

**Tomasz Liberek**

**Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych  
Akademii Medycznej w Gdańsku**

**Wybrane zagadnienia biozgodności płynów stosowanych w dializie  
otrzewnowej**

**Praca habilitacyjna**

**Gdańsk 2005**

## Spis treści

	strona
1. Rola dializy otrzewnowej w leczeniu nerkozastępczym	3
2. Lokalne aspekty biozgodności płynów dializacyjnych	3
3. Metodyka badań nad biozgodnością płynów dializacyjnych	5
4. Wybrane zagadnienia dotyczącej biozgodności płynów dializacyjnych z podkreśleniem własnych badań	7
4.1 Wpływ pH i osmolarności płynów na mechanizmy odpornościowe w jamie otrzewnowej	7
4.2 Ekspresja molekuł adhezyjnych i transmigracja leukocytów do otrzewnej	8
4.3 Produkcja cytokin i prostaglandyn przez komórki otrzewnowe	9
4.4 Rola białek szoku termicznego w ocenie biozgodności płynów do dializy otrzewnowej	10
4.5 Badania kliniczne nowych płynów dializacyjnych	11
5. Piśmiennictwo	13
6. Spis opublikowanych prac będących podstawą pracy habilitacyjnej	15
7. Aneks: (prace wieloosrodkowe z udziałem habilitanta)	

## 1. Rola dializy otrzewnowej w leczeniu nerkozastępczym

Dializa otrzewnowa jest obok hemodializy i przeszczepienia nerek skuteczną metodą leczenia nerkozastępczego. Mimo, że tą formą terapii leczona jest stosunkowo niewielka grupa pacjentów, uzyskiwane wyniki leczenia nie odbiegają od uzyskiwanych w leczeniu hemodializą [1, 2]. Rozwój dializy otrzewnowej w ostatnich kilkudziesięciu latach związany był z wprowadzeniem w 1976 roku ciągłej ambulatoryjnej dializy otrzewnowej, a następnie pod koniec lat osiemdziesiątych automatycznej dializy otrzewnowej [3, 4].

Zasadnicze zalety tej formy dializy wynikają z faktu, że jest ona metodą ciągłą, pozwalającą na utrzymanie stabilnych parametrów gospodarki wodno – elektrolitowej leczonych nią pacjentów. Ponadto jest ona prowadzona w warunkach domowych, w związku z tym, jej zastosowanie w mniejszym stopniu niż w hemodializie utrudnia pacjentowi prawidłowe funkcjonowanie w pracy zawodowej, szkole czy życiu rodzinnym. Te zalety dializy otrzewnowej decydują o wysokiej jakości życia i zadowoleniu z terapii leczonych nią pacjentów.

Podstawowe powikłania dializy otrzewnowej to dializacyjne zapalenie otrzewnej oraz zmiany w błonie otrzewnowej występujące w przebiegu terapii. Problemy te są najczęstszymi przyczynami niepowodzenia terapii i u wielu pacjentów powodują konieczność zmiany na leczenie hemodializą.

Wymienione powikłania związane są z upośledzeniem przez płyny dializacyjne przeciwbakteryjnych mechanizmów odpornościowych otrzewnej oraz niekorzystnym działaniem płynów na funkcję i strukturę błony otrzewnowej. Opisane zjawiska wynikają z niskiej biozgodności płynów dializacyjnych.

## 2. Lokalne aspekty biozgodności płynów dializacyjnych

Biozgodność (ang. biocompatibility) została zdefiniowana jako zdolność zastosowanego materiału, urządzenia lub układu do działania bez wywoływania niepożądanego, klinicznie istotnej reakcji ustroju [5]. W odniesieniu do płynów stosowanych w dializie otrzewnowej biozgodność jest rozumiana jako brak niekorzystnego wpływu na normalne funkcjonowanie tkanek i komórek otrzewnej w stanie prawidłowym i w czasie jej zapalenia [6].

W początkowym okresie badań nad biozgodnością płynów uwagę skupiono przede wszystkim na zagadnieniach wpływu płynów dializacyjnych na mechanizmy odpornościowe otrzewnej poprzez hamowanie prawidłowej reakcji zapalnej w jamie otrzewnowej. U chorych leczonych dializą otrzewnową komórki znajdujące się w otrzewnej poddane są stałemu

działaniu płynu dializacyjnego co prowadzi do upośledzenia miejscowych mechanizmów obronnych przeciwko zakażeniu bakteryjnemu. Przemawia za tym fakt, że najczęstszym czynnikiem patogennym izolowanym z dializatu chorych z zapaleniem otrzewnej jest koagulazo-ujemny *S. epidermidis*, drobnoustrój o stosunkowo niewielkiej wirulencji, który w innych warunkach rzadko jest przyczyną zakażeń. Jednocześnie, praktyka kliniczna wskazuje, że podstawowym i najczęściej skutecznym sposobem leczenia dializacyjnego zapalenia otrzewnej, które nie poddaje się celowanej antybiotykoterapii, jest zaprzestanie dializy i usunięcie cewnika otrzewnowego. Te podstawowe dane epidemiologiczne wskazują, że u chorych leczonych CADO występuje defekt miejscowych otrzewnowych mechanizmów odpornościowych, który jest następstwem stałej obecności płynu dializacyjnego. Jedną z przyczyn upośledzenia odporności jest eliminacja w trakcie dializy otrzewnowych czynników opsonizacyjnych i w konsekwencji zahamowanie procesu fagocytozy bakterii. Poziomy czynników opsonizacyjnych w dializacie otrzewnowym są zdecydowanie niższe w porównaniu z prawidłowym płynem otrzewnowym [7].

Płyn dializacyjny wywiera również wpływ na funkcje odpornościowe komórek w jamie otrzewnowej. Podstawowe rodzaje komórek biorących udział w reakcji zapalnej w jamie otrzewnowej to makrofagi, granulocyty oraz komórki mezotelialne. Ich funkcje mające znaczenie w procesie zapalnym, takie jak transmigracja do płynu dializacyjnego, fagocytoza i produkcja wolnych rodników tlenowych czy synteza cytokin mogą być hamowane poprzez obecność płynu dializacyjnego.

Obserwacje i badania kliniczne dokonane w ostatnich latach zwracają uwagę na niekorzystny wpływ długoletniego leczenia dializą otrzewnową na funkcję i strukturę błony otrzewnej. U wielu chorych, wraz z czasem trwania leczenia, obserwuje się istotny wzrost przepuszczalności otrzewnej dla substancji niskocząsteczkowych, skutkujący zaburzeniami ultrafiltracji [8, 9]. W badaniach morfologicznych, przeprowadzonych u chorych dializowanych otrzewnowo, stwierdza się bardzo wyraźne zwłóknienie i pogrubienie podścieliska otrzewnej z towarzyszącą utratą komórek międzybłonka (mezotelium) oraz powstawaniem nowych, nieprawidłowych naczyń (neowaskularyzacją). Nasilenie powyższych zmian narasta wraz z czasem terapii [10]. Dane te jednoznacznie wskazują, że obecnie stosowane płyny dializacyjne wywierają niekorzystne działanie na strukturę i funkcję otrzewnej w wielu wypadkach uniemożliwiając dalsze prowadzenie tej formy terapii. Podstawowe czynniki odpowiedzialne za niekorzystne działanie używanych obecnie płynów do dializy otrzewnowej są wymienione w tabeli 1. Skład płynów dializacyjnych jest podobny do składu elektrolitowego surowicy. Różnice polegają na wprowadzeniu czynnika

osmotycznego (glukozy) - zastosowaniu jonu mleczanowego jako źródła dwuwęglanów oraz obniżeniu pH płynu do 5,2-5,5. Ostatnia wymieniona zmiana jest wymogiem technologicznym związanym z termiczną sterylizacją płynów, celem jej jest zapobieganie degradacji glukozy pod wpływem wysokiej temperatury. W czasie termicznego wyjaławiania, w wyniku nieenzymatycznego rozpadu glukozy powstaje szereg toksycznych związków chemicznych tzw. produktów degradacji glukozy (glucose degradation products GDP) [11]. Są one odpowiedzialne za efekt cytotoksyczny i hamowanie wielu funkcji komórek otrzewnowych, mogą również przedostawać się do krwioobiegu i wywierać ogólnoustrojowy efekt toksyczny. Produkty degradacji glukozy, obok samej glukozy są również odpowiedzialne za powstawanie końcowych produktów zaawansowanej glikacji białek (advanced glycation end-products AGEs) w błonie otrzewnowej i upośledzenie jej funkcji na tej drodze [12].

Tabela 1. Czynniki wpływające na biozgodność płynu do dializy otrzewnowej

<b>Zasadnicze czynniki odpowiedzialne za niską biozgodność płynów do dializy otrzewnowej</b>
niskie pH
wysokie stężenie mleczanu
produkty degradacji glukozy
wysokie stężenie glukozy
wysoka osmolarność

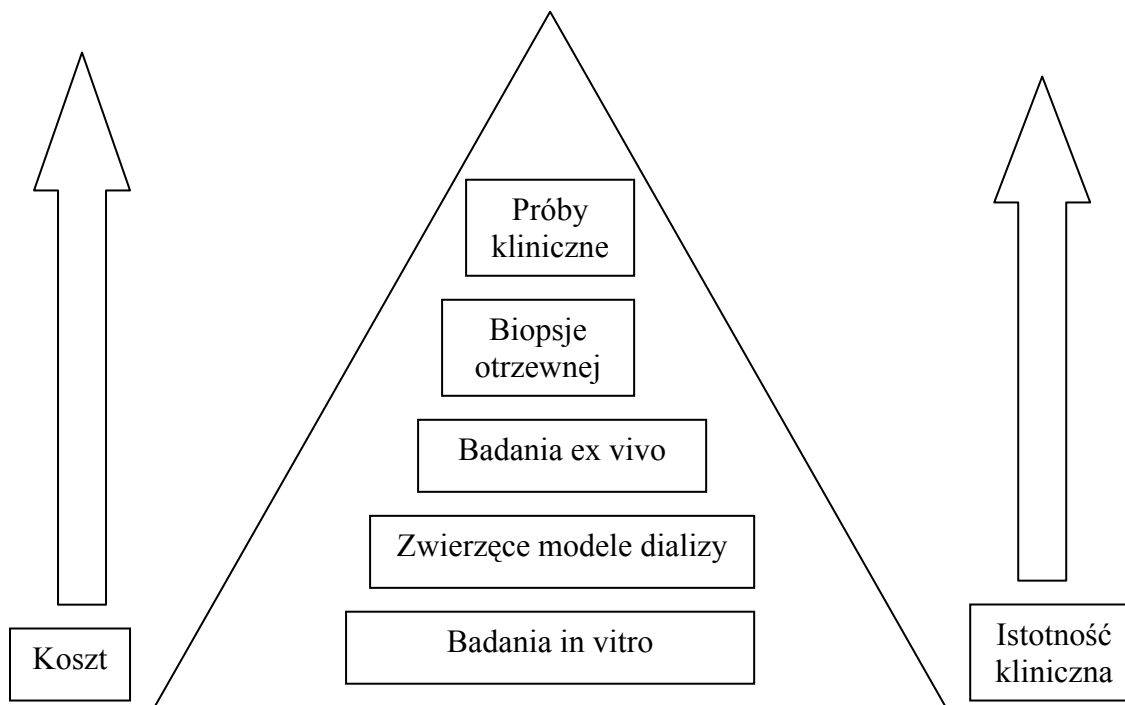
Zagadnienia dotyczące biozgodności płynów dializacyjnych są coraz częściej tematem badań i publikacji naukowych. Analiza tych zagadnień owocuje nie tylko dogłębnym poznaniem mechanizmów niekorzystnego działania płynów, ale również opracowaniem nowych bardziej biozgodnych płynów dializacyjnych.

### 3. Metodyka badań biozgodności płynów do dializy otrzewnowej.

Badania biozgodności płynów dializacyjnych prowadzono stosując różne modele eksperymentalne, a także w pracach klinicznych [13]. Można je usystematyzować według następujących kategorii: badania systemów komórek in vitro, badania in vivo na zwierzętach, kliniczne badania reakcji biologicznych ex vivo, ocena biopsji otrzewnej pacjentów

dializowanych oraz wielośrodkowe prospektywne badania kliniczne wyników leczenia.

(Rycina 1)



Rycina 1. Schematyczna ilustracja metodyki badań nad biozgodnością płynów w dializie otrzewnowej (wg Holmesa w modyfikacji własnej [13])

Opisane kategorie badań tworzą hierarchiczny układ, którego podstawą są stosunkowo łatwe do przeprowadzenia badania na systemach komórkowych in vitro. Pozwalają one na poznanie mechanizmów niekorzystnego działania płynów dializacyjnych oraz umożliwiają zaproponowanie i przebadanie nowych bardziej biozgodnych płynów dializacyjnych. Podstawą tych badań są modele wykorzystujące hodowle komórek mezotelium i fibroblastów otrzewnowych lub leukocytów krwi obwodowej pochodzących od zdrowych osób. Zadaniem kolejnych etapów zaproponowanej piramidy jest weryfikacja hipotez stawianych na podstawie tych badań oraz ocena działania nowych płynów na dalszych poziomach istotności eksperymentalnej i klinicznej.

Ważnym elementem są badania prowadzone na zwierzętach laboratoryjnych (najczęściej szczurach) poddanych zabiegom naśladującym dializę otrzewnową. Jest to stosunkowo niedawno rozwinięta dziedzina badań nad biozgodnością płynów dializacyjnych, a jej zasadniczą zaletą jest możliwość przeprowadzenia badań morfologicznych błony

otrzewnowej. Badania te stają się niezmiernie ważne w świetle zmian występujących w otrzewnej w trakcie dializy otrzewnowej.

Badania morfologiczne biopsji otrzewnej chorych dializowanych stanowią oddzielną bardzo istotną kategorię badań. Są one jeszcze stosunkowo nieliczne, gdyż z oczywistych względów są trudne do przeprowadzenia w warunkach klinicznych.

Nowe płyny, o zmienionym składzie, w fazie przed ich rejestracją kliniczną są przedmiotem badań przeprowadzanych na niewielkich grupach pacjentów. W badaniach tych oprócz oceny działania klinicznego i rejestracji potencjalnych objawów niepożądanych oceniane są parametry biologiczne związane z lokalną reakcją komórek i tkanek otrzewnej na stosowany płyn. Podstawą tych badań jest ocena *ex vivo* funkcji makrofagów otrzewnowych izolowanych z dializatu leczonych pacjentów oraz markerów uszkodzenia błony otrzewnowej w płynach dializacyjnych.

Na szczycie opisanej piramidy znajdują się wielośrodkowe, kontrolowane badania kliniczne oceniające wyniki leczenia dużych grup pacjentów z zastosowaniem nowych płynów. Badania takie, dysponujące dużymi grupami pacjentów powinny mieć odpowiednią siłę statystyczną aby ocenić ewentualne zmiany w tak istotnych klinicznie parametrach jak przeżycie pacjentów i metody, częstość zapaleń otrzewnej, wielkość ultrafiltracji lub przepuszczalność otrzewnej oraz ekspresja markerów stanu zapalnego.

Badania te, w sposób najbardziej pełny i prawdziwy oceniają profil biozgodności i właściwości kliniczne płynów, ale też niewątpliwie ze względu na swoją skalę, są najtrudniejsze i najbardziej kosztowne w przeprowadzeniu. Należy pamiętać, że podstawą do zaprojektowania składu nowego płynu dializacyjnego, który może być zastosowany w klinice, muszą być badania poprzednich etapów.

Różne rodzaje płynów dializacyjnych, ich rola w indywidualizacji dializy otrzewnowej oraz zagadnienia ich biozgodności zostały omówione w publikacji nr 1.

#### 4. Wybrane zagadnienia dotyczące biozgodności płynów dializacyjnych z podkreśleniem własnych badań

##### 4.1 Wpływ pH i osmolarności płynów na mechanizmy odpornościowe w jamie otrzewnowej.

Niskie, нефизjologiczne pH płynów dializacyjnych i ich wysoka osmolarność związana z obecnością wysokich stężeń glukozy są czynnikami w istotny sposób zmniejszającymi ich biozgodność. Już w latach osiemdziesiątych wykazano, że te elementy składu płynów upośledzają funkcje odpornościowe granulocytów krwi obwodowej [14]. W

następnych latach obserwacje te zostały potwierdzone i rozszerzone. Wykazano jednocześnie że zasadniczym czynnikiem upośledzającym fagocytozę bakterii i produkcję leukotrienu B4 jest wysoka osmolarność płynu a nie obecność wysokich stężeń glukozy. Mechanizm ten był niezależny od obecności produktów degradacji glukozy [15]. Jednocześnie stwierdzono że niskie pH płynów upośledza przeżycie granulocytów, fagocytozę oraz generację wolnych rodników tlenowych. Działania te występowały jedynie w obecności wysokich stężeń mleczanu poprzez obniżenie wewnątrzkomórkowego pH [16]. Sugerowano, że jon mleczanowy może spełniać rolę nośnika protonów przez błonę komórkową ułatwiając obniżenie wewnątrzkomórkowego pH. Podobne mechanizmy opisano również w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej poddanych działaniu płynów dializacyjnych [17, 18]. Wyniki tych prac dały impuls do poszukiwania nowych rozwiązań technologicznych umożliwiających produkcję płynów o fizjologicznym pH.

#### 4.2 Ekspresja molekuł adhezyjnych i transmigracja leukocytów do otrzewnej.

Obecność makrofagów stanowi pierwszą linię obrony przeciwbakteryjnej w otrzewnej, w trakcie jej zapalenia dochodzi do masywnego napływu granulocytów obojętnochłonnych. Migracja komórek do otrzewnej kierowana jest poprzez obecność czynników chemotaktycznych (macrophage chemotactic protein 1 (MCP-1) oraz interleukiny 8) w otrzewnej [19]. Sam proces transmigracji leukocytów z naczyń do jamy otrzewnowej poprzez ścianę naczynia, podścielisko i warstwę komórek międzybłonka jest możliwy dzięki interakcji specyficznych cząsteczek adhezyjnych znajdujących się i podlegających ekspresji na powierzchni leukocytów i struktur, przez które zachodzi transmigracja [20, 21]. Proces transmigracji leukocytów do jamy otrzewnowej i ekspresja cząsteczek adhezyjnych na komórkach znajdujących się w otrzewnej była przedmiotem badań. W pracy nr 2 wykazano po raz pierwszy ekspresję cząsteczki adhezyjnej należącej do nadrodziny immunoglobulin intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) na powierzchni komórek międzybłonka otrzewnowego. Ekspresja ta była konstytutywna a jednocześnie uległa wzmocnieniu po stymulacji czynnikami pro-zapalnymi. W tej samej pracy opracowano specyficzne badanie pozwalające ocenić adhezję granulocytów do komórek mezotelialnych w hodowli. Wykazano istotną rolę ICAM-1 w tym procesie poprzez hamowanie adhezji granulocytów przez blokowanie ICAM-1 specyficznymi przeciwciałami. Rolę cząsteczek adhezyjnych i mechanizmy transmigracji leukocytów do jamy otrzewnowej zostały szeroko omówione w pracy nr 3.



Wyniki badań przeprowadzonych *in vitro* z wykorzystaniem technik hodowli komórkowej i izolowanych leukocytów zostały potwierdzone w warunkach klinicznych. W pracy nr 4 badano ekspresję cząsteczek adhezyjnych na powierzchni makrofagów i granulocytów izolowanych z dializatu otrzewnowego. Stwierdzono znamienne wyższą ekspresję cząsteczek ICAM-1 oraz Mac-1 (CD11b/CD18) na powierzchni komórek otrzewnowych w porównaniu z komórkami izolowanymi z krwi obwodowej. Podwyższoną ekspresję tych molekuł stwierdzono zarówno na makrofagach otrzewnowych w prawidłowym dializacie jak również na granulocytach migrujących do otrzewnej w czasie jej zapalenia. Jednocześnie w badaniach *in vitro* na leukocytach krwi obwodowej nie obserwowano istotnego wpływu płynu dializacyjnego na ekspresję cząsteczek adhezyjnych. Dane te wskazują na istotną rolę wymienionych cząsteczek adhezyjnych w procesie transmigracji z naczyń krwionośnych do jamy otrzewnowej zarówno w warunkach prawidłowych jak i w czasie zapalenia otrzewnej.

#### 4.3 Produkcja cytokin i prostaglandyn przez komórki otrzewnowe

W czasie zapalenia otrzewnej w rozwoju reakcji zapalnej biorą udział wszystkie populacje komórkowe znajdujące się w otrzewnej [22, 23]. Ich wzajemne oddziaływania prowadzące do prawidłowego rozwoju reakcji zapalnej, a po ustąpieniu zakażenia do jej wygaszenia, są kontrolowane przez szereg niskocząsteczkowych czynników humoralnych zwanych cytokinami. Ponadto w rozwoju reakcji zapalnej istotną rolę pełnią metabolity kwasu arachidonowego: leukotrieny i prostaglandyny [24]. Źródłem tych czynników w otrzewnej są nie tylko makrofagi otrzewnowe ale również komórki międzybłonka otrzewnowego. Te ostatnie, pełnią nie tylko rolę strukturalną, ale są aktywne metabolicznie produkując fosfolipidy, proteoglikany, prostaglandyny oraz cytokiny jak IL-6 i IL-8 [22, 25]. W pracy nr 5 oceniano wpływ płynów dializacyjnych na spoczynkową i stymulowaną syntezę IL-6 i prostaglandyn przez ludzkie, otrzewnowe komórki mezotelialne w hodowli. Produkcja IL-6 i prekursora syntezy prostaglandyn 6-keto-PGF<sub>1α</sub> w komórkach mezotelium poddanych krótkotrwałemu (15min) działaniu standardowych płynów dializacyjnych była wyraźnie i znamienne zahamowana. Wyrównanie pH płynu do wartości fizjologicznych zdecydowanie zmniejszało hamujące działanie płynu na badane funkcje komórek. Dopiero długotrwała ekspozycja komórek na tak zmodyfikowany płyn powodowała znaczniejsze upośledzenie produkcji tych czynników prozapalnych.

W czasie trwania dializy płyn w jamie otrzewnowej podlega stale procesowi ekwilibracji z płynami ustrojowymi prowadząc do wyrównywania stężeń i stopniowej

poprawy biozgodności płynu. Czynnikiem ulegającym najszybciej wyrównaniu jest pH płynu, w jamie otrzewnej jego wartość dochodzi do wartości fizjologicznych już po około 30 minutach od początku wymiany [26]. Badania biozgodności płynów wykonywane w warunkach *in vitro* nie biorą pod uwagę zjawiska ekwilibracji płynów ich stale zmieniającego się w jamie otrzewnej składu. Ich wyniki nie są więc całkowicie wiarygodne, gdyż nie odzwierciedlają w pełni sytuacji klinicznej. W związku z tym opracowano nowy model badania biozgodności płynów dializacyjnych, w którym oceniana jest funkcja makrofagów otrzewnowych izolowanych z dializatu uzyskanego od chorych leczonych danym płynem [27]. Takie podejście badawcze jest bliskie realnej sytuacji klinicznej gdyż bierze pod uwagę wszystkie procesy zachodzące w jamie otrzewnej. Ze względu na wykorzystanie makrofagów otrzewnowych, które są źródłem wielu cytokin, szczególnie nadaje się ono do oceny wpływu płynów dializacyjnych na produkcję tych czynników.

W pracy nr 6 oceniano tą metodą produkcję czynnika martwicy nowotworów (tumor necrosis factor  $\alpha$  – TNF $\alpha$ ) i interleukiny 6. W makrofagach otrzewnowych izolowanych z długotrwałej, nocnej wymiany stymulowanych lipopolisacharydem *E. coli* nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w produkcji TNF $\alpha$  i IL-6 pomiędzy płynem standardowym i zawierającym bufor dwuwęglanowy. Dane te sugerują, że w warunkach *in vivo*, dzięki zjawisku szybkiego wyrównania pH, pierwotny odczyn płynu ma niewielki wpływ na funkcję komórek otrzewnowych mierzona syntezą cytokin.

#### 4.4 Rola białek szoku termicznego w ocenie biozgodności płynów do dializy otrzewnowej

Białka szoku termicznego (ang. heat shock proteins, HSP) to rodzina białek obecna we organizmach na różnych szczeblach rozwoju filogenetycznego począwszy od bakterii do człowieka. Ich zasadniczą funkcją jest ochrona komórki poprzez renaturację lub degradację białek zdenaturowanych lub uszkodzonych przez różne czynniki. Są one ważnymi efektorami komórkowej odpowiedzi stresowej i mogą być silnie indukowane pod wpływem niekorzystnych czynników takich jak wysoka temperatura, niedokrwienie, zakażenie oraz działanie toksyn.

W badaniach *in vitro* stwierdzono wzrost ekspresji HSP-72 w komórkach mezotelialnych poddanych działaniu płynu w warunkach hodowli komórkowej [28]. Dalsze badania wykazały, że czynnikami odpowiedzialnymi za zwiększoną ekspresję HSP jest niski odczyn płynu oraz obecność produktów degradacji glukozy [29]. Jednocześnie w badaniach biopsyjnych błony otrzewnowej chorych dializowanych otrzewnowo stwierdzono obecność HSP-49. Obserwowano znamiennej korelację ekspresji HSP-49 z ekspresją kolagenu i

markerami włóknienia otrzewnej, a także z niektórymi parametrami klinicznymi jak czas dializy, liczba przebytych zapaleń otrzewnej oraz obecność zaburzeń ultrafiltracji [30]. W pracy nr 7 stwierdzono zwiększoną ekspresję HSP-72 w makrofagach otrzewnowych izolowanych z dializatu w porównaniu z monocytami krwi obwodowej. W badaniach tych stwierdzono zwiększoną ekspresję HSP-72 zarówno na poziomie genu jak i białka. W pracy tej wykazano po raz pierwszy wzrost ekspresji HSP-72 pod wpływem działania płynu dializacyjnego in vivo w warunkach klinicznej dializy otrzewnowej. Uzyskane dane pozwalają ocenić ekspresję białek szoku termicznego jako nowy, istotny parametr oceny biogodności płynów używanych w dializie otrzewnowej. Dalsze badania nad ekspresją białek szoku termicznego pod wpływem płynów dializacyjnych in vivo i ocena ekspresji HSP-72 u pacjentów stosujących płyn dwuwęglanowo-mleczanowy o prawidłowym pH w porównaniu z płynem standardowym są realizowane w ramach grantu KBN.

#### 4.5 Badania kliniczne nowych płynów dializacyjnych.

Badania kliniczne z wykorzystaniem nowych płynów mają bardzo istotne znaczenia w ocenie ich profilu biogodności i są najważniejszym sprawdzianem ich przydatności klinicznej. Pozwalają one, z jednej strony, na ocenę parametrów biogodności a także umożliwiają szeroko pojętą ocenę ich przydatności klinicznej, w tym analizę objawów ubocznych. W pracy nr 6 ocenie poddano produkcję TNF $\alpha$  i IL-6 przez makrofagi otrzewnowe pacjentów dializowanych płynem standardowym oraz płynem zawierającym bufor dwuwęglanowy. Produkcja cytokin przez makrofagi izolowane z nocnej trwającej ok. 8 godzin wymiany nie różniła się istotnie pomiędzy badanymi płynami, nie stwierdzano również różnic w ultrafiltracji. Obserwowany brak różnic może wynikać z procesu ekwilibracji wewnątrzotrzewnowej płynu prowadzącej do szybkiej zmiany pH i wyrównania stężeń innych składników płynu z płynami ustrojowymi w czasie trwania wymiany. W Ośrodku Dializy Otrzewnowej Kliniki Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych w Gdańsku prowadzono również wieloośrodkowe badania oceniające parametry biogodności i profil kliniczny płynu dializacyjnego o prawidłowym pH i niskiej zawartości produktów degradacji glukozy (Balance, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Niemcy) [31]. W tym międzynarodowym, wieloośrodkowym, randomizowanym, przeprowadzonym metodą „cross-over” badaniu analizie poddano 71 pacjentów. Stwierdzono znamienne wyższe stężenie w dializacie chorych stosujących płyn Balance antygenu CA 125 oraz peptydu prokolagenu (procollagen peptide PICP) – związków uważanych za markery masy mezotelium. Jednocześnie obserwowano zwiększone wydalanie w dializacie kwasu

hialuronowego uważanego za marker uszkodzenia błony otrzewnowej. W surowicy chorych w trakcie stosowania płynu Balance stwierdzono obniżenie produktów zaawansowanej glikacji białek (advanced glycosylation end products AGEs) – imidazolonu i N-karboksymetylolizyny. Ocena parametrów klinicznych wykazała poprawę resztkowej funkcji nerek mierzoną klirenssem kreatyniny i wielkością diurezy przy jednoczesnym zmniejszeniu ultrafiltracji u chorych w czasie leczenia płynem Balance. Praca ta sugeruje, że stosowanie przedstawianego płynu poprawia nie tylko lokalną homeostazę otrzewnową, ale poprzez swoją lepszą biozgodność wpływa na parametry ogólnoustrojowe jak poziom AGEs czy poprawę resztkowej funkcji nerek.

W analizie podgrupy 20 polskich pacjentów biorących udział w tym badaniu stwierdzono pozytywny wpływ dializatu uzyskanego od chorych leczonych płynem Balance na przeżycie i proliferację komórek mezotelium w hodowli komórkowej [32]. Efekt proliferacyjny dializatu korelował dodatnio z zawartością w nim fibronektyny oraz antygenu CA 125. Dane te sugerują, że stosowanie nowego płynu stwarza warunki sprzyjające utrzymaniu integralności błony otrzewnowej.

Dotychczasowe badania nad biozgodnością płynów zidentyfikowały elementy ich składu działające niekorzystnie na błonę otrzewnową. W wielu wypadkach pozwoliły one również na określenie mechanizmów niekorzystnego działania płynów dializacyjnych na funkcję i strukturę błony otrzewnowej oraz lokalne mechanizmy odpornościowe. Wyniki tych prac pozwoliły także na zaprojektowanie, produkcję i kliniczne użycie nowych, bardziej biozgodnych płynów. Użycie ich w dużych grupach chorych pozwoli ocenić, czy i w jakim stopniu spełnią one pokładane w nich nadzieje. Zastosowanie nowych płynów, poprzez zmniejszenie hamowania mechanizmów obronnych otrzewnej, powinno zaowocować zmniejszeniem częstości występowania najczęstszego powikłania dializy otrzewnowej jakim jest zapalenie otrzewnej. Z drugiej strony, oczekuje się również, że użycie nowych, bardziej biozgodnych płynów wyeliminuje lub zmniejszy niekorzystne zmiany w błonie otrzewnowej zachodzące pod wpływem dializy, umożliwiając w ten sposób długotrwałe stosowanie tej formy leczenia w większych grupach chorych.

Piśmiennictwo:

1. Korevaar JC, Feith GW, Dekker FW, van Manen JG, Boeschoten EW, Bossuyt PM, Krediet RT: Effect of starting with hemodialysis compared with peritoneal dialysis in patients new on dialysis treatment: a randomized controlled trial. *Kidney Int* 64:2222-2228, 2003
2. Vonesh EF, Snyder JJ, Foley RN, Collins AJ: The differential impact of risk factors on mortality in hemodialysis and peritoneal dialysis. *Kidney Int* 66:2389-2401, 2004
3. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD, Ghods AJ, Twardowski ZJ, Pyle WK: Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ann Intern Med* 88:449-456, 1978
4. Diaz-Buxo JA, Farmer CD, Walker PJ, Chandler JT, Holt KL: Continuous cyclic peritoneal dialysis: a preliminary report. *Artif Organs* 5:157-161, 1981
5. Consensus Conference on Biocompatibility. *Nephrol Dial Transplant* 9:1-186, 1994
6. Holmes CJ: Biocompatibility of peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 13:88-94, 1993
7. Holmes C, Lewis S: Host defense mechanisms in the peritoneal cavity of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. 2. Humoral defenses. *Perit Dial Int* 11:112-117, 1991
8. Davies SJ, Phillips L, Griffiths AM, Russell LH, Naish PF, Russell GI: What really happens to people on long-term peritoneal dialysis? *Kidney Int* 54:2207-2217, 1998
9. Davies SJ, Phillips L, Griffiths AM, Russell LH, Naish PF, Russell GI: Impact of peritoneal membrane function on long-term clinical outcome in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 19 Suppl 2:S91-94, 1999
10. Williams JD, Craig KJ, Topley N, Von Ruhland C, Fallon M, Newman GR, Mackenzie RK, Williams GT: Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 13:470-479, 2002
11. Wieslander A, Linden T, Kjellstrand P: Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids: how they can be avoided. *Perit Dial Int* 21 Suppl 3:S119-124, 2001
12. Nakamura S, Niwa T: Advanced glycation end-products and peritoneal sclerosis. *Semin Nephrol* 24:502-505, 2004
13. Holmes CJ, Faict D: Peritoneal dialysis solution biocompatibility: definitions and evaluation strategies. *Kidney Int Suppl*:S50-56, 2003
14. Duwe A, Vas S, Weatherhead J: Effects of the composition of peritoneal dialysis fluids on chemiluminescence, phagocytosis, and bacteriocidal activity in vitro. *Infect Immun* 33:130-135, 1981
15. Liberek T, Topley N, Jorres A, Coles GA, Gahl GM, Williams JD: Peritoneal dialysis fluid inhibition of phagocyte function: effects of osmolality and glucose concentration. *J Am Soc Nephrol* 3:1508-1515, 1993
16. Liberek T, Topley N, Jorres A, Petersen MM, Coles GA, Gahl GM, Williams JD: Peritoneal dialysis fluid inhibition of polymorphonuclear leukocyte respiratory burst activation is related to the lowering of intracellular pH. *Nephron* 65:260-265, 1993
17. Douvdevani A, Rapoport J, Konforty A, Yulzari R, Moran A, Chaimovitz C: Intracellular acidification mediates the inhibitory effect of peritoneal dialysate on peritoneal macrophages. *J Am Soc Nephrol* 6:207-213, 1995
18. Douvdevani A, Rapoport J, Konforti A, Zlotnik M, Chaimovitz C: The effect of peritoneal dialysis fluid on the release of IL-1 beta and TNF alpha by macrophages/monocytes. *Perit Dial Int* 13:112-117, 1993

19. Faruqi RM, DiCorleto PE: Mechanisms of monocyte recruitment and accumulation. *Br Heart J* 69:S19-29., 1993
20. Li FK, Davenport A, Robson RL, Loetscher P, Rothlein R, Williams JD, Topley N: Leukocyte migration across human peritoneal mesothelial cells is dependent on directed chemokine secretion and ICAM-1 expression. *Kidney Int* 54:2170-2183, 1998
21. Faull RJ, Wang J, Stavros W: Changes in the expression of adhesion molecules as peripheral blood monocytes differentiate into peritoneal macrophages. *Nephrol Dial Transplant* 11:2037-2044, 1996
22. Topley N, Williams JD: Effect of peritoneal dialysis on cytokine production by peritoneal cells. *Blood Purif* 14:188-197, 1996
23. Topley N, Mackenzie RK, Williams JD: Macrophages and mesothelial cells in bacterial peritonitis. *Immunobiology* 195:563-573, 1996
24. McGregor SJ, Topley N, Jorres A, Speekenbrink AB, Gordon A, Gahl GM, Junor BJ, Briggs JD, Brock JH: Longitudinal evaluation of peritoneal macrophage function and activation during CAPD: maturity, cytokine synthesis and arachidonic acid metabolism. *Kidney Int* 49:525-533, 1996
25. Topley N, Jorres A, Luttmann W, Petersen MM, Lang MJ, Thierauch KH, Muller C, Coles GA, Davies M, Williams JD: Human peritoneal mesothelial cells synthesize interleukin-6: induction by IL-1 beta and TNF alpha. *Kidney Int* 43:226-233, 1993
26. Liberek T, Topley N, Mistry CD, Coles GA, Morgan T, Quirk RA, Williams JD: Cell function and viability in glucose polymer peritoneal dialysis fluids. *Perit Dial Int* 13:104-111, 1993
27. de Fijter CW, Verbrugh HA, Peters ED, Oe PL, van der Meulen J, Verhoef J, Donker AJ: In vivo exposure to the currently available peritoneal dialysis fluids decreases the function of peritoneal macrophages in CAPD. *Clin Nephrol* 39:75-80, 1993
28. Aufricht C, Endemann M, Bidmon B, Arbeiter K, Mueller T, Regele H, Herkner K, Eickelberg O: Peritoneal dialysis fluids induce the stress response in human mesothelial cells. *Perit Dial Int* 21:85-88, 2001
29. Arbeiter K, Bidmon B, Endemann M, Bender TO, Eickelberg O, Ruffingshofer D, Mueller T, Regele H, Herkner K, Aufricht C: Peritoneal dialysate fluid composition determines heat shock protein expression patterns in human mesothelial cells. *Kidney Int* 60:1930-1937, 2001
30. Shiohita K, Miyazaki M, Ozono Y, Abe K, Taura K, Harada T, Koji T, Taguchi T, Kohno S: Expression of heat shock proteins 47 and 70 in the peritoneum of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int* 57:619-631, 2000
31. Williams JD, Topley N, Craig KJ, Mackenzie RK, Pischetsrieder M, Lage C, Passlick-Deetjen J: The Euro-Balance Trial: the effect of a new biocompatible peritoneal dialysis fluid (balance) on the peritoneal membrane. *Kidney Int* 66:408-418, 2004
32. Witowski J, Korybalska K, Ksiazek K, Wisniewska-Elnur J, Jorres A, Lage C, Schaub TP, Passlick-Deetjen J, Breborowicz A, Grzegorzewska A, Ksiazek A, Liberek T, Lichodziejewska-Niemierko M, Majdan M, Rutkowski B, Stompor T, Sulowicz W: Peritoneal dialysis with solutions low in glucose degradation products is associated with improved biocompatibility profile towards peritoneal mesothelial cells. *Nephrol Dial Transplant* 19:917-924, 2004

Opublikowane prace będące podstawą pracy habilitacyjnej:

1. **Liberek T.** Rodzaje płynów stosowanych w dializie otrzewnowej i zagadnienia ich biogodności w Dializoterapia dla lekarzy pod red. B. Rutkowskiego. Wydawnictwo MakMed, Gdańsk, 2004
2. **Liberek-T;** Topley-N; Luttmann-W; Williams-JD. Adherence of neutrophils to human peritoneal mesothelial cells: role of intercellular adhesion molecule-1. **J Am Soc Nephrol.** 1996 Feb; 7(2): 208-17
3. Topley-N; **Liberek-T;** Davenport-A; Li-FK; Fear-H; Williams-JD. Activation of inflammation and leukocyte recruitment into the peritoneal cavity. **Kidney-Int-Suppl.** 1996 Nov; 56: S17-21
4. **Liberek T,** Chmielewski M, Lichodziejewska – Niemierko M, Lewandowski K, Rutkowski B. Transmigration of blood leukocytes into peritoneal cavity is related to the up-regulation of ICAM-1 (CD54) and Mac-1 (CD11b/CD18) adhesion molecules. **Perit Dial Int** 2004; 24(2): 139-46
5. Witowski-J; Topley-N; Jorres-A; **Liberek-T;** Coles-GA; Williams-JD. Effect of lactate-buffered peritoneal dialysis fluids on human peritoneal mesothelial cell interleukin-6 and prostaglandin synthesis. **Kidney-Int.** 1995 Jan; 47(1): 282-93
6. **Liberek T,** Lichodziejewska-Niemierko M, Knopińska – Posluszny W, SchaubTP, Kirchgessner J, Passlick-Deetjen J, Rutkowski B. Generation of TNF $\alpha$  and IL-6 by peritoneal macrophages after overnight dwells with bicarbonate or lactate buffered dialysis fluids. **Perit Dial Int** 2002, 22(6): 663-9
7. Marzec Ł, Terziyska N, **Liberek T,** Chmielewski M, Liberek K, Rutkowski B. Ekspresja białka szoku termicznego Hsp 72 w dializie otrzewnowej – doniesienie wstępne. **Nefrol Dial Pol** 2003, 7; 133-136

Aneks: (prace wielośrodkowe z udziałem habilitanta)

1. Williams JD, Topley N, Craig KJ, Mackenzie RK, Pischetsrieder M, Lage C, Passlick-Deetjen J and **Euro Balance Trial Group**. The Euro-Balance Trial: the effect of a new biocompatible peritoneal dialysis fluid (balance) on the peritoneal membrane. **Kidney Int.** 2004 Jul;66(1):408-18.
2. Witowski J, Korybalska K, Ksiazek K, Wisniewska-Elnur J, Jorres A, Lage C, Schaub TP, Passlick-Deetjen J, Breborowicz A, Grzegorzewska A, Ksiazek A, **Liberek T**, Lichodziejewska-Niemierko M, Majdan M, Rutkowski B, Stompor T, Sulowicz W. Peritoneal dialysis with solutions low in glucose degradation products is associated with improved biocompatibility profile towards peritoneal mesothelial cells. **Nephrol Dial Transplant.** 2004 Apr;19(4):917-24.