and haemoglobin (Hg₀ and Hg_f) measured by means of BVM. Urea clearance (K_{urea}) and haemodialysis dose (Kt and Kt/V) measured by means of OCM. The overall ANOVA repetitive data test significance (p value) is shown. The Bonferroni post hoc analyses among conditions are also given. UF, ultrafiltration rate; UV, ultrafiltration volume; Qd dialysate flow; TMP, average transmembrane pressure; Qb, Blood flow; Vp total blood processed; td, effective treatment time; Qi, substitution flow; SV, substitution volume; HDF, haemodiafiltration; HD, haemodialysis; OCM, on-line clearance monitoring; BVM, blood volume module. ^ap < 0.001 versus all HD. ^bp < 0.01 versus PA-HD. ^cp < 0.01 versus PMMA-HD. ^dp < 0.01 versus CTA-HD. ^ep < 0.05 versus PA-HD. ^fp < 0.05 versus PMMA-HD. ^gp < 0.05 versus CTA-HD. ^hp < 0.05 versus PS-HD. ⁱp < 0.01 versus PA-HDF. ^jp < 0.01 versus PMMA-HDF. ^kp < 0.01 versus CTA-HDF. ^lp < 0.01 versus PS-HDF. ^mp < 0.05 versus PA-HDF. ⁿp < 0.05 versus PMMA-HDF.

tions (C₀ and C_{post}, respectively) of Cr, β₂-microglobulin, myoglobin, prolactin, α₁-microglobulin, albumin, and total proteins (TP). Levels of total p-cresyl (PCs) and indoxyl sulphate (IS), as PBUTs, were also measured. Concentration levels C_{post} were corrected by the Bergström and Wehle formula [17] (except for Cr, PCs, and IS), according to patient ultrafiltration and dry weight. Parameters related to the patient weight loss such as ultrafiltration rate (UF) and ultrafiltration volume (UV) or treatment progress such as dialysate flow (Qd), transmembrane pressure (obtained by a 3-point method), blood flow (Qb), total blood volume processed (Vp), effective treatment time (td), substitution flow (Qi), and substitution volume (SV) were retrieved by Therapy Monitor software. Initial and final haematocrit (Ht₀ and Ht_f) and haemoglobin (Hg₀ and Hg_f) measured by means of blood volume module and urea clearance (K_{urea}) and dialysis dose (Kt and Kt/V) obtained by means of the online clearance monitoring were also recorded. The reduction ratio (RR) for each molecule and treatment configuration was obtained by using initial C₀ and corrected C_{post} values by the following equation

$$RR = \frac{C_0 - C_{post}}{C_0}$$

The mid-range removal score (GRS) as an overall depuration value was calculated by the equation

$$GRS = \frac{\sum RR_i - RR_{albumin}}{5}$$

where *i* means the 5 non-PBUTs considered. The proposed score is intended to account for the depuration efficiency of a given treatment configuration in a wide range of MW uraemic toxins and assuming albumin removal as a negative effect.

Elution Protocol and Adsorption Quantification

Once the patient was disconnected, an elution protocol presented elsewhere [18] was implemented. The obtained eluate (V_{eluate} ~ 160–250 mL) was collected into 50 mL propylene tubes and stored at –80°C until processing. To quantify the amount of adsorbed mass (M_{ads}) of each molecule, 40 mL of the obtained eluate was pre-filtered by a Filtropur 0.45 μm membrane to remove cellular debris and concentrated by a Vivaspin centrifugal concentrator of 5 kDa cutoff membrane to a final volume (V_{conc}) of 2–4 mL. Finally, 1 mL of the obtained concentrate was assayed to obtain concentration levels (C_{conc}) of the molecules. Thus, M_{ads} was calculated by the following equation

$$M_{ads} \text{ (mg)} = C_{conc} V_{conc} \frac{V_{eluate}}{40}$$

Assay Protocols

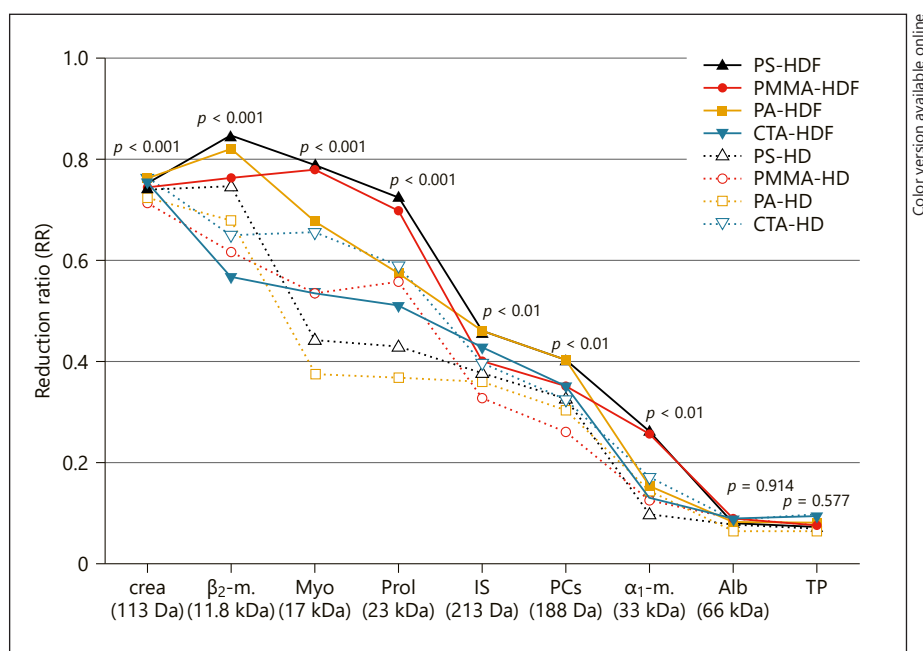
The molecules were determined in plasma and eluate following quality standards as follows: Cr was determined by the Jaffé method, whereas total proteins were obtained by the biuret method, both using an ADVIA 2400 Chemistry by Siemens. β₂-microglobulin was assayed by nephelometry by a Siemens Dimension Vista. Myoglobin was determined in a Dimension EXL by

Table 3. Mean±standard deviation of the pre-dialysis serum concentration levels for every solute and treatment configuration

	HDF				HD				p value
	PS	PMMA	PA	CTA	PS	PMMA	PA	CTA	
Cr, mg/dL	6.64±2.41	6.73±2.23	7.05±2.43	6.76±2.35	6.82±2.33	6.70±2.06	7.00±2.37	6.96±2.21	0.612
β ₂ -microglobulin, mg/L	23.0±5.4	23.1±5.0	23.2±6.3	23.4±5.7	22.0±5.7	23.8±5.9	23.1±5.2	23.9±5.9	0.526
Myoglobin, ng/mL	267.8±144.4	254.5±129.0	257.8±102.6	281.8±185.1	267.0±119.3	280.7±201.0	287.9±200.6	318.4±181.9	0.431
Prolactin, ng/mL	13.8±6.7	14.8±8.9	13.3±5.7	13.7±7.3	14.0±7.1	14.2±6.5	13.9±6.3	13.2±4.6	0.772
PCs, µg/mL	25.00±13.93	25.98±12.29	23.84±11.79	25.98±16.23	25.74±15.38	25.32±13.64	26.53±14.12	26.50±13.46	0.816
IS, µg/mL	17.81±8.48	18.64±8.83	18.69±6.90	18.65±7.80	17.81±6.94	18.99±8.39	19.44±7.40	17.68±7.14	0.761
α ₁ -microglobulin, mg/L	302.4±73.7	319.2±82.0	302.1±80.6	308.5±74.3	316.8±67.6	318.5±94.0	300.4±63.8	305.5±64.6	0.724
Albumin, g/L	36±3	37±4	38±3	37±3	37±5	37±4	38±2	37±3	0.432
TP, g/L	61±6	62±6	63±6	61±5	61±8	62±5	63±7	63±6	0.296

No significant differences were found (ANOVA repetitive data *p* value) for any molecules or treatment conditions studied. HDF, haemodiafiltration; HD, haemodialysis; PCs, p-cresyl; IS, indoxyl sulphate; TP, total proteins.

Fig. 1. RR for each molecule and treatment configuration. Distinct removal patterns are clearly shown. All haemodialysers improved the RR when convection was applied with the exception of the CTA membrane. The binding affinity of PCs and IS affects their depuration profiles as these molecules resembled a high MW solute removal. The *p*-value was obtained by ANOVA repetitive data test. RR, reduction ratio; HDF haemodiafiltration; HD, haemodialysis.



Siemens. α₁-microglobulin was measured by means of Siemens BNII detector. P-cresyl and IS were assayed by UHPLC-MS/MS in NexeraX2 chromatographic equipment. Albumin was assayed by molecular absorption spectrometry.

Statistical Analysis

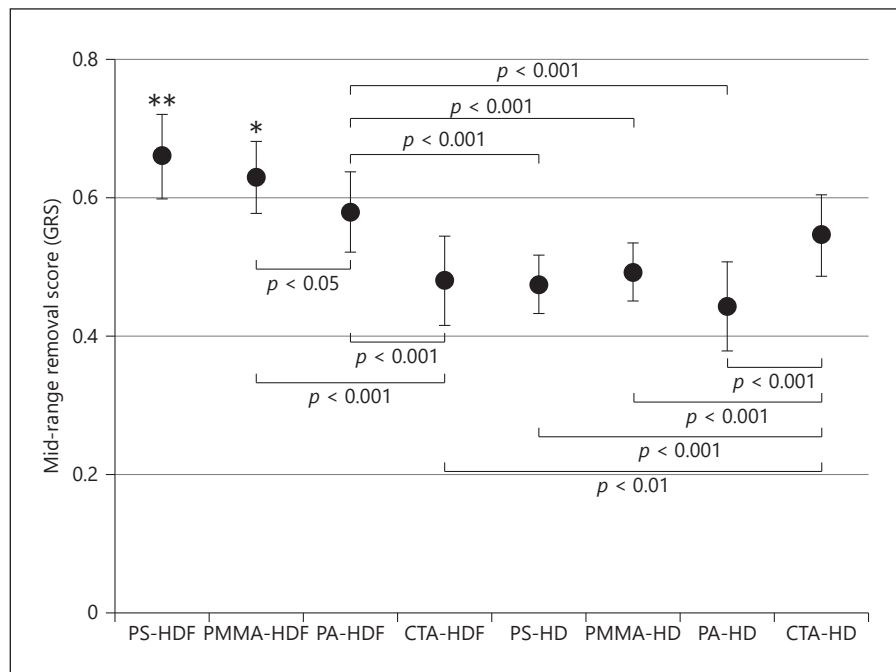
An ANOVA test for repetitive data was implemented to assess the overall statistical significance among treatment conditions, whereas the Bonferroni post hoc analysis was used to obtain all pairwise comparisons among each membrane and convection applied, assuming an $\alpha = 0.05$ and $\beta = 0.20$, performed by the IBM SPSS v19.0 software.

Results

Patient Population and Treatment

Twenty-two anuric patients (15 men) aged 35–88 years and on HD for 5–174 months were recruited after signing the informed consent form. The renal aetiology was hypertensive nephropathy ($n = 9$), diabetic nephropathy ($n = 5$), glomerulonephritis ($n = 2$), polycystic kidney ($n = 1$), and others ($n = 5$). Vascular access was arterio-venous fistula ($n = 15$), catheter ($n = 5$), and PTFE graft ($n = 2$). The anticoagulation agent was sodium heparin

Fig. 2. Mean and standard deviation (error bars) of the GRS for each haemodialyser and treatment condition. All membranes increased their overall score when exposed to HDF with the exception of the CTA, whose overall score decreased. Bonferroni post hoc pairwise significance is shown as follows: ** $p < 0.001$ versus all other membranes and treatments except PMMA-HDF, * $p < 0.001$ versus all HD. GRS, mid-range removal score; HDF, haemodiafiltration; HD, haemodialysis.



($n = 9$), Innohep 10,000 UI/mL ($n = 9$), or no additional anticoagulant ($n = 4$).

The treatment parameters retrieved by the Therapy Monitor are summarized in Table 2. Parameters that have implicit relation with the convection applied, that is, transmembrane pressure, substitution volume, Q_i , K_{urea} , Kt, and Kt/V, obtained statistically significant values depending on the dialyser and convective modality selected, as a consequence of the comparison between HD and HDF treatments.

Removal

No significant differences were found in the pre-dialysis serum concentrations for the solutes analysed among treatment configurations (Table 3). The RR for each solute, membrane, and treatment condition is depicted in Figure 1. The significance among values is given (see online suppl. Figure 1; for all online suppl. material, see www.karger.com/doi/10.1159/000514936). The RR in the range between 12 and 33 kDa was significantly affected by the choice of haemodialyser, as well as the by convective modality. As a general rule, the RR was enhanced by 10–30% when the same membrane was exposed to HDF, with the highest RR values being achieved with the PS membrane for all toxins. The exception was the CTA membrane as it obtained lower values of RR for all non-PBUTs with the convective modality. Of note, how the binding affinity of PCs and IS

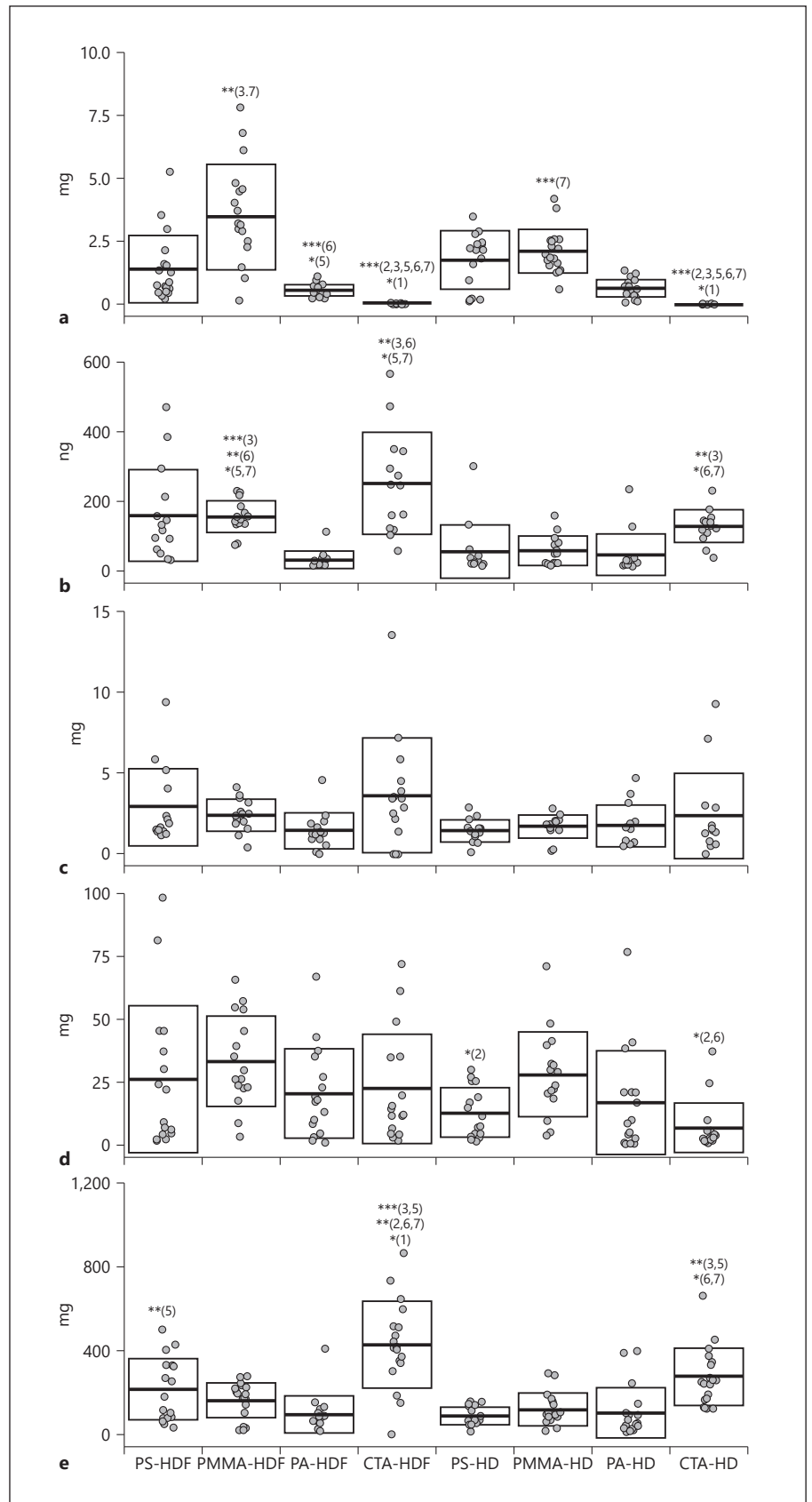
affect their depuration profiles as these molecules resemble a high MW solute (between 23 and 33 kDa). For albumin and TP, no statistically significant differences in RR were detected among treatments, reaching values of around 10%.

The GRS value for each haemodialyser and treatment is shown in Figure 2. Significant differences were found regarding the membrane and convection applied. All synthetic haemodialysers obtained higher values when exposed to HDF with a relative increase of 38, 35, and 28% in the GRS value for PS, PA, and PMMA membranes, respectively. In contrast, the CTA membrane decreased a relative 11% the GRS value switching from HD to HDF ($p < 0.01$), indicating a loss of removal efficiency by HDF.

Adsorption

The amount of adsorbed mass (M_{ads}) for each molecule and treatment type is shown in Figure 3. The adsorption for β_2 -microglobulin by the PMMA haemodialyser was clearly observed as this membrane obtained the highest values compared to the others when exposed to the same convection, reaching $M_{ads} = 3.45 \pm 2.13$ mg in HDF ($p < 0.001$ vs. CTA-HDF and $p < 0.01$ vs. PA-HDF) and $M_{ads} = 2.10 \pm 0.90$ in HD ($p < 0.001$ vs. CTA-HD and PA-HD). Of note, the negligible levels are measured by the CTA membrane, regardless of the treatment type. For prolactin, the amount of M_{ads} was enhanced when the mem-

Fig. 3. Individual measurements (dots) and means and standard deviation (boxes) for the amount of adsorbed mass for the different molecules and treatment conditions. **a** β_2 -microglobulin. **b** Prolactin. **c** α_1 -microglobulin. **d** Albumin. **e** Total proteins. Statistical significance among values obtained by means of Bonferroni post hoc test is indicated as follows: *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, and * $p < 0.05$ versus ((1) PS-HDF, (2) PMMA-HDF, (3) PA-HDF, (4) CTA-HDF, (5) PS-HD, (6) PMMA-HD, (7) PA-HD, and (8) CTA-HD). HDF, haemodiafiltration; HD, haemodialysis.



branes underwent convective treatments, reaching relative increases of 191, 170, and 98% for PS, PMMA, and CTA, respectively, with the exception of the PA membrane. In the case of α_1 -microglobulin, non-significant differences were found regardless of the membrane and convection applied. For albumin, slight differences in adsorbed mass were detected among membranes, obtaining the PMMA membrane with the highest values ($M_{\text{ads}}^{\text{HDF}} = 33.3 \pm 18.0$ mg, $M_{\text{ads}}^{\text{HD}} = 28.0 \pm 16.9$ mg, $p < 0.05$ vs. CTA-HD), whereas the lowest results were obtained for PS-HD ($M_{\text{ads}} = 12.8 \pm 10.0$ mg) and CTA-HD ($M_{\text{ads}} = 6.9 \pm 9.9$ mg). Regarding TP, the CTA membrane showed significant adsorption compared to the other membranes in both treatment modalities reaching the highest values in HDF ($M_{\text{ads}} = 427.2 \pm 207.9$ mg, $p < 0.001$ vs. PA-HDF, $p < 0.01$ vs. PMMA-HDF and $p < 0.05$ vs. PS-HDF), whereas lower but still significant values were obtained in HD ($M_{\text{ads}} = 274.7 \pm 138.3$ mg, $p < 0.01$ vs. PS-HD, $p < 0.05$ vs. PMMA-HD and PA-HD), confirming the adsorption affinity of proteins to this membrane.

Discussion/Conclusion

Herein, we identified the impact of the convection applied in HDF treatments in the removal and adsorption for a wide range of MW solutes in HD membranes from different material and structure but similar area. One of the objectives of HD is the removal of uraemic toxins. The optimization of the mechanical properties of the membrane structure allowed to undergo high convective HDF which resulted in a wide range of MW toxins efficiently removed [19]. In our study, the improvement by shifting from HD to HDF was detected within the 12–33 kDa MW range (except the CTA membrane) as our RR values for Cr, myoglobin, and prolactin are similar to those reported in [20, 21]. Slight discrepancies are attributable to different treatment time and blood flow. Regarding depuration of PBUTs, their binding affinity hampered clearance as only the unbound free fraction is removed [22, 23]. Our results provide evidence that HDF treatments enhance the elimination of this kind of solutes, as reported in [24, 25], whilst the RR values slightly depend on the chosen membrane.

Regarding adsorption, the precise mechanisms of interaction between molecules and haemodialysers are suggested to be more closely related to the pore frame [26] than the nominal surface. The particular capillary structure, membrane hydrophilicity, and inner layer electric potential [27] may give rise to a different adsorption pro-

file. There is extensive literature [28–31] on the adsorptive properties of several HD membranes, including strong negatively charged membranes [32], all used in HD.

The adsorption properties to PMMA membranes for β_2 -microglobulin have been explored in [33–35]. Likewise, the adsorption of this molecule to CTA and PS membranes was also described, among others, by Urbani et al. [36]. Our results confirm these findings, as we obtained the highest M_{ads} for the PMMA membrane both in HD and HDF. We suspect that the negligible adsorption of β_2 -microglobulin to the CTA compared to the PMMA membrane, both of which have similar pores sizes and structure, could be attributed to electrostatic interactions. CTA is a hydrophilic negatively charged membrane, whereas the electrical configuration of β_2 -microglobulin is globally negative at physiological pH (isoelectric point, $pI = 5.7$) [37]. This particular hydrophilicity lead to repulsive interactions between the molecule and the membrane, which allows free movement of the molecule through the pore structure (maintaining removal) and preventing adsorption. In contrast, adsorption to hydrophobic PMMA may be caused by the interaction of non-optimal wettability domains throughout the pore channel and the local electric charges of β_2 -microglobulin, as suggested by [38].

For molecules as prolactin and α_1 -microglobulin, no available literature was found regarding adsorption to HD membranes. Our results show that all haemodialysers have adsorptive capacities to these solutes, which was particularly marked in the CTA membrane in HDF. In these cases, we hypothesize that the steric hindrance and the relative size between the molecule and the membrane pore ratio (r_s/r_p), according to the pore models [39–41], could be the main mechanisms of adsorption. Prolactin has an average Stokes radius [42] of 2.10 nm which leads to a (r_s/r_p) ~ 0.3 for CTA membrane. This ratio allows the molecule to enter the pore channel and be adsorbed due to the electronic density of this molecule. A similar behaviour may be present for α_1 -microglobulin, with a slightly increased Stokes radius (~ 2.4 nm) and a strongly negative electronic density, resulting in non-significant differences regarding adsorption among membranes.

For albumin, with an r_s around 3.5–3.6 nm [43], adsorption to the PMMA membrane was detected regardless of the convection, confirming the results presented by Tomisawa et al. [44]. In this case, we suspect that the ratio (r_s/r_p) ≥ 0.5 and the formation of a protein layer in the first 20–30 min of blood to membrane exposure as suggested in [45, 46] may lead to a similar surface adsorp-

tion for all membranes (except the PA membrane). For this latter case, a sub-layer with a constricted pore size along the wall thickness may act as the proper filtration barrier. For TP, the convection added to the treatment enhanced the adsorption of proteins to all haemodialysers and was significantly pronounced in CTA membranes as demonstrated in [47]. The affinity of proteins to the hydrophilic CTA membrane and the adsorptive enhancement due to convection was already detected in [48, 49] and leads to deleterious membrane fouling and therefore to a reduction in removal, without relevant impact in the PBUT depuration.

In conclusion, adsorption represents a small fraction of uraemic toxin removal by the tested haemodialysers and is slightly enhanced by convection in HDF. Protein adsorption did not increase removal and reduced CTA haemodialyser performance in HDF due to fouling (reduced GRS and increased TP adsorption). Selection of the correct membrane for convective therapies is mandatory to optimize removal efficiency.

Limitations

Adsorbed myoglobin, PCs, and IS could not be determined due to detection threshold. A continuous dialysate sampling would have allowed the quantification of a complete mass balance through the membrane. The inclusion of a strongly adsorptive AN69 membrane would have given completeness to the study. Some conclusions were based on the pore sizes reported by the manufacturer and the literature which may not accurately reflect the intricate membrane structure or the underlying pore gradients.

References

- 1 Duranton F, Cohen G, De Smet R, Rodriguez M, Jankowski J, Vanholder R, et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol*. 2012; 23(7):1258–70.
- 2 Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int*. 2003;63(5):1934–43.
- 3 Tattersall JE, Ward RA. Online haemodiafiltration: definition, dose quantification and safety revisited. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(3):542–50.
- 4 Maduell F, Moreso F, Pons M, Ramos R, Mora-Macià J, Carreras J, et al. High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2013; 24(3):487–97.
- 5 Canaud B, Vienken J, Ash S, Ward RA. Hemodiafiltration to address unmet medical needs ESKD patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018.
- 6 Ronco C, Clark WR. Haemodialysis membranes. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(6):394–410.
- 7 Henderson LW. Biophysics of ultrafiltration and hemofiltration. *Replacement Renal Funct Dial*. 1989;300–26.
- 8 Clark WR, Gao D. Low-molecular weight proteins in end-stage renal disease: potential toxicity and dialytic removal mechanisms; 2002. Vol. 41–7.
- 9 Baumgartner-Parzer SM, Seyfert UT, Mannhalter C. Possible clinical effects of the interaction of hemodialysis membranes with adhesion proteins. *Kidney Int*. 1995;47(4):1115–20.
- 10 Sun S, Yue Y, Huang X, Meng D. Protein adsorption on blood-contact membranes. *J Membr Sci*. 2003;222(1–2):3–18.

Acknowledgements

We would like to express our gratitude to all participating patients, as well as to all the staff of the Dialysis i Recerca Aplicada Clínic Centre of Hospital Clínic of Barcelona for their enthusiasm and collaboration in this study.

Statement of Ethics

This single-centre prospective study was approved by the Ethics Committee of Hospital Clínic de Barcelona (code HCB/2016/0057) and conducted following the principles of the Helsinki Declaration. All patients have given written informed consent.

Conflict of Interest Statement

Francisco Maduell has received consultancy fees and lecture fees from Amgen, Baxter, BBraun, Fresenius Medical Care, Medtronic, and Nipro. The other authors declare no conflicts of interest.

Funding Sources

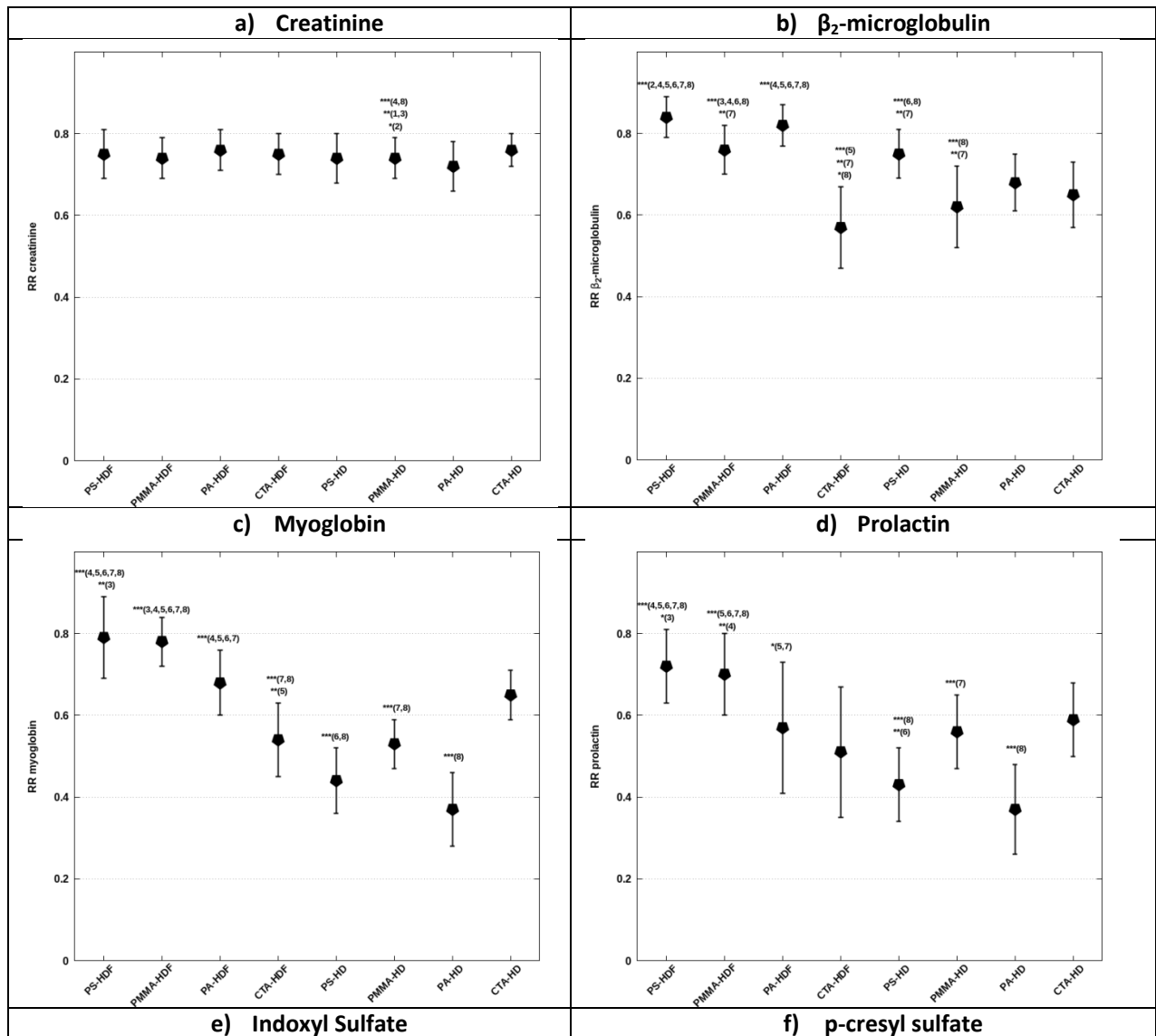
This study was supported by the grant from “Fondo de Investigación Sanitaria, FIS PI17/00,108.”

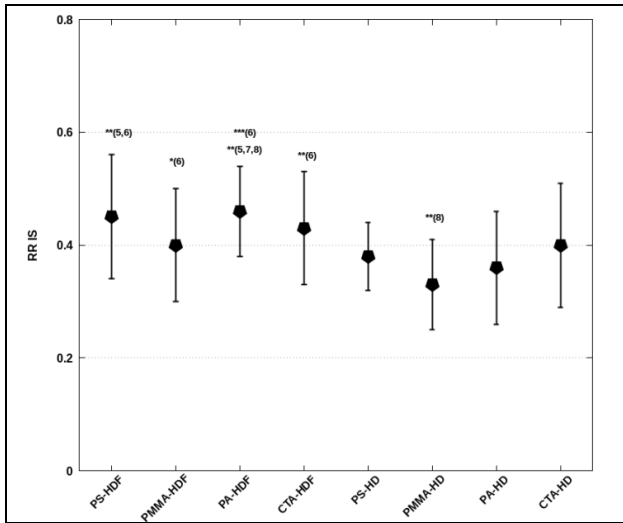
Author Contributions

Conceptualization: Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén, Raquel Ojeda, Néstor Fontseré, and Francisco Maduell. Formal analysis: Miquel Gomez. Funding acquisition: Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, Marta Arias-Guillén, and Francisco Maduell. Investigation: Miquel Gomez, Elisenda Bañon-Maneus, and Marta Arias-Guillén. Methodology: Miquel Gomez and Elisenda Bañon-Maneus. Supervision: Raquel Ojeda, Néstor Fontseré, and Francisco Maduell.

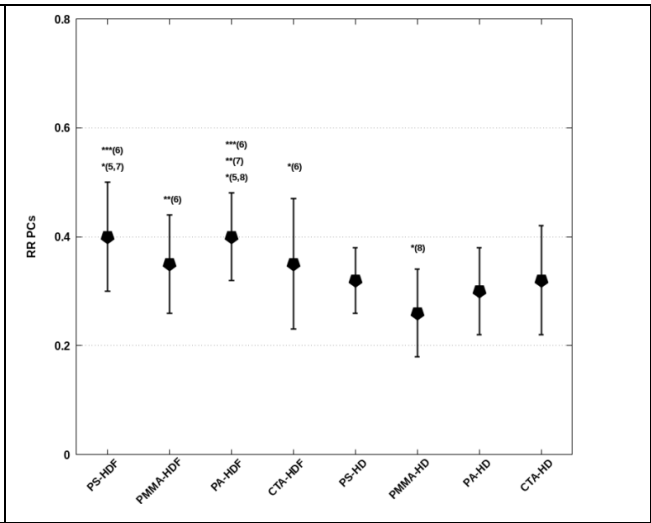
- 11 Grandi F, Bolasco P, Palladino G, Sereni L, Caiazza M, Atti M, et al. Adsorption in extracorporeal blood purification: how to enhance solutes removal beyond diffusion and convection. *Hemodialysis InTech*. 2013;381–408.
- 12 Naseeb U, Zarina S, Jägerbrink T, Shafqat J, Jörnvall H, Axelsson J. Differential hemoglobin a sequestration between hemodialysis modalities. *Biomol Concepts*. 2017;8(2):125–9.
- 13 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(12):1014–7.
- 14 Mares J, Thongboonkerd V, Tuma Z, Moravec J, Matejovic M. Specific adsorption of some complement activation proteins to polysulfone dialysis membranes during hemodialysis. *Kidney Int*. 2009;76(4):404–13.
- 15 Aoyagi S, Hayama M, Hasegawa U, Sakai K, Tozu M, Hoshi T, et al. Estimation of protein adsorption on dialysis membrane by means of TOF-SIMS imaging. *J Membr Sci*. 2004;236(1–2):91–9.
- 16 Aoyagi S, Abe K, Yamagishi T, Iwai H, Yamaguchi S, Sunohara T. Evaluation of blood adsorption onto dialysis membranes by time-of-flight secondary ion mass spectrometry and near-field infrared microscopy. *Anal Bioanal Chem*. 2017;409(27):6387–96.
- 17 Bergström J, Wehle B. No change in corrected beta 2-microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *Lancet*. 1987;1(8533):628–9.
- 18 Gomez M, Bañon-Maneus E, Arias-Guillén M, Maduell F. Assessment of removal and adsorption enhancement of high-flux hemodialyzers in convective therapies by a novel in vitro uremic matrix. *Sci Rep*. 2020;10(1):1–9.
- 19 Penne EL, Van Berkel T, Van der Weerd NC, Grooteman MP, Blankestijn PJ. Optimizing haemodiafiltration: tools, strategy and remaining questions. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(12):3579–81.
- 20 Potier J, Queffeuilou G, Bouet J. Are all dialyzers compatible with the convective volumes suggested for postdilution online hemodiafiltration? *Int J Artif Organs*. 2016;39(9):460–70.
- 21 Santos García A, Macías Carmona N, Vega Martínez A, Abad Estébanez S, Linares Grávalos T, Aragoncillo Saucó I, et al. Removal capacity of different high-flux dialyzers during postdilution online hemodiafiltration. *Hemodial Int*. 2019;23(1):50–7.
- 22 Gryp T, Vanholder R, Vaneechoutte M, Glorieux G. p-cresyl sulfate. *Toxins*. 2017;9(2).
- 23 Leong SC, Sirich TL. Indoxyl sulfate-review of toxicity and therapeutic strategies. *Toxins*. 2016;8(12):358.
- 24 Krieter DH, Hackl A, Rodriguez A, Chenine L, Moragues HL, Lemke HD, et al. Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(1):212–8.
- 25 Maheshwari V, Thijssen S, Tao X, Fuertinger DH, Kappel F, Kotanko P. In silico comparison of protein-bound uremic toxin removal by hemodialysis, hemodiafiltration, membrane adsorption, and binding competition. *Sci Rep*. 2019;9(1):909.
- 26 Chelamcharla M, Leyboldt JK, Cheung AK. Dialyzer membranes as determinants of the adequacy of dialysis. *Semin Nephrol*. 2005;25(2):81–9.
- 27 Kubiak-Ossowska K, Jachimaska B, Al Qaraghuli M, Mulheran PA. Protein interactions with negatively charged inorganic surfaces. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 2019;41:104–17.
- 28 Mares J, Richtrova P, Hricinova A, Tuma Z, Moravec J, Lysak D, et al. Proteomic profiling of blood-dialyzer interactome reveals involvement of lectin complement pathway in hemodialysis-induced inflammatory response. *Proteomics Clin Appl*. 2010;4(10–11):829–38.
- 29 Pieroni L, Levi Mortera S, Greco V, Sirolli V, Ronci M, Felaco P, et al. Biocompatibility assessment of haemodialysis membrane materials by proteomic investigations. *Mol Biosyst*. 2015;11(6):1633–43.
- 30 Bonomini M, Pavone B, Sirolli V, Del Buono F, Di Cesare M, Del Boccio P, et al. Proteomics characterization of protein adsorption onto hemodialysis membranes. *J Proteome Res*. 2006;5(10):2666–74.
- 31 Urbani A, Lupisella S, Sirolli V, Bucci S, Amoroso L, Pavone B, et al. Proteomic analysis of protein adsorption capacity of different haemodialysis membranes. *Mol Biosyst*. 2012;8(4):1029–39.
- 32 Randoux C, Gillery P, Georges N, Lavaud S, Chanard J. Filtration of native and glycosylated beta2-microglobulin by charged and neutral dialysis membranes. *Kidney Int*. 2001;60(4):1571.
- 33 Birk HW, Kistner A, Wizemann V, Schütterle G. Protein adsorption by artificial membrane materials under filtration conditions. *Artif Organs*. 1995;19(5):411–5.
- 34 Campistol JM, Torregrosa JV, Ponz E, Fenolosa B. Beta-2-microglobulin removal by hemodialysis with polymethylmethacrylate membranes. *Contrib Nephrol*. 1999;125:76–85.
- 35 Masakane I, Esashi S, Yoshida A, Chida T, Fujieda H, Ueno Y, et al. A new polymethylmethacrylate membrane improves the membrane adhesion of blood components and clinical efficacy. *Ren Replace Ther*. 2017;3(1):32.
- 36 Urbani A, Sirolli V, Lupisella S, Levi-Mortera S, Pavone B, Pieroni L, et al. Proteomic investigations on the effect of different membrane materials on blood protein adsorption during haemodialysis. *Blood Transfus*. 2012;10(Suppl 2):s101–12.
- 37 Moachon N, Boullange C, Fraud S, Vial E, Thomas M, Quash G. Influence of the charge of low molecular weight proteins on their efficacy of filtration and/or adsorption on dialysis membranes with different intrinsic properties. *Biomaterials*. 2002;23(3):651–8.
- 38 Valette P, Thomas M, Déjardin P. Adsorption of low molecular weight proteins to hemodialysis membranes: experimental results and simulations. *Biomaterials*. 1999;20(17):1621–34.
- 39 Yamashita AC, Sakurai K. Dialysis membranes — Physicochemical structures and features. *Updates in Hemodialysis InTech*. 2015.
- 40 Yamamoto K, Hayama M, Matsuda M, Yakushiji T, Fukuda M, Miyasaka T, et al. Evaluation of asymmetrical structure dialysis membrane by tortuous capillary pore diffusion model. *J Membr Sci*. 2007;287(1):88–93.
- 41 Kokubo K-i, Sakai K. Evaluation of dialysis membranes using a tortuous pore model. *AIChE J*. 1998;44(12):2607–19.
- 42 Masakane I, Kikuchi K, Kawanishi H. Evidence for the clinical advantages of predilution on-line hemodiafiltration. *Contrib Nephrol*. 2016;189:17–23.
- 43 Boschetti-de-Fierro Adriana, Voigt Manuel, Storr Markus, Krause Bernd. MCO Membranes: Enhanced Selectivity in High-Flux Class. *Sci Rep*. 2015;5(1).
- 44 Tomisawa N, Yamashita AC. Amount of adsorbed albumin loss by dialysis membranes with protein adsorption. *J Artif Organs*. 2009;12(3):194–9.
- 45 Rockel A, Hertel J, Fiegel P, Abdelhamid S, Panitz N, Walb D. Permeability and secondary membrane formation of a high flux polysulfone hemofilter. *Kidney Int*. 1986;30(3):429–32.
- 46 Kim TR, Hadidi M, Motevalian SP, Sunohara T, Zydny AL. Effects of plasma proteins on the transport and surface characteristics of polysulfone/polyethersulfone and asymmetric cellulose triacetate high flux dialyzers. *Artif Organs*. 2018;42(11):1070–8.
- 47 Bonomini M, Pieroni L, Di Liberato L, Sirolli V, Urbani A. Examining hemodialyzer membrane performance using proteomic technologies. *Ther Clin Risk Manag*. 2018;14:1–9.
- 48 Maduell F, Ojeda R, Arias-Guillén M, Fontseré N, Vera M, Rodas L, et al. A new generation of cellulose triacetate suitable for online haemodiafiltration. *Nefrologia*. 2018 Mar-Apr;38(2):161–8.
- 49 Floege J, Granolleras C, Deschodt G, Heck M, Baudin G, Branger B, et al. High-flux synthetic versus cellulosic membranes for beta 2-microglobulin removal during hemodialysis, hemodiafiltration and hemofiltration. *Nephrol Dial Transplant*. 1989;4(7):653.

Figure S1. Mean \pm standard deviation of the reduction ratio (RR) for each treatment and molecule. A) Creatinine. B) β_2 -microglobulin. C) Myoglobin. D) Prolactin. E) Indoxyl Sulfate. F) P-cresyl sulfate. G) α_1 -microglobulin. H) Albumin. Bonferroni pairwise significance among values is indicated as follows, ***p<0.001, **p<0.01 and *p<0.05 vs. (1- PS-HDF, 2- PMMA-HDF, 3- PA-HDF, 4- CTA-HDF, 5- PS-HD, 6- PMMA-HD, 7- PA-HD, 8- CTA-HD).

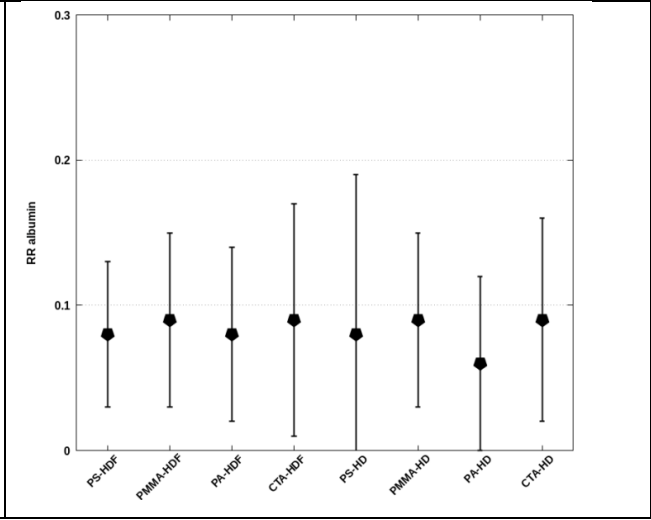
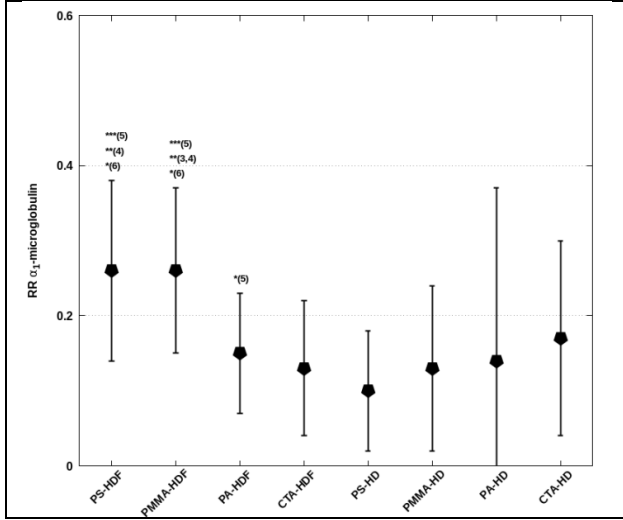




g) α_1 -microglobulin



h) albumin



A unidimensional diffusion model applied to uremic toxin kinetics in haemodiafiltration treatments

MIQUEL GOMEZ*

Laboratori Experimental de Nefrologia i Trasplantament (LENIT), Fundació Clínic per a la Recerca Biomèdica (FCRB), Hospital Clínic de Barcelona, Spain

*Corresponding author. E-mail: mgomezu@clinic.ub.es

AND

FRANCISCO MADUPELL

Department of Nephrology and Renal Transplantation, Institut Clínic de Nefrologia i Urologia (ICNU), Hospital Clínic de Barcelona, Villarroel 170, Barcelona, Spain and Laboratori Experimental de Nefrologia i Trasplantament (LENIT), Fundació Clínic per a la Recerca Biomèdica (FCRB), Hospital Clínic de Barcelona, Spain

[Received on 28 February 2017; revised on 11 April 2018; accepted on 21 May 2018]

Kinetic modelling in haemodialysis is usually based upon the resolution of volume-defined compartment models. The interaction among these compartments is described by purely diffusive processes. In this paper we present an alternative kinetic model for uremic toxins in post-dilutional haemodiafiltration treatments by means of a unidimensional diffusion equation. A wide range of solutes such as urea, creatinine, β_2 -microglobulin, myoglobin and prolactin were studied by imposing appropriate boundary and initial conditions in a virtual $[0,1]$ domain. The diffusivity along the domain and the extraction rate at the dialyser are the kinetic parameters which were fitted by least-squares for every studied solute. The accuracy of the presented volumeless model as well as the behavior of the proposed kinetic parameters could be an alternative to the compartment description for a variety of molecular weight uremic toxins undergoing different treatment configurations.

Keywords: diffusion equation; hemodiafiltration; kinetic modelling; uremic toxins.

1. Introduction

Haemodialysis is a renal replacement therapy designed for the management of three major issues in the End Stage Renal Disease population: to maintain uremic toxin concentration within tolerable levels, to ensure an optimal electrolyte balance in blood as well as to control the prone overhydration status of the patients. The treatment is performed by means of a blood closed-loop circuit between the patient and a hollow fibre membrane (or dialyser). Hence, uremic toxins are eliminated by means of diffusion through the membrane (Sargent & Gotch, 1996) which is surrounded by a pure and electrolyte controlled liquid: the dialysate. The set-up of a haemodialysis treatment is performed by adjusting specific parameters such as the blood and dialysate flows, Q_b (ml/min) and Q_d (ml/min), respectively; the time treatment, t_d (min); and the extravascular water removal ratio or ultrafiltrate, UF (ml/min) for every individual. Among the different haemodialysis techniques, the post-dilutional on-line haemodiafiltration (OL-HDF) has demonstrated to obtain the best outcomes in terms of survival (Maduell *et al.*, 2013; Tattersall & Ward, 2013) and quality of life. Moreover, it is also considered

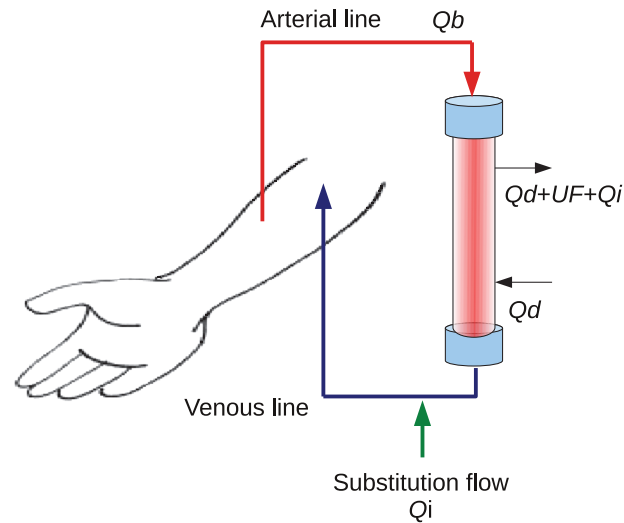
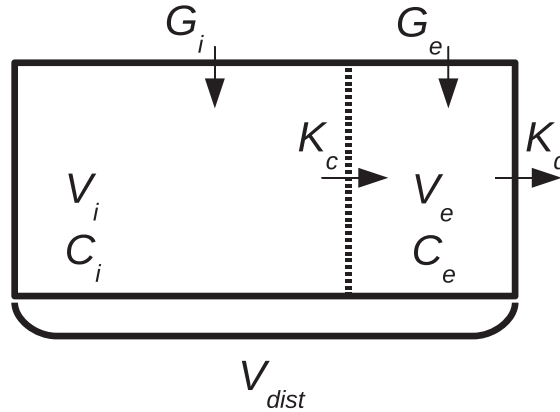


FIG. 1. Schematic diagram of a post-dilutional haemodiafiltration treatment. Arterial and venous lines are connected to the dialyser in a close-loop circuit, allowing a continuum uremic toxin removal process, where the blood (Q_b) and dialysate flow (Q_d) enter at the dialyser in a countercurrent configuration. The overpressure held at the dialyser leads to a convective flow (Q_i), which is post-filter infused to the patient in the same amount to avoid an excessive haemoconcentration. The patient weight reduction is obtained by means of the UF flow.

as one of the most efficient uremic toxin depuration treatment (Maduell *et al.*, 2002; Cornelis *et al.*, 2014), enhancing the removal of medium and high molecular weight (MW) solutes by the addition of a considerable degree of convection at the dialyser. Thus, the overpressure applied promotes a great extraction of plasmatic water enhancing the elimination of the aforementioned toxins by solvent drag. To avoid an excessive extravascular volume depletion, a substitution flow, Q_i (ml/min) is added to the blood, before being returned to the patient (see Fig. 1).

The mathematical models of solute kinetics applied to haemodialysis are usually implemented by means of mass conservation equations in order to predict the concentration evolution over time for every uremic surrogate during the treatment and post-treatment time intervals. In the particular case of uremic toxins, the most recurrent physical description is the Variable Volume Dual Pool (VVDP) model (see for instance Sprenger *et al.*, 1983; Vanholder *et al.*, 1996; Clark *et al.*, 1999; Waniewski, 2006; Eloot *et al.*, 2012; Azar *et al.*, 2013 among others). The VVDP models (Fig. 2) split the total distribution volume (V_{dist}) of each solute into an internal and an external volume (or compartment), being the latter to which the dialyser has direct access. Moreover, these volumes are supposed to be connected in series and allowed to interact among each other by diffusion as a consequence of the concentration unbalance. Furthermore, the kinetic representation of a solute by the VVDP models is given by two specific parameters such as the dialyser clearance K_d (ml/min), which denotes the efficiency of the depuration for every solute and the mass transfer coefficient K_c (ml/min) (Schneiditz *et al.*, 1995), which describes the overall solute transfer flux from one compartment to the other. These models are the systems of minimal size that allows to simulate the solute concentration decay and shifts among tissues in a haemodialysis treatment and mimic the post-treatment rebound phenomenon (the abrupt increase of solute concentration in blood due to the concentration unbalance among body compartments), which is of paramount importance in prescribing the most efficient treatment considering the larger weekend periods.

Other proposed models have been also solved to incorporate a more physiological related assumptions regarding the toxin removal kinetics. For instance the regional blood flow model



$$\begin{aligned} \frac{d(V_e C_e)}{dt} &= K_c(C_i - C_e) - K_d C_e + G_e \\ \frac{d(V_i C_i)}{dt} &= -K_c(C_i - C_e) + G_i \end{aligned} \tag{1.1}$$

FIG. 2. Schematic representation of the VVDP model. The total distribution volume (V_{dist}) for a given solute is split in an internal (i) and an external (e) compartment with defined volumes, solute concentrations and amount of solute per minute (or generation) injected to the system (V , C and G , respectively). The external compartment is assumed to have direct access to the dialyser. The mass transfer coefficient, K_c , and the dialyser clearance, K_d , are the two kinetic parameters. The mass balance equations are also shown.

(Schneiditz *et al.*, 1993, 2009; Maheshwari *et al.*, 2011) is a parallel loop variation of the VVDP model, which is an interesting approach to simulate the solute kinetics considering the high- and low-flow blood perfusion body tissues, as well as incorporate the cardiac output and the cardiopulmonary and access recirculation as known parameters. Furthermore, the more general description of the multi-compartment models (Depner, 1991; Schneiditz & Daugirdas, 2001; Korohoda & Schneiditz, 2013) is able to give for each organ or tissue a modelled entity.

However, all the aforementioned diffusive models strongly depend upon the assumed V_{dist} of every solute which is not always an available value and is often based on the total water body volume, obtained from anthropometric measurements (Watson *et al.*, 1980) with a high degree of uncertainty. Moreover, the fraction of every compartment and the total distribution volume, it is well known for urea, creatinine and β_2 -microglobulin whereas are not usually described in the literature for high MW uremic toxins such as myoglobin and prolactin.

The aim of this study is to present and test a volumeless unidimensional diffusion model with proper kinetic parameters, in order to reproduce the diffusion-based description of the compartment models as well as to overcome their great dependence upon the assumed V_{dist} .

2. Mathematical model

2.1 Patient data and measurements

The same samples from the study by Maduell *et al.* (2015) were used in the present model. 10 anuric patients underwent four OL-HDF treatments in consecutive sessions. Each patient received two 4-h

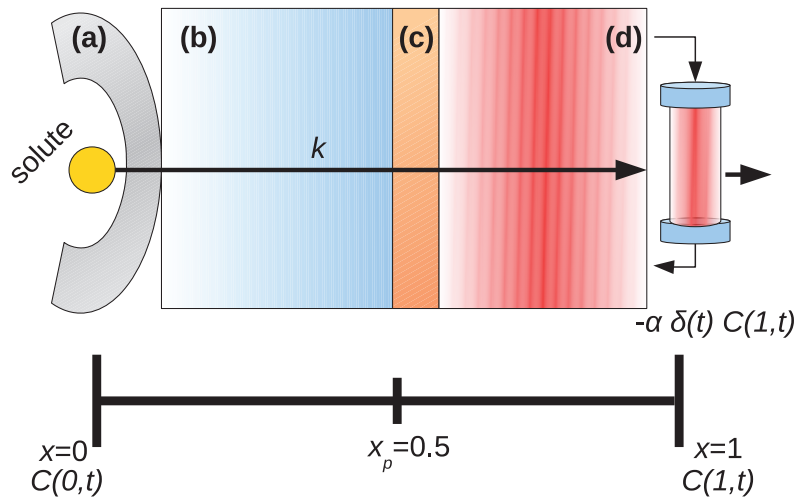


FIG. 3. Representation of the unidimensional model showing the schematic path for a given solute which diffuses from its inner location in the cell where it is generated ($x = 0$) to the blood-dialyser interaction surface ($x = 1$). The different proposed regions are the following: (a) the cell membrane, (b) the interstitial space, (c) the arterial wall and (d) the bloodstream. The model kinetic parameters α and k are also shown.

sessions ($t_d = 240$ min, infusion flow 50 or 100 ml/min: 4h-Qi50, 4h-Qi100) and two 8-h sessions ($t_d = 480$ min, infusion flow 50 or 100 ml/min: 8h-Qi50, 8h-Qi100). Blood samples were taken hourly and up to the third post-dialysis hour, $t_r = t_d + 180$ min, to measure levels of urea, creatinine, β_2 -microglobulin, myoglobin and prolactin. Concentration levels of every solute were normalized to those at the beginning of each session to allow comparison among treatments. Levels of β_2 -microglobulin, myoglobin and prolactin were corrected using the Bergström and Wehle method (Bergström & Wehle, 1987) due to haemoconcentration.

2.2 Model description

Let us consider L , the theoretical length of the path throughout a uremic toxin diffuses from the most inner point of its location among the body tissues (e.g. inside a hepatic cell for urea or a muscle cell for creatinine and myoglobin) to the point of its clearance at the dialyser (the blood-membrane contact surface). Additionally, let us assume this path as a straight line (uniaxial description) with a length value of $L = 1$ and generic dimensions as depicted in Fig. 3. The diffusion equation along the proposed uniaxial problem can be written as follows:

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = k \left(\frac{\partial^2 C(x, t)}{\partial x^2} \right) + G(x), \quad (2.1)$$

where, $C(x, t)$ is the solute concentration, k , the diffusivity and $G(x)$, the solute generation or source term.

2.2.1 Source term. Let us consider the patient samples represent solute level values at $C(1, t)$. The estimation of the normalized source term (\bar{G}) was performed by a linear relation between the value at the beginning of the treatment $C(1, 0)$ and the third post-dialysis measurement $C(1, t_r)$ for every solute, considering t_f the time interval between the start of two consecutive sessions ($t_f = 2880$ min). As stated

before, concentration levels were normalized to initial treatment values, which conduct to

$$\bar{G} = \frac{C(1, 0) - C(1, t_r)}{(t_f - t_r)}. \tag{2.2}$$

The source term should not depend on the treatment type, thus \bar{G} was taken for all treatments to be the values obtained for 4h-Qi50, which were selected to be in a nearly steady-state and prevent source overestimation.

Once the value of the generation for every solute was obtained, two different approaches were followed regarding the distribution of the source. The first strategy assumes a homogeneous distribution of the source along the domain as follows:

$$G(x) = \bar{G} \quad \forall x \in (0, 1). \tag{2.3}$$

A second strategy considers the source injection to be concentrated at the first half of the domain as a step-to-zero function. This approach is intended to mimic the possible favoured solute generation at inner tissues (i.e. source concentrated in the interstitial space). For simplicity we have assumed the cut-off point of the step-to-zero function to be at the domain midpoint $x_p = 0.5$, which leads to

$$G(x) = \begin{cases} 2\bar{G} & \text{for } 0 < x \leq 0.5 \\ 0 & \text{for } 0.5 < x < 1. \end{cases} \tag{2.4}$$

Regardless of the approach, the same amount of source injected to the system is therefore guaranteed as the same result of the integration of (2.3) and (2.4) is obtained.

2.2.2 Boundary and initial conditions. To solve (2.1), appropriate boundary conditions have to be considered. The first (2.5, upper) assumes the no-mass incorporation to the system at the first point of the domain (the inside cell source location), $x = 0$. As this point represents the most inner location of the solute within the body tissue, no additional solute source could be considered beyond this point. The second condition (2.5, lower) applies the continuity of the mass flux at the dialyser, which is the last point of the domain at $x = 1$. These assumptions can be described as

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial C(0, t)}{\partial x} = 0 \quad \text{for } x = 0 \\ k \frac{\partial C(1, t)}{\partial x} = -\alpha \delta(t) C(1, t) \quad \text{for } x = 1, \end{array} \right. \tag{2.5}$$

where α is the extraction parameter, i.e. the amount of solute eliminated by the dialyser blood-membrane interaction and $\delta(t)$ is a function to switch from treatment to post-treatment time intervals. Finally, we have assumed a homogeneous normalized concentration along the domain which leads to $C(x, 0) = 1$ as initial condition.

2.2.3 Additional assumptions. A further development of $\delta(t)$ was implemented to consider a more realistic transition among time intervals at the end of the treatment. Once the dialysis has finished, the blood must be reinfused to the patient to avoid excessive bleeding. This process lasts $\Delta t_a \approx 5$ min while

the blood is still in contact with the dialyser at a very reduced flow, which diminishes the extraction rate rather than eliminate it. To this regard, $\delta(t)$ was implemented as follows:

$$\delta(t) = \begin{cases} 1 & \text{for } t \leq t_d \\ 1 - \frac{t - t_d}{\Delta t_a} & \text{for } t_d \leq t \leq t_d + \Delta t_a \\ 0 & \text{for } t \geq t_d + \Delta t_a. \end{cases} \quad (2.6)$$

As a final assumption, no coupling phenomena was considered among the modelled solutes.

2.3 Numerical solution

To solve the proposed model, spectral methods based on Chebyshev polynomials were chosen to exploit the advantage of their exponential convergence by clustering the nodal points at the boundaries for non-complex geometries (Muite, 2010).

2.3.1 Spatial discretization. In order to numerically solve the model, a discretization step was implemented to relate the Partial Differential Equation problem into a system of Ordinary Differential Equations (ODE's). Hence, the non-equispaced Gauss–Lobatto collocation points, x_i (Trefethen, 2000; Mai-Duy & Tanner, 2007), defined in the domain $x \in [-1, 1]$ as

$$x_i = -\cos\left(\frac{\pi i}{N}\right) \text{ for } i = 0, \dots, N, \quad (2.7)$$

were mapped to the domain of interest $x' \in [0, 1]$ as

$$x'_i = \frac{1}{2}(x_i + 1) \text{ for } i = 0, \dots, N, \quad (2.8)$$

being N is the total nodal points considered. In order to obtain an optimal balance between accuracy and computing time consumption, the total inner nodal points, henceforth n_x , were set to 21, being thus $N = n_x + 1$. Imposing an odd value of n_x guarantees the presence of a node at the domain midpoint.

2.3.2 Spectral differentiation and time integration. The solution of the presented model was obtained by means of spectral differentiation methods (Trefethen, 2000). Corrected Chebyshev derivation matrices, \tilde{D}_{ij} and $\tilde{D}_{ij}^{(2)}$, were implemented due to the selection of the integration domain (see Appendix). Thus, (2.1) is written in spectral notation as follows:

$$\frac{dC_i}{dt} = k \sum_{j=0}^N \tilde{D}_{ij}^{(2)} C_j + G_i \text{ for } i = 0, \dots, N, \quad (2.9)$$

where $\frac{dC_i}{dt}$, C_j and G_i are the variation of the concentration over time, the current concentration level and the source injection for every solute at each node, respectively. Thus, the obtained system of ODE's can be solved by conventional integration methods. In our particular case, the time integration was implemented by the subroutine DLSODE from the ODEPACK package (Hindmarsh, 1982) with the Livermore solver for initial value problem and stiff or nonstiff systems of first-order ODE's.

An interesting approach to deal with boundary value problems by spectral differentiation methods is to obtain the solution at the nodes $i = 0$ and $i = N$ in terms of the values at the inner collocation points, i.e. $i = 1, \dots, N - 1$. To this regard, applying spectral notation at the boundary conditions from (2.5), the relations (2.10) and (2.11) are straightforward obtained

$$\sum_{j=0}^N \tilde{D}_{0j} C_j = 0, \tag{2.10}$$

$$\sum_{j=0}^N \tilde{D}_{Nj} C_j = -\frac{\alpha \delta(t)}{k} C_N, \tag{2.11}$$

which are further developed to relate the concentration at the boundary points, $C_0 = C(0, t)$ and $C_N = C(1, t)$, to the inner nodal C_j values as follows:

$$C_0 = \sum_{j=1}^{N-1} \left[\frac{\tilde{D}_{0j} \left(\tilde{D}_{NN} + \frac{\alpha \delta(t)}{k} \right) - \tilde{D}_{0N} \tilde{D}_{Nj}}{\tilde{D}_{0N} \tilde{D}_{N0} - \tilde{D}_{00} \left(\tilde{D}_{NN} + \frac{\alpha \delta(t)}{k} \right)} \right] C_j, \tag{2.12}$$

$$C_N = \sum_{j=1}^{N-1} \left[\frac{\tilde{D}_{00} \tilde{D}_{Nj} - \tilde{D}_{N0} \tilde{D}_{0j}}{\tilde{D}_{0N} \tilde{D}_{N0} - \tilde{D}_{00} \left(\tilde{D}_{NN} + \frac{\alpha \delta(t)}{k} \right)} \right] C_j. \tag{2.13}$$

Finally, the source term is introduced to (2.9) in a discretized form as a homogeneous description from (2.3) as

$$G_i = \bar{G} \text{ for } i = 1, \dots, N - 1, \tag{2.14}$$

or as an inner-favoured generation from (2.4) as

$$G_i = \begin{cases} 2\bar{G} & \text{for } i = 1, \dots, \frac{N}{2} \\ 0 & \text{for } i = \frac{N}{2} + 1, \dots, N. \end{cases} \tag{2.15}$$

For both source strategies, $G_i = 0$ for $i = 0$ and $i = N$. A resume of all the input parameters and fitted ones, their description, value and units can be found in Table 1.

2.3.3 Parameter fitting, accuracy and sensitivity. To fit the proposed kinetic parameters (α and k), the least-squares method implemented by the Levenberg–Marquardt algorithm was used (subroutine LMDIF from the MINPACK package, More *et al.* (1980)). The accuracy indicator of the model was obtained by the sum of the squared residuals, ε , as follows:

$$\varepsilon = \sum_{j=1}^m (C_N^j - C_e^j)^2, \tag{2.16}$$

TABLE 1 Description of the input fixed as well as the fitted parameters for the conducted simulations.

Fixed	Parameter	Value	Units
Theoretical length of the domain	L	1	[X]
4-h treatment time	t_d	240	min
8-h treatment time	t_d	480	min
Time between the start of two consecutive treatments	t_f	2880	min
Post-treatment blood reinfusion process lasting time	Δt_a	5	min
Last post-treatment sampled time for 4 h	t_r	420	min
Last post-treatment sampled time for 8 h	t_r	660	min
Inner collocation points	n_x	21	-
Source step-to zero point	x_p	0.5	[X]
Source amount of urea	\overline{G}	$2.63 \cdot 10^{-4}$	min^{-1}
Source amount of creatinine	\overline{G}	$1.92 \cdot 10^{-4}$	min^{-1}
Source amount of β_2 -microglobulin	\overline{G}	$1.88 \cdot 10^{-4}$	min^{-1}
Source amount of myoglobin	\overline{G}	$7.11 \cdot 10^{-5}$	min^{-1}
Source amount of prolactin	\overline{G}	$6.68 \cdot 10^{-5}$	min^{-1}
Fitted			
Solute extraction rate	α	-	$[X]\text{min}^{-1}$
Solute diffusivity	k	-	$[X^2]\text{min}^{-1}$

where m is the total number of measures available, C_N^j is the computed solute concentration from (2.13) at each sampled time and C_e^j is the normalized solute concentration from the patient at the same time. The least-squares method was applied iteratively to the proposed parameters until a minimum value for ε is reached. In addition, a sensitivity analysis was also conducted to assess the influence of every parameter variation upon the model output. Slight variations on the fitted parameters could be translated into changes on the ε values. Thus, the sensitivity for every parameter S_i was calculated for all treatments and solutes as (Hamby, 1994).

$$S_i = \frac{\Delta \varepsilon}{\Delta p_i} \frac{p_i}{\varepsilon} \Big|_{\substack{p_j = \text{cons} \\ j \neq i}}; \quad p_i = \alpha, k, n_p, \quad (2.17)$$

where n_p is referred to the source injection strategy.

3. Results

The evolution of the computed concentration at $C(1, t)$ for each solute between the beginning of a treatment and enough post-dialysis time to show the rebound (lines), together with the measured blood normalized concentration mean \pm SD (symbols) is shown in Fig. 4. The agreement of the computed results with the sampled data is clearly seen from the plots. Besides, we have checked that close values of the model output were obtained regardless of the source injection strategy implemented. Thus, the following results were obtained by assuming a homogeneous source injection.

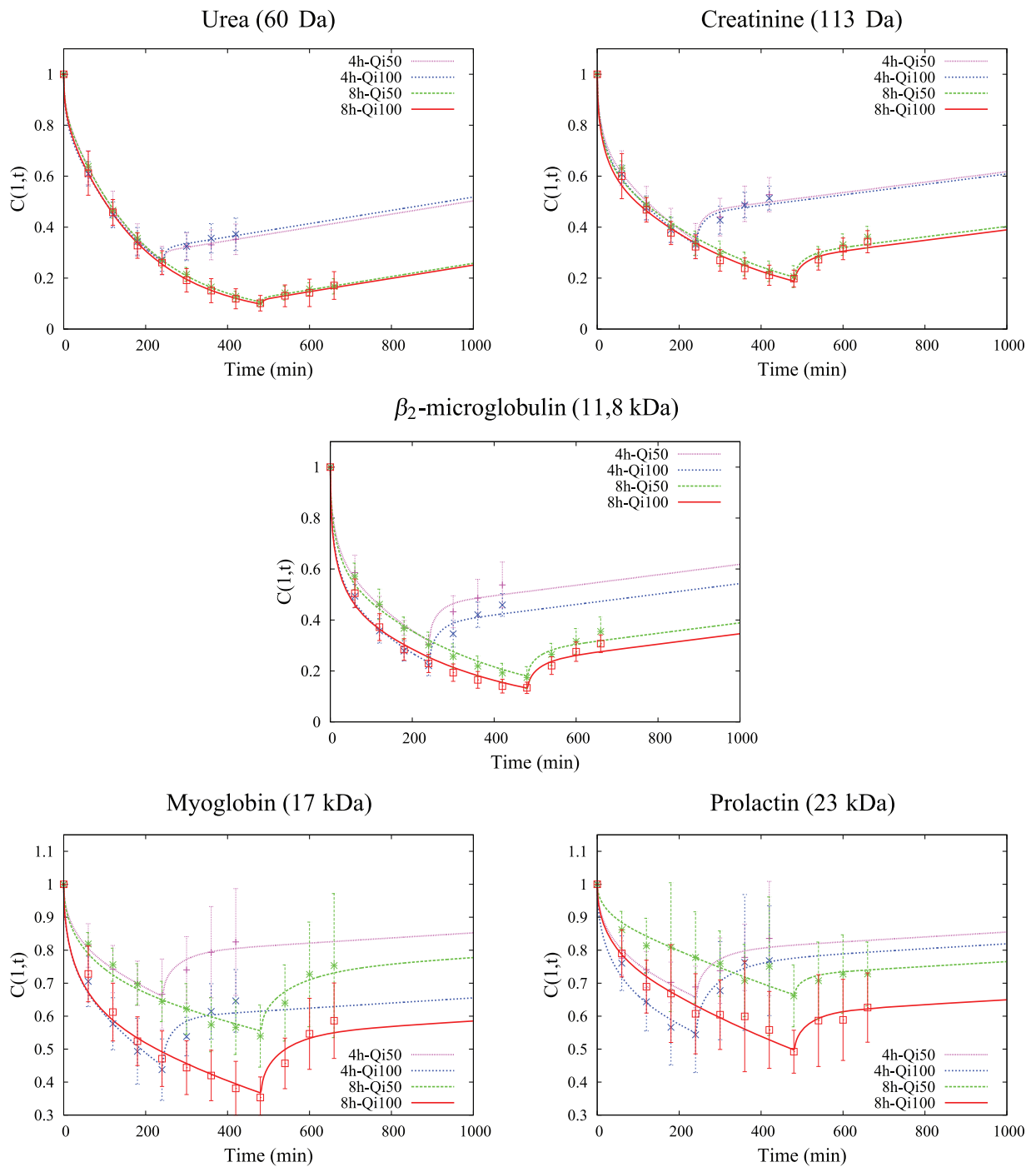


FIG. 4. Evolution of the normalized computed concentration versus time at $C(1, t)$ for all solutes (lines) together with the measured blood normalized concentration mean \pm SD (symbols) from the study by [Maduelli et al. \(2015\)](#). The MW of each solute is shown in daltons (Da). The treatment type is indicated by the labels. The time frame is set to 1000 min.

TABLE 2 Mean \pm 95% confidence interval (CI) for the fitted values of α and k parameters for each treatment type and solute.

$\alpha \left[\frac{L}{min} \right] \cdot (10^{-2})$	4h-Qi50	4h-Qi100	8h-Qi50	8h-Qi100
Urea	0.62 \pm 0.05	0.63 \pm 0.06	0.62 \pm 0.05	0.65 \pm 0.07
Creatinine	0.46 \pm 0.04	0.48 \pm 0.05	0.42 \pm 0.04	0.45 \pm 0.04
β_2 -microglobulin	0.50 \pm 0.07	0.69 \pm 0.09	0.47 \pm 0.06	0.61 \pm 0.08
Myoglobin	0.12 \pm 0.03	0.29 \pm 0.06	0.09 \pm 0.02	0.20 \pm 0.04
Prolactin	0.12 \pm 0.04	0.16 \pm 0.05	0.08 \pm 0.02	0.14 \pm 0.04
$k \left[\frac{L^2}{min} \right] \cdot (10^{-2})$				
Urea	1.35 \pm 0.27	0.97 \pm 0.19	1.27 \pm 0.25	1.15 \pm 0.23
Creatinine	0.47 \pm 0.09	0.45 \pm 0.09	0.32 \pm 0.07	0.31 \pm 0.06
β_2 -microglobulin	0.38 \pm 0.1	0.37 \pm 0.09	0.29 \pm 0.07	0.27 \pm 0.07
Myoglobin	0.20 \pm 0.08	0.31 \pm 0.12	0.10 \pm 0.04	0.14 \pm 0.06
Prolactin	0.19 \pm 0.11	0.14 \pm 0.08	0.29 \pm 0.17	0.20 \pm 0.12

TABLE 3 Sum of squared residuals value, ε , for each treatment type and solute.

$\varepsilon \cdot (10^{-3})$	4h-Qi50	4h-Qi100	8h-Qi50	8h-Qi100
Urea	0.06	0.29	0.16	0.29
Creatinine	2.30	2.09	4.20	3.42
β_2 -microglobulin	3.35	4.07	4.46	5.51
Myoglobin	1.52	5.29	4.95	8.08
Prolactin	3.97	3.45	5.69	4.82

The enhancement on the clearance of solutes by increasing the convection is reflected upon the fitted values of the extraction rate α (see Table 2). An overpressure increase at the dialyser (given by Qi) does not affect significantly the clearance of low MW solutes such as urea or creatinine, with only a relative improvement of α less than 7% (see the first two rows of Table 2). For high MW solutes, e.g. β_2 -microglobulin, the increased Qi is clearly translated into a relative improvement of the extraction rate of 38 (for 4-h treatments) and 30% (for 8-h treatments). In the case of myoglobin, the enhancement of the extraction rate by convection is strongly marked into more than 122% of relative increase by doubling Qi. For prolactin this enhancement is translated into a moderated 33 and 75% of improvement for 4 and 8-h treatments, respectively. Moreover, the slight impact of the treatment time (same Qi) over the extraction rate of the different solutes can be obtained by the comparison of the first and third columns as well as the second and fourth columns on Table 2.

The diffusivity k was found to be inversely related to the solute MW, being the highest values obtained for urea. However, similar values of k for every solute were found for treatments with the same duration (first and second vs. third and fourth columns on Table 2), regardless of the convection applied (except for prolactin). This could be attributed to the lower concentration gradient between $C(0, t)$ and $C(1, t)$ for 8-h treatments rather than for 4-h (see Discussion).

The accuracy of the model assessed by the ε value is shown in Table 3 as well as its dependence upon the inner nodal points considered, n_x , reflected in Fig. 5. The most accurate model was found for urea,

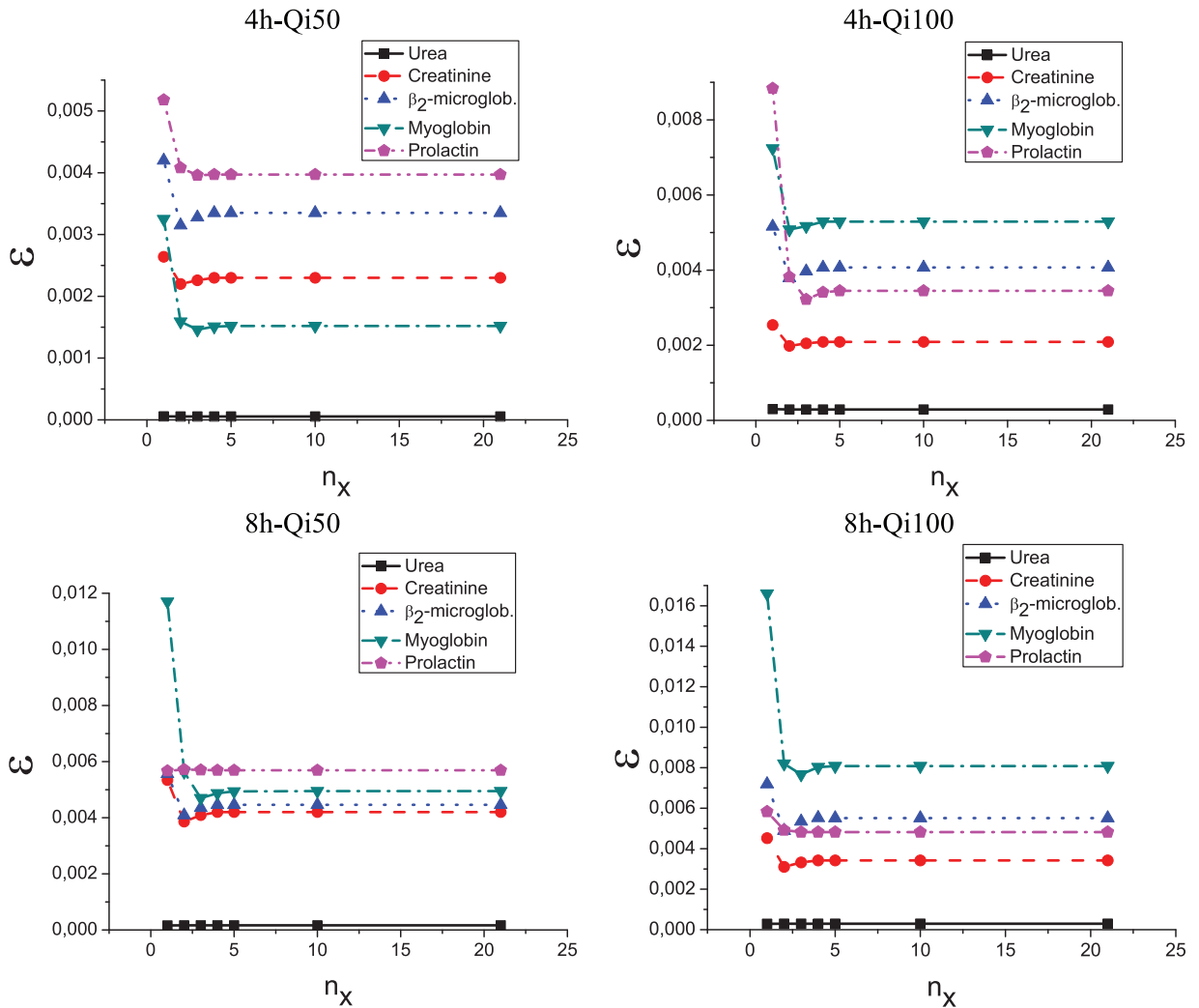


FIG. 5. Sum of the squared residuals, ε , as a function of the inner nodal points, n_x , considered for every solute and treatment condition. A stable value is obtained from $n_x=5$. Values at $n_x=21$ are also reflected in Table 3.

with values around 10^{-4} . The greater uncertainties for the other solutes lead to a moderated accuracy, which is translated into a sum of squared residuals of around 10^{-3} .

The sensitivity analysis conducted to evaluate the relevance of each proposed parameter on the model output for each treatment and solute is depicted in Fig. 6. Parameters were arranged in order of importance. The α parameter was found to be the most sensitive for all treatments and solutes ($S_\alpha \sim 10 - 10^3$), especially for urea and 4h-Qi50 treatments. Slight variations in α led to a marked deviation of the model accuracy and an abrupt increase of the ε value for this solute.

Sensitivity values for k ($S_k \sim 10$) were found lower than those for α , indicating the moderated variation of the model output upon this parameter. Moreover, as stated before, the consideration of a homogeneous source along the domain or an inner forced injection, labelled by n_p , led to a non-significant impact on the model accuracy, by sensitivity values ($S_{n_p} \sim 1$), being the former description

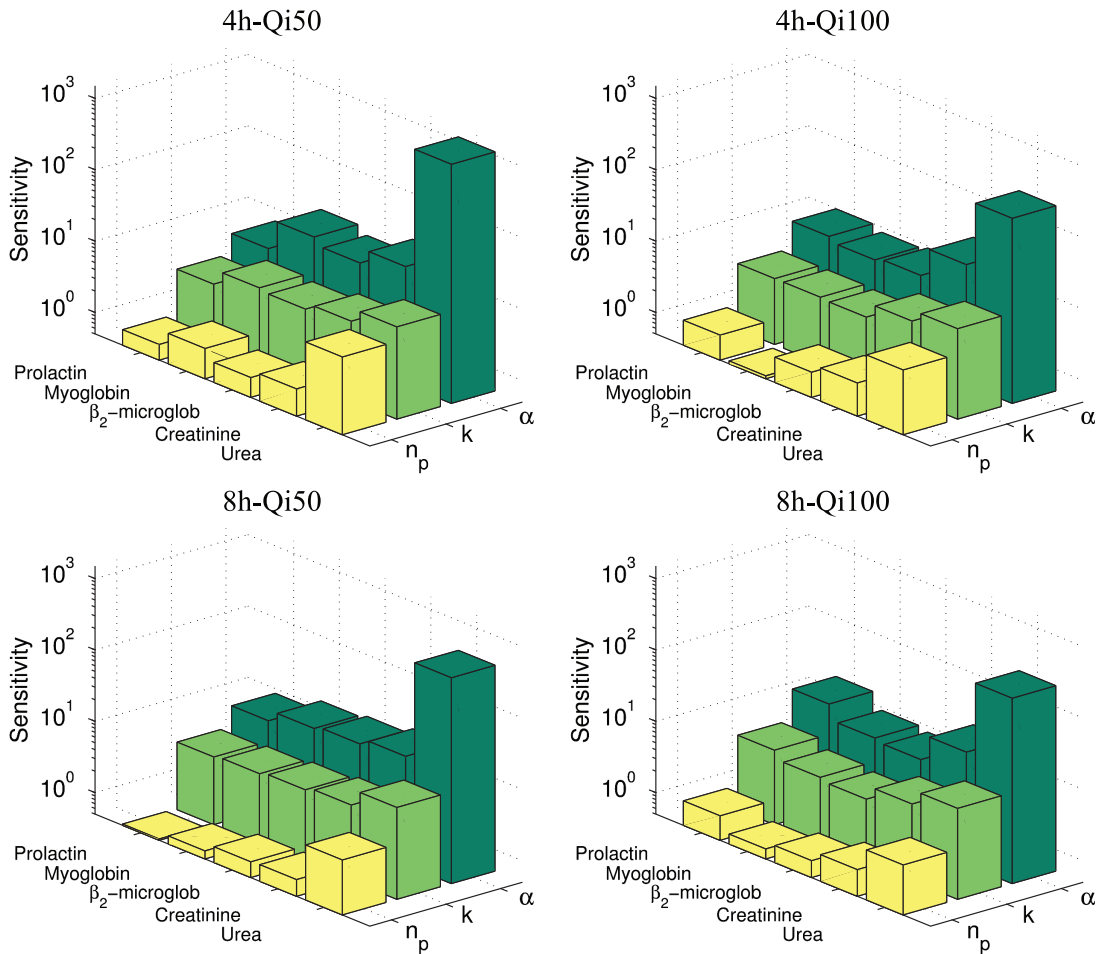


FIG. 6. Computed sensitivity values obtained for each parameter, treatment type and solute. Notice the logarithmic scale on the sensitivity.

related to a slightly better fit. Both source injection strategies resulted in non-significant variations for α and k (less than 1%).

Finally, an overall kinetic representation of every solute is obtained by a spatial and time concentration evolution plot. Figure 7 shows the three-axis representation for all the solutes and 8h-Qi100 treatments. Concentration surface isolines are represented at the $z = 0$ plane. The high diffusivity values computed for urea are translated into an expected nearly parallel isolines, indicating similar concentration levels all along the domain at the same sampled time. For all the other solutes, lower diffusivity values lead to a more pronounced disequilibrium between $C(0, t)$ and $C(1, t)$, which in turn, is translated into a non-parallel isolines and a characteristic surface plot.

4. Discussion

In the theoretical framework of the models applied to haemodialysis, the kinetic description was adopted from the study by *Babb et al. (1967)* by means of a compartment volume distribution for a given solute. The VVDP models suffice to predict with a great accuracy, the uremic toxin kinetic behaviour such

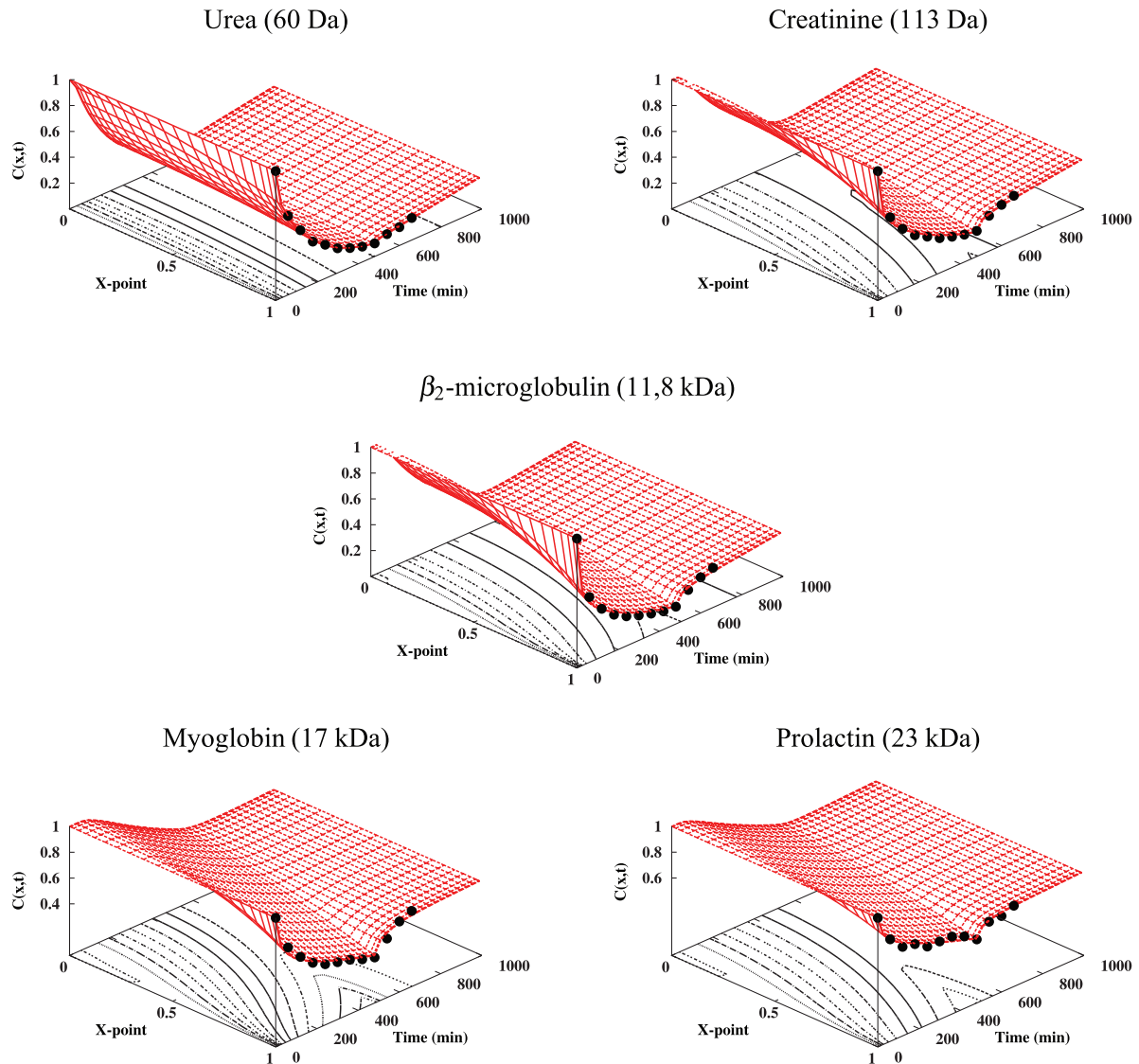


FIG. 7. Overall representation for the evolution of the solute normalized concentration in 8h-Qi100 treatments as a function of time and along the integration domain. The normalized patient concentration at each time is represented by dots. Surface isolines representing the disequilibrium between $C(0,t)$ and $C(1,t)$ are represented at the bottom. To avoid confusion, error bars at $C(1,t)$ are omitted.

as urea (Levine & Bernard, 1990; Gabriel *et al.*, 1994) as well as other low MW molecules (Elout *et al.*, 2005), β_2 -microglobulin (Odell *et al.*, 1991; Kanamori & Sakai, 1995) and less commonly in high MW solutes such as myoglobin (Keir *et al.*, 2014). The description is performed as a pure diffusive process by means of the interaction between two or more volume defined compartments due to their concentration gradients and based upon two kinetic parameters such as the dialyser clearance K_d and the mass transfer coefficient K_c , being the latter not feasible to be experimentally measured (Elout *et al.*, 2007). Despite their accurate output, these models depend strongly upon the assumed distribution volume for every solute which is usually associated with a substantial uncertainty. Thus, we have

developed and tested a generic uniaxial kinetic model based upon the same physical principles and adapted different assumptions from the VVDP models into a volumeless description.

The first step was to adapt the source injection strategy as there is not a specific consensus in the compartmental modelling to consider the generation at the internal, external or both compartments depending on the studied molecules (Grandi *et al.*, 1995; Stiller *et al.*, 2002). To implement this in a uniaxial model, the source term $G(x)$ was proposed on the one hand, as a homogeneous injection or, on the other hand, as an inner-favoured source injection with a theoretical cut-off point at the interstitium (given by $x_p = 0.5$). We have checked that both source strategies conduct to similar model output. This is explained by the much lower values of \bar{G} compared to the solute concentration and concentration variation, regardless of the injection strategy implemented. In other words, the values of $\bar{G} \ll C(x, t)$ (10^{-3}) and $\bar{G} \ll dC(x, t)$ (10^{-1}) lead to a smooth obtained curve from (2.9), despite the possible expected discontinuity at $C(0.5, t)$, due to source injection function shape.

The further validation of the uniaxial model appropriateness of α and k , which have their parallelism on K_d and K_c parameters from the VVDP description was carried out by testing the model upon four different treatment configurations in regard of a suggested improvement of the medium and high MW solutes clearance due to an increase on the Qi, obtained from several clinical results (Ficheux *et al.*, 2000; Canaud & Bowry, 2013). Thus, the low impact of convection on the clearance of low MW toxins is detected by similar values of α for urea and creatinine independent of the Qi of the treatment, while marked differences were found for β_2 -microglobulin, myoglobin and prolactin. In the case of the diffusivity, k , the high values obtained for urea indicate an expected high transfer ratio among the tissues for this solute. For the other molecules (except prolactin), fitted values of k were slightly higher for 4-h compared to 8-h treatments, regardless of the convection applied. These results could be attributed to the model detection of the steepest concentration unbalance between $C(0, t)$ and $C(1, t)$ in case of short treatments, forcing a higher-fitted diffusivity values, which in turn, could be related to the real physiological pronounced disequilibrium between compartments in the case of shorter haemodialysis. However, this result could also indicate that a non-linear diffusivity and/or advective effects are hindered from the model results to some extent.

Additionally, the dimensionless domain length allows to convert α and k into K_d and K_c , respectively by multiplying the former values by the assumed distribution volume obtained from the literature for each solute. As an example, assuming a $V_{dist}=40$ L for urea and creatinine and 4h-Qi50 treatments, values of $K_d^{urea} = 248 \pm 20$ ml/min, $K_c^{urea} = 540 \pm 108$ ml/min and $K_d^{creat.} = 184 \pm 16$ ml/min, $K_c^{creat.} = 188 \pm 36$ ml/min are obtained. In the case of β_2 -microglobulin, assuming a $V_{dist}=13$ L the obtained values are $K_d^{\beta_2} = 65 \pm 9$ ml/min and $K_c^{\beta_2} = 49 \pm 13$ ml/min. These results show close relation to those reported in the study by Ziolkowski *et al.* (2000) and Ward *et al.* (2006).

Further improvements could be implemented to overcome the limitations of the presented model. For instance, the proposed domain represents a highly non-homogeneous distribution of tissues which could lead to the assumption of the diffusivity k as a non-linear parameter. Moreover, to model active transport of solutes across the cell wall and the surrounding tissues, some degree of advection should be considered. All of the above would require to know precise kinetic parameters for every studied solute obtained from the experimental data.

The implementation of a diffusive process, the precise behaviour of the proposed parameters upon different expected kinetics and the model accuracy, supports the uniaxial model to be presented as an appropriate volumeless alternative to the VVDP scheme regarding uremic toxin kinetics. In addition, similar results for both models are expected as a consequence of their exponential analytical solution, despite the different underlying descriptions.

5. Conclusion

To sum up, the presented model allows to simulate with good accuracy the kinetic behaviour of variety of uremic toxins during a haemodialysis treatment. A unidimensional diffusion process with a homogeneous source injection, the extraction rate α and the diffusivity k would not require, *a priori*, a known distribution volume of every solute, which reduces the input model parameters and uncertainty. The presented results try to widen the modelling framework of the haemodialysis kinetic description and could be implemented as an alternative to the VVDP models to assess the efficiency of new treatment configurations in the clinical routine.

Funding

This work has been supported by ISCIII RETIC REDINREN RD16/0009FEDER FUNDS and CERCA Programme / Generalitat de Catalunya.

Acknowledgements

We want to thank J. SANCHEZ and M. NET from the Department of Applied Physics, Universitat Politècnica de Catalunya, for their contribution on the model description as well as supplying the appropriate numerical integration tools.

REFERENCES

- AZAR, A. T., YASHIRO, M., SCHNEDITZ, D. & ROA, L. M. (2013) *Double Pool Urea Kinetic Modeling*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 627–687.
- BABB, A. L., GRIMSRUD, L., BELL, R. L. & LAYNO, S. B. (1967) *Engineering Aspects of Artificial Kidney Systems*. Boston MA: Springer US, pp. 289–331.
- BERGSTRÖM, J. & WEHLE, B. (1987) No change in corrected β_2 -microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *Lancet*, **329**, 628–629.
- CANAUD, B. & BOWRY, S. (2013) Emerging clinical evidence on online hemodiafiltration: does volume of ultrafiltration matter? *Blood Purif.*, **35**, 55–62.
- CLARK, W. R., LEYPOLDT, J. K., HENDERSON, L. W., MUELLER, B. A., SCOOT, M. K. & VONESH, E. F. (1999) Quantifying the effect of changes in the hemodialysis prescription on effective solute removal with a mathematical model. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **10**, 601–609.
- CORNELIS, T., SANDE, F. M. V. D., ELOOT, S., CARDINAELS, E., BEKERS, O., DAMOISEAUX, J., LEUNISSEN, K. M. & KOOMAN, J. P. (2014) Acute hemodynamic response and uremic toxin removal in conventional and extended hemodialysis and hemodiafiltration: a randomized crossover study. *Am. J. Kidney Dis.*, **64**, 247–256.
- DEPNER, T. (1991) Multicompartment Models. *Prescribing Hemodialysis* pp. 91–126. Developments in Nephrology, vol. 29. Boston, MA: Springer.
- ELOOT, S., SCHNEDITZ, D. & VANHOLDER, R. (2012) What can the dialysis physician learn from kinetic modelling beyond kt/v urea? *Nephrol. Dial. Transplant*, **27**, 4021–4029.
- ELOOT, S., TORREMANS, A., DE SMET, R., MARESCAU, B., DE DEYN, P. P., VERDONCK, P. & VANHOLDER, R. (2007) Complex compartmental behavior of small water-soluble uremic retention solutes: evaluation by direct measurements in plasma and erythrocytes. *Am. J. Kidney Dis.*, **50**, 279–288.
- ELOOT, S., TORREMANS, A., DE SMET, R., MARESCAU, B., WACHTER, D. D., DE DEYN, P. P., LAMEIRE, N., VERDONCK, P. & VANHOLDER, R. (2005) Kinetic behavior of urea is different from that of other water-soluble compounds: the case of the guanidino compounds. *Kidney Int.*, **67**, 1566–1575.
- FICHEUX, A., ARGILÉS, A., MION, H., & MION, C. (2000) Influence of convection on small molecule clearances in online hemodiafiltration. *Kidney Int.*, **57**, 1755–1763.

- GABRIEL, J.-P., FELLAY, G. & DESCOMBES, E. (1994) Urea kinetic modeling: an in vitro and in vivo comparative study. *Kidney Int.*, **46**, 789–796.
- GRANDI, F., AVANZOLINI, G. & CAPPELLO, A. (1995) Analytic solution of the variable-volume double-pool urea kinetics model applied to parameter estimation in hemodialysis. *Comput. Biol. Med.*, **25**, 505–518.
- HAMBY, D. M. (1994) A review of techniques for parameter sensitivity analysis of environmental models. *Environ. Monit. Assess.*, **32**, 135–154.
- HINDMARSH, A. (1982) Large ordinary differential equation systems and software. *IEEE Control Syst. Mag.*, **2**, 24–30.
- KANAMORI, T. & SAKAI, K. (1995) An estimate of β_2 -microglobulin deposition rate in uremic patients on hemodialysis using a mathematical kinetic model. *Kidney Int.*, **47**, 1453–1457.
- KEIR, R., EVANS, N., HUTCHISON, C., VIGANO, M., STELLA, A., FABBRINI, P., STORR, M. & CHAPPELL, M. (2014) Kinetic modelling of haemodialysis removal of myoglobin in rhabdomyolysis patients. *Comput. Methods Programs Biomed.*, **114**, e29–e38.
- KOROHODA, P. & SCHNEDITZ, D. (2013) Analytical solution of multicompartment solute kinetics for hemodialysis. *Comput. Math. Methods Med.*, **2013**, 1–11.
- LEVINE, J. & BERNARD, D. B. (1990) The role of urea kinetic modeling, tac urea, and kt/v in achieving optimal dialysis: a critical reappraisal. *Am. J. Kidney Dis.*, **15**, 285–301.
- MADUELL, F., MORESO, F., PONS, M., RAMOS, R., MORA-MACIÀ, J., CARRERAS, J., SOLER, J., TORRES, F., CAMPISTOL, J. & MARTINEZ-CASTELAO, A. (2013) High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **24**, 487–497.
- MADUELL, F., NAVARRO, V., CRUZ, M., TORREGROSA, E., GARCIA, D., SIMON, V. & FERRERO, J. (2002) Osteocalcin and myoglobin removal in on-line hemodiafiltration versus low- and high-flux hemodialysis. *Am. J. Kidney Dis.*, **40**, 582–589.
- MADUELL, F., SANCHEZ, J., NET, M., GOMEZ, M., GONZALEZ, J., ARIAS-GUILLEN, M., RODRIGUEZ, N., RICO, N. & CAMPISTOL, J. (2015) Mathematical modeling of different molecule removal on on-line haemodiafiltration: influence of dialysis duration and infusion flow. *Blood Purif.*, **39**, 288–296.
- MAHESHWARI, V., SAMAVEDHAM, L. & RANGAIAH, G. (2011) A regional blood flow model for β_2 -microglobulin kinetics and for simulating intra-dialytic exercise effect. *Ann. Biomed. Eng.*, **39**, 2879–2890.
- MAI-DUY, N. & TANNER, R. (2007) A spectral collocation method based on integrated Chebyshev polynomials for two-dimensional biharmonic boundary-value problems. *J. Comput. Appl. Math.*, **201**, 30–47.
- MORE, J. J., GARBOW, B. S. & HILLSTROM, K. E. (1980) *User guide for MINPACK-1. Report ANL-80-74*. Lemont, IL: Argonne National Laboratory.
- MUITE, B. K. (2010) A numerical comparison of Chebyshev methods for solving fourth order semilinear initial boundary value problems. *J. Comput. Appl. Math.*, **234**, 317–342.
- ODELL, R., SLOWIACZEK, P., MORAN, J. & SCHINDHELM, K. (1991) Beta2-microglobulin kinetics in end-stage renal failure. *Kidney Int.*, **39**, 909–919.
- SARGENT, J. A. & GOTCH, F. A. (1996) Principles and biophysics of dialysis. *Replacement of Renal Function by Dialysis* (C. Jacobs, C. Kjellstrand, K. Koch & J. Winchester eds). Netherlands: Springer, pp. 34–102.
- SCHNEDITZ, D. & DAUGIRDAS, J. (2001) Compartment effects in hemodialysis. *Semin. Dial.*, **14**, 271–277.
- SCHNEDITZ, D., FARIYKE, B., OSHEROFF, R. & LEVIN, N. W. (1995) Is intercompartmental urea clearance during hemodialysis a perfusion term? A comparison of two pool urea kinetic models. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **6**, 1360–1370.
- SCHNEDITZ, D., PLATZER, D. & DAUGIRDAS, J. (2009) A diffusion-adjusted regional blood flow model to predict solute kinetics during haemodialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **24**, 2218–2224.
- SCHNEDITZ, D., STONE, J. V. & DAUGIRDAS, J. (1993) A regional blood circulation alternative to in-series two compartment urea kinetic modeling. *ASAIO J.*, **39**, M573–M577.
- SPRENGER, K., KRATZ, W., LEWIS, A. & STADTMULLER, U. (1983) Kinetic modeling of hemodialysis, hemofiltration, and hemodiafiltration. *Kidney Int.*, **24**, 143–151.
- STILLER, S., XU, X., GRUNER, N., VIENKEN, J. & MANN, H. (2002) Validation of a two-pool model for the kinetics of β_2 -microglobulin. *Int. J. Artif. Organs.*, **25**, 411–420.

TATTERSALL, J. & WARD, R. (2013) Online haemodiafiltration: definition, dose quantification and safety revisited. *Nephrol. Dial. Transplant*, **28**, 542–550.

TREFETHEN, L. N. (2000) *Spectral Methods in MATLAB*. Philadelphia, PA, USA: Society for Industrial and Applied Mathematics.

VANHOLDER, R., BURGELMAN, M., DE SMET, R., VOOGELEERE, P. & RINGOIR, S. (1996) Two-pool versus single-pool models in the determination of urea kinetic parameters. *Blood Purif.*, **14**, 437–450.

WANIEWSKI, J. (2006) Mathematical modeling of fluid and solute transport in hemodialysis and peritoneal dialysis. *J. Memb. Sci.*, **274**, 24–37.

WARD, R. A., GREENE, T., HARTMANN, B. & SAMTLEBEN, W. (2006) Resistance to intercompartmental mass transfer limits β_2 -microglobulin removal by post-dilution hemodiafiltration. *Kidney Int.*, **69**, 1431–1437.

WATSON, P. E., WATSON, I. D. & BATT, R. D. (1980) Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 27–39.

ZIOLKO, M., PIETRZYK, J. A. & GRABSKA-CHRZASTOWSKA, J. (2000) Accuracy of hemodialysis modeling. *Kidney Int.*, **57**, 1152–1163.

Appendix

The non-equispaced Gauss–Lobatto collocation grid points are defined within $-1 \leq x \leq 1$ as

$$x_i = -\cos\left(\frac{\pi i}{N}\right) \text{ for } i = 0, \dots, N. \tag{A.1}$$

To change to another domain, $x' \in [a, b]$, the re-assignment of the collocation points can be performed by means of

$$x'_i = \frac{b-a}{2} \left(-\cos\left(\frac{\pi i}{N}\right) + 1\right) + a \text{ for } i = 0, \dots, N. \tag{A.2}$$

Spectral differentiation matrices of order p are obtained by matrix multiplication of the known concentration values as follows:

$$\frac{dC}{dx} = \sum_{j=0}^N D_{ij} C_j \text{ for } i = 0, \dots, N. \tag{A.3}$$

$$\frac{d^2C}{dx^2} = \sum_{j=0}^N D_{ij}^{(2)} C_j = \sum_{j=0}^N (D_{ij} \cdot D_{ij}) C_j \text{ for } i = 0, \dots, N. \tag{A.4}$$

...

$$\frac{d^p C}{dx^p} = \sum_{j=0}^N D_{ij}^{(p)} C_j = \sum_{j=0}^N (D_{ij} \cdot D_{ij} \cdots D_{ij}) C_j \text{ for } i = 0, \dots, N. \tag{A.5}$$

In the particular case of Chebyshev derivation matrices, they are defined by

$$\begin{aligned} D_{ij} &= \frac{\bar{c}_i}{\bar{c}_j} \frac{(-1)^{i+j}}{x_i - x_j} & 0 \leq i, j \leq N, i \neq j, \\ D_{ii} &= -\frac{x_i}{2(1-x_i^2)} & 1 \leq i \leq N-1, \\ D_{00} &= D_{NN} = \frac{2N^2+1}{6}, \end{aligned} \tag{A.6}$$

where $\bar{c}_0 = \bar{c}_N = 2$ and $\bar{c}_i = 1$ for $i = 1, \dots, N-1$.

The matrices D_{ij} are defined to be used at the collocation points within the domain $-1 \leq x \leq 1$. To change to another domain, a slight correction has to be applied. We have changed the domain to be 0

$\leq x' \leq 1$, thus, to calculate the proper Chebyshev derivation matrices for the x' domain, the chain rule is applied by

$$\frac{dC}{dx'} = \frac{dC}{dx} \frac{dx}{dx'}, \quad (\text{A.7})$$

which is written in spectral notation as

$$\sum_{j=0}^N \tilde{D}_{ij} C_j = \sum_{j=0}^N D_{ij} C_j \left(\frac{2}{b-a} \right) \quad \text{for } i = 0, \dots, N. \quad (\text{A.8})$$

In our particular case $a = 0$ and $b = 1$ which is straightforward to obtain the corrected derivation matrix as

$$\tilde{D}_{ij} = 2D_{ij} \quad \text{for } i = 0, \dots, N. \quad (\text{A.9})$$

5. Discusión

Los trabajos presentados en esta tesis ofrecen una visión pormenorizada, detallada y traslacional de la repercusión de las dosis de ultrafiltración empleadas en tratamientos de HDF post-dilucional sobre los perfiles de depuración y adsorción de diversas toxinas urémicas en hemodializadores constituidos de diferente material, aunando los resultados obtenidos tanto del marco experimental, del clínico y de la modelización matemática.

La selección específica del conjunto de toxinas urémicas analizadas se realizó basándose tanto en a la representatividad de cada uno de los subgrupos en los que están clasificadas (permitiendo así abarcar un amplio rango de pesos moleculares), como en la robustez y reproducibilidad de sus métodos de determinación. Por este motivo se incluyeron la urea y creatinina como toxinas de pequeño tamaño y utilizadas como trazadoras del tratamiento dialítico. En cuanto a las toxinas con adhesión proteica, se añadió el p-cresil e indoxil-sulfato como prototípicas toxinas de este subgrupo, además de incluir las moléculas hacia las que presentan mayor afinidad (albúmina y proteínas totales). Finalmente, se escogió el conjunto formado por β_2 -microglobulina, mioglobina, prolactina y α_1 -microglobulina como toxinas representativas del rango medio de pesos moleculares. Esta precisa selección permitió el análisis de depuración y adsorción en el rango comprendido entre 12 y 30 kDa, horquilla de especial interés depurativo gracias a la aplicación de técnicas convectivas y cuyo análisis ha estado casi exclusivamente enfocado hacia proteínas, citocinas, interleucinas o TNF- α .

Estabilidad de la restitución de plasma urémico con hematíes expirados como matriz precursora

Uno de los primeros objetivos propuestos en este trabajo y parte fundamental del primer artículo fue la validación del uso de la restitución de recambios plasmáticos con concentrados de hematíes expirados como matriz precursora en un sistema de hemodiálisis simulada o *sham*. Por ello, uno de los primeros retos suponía evaluar la interacción entre los componentes de esta matriz restituida de manera artificial y el sistema de circulación extracorpóreo. El hecho de presentar una matriz novedosa como base para futuros tratamientos simulados de hemodiálisis, planteaba establecer algunos protocolos de manipulación y un análisis muy preliminar, pero útil, de su estabilidad.

En primer lugar, hubo de determinarse cuál podría ser el rango de anticoagulación óptimo para la manipulación de dicha matriz. En la literatura revisada, no se encontró un consenso concreto en cuanto a la dosificación de anticoagulante necesaria en tratamientos *ex vivo*. Por ese motivo se decidió utilizar la misma estrategia que la ensayada en nuestro laboratorio (221), añadiendo heparina sódica a una dosis de 1000 UI/L en forma de bolo inicial. Este régimen resultó ser suficiente en la prevención de la cascada de coagulación sobre la matriz propuesta.

En relación a la estabilidad de los hematíes, está demostrado que el medio y el tiempo de conservación influyen en la rigidez de la membrana eritrocitaria, incrementando así su fragilidad (259). Además, como ya se ha comentado, las guías europeas establecen una máxima hemólisis permisible (MHP) del 0.8 % (1 % en EE.UU.) para poder utilizar un concentrado de hematíes en el circuito asistencial. En este sentido Makroo et al. (260) reportó los valores de hemólisis para diferentes medios de conservación, que una vez extrapolados linealmente, permiten estimar el tiempo máximo de conservación de estos concentrados hasta alcanzar el máximo permitido, situándolo alrededor del sexagesimoquinto día desde la recolección (concretamente 65.05).

Por ello, la interacción entre los significativos flujos y presiones del sistema extracorpóreo y la fragilidad de los eritrocitos utilizados podría desencadenar en una hemólisis severa (261, 262). El análisis de esta posible fragilidad se realizó de manera indirecta, simulando tratamientos de diálisis con parámetros habituales y utilizando el sensor de turbidez en el circuito de baño de diálisis como detector de hemólisis. Este sensor es capaz de detectar enturbiamiento en el compartimento de dializado, mayoritariamente producido por la hemoglobina libre (a un régimen de 0.5 mL/min con un umbral de hematocrito del 25 %) asociado a rotura eritrocitaria. Con este método indirecto de determinación se estableció que la cantidad de alarmas detectadas por el sensor de enturbiamiento crecía de manera exponencial a partir del septuagésimo día desde la recolección, alcanzando un valor superior a 10 alarmas una vez superados los 80 días de conservación y haciendo muy difícil la continuidad de la sesión de diálisis.

En cuanto a la estabilidad de los recambios plasmáticos, las guías establecen que el plasma sanguíneo para transfusión se conserva durante 3 meses (entre -18 °C y -25 °C) o hasta 3 años en el caso de almacenarse por debajo de -25 °C (263, 264), haciendo esta matriz menos percedera que los concentrados de hematíes. En este sentido se analizó la disminución de los niveles de diferentes toxinas en un intervalo de tiempo suficientemente amplio (16 meses), conservando este plasma a 4 °C con el resultado de una tasa de degradación solamente significativa para moléculas como la mioglobina y la α_1 -microglobulina con valores máximos de -1.9 ± 1.6 mg/L/mes para esta molécula.

Con todos los datos expuestos se permitió establecer que la ventana óptima de conservación y estabilidad de la matriz urémica propuesta para ser usada en tratamientos simulados se sitúa entre los 42-70 días (en el caso de hematíes conservados en SAG-M) y 35-63 días (si se emplea CPD-A como conservante) desde la recolección del concentrado de hematíes. Aún así se debe resaltar que el método propuesto para la evaluación de esta validez tiene importantes limitaciones al no incorporar la medición marcadores más rigurosos de hemólisis como los niveles de hemoglobina libre, trifosfato de adenosina (ATP) o de ácido 2,3-bifosfoglicérico (2,3-DPG) (265).

Depuración de toxinas; dependencia de parámetros estructurales del hemodializador

Como ya se ha enfatizado en la introducción, diversos factores estructurales de la membrana de hemodiálisis como el tamaño promedio de los poros de la barrera separadora (*skin layer*), la porosidad de dicha barrera, la simetría y grosor de la pared capilar, así como las propiedades hidrofílicas y la densidad eléctrica superficial o potencial Z (siendo estas dos últimas las propiedades intrínsecas proporcionadas por las características del material o conjunto de materiales del que está compuesta la membrana) conducirán a perfiles depurativos singulares en función del hemodializador elegido.

Teniendo presente que la función del hemodializador es actuar como riñón artificial, es lícito suponer que algunos de estos parámetros estructurales sean similares a los presentes en la barrera basal glomerular, permitiendo en primera aproximación, una depuración pasiva de solutos en función de su tamaño. En este sentido, las capacidades depurativas de diferentes hemodializadores han basado sus resultados tanto en la relación entre el tamaño de la molécula y el poro (r_s/r_p) como en la estructura de la pared capilar, ya que estos dos parámetros indicarán, en gran medida, la probabilidad de que una molécula pueda atravesar la barrera separadora y desplazarse por la estructura porosa (266) hasta alcanzar el dializado.

En referencia a esto, ya se ha mencionado que la clasificación de las diferentes toxinas urémicas está expresada en función de su peso molecular. Sin embargo la asociación entre peso molecular y tamaño no es del todo precisa, atendiendo a que el peso molecular hace referencia a la cantidad de masa y no al volúmen que ocupa. Por este motivo es más apropiado considerar el radio de Stokes, definido como el radio de la esfera con similares propiedades de transporte de la molécula. Por poner algunos ejemplos, la creatinina tiene una configuración estructural en forma de elipsoide con un radio promedio de 0.6 nm (267). En el caso de la β_2 -microglobulina, su radio de Stokes se sitúa alrededor de 1.6 nm (268–271). Para moléculas de mayor peso molecular se estiman proporcionalmente radios más elevados. En concreto, la mioglobina tiene un radio asociado de 1.7 nm (272), mientras que para moléculas como la prolactina o la α_1 -microglobulina, sus radios se es-

timan alrededor de 2.1 nm (63) y entre 2.4-2.8 nm (63, 270) respectivamente. Por último, el tamaño aparente de la albúmina, como proteína plasmática esencial, está caracterizado por un radio de unos 3.5 nm (93, 268, 270).

Los datos anteriormente expuestos permiten la construcción de la Tabla 5.1, donde se muestra el valor del índice (r_s/r_p) según la molécula y el hemodializador considerado. Es sencillo suponer que un índice bajo estará relacionado con una mayor facilidad al transporte pasivo y por tanto mejor depuración. Esta afirmación está en la línea de los resultados obtenidos en el primer artículo de esta tesis, donde se constató una clara superioridad depurativa de los hemodializadores con estructura simétrica y con un mayor tamaño de poro (como el BG-2.1U de polimetilmetacrilato y el Sureflux-21UX de triacetato de celulosa) en comparación a la membrana asimétrica y con menor tamaño de poro como la Fx-1000 Cordiax de polisulfona, resultando los dos primeros en valores superiores de M_{ext} y RR para todas las moléculas (incluso la albúmina) a excepción del PCs e IS.

Tabla 5.1: Relación entre el tamaño de las moléculas r_s y el radio de los poros r_p para los diferentes hemodializadores estudiados. Nótese que el valor de r_p hace referencia al poro de la capa más interna (*skin layer*) del hemodializador.

r_s/r_p	Nombre comercial			
	BG-2.1U (PMMA)	FX1000-Cordiax (PS)	Sureflux21UX (TAC)	Polyflux-210H (PA)
Creat.	0.09	0.018	0.08	0.03
β_2 -m.	0.23	0.48	0.22	0.08
Mio.	0.24	0.52	0.24	0.09
Prol.	0.30	0.64	0.29	0.11
α_1 -m.	0.34	0.73	0.33	0.12
Alb.	0.50	1.06	0.49	0.18

Sin embargo los resultados obtenidos para el filtro Polyflux-210H de copolímero de poli-amida ponen de relieve que este índice no es el único indicativo de la capacidad depurativa. Tal y como resultó en el primer y segundo artículo, su propiedades depurativas no son significativamente destacables a pesar de estar caracterizado por un tamaño de poro muy superior ($r_p=20$ nm). Esta paradoja podría tener su explicación en dos motivos. En primer lugar, la pared capilar de la membrana de PA es asimétrica y compuesta por tres regiones diferenciadas. En este escenario es muy posible que la sección estructural que actúa propiamente de barrera separadora esté situada en alguna subcapa profunda de la pared capilar (y no en la parte superficial como es habitual en membranas asimétricas) y esté caracterizada, además, por un tamaño de poro mucho menor al reportado en la bibliografía, reduciendo así sus propiedades depurativas. Además, tal y como sugiere Hedayat et al. (129), no es únicamente el tamaño de poro sino una muy baja porosidad la que limita drásticamente las depuración de esta membrana, al estar constituida por un número muy inferior de canales porosos.

Influencia de la modalidad convectiva sobre la depuración

El debate que suscita la comparación entre la hemodiafiltración post-dilucional frente a la hemodiálisis de alto flujo aún no tiene, en el ámbito clínico, un contundente ganador (273–275) si bien todo apunta a que la variante convectiva obtiene mejores índices de supervivencia (276, 277), siendo actualmente la opción de tratamiento preferente. Además, es evidente suponer que tanto la selección del hemodializador como el régimen convectivo conducirán a diferentes resultados depurativos (278).

La superioridad depurativa de la HDF vs. HD ha sido ampliamente demostrada en la bibliografía. En este sentido diversos ensayos (279–284) han evidenciado que el significativo aporte convectivo de la HDF (i.e., una elevada tasa de sustitución Q_i entre 60 y 100 mL/min), tiene poca influencia sobre moléculas de tamaño pequeño como la urea o la creatinina contribuyendo en un aumento relativo máximo del 10 % de los valores de RR , ya que su principal mecanismo de transporte es la difusión. Por contra, este mismo aporte convectivo se traduce en un incremento sustancial de la tasa de reducción de moléculas de mediano y alto peso molecular como la β_2 -microglobulina (incremento de entre un 15 y 50 %), la mioglobina y la prolactina (con incrementos del 20 %), la α_1 -microglobulina (obteniendo valores superiores al 150 %) y la albúmina (285), poniendo de relieve el incremento de la depuración de estas moléculas por arrastre.

En cuanto a toxinas con adhesión proteica, ya se ha destacado que su alta afinidad hacia albúmina o proteínas plasmáticas limita su depuración en técnicas difusivas. Diversos autores han puesto de manifiesto que el aporte convectivo de la HDF puede aumentar ligeramente la depuración de estas moléculas (286, 287). Concretamente, este fenómeno está atribuido a que, un significativo aporte convectivo aumenta ligeramente la depuración de la fracción libre presente en el plasma sanguíneo. En este sentido, y como se detallará en profundidad más adelante, una de las hipótesis de partida de esta tesis que apuntaba a un posible aumento depurativo de estos compuestos por adsorción proteica, queda refutada al no evidenciarse diferencias importantes en la depuración a pesar de presentar, algunos de los hemodializadores empleados, importante adhesión de proteínas plasmáticas. Así, varios estudios proponen otras estrategias más eficientes para incrementar la depuración de este tipo de toxinas. Por un lado, se han propuesto membranas asimétricas de matriz combinada (*mixed matrix*) cuyos resultados demuestran *in vitro* una alta depuración de PBUTs por adsorción (288, 289). Además, otra alternativa prometedora es la inclusión de medicamentos con alta afinidad proteica que actúan como competidores de adhesión, manteniendo una significativa fracción libre de estas toxinas para ser depuradas (290–292).

Como comentario general, los dos conceptos expuestos en referencia a la depuración por convección (es decir, poca influencia sobre toxinas pequeñas y significativa en moléculas más grandes) han sido corroborados mediante diferentes marcadores en los tres artículos de esta tesis, apuntalando aún más, la superioridad depurativa de la HDF.

Validez del índice de depuración global

Para la cuantificación de la depuración en función de la membrana y convección aplicada se ha utilizado tradicionalmente la tasa de reducción RR como marcador. Así, los diferentes hemodializadores son comparados en función de los valores obtenidos sobre una miríada de moléculas o toxinas analizadas (293), dando una información disgregada del perfil depurativo. Además de lo anterior, es un hecho destacado que según la modalidad escogida (294, 295) y las propiedades estructurales de la membrana, se producirá una inevitable depuración de albúmina, cuyos límites no deberían superar los niveles tolerables.

En este sentido y con el fin de sintetizar en un único valor numérico las propiedades depurativas de los diferentes tipos de membranas y tratamientos, se planteó el concepto de 'índice de depuración global' o GRS como índice integrado de todos los valores de RR en el rango de pesos moleculares situado entre 100 Da y 30 kDa, considerando además, la pérdida de albúmina como efecto altamente negativo, definido de la siguiente manera:

$$GRS = \frac{\sum_i RR_i}{N} - RR_{albumina} \quad i = 1, \dots, N, \quad (5.1)$$

donde N es el número de toxinas urémicas consideradas. Así, en el caso de un hemodializador hipotéticamente perfecto, se obtendrían valores $RR=1$ para todas las moléculas además de una negligible depuración de albúmina $RR=0$, dando lugar a un valor de $GRS=1$. En caso opuesto, un hemodializador con depuración total y exclusiva de albúmina, este índice resultaría en $GRS=-1$.

Esta sencilla formulación permitió analizar de manera directa la repercusión de la selección de membrana y tratamiento convectivo en las propiedades depurativas. Así, en el primer artículo se constató *in vitro* que las membranas simétricas y con mayor tamaño de poro como el polimetilmetacrilato y el triacetato de celulosa obtienen valores más elevados de RR respecto a los filtros asimétricos para todas las toxinas sin adhesión proteica analizadas. Sin embargo la elevada depuración de albúmina usando estas dos membranas se detectó claramente por la disminución sustancial del valor de este índice y muy especialmente en la modalidad convectiva (reducción relativa del GRS en un 44 % para polimetilmetacrilato y un 9 % para el triacetato de celulosa), poniendo de relieve la poca idoneidad de este tipo de membranas en HDF. Por el contrario las membranas asimétricas incrementaron los valores de GRS en modalidad convectiva (aumento relativo de más de un 40 % para el copolímero de poliamida y alrededor de un 4 % para la polisulfona), realzando su eficiencia en tratamientos de HDF.

Este índice resultó muy útil en su aplicación *in vitro*. Sin embargo, el traslado a la práctica clínica se ha de realizar con cierta cautela. En el segundo trabajo presentado para esta tesis se constató que todas las membranas ensayadas alcanzaban valores similares de RR para la albúmina. En este sentido, el efecto negativo de su depuración era suficientemente

homogéneo para ser introducido dentro del sumatorio, re-definiendo el índice de depuración como:

$$GRS = \frac{\sum_i RR_i - RR_{albumina}}{N} \quad i = 1, \dots, N. \quad (5.2)$$

Esta definición modera relativamente el efecto de la penalización causada por la pérdida de albúmina y ha sido utilizada por nuestro departamento en diversos trabajos (296–298) a fin de comparar la eficiencia depurativa entre hemodializadores y modalidades de tratamiento.

Los resultados obtenidos en el segundo artículo utilizando este índice siguen parcialmente en la línea de los obtenidos en la sección *in vitro*. En particular, mediante la implementación del GRS se constató una mejora depurativa de todas las membranas utilizadas en HDF a excepción del triacetato de celulosa cuyo valor decreció significativamente al ser empleado en la modalidad convectiva. Este fenómeno sugiere (como se detallará en profundidad en la sección siguiente) que la presencia de proteínas plasmáticas puede interferir drásticamente en las capacidades depurativas de un hemodializador al ser empleado en HDF, tal como observó Maduell et al. en (299).

Si bien ha quedado sólidamente demostrado que el índice GRS es válido para la comparación de las propiedades depurativas entre diferentes tratamientos, se debe puntualizar asimismo que no está exento de limitaciones y/o consideraciones. En primer lugar, el cálculo de este índice tiene una fuerte dependencia en los solutos que se consideren. En el caso de los artículos presentados para esta tesis, se definió y validó para el rango de pesos moleculares entre 100 Da y 30 kDa, correspondiente al conjunto dado por creatinina, β_2 -microglobulina, mioglobina, prolactina y α_1 -microglobulina, siendo por tanto el valor $N=5$. Sin embargo, es evidente suponer que una selección de un número mayor o menor de moléculas repercutirá en el valor obtenido de GRS. Por ejemplo, en los trabajos citados donde se ha empleado este índice, puede hallarse el cálculo realizado añadiendo además la urea y la α_1 -glicoproteína ácida (AGA). Además de lo anterior, la consideración de la depuración de albúmina como efecto nocivo dificulta la consideración de toxinas con elevada adhesión proteica al añadir posibles efecto de interferencia. Por ese motivo no se consideraron el PCs ni el IS en el cálculo de este índice.

Como último comentario, otro detalle a considerar relacionado con la nomenclatura, es el empleo del término 'global'. Si bien en los primeros trabajos donde se presentó este índice se introdujo bajo esta consideración, es cierto que puede resultar algo pretenciosa o confusa al no incorporar en su formulación, ningún marcador de depuración sobradamente sólido como el Kt o el Kt/V_{urea} . En este sentido, y tal como se presenta en el segundo artículo de esta tesis, la denominación de 'índice de depuración en rangos medios' es mucho más apropiada para su uso. En definitiva, en el camino exploratorio hacia la formulación sólida y robusta de este índice depurativo, solo se han dado los primeros pasos.

Capacidad adsorptiva de toxinas en función del hemodializador; más allá del tamaño de poro. Interacción electrostática y efecto de la convección.

La adsorción se ha definido como la capacidad de un hemodializador de retener, por adhesión, tanto a nivel superficial como en el entramado poroso de la pared capilar, una serie de moléculas y compuestos que a su vez puede comprometer las propiedades intrínsecas de transporte de la membrana por posible obstrucción. Aún así, el posible potencial de las propiedades adsorptivas como asistencia a la depuración en tratamientos difusivos, surgió de la implementación de membranas sintéticas de alto flujo como los hemodializadores de poliacrilonitrilo o polimetilmetacrilato, obteniendo resultados depurativos prometedores de toxinas urémicas de peso molecular mediano, concretamente para la β_2 -microglobulina, siendo una muy ventajosa alternativa a los tradicionales hemodializadores celulósicos de bajo flujo, empleados hasta la fecha (300–303).

Adsorción de la β_2 -microglobulina

En el caso concreto de esta molécula, los hemodializadores AN69 de poliacrilonitrilo, BG-2.1U de polimetilmetacrilato y Sureflux-2.1UX de triacetato de celulosa presentan una semejante configuración estructural, con una pared capilar simétrica y tamaño de poro relativamente grande. Sin embargo, han demostrado tradicionalmente una capacidad adsorptiva muy dispar hacia la β_2 -microglobulina, poniendo de relieve que las propiedades tanto depurativas como adsorptivas de cada membrana estarán fuertemente marcadas por una combinación multifactorial de diversos parámetros (tanto estructurales como de afinidad electrostática).

En concreto, el AN69 de polimetilmetacrilato (PAN) está caracterizado por un potencial Z extremadamente negativo ($\zeta=-70$ mV), debido a su composición de copolímero de acrilonitrilo hidrofóbico y sobretodo a los monómeros sulfonato derivados del metalil sulfonato de sodio de carácter hidrofílico, otorgando a esta membrana un comportamiento principalmente hidrofílico (304). En el caso de los hemodializadores de polimetilmetacrilato (PMMA) como el BG-2.1U, con una densidad eléctrica superficial inferior ($\zeta=-25$ mV) han demostrado asimismo una elevada adsorción de β_2 -microglobulina (120, 305–307). Por último, los hemodializadores de triacetato de celulosa, de carácter hidrofílico y potencial Z moderadamente negativo ($\zeta=-20$ mV) resultan en prácticamente valores negligibles de adsorción para esta molécula (308).

En este sentido, tanto el primer como el segundo trabajos presentados en esta tesis corroboraron los resultados de la literatura, reforzando las prominentes capacidades adsorptivas de la β_2 -microglobulina hacia la membrana de PMMA y su despreciable adhesión al filtro de TAC. Asimismo, se puso de manifiesto la adhesión mucho menor, pero no nula, en mem-

branas de polisulfona y copolímero de poliamida. Sin embargo, la explicación detallada de estos resultados merece un pormenorizado análisis basándose en la afinidad electrónica local además de la distribución estructural de la membrana (309).

Las dispar respuesta adsorptiva entre el PMMA y TAC proviene mayormente de las diferentes afinidades electrostáticas. En primer lugar la β_2 -microglobulina es globalmente negativa a pH fisiológico (pH=7.4), debido a que su punto isoelectrico se sitúa entre pH=5.3-5.7 (310) y por tanto la interacción con la densidad electrónica sería globalmente repulsiva bajo estas condiciones. Sin embargo, la molécula presenta residuos de carácter básico (es decir regiones con carga local positiva) que, por la significativa atracción electrostática, pueden quedar fuertemente adheridos a la estructura porosa de membranas de elevada carga negativa como la AN69 (311). En el caso de los hemodilizadores de PMMA, su inherente carácter hidrofóbico provoca que, a pesar de la adición de PVP como material hidrofilizante, existan dominios de carga eléctrica alternada (312) permitiendo la fuerte adhesión de β_2 -microglobulina. Por contra, la negligible capacidad de adsorción en filtros de TAC se debe tanto a su reducido grosor de pared capilar ($\Delta x=15 \mu\text{m}$) lo que conlleva una reducida superficie disponible para la adhesión en comparación a las otras membranas, así como a su homogénea capacidad hidrofílica, ofreciendo una significativa repulsión electrostática uniforme a las moléculas que acceden al canal poroso y por tanto, reduciendo drásticamente su capacidad adsorptiva.

Además de lo anterior, esta adsorción se producirá estructuralmente, en los filtros simétricos, tanto en la capa superficial como en la profundidad de la pared capilar dada la relación anteriormente citada r_s/r_p , haciendo posible que la molécula acceda al interior del canal poroso, y por tanto, que su preferente vía de depósito sea la descrita por el modelo estándar de bloqueo. Por contra, la asimetría de los filtros de PS y PA destacarían por una adsorción muy superficial, debido a que la asimetría de la estructura subyacente reduce drásticamente la probabilidad de adhesión.

Adsorción de prolactina y α_1 -microglobulina

Siguiendo la línea de la descripción de la adsorción para la β_2 -microglobulina, estarían las capacidades adsorptivas hacia toxinas urémicas de mayor tamaño y estructura electrónica similar como la prolactina (pI= 6.5) (313, 314) o la α_1 -microglobulina (pI= 3.8-4.7) (315). Hay que remarcar que no se ha encontrado literatura alguna donde se destaquen las propiedades adsorptivas de diferentes hemodializadores hacia estas moléculas. En este sentido, los dos primeros artículos presentados en esta tesis ofrecen una muy novedosa primera aproximación de los perfiles adsorptivos de estas toxinas en diferentes membranas de hemodiálisis.

En este sentido, los resultados obtenidos en los dos primeros artículos presentados sugieren que la combinación entre la relación r_s/r_p y la configuración electrónica de la molécula y

membrana, marcará la capacidad de adhesión de estas toxinas, reforzando el concepto de que moléculas de mayor tamaño tienen más dificultad para acceder al canal poroso, resultando en una menor adsorción y preferentemente localizada a nivel superficial, fenómeno que dependerá, asimismo, de la afinidad electrónica de cada molécula.

Efecto de la convección sobre adsorción de toxinas urémicas

Una de las preguntas que pretende responder este trabajo de tesis es la influencia de la convección sobre la adsorción de toxinas urémicas. En este sentido, y en vista de los resultados expuestos tanto en el primer como segundo artículo, se pone de relieve que un importante incremento de la convección no está asociado significativamente a una mayor adsorción. Si bien sí se detectó un ligero incremento en la masa adsorbida para un mismo tipo de filtro utilizado en la modalidad convectiva, este fenómeno sería directamente atribuible a la mayor tasa de transferencia de moléculas a través de la estructura de la pared del capilar en tratamientos de HDF y por tanto, una mayor probabilidad de adhesión. Este comportamiento confirma que la afinidad electrónica y la configuración estructural son las principales variables que determinarán la respuesta adsorptiva de las diferentes moléculas.

Adsorción de albúmina y proteínas. Formación de capa de gel proteico.

Desde los inicios de la hemodiálisis como tratamiento renal sustitutivo, se comprobó que el contacto y la interacción entre la sangre y el material del que están compuestos los capilares, así como la configuración de la estructura porosa tridimensional de la pared capilar, provoca la inmediata perturbación y/o activación de ciertos componentes sanguíneos, lo que establece la bio(in)compatibilidad de cada membrana (316–319). Además, como se ha mencionado en la introducción, tanto el efecto Fåhræus y el singular comportamiento de la sangre al circular por capilares con un radio inferior a $500\ \mu\text{m}$ (agrupando los hematíes hacia el eje de movimiento y desplazando el plasma y su contenido) como el perfil parabólico de la velocidad de propagación, afectará al tiempo de residencia de las proteínas cerca de la pared capilar, dando lugar a una región de polarización proteica entre el plasma y la membrana, desencadenando en la paulatina formación de una homogénea vaina proteica o *protein cake* (320–322) que provoca el declive de la capacidad filtradora de la membrana por obstrucción.

La composición de esta vaina proteica ha sido ampliamente estudiada a fin de poder analizar en detalle la implicación de las diferentes membranas utilizadas en la activación del complemento, dando lugar de una indeseada respuesta inflamatoria, detectada mediante el análisis de niveles de interleucinas, citocinas, plaquetas y neutrófilos (323–336). Sin embargo, los mecanismos de formación de esta vaina proteica no tienen, hasta la fecha, una descripción sólida, si bien diversos autores sugieren que se trata de un proceso dinámico de depósito y desorción competitivo de moléculas debido tanto al efecto Vroman (337) como a las regiones de afinidad electrostática (338–340) dando lugar a las diferentes interacciones

molécula-superficie o molécula-molécula.

En este sentido, diversos autores han puesto de relieve las capacidades adsorptivas de los materiales de las diferentes membranas empleadas en esta tesis. En concreto, los hemodializadores de PMMA han demostrado una relevante adsorción de albúmina (341–343) debido en gran medida a su estructura, mientras que la adsorción de proteínas en membranas de PS, TAC y PA (344–353), está atribuida tanto a su configuración estructural, su capacidad hidrofílica y a la disposición electrónica (debido a la presencia de momentos dipolares, como es el caso de la polisulfona (354).

Así, en el primer y segundo artículo de esta tesis se corroboran claramente las capacidades adsorptivas de las diferentes membranas, con una importante adhesión de albúmina hacia la membrana de PMMA, mientras que el hemodializador de TAC destaca por su alta afinidad hacia proteínas plasmáticas.

Efecto de la convección y relación con la obstrucción

Los estudios citados más arriba han extraído sus conclusiones efectuando exclusivamente tratamientos de HD, donde el predominante mecanismo de transporte es la difusión, mientras que el análisis de la convección sobre la adhesión de proteínas está muy poco descrita en la literatura (355, 356). En este sentido es evidente plantear que la elevada ultrafiltración en los tratamientos de HDF y la consiguiente hemoconcentración en la membrana potenciará el fenómeno Fåhræus, incrementando el desplazamiento de proteínas plasmáticas a las paredes de los capilares, y por tanto, favoreciendo su adsorción.

En el primer artículo de esta tesis se destaca la ínfima influencia de la convección sobre la adsorción de albúmina a excepción de la polisulfona, donde la elevada ultrafiltración desencadenó en una significativa adsorción hacia esta molécula. Este resultado podría tener su explicación en la distribución estructural de esta membrana. Como ya se ha detallado, la polisulfona se comprende de una delgada capa interna de 1 μm de espesor con poros de 3.3 nm de radio que actúa como barrera separadora (*skin layer*), mientras que la albúmina tiene un radio de 3.5 nm. Esta singular relación dificulta en gran medida el acceso de la albúmina al canal poroso, depositándose únicamente a nivel superficial. Además, es probable que no todas las moléculas de albúmina que llegan a la pared capilar se adhieran sobre esta barrera separadora sino que, por afinidad, queden adheridas a otras moléculas ya depositadas, provocando una adhesión constructiva con perfil similar al modelo de bloque intermedio o de formación de gel proteico, fenómeno potenciado por la convección. Además, si bien no resultó significativa, la misma tendencia para esta membrana también se observó en el segundo artículo presentado.

Donde si se constató una clara interferencia debido al aporte convectivo fue en las proteínas totales adheridas a la membrana de triacetato de celulosa. Si bien y de manera general

la convección incrementó ligeramente la adsorción de proteínas totales para el mismo tipo de filtro, la membrana de TAC aumentó notablemente la adhesión al someterse a la modalidad convectiva, efecto no acompañado por un incremento depurativo de PCs o IS e induciendo a su vez una alta obstrucción de esta membrana, efecto que enlazaría con los resultados expuestos en la sección dedicada a la depuración, ya que esta obstrucción provocaría la gran disminución de sus propiedades depurativas, reflejadas tanto en los reducidos valores de RR como de GRS, desaconsejando el uso de este hemodializador en la modalidad convectiva.

Validez de un modelo unidimensional

Como ya se ha detallado en la introducción, el esquema tradicional propuesto para desarrollar modelos cinéticos predictivos de una gran variedad de toxinas urémicas está basado en un sistema compuesto de un volumen de distribución compartimentalizado en dos o más sub-volúmenes, donde el intercambio de solutos se produce exclusivamente por la difusión debida al gradiente de concentraciones y basada en dos parámetros cinéticos como el coeficiente (o coeficientes) de paso intercompartimental K_c y el aclaramiento en el dializador K_d . Si bien este esquema ha sido exhaustivamente utilizado para la predicción del perfil cinético de un variado tipo de moléculas, tiene ciertas limitaciones ya comentadas, como su gran dependencia en el volumen de distribución considerado (357, 358) o el número limitado de sub-volúmenes asumibles. En este sentido y con la finalidad de ofrecer una alternativa a esta gran dependencia, se propuso el ensayo y la validez de un modelo que pudiera describir un perfil cinético similar al constatado por modelos compartimentales pero que a su vez estuviera exento de la imposición, *a priori*, de un volumen de distribución.

Por ello se postuló un modelo teórico basado en una ecuación de difusión unidimensional actuando sobre un dominio virtual de longitud unidad ($L = 1$). El modelo presentado es puramente teórico y requiere cierta capacidad de abstracción, sin embargo, el paralelismo fisiológico consiste en considerar este dominio como el recorrido virtual por donde difunde una molécula con difusividad k desde un punto situado en lo más interior ($x = 0$) de la célula que la ha generado (e.g., el interior de una célula hepática en el caso de la urea o de una célula muscular en el caso de la creatinina) hasta el punto donde es depurada en el dializador ($x = 1$) con una tasa de eliminación α . Esta definición permite, además, la representación del gradiente de concentraciones entre tejidos de manera continua como un modelo N-dimensional en serie, aspecto indeterminado en otro tipo de modelos.

Además de lo anterior, otro aspecto muy novedoso añadido al modelo y sin ningún referente en la literatura, fue la consideración de un tiempo de 'transición depurativa' al terminar el tratamiento. En todos los modelos cinéticos consultados, la distinción entre el tiempo de diálisis y post-diálisis se incluye únicamente como la actuación (o no) del parámetro de depuración en el dializador (K_d), incluyendo una función de actuación, $\delta(t)$, definida en

el intervalo anterior y posterior a la finalización del tratamiento (relación 5.3).

$$\delta(t) = \begin{cases} 1 & \text{para } t \leq t_{\text{tratamiento}} \\ 0 & \text{para } t > t_{\text{tratamiento}} \end{cases} \quad (5.3)$$

En realidad, en una hemodiálisis existe un tiempo de transición (Δt_a) entre la finalización del tratamiento y la total reinfusión de la sangre remanente en el circuito extracorpóreo al paciente. Durante este breve intervalo de tiempo ($\Delta t_a \sim 5$ minutos) la sangre sigue en contacto con la membrana aunque a un flujo inferior, siendo posible la depuración a menor ritmo. Por ello se redefinió la transición $\delta(t)$ incluyendo este fenómeno como una disminución lineal descrita como:

$$\delta(t) = \begin{cases} 1 & \text{para } t \leq t_{\text{tratamiento}} \\ 1 - \frac{t - t_{\text{tratamiento}}}{\Delta t_a} & \text{para } t_{\text{tratamiento}} \leq t \leq t_{\text{tratamiento}} + \Delta t_a \\ 0 & \text{para } t > t_{\text{tratamiento}} \end{cases} \quad (5.4)$$

El modelo difusivo planteado se resolvió numéricamente por métodos espectrales (359–361) debido a la complejidad de resolver analíticamente el formalismo propuesto (362–364) y fue ajustado de acuerdo con los datos obtenidos en el estudio de Maduell et al. (247). La bondad del ajuste, valor no siempre calculado con rigor en otros modelos publicados, se determinó con la función erro ϵ , i.e. la suma de las diferencias entre los resultados analíticos y los simulados, obteniendo valores del orden de 10^{-3} , indicando una elevada concordancia.

Todo el formalismo descrito tenía como objetivo concreto, evaluar la influencia del tiempo de tratamiento y de la convección aplicada sobre la cinética de diversas toxinas urémicas. En este sentido, los parámetros propuestos y especialmente la tasa de depuración α , permitió corroborar nuevamente el efecto de la sobrepresión aplicada en tratamientos de HDF sobre moléculas de un amplio espectro de PM, resultando en una negligible influencia en la depuración de toxinas de bajo peso molecular como la urea o la creatinina (cuyo principal mecanismo de depuración es la difusión), mientras que este parámetro aumentó notoriamente para moléculas de PM superior a 12 kDa, constatando una vez más la necesidad de un importante aporte convectivo para la eliminación de estas moléculas.

Por último, y podríamos decir que el resultado más destacable y una de las grandes ventajas del modelo difusivo propuesto, es su equivalencia casi-directa con los parámetros cinéticos K_c y K_d obtenidos de modelos compartimentales. Así, partiendo de que la difusividad k y la tasa de depuración α tienen, en este caso, dimensiones de $[1/\text{min}]$, la multiplicación de los valores de éstos parámetros por el volumen de distribución asumido de cualquier molécula, permite obtener parámetros cinéticos expresados en mL/min como la mayoría de modelos compartimentalizados. Este resultado es particularmente relevante ya que pone de manifiesto la capacidad de comparación de dos formulaciones matemáticas

totalmente diferentes pero con predicciones muy similares. Esto es debido a que la solución matemática de ambos modelos está descrita como modulación de funciones exponenciales (tal y como se puede consultar en el Anexo 1).

A modo de comparación, la Tabla 5.2 muestra los valores obtenidos de los parámetros cinéticos k y α (en el caso de tratamientos de 4h-Qi50), la conversión de éstos valores (\tilde{K}_c y \tilde{K}_d respectivamente) basándose en el volumen de distribución asumido para la urea y creatinina ($V_{dist}=40$ L) y β_2 -microglobulina ($V_{dist}=13$ L) y los valores reportados en la literatura de K_c y K_d . Si bien se aprecian ciertas diferencias, hay una buena correlación entre valores, demostrando la validez y compatibilidad del modelo difusivo.

Tabla 5.2: Valores de los parámetros cinéticos α y k obtenidos del modelo difusivo, sus análogos \tilde{K}_d y \tilde{K}_c obtenidos utilizando el volumen distribución (V_{dist}) para cada molécula y diversos valores del aclaramiento en el dializador (K_d) y el paso compartimental (K_c), expresados en mL/min reportados en modelos bicompartimentales de la literatura.

	Urea	Creatinina	β_2 -microglobulina	Ref
α	0.62 ± 0.05	0.46 ± 0.04	0.50 ± 0.07	
k	1.35 ± 0.27	0.47 ± 0.09	0.38 ± 0.10	
$\tilde{K}_d = \alpha V_{dist}$	248 ± 20	184 ± 16	65 ± 9	
K_d	254 ± 36	-	-	(365)
K_d	-	-	73 ± 2	(244)
K_d	271	188	48	(247)
K_d	261 ± 17	264 ± 14	-	(241)
K_d	238 ± 39	183 ± 39	77 ± 12	(250)
$\tilde{K}_c = k V_{dist}$	540 ± 108	188 ± 36	49 ± 13	
K_c	540 ± 160	-	-	(365)
K_c	477	113	-	(240)
K_c	-	-	82 ± 7	(244)
K_c	834	162	39	(247)
K_c	822 ± 345	618 ± 113	-	(241)
K_c	600	275	40	(238)
K_c	188 ± 78	108 ± 29	65 ± 12	(250)

6. Conclusiones

En relación al **Objetivo 1.**

- La moderada degradación de toxinas urémicas en los recambios plasmáticos conservados a 4 °C y la estabilidad de los hematíes en los 30 días posteriores a su expiración, permiten el empleo de la unión de estas dos soluciones coloidales como matriz precursora de bajo coste y con propiedades similares a la sangre de paciente urémico en tratamientos de hemodiálisis simulada sin incidencias destacables.

En relación al **Objetivo 2.**

- La elevada convección aplicada en la hemodiafiltración en línea post-dilucional induce una mayor transferencia masas a través de la pared del capilar del hemodializador, alcanzando valores más elevados de depuración de toxinas urémicas de mediano y alto peso molecular respecto a la hemodiálisis de alto flujo.
- La implementación de un índice de depuración de rangos medios (GRS) ofrece una manera sencilla y sintética de cuantificación de las propiedades depurativas de diferentes hemodializadores sobre toxinas urémicas comprendidas entre 12 y 30 kDa, además de añadir el efecto colateral no deseado de depuración de albúmina y permitir la comparación directa entre membranas y/o modalidades convectivas diferentes.
- La elevada ultrafiltración aplicada en los tratamientos de hemodiafiltración post-dilucional incrementa muy discretamente, para un mismo tipo de hemodializador, la capacidad adsorptiva intrínseca, que recae muy fuertemente en la combinación de su tamaño de poro, la simetría y grosor de la pared capilar, las propiedades hidrofílicas del material utilizado y de la configuración eléctrica tanto de la molécula como del canal poroso, estableciendo zonas preferenciales de depósito (capa superficial o a lo largo de toda la estructura porosa).

- Los hemodializadores de TAC simétricos reúnen nominalmente los requisitos estructurales para soportar modalidades convectivas. Sin embargo no ofrecen clínicamente mejores prestaciones una vez sometidos a elevada ultrafiltración debido a la notable obstrucción por adhesión de proteínas, efecto no acompañado de mejor depuración de toxinas con adhesión proteica. Por ello, se recomienda una especial atención en la selección de hemodializadores sometidos a alta ultrafiltración.

Por último, en relación al **Objetivo 3**.

- El modelo difusivo unidimensional basado en los parámetros cinéticos de difusividad k y la tasa de eliminación en el hemodializador α , establece una alternativa a los modelos cinéticos bicompartimentales, no precisando del volumen de distribución de cada molécula simulada.
- Los parámetros de este modelo, en especial el referente a la tasa de eliminación α , corroboran la baja influencia de la convección sobre depuración de moléculas pequeñas mientras que se constata el incremento de la depuración de toxinas con peso molecular superior a 12 kDa en tratamientos convectivos.

7. Líneas futuras

Los hallazgos presentados en esta tesis han permitido explorar la relación entre la elevada ultrafiltración de los tratamientos de hemodiafiltración post-dilucional y las propiedades depurativas y adsorptivas de diferentes membranas sobre un amplio espectro de toxinas urémicas, haciendo especial énfasis en el rango medio y alto de pesos moleculares. Si bien se ha realizado una adecuada cuantificación global de la adsorción de estas toxinas, solo se han podido sugerir los mecanismos de depósito y los lugares preferenciales de la fibra capilar donde tiene lugar esta adsorción según la membrana y molécula estudiada. En este sentido y siguiendo la línea de investigación iniciada, actualmente se está optimizando en nuestro laboratorio un protocolo para la verificación, mediante microscopia de fluorescencia, de las zonas preferenciales de adhesión (capa interna o a lo largo de toda la pared capilar) según la molécula y la estructura de la membrana, pudiendo corroborar experimentalmente los posibles modelos de depósito o bloqueo de poros.

Además de lo anterior, recientes estudios plantean que la selección de acidificante empleado en la obtención del dializado (citrato o acetato) modifica las capacidades adsorptivas de membranas de polisulfona. Además, el creciente uso de hemodializadores de MCO y su incrementado tamaño de poro, no ha sido acompañado de un análisis pormenorizado de sus capacidades adsorptivas, aspecto esencial atendiendo a su peculiar configuración estructural. Estas dos líneas de investigación permitirán dar una aplicación directa a la experiencia adquirida en cuanto a la cuantificación de las propiedades adsorptivas de diferentes membranas.

Bibliografía

- [1] L. Hernando. *Nefrología Clínica*. Editorial Médica Panamericana, S.A., 2008. ISBN: 978-84-9835-186-6.
- [2] J. Feher. *Quantitative Human Physiology*. Academic Press, Boston, 2012. ISBN: 978-0-12-382163-8.
- [3] B. Haraldsson, J. Nyström, and W.M. Deen. Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria. *Physiological Reviews*, 88(2):451–487, 2008.
- [4] M.J. Moeller and V. Tenten. Renal albumin filtration: Alternative models to the standard physical barriers. *Nature Reviews Nephrology*, 9(5):266–277, 2013.
- [5] R. Samraj and R. Basu. *Applied Renal Physiology in the PICU*. Springer London, London, 2014. ISBN 978-1-4471-6416-6.
- [6] A. Levin, P.E. Stevens, R.W. Bilous, J. Coresh, A.L.M. De Francisco, P.E. De Jong, et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney International Supplements*, 3(1):1–150, 2013.
- [7] A. Levey and J. Coresh. Chronic kidney disease. *The Lancet*, 379(9811):165–180, 2012.
- [8] B. Bikbov, C.A. Purcell, A.S. Levey, M. Smith, A. Abdoli, M. Abebe, et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the global burden of disease study 2017. *The Lancet*, 395(10225):709–733, 2020.
- [9] M.J. Sarnak, A.S. Levey, A.C. Schoolwerth, J. Coresh, B. Culleton, L.L. Hamm, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: A statement from the american heart association councils on kidney in cardiovascular disease, high blood pressure research, clinical cardiology, and epidemiology and prevention. *Circulation*, 108(17):2154–2169, 2003.
- [10] L. Golestaneh, P.J. Alvarez, N.L. Reaven, S.E. Funk, K.J. McGaughey, A. Romero, et al. All-cause costs increase exponentially with increased chronic kidney disease stage. *The American journal of managed care*, 23(10):S163–S172, 2017.
- [11] C. Zoccali, A. Kramer, and K.J. Jager. Chronic kidney disease and end-stage renal disease. A review produced to contribute to the report 'the status of health in the European union: Towards a healthier Europe'. *NDT Plus*, 3(3):213–224, 2010.
- [12] J. Himmelfarb, R. Vanholder, R. Mehrotra, and M. Tonelli. The current and future landscape of dialysis. *Nature Reviews Nephrology*, 16(10):573–585, 2020.
- [13] B. Mahillo. Sociedad Española de Nefrología. Informe de Diálisis y Trasplante 2019. www.senefro.org.
- [14] Khaled Abdel-Kader, Larissa Myaskovsky, Irina Karpov, Jay Shah, Rachel Hess, Mary Amanda Dew, et al. Individual quality of life in chronic kidney disease: Influence of age and dialysis modality. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4(4):711–718, 2009.
- [15] R. Vanholder, G. Glorieux, R. De Smet, and N. Lameire. New insights in uremic toxins. *Kidney International, Supplement*, 63(84):S6–S10, 2003.
- [16] F. Durantou, G. Cohen, R. De Smet, M. Rodriguez, J. Jankowski, R. Vanholder, et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *Journal of the American Society of Nephrology*, 23(7):1258–1270, 2012.
- [17] R. Vanholder, A. Pletinck, E. Schepers, and G. Glorieux. Biochemical and clinical impact of organic uremic retention solutes: A comprehensive update. *Toxins*, 10(1), 2018.

- [18] I.D. Weiner, W.E. Mitch, and J.M. Sands. Urea and ammonia metabolism and the control of renal nitrogen excretion. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(8):1444–1458, 2015.
- [19] G. Richet. Early history of uremia. *Kidney International*, 33(5):1013–1015, 1988. cited By 25.
- [20] J. Sargent and F. Gotch. *Principles and Biophysics of Dialysis*, pages 34–102. Springer Netherlands, Dordrecht, 1996.
- [21] R. Vanholder, T. Gryp, and G. Glorieux. Urea and chronic kidney disease: The comeback of the century? (in uraemia research). *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33(1):4–12, 2018.
- [22] M. D’Apolito, X. Du, D. Pisanelli, M. Pettoello-Mantovani, A. Campanozzi, F. Giacco, et al. Urea-induced ROS cause endothelial dysfunction in chronic renal failure. *Atherosclerosis*, 239(2):393 – 400, 2015.
- [23] E. Trécherel, C. Godin, C. Louandre, J. Benoit, S. Poirat, J.C. Mazière, et al. Upregulation of Bad, a pro-apoptotic protein of the bcl2 family, in vascular smooth muscle cells exposed to uremic conditions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 417(1):479 – 483, 2012.
- [24] M. Wyss and R. Kaddurah-Daouk. Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews*, 80(3):1107–1213, 2000.
- [25] J. Salazar. Overview of urea and creatinine. *Laboratory Medicine*, 45(1):e19–e20, 02 2014.
- [26] D.W. Cockcroft and M.H. Gault. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*, 16(1):31–41, 1976.
- [27] A. Storm, N. Htike, D. Cohen, and R. Benz. A surviving patient with record high creatinine. *Open Journal of Nephrology*, 3(4):217–219, 2013.
- [28] A. A. Asif, H. Hussain, and T. Chatterjee. Extraordinary creatinine level: A case report. *Cureus*, 12(7):e9076, 2020.
- [29] V.M. Sankar-Raj, J. Garcia, and R. Gordillo. 17-year-old boy with renal failure and the highest reported creatinine in pediatric literature. *Hindawi Publishing Corporation: Case Reports in Pediatrics*, 703960:4, 2015.
- [30] E. Schepers, G. Glorieux, and R. Vanholder. The gut: The forgotten organ in uremia? *Blood Purification*, 29(2):130–136, 2010.
- [31] T. Gryp, R. Vanholder, M. Vanechoutte, and G. Glorieux. p-cresyl sulfate. *Toxins*, 9(2), 2017.
- [32] P. Gross, Z.A. Massy, L. Henaut, C. Boudot, J. Cagnard, C. March, et al. Para-cresyl sulfate acutely impairs vascular reactivity and induces vascular remodeling. *Journal of Cellular Physiology*, 230(12):2927–2935, 2015.
- [33] J. Poveda, M.D. Sanchez-Niño, G. Glorieux, A.B. Sanz, J. Egido, R. Vanholder, et al. P-cresyl sulphate has pro-inflammatory and cytotoxic actions on human proximal tubular epithelial cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(1):56–64, 2014.
- [34] C.Y. Sun, S.C. Chang, and M.S. Wu. Uremic toxins induce kidney fibrosis by activating intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system associated epithelial-to-mesenchymal transition. *PLoS ONE*, 7(3), 2012.
- [35] S.C. Leong and T.L. Sirich. Indoxyl sulfate-review of toxicity and therapeutic strategies. *Toxins*, 8(12), 2016.
- [36] C.J. Lin, H.L. Liu, C.F. Pan, C.K. Chuang, T. Jayakumar, T.J. Wang, et al. Indoxyl sulfate predicts cardiovascular disease and renal function deterioration in advanced chronic kidney disease. *Archives of Medical Research*, 43(6):451–456, 2012.
- [37] B. Sato, D. Yoshikawa, H. Ishii, S. Suzuki, Y. Inoue, K. Takeshita, et al. Relation of plasma indoxyl sulfate levels and estimated glomerular filtration rate to left ventricular diastolic dysfunction. *The American Journal of Cardiology*, 111(5):712–716, 2013.
- [38] Y.C. Yeh, M.F. Huang, S.S. Liang, S.J. Hwang, J.C. Tsai, T.L. Liu, et al. Indoxyl sulfate, not p-cresyl sulfate, is associated with cognitive impairment in early-stage chronic kidney disease. *NeuroToxicology*, 53:148–152, 2016.
- [39] C.P. Argyropoulos, S.S. Chen, Y.-H. Ng, M.-E. Roumelioti, K. Shaffi, P.P. Singh, et al. Rediscovering beta-2 microglobulin as a biomarker across the spectrum of kidney diseases. *Frontiers in Medicine*, 4(JUN), 2017.

-
- [40] S. Jones, J. Manning, N.M. Kad, and S.E. Radford. Amyloid-forming peptides from β 2-microglobulin - insights into the mechanism of fibril formation in vitro. *Journal of Molecular Biology*, 325(2):249–257, 2003.
- [41] S. Onishi, D.L. Andress, N.A. Maloney, J.W. Coburn, and D.J. Sherrard. Beta2-microglobulin deposition in bone in chronic renal failure. *Kidney International*, 39(5):990–995, 1991.
- [42] K.S. Kleinman and J.W. Coburn. Amyloid syndromes associated with hemodialysis. *Kidney International*, 35(2):567–575, 1989.
- [43] M. Solé, J. Muñoz-Gómez, and J.M. Campistol. Role of amyloid in dialysis-related arthropathies - a morphological analysis of 23 cases. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology*, 417(6):523–528, 1990.
- [44] F. Gejo. Contribution of japanese researchers to progress in studies on nephrology in the past 100 years: Beta2-microglobulin as an etiological factor of amyloidosis in patients undergoing hemodialysis. *Nihon Naika Gakkai zasshi. The Journal of the Japanese Society of Internal Medicine*, 91(5):1434–1436, 2002.
- [45] T.B. Drüeke and Z.A. Massy. Beta2-microglobulin. *Seminars in Dialysis*, 22(4):378–380, 2009.
- [46] T.B. Drüeke. β 2-microglobulin and amyloidosis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 15(SUPPL. 1):17–24, 2000.
- [47] J.P. Donnelly, M. Hanna, B.W. Sperry, and Jr Seitz, W.H. Carpal tunnel syndrome: A potential early, red-flag sign of amyloidosis. *Journal of Hand Surgery*, 44(10):868–876, 2019.
- [48] I. Portales-Castillo, J. Yee, H. Tanaka, and A.Z. Fenves. Beta-2 microglobulin amyloidosis: Past, present, and future. *Kidney360*, 1(12):1447–1455, 2020.
- [49] C. Kamga, S. Krishnamurthy, and S. Shiva. Myoglobin and mitochondria: A relationship bound by oxygen and nitric oxide. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, 26(4):251–258, 2012.
- [50] G.D. Giannoglou, Y.S. Chatzizisis, and G. Misirli. The syndrome of rhabdomyolysis: Pathophysiology and diagnosis. *European Journal of Internal Medicine*, 18(2):90–100, 2007.
- [51] X. Bosch, E. Poch, and J.M. Grau. Rhabdomyolysis and acute kidney injury. *New England Journal of Medicine*, 361(1):62, 2009.
- [52] N. Ben-Jonathan, J.L. Mershon, D.L. Allen, and R.W. Steinmetz. Extrapituitary prolactin: Distribution, regulation, functions, and clinical aspects. *Endocrine Reviews*, 17(6):639–669, 1996.
- [53] H. Wallaschofski, A. Kobsar, O. Sokolova, A. Siegemund, H. Stepan, R. Faber, et al. Differences in platelet activation by prolactin and leptin. *Hormone and Metabolic Research*, 36(7):453–457, 2004.
- [54] S. Levine and O. Muneyyirci-Delale. Stress-induced hyperprolactinemia: Pathophysiology and clinical approach. *Obstetrics and Gynecology International*, 2018, 2018.
- [55] J.J. Carrero, J. Kyriazis, A. Sonmez, I. Tzanakis, A.R. Qureshi, P. Stenvinkel, et al. Prolactin levels, endothelial dysfunction, and the risk of cardiovascular events and mortality in patients with ckd. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 7(2):207–215, 2012.
- [56] B.F. Palmer. Sexual dysfunction in uremia. *Journal of the American Society of Nephrology*, 10(6):1381–1388, 1999.
- [57] M. Dourado, F. Cavalcanti, L. Vilar, and A. Cantilino. Relationship between prolactin, chronic kidney disease, and cardiovascular risk. *International Journal of Endocrinology*, 2020, 2020.
- [58] J. Penders and J. Delanghe. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clinica Chimica Acta*, 346(2):107–118, 2004.
- [59] H. Yu, Y. Yanagisawa, M.A. Forbes, E.H. Cooper, R.A. Crockson, and I.C. MacLennan. Alpha-1-microglobulin: An indicator protein for renal tubular function. *Journal of Clinical Pathology*, 36(3):253–259, 1983.
- [60] L. Petrica, A. Vlad, G. Gluhovschi, F. Gadalean, V. Dumitrascu, C. Gluhovschi, et al. Proximal tubule dysfunction is associated with podocyte damage biomarkers nephrin and vascular endothelial growth factor in type 2 diabetes mellitus patients: A cross-sectional study. *PLoS ONE*, 9(11), 2014.
- [61] H.P. Erickson. Size and shape of protein molecules at the nanometer level determined by sedimentation, gel filtration, and electron microscopy. *Biological Procedures Online*, 11(1):32–51, 2009.

- [62] J. García de la Torre and S.E. Harding. Hydrodynamic modelling of protein conformation in solution: Ellips and hydro. *Biophysical Reviews*, 5(2):195–206, 2013.
- [63] I. Masakane, K. Kikuchi, and H. Kawanishi. Evidence for the clinical advantages of predilution on-line hemodiafiltration. *Contributions to Nephrology*, 189:17–23, 2016.
- [64] C. Ronco, N. Marchionna, A. Brendolan, M. Neri, A. Lorenzin, and A.J. Martínez Rueda. Expanded haemodialysis: From operational mechanism to clinical results. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33:iii41–iii47, 2018.
- [65] C. Johnner, P.W. Chamney, D. Schneditz, and M. Krämer. Evaluation of an ultrasonic blood volume monitor. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 13(8):2098–2103, 1998.
- [66] Z.J. Twardowski. History of hemodialyzers’ designs. *Hemodialysis International*, 12(2):173–210, 2008.
- [67] C. Ronco, A. Brendolan, C. Crepaldi, M. Rodighiero, P. Everard, Ballestri, et al. Dialysate distribution in hollow fiber hemodialyzers with different dialysate pathway configurations. *International Journal of Artificial Organs*, 23(9):601–609, 2000.
- [68] C. Ronco, A. Brendolan, C. Crepaldi, M. Rodighiero, and M. Scabardi. Blood and dialysate flow distributions in hollow-fiber hemodialyzers analyzed by computerized helical scanning technique. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13 Suppl 1:S53–S61, 2002.
- [69] A. Boschetti-De-Fierro, W. Beck, H. Hildwein, B. Krause, M. Storr, and C. Zweigart. Membrane innovation in dialysis. *Contributions to Nephrology*, 191:100–114, 2017.
- [70] C. Ronco, A. Brendolan, A. Lupi, G. Metry, and N.W. Levin. Effects of a reduced inner diameter of hollow fibers in hemodialyzers. *Kidney International*, 58(2):809–817, 2000.
- [71] C. Ronco and W.R. Clark. Haemodialysis membranes. *Nature Reviews Nephrology*, 14(6):394–410, 2018.
- [72] Q. Zhang, X. Lu, and L. Zhao. Preparation of polyvinylidene fluoride (pvdf) hollow fiber hemodialysis membranes. *Membranes*, 4(1):81–95, 2014.
- [73] L. Zhu, F. Liu, X. Yu, and L. Xue. Poly(lactic acid) hemodialysis membranes with poly(lactic acid)-block-poly(2-hydroxyethyl methacrylate) copolymer as additive: Preparation, characterization, and performance. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(32):17748–17755, 2015.
- [74] K. Kokubo and K. Sakai. Evaluation of dialysis membranes using a tortuous pore model. *AIChE Journal*, 44(12):2607–2619, 1998.
- [75] K. Yamamoto, M. Hayama, M. Matsuda, T. Yakushiji, M. Fukuda, T. Miyasaka, et al. Evaluation of asymmetrical structure dialysis membrane by tortuous capillary pore diffusion model. *Journal of Membrane Science*, 287(1):88–93, 2007.
- [76] J.B. Bassingthwaighte. A practical extension of hydrodynamic theory of porous transport for hydrophilic solutes. *Microcirculation*, 13(2):111–118, 2006.
- [77] A. Yamashita and K. Sakurai. *Dialysis Membranes - Physicochemical Structures and Features*, pages 163–188. IntechOpen, 2015. ISBN 978-953-51-2162-6.
- [78] P. Fievet, A. Szymczyk, C. Labbez, B. Aoubiza, C. Simon, A. Foissy, et al. Determining the zeta potential of porous membranes using electrolyte conductivity inside pores. *Journal of Colloid and Interface Science*, 235(2):383–390, 2001.
- [79] M.J. Ariza and J. Benavente. Streaming potential along the surface of polysulfone membranes: A comparative study between two different experimental systems and determination of electrokinetic and adsorption parameters. *Journal of Membrane Science*, 190(1):119–132, 2001.
- [80] J.L. Anderson. Configurational effect on the reflection coefficient for rigid solutes in capillary pores. *Journal of Theoretical Biology*, 90(3):405–426, 1981.
- [81] Y.-Y. Won and D. Ramkrishna. Revised formulation of fick’s, fourier’s, and newton’s laws for spatially varying linear transport coefficients. *ACS Omega*, 4(6):11215–11222, 2019.
- [82] O. Kedem and A. Katchalsky. Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 27:229 – 246, 1958.
- [83] Z Liao, E. Klein, C. Poh, Z. Huang, J. Lu, P.A. Hardy, et al. Measurement of hollow fiber membrane transport properties in hemodialyzers. *Journal of Membrane Science*, 256(1):176 – 183, 2005.

-
- [84] Z. Huang, D. Gao, J. Letteri, and W.R. Clark. Blood-membrane interactions during dialysis. *Seminars in dialysis*, 22(6):623–8, 2009.
- [85] S. Sun, Y. Yue, X. Huang, and D. Meng. Protein adsorption on blood-contact membranes. *Journal of Membrane Science*, 222(1-2):3–18, 2003.
- [86] A. Fichoux, P. Kerr, P. Brunet, and A. Argiles. The ultrafiltration coefficient of a dialyser (KUF) is not a fixed value, and it follows a parabolic function: The new concept of KUF max. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 26(4):1446–1448, 2011.
- [87] A. Fichoux, C. Ronco, P. Brunet, and F. Argilés. The ultrafiltration coefficient: This old 'grand inconnu' in dialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 30(2):204–208, 2015.
- [88] J.E. Tattersall and R.A. Ward. Online haemodiafiltration: Definition, dose quantification and safety revisited. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28(3):542–550, 2013.
- [89] S. Haroon and A. Davenport. Choosing a dialyzer: What clinicians need to know. *Hemodialysis International*, 22:S65–S74, 2018.
- [90] A. Weryński, P.S. Malchesky, J.J. Lewandowski, J. Waniewski, J. Wójcicki, and W. Piatkiewicz. Theoretical formulation of sieving coefficient evaluation for membrane plasma separation. *Artificial Organs*, 9(3):250–254, 1985.
- [91] A.C. Yamashita. New dialysis membrane for removal of middle molecule uremic toxins. *American Journal of Kidney Diseases*, 38(4 SUPPL. 1):S217–S219, 2001.
- [92] W.R. Clark, E. Rocha, and C. Ronco. Solute removal by hollow-fiber dialyzers. *Contributions to Nephrology*, 158:20–33, 2007.
- [93] C. Zweigart, A. Boschetti-de Fierro, M. Hulko, L.-G. Nilsson, W. Beck, M. Storr, et al. Medium cut-off membranes - closer to the natural kidney removal function. *International Journal of Artificial Organs*, 40(7):328–334, 2017.
- [94] W.R. Clark, D. Gao, M. Neri, and C. Ronco. Solute transport in hemodialysis: Advances and limitations of current membrane technology. *Contributions to Nephrology*, 191:84–99, 2017.
- [95] S. Mandolfo, F. Malberti, E. Imbasciati, P. Cogliati, and A. Gaulty. Impact of blood and dialysate flow and surface on performance of new polysulfone hemodialysis dialyzers. *International Journal of Artificial Organs*, 26(2):113–120, 2003.
- [96] S. Di Filippo, S. Andrulli, C. Manzoni, M. Corti, and F. Locatelli. On-line assessment of delivered dialysis dose: Technical note. *Kidney International*, 54(1):263–267, 1998.
- [97] M.H. Sigler and B.P. Teehan. Solute transport in continuous hemodialysis: A new treatment for acute renal failure. *Kidney International*, 32(4):562–571, 1987.
- [98] J.K. Leypoldt, A.K. Cheung, L.Y. Agodoa, J. Daugirdas, T. Greene, P.R. Keshaviah, et al. Hemodialyzer mass transfer-area coefficients for urea increase at high dialysate flow rates. *Kidney International*, 51(6):2013–2017, 1997.
- [99] A. Koklu, J. Li, S. Sengor, and A. Beskok. Pressure-driven water flow through hydrophilic alumina nanomembranes. *Microfluidics and Nanofluidics*, 21(7), 2017.
- [100] A. Pisano. *From Tubes and Catheters to the Basis of Hemodynamics: The Hagen–Poiseuille Equation*, pages 55–61. Springer International Publishing, 2017. ISBN 978-3-319-57330-4.
- [101] T. Pallone and J. Petersen. Mathematical model of continuous arteriovenous hemofiltration predicts performance. *ASAIO Transactions*, 33(3):304–308, 1987.
- [102] G. Késmárky, P. Kenyeres, M. Rábai, and K. Tóth. Plasma viscosity: A forgotten variable. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 39(1-4):243–246, 2008.
- [103] D. Quemada. A rheological model for studying the hematocrit dependence of red cell-red cell and red cell-protein interactions in blood. *Biorheology*, 18(3-6):501–516, 1981.
- [104] A.H. Stammers, S.N. Vang, B.L. Mejak, and E.D. Rauch. Quantification of the effect of altering hematocrit and temperature on blood viscosity. *Journal of Extra-Corporeal Technology*, 35(2):143–151, 2003.
- [105] B. Chan. Generalization of the hagen–poiseuille velocity profile to non-newtonian fluids and measurement of their viscosity. *American Journal of Physics*, 58(1):83–84, 1990.
- [106] R. Fåhræus. The suspension stability of the blood. *Physiological Reviews*, 9(2):241–274, 1929.

- [107] R. Fåhræus and T. Lindqvist. The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *American Journal of Physiology*, pages 562–568, 1930.
- [108] A.R. Pries, D. Neuhaus, and P. Gaehtgens. Blood viscosity in tube flow: Dependence on diameter and hematocrit. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 263(6 32-6):H1770–H1778, 1992.
- [109] C. Ho and A. Zydney. A Combined Pore Blockage and Cake Filtration Model for Protein Fouling during Microfiltration. *Journal of Colloid and Interface Science*, 232(2):389–399, dec 2000.
- [110] M. Sampath, A. Shukla, and A.S. Rathore. Modeling of filtration processes—microfiltration and depth filtration for harvest of a therapeutic protein expressed in pichia pastoris at constant pressure. *Bioengineering*, 1(4):260–277, 2014.
- [111] J. Hermia. Constant pressure blocking filtration laws - application to power-law non-newtonian fluids. *Trans Inst Chem eng*, V 60(N 3):183–187, 1982.
- [112] E. Iritani and N. Katagiri. Developments of blocking filtration model in membrane filtration, 2016.
- [113] R. Jofré, J.M. López-Gómez, J. Luño, R. Pérez-García, and P. Rodríguez-Benítez. *Tratado de hemodiálisis*. Editorial Médica Jims, S.L., 2006. ISBN: 84-95062-36-4.
- [114] W.R. Clark, R.J. Hamburger, and M.J. Lysaght. Effect of membrane composition and structure on solute removal and biocompatibility in hemodialysis. *Kidney International*, 56(6):2005–2015, 1999.
- [115] T. Sunohara and T. Masuda. Cellulose triacetate as a high-performance membrane. *Contributions to Nephrology*, 173:156–163, 2011.
- [116] T.R. Kim, M. Hadidi, S.P. Motevalian, T. Sunohara, and A.L. Zydney. Transport characteristics of asymmetric cellulose triacetate hemodialysis membranes. *Blood Purification*, 45(1-3):46–52, 2018.
- [117] I.G. Wenten, P.T.P. Aryanti, Khoiruddin, A.N. Hakim, and N.F. Himma. Advances in polysulfone-based membranes for hemodialysis. *Journal of Membrane Science and Research*, 2(2):78–89, 2016.
- [118] J.L. Renaux, M. Thomas, T. Crost, N. Loughraieb, and G. Vantard. Activation of the kallikrein-kinin system in hemodialysis: Role of membrane electronegativity, blood dilution, and ph. *Kidney International*, 55(3):1097–1103, 1999.
- [119] J.L. Renaux and M. Atti. The AN69ST dialysis membrane a new approach for reducing systemic heparinization. *Contributions to Nephrology*, 137:111–119, 2002.
- [120] JM. Campistol, J.V. Torregrosa, E. Ponz, and B. Fenollosa. Beta-2-microglobulin removal by hemodialysis with polymethylmethacrylate membranes. *Contributions to Nephrology*, 125:76–85, 1999.
- [121] I. Masakane, S. Esashi, A. Yoshida, T. Chida, H. Fujieda, Y. Ueno, et al. A new polymethylmethacrylate membrane improves the membrane adhesion of blood components and clinical efficacy. *Renal Replacement Therapy*, 3(1), 2017.
- [122] S. Wagner, S. Zschätzsch, A. Erlenkoetter, L. Rauber, M. Stauss-Grabo, and A. Gaulty. Hemocompatibility of polysulfone hemodialyzers – exploratory studies on impact of treatment modality and dialyzer characteristics. *Kidney360*, 1(1):25–35, 2020.
- [123] S.K. Bowry, E. Gatti, and J. Vienken. Contribution of polysulfone membranes to the success of convective dialysis therapies. *Contributions to Nephrology*, 173:110–118, 2011.
- [124] C. Ronco and S. Bowry. Nanoscale modulation of the pore dimensions, size distribution and structure of a new polysulfone-based high-flux dialysis membrane. *International Journal of Artificial Organs*, 24(10):726–735, 2001.
- [125] C. Ronco and A.R. Nissenson. Does nanotechnology apply to dialysis? *Blood Purification*, 19(4):347–352, 2001.
- [126] J. Potier, S. Bowry, and B. Canaud. Clinical performance assessment of cordiax filters in hemodialysis and hemodiafiltration. *Contributions to Nephrology*, 189:237–245, 2016.
- [127] C. Ronco, C. Crepaldi, A. Brendolan, L. Bragantini, V. d’Intini, P. Inguaggiato, et al. Evolution of synthetic membranes for blood purification: The case of the polyflux family. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(SUPPL. 7):vii10–vii20, 2003.
- [128] M. Islam and J. Szpunar. Study of dialyzer membrane (Polyflux 210H) and effects of different parameters on dialysis performance. *Open Journal of Nephrology*, 3:161–167, 2013.

-
- [129] A. Hedayat, J. Szpunar, N.A.P.K. Kumar, R. Peace, H. Elmoselhi, and A. Shoker. Morphological characterization of the polyflux 210h hemodialysis filter pores. *International Journal of Nephrology*, 2012, 2012.
- [130] J. Bergström and B. Wehle. No change in corrected β 2-microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *The Lancet*, 329(8533):628–629, 1987.
- [131] F.A. Gotch, J.A. Sargent, and M.L. Keen. Whither goest kt/v? *Kidney International, Supplement*, 58(76):S3–S18, 2000.
- [132] J. Daugirdas. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume kt/v: an analysis of error. *Journal of the American Society of Nephrology*, 4(5):1205–1213, 1993.
- [133] G. Panzetta, N. Tessitore, G. Faccini, and G. Maschio. The protein catabolic rate as a measure of protein intake in dialysis patients: Usefulness and limits. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 5:125–127, 1990.
- [134] C.A. Stegeman, R.M. Huisman, B. de Rouw, A. Joostema, and P.E. de Jong. Determination of protein catabolic rate in patients on chronic intermittent hemodialysis: Urea output measurements compared with dietary protein intake and with calculation of urea generation rate. *American Journal of Kidney Diseases*, 25(6):887–895, 1995.
- [135] B. Canaud, M. Leblanc, L. Garred, J.Y. Bosc, A. Argilés, and C. Mion. Protein catabolic rate over lean body mass ratio: A more rational approach to normalize the protein catabolic rate in dialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*, 30(5):672 – 679, 1997.
- [136] R. Madhumathi, M. Sharma, R. Juneja, S. Jacob, and C.K. Jacob. Calculated nitrogen balance in hemodialysis patients: Influence of protein intake. *Kidney International*, 58(1):336–345, 2000.
- [137] S.L. Goldstein, A. Brem, B.A. Warady, B. Fivush, and D. Frankenfield. Comparison of single-pool and equilibrated kt/v values for pediatric hemodialysis prescription management: Analysis from the centers for medicare & medicaid services clinical performance measures project. *Pediatric Nephrology*, 21(8):1161–1166, 2006.
- [138] P.G. Kerr, A. Argilés, J.-L. Flavier, C.M. Mion, and B. Canaud. Accuracy of kt/v estimations in high-flux haemodiafiltration using per cent reduction of urea: Incorporation of urea rebound. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 8(2):149–153, 1993.
- [139] B.R. Pflederer, C. Torrey, A. Priester-Coary, A.H. Lau, and J.T. Daugirdas. Estimating equilibrated kt/v from an intradialytic sample: Effects of access and cardiopulmonary recirculations. *Kidney International*, 48(3):832–837, 1995.
- [140] J. Daugirdas. Simplified equations for monitoring kt/v, pcrn, ekt/v, and epcrn. *Advances in Renal Replacement Therapy*, 2(4):295 – 304, 1995.
- [141] J. Daugirdas, T. Depner, F. Gotch, T. Greene, P. Keshaviah, N. Levin, et al. Comparison of methods to predict equilibrated kt/v in the hemo pilot study. *Kidney International*, 52(5):1395 – 1405, 1997.
- [142] G. Eknoyan, G.J. Beck, A.K. Cheung, J. Daugirdas, T. Greene, J.W. Kusek, et al. Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance hemodialysis. *New England Journal of Medicine*, 347(25):2010–2019, 2002.
- [143] J. Daugirdas. Kt/v (and especially its modifications) remains a useful measure of hemodialysis dose. *Kidney International*, 88(3):466–473, 2015.
- [144] M. Rocco, J. Daugirdas, T. Depner, J. Inrig, R. Mehrotra, M.V. Rocco, et al. Kdoqi clinical practice guideline for hemodialysis adequacy: 2015 update. *American Journal of Kidney Diseases*, 66(5):884–930, 2015.
- [145] R. Vanholder, G. Glorieux, and S. Eloit. Once upon a time in dialysis: The last days of kt/v? *Kidney International*, 88(3):460–465, 2015.
- [146] R. Vanholder, W. Van Biesen, and N. Lameire. A swan song for kt/vurea. *Seminars in Dialysis*, 32(5):424–437, 2019.
- [147] B. Meijers and R. Vanholder. Hemo revisited: Why kt/vurea only tells part of the story. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(11):3235–3237, 2016.

- [148] U. Kuhlmann, R. Goldau, N. Samadi, T. Graf, M. Gross, G. Orlandini, et al. Accuracy and safety of online clearance monitoring based on conductivity variation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(5):1053–1058, 2001.
- [149] A. Castellarnau, M. Werner, R. Günthner, and M. Jakob. Real-time kt/v determination by ultraviolet absorbance in spent dialysate: technique validation. *Kidney International*, 78(9):920 – 925, 2010.
- [150] E.G. Lowrie, G.M. Chertow, N.L. Lew, J.M. Lazarus, and W.F. Owen. The urea clearance x dialysis time product (kt) as an outcome-based measure of hemodialysis dose. *Kidney International*, 56(2):729–737, 1999.
- [151] M. Arias-Guillén, E. Masso, M. Gomez, L. Rodas, J. Broseta, M. Vera, et al. Are currently used bio-impedance methods in hemodialysis comparable for calculating dialysis dose? *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 24(2):154–162, 2020.
- [152] C. Vinsonneau, C. Camus, A. Combes, M.A. Costa de Beauregard, K. Klouche, T. Boulain, et al. Continuous venovenous haemodiafiltration versus intermittent haemodialysis for acute renal failure in patients with multiple-organ dysfunction syndrome: a multicentre randomised trial. *Lancet*, 368(9533):379–385, 2006.
- [153] J.C. Schefold, S.V. Haehling, R. Pschowski, T.O. Bender, C. Berkmann, S. Briegel, et al. The effect of continuous versus intermittent renal replacement therapy on the outcome of critically ill patients with acute renal failure (convint): A prospective randomized controlled trial. *Critical Care*, 18(1), 2014.
- [154] D.E. Uehlinger, S.M. Jakob, P. Ferrari, M. Eichelberger, U. Huynh-Do, H.-P. Marti, et al. Comparison of continuous and intermittent renal replacement therapy for acute renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(8):1630–1637, 2005.
- [155] I. Baldwin, M. Baldwin, N. Fealy, M. Neri, F. Garzotto, J.C. Kim, et al. Con-current versus counter-current dialysate flow during cvvhd. a comparative study for creatinine and urea removal. *Blood Purification*, 41(1-3):171–176, 2016.
- [156] M. Kamali, F. Hormozi, and G. Karimi. Performance analysis of mass transfer of hollow fiber hemodialyser with ultrafiltration and varied dialysate concentration. In *2nd Middle East Conference on Biomedical Engineering*, pages 216–219, 2014.
- [157] M. Albalate, R. Pérez-García, P. De Sequera, E. Corchete, R. Alcazar, M. Ortega, et al. Is it useful to increase dialysate flow rate to improve the delivered kt? *BMC Nephrology*, 16(1), 2015.
- [158] R.A. Ward, J.W. Idoux, H. Hamdan, R. Ouseph, T. Depner, and T.A. Golper. Dialysate flow rate and delivered kt/v urea for dialyzers with enhanced dialysate flow distribution. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6(9):2235–2239, 2011.
- [159] A. Azar. Increasing dialysate flow rate increases dialyzer urea clearance and dialysis efficiency: An in vivo study. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 20(6):1023–1029, 2009.
- [160] S. Wagner, C. Rode, R. Wojke, and B. Canaud. Observation of microbubbles during standard dialysis treatments. *Clinical Kidney Journal*, 8(4):400–404, 2015.
- [161] J.P. Bhimani, R. Ouseph, and R.A. Ward. Effect of increasing dialysate flow rate on diffusive mass transfer of urea, phosphate and β 2-microglobulin during clinical haemodialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(12):3990–3995, 2010.
- [162] A M Kaufman, A T Morris, V A Lavarias, Y Wang, J F Leung, M B Glabman, et al. Effects of controlled blood cooling on hemodynamic stability and urea kinetics during high-efficiency hemodialysis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 9(5):877–883, 1998.
- [163] N.M. Selby and C.W. McIntyre. A systematic review of the clinical effects of reducing dialysate fluid temperature. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(7):1883–1898, 2006.
- [164] J.C. Kim, F. Garzotto, D.N. Cruz, C.Y. Goh, F. Nalesso, J.H. Kim, et al. Enhancement of solute removal in a hollow-fiber hemodialyzer by mechanical vibration. *Blood Purification*, 31(4):227–234, 2011.
- [165] B. Hornik, J. Duława, C. Marcisz, W. Korchut, and J. Durmała. The effect of mechanically-generated vibrations on the efficacy of hemodialysis; assessment of patients’ safety: Preliminary reports. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(4), 2019.

-
- [166] J. Donauer, D. Kölblin, M. Bek, A. Krause, and J. Böhrer. Ultrafiltration profiling and measurement of relative blood volume as strategies to reduce hemodialysis-related side effects. *American Journal of Kidney Diseases*, 36(1):115 – 123, 2000.
- [167] M. Oliver, L. Edwards, and D. Churchill. Impact of sodium and ultrafiltration profiling on hemodialysis-related symptoms. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12(1):151–156, 2001.
- [168] P.B. Kerr, A. Argiles, J.-L. Flavier, B. Canaud, and C.M. Mion. Comparison of hemodialysis and hemodiafiltration: A long-term longitudinal study. *Kidney International*, 41(4):1035–1040, 1992.
- [169] W. Lornoy, I. Becauss, J.-M. Billioux, L. Sierens, and P. Van Malderen. Remarkable removal of beta-2-microglobulin by on-line hemodiafiltration. *American Journal of Nephrology*, 18(2):105–108, 1998.
- [170] F. Maduell, V. Navarro, M.C. Cruz, E. Torregrosa, D. Garcia, V. Simon, et al. Osteocalcin and myoglobin removal in on-line hemodiafiltration versus low- and high-flux hemodialysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 40(3):582–589, 2002.
- [171] A.H. Kirsch, R. Lyko, L.-G. Nilsson, W. Beck, M. Amdahl, P. Lechner, et al. Performance of hemodialysis with novel medium cut-off dialyzers. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 32(1):165–172, 2017.
- [172] M. Hulko, V. Dietrich, I. Koch, A. Gekeler, M. Gebert, W. Beck, et al. Pyrogen retention: Comparison of the novel medium cut-off (mco) membrane with other dialyser membranes. *Scientific Reports*, 9(1), 2019.
- [173] C. Basile, A. Davenport, S. Mitra, A. Pal, D. Stamatialis, C. Chrysochou, et al. Frontiers in hemodialysis: Innovations and technological advances. *Artificial Organs*, 45(2):175–182, 2021.
- [174] N. Florens and L. Juillard. Expanded haemodialysis: News from the field. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33:iii48–iii52, 2018.
- [175] R. Perez-Garcia, R. Alcazar-Arroyo, and P. de Sequera-Ortiz. ¿cuál es el papel de la hemodiálisis extendida en el tratamiento renal sustitutivo en 2020? *Nefrología*, 41(3):227–236, 2021.
- [176] C. Ronco. The rise of expanded hemodialysis. *Blood Purification*, 44(2):I–VIII, 2017.
- [177] N. Heyne. Expanded hemodialysis therapy: Prescription and delivery. *Contributions to Nephrology*, 191:153–157, 2017.
- [178] M. Belmouaz, M. Bauwens, T. Hauet, V. Bossard, P. Jamet, F. Joly, et al. Comparison of the removal of uraemic toxins with medium cut-off and high-flux dialyzers: A randomized clinical trial. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 35(2):328–335, 2020.
- [179] C.H. Beerenhout, A.J. Luik, S. Jeuken-Mertens, O. Bekers, P. Menheere, L. Hover, et al. Pre-dilution on-line haemofiltration vs low-flux haemodialysis: a randomized prospective study. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(6):1155–1163, 03 2005.
- [180] D. Krieter, G. Collins, J. Summerton, E. Spence, H. Leray Moragues, and B. Canaud. Mid-dilution on-line haemodiafiltration in a standard dialyser configuration. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(1):155–160, 11 2004.
- [181] I. Masakane. Selection of dilutional method for on-line hdf, pre- or post-dilution. *Blood Purification*, 22(SUPPL. 2):49–54, 2004.
- [182] F. Maduell, M. Arias-Guillen, N. Fontseré, R. Ojeda, N. Rico, M. Vera, et al. Elimination of large uremic toxins by a dialyzer specifically designed for high-volume convective therapies. *Blood Purification*, 37(2):125–130, 2014.
- [183] G. Jean, J.-M. Hurot, P. Deleaval, B. Mayor, and C. Lorriaux. Online-haemodiafiltration vs. conventional haemodialysis: A cross-over study dialysis and transplantation. *BMC Nephrology*, 16(1), 2015.
- [184] P.J. Blankestijn, M.P. Grooteman, M.J. Nube, and M.L. Bots. Clinical evidence on haemodiafiltration. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33:iii53–iii58, 2018.
- [185] S. Abad, A. Vega, B. Quiroga, D. Arroyo, N. Panizo, J.E. Reque, et al. Protein-bound toxins: added value in their removal with high convective volumes [toxinas unidas a proteínas: valor añadido en su eliminación con altos volúmenes convectivos]. *Nefrología*, 36(6):637–642, 2016.

- [186] D.H. Krieter, S. Kerwagen, M. R uth, H.-D. Lemke, and C. Wanner. Differences in dialysis efficacy have limited effects on protein-bound uremic toxins plasma levels over time. *Toxins*, 11(1), 2019.
- [187] M.P.C. Grooteman, M.A. Van Den Dorpel, M.L. Bots, E.L. Penne, N.C. Van Der Weerd, A.H.A. Mazairac, et al. Effect of online hemodiafiltration on all-cause mortality and cardiovascular outcomes. *Journal of the American Society of Nephrology*, 23(6):1087–1096, 2012.
- [188] E. Ok, G. Asci, H. Toz, E.S. Ok, F. Kircelli, M. Yilmaz, et al. Mortality and cardiovascular events in online haemodiafiltration (ol-hdf) compared with high-flux dialysis: Results from the turkish ol-hdf study. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28(1):192–202, 2013.
- [189] B. Canaud, K. Koehler, S. Bowry, and S. Stuard. What is the optimal target convective volume in on-line hemodiafiltration therapy? *Contributions to Nephrology*, 189:9–16, 2016.
- [190] M.J. Nub e, S.A.E. Peters, P.J. Blankestijn, B. Canaud, A. Davenport, M.P.C. Grooteman, et al. Mortality reduction by post-dilution online-haemodiafiltration: A cause-specific analysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 32(3):548–555, 2017.
- [191] F. Combarrous, C. Tetta, C. Chapuis Cellier, M.L. Wratten, M.A. Custaud, T. De Catheu, et al. Albumin loss in on-line hemodiafiltration. *International Journal of Artificial Organs*, 25(3):203–209, 2002.
- [192] C. Cuvelier, M. Tintillier, G. Migali, C. Van Ende, and J.-M. Pochet. Albumin losses during hemodiafiltration: All dialyzers are not created equal - a case report. *BMC Nephrology*, 20(1), 2019.
- [193] Jr. Owen, W.F., N.L. Lew, Y. Liu, E.G. Lowrie, and J.M. Lazarus. The urea reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. *New England Journal of Medicine*, 329(14):1001–1006, 1993.
- [194] R.N. Foley, P.S. Parfrey, J.D. Harnett, G.M. Kent, D.C. Murray, and P.E. Barre. Hypoalbuminemia, cardiac morbidity, and mortality in end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 7(5):728–736, 1996.
- [195] D.H. Krieter and B. Canaud. High permeability of dialysis membranes: What is the limit of albumin loss? *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(4):651–654, 2003.
- [196] R.A. Ward. Protein-leaking membranes for hemodialysis: A new class of membranes in search of an application? *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(8):2421–2430, 2005.
- [197] M.K. Van Gelder, A.C. Abrahams, J.A. Joles, G.A. Kaysen, and K.G.F. Gerritsen. Albumin handling in different hemodialysis modalities. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 33(6):906–913, 2018.
- [198] Grooteman M. Nub e, M. and and P. Blankestijn, editors. *Hemodiafiltration*. Springer International Publishing, 2016. ISBN: 9783319233314.
- [199] E.M. Spalding, P. Pandya, and K. Farrington. Effect of high haematocrit on the efficiency of high-flux dialysis therapies. *Nephron - Clinical Practice*, 110(2):c86–c92, 2008.
- [200] D. Yarar, A.K. Cheung, P. Sakiewicz, R.M. Lindsay, E.P. Paganini, R.R. Steuer, et al. Ultrafiltration method for measuring vascular access flow rates during hemodialysis. *Kidney International*, 56(3):1129–1135, 1999.
- [201] F. Maduell. Is there an 'optimal dose' of hemodiafiltration? *Blood Purification*, 40:17–23, 2015.
- [202] Y Cinar, G Demir, M Paç, and AB Cinar. Effect of hematocrit on blood pressure via hyperviscosity. *American journal of hypertension*, 12(7):739–743, July 1999.
- [203] B. Canaud, A. Rodriguez, L. Chenine, M. Morena, I. Jaussent, H. Leray-Moragues, et al. Whole-blood viscosity increases significantly in small arteries and capillaries in hemodiafiltration. does acute hemorheological change trigger cardiovascular risk events in hemodialysis patient? *Hemodialysis International*, 14(4):433–440, 2010.
- [204] G.B. Fiore, G. Guadagni, A. Lupi, Z. Ricci, and C. Ronco. A new semiempirical mathematical model for prediction of internal filtration in hollow fiber hemodialyzers. *Blood Purification*, 24(5-6):555–568, 2006.
- [205] C. Ronco. Fluid mechanics and crossfiltration in hollow-fiber hemodialyzers. *Contributions to Nephrology*, 158:34–49, 2007.
- [206] J.C. Lee, K. Lee, and H.C. Kim. Mathematical analysis for internal filtration of convection-enhanced high-flux hemodialyzer. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 108(1):68–79, 2012.

-
- [207] A. Lorenzin, M. Neri, W.R. Clark, F. Garzotto, A. Brendolan, F. Nalesso, et al. Modeling of internal filtration in theranova hemodialyzers. *Contributions to Nephrology*, 191:127–141, 2017.
- [208] M. Henrie, C. Ford, M. Andersen, E. Stroup, J. Diaz-Buxo, B. Madsen, et al. In vitro assessment of dialysis membrane as an endotoxin transfer barrier: Geometry, morphology, and permeability. *Artificial Organs*, 32(9):701–710, 2008.
- [209] J.Q. Hudson, T.J. Comstock, and G.M. Feldman. Evaluation of an in vitro dialysis system to predict drug removal. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19(2):400–405, 2004.
- [210] L.M. Maynor, D.E. Carl, G.R. Matzke, T.W.B. Gehr, C. Farthing, D. Farthing, et al. An in vivo - in vitro study of cefepime and ceftazidime dialytic clearance during high-flux hemodialysis. *Pharmacotherapy*, 28(8):977–983, 2008.
- [211] B.H. Su, P. Fu, Q. Li, Y. Tao, Z. Li, H.S. Zao, et al. Evaluation of polyethersulfone high flux hemodialysis membrane in vitro and in vivo. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(2):745–751, 2008.
- [212] M.D. Churchwell, D.A. Pasko, I.F. Btaiche, J.C. Jain, and B.A. Mueller. Trace element removal during in vitro and in vivo continuous haemodialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22(10):2970–2977, 2007.
- [213] E. Ravagli, M. Holmer, L. Sornmo, and S. Severi. A new method for continuous relative blood volume and plasma sodium concentration estimation during hemodialysis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 66(11):3267–3277, 2019.
- [214] M. Hulko, M. Kunz, M. Yildirim, S. Homeyer, O. Amon, and B. Krause. Cell-free plasma hemoglobin removal by dialyzers with various permeability profiles. *Scientific Reports*, 5, 2015.
- [215] T.W. Meyer, J. Walther, M.E. Pagtalunan, A. Martinez, A. Torkamani, P. Fong, et al. The clearance of protein-bound solutes by hemofiltration and hemodiafiltration. *Kidney International*, 68(2):867–877, 2005.
- [216] R. Sakota, C.A. Lodi, S.A. Sconziano, W. Beck, and J.P. Bosch. In vitro comparative assessment of mechanical blood damage induced by different hemodialysis treatments. *Artificial Organs*, 39(12):1015–1023, 2015.
- [217] J.Q. Hudson, E.B. McNeely, C.A. Green, and L.K. Jennings. Assessment of eptifibatid clearance by hemodialysis using an in vitro system. *Blood Purification*, 30(4):266–271, 2010.
- [218] T. Teraoka, T. Sugai, S. Nakamura, H. Hirasawa, S. Oda, H. Shiga, et al. Prediction of iopromide reduction rates during haemodialysis using an in vitro dialysis system. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(4):754–759, 2005.
- [219] B.R. Bacon, P.C. Adams, K.V. Kowdley, L.W. Powell, and A.S. Tavill. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the american association for the study of liver diseases. *Hepatology*, 54(1):328–343, 2011.
- [220] M. Bohoněk. *Therapeutic apheresis and phlebotomy in the treatment of polyglobulia*. Nova Science Publishers, Inc., 2014. ISBN: 978-163117443-8.
- [221] J. Perelló, M. Gómez, M.D. Ferrer, N.Y. Rodríguez, C. Salcedo, J.M. Buades, et al. Snf472, a novel inhibitor of vascular calcification, could be administered during hemodialysis to attain potentially therapeutic phytate levels. *Journal of Nephrology*, 31(2):287–296, 2018.
- [222] P. Xie, M. Tao, K. Peng, H. Zhao, K. Zhang, Y. Sheng, et al. Plasmapheresis therapy in kidney transplant rejection. *Blood Purification*, 47(1-3):73–84, 2019.
- [223] C.W. Cheng, J.E. Hendrickson, C.A. Tormey, and D. Sidhu. Therapeutic plasma exchange and its impact on drug levels: An acpls critical review. *American journal of clinical pathology*, 148(3):190–198, 2017.
- [224] S.O. Sowemimo-Coker. Red blood cell hemolysis during processing. *Transfusion Medicine Reviews*, 16(1):46–60, 2002.
- [225] R.S. Sousa, R.A. Barrêto-Júnior, I.K.F. Sousa, D.F. Chaves, H.S. Soares, I.O. Barros, et al. Evaluation of hematologic, blood gas, and select biochemical variables in ovine whole blood stored in cpda-1 bags. *Veterinary Clinical Pathology*, 42(1):27–30, 2013.

- [226] E. Bennett-Guerrero, T.H. Veldman, A. Doctor, M.J. Telen, T.L. Ortel, T.S. Reid, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(43):17063–17068, 2007.
- [227] G.M. D’Amici, C. Mirasole, A. D’Alessandro, T. Yoshida, L.J. Dumont, and L. Zolla. Red blood cell storage in SAGM and AS3: A comparison through the membrane two-dimensional electrophoresis proteome. *Blood Transfusion*, 10(SUPPL. 2):s42–s50, 2012.
- [228] A.L. Babb, L. Grimsrud, R.L. Bell, and S.B. Layno. Engineering Aspects of Artificial Kidney Systems. In *Chemical Engineering in Medicine and Biology*, pages 289–331, Boston, MA, 1967. Springer US.
- [229] K.B.G. Sprenger, H.E. Franz, W. Kratz, U. Stadtmüller, and E. Junginger. Mass balance and kinetic modelling of hemodiafiltration [massenbilanzierung und kinetische modelle bei hämodiafiltration]. *Biomedizinische Technik*, 26(10):236–243, 1981.
- [230] K.B.G. Sprenger, W. Kratz, A.E. Lewis, and U. Stadtmüller. Kinetic modeling of hemodialysis, hemofiltration, and hemodiafiltration. *Kidney International*, 24(2):143–151, 1983.
- [231] T. Depner and A. Cheer. Modeling urea kinetics with two vs. three bun measurements. a critical comparison. *ASAIO Transactions*, 35(3):499–502, 1989.
- [232] T. Depner. Quantifying hemodialysis. *American Journal of Nephrology*, 16(1):17–28, 1996.
- [233] R. Vanholder, M. Burgelman, R. De Smet, P. Voogeleere, and S. Ringoir. Two-pool versus single-pool models in the determination of urea kinetic parameters. *Blood Purification*, 14(6):437–450, 1996.
- [234] F.A. Gotch. Evolution of the single-pool urea kinetic model. *Seminars in Dialysis*, 14(4):252–256, 2001.
- [235] P.E. Watson, I.D. Watson, and R.D. Batt. Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. *American Journal of Clinical Nutrition*, 33(1):27–39, 1980.
- [236] F. Locatelli, U. Buoncristiani, B. Canaud, H. Köhler, T. Petitclerc, and P. Zucchelli. Dialysis dose and frequency. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(2):285–296, 12 2004.
- [237] R.P. Popovich, D.J. Hlavinka, J.B. Bomar, J.W. Moncrief, and J.F. Dechard. The consequences of physiological resistances on metabolite removal from the patient-artificial kidney system. *Transactions - American Society for Artificial Internal Organs*, 21(1):108–116, 1975.
- [238] W.R. Clark, J.K. Leypoldt, L.W. Henderson, B.A. Mueller, M.K. Scott, and E.F. Vonesh. Quantifying the effect of changes in the hemodialysis prescription on effective solute removal with a mathematical model. *Journal of the American Society of Nephrology*, 10(3):601–609, 1999.
- [239] J.P. Gabriel, G. Fellay, and E. Descombes. Urea kinetic modeling: An in vitro and in vivo comparative study. *Kidney International*, 46(3):789–796, 1994.
- [240] M. Ziolkowski, J.A. Pietrzyk, and J. Grabska-Chrzastowska. Accuracy of hemodialysis modeling. *Kidney International*, 57(3):1152–1163, 2000.
- [241] S. Eloit, A. Torremans, R. De Smet, B. Marescau, D. De Wachter, P.P. De Deyn, et al. Kinetic behavior of urea is different from that of other water-soluble compounds: The case of the guanidino compounds. *Kidney International*, 67(4):1566–1575, 2005.
- [242] J. Waniewski. Mathematical modeling of fluid and solute transport in hemodialysis and peritoneal dialysis. *Journal of Membrane Science*, 274(1-2):24–37, 2006.
- [243] J.K. Leypoldt. Kinetics of β_2 -microglobulin and phosphate during hemodialysis: Effects of treatment frequency and duration. *Seminars in Dialysis*, 18(5):401–408, 2005.
- [244] R.A. Ward, T. Greene, B. Hartmann, and W. Samtleben. Resistance to intercompartmental mass transfer limits β_2 -microglobulin removal by post-dilution hemodiafiltration. *Kidney International*, 69(8):1431–1437, 2006.
- [245] M. Burgelman, R. Vanholder, H. Fostier, and S. Ringoir. Estimation of parameters in a two-pool urea kinetic model for hemodialysis. *Medical Engineering and Physics*, 19(1):69–76, 1997.
- [246] J.K. Leypoldt, A.K. Cheung, and R. Barry Deeter. Rebound kinetics of β_2 -microglobulin after hemodialysis. *Kidney International*, 56(4):1571–1577, 1999.

-
- [247] F. Maduell, J. Sanchez, M. Net, M. Gomez, J.M. Gonzalez, M. Arias-Guillen, et al. Mathematical modeling of different molecule removal on on-line haemodiafiltration: Influence of dialysis duration and infusion flow. *Blood Purification*, 39(4):288–296, 2015.
- [248] S. Eloot, D. Schneditz, T. Cornelis, W. Van Biesen, G. Glorieux, A. Dhondt, et al. Protein-bound uremic toxin profiling as a tool to optimize hemodialysis. *PLoS ONE*, 11(1), 2016.
- [249] B.S. Decker, B.A. Mueller, and K.M. Sowinski. Drug dosing considerations in alternative hemodialysis. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 14(3):e17–e26, 2007.
- [250] N. Rodríguez, M. Gómez, N. Rico, JM. Campistol, and F. Maduell. Vancomycin hemodialysis: Clearance differences between high-flux hemodialysis and on-line hemodiafiltration. *Artificial Organs*, 43(3):261–269, 2019.
- [251] S. Eloot, A. Dhondt, E. Hoste, A. Verstraete, J. De Waele, K. Colpaert, et al. How to remove accumulated iodine in burn-injured patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(5):1614–1620, 12 2009.
- [252] D. Schneditz, J.C. Van Stone, and J. Daugirdas. A regional blood circulation alternative to in-series two compartment urea kinetic modeling. *ASAIO Journal*, 39(3):M573–M577, 1993.
- [253] D. Schneditz, D. Platzter, and J. Daugirdas. A diffusion-adjusted regional blood flow model to predict solute kinetics during haemodialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(7):2218–2224, 2009.
- [254] V. Maheshwari, L. Samavedham, and G.P. Rangaiyah. A regional blood flow model for β_2 -microglobulin kinetics and for simulating intra-dialytic exercise effect. *Annals of Biomedical Engineering*, 39(12):2879–2890, 2011.
- [255] C.D. Thron. Structure and kinetic behavior of linear multicompartment systems. *The Bulletin of Mathematical Biophysics*, 34(2):277–291, 1972.
- [256] P. Korohoda and D. Schneditz. Analytical solution of multicompartment solute kinetics for hemodialysis. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2013, 2013.
- [257] R.A. Odell, P. Slowiaczek, J.E. Moran, and K. Schindhelm. Beta2-microglobulin kinetics in end-stage renal failure. *Kidney International*, 39(5):909–919, 1991.
- [258] R. Keir, N.D. Evans, C.A. Hutchison, M.R. Vigano, A. Stella, P. Fabbrini, et al. Kinetic modelling of haemodialysis removal of myoglobin in rhabdomyolysis patients. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 114(3):e29–e38, 2014.
- [259] P. Izzo, A. Manicone, A. Spagnuolo, V.M. Lauta, A. Di Pasquale, and D. Di Monte. Erythrocytes stored in CPD SAG-mannitol: Evaluation of their deformability. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 21(3-4):335–339, 1999.
- [260] R.N. Makroo, V. Raina, A. Bhatia, R. Gupta, A. Majid, U.K. Thakur, et al. Evaluation of the red cell hemolysis in packed red cells during processing and storage. *Asian Journal of Transfusion Science*, 5(1):15–17, 2011.
- [261] F.F. Ibrahim, M.M. Ghannam, and F.M. Ali. Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients. *Renal Failure*, 24(6):779–790, 2002.
- [262] S.G. Wu, F.R. Jeng, S.Y. Wei, C.Z. Su, T.C. Chung, W.J. Chang, et al. Red blood cell osmotic fragility in chronically hemodialyzed patients. *Nephron*, 78(1):28–32, 1998.
- [263] W.E. Illert, H. Butsch, D. Nuber, J. Howe, W. Sanger, and S. Weidinger. Long-term storage of fresh frozen plasma at -40 °c. A multicenter study on the stability of labile coagulation factors over a period of 3 years. *Infusionstherapie und Transfusionsmedizin*, 28(4):189–194, 2001.
- [264] Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation No. R (95) 15. 20th Edition. www.edqm.eu.
- [265] R. Karger, C. Lukow, and V. Kretschmer. Deformability of red blood cells and correlation with ATP content during storage as leukocyte-depleted whole blood. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 39(4):277–282, 2012.
- [266] P. Dechadilok and W.M. Deen. Hindrance factors for diffusion and convection in pores. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 45(21):6953–6959, 2006.
- [267] B. Koubaissy, J. Toufaily, Z. Yaseen, T.J. Daou, S. Jradi, and T. Hamieh. Adsorption of uremic toxins over dealuminated zeolites. *Adsorption Science and Technology*, 35(1-2):3–19, 2017.

- [268] P.A. Peterson, P.E. Evrin, and I. Berggård. Differentiation of glomerular, tubular, and normal proteinuria: determinations of urinary excretion of beta-2-macroglobulin, albumin, and total protein. *The Journal of clinical investigation*, 48(7):1189–1198, 1969.
- [269] L.C. Edwards, J.H. Helderman, L.L. Hamm, D. Ludwin, P. Gailiunas Jr., and A.R. Hull. Noninvasive monitoring of renal transplant function by analysis of beta2-microglobulin. *Kidney International*, 23(5):767–770, 1983.
- [270] K. Sakurai. Biomarkers for evaluation of clinical outcomes of hemodiafiltration. *Blood Purification*, 35:64–68, 2013.
- [271] K.V. Peinemann and S.P. Nunes. *Membranes for life Sciences*. Wiley-VCH Verlag, 2008. ISBN: 978-35-2731-480-56.
- [272] J. García De La Torre, M.L. Huertas, and B. Carrasco. Calculation of hydrodynamic properties of globular proteins from their atomic-level structure. *Biophysical Journal*, 78(2):719–730, 2000.
- [273] E.L. Penne, T. Van Berkel, N.C. Van Der Weerd, M.P.C. Grooteman, and P.J. Blankestijn. Optimizing haemodiafiltration: Tools, strategy and remaining questions. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(12):3579–3581, 2009.
- [274] F. Locatelli and B. Canaud. Dialysis adequacy today: A european perspective. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 27(8):3043–3048, 2012.
- [275] G. Thomas and B.L. Jaber. Convective therapies for removal of middle molecular weight uremic toxins in end-stage renal disease: A review of the evidence. *Seminars in Dialysis*, 22(6):610–614, 2009.
- [276] A. Davenport, S.A.E. Peters, M.L. Bots, B. Canaud, M.P.C. Grooteman, G. Ascì, et al. Higher convection volume exchange with online hemodiafiltration is associated with survival advantage for dialysis patients: The effect of adjustment for body size. *Kidney International*, 89(1):193–199, 2016.
- [277] F. Maduell, F. Moreso, M. Pons, R. Ramos, J. Mora-Macià, J. Carreras, et al. High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(3):487–497, 2013.
- [278] J. Potier, G. Queffelec, and J. Bouet. Are all dialyzers compatible with the convective volumes suggested for postdilution online hemodiafiltration? *International Journal of Artificial Organs*, 39(9):460–470, 2016.
- [279] W. Lornoy, I. Becaas, J.M. Billiow, L. Sierens, P. Van Malderen, and P. D’Haenens. On-line haemodiafiltration. remarkable removal of β_2 -microglobulin. long-term clinical observations. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 15(SUPPL. 1):49–54, 2000.
- [280] C.L. Lin, C.W. Yang, C.C. Chiang, C.-T. Chang, and C.C. Huang. Long-term on-line hemodiafiltration reduces predialysis β_2 -microglobulin levels in chronic hemodialysis patients. *Blood Purification*, 19(3):301–307, 2001.
- [281] I. Ledebø. On-line hemodiafiltration: Technique and therapy. *Advances in Renal Replacement Therapy*, 6(2):195–208, 1999.
- [282] F. Maduell, J.J. Sánchez-Canel, J.A. Blasco, V. Navarro, A. Ríus, E. Torregrosa, et al. Middle molecules removal. beyond β_2 -microglobulin [depuración de grandes moléculas. más allá de la β_2 -microglobulina]. *Nefrología*, 26(4):469–475, 2006.
- [283] T. Cornelis, F.M. Van Der Sande, S. Eloit, E. Cardinaels, O. Bekers, J. Damoiseaux, et al. Acute hemodynamic response and uremic toxin removal in conventional and extended hemodialysis and hemodiafiltration: A randomized crossover study. *American Journal of Kidney Diseases*, 64(2):247–256, 2014.
- [284] M. Morena, C. Creput, M. Bouzernidj, A. Rodriguez, L. Chalabi, B. Seigneux, et al. Randomised trial on clinical performances and biocompatibility of four high-flux hemodialyzers in two mode treatments: hemodialysis vs post dilution hemodiafiltration. *Scientific Reports*, 9(1), 2019.
- [285] N. Gayraud, A. Ficheux, F. Durantou, C. Guzman, I. Szwarc, F. Vetromile, et al. Consequences of increasing convection onto patient care and protein removal in hemodialysis. *PLOS ONE*, 12(2):1–13, 02 2017.

-
- [286] D.H. Krieter, A. Hackl, A. Rodriguez, L. Chenine, H.L. Moragues, H.-D. Lemke, et al. Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(1):212–218, 2010.
- [287] V. Maheshwari, S. Thijssen, X. Tao, D.H. Fuertinger, F. Kappel, and P. Kotanko. In silico comparison of protein-bound uremic toxin removal by hemodialysis, hemodiafiltration, membrane adsorption, and binding competition. *Scientific Reports*, 9(1), 2019.
- [288] Marlon S.L. Tjink, Maarten Wester, Junfen Sun, Anno Saris, Lydia A.M. Bolhuis-Versteeg, Saiful Saiful, et al. A novel approach for blood purification: Mixed-matrix membranes combining diffusion and adsorption in one step. *Acta Biomaterialia*, 8(6):2279–2287, 2012.
- [289] D. Pavlenko, E. Van Geffen, M.J. Van Steenberghe, G. Glorieux, R. Vanholder, K.G.F. Gerritsen, et al. New low-flux mixed matrix membranes that offer superior removal of protein-bound toxins from human plasma. *Scientific Reports*, 6, 2016.
- [290] X. Tao, S. Thijssen, N. Levin, P. Kotanko, and G. Handelman. Enhanced indoxyl sulfate dialyzer clearance with the use of binding competitors. *Blood Purification*, 39(4):323–330, 2015.
- [291] M. Madero, K.B. Cano, I. Campos, X. Tao, V. Maheshwari, J. Brown, et al. Removal of protein-bound uremic toxins during hemodialysis using a binding competitor. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 14(3):394–402, 2019.
- [292] Y. Shi, H. Tian, Y. Wang, Y. Shen, Q. Zhu, and F. Ding. Effect of ionic strength, pH and chemical displacers on the percentage protein binding of protein-bound uremic toxins. *Blood Purification*, 47(4):351–360, 2019.
- [293] A. Santos, N. Macías, A. Vega, S. Abad, T. Linares, I. Aragoncillo, et al. Removal capacity of different high-flux dialyzers during postdilution online hemodiafiltration. *Hemodialysis International*, 23(1):50–57, 2019.
- [294] T.A. Ikizler, P.J. Flakoll, R.A. Parker, and R.M. Hakim. Amino acid and albumin losses during hemodialysis. *Kidney International*, 46(3):830–837, 1994.
- [295] K. Kalantar-Zadeh, L.H. Ficociello, J. Bazzanella, C. Mullon, and M.S. Anger. Slipping through the pores: Hypoalbuminemia and albumin loss during hemodialysis. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 14:11–21, 2021.
- [296] F. Maduell, L. Rodas, J.J. Broseta, M. Gómez, M. Xipell Font, A. Molina, et al. High-permeability alternatives to current dialyzers performing both high-flux hemodialysis and postdilution online hemodiafiltration. *Artificial Organs*, 43(10):1014–1021, 2019.
- [297] F. Maduell, J.J. Broseta, M. Gómez, P. Racionero, E. Montagud-Marrahi, L. Rodas, et al. Determining factors for hemodiafiltration to equal or exceed the performance of expanded hemodialysis. *Artificial Organs*, 44(10):E448–E458, 2020.
- [298] F. Maduell, J.J. Broseta, L. Rodas, E. Montagud-Marrahi, D. Rodriguez-Espinosa, E. Hermida, et al. Comparison of solute removal properties between high-efficient dialysis modalities in low blood flow rate. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 24(4):387–392, 2020.
- [299] F. Maduell, R. Ojeda, M. Arias-Guillén, N. Fontseré, M. Vera, L. Rodas, et al. A new generation of cellulose triacetate suitable for online haemodiafiltration [una nueva generación de triacetato de celulosa adecuado para hemodiafiltración on-line]. *Nefrología*, 38(2):220–221, 2018.
- [300] W.R. Clark, W.L. Macias, B.A. Molitoris, and N.H. Wang. Membrane adsorption of beta 2-microglobulin: equilibrium and kinetic characterization. *Kidney Int*, 46(4):1140–1146, 1994.
- [301] W.R. Clark, W.L. Macias, B.A. Molitoris, and N.-H.L. Wang. Plasma protein adsorption to highly permeable hemodialysis membranes. *Kidney International*, 48(2):481–488, 1995.
- [302] J. Chanard, S. Lavaud, C. Randoux, and P. Rieu. New insights in dialysis membrane biocompatibility: Relevance of adsorption properties and heparin binding. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(2):252–257, 2003.
- [303] M. Goldman, M Dhaene, and J-L Vanherweghem. Removal of β_2 -microglobulin by adsorption on dialysis membranes. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2(6):576–577, 01 1987.
- [304] N. Hattori and S. Oda. Cytokine-adsorbing hemofilter: Old but new modality for septic acute kidney injury. *Renal Replacement Therapy*, 2(1), 2016.

- [305] W. Oshihara, H. Fujieda, and Y. Ueno. A new poly(methyl methacrylate) membrane dialyzer, nf, with adsorptive and antithrombotic properties. *Contributions to Nephrology*, 189:230–236, 2016.
- [306] I. Aoike. Clinical significance of protein adsorbable membranes-long-term clinical effects and analysis using a proteomic technique. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22(SUPPL.5):v13–v19, 2007.
- [307] P. Fabbrini, S. Sirtori, E. Casiraghi, F. Pieruzzi, S. Genovesi, D. Corti, et al. Polymethylmethacrylate membrane and serum free light chain removal: Enhancing adsorption properties. *Blood Purification*, 35(SUPPL.2):52–58, 2013.
- [308] A. Urbani, V. Sirolli, S. Lupisella, S. Levi-Mortera, B. Pavone, L. Pieroni, et al. Proteomic investigations on the effect of different membrane materials on blood protein adsorption during haemodialysis. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, 10 Suppl 2:s101–s112, may 2012.
- [309] Y. Sakai. Polymethylmethacrylate membrane with a series of serendipity. *Contributions to Nephrology*, 173:137–147, 2011.
- [310] À. Argilés, M. García-García, J. Derancourt, G. Mourad, and J.G. Demaille. Beta 2 microglobulin isoforms in healthy individuals and in amyloid deposits. *Kidney International*, 48(5):1397–1405, 1995.
- [311] M. Thomas, K. Moriyama, and I. Ledebø. *AN69: Evolution of the world's first high permeability membrane*, volume 173. S. Karger AG, 2011.
- [312] N. Moachon, C. Boullanger, S. Fraud, E. Vial, M. Thomas, and G. Quash. Influence of the charge of low molecular weight proteins on their efficacy of filtration and/or adsorption on dialysis membranes with different intrinsic properties. *Biomaterials*, 23(3):651–658, 2002.
- [313] M. Ben-David, D. Rodbard, R.W. Bates, W.E. Bridson, and A. Chrambach. Human prolactin in plasma, amniotic fluid and pituitary: Identity and characterization by criteria of electrophoresis and isoelectric focusing in polyacrylamide gel. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 36(5):951–964, 05 1973.
- [314] X. Zhan and S. Qian. Prolactin proteoform pattern changed in human pituitary adenoma relative to control pituitary tissues. In Xianquan Zhan, editor, *Proteoforms*, chapter 4. IntechOpen, Rijeka, 2020.
- [315] I. Bernier, A. Dautigny, B.E. Glatthaar, W. Lergier, J. Jollès, D. Gillessen, et al. α 1-microglobulin from normal and pathological urines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 626(1):188–196, 1980.
- [316] A K Cheung. Biocompatibility of hemodialysis membranes. *Journal of the American Society of Nephrology*, 1(2):150–161, 1990.
- [317] N.A. Hoenich and S. Stamp. Clinical investigation of the role of membrane structure on blood contact and solute transport characteristics of a cellulose membrane. *Biomaterials*, 21(3):317–324, 2000.
- [318] L. Pieroni, S. Levi Mortera, V. Greco, V. Sirolli, M. Ronci, P. Felaco, et al. Biocompatibility assessment of haemodialysis membrane materials by proteomic investigations. *Molecular BioSystems*, 11(6):1633–1643, 2015.
- [319] Dong-Liang Zhang, Jing Liu, Wen-Ying Cui, Dan-Ying Ji, Yue Zhang, and Wen-Hu Liu. Differences in bio-incompatibility among four biocompatible dialyzer membranes using in maintenance hemodialysis patients. *Renal Failure*, 33(7):682–691, 2011.
- [320] A. Rockel, J. Hertel, P. Fiegel, S. Abdelhamid, N. Panitz, and D. Walb. Permeability and secondary membrane formation of a high flux polysulfone hemofilter. *Kidney International*, 30(3):429–432, 1986.
- [321] G.B. van den Berg and C.A. Smolders. Flux decline in ultrafiltration processes. *Desalination*, 77(C):101–133, 1990.
- [322] F. Wang and V.V. Tarabara. Pore blocking mechanisms during early stages of membrane fouling by colloids. *Journal of Colloid and Interface Science*, 328(2):464 – 469, 2008.
- [323] Walter H. Hörl. Hemodialysis membranes: Interleukins, biocompatibility, and middle molecules. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(suppl 1):S62–S71, 2002.

-
- [324] M. Pascual and J.A. Schifferli. Adsorption of complement factor d by polyacrylonitrile dialysis membranes. *Kidney International*, 43(4):903–911, 1993.
- [325] A. Fujimori, H. Naito, and T. Miyazaki. Adsorption of complement, cytokines, and proteins by different dialysis membrane materials: evaluation by confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Artificial organs*, 22:1014–7, 1998.
- [326] S. Aoyagi, M. Hayama, U. Hasegawa, K. Sakai, T. Hoshi, and M. Kudo. Tof-sims imaging of protein adsorption on dialysis membrane. *Applied Surface Science*, 231-232:411–415, 2004.
- [327] M. Pascual, N. Tolckoff-Rubin, and J.A. Schifferli. Is adsorption an important characteristic of dialysis membranes? *Kidney International*, 49(2):309–313, 1996.
- [328] A.K. Cheung and J.K. Leypoldt. Evaluation of hemodialyzer performance. *Seminars in Dialysis*, 11(2):131–137, 1998.
- [329] M. Rabe, D. Verdes, and S. Seeger. Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 162(1):87–106, 2011.
- [330] F. Aucella, A. Gesuete, M. Vigilante, and M. Prencipe. Adsorption dialysis: from physical principles to clinical applications. *Blood purification*, 35 Suppl 2(suppl 2):42–7, 2013.
- [331] H. Westphalen, S. Saadati, U. Eduok, A. Abdelrasoul, A. Shoker, P. Choi, et al. Case studies of clinical hemodialysis membranes: influences of membrane morphology and biocompatibility on uremic blood-membrane interactions and inflammatory biomarkers. *Scientific Reports*, 10(1), 2020.
- [332] R. Ojeda, M. Arias-Guillén, M. Gómez, M. Vera, N. Fontseré, L. Rodas, et al. Study of biocompatibility of membranes in online hemodiafiltration. *Blood Purification*, 49(4):400–408, 2020.
- [333] T. Abe, K. Kato, T. Fujioka, and T. Akizawa. The blood compatibilities of blood purification membranes and other materials developed in japan. *International Journal of Biomaterials*, 2011.
- [334] A. Mollahosseini, A. Abdelrasoul, and A. Shoker. Challenges and advances in hemodialysis membranes. In Amira Abdelrasoul, editor, *Advances in Membrane Technologies*, chapter 7. IntechOpen, Rijeka, 2020.
- [335] W.H. Boer, Y. Liem, E. de Beus, and A.C. Abrahams. Acute reactions to polysulfone/polyethersulfone dialysers: Literature review and management. *Netherlands Journal of Medicine*, 75(1):4–13, 2017.
- [336] R.J. Sánchez-Villanueva, E. González, S. Quirce, R. Díaz, L. Álvarez, D. Menéndez, et al. Hypersensitivity reactions to synthetic haemodialysis membranes [reacciones de hipersensibilidad a membranas sintéticas de hemodiálisis]. *Nefrología*, 34(4):520–525, 2014.
- [337] S.L. Hirsh, D.R. McKenzie, N.J. Nosworthy, J.A. Denman, O.U. Sezerman, and M.M.M. Bilek. The vroman effect: Competitive protein exchange with dynamic multilayer protein aggregates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103:395–404, 2013.
- [338] M. Ozboyaci, D.B. Kokh, S. Corni, and R.C. Wade. Modeling and simulation of protein-surface interactions: Achievements and challenges. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 49, 2016.
- [339] P. van Beijeren, P. Kreis, and T. Zeiner. Development of a generic process model for membrane adsorption. *Computers & Chemical Engineering*, 53:86–101, 2013.
- [340] H. Westphalen, A. Abdelrasoul, and A. Shoker. Protein adsorption phenomena in hemodialysis membranes: Mechanisms, influences of clinical practices, modeling, and challenges. *Colloid and Interface Science Communications*, 40:100348, 2021.
- [341] N. Tomisawa and A.C. Yamashita. Amount of adsorbed albumin loss by dialysis membranes with protein adsorption. *Journal of artificial organs : the official journal of the Japanese Society for Artificial Organs*, 12(3):194–9, 2009.
- [342] J. Potier, G. Queffeuilou, and J. Bouet. Peut-on utiliser la membrane bg2.1u en pmma en hémodiafiltration online? *Néphrologie & Thérapeutique*, 11(5):326–327, 2015.
- [343] I. Ishikawa, Y. Chikazawa, K. Sato, M. Nakagawa, H. Imamura, S. Hayama, et al. Proteomic analysis of serum, outflow dialysate and adsorbed protein onto dialysis membranes (polysulfone and pmma) during hemodialysis treatment using seldi-tof-ms. *American Journal of Nephrology*, 26(4):372–380, 2006.

- [344] J. Mares, V. Thongboonkerd, Z. Tuma, J. Moravec, and M. Matejovic. Specific adsorption of some complement activation proteins to polysulfone dialysis membranes during hemodialysis. *Kidney International*, 76(4):404–413, 2009.
- [345] J. Mares, P. Richtrova, A. Hricinova, Z. Tuma, J. Moravec, D. Lysak, et al. Proteomic profiling of blood-dialyzer interactome reveals involvement of lectin complement pathway in hemodialysis-induced inflammatory response. *Proteomics - Clinical Applications*, 4(10-11):829–838, 2010.
- [346] M. Bonomini, L. Pieroni, L. Di Liberato, V. Sirolli, and A. Urbani. Examining hemodialyzer membrane performance using proteomic technologies. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 14:1–9, 2018.
- [347] A. Urbani, S. Lupisella, V. Sirolli, S. Bucci, L. Amoroso, B. Pavone, et al. Proteomic analysis of protein adsorption capacity of different haemodialysis membranes. *Molecular BioSystems*, 8(4):1029–1039, 2012.
- [348] F. Gachon, J. Mallet, A. Tridon, and P. Deteix. Analysis of proteins eluted from hemodialysis membranes. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2(4):263–276, 1991.
- [349] S. Han, K. Yang, J. Sun, J. Liu, L. Zhang, and J. Zhao. Proteomics investigations into serum proteins adsorbed by high-flux and low-flux dialysis membranes. *Proteomics - Clinical Applications*, 11(11-12), 2017.
- [350] J. Michikoshi, S. Matsumoto, H. Miyawaki, M. Morita, H. Niu, K. Seo, et al. Evaluation of proteins and cells that adsorb to dialysis membranes used in continuous hemodiafiltration: Comparison of an69st, polymethylmethacrylate, and polysulfone membranes. *Blood Purification*, 48(4):358–367, 2019.
- [351] S. Aoyagi, K. Abe, T. Yamagishi, H. Iwai, S. Yamaguchi, and T. Sunohara. Evaluation of blood adsorption onto dialysis membranes by time-of-flight secondary ion mass spectrometry and near-field infrared microscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(27):6387–6396, 2017.
- [352] W.R. Clark and D. Gao. Low-molecular weight proteins in end-stage renal disease: Potential toxicity and dialytic removal mechanisms. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(SUPPL. 1):S41–S47, 2001.
- [353] I. Pešić, G.A. Müller, C. Baumann, G.H. Dihazi, M.J. Koziolk, M. Eltoweissy, et al. Cellulose membranes are more effective in holding back vital proteins and exhibit less interaction with plasma proteins during hemodialysis. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1834(4):754–762, 2013.
- [354] X. Xu, Y. Yang, and N. Zhu. Characteristics and molecular mechanism of adhesion proteins on reused hemodialysis membranes. *Blood Purification*, 27(4):321–329, 2009.
- [355] L.A. Pedrini, C. Krisp, A. Gmerek, and D.A. Wolters. Patterns of proteins removed with high-flux membranes on high-volume hemodiafiltration detected with a multidimensional lc-ms/ms strategy. *Blood Purification*, 38(2):115–126, 2014.
- [356] U. Naseeb, S. Zarina, T. Jägerbrink, J. Shafqat, H. Jörnvall, and J. Axelsson. Differential hemoglobin a sequestration between hemodialysis modalities. *Biomolecular Concepts*, 8(2):125–129, 2017.
- [357] M.M. Bankhead, R.D. Toto, and R.A. Star. Accuracy of urea removal estimated by kinetic models. *Kidney International*, 48(3):785–793, 1995.
- [358] S. Eloot, D. Schneditz, and R. Vanholder. What can the dialysis physician learn from kinetic modelling beyond kt/vurea? *Nephrology Dialysis Transplantation*, 27(11):4021–4029, 2012.
- [359] L. Trefethen. *Spectral Methods in Matlab*. Society for Industrial and Applied Mathematics, 3600 University City Science Center Philadelphia, PA, United States, 2000. ISBN: 978-0-89871-465-4.
- [360] N. Mai-Duy and R.I. Tanner. A spectral collocation method based on integrated chebyshev polynomials for two-dimensional biharmonic boundary-value problems. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, 201(1):30–47, 2007.
- [361] B.K. Muite. A numerical comparison of chebyshev methods for solving fourth order semilinear initial boundary value problems. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, 234(2):317–342, 2010.

-
- [362] A. Kumar, D.K. Jaiswal, and N. Kumar. Analytical solutions to one-dimensional advection-diffusion equation with variable coefficients in semi-infinite media. *Journal of Hydrology*, 380(3-4):330–337, 2010.
- [363] A. Mojtabi and M.O. Deville. One-dimensional linear advection-diffusion equation: Analytical and finite element solutions. *Computers and Fluids*, 107:189–195, 2015.
- [364] A.S. Kim. Complete analytic solutions for convection-diffusion-reaction-source equations without using an inverse laplace transform. *Scientific Reports*, 10(1), 2020.
- [365] D. Schneditz, B. Fariyike, R. Osheroff, and N.W. Levin. Is intercompartmental urea clearance during hemodialysis a perfusion term? a comparison of two pool urea kinetic models. *Journal of the American Society of Nephrology*, 6(5):1360–1370, 1995.

Anexos

Anexo 1

Desarrollo de relaciones matemáticas

K_0A

La ley de Fick establece que el flujo neto de un soluto se produce por la diferencia de concentración entre dos regiones. En el caso de una fibra capilar de grosor homogéneo e integrando para toda el área del hemodializador se puede escribir:

$$J_s = -D_s \frac{\Delta C}{\Delta x} \implies J = -K_0A\Delta C \quad (1)$$

Asimismo, se asume que la variación de concentraciones estará asociada a un flujo de soluto en la configuración a contracorriente de flujo sangre/dializado (Figura A.1, izquierda). La variación de esta concentración a lo largo del hemodializador (la pendiente de la recta $\Delta C_i - \Delta C_o$, Figura A.1 derecha), se escribe como:

$$\frac{d(\Delta C)}{dJ} = \frac{\Delta C_i - \Delta C_o}{J} \quad (2)$$

Derivando la parte derecha de la ecuación (1) respecto del área y sustituyéndola en (2) se obtiene:

$$\frac{d(\Delta C)}{-K_0dA\Delta C} = \frac{\Delta C_i - \Delta C_o}{J} \quad (3)$$

Separando términos, integrando y reordenando términos se puede obtener la expresión siguiente:

$$J = K_0A \frac{\Delta C_i - \Delta C_o}{\ln(\Delta C_i/\Delta C_o)} = K_0A \frac{(C_{Bi} - C_{Do}) - (C_{Bo} - C_{Di})}{\ln [(C_{Bi} - C_{Bo})/(C_{Bo} - C_{Di})]} \quad (4)$$

De la Figura A.1 se puede obtener trivialmente el balance de masas siguiente:

$$Q_{Bi}C_{Bi} + Q_{Di}C_{Di} = Q_{Bi}C_{Bo} + Q_{Di}C_{Do} \quad (5)$$

$$Q_{Bi}(C_{Bi} - C_{Bo}) = Q_{Di}(C_{Do} - C_{Di}) \quad (6)$$

Dividiendo la ecuación (6) por la concentración incidente se obtiene

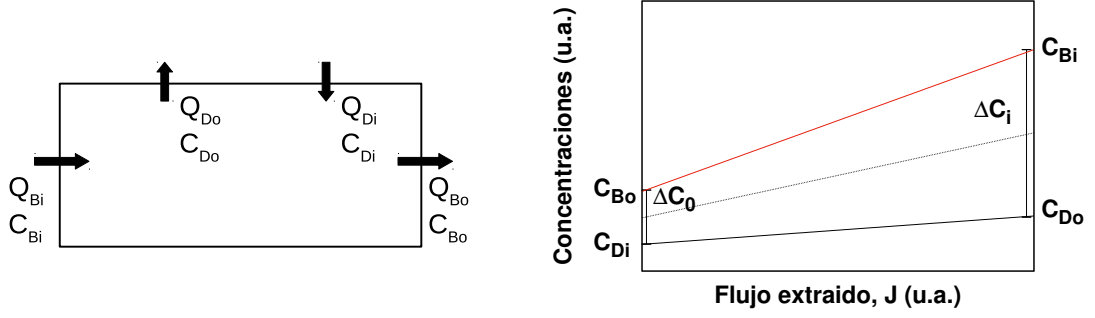


Figura A.1: Esquematzación del balance de masas y flujos (a contracorriente) en un hemodializador (izquierda) y la variación de concentraciones en lado de sangre y dializado (derecha). La concentración (C) y flujo (Q) a la entrada (subíndice i) y salida (subíndice o) del sistema para sangre (B) y dializado (D) están representados por C_{Bi} , C_{Bo} , Q_{Bi} , Q_{Bo} , C_{Di} , C_{Do} , Q_{Di} y Q_{Do} .

$$Q_{Bi} \frac{C_{Bi} - C_{Bo}}{C_{Bi} - C_{Di}} = Q_{Di} \frac{C_{Do} - C_{Di}}{C_{Bi} - C_{Di}} \quad (7)$$

Nótese que en todo el desarrollo anterior se está asumiendo un flujo de ultrafiltrado nulo ($Q_{UF}=0$).

El concepto de dialisancia, D , se define como el cambio de concentración en el compartimento sanguíneo dividido por la concentración incidente de un soluto, es decir:

$$D = Q_{Bi} \frac{C_{Bi} - C_{Bo}}{C_{Bi} - C_{Di}} = Q_{Di} \frac{C_{Do} - C_{Di}}{C_{Bi} - C_{Di}} \quad (8)$$

En la parte izquierda de la igualdad (7) aparece el flujo de soluto hacia el exterior del compartimento de sangre. Si además se tiene en cuenta (8) se puede escribir:

$$\frac{J}{C_{Bi} - C_{Di}} = D \quad (9)$$

Como se ha asumido $Q_{UF} = 0$, se puede establecer que $Q_{Bi} = Q_{Bo} = Q_B$ y $Q_{Di} = Q_{Do} = Q_D$. Además, la igualdad (8) se puede reordenar a fin de obtener las siguientes relaciones:

$$\begin{aligned} C_{Bi} - C_{Do} &= (C_{Bi} - C_{Di})(1 - D/Q_D) \\ C_{Bo} - C_{Di} &= (C_{Bi} - C_{Di})(1 - D/Q_B) \end{aligned} \quad (10)$$

Sustituyendo estos términos en la ecuación (4) y reordenando se puede obtener:

$$K_0 A = \frac{Q_B}{1 - Q_B/Q_D} \ln \frac{1 - D/Q_D}{1 - D/Q_B} \quad (11)$$

Por último, si se asume que $C_{Di} = 0$, se sustituye la dialisancia por el aclaramiento, resultando en:

$$K_0 A = \frac{Q_D Q_B}{Q_D - Q_B} \ln \left[\frac{1 - \frac{K}{Q_D}}{1 - \frac{K}{Q_B}} \right] \quad (12)$$

Modelo monocompartimental

El balance de masa (m) en un modelo monocompartimental con generación G , volumen V , aclaramiento K y concentración C , se representa mediante la ecuación:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{d(VC)}{dt} = V \frac{dC}{dt} + C \frac{dV}{dt} = G - KC \quad (13)$$

Se asume, además, una variación constante en el volumen mediante:

$$V(t) = V_0 + \beta t, \quad (14)$$

donde V_0 es el volumen inicial y β la tasa de ultrafiltración.

Reordenando (13) y sustituyendo (14) se obtiene la ecuación diferencial lineal de primer orden

$$\frac{dC}{dt} + \left(\frac{\beta + K}{V_0 + \beta t} \right) C = \frac{G}{V_0 + \beta t} \quad (15)$$

Si se asume C_0 como la concentración inicial, la solución de la ecuación (15) se escribe como:

$$C(t) = C_0 \left(\frac{V_0 + \beta t}{V_0} \right)^{-\frac{K+\beta}{\beta}} + \frac{G}{K + \beta} \left[1 - \left(\frac{V_0 + \beta t}{V_0} \right)^{-\frac{K+\beta}{\beta}} \right] \quad (16)$$

En el caso de asumir volumen constante ($dV \sim 0$), la solución analítica de la ecuación (13) es:

$$C(t) = C_0 \exp^{-\frac{Kt}{V}} + \frac{G}{K} \left(1 - \exp^{-\frac{Kt}{V}} \right) \quad (17)$$

En la Figura A.2 se muestra como las soluciones (17) y (16) alcanzan una divergencia prácticamente negligible de 4% al término del tratamiento.

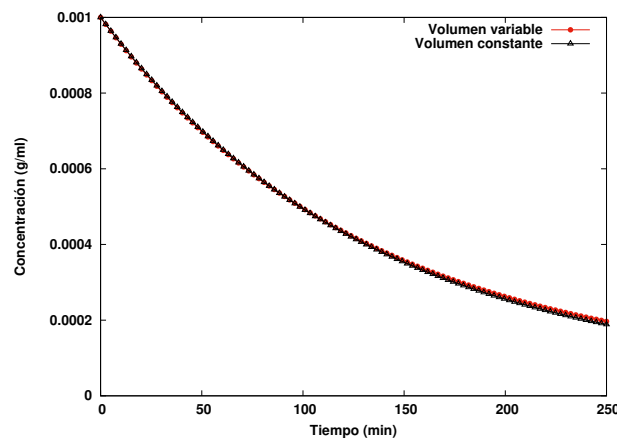


Figura A.2: Representación de la solución analítica del modelo monocompartimental. Los parámetros utilizados son: $V(0)=40$ L, $K=300$ mL/min, $G=12.5$ mg/min, $C(0)=1$ mg/mL. En el caso de variación de volumen, la ultrafiltración $\beta=1$ L/h.

Modelo bicompartimental

La variación de masa de un sistema bicompartimental se escribe como:

$$\begin{aligned}\frac{d(V_e C_e)}{dt} &= K_c(C_i - C_e) - K_{de}C_e + G_e \\ \frac{d(V_i C_i)}{dt} &= -K_c(C_i - C_e) - K_{di}C_i + G_i\end{aligned}\quad (18)$$

Asumiendo solo la depuración en el compartimento externo, y la invariancia en el volúmen y la generación, el sistema anterior se reduce a:

$$\begin{aligned}\frac{dC_e}{dt} &= -\frac{K_c}{V_e}(C_e - C_i) - \frac{K_d}{V_e}C_e \\ \frac{dC_i}{dt} &= \frac{K_c}{V_i}(C_e - C_i)\end{aligned}\quad (19)$$

Asignando los valores $\alpha_1 = \frac{K_c}{V_e}$, $\alpha_2 = \frac{K_d}{V_e}$ y $\alpha_3 = \frac{K_c}{V_i}$ se reescribe:

$$\begin{aligned}\frac{dC_e}{dt} &= -(\alpha_1 + \alpha_2)C_e + \alpha_1 C_i \\ \frac{dC_i}{dt} &= \alpha_3 C_e - \alpha_3 C_i\end{aligned}\quad (20)$$

De manera matricial resulta en:

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} C_e \\ C_i \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -(\alpha_1 + \alpha_2) & \alpha_1 \\ \alpha_3 & -\alpha_3 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} C_e \\ C_i \end{pmatrix}\quad (21)$$

Los valores propios de la matriz anterior resultan en $\lambda = -a_1 \pm a_2$, donde:

$$\begin{aligned}a_1 &= \frac{\alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3}{2} \\ a_2 &= (\alpha_1^2 - \alpha_2\alpha_3)^{1/2}\end{aligned}\quad (22)$$

La solución general del sistema en (21) está constituida por una doble exponencial de la forma:

$$\begin{aligned}C_e &= e^{-ta_1} (\beta_1 e^{-ta_2} + \beta_2 e^{ta_2}) \\ C_i &= e^{-ta_1} (\beta_3 e^{-ta_2} + \beta_4 e^{ta_2}),\end{aligned}\quad (23)$$

donde se ha de verificar la condición inicial homogénea de $C_i(0) = C_e(0) = C_0$, es decir que $\beta_1 + \beta_2 = \beta_3 + \beta_4 = C_0$.

Si se definen los coeficientes:

$$\begin{aligned}\beta_1 &= \frac{1}{2}C_0(1 + \gamma)\beta_2 = \frac{1}{2}C_0(1 - \gamma) \\ \beta_3 &= \frac{1}{2}C_0(1 + \delta)\beta_4 = \frac{1}{2}C_0(1 - \delta),\end{aligned}\quad (24)$$

La solución en (23) se reescribe como:

$$\begin{aligned} C_e &= \frac{1}{2}C_0e^{-ta_1} ((1 + \gamma)e^{-ta_2} + (1 - \gamma)e^{ta_2}) \\ C_i &= \frac{1}{2}C_0e^{-ta_1} ((1 + \delta)e^{-ta_2} + (1 - \delta)e^{ta_2}) \end{aligned} \tag{25}$$

Utilizando la solución (25) en la expresión (20) y reorganizando términos se obtiene la solución para γ y δ :

$$\begin{aligned} \delta &= -\frac{a_1}{a_2} \\ \gamma &= \frac{V_i K_d - K_c(V_i + V_e)}{2a_2 V_i V_e}, \end{aligned} \tag{26}$$

obteniendo la solución analítica al modelo bicompartimental.

Ecuación de difusión

La ecuación de difusión unidimensional asumiendo la difusividad k constante se escribe como:

$$\frac{\partial C(x,t)}{\partial t} = k \frac{\partial^2 C(x,t)}{\partial x^2} \quad (27)$$

Aplicando el método de separación de variables se define $C(x,t) = T(t)X(x)$, pudiendo obtener entonces las relaciones:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C(x,t)}{\partial t} &= T'(t)X(x) \\ \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} &= T(t)X'(x) \\ \frac{\partial^2 C(x,t)}{\partial x^2} &= T(t)X''(x) \end{aligned} \quad (28)$$

Mediante estas relaciones se permite reescribir la ecuación (27) de la forma:

$$\frac{1}{k} \frac{T'(t)}{T(t)} = \frac{X''(x)}{X(x)} = -\lambda^2, \quad (29)$$

siendo λ una constante. Esto es posible ya que la parte izquierda de la relación (29) depende solo del tiempo mientras que la parte derecha lo hace solo de la posición x .

Integrando para la variable temporal se obtiene:

$$T(t) = T_0 \exp^{-\lambda^2 kt}, \quad (30)$$

siendo T_0 la constante de integración a determinar con las condiciones iniciales y de contorno.

Para la integración de la parte espacial, la ecuación resultante es de la forma

$$X''(x) + \lambda^2 X(x) = 0, \quad (31)$$

cuya solución no trivial se escribe como:

$$X(x) = (C_1 \cos(\lambda x) + C_2 \sin(\lambda x)), \quad (32)$$

añadiendo las constantes C_1 y C_2 a determinar.

Por lo tanto, la solución general del problema se describe como

$$C(x,t) = T_0 \exp^{-\lambda^2 kt} (C_1 \cos \lambda x + C_2 \sin \lambda x) \quad (33)$$

Se puede comprobar que la solución (33) presenta una caída exponencial modulada.

Anexo 2

Presentaciones a congresos

A continuación se detallan diversas presentaciones en formato póster presentadas en diferentes congresos nacionales e internacionales y relacionadas con la temática de esta tesis

- Valoración *in vitro* de la cinética del fármaco experimental SNF472 en HDF
- Comparación de un modelo bicompartimental experimental y matemático
- Eficiencia depurativa *in vitro* de hemodializadores de alto flujo en HD y HDF



SNF472, A NOVEL INHIBITOR OF VASCULAR CALCIFICATION, COULD BE ADMINISTERED DURING HEMODIALYSIS TO ATTAIN POTENTIALLY THERAPEUTIC PHYTATE LEVELS



J. Perelló^{1,2}, M. Gómez³, M.D. Ferrer^{1,4}, N.Y. Rodríguez³, C. Salcedo¹, J.M. Buades⁵, M.M. Pérez¹, E. Martín⁶, F. Maduell³



¹ Laboratoris Sanifit SL., Palma, Spain; ² Laboratori d'Investigació en Litiasi Renal, University of the Balearic Islands (UIB), Palma, Spain; ³ Hospital Clínic, Nephrology and Renal Transplantation, Barcelona, Spain; ⁴ D. Biología Fonamental i Ciències de la Salut, UIB, Palma, Spain; ⁵ Hospital Son Llàtzer, Nephrology Service, Palma, Spain; ⁶ Kinrel, Madrid, Spain
Contact: joan.perello@sanifit.com

INTRODUCTION

Cardiovascular calcification (CVC) is a major concern in hemodialysis (HD) patients and the loss of endogenous modulators of calcification seems actively involved in the calcification process. Phytate is a crystallization inhibitor present in cells and tissues and its low molecular mass and high water solubility make it potentially dialyzable. SNF472 (the hexasodium salt of phytate), a selective calcification inhibitor, is being developed for the treatment of calciphylaxis and CVC in HD patients.

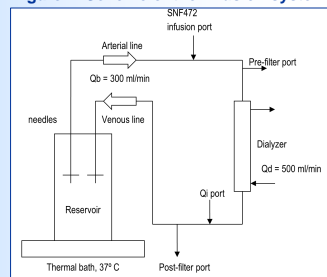
AIM

To evaluate SNF472's behavior during dialysis and the drug dialysability.

MATERIALS AND METHODS

Dialysability of SNF472 was assessed *in vitro* using online-hemodiafiltration (OL-HDF) and high-flux HD systems in blood and saline and in the presence and absence of calcium in the dialysis bath. Experiments using the bypass mode were also performed to check the interactions of SNF472 with the dialysis system. One liter of heparinized fresh blood (obtained from volunteer patients from the Haematology departments of Hospital Clínic and Hospital Son Llàtzer that were periodically undergoing therapeutic bleeding) was spiked with 8 mg/dl creatinine (as positive control) and introduced in a container maintained at 37 °C and one-hour dialysis session was simulated using MC 4008 and FMC 5008 dialysis devices. SNF472 (66.7, 30 and 10 mg/L) was infused for 20 minutes and samples were obtained at different time points for creatinine, total and ionized calcium and SNF472 levels quantification. An scheme of the experimental infusion system can be seen in Figure 1.

Figure 1. Scheme of the infusion system

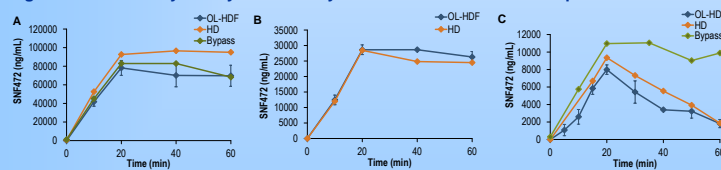


SNF472 was quantified by tandem mass spectrometry (the molecular ion of *m/z* 659 ([M.-]) was followed for quantitative purpose and was obtained after negative electrospray ionization) after gradient reversed-phase chromatography using TEAA 50mM pH 9 and ACN as mobile phase.

RESULTS

SNF472 increased in blood while infused, reached a plateau and remained nearly constant when added at concentrations of 30 and 66.67 mg/L. There was no apparent loss of SNF472 when the system ran in bypass mode. However, when SNF472 was added at 10 mg/L its levels in blood increased up to 8 mg/L during the infusion but then dropped with estimated values of K_{SNF472} of 36±3 and 17±4 mL/min for OL-HDF and HD, respectively (Figure 2, Table 1). Creatinine dialyzed with K_{cre} values of 204±23 and 161±17 mL/min for OL-HDF and HD, respectively (Table 1).

Figure 2. *In vitro* dialysability and stability of SNF472 under different experimental conditions



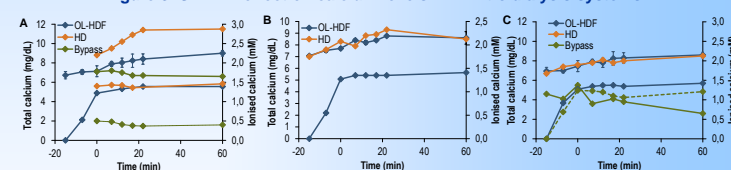
(A) 66.67 mg/L SNF472, (B) 30 mg/L SNF472, (C) 10 mg/L SNF472. SNF472 was infused at different concentrations for 20 minutes in 1L blood. OL-HDF experiments performed in triplicate, mean ± SEM is represented HD and bypass experiments performed in single experiments. OL-HDF: Online-hemodiafiltration; HD: Hemodialysis; PMMA: Polymethylmethacrylate membrane.

In bypass conditions, calcium was slightly chelated during SNF472 infusion at 66.67 mg/L but when the system was switched to dialysis mode the calcium in the bath compensated this chelation.

Experiment	SNF472 clearance (ml/min)	Creatinine clearance (ml/min)
OL-HDF – Blood ¹	36 ± 3	204 ± 23
HD – Blood ¹	17 ± 4	161 ± 17
OL-HDF – Saline ³	7 ± 2	321 ± 35
HD – no calcium – Blood ²	115 ± 6	171 ± 25
HD – no calcium – Saline ³	80 ± 13	238 ± 7

Table 1. Clearance values for creatinine and SNF472 infused in blood and saline. ¹ 10 mg/L SNF472; ² 66.67 mg/L SNF472; ³ 30 mg/L SNF472. Clearance of SNF472 was calculated by the exponential fitting method for creatinine, using SNF472 pre-filter levels. Results represent fitted parameter mean values ± asymptotic estimated error.

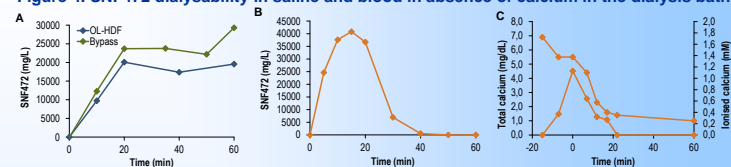
Figure 3. SNF472 effect on calcium levels in *in vitro* dialysis systems



SNF472 was infused at different concentrations for 20 minutes in 1L blood. (A) 66.67 mg/L SNF472, (B) 30 mg/L SNF472, (C) 10 mg/L SNF472. Solid lines represent total calcium while dashed lines represent ionized calcium. OL-HDF experiments performed in triplicate, mean ± SEM is represented. HD and bypass experiments performed in single experiments. OL-HDF: Online-hemodiafiltration; HD: Hemodialysis.

In order to check if the lack of dialysability observed at high concentrations was due to interactions with blood proteins the assays were performed in saline with 30 mg/L SNF472. SNF472 reached maximum plateau levels after infusion and these were maintained until the end of the 60-minute period (Fig. 4A). Finally, the experiments were performed using a calcium-free dialysate in order to study the possible effect of SNF472-calcium aggregates formation. SNF472 levels rose in blood for the 20 minutes of infusion while total and ionized calcium levels dropped (Fig 4B and 4C). In the absence of calcium, SNF472 dialyzed in HD with a K_{SNF472} of 115±6 ml/min for the 66.67 mg/L tested concentration and was undetectable after 50 minutes of study (Fig. 4B).

Figure 4. SNF472 dialysability in saline and blood in absence of calcium in the dialysis bath



(A) SNF472 was infused at 30 mg/L for 20 minutes in 1L saline; (B, C) SNF472 was infused for 20 minutes at 66.67 mg/L in 1L blood and the experiment was performed with hemodialysis; (B) SNF472 levels in blood; (C) Total (solid lines) and ionized (dashed lines) calcium levels. OL-HDF: Online-hemodiafiltration.

CONCLUSIONS

1. Phytate shows a low dialysability (clearance in the range 17-36 ml/min and approximately 10% of creatinine clearance), which is only observed at low phytate concentrations. This low dialysability may be attributed to the formation of colloidal complexes with calcium.
2. The administration of SNF472 as an exogenous source of phytate during dialysis allows to attain the supra-physiological levels required for its potential therapeutic anti-calcification properties. As SNF472 is infused during the whole dialysis session the low clearance will not affect the drug's systemic exposure required for its activity.
3. SNF472 is a calcification inhibitor by direct blockade of HAP crystallization. However, calcium chelating activity is seen at high SNF472 doses. This chelating effect is compensated by the calcium in the dialysis bath, so no hypocalcemia is expected in HD patients.

This study was supported by FEDER funds ISCIII RETIC REDINREN RD012/20021 and RETOS COLABORACIÓN: RTC-2014-2460-1 ISCIII grant (Ministerio de Economía y Competitividad. Government of Spain)

GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD
Cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Unión Europea. Una manera de hacer Europa



A new approach to an *ex vivo* two-pool kinetic model for uremic toxins in OL-HDF

M. Gomez¹, N. Rodriguez², J. Cid³, C. Sanz³, D. Perea³, N. Rico⁴ and F. Maduell^{1,2}

¹ Dialysis and Applied Research Center (DIRAC), Fundació Clínic Recerca Biomèdica, Barcelona, Spain.

² Nephrology and Renal Transplantation, Hospital Clínic, Barcelona.

³ Hemotherapy and Hemostasis, Hospital Clínic, Barcelona.

⁴ Biochemistry and Molecular Genetics, Hospital Clínic, Barcelona.

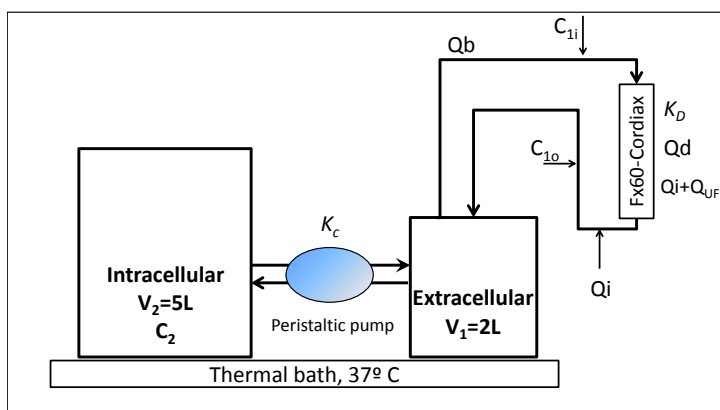
Introduction

Haemodialysis two-pool models are numerically solved to estimate characteristic kinetic parameters, such as the dialyzer clearance, K_D (ml/min), the mass-transfer coefficient among tissues, K_c (ml/min) and the post-dialysis “rebound” effect. Generation rates, G (mg/min), and distribution volumes (intra- and extracellular spaces) are additionally fitted to assess the kinetic behavior of different solutes. In vitro models are usually tested by means of a saline or bovine blood reservoir, spiked with uremic toxins. Here we present a two-pool *ex vivo* model, using plasma exchanges from uremic patients under preparation for ABOi transplant.

Materials and Methods

A two-pool kinetic model (Fig. 1) was constructed connecting two reservoirs full of uremic patient plasma exchanges by means of a peristaltic pump with a pre-selected flow. In addition, 1 g of vancomycin was introduced to the continuously stirred system, to also study an exogenous molecule. The small reservoir was connected to a FMC5008 haemodialysis device using conventional bloodlines and a Fx60 dialyzer (1,4 m²). Blood flow (Q_b) of 300 ml/min, dialyze flow (Q_d) of 500 ml/min, ultrafiltration flow (Q_{UF}) of 1 ml/min and substitution flow (Q_i) of 75 ml/min were used. Samples were taken from the pre-filter, (C_{1i}), and post-infusion, (C_{1o}), ports as well as intracellular volume (C_2) to measure concentration levels of urea, creatinine, vancomycin and β_2 -microglobulin.

Figure 1. Schematic representation of the experimental set-up.



K_D was calculated by means of mass conservation, using Eq. (1) whereas K_c was assumed to be the peristaltic pump selected flow.

$$K_D = Q_b \frac{C_{1i} - C_{1o}}{C_{1i}} + Q_{UF} \frac{C_{1o}}{C_{1i}} \quad \text{Eq. (1)}$$

Additionally, a mathematical model (Eq. 2) was implemented to fit the same dialysis K_D and K_c parameters from the C_{1i} data points.

$$\frac{d(V_1 C_{1i})}{dt} = K_c (C_2 - C_{1i}) - K_D C_{1i} \quad \text{Eq. (2)}$$

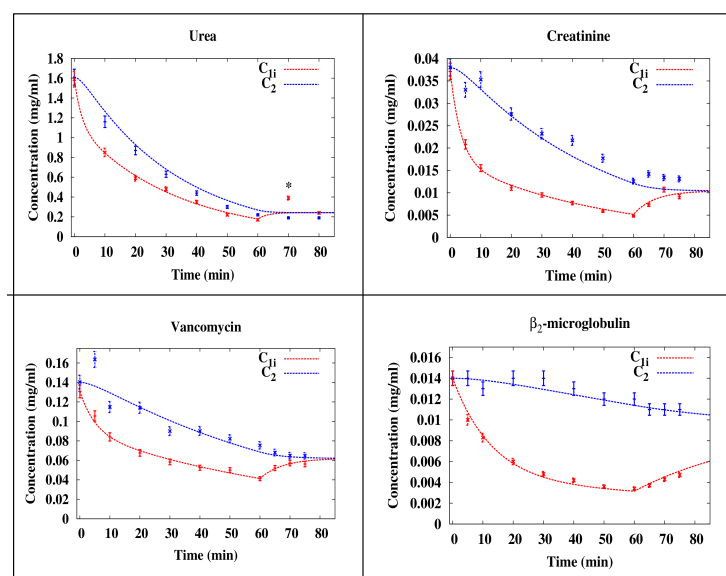
$$\frac{d(V_2 C_2)}{dt} = -K_c (C_2 - C_{1i})$$

Equations were solved using the DOPRI5 subroutine whereas the parameter fitting was performed with the LMDIF subroutine, both implemented in Fortran90.

Results

The agreement between the experimental data and the model fitting is well demonstrated in Figure 2. The concentration decay over time for each solute, obtained from the experimental set-up, shows close relation with the computed results.

Figure 2. Experimental data (points) and fitted model (lines) for intra- (blue) and extracellular (red) simulated compartments.



*Excluded for modeling.

Regarding kinetic parameters, similar values were obtained both from the experimental data as well as the fitted model (Table 1).

Table 1. Experimental (Exp.) and modeled (Sim.) values of K_D and K_c kinetic parameters for each solute.

Solute	K_D (ml/min)		K_c (ml/min)	
	Exp.	Sim.	Exp.	Sim.
Urea	254 ± 3 [†]	296	600 ± 3 [‡]	460
Creatinine	202 ± 59 [†]	269	125 ± 1 [‡]	176
Vanco.	109 ± 13 [†]	127	125 ± 1 [‡]	162
β_2 -micro.	65 ± 5 [†]	89	25 ± 1 [‡]	30

[†]Median ± SD.

[‡]Selected flow ± accuracy.

Conclusions

Our simple, in-house constructed model allowed us to mimic the kinetic behavior of different uremic toxins, including the rebound phenomenon, which could be implemented to analyze the impact of new treatment configurations over the depuration of solutes.

References

- Clark, W. et. al. J Am Soc Nephrol, 10, 601-609, 1999.
- Eloit, S. et al. Kidney Int, 67, 1566-1575, 2005.
- Maduell, F. et. al. Blood Purif, 39, 288-296, 2015.
- Schneditz D. & Daugirdas J.T. Semin. Dial, 14(4) 271-277, 2001.
- Waniewski, J. J. Memb. Sci, 274, 24-37, 2006.



IN VITRO ASSESSMENT OF DIFFERENT MATERIAL HAEMODIALYZER CLEARANCE IN HIGH-FLUX HAEMODIALYSIS AND ON-LINE HAEMODIAFILTRATION

M. Gomez¹, E. Bañon¹, D. Badia², R. Ojeda³, M. Arias-Guillén^{3,4} and F. Maduell^{3,4}

¹Laboratori Experimental de Nefrologia i Trasplantament (LENIT), Fundació Clínic per la Recerca Biomèdica (FCRB), Barcelona, Spain

²Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Spain

³Nephrology and Renal Transplantation, Institut Clínic de Nefrologia i Urologia (ICNU), Hospital Clínic de Barcelona, Spain

⁴ISCIII RETIC REDINREN

OBJECTIVE

To evaluate the clearance of different material hollow fibre haemodialyzers undergoing high-flux haemodialysis (HD) or on-line haemodiafiltration (HDF) in an *in vitro* set-up

METHODS

A pool of 625 ml of uremic plasma and 500 ml out of date erythrocytes was connected to a FMC 5008 dialysis device and HD or HDF treatments were performed (Table 1). Polysulfone (PS), polymethylmethacrylate (PMMA), cellulose triacetate (CTA) and polyamide (PA) haemodialyzers were tested (Table 2). Blood samples were taken at t=0', 10', 20' and 60'. Levels of β_2 -microglobulin, myoglobin, prolactin, α_1 -microglobulin and albumin were measured. A monocompartmental model was implemented to fit the clearance K (mL/min)

RESULTS

HDF treatments showed the highest clearance values vs. HD for all molecules as expected. The β_2 -microglobulin clearances for PMMA, PS and CTA were $K^{PMMA}_{\beta_2-m} = 241 \pm 1$, $K^{PS}_{\beta_2-m} = 241 \pm 5$ and $K^{CTA}_{\beta_2-m} = 202 \pm 6$ ($p < 0.05$) respectively. PMMA obtained the highest depuration values for all other molecules as well as a noteworthy albumin elimination ($K^{PMMA}_{Myo} = 199 \pm 3$, $K^{PMMA}_{Prol} = 148 \pm 37$, $K^{PMMA}_{Alfa1} = 49 \pm 11$ and $K^{PMMA}_{Aib} = 22 \pm 3$) as compared to other dialyzers. CTA showed enhanced clearance as compared to PS ($K^{CTA}_{Myo} = 180 \pm 6$ vs. $K^{PS}_{Myo} = 93 \pm 7$, $p < 0.01$, $K^{CTA}_{Prol} = 112 \pm 2$ vs. $K^{PS}_{Prol} = 52 \pm 6$, $p < 0.01$ and $K^{CTA}_{Alfa1} = 19 \pm 5$ vs. $K^{PS}_{Alfa1} = 5 \pm 4$). PA achieved the lowest clearance values for all molecules in HD.

Figure 1. Concentration decay for β_2 -microglobulin, myoglobin and α_1 -microglobulin for every treatment condition

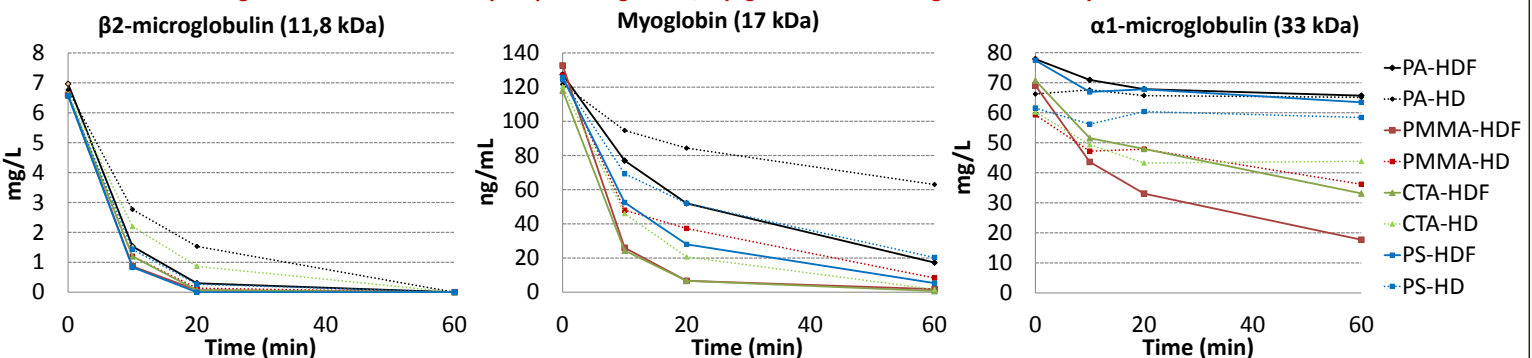
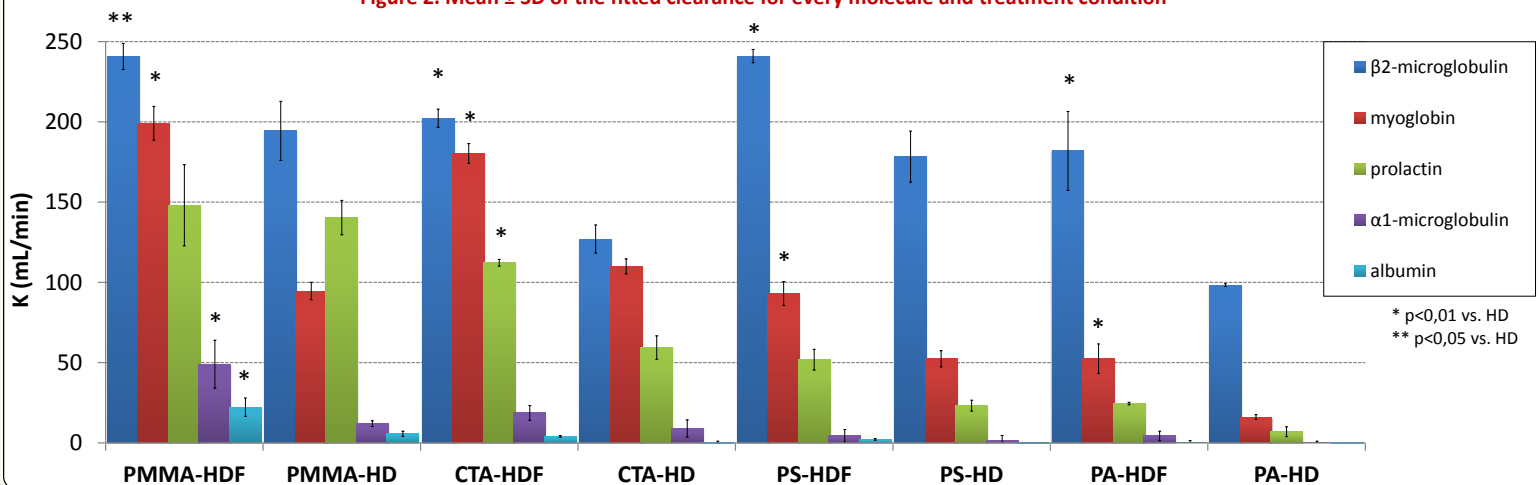


Figure 2. Mean \pm SD of the fitted clearance for every molecule and treatment condition



Conclusion: In terms of *in vitro* depuration, CTA as well as PS should be considered as all-purpose haemodialyzers regardless of the chosen treatment. Despite the highest obtained clearances for PMMA, significant albumin elimination was present in HDF. PA should be used exclusively in HDF.

Funding: This study was supported by 'Fondo para el Fomento y Ayuda a la Investigación en Diálisis Baxter-Gambro Renal 2016' and FEDER funds ISCIII RETIC REDINDEN RD16/0009