

Janusz Witowski

Katedra i Zakład Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

# Molekularne podłoże dysfunkcji otrzewnej u chorych dializowanych otrzewnowo

## Peritoneal membrane dysfunction in peritoneal dialysis

### ABSTRACT

Ultrafiltration dysfunction in peritoneal dialysis is a significant cause of treatment failure. It is related to structural alterations in the peritoneal membrane, as exemplified by peritoneal fibrosis. Here, we review recent data from experimental studies that point to a significant role in peritoneal dysfunction of re-

peated episodes of peritoneal infection, interleukin-6 (IL-6) and interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) signalling, and peritoneal fibroblast activation.

Forum Nefrologiczne 2015, vol 8, no 3, 157–162

**Key words:** peritoneal dialysis, ultrafiltration dysfunction, peritonitis, fibrosis, IL-6, IFN- $\gamma$ , myofibroblasts, epithelial-to-mesenchymal-transition

### WSTĘP

Wartość dializy otrzewnowej jako przewlekłej terapii nerkozastępczej obniża techniczna zawodność metody. Istotną przyczyną niepowodzeń jest tak zwana niewydolność ultrafiltracyjna otrzewnej, która uniemożliwia osiągnięcie właściwych parametrów dializy. Częstość występowania niewydolności ultrafiltracyjnej wzrasta wraz z czasem dializowania [1]. Obserwacja ta zrodziła przypuszczenie, że upośledzenie funkcji otrzewnej jako błony dializacyjnej ma związek z samą terapią. Badania morfologiczne pokazały, że w czasie dializoterapii otrzewnowej dochodzi do stopniowych zmian w strukturze otrzewnowej [2]. Jednak zarówno mechanizm tych zmian, jak i ich następstwa długo pozostawały nieznane. Ostatnie badania nad podstawami biologii otrzewnej rzucają nowe światło na te problemy. Przed ich rozważeniem warto przypomnieć podstawowe fakty histologiczne, mające znaczenie dla procesu dializy.

### STRUKTURA OTRZEWNEJ U CHORYCH DIALIZOWANYCH

Otrzewna jest pokryta pojedynczą warstwą ściśle do siebie przylegających komórek mezotelialnych. Komórki spoczywają na błonie podstawnej, pod którą znajduje się cienka warstwa zwartej tkanki łącznej, obfitująca we włókna kolagenowe i elastyczne. Głębiej tkanka łączna jest luźniejsza, zawiera nieliczne i rozproszone fibroblasty i makrofagi oraz włosowate naczynia krwionośne i limfatyczne. Zatem dla procesu dializy ważne jest to, co się dzieje między powierzchnią mezotelium zwróconą do światła jamy otrzewnowej a powierzchnią śródbłonna wyściełającego naczynia krwionośne. Stwierdzono, że w przebiegu dializy otrzewnowej właśnie w tym obszarze dochodzi do głównych zmian strukturalnych [3], które obejmują: ekspansję tkanki łącznej, szkliwienie naczyń krwionośnych i zwiększenie ich zagęszczenia oraz degenerację komórek mezotelialnych. Spośród tych zmian najbardziej charakterystyczną cechą jest pogrubienie warstwy zbitej

▶▶ Długotrwała dializoterapia powoduje zmiany w strukturze błony otrzewnowej ◀◀

**Adres do korespondencji:**  
prof. dr hab. n. med.  
Janusz Witowski  
Katedra i Zakład Patofizjologii  
Uniwersytetu Medycznego  
w Poznaniu  
Centrum Biologii Medycznej  
ul. Rokietnicka 8, 60–806 Poznań  
tel.: 61 854 76 22  
faks: 61 854 76 20  
e-mail: jwitow@ump.edu.pl

## ▶▶ Włóknienie otrzewnej u chorych dializowanych często wynika z licznych epizodów zapalenia otrzewnej ◀◀

tkanki łącznej bezpośrednio pod mezotelium. Zmiana ta bywa określana zwłóknieniem lub stwardnieniem otrzewnej i jest szczególnie dobrze widoczna w otrzewnej ściennej.

Grubość tkanki łącznej w otrzewnej jest zwiększona jeszcze przed rozpoczęciem dializoterapii, co wskazuje, że przyczynia się do tego sama niewydolność nerek. Do dalszego włóknienia otrzewnej dochodzi w trakcie dializoterapii. W biopsjach otrzewnej widać wyraźnie, że średnia grubość warstwy łącznotkankowej jest największa u tych chorych, którzy są dializowani najdłużej. Jednak bliższa analiza wskazuje, że nie jest to prosta zależność. Okazuje się, że do stopniowego pogrubiania się otrzewnej dochodzi przede wszystkim u tych chorych, u których ostatecznie rozwija się niewydolność ultrafiltracyjna — w takich przypadkach rozwojowi włóknienia często towarzyszą zmiany naczyniowe. Z kolei u chorych dializowanych bez powikłań takie efekty występują rzadko. Oznacza to, że włóknienie otrzewnej u chorych dializowanych nie jest zjawiskiem ani uniwersalnym, ani nieuchronnym.

Do potencjalnych przyczyn takich zmian mogłyby należeć powtarzające się incydenty zapalenia otrzewnej, których liczba byłaby naturalnie większa przy dłuższym okresie terapii. Taki scenariusz sugerowały już wcześniejsze badania funkcji otrzewnej, które dowodziły, że zmniejszanie się ultrafiltracji koreluje z liczbą i nasileniem epizodów zapalenia otrzewnej [4]. Okazało się, że grubość tkanki łącznej otrzewnej u pacjentów, u których nigdy nie wystąpiło zapalenie otrzewnej, jest zdecydowanie mniejsza niż u tych chorych, którzy doświadczyli przynajmniej jednego epizodu *peritonitis* [5]. Ostatnie badania pozwoliły zdefiniować mechanizm mogący leżeć u podłoża tej zależności.

### MODELOWANIE ZAPALENIA OTRZEWNEJ

Szczególnie przydatny w badaniach nad następstwami zapalenia otrzewnej okazał się model eksperymentalny opracowany na Uniwersytecie Walijskim w Cardiff. W modelu tym zapalenie otrzewnej jest indukowane u myszy (zwykle szczepu C57/BL6) przez dootrzewnowe podanie wystandaryzowanego przesączu z hodowli bakterii *Staphylococcus epidermidis*, które stanowią częstą przyczynę zapalenia otrzewnej. Bakterie tego szczepu zostały wyizolowane z dializatu zdrenowanego od chorego z klasycznym „dializacyjnym” zapaleniem otrzewnej [6], a następnie inkubowane w określonej liczbie

i warunkach. Uzyskany supernatant (SES, *Staphylococcus epidermidis cell-free supernatant*) odfiltrowano tak, że był pozbawiony żywych drobnoustrojów, ale zachował aktywność biologiczną, mierzoną jako zdolność wywoływania sekrecji interleukiny-6 (IL-6) przez mysie makrofagi linii RAW 264. Ostatecznie, jedna standardowa dawka SES odpowiadała  $5 \times 10^4$  CFU/ml komórek bakteryjnych i stymulowała sekrecję przynajmniej 300 pg IL-6 przez  $10^4$  makrofagów [7]. Dootrzewnowe podanie takiej dawki wywoływało u myszy wyraźną, ale niezbyt silną i samoograniczającą się reakcję zapalną, która przypominała typowe bakteryjne „dializacyjne” zapalenie otrzewnej u ludzi.

Modyfikacją tego modelu był protokół eksperymentalny, w którym myszy otrzymywały 4 dootrzewnowe iniekcje SES co 7 dni (co miało imitować powtarzające się infekcje), a następstwa tej procedury oceniano po 7 tygodniach od podania pierwszej dawki [5]. Taki eksperyment przeprowadzono równolegle u myszy normalnych („dzikich”) i myszy pozbawionych eksperymentalnie genu kodującego IL-6 (IL-6<sup>-/-</sup>). Wybór IL-6 jako celu tych eksperymentów wynikał z faktu, że IL-6 odgrywa kluczową rolę w reakcji zapalnej w otrzewnej, koordynując napływ leukocytów do jamy otrzewnowej [8]. Działanie to odbywa się przez modulowanie ekspresji chemokin specyficznych dla różnych subpopulacji leukocytów i regulację procesu apoptozy granulocytów obojętnochłonnych [7, 9, 10].

### ZWIĄZEK MIĘDZY ZAPALENIEM A WŁÓKNIENIEM OTRZEWNEJ

Podobnie jak u pacjentów dializowanych, wielokrotne epizody zapalenia otrzewnej u myszy (w modelu  $4 \times$  SES) powodują nasiloną akumulację kolagenu i charakterystyczne pogrubienie tkanki łącznej otrzewnej [5]. Takich zmian nie obserwuje się u myszy IL-6<sup>-/-</sup>, co wskazuje, że proces włóknienia otrzewnej zależy w jakiś sposób od IL-6. Co ciekawe, myszy IL-6<sup>-/-</sup> nie różnią się pod względem stopnia ekspresji transformującego czynnika wzrostowego beta (TGF- $\beta$ , *transforming growth factor beta*), uważanego za główny mediator włóknienia. W związku z tym zbadano ekspresję różnych czynników transkrypcyjnych w otrzewnej, aby na tej podstawie określić, jakie szlaki sygnalizacji molekularnej biorą udział w procesie włóknienia. Stwierdzono, że pojedyncze zapalenie otrzewnej u normalnych myszy wywołuje przewidywalny i krótkotrwały wzrost aktywności czynnika

transkrypcyjnego STAT3. W następstwie kolejnych epizodów zapalenia uaktywnia się czynnik transkrypcyjny STAT1, przy czym tylko u myszy dzikich, a nie u myszy IL-6<sup>-/-</sup>. W serii oryginalnych eksperymentów wykazano następnie, że w trakcie kolejnych reakcji zapalnych nasila się ekspansja limfocytów Th1, która zależna jest od obecności IL-6. Limfocyty Th1 są głównym źródłem IFN- $\gamma$ , który działa, wykorzystując właśnie czynnik transkrypcyjny STAT1. Nasilenie ekspresji STAT1 zmniejsza z kolei aktywność proteaz macierzy pozakomórkowej (MMP, *matrix metalloproteinase*), co prowadzi do nadmiernego odkładania się macierzy pozakomórkowej i pogrubienia otrzewnej. Scenariusz taki potwierdzają obserwacje, że brak włóknienia w następstwie powtarzających się epizodów zapalenia otrzewnej występuje nie tylko u myszy IL-6<sup>-/-</sup>, ale też u myszy bez IFN- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ <sup>-/-</sup>) lub czynnika STAT1 (STAT1<sup>-/-</sup>) albo też u myszy pozbawionych dojrzałych limfocytów (Rag-1<sup>-/-</sup>). Z kolei ochronny efekt braku IL-6 zanika, jeśli podać myszom IL-6<sup>-/-</sup> związek Ro32-355, hamujący aktywność MMP. Na istnienie zależności między wielokrotnymi infekcjami, aktywnością MMP a narastającym włóknieniem otrzewnej może wskazywać również fakt, że u pacjentów z niepokwikłąną historią dializowania względna ilość jednej z proteaz (MMP3) w dializacie otrzewnowym jest większa niż u tych, którzy przebyli *peritonitis*.

Zjawiska opisane powyżej są istotne nie tylko w kontekście dializy otrzewnowej, ale mają też aspekt ogólnobiologiczny. Uważa się, że kontrolując przebieg ostrej reakcji zapalnej, IL-6 zapewnia skuteczną obronę przeciw drobnoustrojom. Nasilenie się ekspansji limfocytów Th1 (produkujących IFN- $\gamma$ ) podczas powtarzających się infekcji można postrzegać w kontekście korzyści, jakie zapewnia przejście nieswoistej odpowiedzi zapalnej w swoistą odpowiedź immunologiczną. Ubocznym efektem tego procesu może być stymulacja włóknienia tkanki przez aktywację innego szlaku sygnalizacyjnego (STAT1) i zahamowanie naturalnego cyklu budowy i degradacji macierzy pozakomórkowej. Warto odnotowania jest też profibrogenne oblicze IFN- $\gamma$ , ponieważ do tej pory IFN- $\gamma$  był postrzegany raczej (m.in. na podstawie badań włóknienia płuc, nerek i wątroby) jako inhibitor syntezy i akumulacji kolagenu [11]. Wskazuje to, że działanie IFN- $\gamma$  zależy ściśle od kontekstu patofizjologicznego i prosta ekstrapolacja wyników badań z innych narządów i układów eksperymentalnych może prowadzić do błędnych wniosków.

## PREDYSPOZYCJA GENETYCZNA DO ZMIAN WŁÓKNISTYCH W OTRZEWNEJ

Jak ogromne znaczenie ma wybór właściwego modelu eksperymentalnego, pokazują prace przeprowadzone na Uniwersytecie McMaster w Kanadzie. W badaniach tych porównano włóknienie otrzewnej u różnych szczepów myszy [12]. Proces włóknienia zainicjowano dootrzewnowym podaniem wektora wirusowego zawierającego gen TGF- $\beta$  [13]. Okazało się, że w ten sposób wywołano znaczne włóknienie u myszy szczepu C57BL/6J, mniej nasilone zmiany wystąpiły u myszy szczepów DBA/2 i C3H/HeJ, a zupełnie znikomy efekt uzyskano u myszy SJL/J. Różnice te nie wynikały z odmiennego poziomu ekspresji receptora dla TGF- $\beta$  czy z braku aktywacji ścieżki sygnalizacyjnej SMAD, typowej dla TGF- $\beta$ . Zaobserwowano natomiast różnicę w ekspresji czynnika transkrypcyjnego Snail, który ulegał indukcji u myszy C57BL/6J, ale nie u myszy SJL/J. Czynniki transkrypcyjne rodziny Snail kontrolują tak zwaną przemianę mezenchymalną komórek mezotelialnych [14]. Proces ten polega na zmianie fenotypu komórek mezotelialnych z quasi-epitelialnego na fibroblastopodobny i odgrywa ważną rolę podczas włóknienia otrzewnej. W sumie, wyniki tych badań stanowią poparcie hipotezy, że stopień nasilenia zmian strukturalnych w otrzewnej w czasie dializy wynika w pewnym stopniu ze zróżnicowania genetycznego pacjentów.

## FIBROBLASTY OTRZEWNOWE

Pogrubienie otrzewnej w czasie dializy jest odzwierciedleniem ekspansji macierzy pozakomórkowej. Głównym źródłem macierzy są miofibroblasty, czyli aktywowane fibroblasty, mające też pewne cechy fenotypowe komórek mięśni gładkich [15]. Wykazują między innymi ekspresję typową dla miocytów odmiany aktywnej ( $\alpha$ -SMA) i mają właściwości kurczliwe. Ponadto, cechują się wzmożoną proliferacją, ruchliwością i zdolnością do produkcji dużych ilości białek macierzy pozakomórkowej. Ich pochodzenie jest przedmiotem kontrowersji.

W otrzewnej — podobnie jak w innych narządach — miofibroblasty wywodzą się najprawdopodobniej z kilku źródeł. Są to w pierwszym rzędzie normalne fibroblasty osiadłe w otrzewnej, dalej — krążące fibrocyty pochodzenia szpikowego i wreszcie — komórki mezotelialne i śródbłonkowe, które przechodzą proces przemiany mezenchymalnej (EMT, *epi-*

▶▶ Włóknienie w następstwie zapalenia otrzewnej nie rozwija się u myszy pozbawionych genu dla IL-6 ◀◀

▶▶ Myszy różnych szczepów mają odmienną podatność na rozwój włóknienia otrzewnej ◀◀

▶▶Przemiana mezenchymalna komórek mezotelialnych jest jednym ze źródeł miofibroblastów pojawiających się w otrzewnej w czasie włóknienia◀◀

*thelial-to-mesenchymal transition*). Szczególne zainteresowanie w ostatnich latach budzi EMT mezotelium otrzewnego [8, 14, 16].

Pierwszym śladem istnienia EMT w otrzewnej była obserwacja, że komórki mezotelialne, które można czasami znaleźć w drenowanym dializacie, wykazują różny fenotyp: raz przypominają „brukowy” nabłonek, innym razem wyglądają jak typowe wrzecionowate fibroblasty [17]. Głównym induktorem EMT w komórkach mezotelialnych jest TGF- $\beta$ , który działa przede wszystkim (choć nie wyłącznie) za pośrednictwem białka Smad3 [18]. Wykazano, że indukcja TGF- $\beta$  w mezotelium otrzewnym szczurów stymuluje ekspresję genów regulujących EMT (m.in. czynników transkrypcyjnych rodziny Snail) [19]. W rezultacie komórki mezotelialne reorganizują swój cytoskielet, tracą typową polarność i demontują połączenia międzykomórkowe, a stają się mobilne, nabywają cech miofibroblastów i opuszczają powierzchnię otrzewnej, migrując w głąb zrębu otrzewnej [20]. Odbiciem tych przeobrażeń jest stopniowa utrata markerów nabłonkowych (np. cytokeratyny i E-kadheryny) i pojawianie się markerów charakteryzujących miofibroblasty (np. białka FSP-1 i  $\alpha$ -SMA).

O ile poznano już wiele aspektów molekularnych procesu EMT w mezotelium, to ciągle niejasny jest mechanizm, który inicjuje ten proces w przebiegu dializy. Ponieważ komórki mezotelialne o fenotypie fibroblastów są częściej wykrywane u chorych dłużej dializowanych [17], przypuszcza się, że ma to związek z ekspozycją na płyny dializacyjne lub z liczbą epizodów zapalenia otrzewnej. Okazało się na przykład, że płyny dializacyjne zawierające wysokie stężenia tak zwanych produktów degradacji glukozy mogą wywołać EMT w ludzkich komórkach mezotelium w hodowli *in vitro* i *ex vivo* [21], a także u szczurów *in vivo* [22]. Ponadto zauważono, że stężenie TGF- $\beta$  w dializacie wzrasta w następstwie zapalenia otrzewnej [23], a IL-1 $\beta$  i TNF $\alpha$ , kluczowe mediatory odczynu zapalnego, indukują ekspresję TGF- $\beta$  w mezotelium [24].

Największe doświadczenia w badaniach nad rolę EMT w otrzewnej zebrał zespół Centrum Biologii Molekularnej im. Severo Ochoa w Madrycie. W wykorzystywanym tam modelu eksperymentalnym myszom podaje się przewlekle płyn dializacyjny przez specjalnie wszczepiony cewnik dootrzewnowy [25]. Zwykle wykonuje się jedną infuzję dziennie, podając 1,5 ml roztworu o wysokim stężeniu glukozy. Aczkolwiek wprowadzony płyn diali-

zacyjny nie jest drenowany, lecz pozostawiany w otrzewnej do pełnej absorpcji, uważa się, że model ten dość wiernie odtwarza zmiany strukturalne, do których dochodzi w otrzewnej w czasie długotrwałej dializoterapii. Już po 3–5 tygodniach można stwierdzić typowe pogrubienie otrzewnej i akumulację w tkance łącznej komórek wykazujących ekspresję białka specyficznego dla fibroblastów (FSP-1). Ponieważ nerki zwierząt funkcjonują prawidłowo, powstające zmiany można przypisać ekspozycji na płyny dializacyjne, a nie np. współistniejącej mocznicy.

Wykorzystując ten model i metodę jednoczesnego znakowania komórek na obecność wybranych markerów, oszacowano udział różnych prekursorów w ekspansji fibroblastów otrzewnowych [26]. Stwierdzono, że około 35% komórek można przypisać pochodzenie mezotelialne. Udział krążących fibrocytów oszacowano na 30–35%, a komórek śródbłonka — na 5%. Pozostałe 20–25% komórek wywodzi się prawdopodobnie z osiadłych fibroblastów otrzewnowych. U zwierząt, którym jednocześnie z płynem dializacyjnym podawano dootrzewnowo peptyd blokujący aktywność TGF- $\beta$ , doszło do znacznej redukcji zgrubienia otrzewnej i zmniejszenia infiltracji śródmięszku przez komórki FSP-1<sup>+</sup>. Znamienne było przy tym to, że redukcja dotyczyła przede wszystkim komórek, które — jak przypuszczano — pochodziły z mezotelium.

Wyniki prac przeprowadzonych ostatnio na uniwersytecie w Tajpej podały w wątpliwość rolę EMT mezotelium jako źródła miofibroblastów [27]. W badaniach tych śledzono komórki wyznakowane metodą rekombinacji genetycznej. Ponieważ w takich warunkach znacznik przechodzi na komórki potomne, technika ta umożliwia lokalizację i identyfikację komórek, niezależnie od zmian, jakim mogą podlegać [28]. Badacze wyhodowali więc transgeniczne myszy, w których wyznakowali osobno normalne fibroblasty osiadłe w otrzewnej i komórki mezotelialne, a następnie badali losy tych komórek w różnych modelach włóknienia otrzewnej. Zaobserwowali, że przekształceniu w miofibroblasty, obficie produkujące kolagen, ulegały przede wszystkim normalne fibroblasty otrzewnowe, a nie komórki mezotelialne. Te ostatnie brały udział w uzupełnianiu ubytków powstałych w mezotelium po urazie. Niemniej jednak udział mezotelium w powstawaniu miofibroblastów nie został całkowicie wykluczony, ponieważ obecne możliwości techniczne pozwoliły na efektywne wyznako-

wanie tylko około 65% populacji fibroblastów otrzewnowych. Z drugiej strony obecność białka guza Wilmsa (WT-1), zastosowanego jako marker komórek mezotelialnych, wykryto też w ponad 20% komórek śródmiaższu otrzewnej. Ta ostatnia obserwacja podkreśla wagę problemu, z którym borykają się badacze biologii komórek otrzewnowych — brak wysoce swoistych i specyficznych markerów komórek mezotelialnych i fibroblastów. Jest to poniekąd wynikiem wspólnego pochodzenia mezotelium i fibroblastów z mezodermy. W sensie praktycznym ma to znaczenie o tyle, że zidentyfikowanie komórek, odpowiedzialnych w największym stopniu za rozwój zmian patologicznych w otrzewnej, może się przyczynić do stworzenia ściśle ukierunkowanej terapii. Potencjał takiego podejścia pokazano już w eksperymentach, w których wybiórcze pozabawienie myszy fibroblastów przejawiających ekspresję białka FSP-1, uchroniło je przed włóknieniem otrzewnej po urazie [29].

## PODSUMOWANIE

Według klasycznych koncepcji patologii, włóknienie jest wynikiem powtarzających się

uszkodzeń tkanki, co skutkuje przewlekłym odczynem zapalnym i niekontrolowaną reakcją naprawczą z nadmierną akumulacją macierzy pozakomórkowej [30]. Wyniki badań omówionych w niniejszym rozdziale pozwalają zrozumieć znaczenie tych postulatów w kontekście klinicznym. Rolę czynnika drażniącego mogą pełnić powtarzające się infekcje i zapalenia otrzewnej, a prawdopodobnie także ciągła ekspozycja na działanie płynów dializacyjnych o małej biozgodności. Skutkiem tego jest przewlekła reakcja zapalna, w której kluczową rolę odgrywa IL-6. Jest ona mediatorem nieadekwatnej reakcji zapalnej, której ubocznym efektem jest upośledzenie homeostazy otrzewnowej i zaburzenie równowagi między syntezą a degradacją macierzy pozakomórkowej. W połączeniu z aktywacją osiadłych fibroblastów otrzewnowych (i prawdopodobnie ich rekrutacją z innych źródeł) prowadzi to do nadmiernej akumulacji macierzy pozakomórkowej i włóknienia otrzewnej. Ostatecznym skutkiem tych zmian strukturalnych jest upośledzenie funkcji otrzewnej jako błony dializacyjnej i nieskuteczność terapii nerkozastępczej.

## STRESZCZENIE

Dysfunkcja otrzewnej, która uniemożliwia osiągnięcie adekwatnego poziomu dializowania, jest częstą przyczyną nieskuteczności dializoterapii otrzewnowej. U podłoża tej dysfunkcji leżą zmiany strukturalne, których wiodącym przejawem jest włóknienie otrzewnej. W niniejszym rozdziale przedstawiono wyniki ostatnich badań nad homeo-

stazą jamy otrzewnowej w warunkach dializy. Dotyczą one przede wszystkim konsekwencji zapalenia otrzewnej, roli interleukiny-6 (IL-6) i interferonu-gamma (IFN- $\gamma$ ) oraz pochodzenia i funkcji fibroblastów otrzewnowych.

**Forum Nefrologiczne 2015, tom 8, nr 3, 157–162**

**Słowa kluczowe: dializa otrzewnowa, ultrafiltracja, zapalenie otrzewnej, włóknienie, IL-6, IFN- $\gamma$ , miofibroblasty, przemiana mezenchymalna**

1. Davies S.J., Phillips L., Griffiths A.M. i wsp. What really happens to people on long-term peritoneal dialysis? *Kidney Int.* 1998; 54: 2207–2217.
2. Williams J.D., Craig K.J., von Ruhland C., Topley N., Williams G.T. The natural course of peritoneal membrane biology during peritoneal dialysis. *Kidney Int. Suppl.* 2003; S43–S49.
3. Williams J.D., Craig K.J., Topley N. i wsp. Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 470–479.
4. Davies S.J., Bryan J., Phillips L., Russell G.I. Longitudinal changes in peritoneal kinetics: the effects of peritoneal dialysis and peritonitis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1996; 11: 498–506.
5. Fielding C.A., Jones G.W., McLoughlin R.M. i wsp. Interleukin-6 signaling drives fibrosis in unresolved inflammation. *Immunity* 2014; 40: 40–50.
6. Mackenzie R.K., Coles G.A., Williams J.D. The response of human peritoneal macrophages to stimulation with bacteria isolated from episodes of continuous ambulatory peritoneal dialysis-related peritonitis. *J. Infect. Dis.* 1991; 163: 837–842.
7. McLoughlin R.M., Witowski J., Robson R.L. i wsp. Interplay between IFN-gamma and IL-6 signaling governs neutrophil trafficking and apoptosis during acute inflammation. *J. Clin. Invest.* 2003; 112: 598–607.
8. Devuyst O., Margetts P.J., Topley N. The pathophysiology of the peritoneal membrane. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; 21: 1077–1085.
9. McLoughlin R.M., Jenkins B.J., Grail D. i wsp. IL-6 trans-signaling via STAT3 directs T cell infiltration in acute inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 9589–9594.

## Piśmiennictwo

10. Hurst S.M., Wilkinson T.S., McLoughlin R.M. i wsp. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001; 14: 705–714.
11. Ghosh A.K. Factors involved in the regulation of type I collagen gene expression: implication in fibrosis. *Exp. Biol. Med.* 2002; 227: 301–314.
12. Margetts P.J., Hoff C., Liu L. i wsp. Transforming growth factor beta-induced peritoneal fibrosis is mouse strain dependent. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2013; 28: 2015–2027.
13. Margetts P.J., Kolb M., Galt T. i wsp. Gene transfer of transforming growth factor-beta1 to the rat peritoneum: effects on membrane function. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001; 12: 2029–2039.
14. Aroeira L.S., Aguilera A., Sanchez-Tomero J.A. i wsp. Epithelial to mesenchymal transition and peritoneal membrane failure in peritoneal dialysis patients: pathologic significance and potential therapeutic interventions. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 18: 2004–2013.
15. Hu B., Phan S.H. Myofibroblasts. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2013; 25: 71–77.
16. Liu Y., Dong Z., Liu H. i wsp. Transition of mesothelial cell to fibroblast in peritoneal dialysis: EMT, stem cell or bystander? *Perit. Dial. Int.* 2015; 35: 14–25.
17. Yanez-Mo M., Lara-Pezzi E., Selgas R. i wsp. Peritoneal dialysis and epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 403–413.
18. Patel P., Sekiguchi Y., Oh K.H. i wsp. Smad3-dependent and -independent pathways are involved in peritoneal membrane injury. *Kidney Int.* 2010; 77: 319–328.
19. Margetts P.J., Bonniaud P., Liu L. i wsp. Transient overexpression of TGF-beta1 induces epithelial mesenchymal transition in the rodent peritoneum. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16: 425–436.
20. Jimenez-Heffernan J.A., Aguilera A., Aroeira L.S. i wsp. Immunohistochemical characterization of fibroblast subpopulations in normal peritoneal tissue and in peritoneal dialysis-induced fibrosis. *Virchows Arch.* 2004; 444: 247–256.
21. Fernandez-Perpen A., Perez-Lozano M.L., Bajo M.A. i wsp. Influence of bicarbonate/low-GDP peritoneal dialysis fluid (Bica-Vera) on in vitro and ex vivo epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *Perit. Dial. Int.* 2012; 32: 292–304.
22. Hirahara I., Ishibashi Y., Kaname S., Kusano E., Fujita T. Methylglyoxal induces peritoneal thickening by mesenchymal-like mesothelial cells in rats. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; 24: 437–447.
23. Lai K.N., Lai K.B., Lam C.W. i wsp. Changes of cytokine profiles during peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am. J. Kidney Dis.* 2000; 35: 644–652.
24. Margetts P.J., Kolb M., Yu L. i wsp. Inflammatory cytokines, angiogenesis, and fibrosis in the rat peritoneum. *Am. J. Pathol.* 2002; 160: 2285–2294.
25. Aroeira L.S., Lara-Pezzi E., Loureiro J. i wsp. Cyclooxygenase-2 mediates dialysate-induced alterations of the peritoneal membrane. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 20: 582–592.
26. Loureiro J., Aguilera A., Selgas R. i wsp. Blocking TGF-beta1 protects the peritoneal membrane from dialysate-induced damage. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 22: 1682–1695.
27. Chen Y.T., Chang Y.T., Pan S.Y. i wsp. Lineage tracing reveals distinctive fates for mesothelial cells and submesothelial fibroblasts during peritoneal injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014; 25: 2847–2858.
28. Kretzschmar K., Watt F.M. Lineage tracing. *Cell* 2012; 20: 148: 33–45.
29. Okada H., Inoue T., Kanno Y. i wsp. Selective depletion of fibroblasts preserves morphology and the functional integrity of peritoneum in transgenic mice with peritoneal fibrosing syndrome. *Kidney Int.* 2003; 64: 1722–1732.
30. Wynn T.A., Ramalingam T.R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat. Med.* 2012; 18: 1028–1040.