

# Μεμβράνες αιμοκάθαρσης: βιολογικές αλληλεπιδράσεις και κλινικά αποτελέσματα

---

Δρ Ιωάννης Γ. Γριβέας

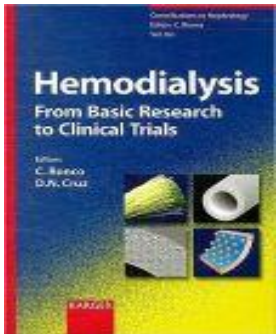


Νεφρολογικό Φόρουμ

«Μεμβράνες Αιμοκάθαρσης: Δομή και Προβλέψεις»



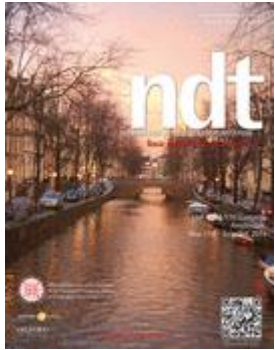
# ΑΜΥΝΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ



- Η θεραπεία υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας με αιμοκάθαρση απαιτεί την χρήση «ξένων» υλικών, όπως οι μεμβράνες, τα οποία όμως με τη σειρά τους επηρεάζουν αρνητικά το ανοσοποιητικό σύστημα.
- Η παθοφυσιολογία της μοναδικής σχέσης μεταξύ λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, της ουραιμίας και της διαδικασίας της αιμοκάθαρσης απαιτεί έρευνα σε βάθος, ώστε να είναι αποτελεσματικές οι οποιεσδήποτε θεραπευτικές παρεμβάσεις.



Αλληλουχία βιολογικών γεγονότων στην πορεία από το φυσιολογικό στο παθολογικό. Όταν έρθει ο οργανισμός σε επαφή με ένα παθογόνο παράγοντα (βακτήριο, ιός, φυσικός ή χημικός εισβολέας, αλλεργιογόνος, τοξικός ή οποιοσδήποτε παράγοντας «ξένος» προς τον οργανισμό) η βιολογία του αλλάζει ή τροποποιείται.



Όταν ακολούθως απαιτηθεί κάποιας μορφής θεραπεία (αντιβίωση για βακτήριο) τότε μιλάμε για θεραπευτική κλινική βιολογία.

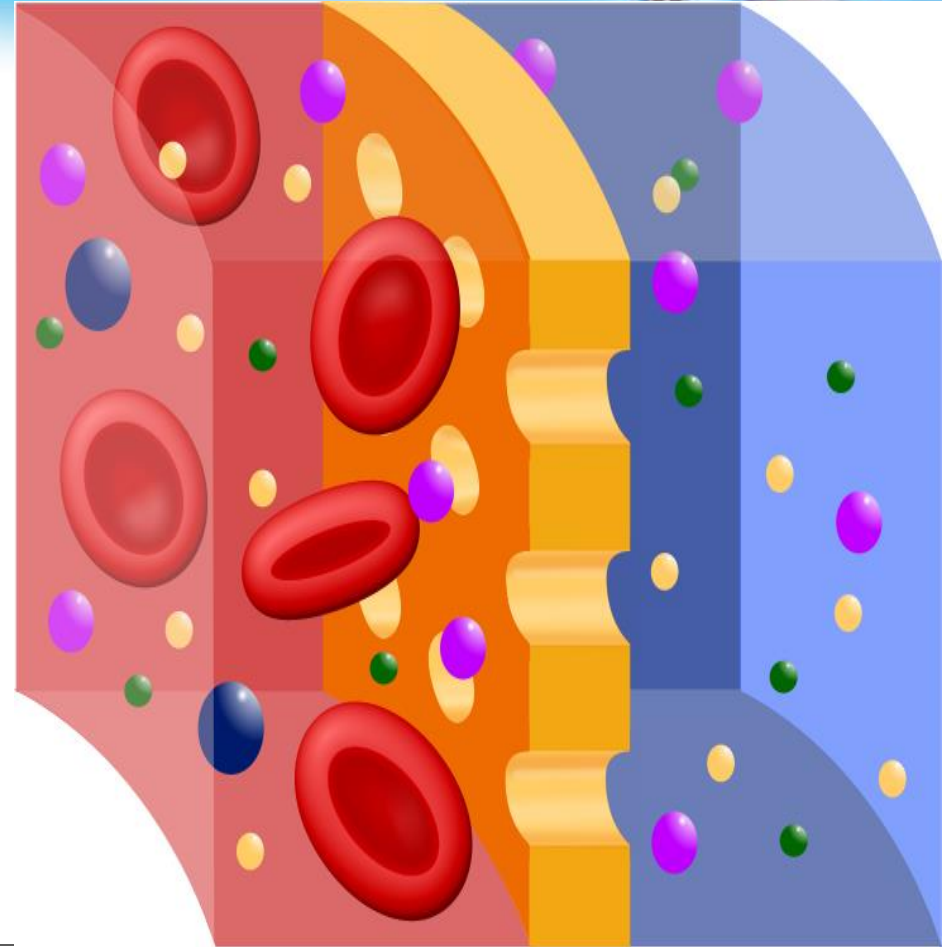
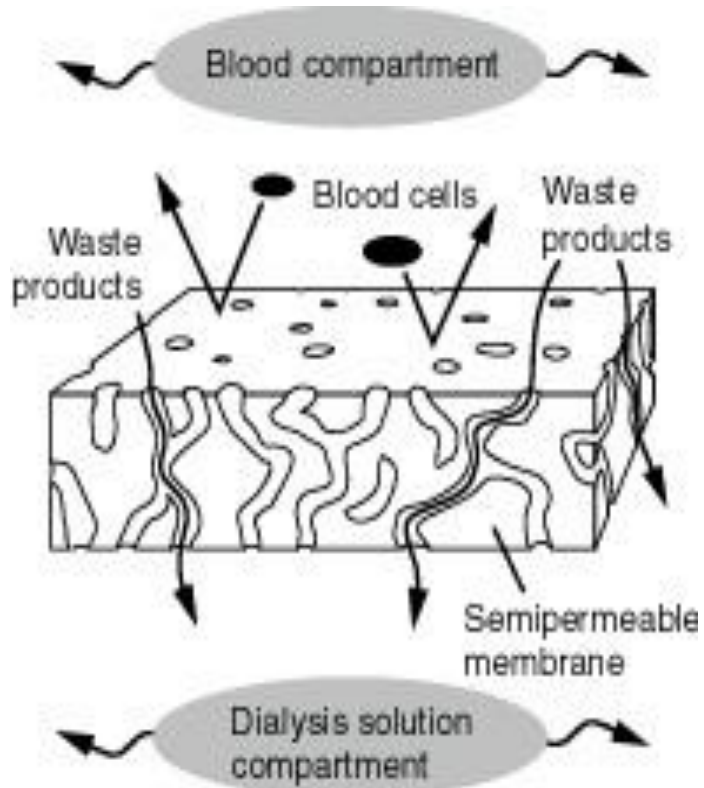
Critical Thinking

-  
Inside a

Dialysis Machine

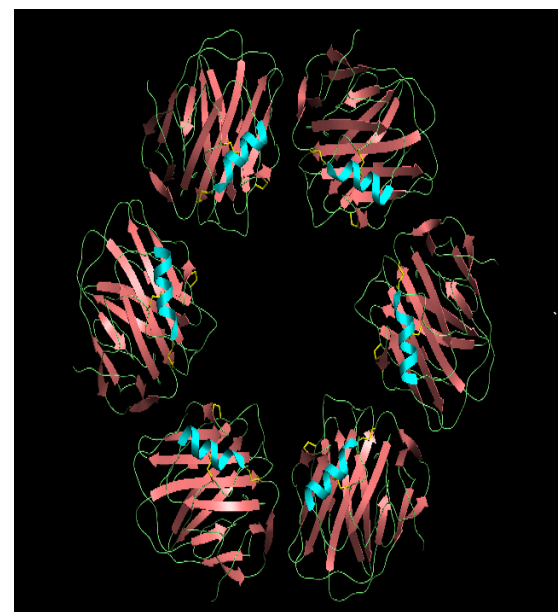
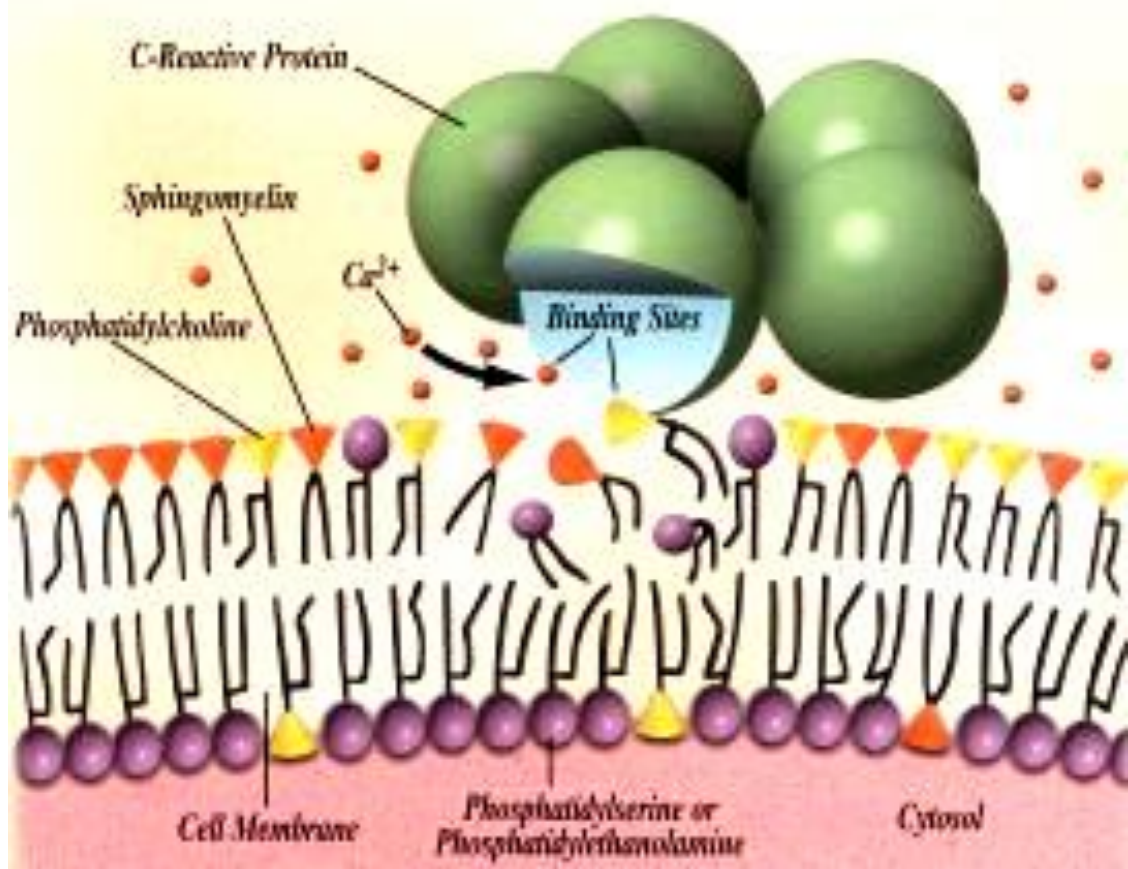


# ΚΛΙΝΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

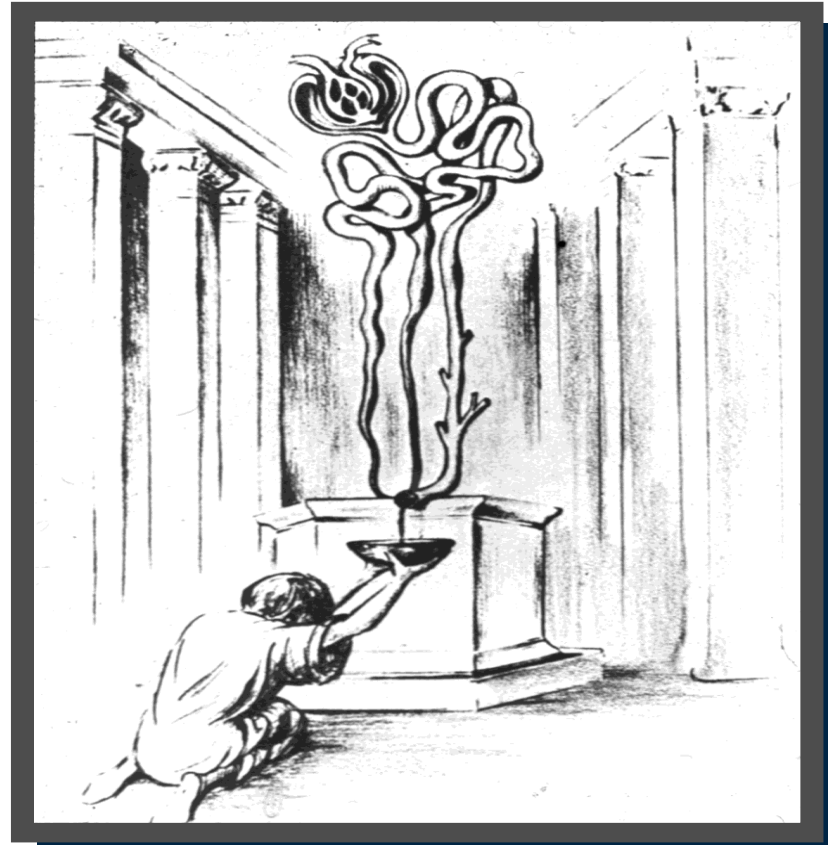


Stefoni s, La Manna G, Perna c, et al. *Clinical biology of artificial organ substitution. Nephrol Dial Transplant* 1998;13:51-54.



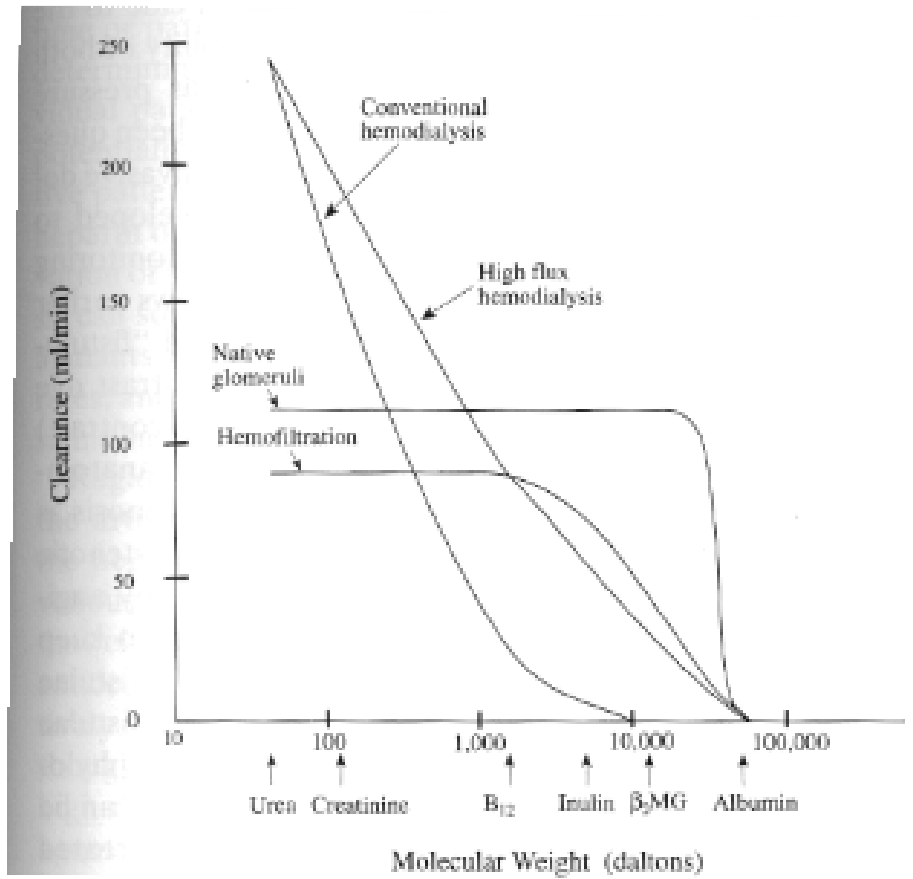
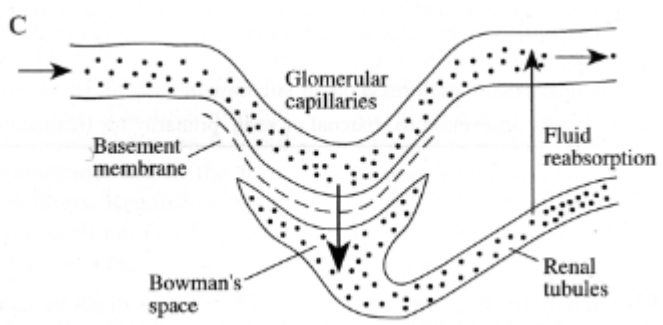


# Kidney Function





# Kidney Function



## Τι είναι η βιοσυμβατότητα;



- Κάθε μεμβράνη χαρακτηρίζεται από την **απόδοσή της**, την ικανότητά της δηλαδή να απομακρύνει ουραιμικές τοξίνες και υγρά από τον ανθρώπινο οργανισμό, χωρίς την απώλεια απαραίτητων ουσιών, και από την **βιοσυμβατότητα** της, δηλαδή την ικανότητά της να προκαλεί τις λιγότερες δυνατές ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις κατά την επαφή της με τα στοιχεία του αίματος.
- Η ιδανική μεμβράνη ΑΜΚ έχει υψηλή απόδοση και πολύ καλή βιοσυμβατότητα.

# Τι είναι η βιοσυμβατότητα;

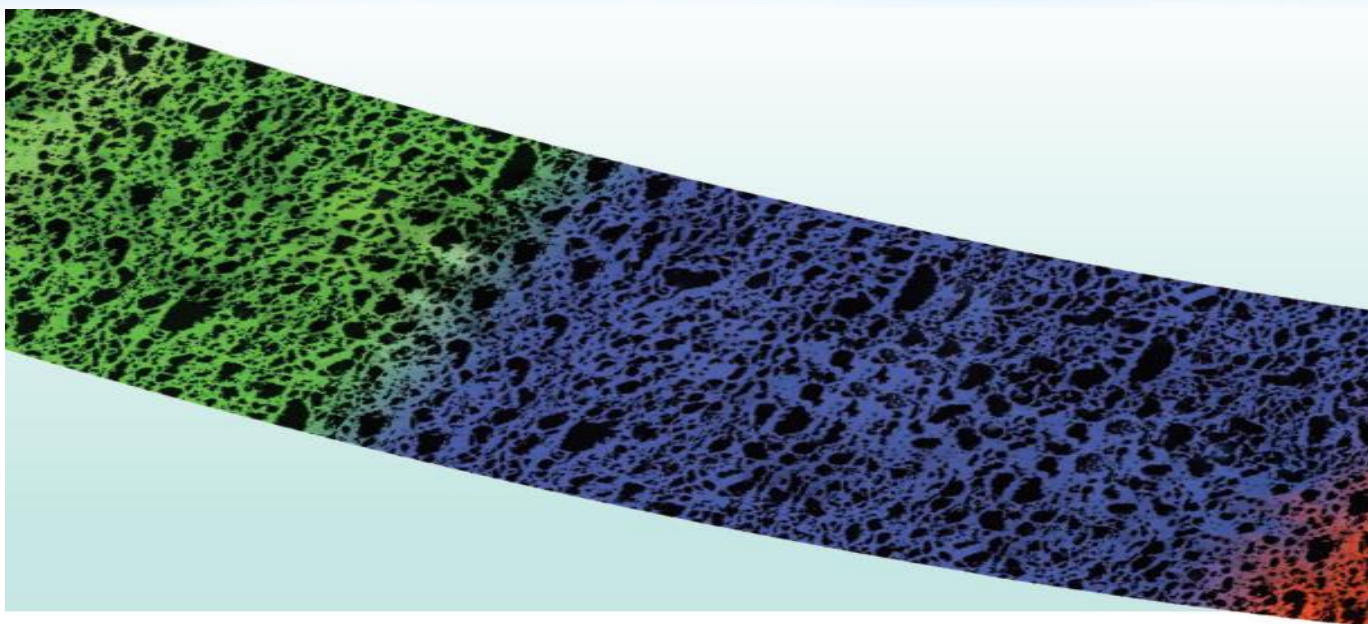


➤ Το θέμα της βιοσυμβατότητας μπορεί να διαχωρισθεί σε δύο ειδών αλληλεπιδράσεις:

- α) την αλληλεπίδραση αίματος και μεμβράνης στο σύστημα εξωσωματικής κυκλοφορίας και
- β) την αλληλεπίδραση αίματος και ενδοθηλίου.

➤ Ο διαχωρισμός αυτός υπενθυμίζει ότι μόνο όταν η αλληλεπίδραση αίματος-ενδοθηλίου διαταραχθεί γίνονται αντιληπτές οι όποιες διαταραχές από την αλληλεπίδραση αίματος-μεμβράνης αιμοκάθαρσης.



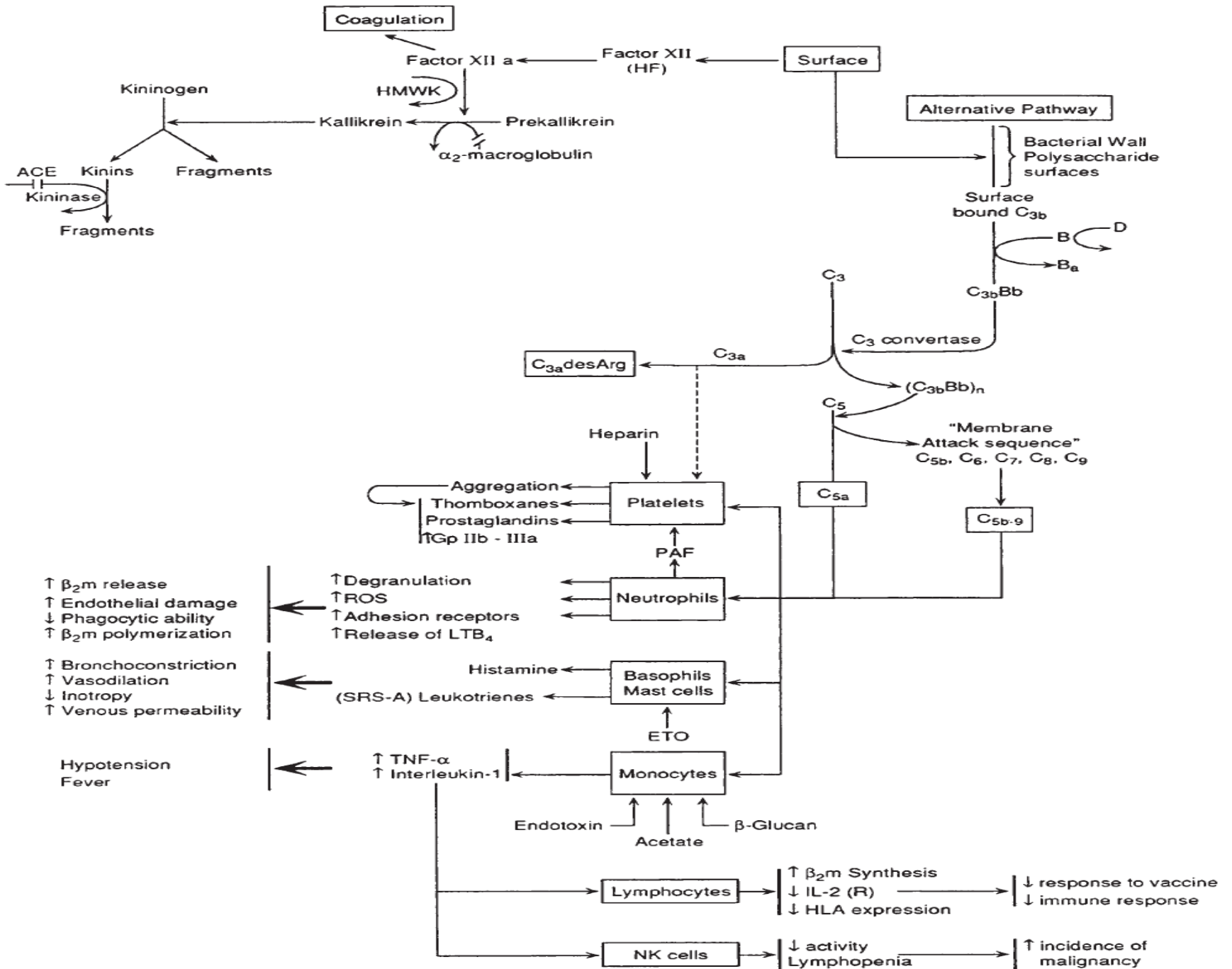


- › Key features of high performance membrane dialyzers
- › Influence of design and chemical composition on membrane performance
- › Influence of membrane characteristics on clinical status
- › Consideration of membrane features as part of the hemodialysis prescription



# Δείκτες Βιοσυμβατότητας

- Ενεργοποίηση συμπληρώματος
- Ενεργοποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων
- Ενεργοποίηση της πήξης
- Ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων
- Ενεργοποίηση μονοκυττάρων
- Λεμφοκύτταρα



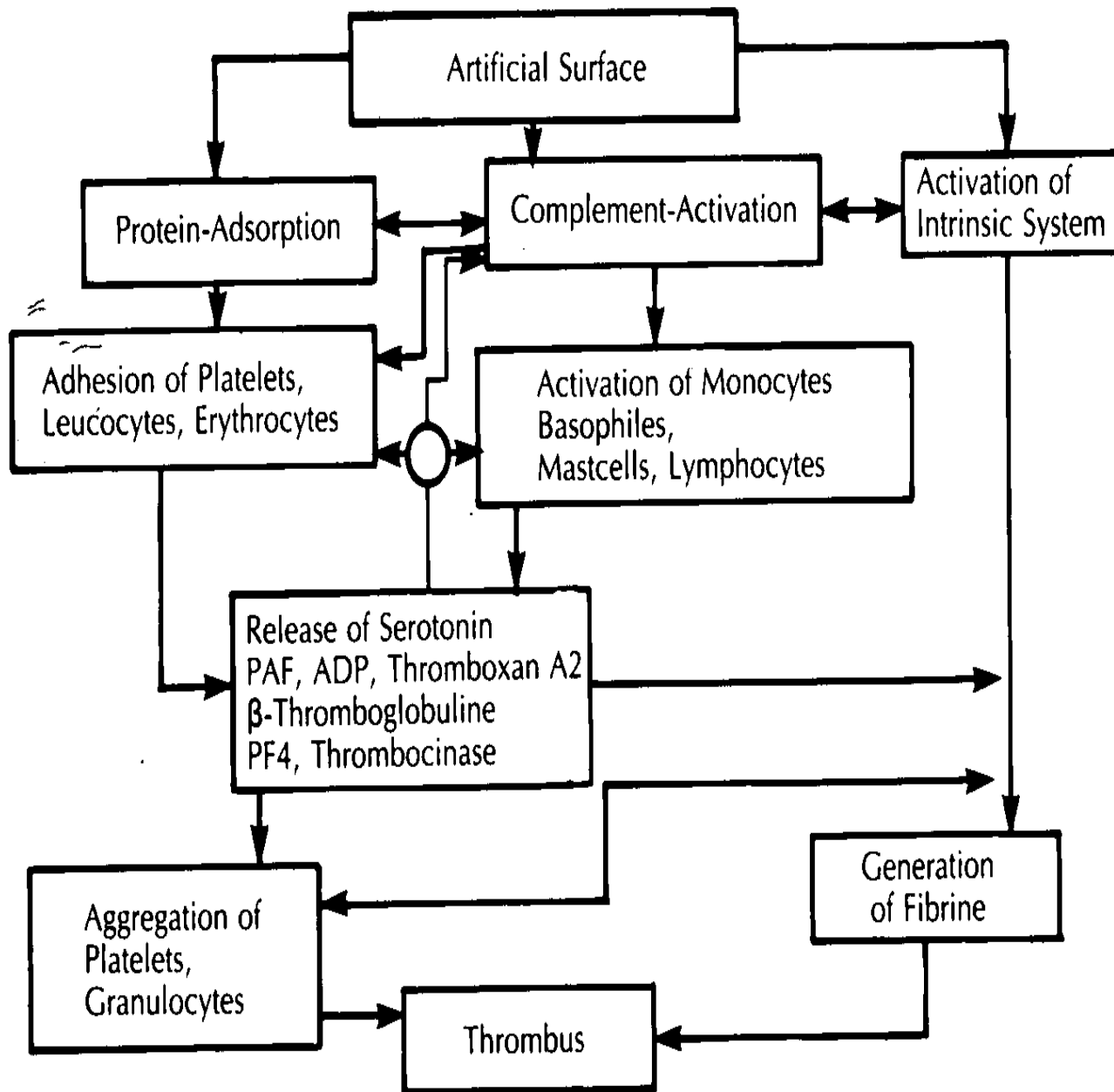


Fig. 1.—Blood material interface reaction.

## Clinical implications of hemodialysis membrane biocompatibility



**Table 1.** Types of hemodialysis membranes

| Membrane type                 | Membrane structure   |
|-------------------------------|--|
| <b>Cellulosic</b>             |  |
| Cellulose                     | Polysaccharide units with hydroxyl groups formed from cotton fibers        |
| <b>Derivatized cellulosic</b> |  |
| Cellulose acetate             | Cellulose with 4 out of 5 hydroxyl groups replaced with acetate            |
| <b>Hemophane</b>              | Cellulose with 1.5% hydroxyl groups replaced by diethylaminoethyl radicals |
| <b>Synthetic polymers</b>     |  |
| Polyetherpolycarbonate        | Hydrophilic synthetic  |
| Ethylvinyl alcohol            | Hydrophilic synthetic  |
| Polysulfone (PS)              | Hydrophobic synthetic  |
| Polyamide                     | Hydrophobic synthetic  |
| Polymethylmethacrylate (PMMA) | Hydrophobic synthetic  |
| Polyacrylonitrile (PAN)       | Hydrophobic synthetic  |

**Table 2.** Sequelae of complement activation (alternative pathway)

1. Release of anaphylatoxins (C3a, C5a) leading to:
  - Smooth muscle contraction
  - Increased vascular permeability
  - Release of histamine from mast cells
2. Formation of membrane attack complex (C5b-9)
3. Activation of neutrophils
  - Degranulation and release of granulocyte enzymes (such as, proteases)
  - Production of reactive oxygen species (ROS)
  - Increased expression of adhesion receptors
  - Enhanced arachidonic acid metabolism (LTB<sub>4</sub>) and PAF
4. Activation of monocytes
  - Increased transcription of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$

**Table 3.** Surface potential of hemodialysis membrane<sup>a</sup>

| Membrane          | Charge |
|-------------------|--------|
| Cuprophane®       | ~0     |
| Cellulose acetate | -3.4   |
| Polyacrylonitrile | -153.9 |

<sup>a</sup> Methylene blue dye method

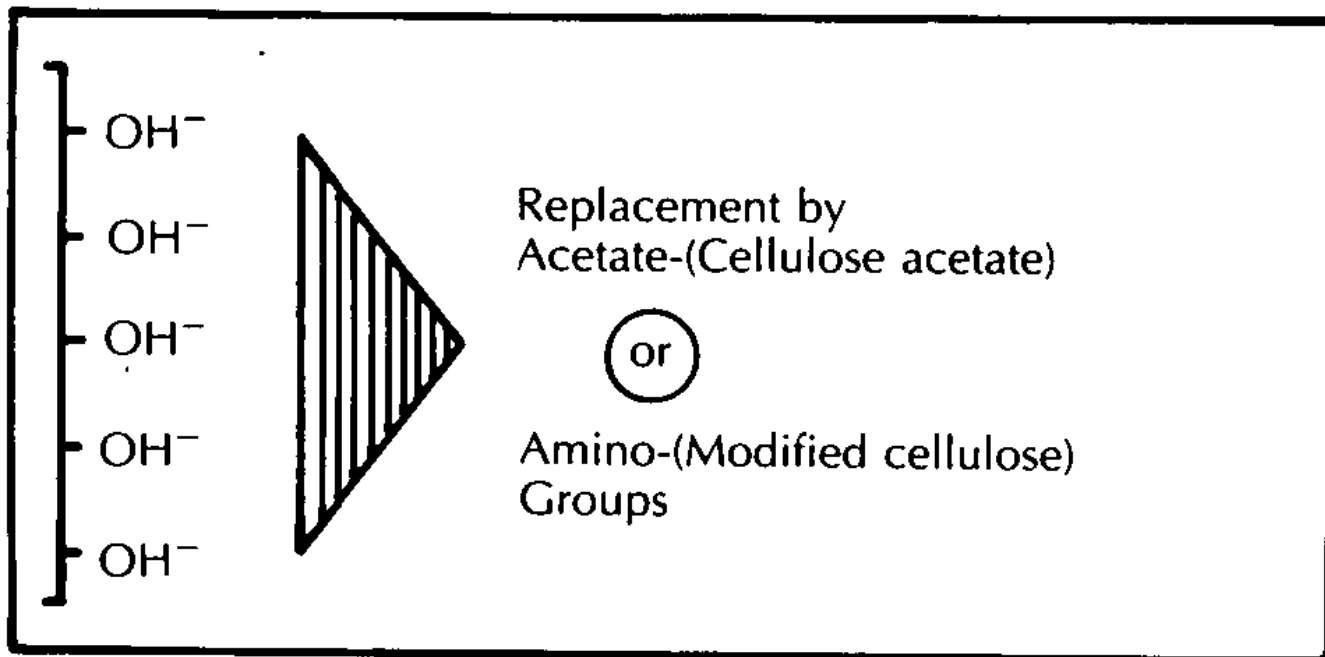


Fig. 2.—Membrane modification.

## EDITORIALES

### *Clinical relevance of biocompatibility. «The material cannot be divorced from the device»*

H. Klinkmann (1), D. Falkenhagen (1) and J. H. Courtney (2)

(1) Klinik für Innere Medizin, W-Pieck University Rostock, República Democrática de Alemania. (2) Bioengineering Unit, University of Strathclyde, Glasgow, Reino Unido.



---

## Table I. Definition of biocompatibility

---

### **Biocompatibility**

- No: — Thrombogenic toxic, allergic, inflammatory reaction.  
— Destruction of formed elements.  
— Changes in plasma-proteins and enzymes.  
— Immunologic reactions.  
— Carcinogenic effect.  
— Deterioration of adjacent tissues.
-

## EDITORIALES

*Clinical relevance of biocompatibility. «The material cannot be divorced from the device»*

H. Klinkmann (1), D. Falkenhagen (1) and J. H. Courtney (2)

(1) Klinik für Innere Medizin, W-Pieck University Rostock, República Democrática de Alemania. (2) Bioengineering Unit, University of Strathclyde, Glasgow, Reino Unido.



---

# Table IV. Direct biological activity of complement activation

---

Releasing of

- Biological active substances from cell granules.
- Thrombokinase from platelets.
- Lysosomal enzymes from granulocytes and B-lymphocytes (collagenase, elastase).

Opsonization of bacteria and viruses.

Immune adherence of neutrophils, monocytes, B-lymphocytes and macrophages.

Stimulation of antibody production of lymphocytes.

Membrane analysis of bacteria, viruses, tumor and endothelial cells.

---

## EDITORIALES

### *Clinical relevance of biocompatibility. «The material cannot be divorced from the device»*

H. Klinkmann (1), D. Falkenhagen (1) and J. H. Courtney (2)

(1) Klinik für Innere Medizin, W-Pleick University Rostock, República Democrática de Alemania. (2) Bioengineering Unit, University of Strathclyde, Glasgow, Reino Unido.



### Table VIII. Main factors influencing the biocompatibility of a dialyzer

#### Biocompatibility of a dialyzer:

- Membrane.
- Sterilization.
- Flow-geometry.
- Material.
- ?
- ?

### Table VII. Influence of different dialysis membranes and anticoagulants on beta-thromboglobulin (BTG) release

| Membrane  | Anticoagulant        | BTG (ng/ml.) |        |        |
|-----------|----------------------|--------------|--------|--------|
|           |                      | 3 min.       | 6 min. | 9 min. |
| Cuprophan | None                 | 70           | 101    | 154    |
| Cuprophan | Heparin (1 IU/ml.)   | 89           | 102    | 103    |
| Cuprophan | Citrate (15 mmol/l.) | 42           | 40     | 37     |
| An 695    | None                 | 74           | 105    | 205    |
| An 695    | Heparin (1 IU/ml.)   | 61           | 71     | 85     |
| An 695    | Citrate (15 mmol/l.) | 44           | 38     | 48     |



- ▲ Hemophan®
- Cuprophan®
- Cellulose acetate

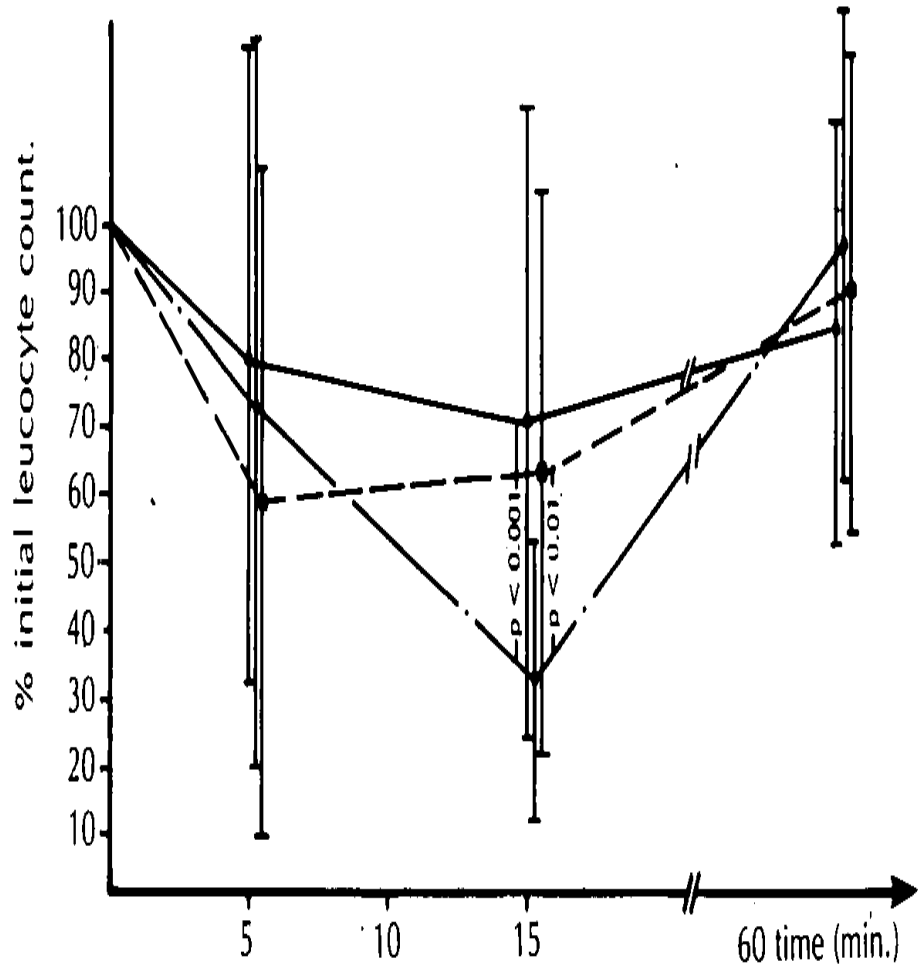


Fig. 3.—Comparison of WBC Count (total 85) during dialysis in 3 different cellulosic membranes.

## EDITORIALES

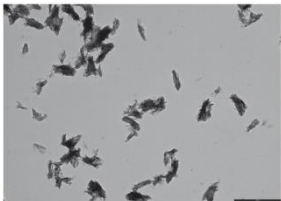
# Clinical relevance of biocompatibility. «The material cannot be divorced from the device»

H. Klinkmann (1), D. Falkenhagen (1) and J. H. Courtney (2)

(1) Klinik für Innere Medizin, W-Pieck University Rostock, República Democrática de Alemania. (2) Bioengineering Unit, University of Strathclyde, Glasgow, Reino Unido.

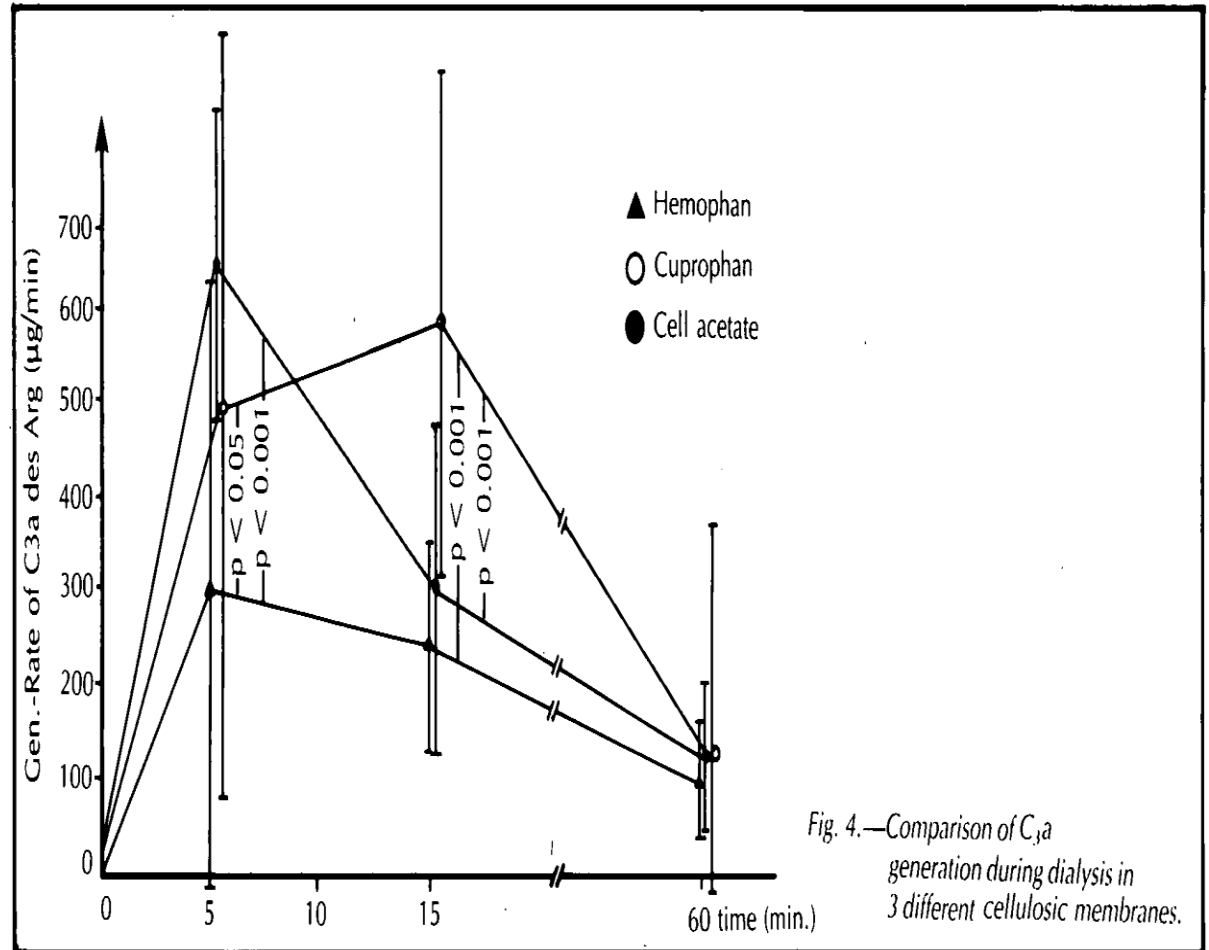


INDEXED BY ISI/BIOM, MEDLINE, EMBASE, IME, BICEL, SCIELO  
**nefrología**  
VOLUMEN 24 - NÚMERO 1 - 2014



TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2 EN EL PACIENTE CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.  
VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS NIVEL SERICOS DEL RECEPTOR SOLUBLE DE LA UROKINAASA.  
CRANIALCET TRAS EL TRASPLANTE RENAL.  
DIÁLISIS PERITONEAL EN ESPAÑA.  
MICROHEMATURIA PERSISTENTE CON PROTEINURIA NEGATIVA

Asociación Española de Nefrología  
Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología  
Versión Integrada y español en [www.revistanefrologia.com](http://www.revistanefrologia.com)



# ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ



- α) υπάρχουν πολλά συστήματα αξιολόγησης της βιοσυμβατότητας των μεμβρανών ΑΜΚ που κάθε ένα από αυτά έχει μειονεκτήματα,
- β) δεν υπάρχουν πολλές μελέτες που να συγκρίνουν μεγάλο αριθμό μεμβρανών μεταξύ τους,
- γ) για λόγους τεχνικούς οι μελέτες αυτές δεν έχουν μεγάλο αριθμό αρρώστων,
- δ) η εκτίμηση του «φαινομένου» βιοσυμβατότητα και η επίδραση του στην κλινική κατάσταση των ασθενών δεν είναι πλήρως κατανοητό στην ολότητα του και
- ε) ως φαινόμενο η βιοσυμβατότητα δεν είναι μονοσήμαντο και επομένως τα όποια συμπεράσματα σε πολλές περιπτώσεις ελέγχονται.

# Ο ρόλος των CD14<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> στην βιοσυμβατότητα μεμβρανών αιμοκάθαρσης



- Οι περισσότερες μελέτες, προκειμένου να μελετήσουν το φαινόμενο της βιοσυμβατότητας, εστιάζονται στην παθοφυσιολογία των πολυμορφοπυρήνων κατά τη διάρκεια της συνεδρίας αιμοκάθαρσης.
- Ωστόσο η διαδικασία της ΑΜΚ επηρεάζει κατεξοχήν τα μονοκύτταρα τα οποία σε πολλές περιπτώσεις έχουν τα ίδια μόρια προσκόλλησης με τα πολυμορφοπύρηνα (CD11b, CD11c κ.α.).



Alvarez V, Pulido R, Campanero M, et al. Differentially regulated surface expression of leukocyte adhesion receptors on neutrophils. *Kidney Int* 1991;40:889-905.

- Τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος δεν είναι ένας ομοιογενής πληθυσμός, αλλά διακρίνεται σε διάφορους υποπληθυσμούς ανάλογα με τους μεμβρανικούς δείκτες, που καθένας από αυτούς φέρει.
- Η μεγάλη πλειοψηφία των μονοκυττάρων (90%) είναι θετικά στον δείκτη CD14<sup>+</sup> (μία γλυκοπρωτεΐνη 55Kd) και αρνητικά στον δείκτη CD16<sup>+</sup>.
- Μεμονωμένες βιβλιογραφικές αναφορές αξιολογούν την βιοσυμβατότητα των μεμβρανών αιμοκάθαρσης με βάση το CD14<sup>+</sup> και τη σχέση του με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος.



Nochher WA, Scherberich JE. Monocyte cell-surface CD14 expression and soluble CD14 antigen in hemodialysis: Evidence for chronic exposure to LPS. *Kidney Int* 1995;48:1469-1476.



- Ένας μικρός υποπληθυσμός εκφράζεται ταυτόχρονα με τον δείκτη Fc III (CD16<sup>+</sup>) και τον αντιγονικό υποδοχέα της λιποπολυσακχαρίδης (LPS) γνωστό ως CD14<sup>+</sup>.
- Τα κύτταρα αυτά περιγράφονται ως CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> μονοκύτταρα.
- Σε υγιή πληθυσμό ο υποπληθυσμός των CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> μονοκυττάρων αντιπροσωπεύει περίπου το 7-10% του συνόλου των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος.



- Η επαφή στοιχείων του αίματος με τη μεμβράνη αιμοκάθαρσης ενεργοποιεί τα μονοκύτταρα για να εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, ενώ ο υποπληθυσμός CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> παρουσιάζει χαρακτηριστική ελάττωση στην περιφερική κυκλοφορία τα πρώτα λεπτά της αιμοκάθαρσης.



*Sester U, Sester M, Kaul H, Girndt M, Kohler H. Strong depletion of CD14+CD16+ monocytes during haemodialysis treatment. Nephrol Dial Transplant 2001;16:1402-1408.*

- Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος και η παραγωγή αναφυλατοξινών C3a και C5a φαίνεται να έχει σημαίνοντα ρόλο.

*Ando M, Lundkvist I, Bergstrom J, Lindholm B. Enhanced scavenger receptor expression in monocyte-macrophages in dialysis patients. Kidney Int 1996;49:773-780.*

- Το φαινόμενο αυτό όμως δεν μπορεί να ερμηνευθεί μόνο από τις παραπάνω διεργασίες, αφού υπάρχουν μελέτες που το περιγράφουν σε συνεδρίες ΑΜΚ με συνθετικές μεμβράνες, οι οποίες όπως είναι γνωστό ενεργοποιούν πολύ λιγότερο το σύστημα του συμπληρώματος.
- Επιπρόσθετα, ο υποπληθυσμός  $CD14^+CD16^+$  είναι λιγότερο ευαίσθητος στην επίδραση του συμπληρώματος εξαιτίας του μικρότερου αριθμού υποδοχέων που φέρει ( $CD11b/CD18$ ,  $CD35$ ).



Mege JL, Capo C, Purgus R, Olmer M. Monocyte activation of transforming growth factor  $\beta$  in long-term hemodialysis: Modulation by hemodialysis membranes. *Am J Kidney Disease* 1996;3:395-399.





- Εκτός από το σύστημα του συμπληρώματος, ευθύνεται η απευθείας ενεργοποίηση των μονοκυττάρων από την επαφή τους με την μεμβράνη του φίλτρου και η ύπαρξη βακτηριακών ενδοτοξινών στο διάλυμα της αιμοκάθαρσης.



*Balakrishan VS, Jaber BL, Natov SN, et al. Interleukin-1 receptor antagonist synthesis by peripheral blood mononuclear cells in hemodialysis patients. Kidney Int 1998;54:2106-2112.*

- Κατά τη διάρκεια μίας 'τοπικής φλεγμονώδους διαδικασίας', που είναι στην ουσία το φαινόμενο που περιγράψαμε, μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα εμφανίζονται την ίδια στιγμή στην ίδια περιοχή.
- Ιδιαίτερα τα ωριμότερα μονοκύτταρα, που έχουν αυξημένα ποσά μορίων προσκόλλησης, παγιδεύονται παρατεταμένα στην πνευμονική κυκλοφορία και αργούν να επανέλθουν στην συστηματική κυκλοφορία σε σχέση με τα ανώριμα.



*Gabriel HH, Kindermann W. Adhesion molecules during immune response to exercise. Can J Physiol Pharmacol 1998 ;76 :512-523.*



- Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι η παγίδευση των μονοκυττάρων στην πνευμονική κυκλοφορία σπάνια διαρκεί περισσότερο από τον χρόνο ενεργοποίησης του συμπληρώματος (περίπου 120 λεπτά).
- Το γεγονός όμως ότι τα μονοκύτταρα επιστρέφουν στην συστηματική κυκλοφορία με αυξημένη έκφραση των μορίων προσκόλλησης CD11b, CD11c και CD86, δείχνει ότι το σύστημα ενεργοποίησης των μονοκυττάρων αποτελεί έναν από τους ενοχοποιητικούς παράγοντες του φαινομένου της 'χρόνιας φλεγμονής'.





- ✓ Αφού η παγίδευση του  $CD14^+CD16^+$  υποπληθυσμού των μονοκυττάρων αποτελεί ευαίσθητο δείκτη επίδρασης της εξωσωματικής κυκλοφορίας στα μονοκύτταρα, είναι λογικό να μπορεί να αποτελεί δείκτη και για τη βιοσυμβατότητα των μεμβρανών ΑΜΚ.

CLINICAL STUDY

**Biocompatibility Study Based on Differential Sequestration Kinetics of CD14+CD16+ Blood Monocyte Subsets with Different Dialyzers**

Ioannis Griveas, George Visvardis, and George Sakellariou  
Nephrology Department, Papageorgiou General Hospital, Thessaloniki, Greece

Pleomnis Passadakis, Elias Thodis, and Vasilios Vargemezis  
Nephrology Department, Medical School of University of Thess, Alexandropolis, Greece

Aikaterini Pavlitou and Aleka Fleva  
Immunology Department, Papageorgiou General Hospital, Thessaloniki, Greece

The immune defect in hemodialysis (HD) patients is associated with a monocyte dysfunction, including an increase in the production of proinflammatory cytokines. Blood membrane contact leads to an increase in cellular activation and sequestration into the capillary bed of the lung. The influence of the sequestration on the number of mature monocytes was studied by analyzing the fate of monocytes, particularly, the CD14+CD16+ subpopulation, during HD treatment.

In thirty stable HD patients, the distinct cell populations were determined by differential blood counts and flow cytometry. Patients with diabetes or systemic vasculitis, those showing evidence of infectious complications or malignancy, or those taking immunosuppressive medications were excluded from the study. Cells from this study population were analyzed before the start, 30 min thereafter, and at the end of HD treatment, each time using a different dialyzer: hemophan, methylmethacrylate (PMMA), triacetate membrane, cuprophane/vitamin E, acrylonitrile, and sodium methylsulfonate polymer (AN69).

The CD14+CD16+ subset decreased at 30 min and remained suppressed for the course of dialysis. To examine whether currently used biocompatible membranes differ in their effect on the sequestration of monocyte subpopulations, temporal monocytic changes were comparatively analyzed during HD with a different dialyzer. The drop in the first 30 min until the end of HD treatment was significant ( $p < 0.05$ ), very uniform, and sharp in all patients, and was independent upon membrane type.

The CD14+CD16+ monocyte subpopulation showed increased and longer margination from the blood circulation during HD. Given the fact that CD14+CD16+ monocytes represent a sensitive marker for inflammation or cellular activation, the

depletion of these cells may offer an easily accessible parameter that is more sensitive than complement activation for biocompatibility studies on forthcoming, improved dialyzer membranes.

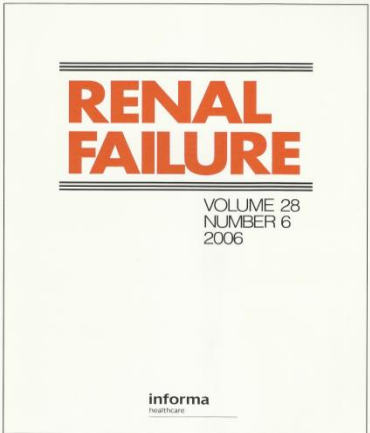
**Keywords** biocompatibility, CD14+CD16+ monocytes, hemodialysis, dialyzers

INTRODUCTION

Since its early observation in the first minutes of hemodialysis (HD) by Kaptow and Goffinet,<sup>[1]</sup> the issue of transient leukopenia has undergone extensive investigation. Several studies have shown that neutropenia and monocytopenia take place during HD procedures when cellulose membranes are used.<sup>[2–5]</sup> Leukocyte margination and adhesion is associated with complement activation during HD with cellulose dialyzers such as cuprophane. During the HD process, the direct contact of plasma with the dialyzer membrane initiates the alternative pathway of complement activation, leading to the generation of the active peptides C3a and C5a, which can then induce responses in neutrophils.<sup>[6,7]</sup> However, synthetic membranes that show a higher biocompatibility (e.g., polyacrylonitrile) markedly reduced complement and granulocyte activation as well as subsequent granulocytopenia.<sup>[3,8]</sup>

Most studies have focused on the pathophysiology of granulocytes during HD. However, the HD process also influences monocytes. In addition, monocytes also express many of the same complement and adhesion receptors expressed by neutrophils (e.g., CD11b and CD11c). It has been suggested that neutrophils and monocytes are activated during dialysis even before they pass the dialyzer.

Address correspondence to I. Griveas, Kleantesou 10, 54642, Thessaloniki, Greece; Tel: 00302310693270; Fax: 00302310693270; E-mail: giannisgriv@hotmail.com





| <b>ΟΝΟΜΑΣΙΑ</b><br>(Αποστείρωση)                                 | <b>ΟΓΚΟΣ</b><br>(ml) | <b>ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ</b><br>(m <sup>2</sup> ) | <b>ΠΑΧΟΣ</b><br>(μ) | <b>UF</b><br>(ml/mmHg/hr) |
|--|----------------------|---------------------------------------|---------------------|---------------------------|
| <b>1. Αιμοφάνη (GFS-PLUS 16)</b><br>Ατμός                        | 95                   | 1,7                                   | 8                   | 9,4                       |
| <b>2. Κουπροφάνη/Βιτ Ε</b><br>(CLC15NL)<br>Ατμός                 | 90                   | 1,5                                   | 22                  | 7,1                       |
| <b>3. Τριοξεική κυτταρίνη</b><br>(SUPERFLUX 170G)<br>γ ακτιν/ETO | 105                  | 1,7                                   | 15                  | 11,8                      |
| <b>4. PMMA</b><br>B3-1,3A<br>γ ακτιν                             | 76                   | 1,3                                   | 20                  | 8,8                       |
| <b>5. AN69</b><br>(FILTRAL 16 HF)<br>γ ακτιν/ETO                 | 122                  | 1,7                                   | 50                  | 48                        |

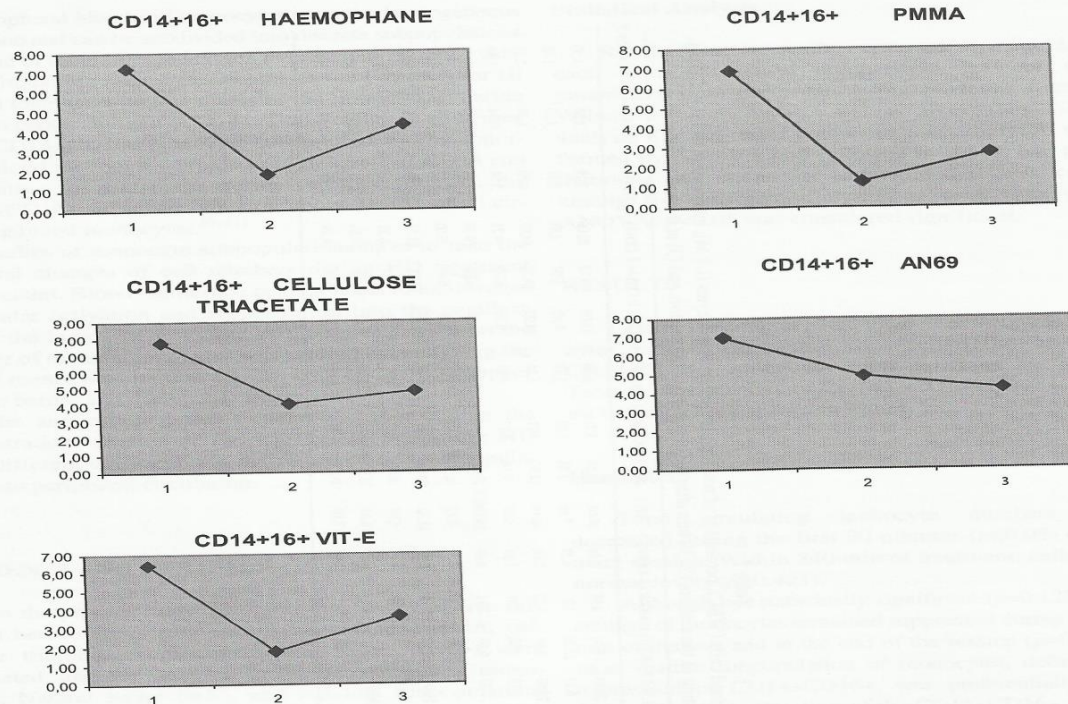


**Table 1**

Mean value ( $\pm$ SD) of CRP before the beginning of session: white blood cells (WBC), percentage of neutrophils (NEU), lymphocytes (LYM), monocytes (MONO), CD14+, CD14+CD16+, NK, and NK-like cells (1) before the beginning of the session, (2) 30 min after the beginning of the session, and (3) at the end of the session

CRP WBC 1 WBC 2 WBC 3 NEU 1 NEU 2 NEU 3 LYM 1 LYM 2 LYM 3 MONO 1 MONO 2 MONO 3 NK 1 NK 3 NK-LIKE 1 NK-LIKE 3 CD14+ 1 CD14+ 2 CD14+ 3 CD14+16+ 1 CD14+16+ 2 CD14+16+ 3

|                      |      |      |         |         |         |       |       |       |       |       |       |       |      |             |          |       |      |      |       |       |       |      |      |      |
|----------------------|------|------|---------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------------|----------|-------|------|------|-------|-------|-------|------|------|------|
| HAEMOPHAN            | MEAN | 0.45 | 6274    | 4676    | 5930    | 56.71 | 60.37 | 61.49 | 26.37 | 28.79 | 24.55 | 9.91  | 4.86 | <b>6.16</b> | 16.61    | 12.11 | 4.71 | 3.09 | 73.03 | 85.72 | 83.06 | 7.19 | 1.85 | 4.30 |
|                      | SD   | 0.35 | 1629.15 | 1069.32 | 1664.43 | 10.21 | 7.05  | 12.83 | 7.65  | 5.8   | 6.17  | 12.28 | 1.2  | <b>1.27</b> | 7.46     | 5.74  | 5.52 | 3.38 | 6.49  | 5.07  | 4.85  | 2.51 | 1.20 | 1.75 |
| PMMA                 | MEAN | 0.42 | 6953    | 4503    | 6847    | 63    | 55.05 | 66    | 24.05 | 34.27 | 22.63 | 9.91  | 5.22 | 7.04        | 16.18    | 12.90 | 4.91 | 3.34 | 74.97 | 84.26 | 88.01 | 6.90 | 1.27 | 2.71 |
|                      | SD   | 0.45 | 2.67    | 1725    | 1852    | 6.55  | 12.27 | 6.95  | 5.03  | 10.95 | 6.13  | 6.36  | 1.51 | 1.87        | 6.67     | 7.14  | 5.37 | 4.19 | 8.26  | 6.75  | 4.21  | 2.54 | 0.84 | 1.58 |
| CELLULOSE TRIACETATE | MEAN | 0.44 | 7395    | 6110    | 6586    | 62.32 | 60    | 61.9  | 24.37 | 27.28 | 27.33 | 6.67  | 7.74 | 6.49        | 16.10667 | 13.01 | 5.04 | 3.96 | 73.18 | 85.08 | 79.71 | 7.76 | 4.07 | 4.79 |
|                      | SD   | 0.42 | 1615.64 | 1446    | 1366    | 7     | 7.41  | 7.8   | 5.76  | 6.4   | 6     | 1.3   | 2.2  | 2           | 6.73     | 6.20  | 5.60 | 5.21 | 7.33  | 6.47  | 6.60  | 3.47 | 2.87 | 2.20 |
| Vir-E                | MEAN | 0.41 | 7417    | 4722    | 6840    | 61.25 | 53    | 60    | 24.18 | 33.46 | 26.9  | 9.22  | 5.75 | <b>6.97</b> | 13.32    | 10.93 | 4.57 | 3.18 | 74.90 | 85.21 | 83.71 | 6.38 | 1.78 | 3.61 |
|                      | SD   | 0.5  | 2149.6  | 1882    | 2052    | 7.43  | 12.63 | 11.3  | 7.26  | 13.17 | 6.17  | 11.55 | 1.55 | 2.14        | 5.98     | 8.02  | 4.73 | 4.75 | 7.10  | 5.47  | 6.31  | 2.80 | 1.53 | 1.74 |
| AN69                 | MEAN | 0.26 | 6685    | 5792    | 5644    | 60.47 | 59.2  | 58.27 | 26.4  | 27.16 | 30.9  | 6.5   | 8    | 6.36        | 18.03    | 12.90 | 4.74 | 3.04 | 74.07 | 80.01 | 76.53 | 6.98 | 4.92 | 4.25 |
|                      | SD   | 0.13 | 1801    | 1530    | 1651.51 | 7.72  | 6.11  | 5.58  | 6.34  | 5     | 5     | 1.06  | 2    | 2.84        | 7.19     | 6.17  | 4.78 | 3.44 | 4.93  | 6.04  | 4.55  | 2.79 | 2.58 | 2.13 |



**Figure 1.** Differential sequestration kinetics of CD14+CD16+ blood monocyte subsets with different dialyzers (1) before the beginning of the session (t=0), (2) 30 min from the beginning of the session (t=30), and (3) at the end of the session (t=240).

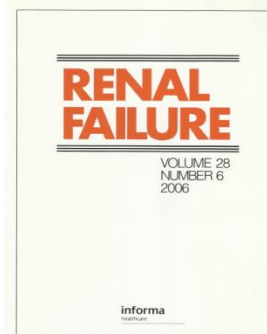
The drop of the CD14+CD16+ subpopulation after 30 min of dialysis was striking and detectable in all patients ( $p < 0.05$ ), and this population then started to rise during ongoing dialysis. At the end of the session, the levels of CD14+CD16+ monocytes remained suppressed significantly compared to pre-dialysis levels ( $p < 0.05$ ). The CD14+CD16+ subset decreased to 73.70% of pre-dialysis level at 30 min and to 55.64% of pre-dialysis level at 240 min. The percentage of NK remained significantly suppressed until the end of the session ( $p < 0.05$ ).

#### Cellulose Triacetate (CTA)

The total circulating leukocyte numbers strongly decreased during the first 30 minutes ( $p < 0.05$ ) of a treatment

session and then started to rise. Within 240 min of treatment, white blood cells remained suppressed ( $p < 0.05$ ). The percentage of monocytes increased during the first 30 min of dialysis ( $p < 0.05$ ) and at the end of the session was nearly at pre-dialysis levels ( $p = 0.526$ ).

The drop of the CD14+CD16+ subpopulation after 30 min of dialysis was also striking and detectable in all patients ( $p < 0.05$ ), and this population also started to rise during ongoing dialysis. At the end of the session, the levels of CD14+CD16+ monocytes remained suppressed significantly compared to pre-dialysis levels ( $p < 0.05$ ). The CD14+CD16+ subset decreased to 23.47% of pre-dialysis level at 30 min and to 13.04% of pre-dialysis level at 240 min. The percentage of NK remained significantly suppressed until the end of session ( $p < 0.05$ ).



# Φαγοκυτταρική ικανότητα-Αναπνευστική έκρηξη



- Τα πολυμορφοπύρρηνα και τα μονοπύρρηνα αποτελούν τα σημαντικότερα κύτταρα επιρροής και επίδρασης σε μία σειρά μηχανισμών που συνδέονται με φλεγμονώδεις καταστάσεις.
- Για να εκπληρώσουν τον αμυντικό τους ρόλο τα πολυμορφοπύρρηνα οφείλουν να αναγνωρίζουν την εστία της λοίμωξης, να προσκολλούνται στο ενδοθήλιο των τριχοειδών της περιοχής, να μεταναστεύουν διαμέσου του αγγειακού τοιχώματος στην περιοχή που φλεγμαίνει, να ασκούν τη φαγοκυτταρική τους δράση, να θανατώνουν και να «χωνεύουν» τους υπεύθυνους μικροοργανισμούς.

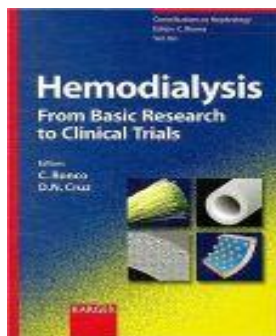


❖ Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα πολυμορφοπύρρηνα χρειάζονται:

α) προστατευτικούς μηχανισμούς που θα εγγυηθούν την ακεραιότητα τους στο εχθρικό λοιμώδες περιβάλλον,

β) απενεργοποίηση των δικών τους τοξικών παραγώγων ώστε να αποφευχθεί η βλάβη σε υγιή ιστό και τέλος

γ) συνεχή μετανάστευση επιπλέον φαγοκυττάρων.



Markert M, Waridel PA, Heierli C, Wauters JP. Neutrophil functions during hemodialysis. *Contrib Nephrol* 1988;62:99-108.

- Η μέτρηση όλων των παραπάνω φυσιολογικών λειτουργιών, δηλαδή της χημειοταξίας, της φαγοκυττάρωσης, της ενδοκυττάριας θανάτωσης των μικροβίων και της απόπτωσης αποτελεί μία από τις πλέον σύγχρονες και πολλά υποσχόμενες εφαρμογές της κυτταρομετρίας ροής.
- Η βασική αρχή βασίζεται στον ενοφθαλμισμό πολυμορφοπύρηνων ή μονοπύρηνων σε φθορίζων υλικό βακτηρίων και μετράται το ποσό και η ένταση του φθορισμού ως ένδειξη φαγοκυτταρικής ικανότητας.



*Hampton MB, Witherbourn CC. Methods for quantifying phagocytosis and bacterial killing by human neutrophils. Journal of Immunological Methods 1999;232:15-22.*





- ✓ Κεντρικό ρόλο στη αντιμικροβιακή δραστηριότητα έχει η αναπνευστική έκρηξη (*oxidative burst*), η ικανότητα δηλαδή των φαγοκυττάρων του ανοσιακού μας συστήματος να αυξάνουν την κατανάλωση οξυγόνου σε μοριακό επίπεδο μέσα σε διάστημα δευτερολέπτων.

➤ Η φαγοκυτταρική ικανότητα χαρακτηρίζει την ικανότητα των φαγοκυττάρων να προσλαμβάνουν τα μικρόβια και η αναπνευστική έκρηξη εκφράζει την ικανότητα του φαγοκυττάρου να τα θανατώνει, μετρώντας την παραπάνω κατανάλωση οξυγόνου που απαιτείται για αυτό το έργο.

➤ Όπως θα φανεί καλύτερα παρακάτω, είναι αξιοσημείωτο και πιθανόν να μπορεί να αποτελέσει έναν νέο εύχρηστο δείκτη σύγκρισης και αξιολόγησης των μεμβρανών ΑΜΚ, ο αριθμός των βακτηριδίων που φαγοκυτταρώνονται ανά κύτταρο αλλά και η διαφοροποιημένη οξειδωτική ικανότητα που παρουσιάζει ο πληθυσμός των πολυμορφοπύρηνων/μονοκυττάρων.

*Lehmann AK, Halstensen A. Phagocytosis: measurement by flow cytometry. Journal of Immunological Methods 2000;243:229-242.*



- Βασισμένες στα παραπάνω δεδομένα, έχουν διατυπωθεί 4 υποθέσεις για το βαθμό επίδρασης της αιμοκάθαρσης στη φαγοκυτταρική δραστηριότητα.



- Η πρώτη βασίζεται στο ότι η εξωσωματική κυκλοφορία προσαρμόζει ανάλογα την έκφραση των μορίων προσκόλλησης των φαγοκυττάρων και ενεργοποιεί αντίστοιχα την βακτηριογόνο δράση τους. Η παραπάνω διαδικασία σχετίζεται άμεσα με το σύστημα του συμπληρώματος και εξαρτάται από το υλικό της μεμβράνης ΑΜΚ.
- Η δεύτερη υπόθεση μιλάει για ρύθμιση προς τα κάτω (down-regulation) της λειτουργίας των φαγοκυττάρων κάτω από την επίδραση του συμπληρώματος.



- Η τρίτη υπόθεση βασίζεται στην επίδραση της εξωσωματικής κυκλοφορίας στην παραγωγή κυτταροκινών από τα μονοκύτταρα.
- Μία τέταρτη άποψη για την επίδραση της αιμοκάθαρσης στη φαγοκυτταρική λειτουργία εστιάζεται στην απομάκρυνση με high flux μεμβράνες κυκλοφορούντων πρωτεϊνών ανασταλτικών της φαγοκυττάρωσης.



- ✓ Ο Coratelli και συν. το 1986 μελέτησαν την φαγοκυτταρική ικανότητα των λευκών αιμοσφαιρίων κάτω από την επίδραση τριών διαφορετικών μεμβρανών ΑΜΚ (κουπροφάνη, αναγεννημένη κυτταρίνη, πολυακριλονιτρίλη) και παρατηρήσαν μία πτώση της φαγοκυτταρικής ικανότητας (από 49% σε 20% στην κουπροφάνη, από 57% σε 25% στην αναγεννημένη κυτταρίνη και από 51% σε 48% στην πολυακριλονιτρίλη), η οποία δεν διατηρήθηκε για πολύ αφού οι τιμές της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας επανήλθαν στα αρχικά τους επίπεδα λίγα λεπτά από την έναρξη της συνεδρίας.

*Coratelli P, Rizzi R, Schena A, Pavone V, Specchia G, Liso V. Neutrophil function during hemodialysis: Effects of three different membranes: In: Smeby LC, Jorstad S, Wilderoe TE, ed. Proc Int Symp Immune and Metabolic Aspects of Therapeutic Blood Purification Systems. Karger, Basel, 1986:137-143.*



- ✓ Παρομοίως, ο Vanholder και συν. το 1992 συγκρίνοντας τη φαγοκυτταρική δραστηριότητα κατά τη διάρκεια ΑΜΚ με διαφορετικές μεμβράνες (κουπροφάνη, αιμοφάνη, AN69, ΡΜΜΑ, πολυσουλφόνη), δε διαπίστωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μεταβολικό προφίλ της φαγοκυττάρωσης μεταξύ των ασθενών.

*Vanholder R, Van Landschoot, Waterloos MA, Delanghe J, Van Maele G, Ringoir S. Phagocyte metabolic activity during hemodialysis with different dialyzers not affecting the number of circulating phagocytes. Int J Artif Organs 1992;15:89-92.*



# Έλεγχος της φαγοκυτταρικής ικανότητας και αναπνευστικής έκρηξης σε ασθενείς υπό ΑΜΚ με αιμοφάνη και AN69



- ❖ Δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία δεδομένα που να ελέγχουν την φαγοκυτταρική ικανότητα και την αναπνευστική έκρηξη αιμοκαθαιρομένων ασθενών που υποβάλλονται σε ΑΜΚ με αιμοφάνη ή AN69 και να συγκρίνουν τα ευρήματά τους.
- ❖ Τα αποτελέσματα μελετών σε άλλες μεμβράνες αφορούν περιορισμένο αριθμό ασθενών ενώ και η μεθοδολογία δεν επιτρέπει τις περισσότερες φορές εκτίμηση και αξιολόγηση πολλών παραμέτρων ταυτόχρονα.

## Φαγοκυτταρική ικανότητα και αναπνευστική έκρηξη σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση με δύο διαφορετικές μεμβράνες\*



Ι. Γριβέας<sup>1</sup>  
Π. Πασαδάκης<sup>2</sup>  
Α. Φλεβας<sup>3</sup>  
Η. Θώδης<sup>2</sup>  
Α. Παυλίτου<sup>3</sup>  
Γ. Βισβάροδης<sup>1</sup>  
Δ. Παπαδοπούλου<sup>1</sup>  
Β. Βαργεμέζης<sup>2</sup>  
† Γ. Σακελλαρίου<sup>1</sup>

### Περίληψη

**Σκοπός:** Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο έλεγχος της φαγοκυτταρικής ικανότητας (ικανότητα των φαγοκυττάρων να προσλαμβάνουν τα μικρόβια) και της αναπνευστικής έκρηξης (ικανότητα των φαγοκυττάρων να τα θανατώνουν) σε ασθενείς, που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση με δύο διαφορετικές μεμβράνες.

**Ασθενείς – Μέθοδοι:** Μελετήθηκαν 50 αιμοκαθαιρόμενοι ασθενείς από 47 έως 74 ετών (μέση ηλικία: 60,1±8,7 έτη, M±SD), (διάρκεια αιμοκάθαρσης: 24,1±14,3 μήνες, M±SD). Διενεργήθηκε δοκιμασία ελέγχου φαγοκυττάρωσης (phago test) και αναπνευστικής έκρηξης (burst test) πριν από τη συνεδρία αιμοκάθαρσης, 15 λεπτά μετά και στις 3 ώρες από την έναρξή της, με αιμοφάνη και με πολυακρυλονιτρίλη/νατριούχο μεθαυλοθειική (AN69).

**Αποτελέσματα:** Κατά τη συνεδρία με αιμοφάνη, η φαγοκυτταρική ικανότητα των μονοκυττάρων παρουσίασε σημαντική αύξηση στα 180 λεπτά ( $p<0,05$ ), ενώ τόσο η φαγοκυτταρική ικανότητα των πολυμορφοπυρήνων όσο και η αναπνευστική έκρηξη των μονοκυττάρων δεν παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές. Η αναπνευστική έκρηξη των πολυμορφοπυρήνων αυξήθηκε σημαντικά στα πρώτα 15 λεπτά ( $p<0,05$ ) και στα 180 λεπτά της συνεδρίας ( $p<0,05$ ). Κατά τη συνεδρία με AN69, η φαγοκυτταρική ικανότητα των μονοκυττάρων και των πολυμορφοπυρήνων δεν παρουσίασε σημαντικές μεταβολές. Αντίθετα, η αναπνευστική έκρηξη τόσο των μονοκυττάρων όσο και των πολυμορφοπυρήνων αυξήθηκε σημαντικά στα 15 λεπτά ( $p<0,05$ ) και στα 180 λεπτά της συνεδρίας ( $p<0,05$ ). Η σύγκριση των τιμών των επιμέρους παραμέτρων μεταξύ των δύο μεμβρανών, στις διάφορες χρονικές στιγμές, δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

**Συμπεράσματα:** Ο έλεγχος της φαγοκυτταρικής ικανότητας και της αναπνευστικής έκρηξης λειτουργεί συμπληρωματικά στην εκτίμηση του βαθμού βιοσυμβατότητας των μεμβρανών αιμοκάθαρσης, ενώ ανοίγει νέους ορίζοντες για περαιτέρω έρευνα στα αίτια, τον επιπολασμό και την κατάληξη των λοιμώξεων σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς.

<sup>1</sup>Νεφρολογικό Τμήμα, Γεν. Νοσ/μείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη,

<sup>2</sup>Πανεπιστημιακή Νεφρολογική Κλινική, Δημοζούτσιο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη,

<sup>3</sup>Ανοσολογικό Εργαστήριο, Γεν. Νοσ/μείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη

\* Προφορική Ανακοίνωση στο 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νεφρολογίας, Πόρτο Καρράς, Χαλκιδική, 31/5-3/6/2006.

**Πίνακας 4.** Ο έλεγχος της φαγοκυτταρικής ικανότητας και της αναπνευστικής έκρηξης. [1. χρόνος πριν την έναρξη της συνεδρίας, 2.15 λεπτά από την έναρξη της συνεδρίας, 3.180 λεπτά από την έναρξη της συνεδρίας].

| a/a | ΜΕΜΒΡΑΝΗ | NK 1         | NK-like 1   | NK 2         | NK-like 2   | NK 3         | NK-like 3   | PHAGO MONO 1 |
|-----|----------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| 1   | ΑΙΜΟΦΑΝΗ | 17,36+/-6,37 | 4,41+/-4,87 | 11,83+/-4,96 | 4,26+/-5,30 | 10,83+/-4,19 | 3,36+/-4,04 | 79,38+/-9,67 |
| 2   | AN 69    | 19,40+/-7,32 | 4,05+/-4,53 | 13,49+/-5,57 | 3,84+/-4,58 | 13,38+/-5,31 | 3,23+/-4,09 | 80,46+/-7,38 |

| a/a | ΜΕΜΒΡΑΝΗ | MFI MONO 1   | PHAGO MONO 2 | MFI MONO 2   | PHAGO MONO 3 | MFI MONO 3   | PHAGO NEU 1  | MFI NEU 1     |
|-----|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| 1   | ΑΙΜΟΦΑΝΗ | 17,70+/-1,66 | 78,49+/-10,9 | 16,27+/-1,55 | 83,18+/-8,55 | 19,60+/-8,29 | 92,15+/-8,23 | 25,37+/-11,67 |
| 2   | AN 69    | 18,92+/-5,17 | 83,23+/-5,63 | 18,50+/-5,49 | 83,65+/-6,87 | 20,45+/-7,82 | 94,29+/-0,97 | 27,29+/-8,61  |

| a/a | ΜΕΜΒΡΑΝΗ | PHAGO NEU 2  | MFI NEU 2     | PHAGO NEU 3  | MFI NEU 3     | BURST MONO 1  | MFI MONO 1  | BURST MONO 1 HIGH |
|-----|----------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|-------------|-------------------|
| 1   | ΑΙΜΟΦΑΝΗ | 91,32+/-8,76 | 24,28+/-10,40 | 91,26+/-8,89 | 28,15+/-12,91 | 78,55+/-15,39 | 1,78+/-0,75 | 91,82+/-11,73     |
| 2   | AN 69    | 93,72+/-1,24 | 26,97+/-8,20  | 93,41+/-4,85 | 28,87+/-8,96  | 79,83+/-11,34 | 1,61+/-0,61 | 91,09+/-8,03      |

**Πίνακας 4.** (Συνέχεια)

| a/a | ΜΕΜΒΡΑΝΗ | MFI MONO 1 HIGH | BURST MONO 2  | MFI MONO 2  | BURST MONO 2 HIGH | MFI MONO 2 HIGH | BURST MONO 3  | MFI MONO 3  |
|-----|----------|-----------------|---------------|-------------|-------------------|-----------------|---------------|-------------|
| 1   | ΑΙΜΟΦΑΝΗ | 2,89+/-1,44     | 82,64+/-14,50 | 2,12+/-0,80 | 91,29+/-13,72     | 5,16+/-9,62     | 83,32+/-11,92 | 2,24+/-1,05 |
| 2   | AN 69    | 3,35+/-4,37     | 87,11+/-7,23  | 1,99+/-0,77 | 94,26+/-4,50      | 2,95+/-1,67     | 87,75+/-9,30  | 2,65+/-1,45 |

| a/a | ΜΕΜΒΡΑΝΗ | BURST MONO 3 HIGH | MFI MONO 3 HIGH | BURST NEU 1  | MFI NEU 1   | BURST NEU 1 HIGH | MFI NEU 1 HIGH | BURST NEU 2  |
|-----|----------|-------------------|-----------------|--------------|-------------|------------------|----------------|--------------|
| 1   | ΑΙΜΟΦΑΝΗ | 90,27+/-12,25     | 2,24+/-1,05     | 94,65+/-4,96 | 8,82+/-6,50 | 98,27+/-2,23     | 16,45+/-10,27  | 97,05+/-2,94 |
| 2   | AN 69    | 87,75+/-9,30      | 2,95+/-1,67     | 95,06+/-5,02 | 7,97+/-4,72 | 98,03+/-2,74     | 16,51+/-11,29  | 97,17+/-3,34 |

| a/a | ΜΕΜΒΡΑΝΗ | MFI NEU 2     | BURST NEU 2 HIGH | MFI NEU 2 HIGH | BURST NEU 3  | MFI NEU 3     | BURST NEU 3 HIGH | MFI NEU 3 HIGH |
|-----|----------|---------------|------------------|----------------|--------------|---------------|------------------|----------------|
| 1   | ΑΙΜΟΦΑΝΗ | 12,90+/-10,56 | 99,07+/-0,89     | 23,77+/-14,37  | 93,46+/-7,27 | 12,54+/-12,02 | 98,32+/-2,44     | 19,96+/-18,15  |
| 2   | AN 69    | 12,22+/-9,46  | 99,05+/-0,93     | 23,63+/-13,86  | 94,01+/-7,23 | 13,41+/-12,31 | 98,11+/-2,90     | 21,98+/-20,10  |

PHAGO. Φαγοκυτταρική ικανότητα

BURST. Αναπνευστική έκρηξη

MONO. In vivo

High. Με διεγέρτη

MFI. Μέση ένταση φθορισμού, η οποία εκφράζει την οξειδωτική ικανότητα

NEU. Πολυμορφόπρηνα

MONO. Μονοκύτταρα

□ Στην μελέτη μας διαπιστώθηκε αύξηση της φαγοκυτταρικής ικανότητας των μονοκυττάρων στα 180 λεπτά της συνεδρίας με αιμοφάνη, χωρίς να διαπιστώνονται μεταβολές στην φαγοκυτταρική ικανότητα των πολυμορφοπυρήνων.

□ Κατά τη διάρκεια συνεδρίας με AN69 δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στην φαγοκυτταρική ικανότητα τόσο των μονοκυττάρων όσο και των πολυμορφοπυρήνων.

□ Συγκρίνοντας τα στοιχεία των δύο μεμβρανών δεν διαπιστώσαμε σημαντικές διαφορές στην φαγοκυτταρική ικανότητα των ασθενών όταν υποβάλλονταν σε συνεδρίες ΑΜΚ με αιμοφάνη και AN69.





- ✓ Οι παρατηρήσεις τόσο οι δικές μας όσο και της διεθνούς βιβλιογραφίας συμφωνούν ότι παρά την γνωστή διαφορά στην βιοσυμβατότητα μεταξύ των δύο μεμβρανών η φαγοκυτταρική ικανότητα μάλλον δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές.



- ✓ Η δυσαρμονία μεταξύ φαγοκυτταρικής ικανότητας και αναπνευστικής έκρηξης την ίδια χρονική στιγμή είναι κάτι που έχει παρατηρηθεί σε μελέτη με βιοασύμβατες μεμβράνες (κουπροφάνη), πρώτη ουσιαστικά προσέγγιση της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας ως δείκτη βιοσυμβατότητας.

*Ward R, McLeish K. Hemodialysis with cellulose membranes primes the neutrophil oxidative burst. Artificial Organs 1995;8:901-807.*





- Μία άλλη παράμετρος που δεν έχει αξιολογηθεί επαρκώς είναι η διάρκεια ΑΜΚ με τη συγκεκριμένη μεμβράνη.
- Στη δική μας μελέτη παρατηρήθηκαν οι αλλαγές στην φαγοκυτταρική ικανότητα και στη αναπνευστική έκρηξη με δύο διαφορετικές μεμβράνες σε μία συνεδρία κάθε φορά.

## Φαγοκυτταρική ικανότητα και αναπνευστική έκρηξη σε ασθενείς υπό αιμοκάθαρση με δύο διαφορετικές μεμβράνες\*



κτική. Η πιο σοβαρή μελέτη που θέτει τον προβληματισμό του χρόνου ΑΜΚ είναι αυτή των Pereira και συν.<sup>27</sup> το 2004, που έγινε στα πλαίσια της HEMO study, και συνέκρινε κουπροφάνη, πολυσουλφόνη και αναγεννημένη κυτταρίνη. Δε διαπιστώθηκε διαφορά στη φαγοκυτταρική δραστηριότητα, ενώ στο θέμα της αναπνευστικής έκρηξης, η μεμβράνη από αναγεννημένη κυτταρίνη είχε χαμηλότερες επιδόσεις. Δεν υπάρχει, όπως αναφέρθηκε, ικανοποιητικός αριθμός αξιόπιστων ερευνών, αλλά στη μελέτη αυτή τίθεται ο προβληματισμός, χωρίς να μπορεί να δοθεί συγκεκριμένη απάντηση, ότι ο χρόνος των συνεδριών με μία συγκεκριμένη μεμβράνη ίσως να έχει κάποιο ρόλο τόσο στις διαταραχές του μεταβολικού προφίλ όσο και στην αποκατάστασή τους.



## Συμπέρασμα

- ❖ Ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια θεωρούνται πιο ευαίσθητοι στις λοιμώξεις.
- ❖ Το γεγονός αυτό σχετίζεται με διαταραχές του ανοσιακού συστήματος, επηρεασμένη χημειοταξία και διαταραγμένη φαγοκυτταρική ικανότητα.



- ❖ Μια «βολική» θεωρία είναι ο μικρότερος χρόνος ζωής των πολυμορφοπυρήνων σε ουραιμικούς ασθενείς.
- ❖ Διάφορες μελέτες σχετιζόμενες με την φαγοκυτταρική δραστηριότητα αιμοκαθαιρόμενων ασθενών, αν και έχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, συγκλίνουν στην επηρεασμένη ανοσιακή απάντηση των ασθενών αυτών.

*Hakim RM. Clinical implications of hemodialysis membrane biocompatibility. Kidney Int 1993;44:484.*





- Έχει γίνει φανερό ότι το διαταραγμένο ανοσολογικό προφίλ των αιμοκαθαιρόμενων ασθενών καθώς και οι μηχανισμοί που ευθύνονται για αυτό, είναι ένα δυναμικό φαινόμενο με πολλούς αποδέκτες, όπως η βιοσυμβατότητα της μεμβράνης και η άμυνα του οργανισμού γενικότερα.
- Ο βαθμός της σύνδεσης και της αλληλουχίας των παραπάνω φαινομένων είναι σε πολλά σημεία αδιευκρίνιστος και άγνωστος.

# Σύγχρονες οδηγίες



- Οι συνθετικές μεμβράνες κυριαρχούν στην καθημερινότητα της ΑΜΚ στον δυτικό κόσμο (το χαμηλό κόστος έχει συμβάλει σε αυτήν την πραγματικότητα) και σίγουρα τα στοιχεία υπέρ της καλύτερης βιοσυμβατότητας τους οδηγεί τον νεφρολόγο σε αυτήν την επιλογή.

# Συσχέτιση με νοσηρότητα και θνητότητα



Θεωρείται από πολλούς ερευνητές ότι η αιμοκάθαρση με high flux μεμβράνες, η αιμοδιήθηση και η αιμοδιαδιήθηση είναι πιο 'βιοσυμβατές' από την κλασική αιμοκάθαρση.

- ✓ Η καλύτερη βιοσυμβατότητα σχετίζεται όχι μόνο με τα οξέα συμβάματα (καρδιαγγειακή αστάθεια, υποξαιμία, αλλεργικές αντιδράσεις) αλλά και με απώτερες επιπλοκές (αμυλοείδωση, αθηρωσκλήρυνση) όπως και διαταραχές του ανοσιακού συστήματος (λοιμώξεις, κακοήθειες).



*Locatelli F. Influence of membranes on morbidity. Nephrol Dial Transplant 1996;2:116-120.*



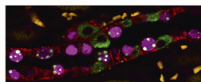
- ✓ Ο Charnard και συν, συγκρίνοντας δύο ομάδες ασθενών που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση για μεγάλα χρονικά διαστήματα με μεμβράνες κουπροφάνης και πολυακριλονιτρίλης αντίστοιχα, διαπίστωσαν περισσότερες ημέρες νοσηλείας στην ομάδα της κουπροφάνης (6 ημέρες/ανά ασθενή/ανά έτος) σε σχέση με την ομάδα της πολυακριλονιτρίλης (2 ημέρες/ανά ασθενή/ ανά έτος).

*Chanard J, Brunois IP, Melin JP, Lavaud S, Toupance O. Long term results of dialysis therapy with a highly permeable membrane. Artif Organs 1982;6:261-266.*





- ✓ Ο Hornberger και συν. συγκρίνοντας την επιβίωση μίας ομάδας ασθενών που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση με μεμβράνη κουπροφάνης, με την αντίστοιχη μίας ομάδας που χρησιμοποιούσε μεμβράνη πολυσουλφόνης, διαπίστωσαν ότι η θνητότητα ήταν σαφώς μικρότερη στην ομάδα που χρησιμοποιούσε την πολυσουλφόνη (7% έναντι 20%), η δε κατά έτος επίπτωση των λοιμώξεων ήταν διπλάσια στην ομάδα της κουπροφάνης.



- Παράλληλα, σε μελέτη με 638 ασθενείς και 4 συγκρινόμενες μεμβράνες (κουπροφάνη, οξεική κυτταρίνη, πολυσουλφόνη, AN69) δεν διαπιστώθηκε καμία διαφορά στην θνητότητα.



*Martin-Malo A, Castillo D. Adequacy of dialysis: is it really determined by the type of membrane and buffer? Proc Eur Dial Transplant Assoc 1993;147.*

- Σε άλλη μελέτη, αναδρομικά μελετώντας ασθενείς που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση με διαφορετικές μεμβράνες, φάνηκε μικρότερη επίπτωση αμυλοείδωσης στους ασθενείς που υποβάλλονταν σε αιμοκάθαρση με AN69.

*Van Ypersele de Strihou C, Jaboul M, Malghem J, Maldague B, Jamart J and the Working Party on Dialysis Amyloidosis. Effect of dialysis membrane and patient's age on signs of dialysis related amyloidosis. Kidney Int 1991;39:1012-1019.*



- ✓ Ο Bononini και συν. μελέτησαν αναδρομικά 122 ασθενείς από το 1963 μέχρι το 1993 που ήταν σε πρόγραμμα περιοδικής αιμοκάθαρσης είτε με μεμβράνες κυτταρίνης είτε συνθετικές και δεν διαπίστωσαν διαφορά στην επιβίωση μεταξύ των ομάδων με τις διαφορετικές μεμβράνες.



*Bononini V, Coli L, Feliciangeli G, Nanni Costa A, Scolari MP. Long term comparative evaluation of synthetic and cellulosic membranes in dialysis. Int J Artif Organs 1994;17:392-398.*

- Συμπερασματικά, διάφορες μη τυχαιοποιημένες αναδρομικές μελέτες έχουν αναφέρει ελάττωση στην θνητότητα από 15-20% σε 9-11% χρησιμοποιώντας συνθετικές μεμβράνες αντί κουπροφάνης.
- Ωστόσο, σε τέτοιου τύπου μελέτες η ανάλυση των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνει με πολλή προσοχή γιατί πολλές φορές δεν συνυπολογίζονται διάφοροι παράγοντες.
- Τα αποτελέσματα μεγάλων μελετών, ακόμα και του NIH, έχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, γεγονός που κάνει δύσκολη την ακριβή συσχέτιση των μεμβρανών αιμοκάθαρσης με την νοσηρότητα και την θνητότητα των ασθενών σε πρόγραμμα περιοδικής αιμοκάθαρσης.





## Table 1 | Improvements in hemodialysis membranes

---

### *Traditional membranes*

1. *Biocompatibility*: New materials and chemical modifications of side chains
2. Refining pore dimensions to enhance hydraulic permeability and middle molecule clearance

### *Innovative membranes*

1. Microfluidics and membraneless systems
2. Nanofabrication with synthetic channels
3. Nanofabricated silicon membranes with slit pores

### *Living membranes*

1. Endothelial cell-lined membranes for hemocompatibility and durability
  2. Tubule cell-lined membranes for active transport and metabolic activities
- 

## The future of hemodialysis membranes

HD Humes<sup>1</sup>, WH Fissell<sup>1</sup> and K Tiranathanagul<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, University of Michigan School of Medicine, Ann Arbor, Michigan, USA

# Dialysis and Nanotechnology: Now, 10 Years, or Never?

W.H. Fissell<sup>a</sup> H.D. Humes<sup>a</sup> A.J. Fleischman<sup>b</sup> S. Roy<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Department of Internal Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Mich., and <sup>b</sup>BioMEMS Laboratory, Cleveland Clinic, Cleveland, Ohio, USA

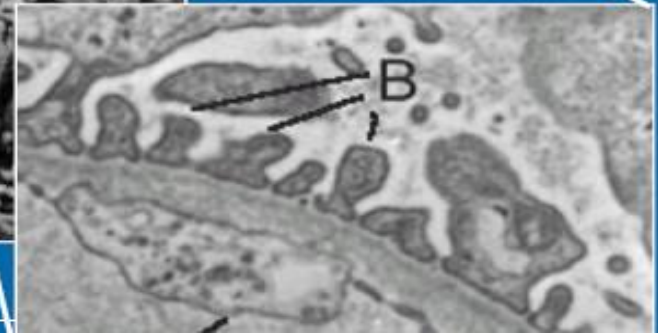
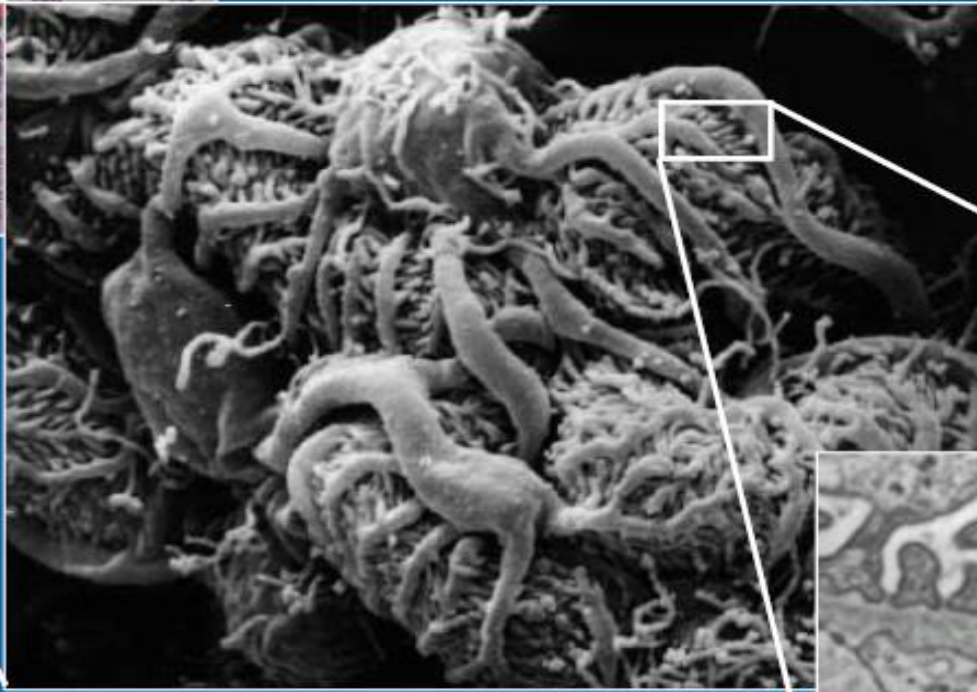
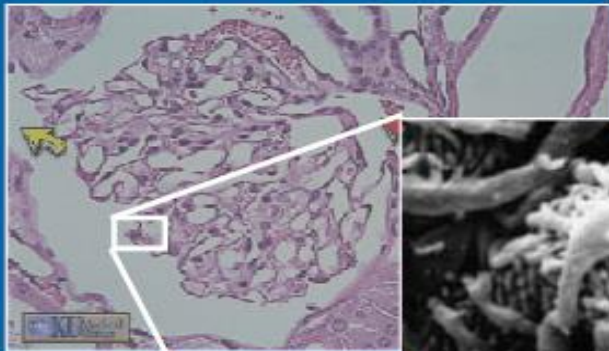


## Arrhythmia Care as a Paradigm for the 21<sup>st</sup> Century



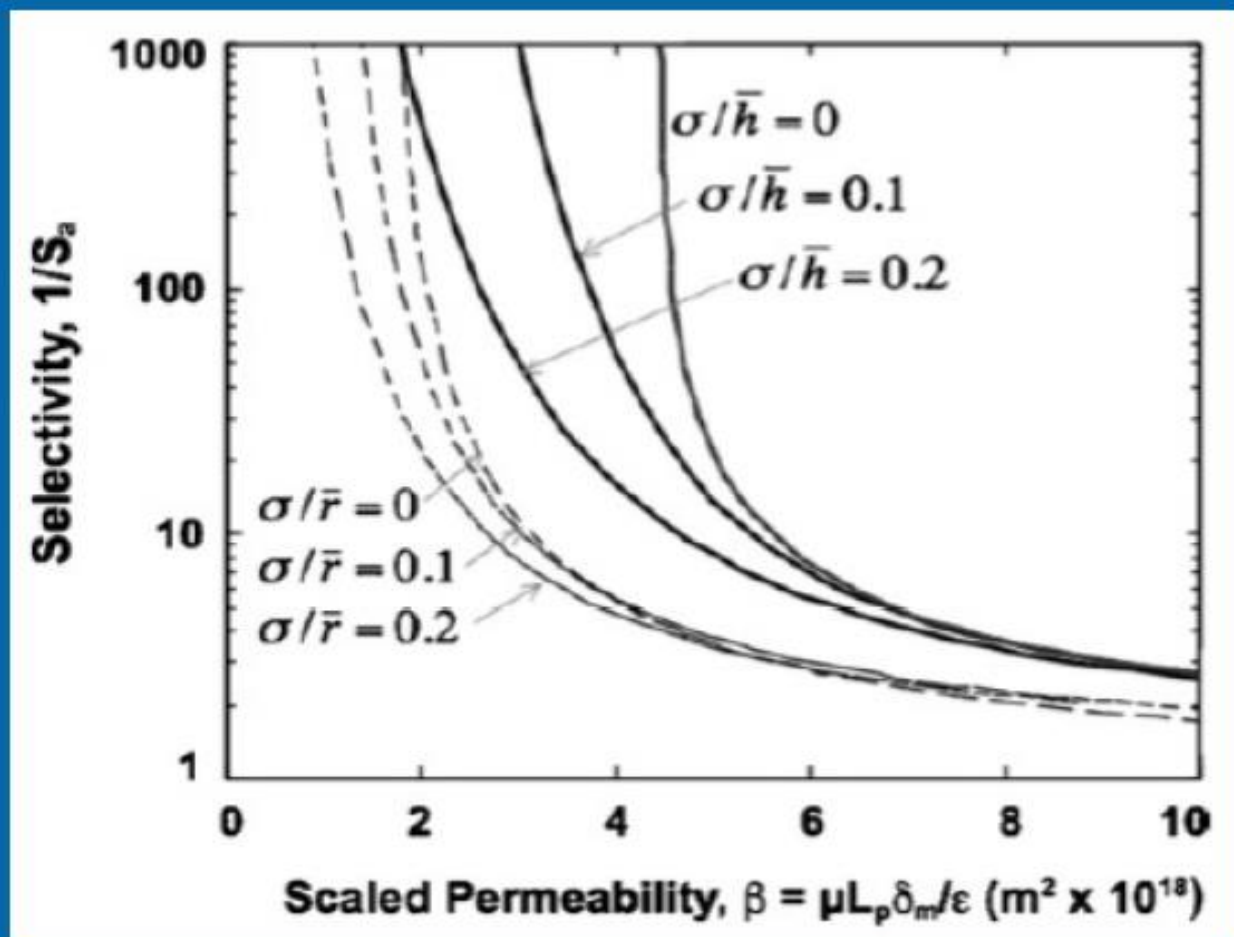


## The Kidney's Natural Hemofilter



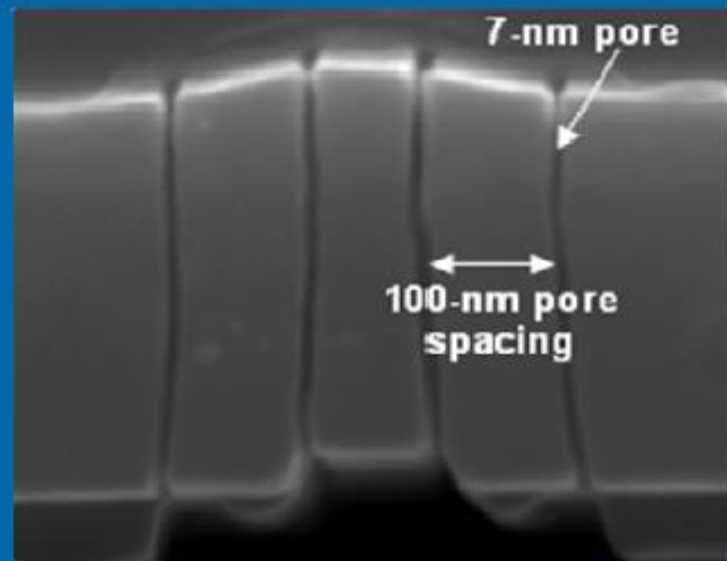
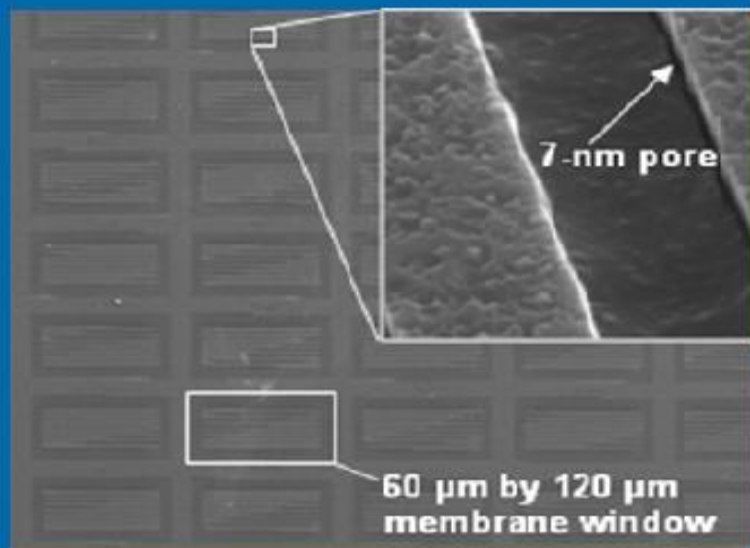


## Uniformity of Pores and Shape of Pores Control Selectivity



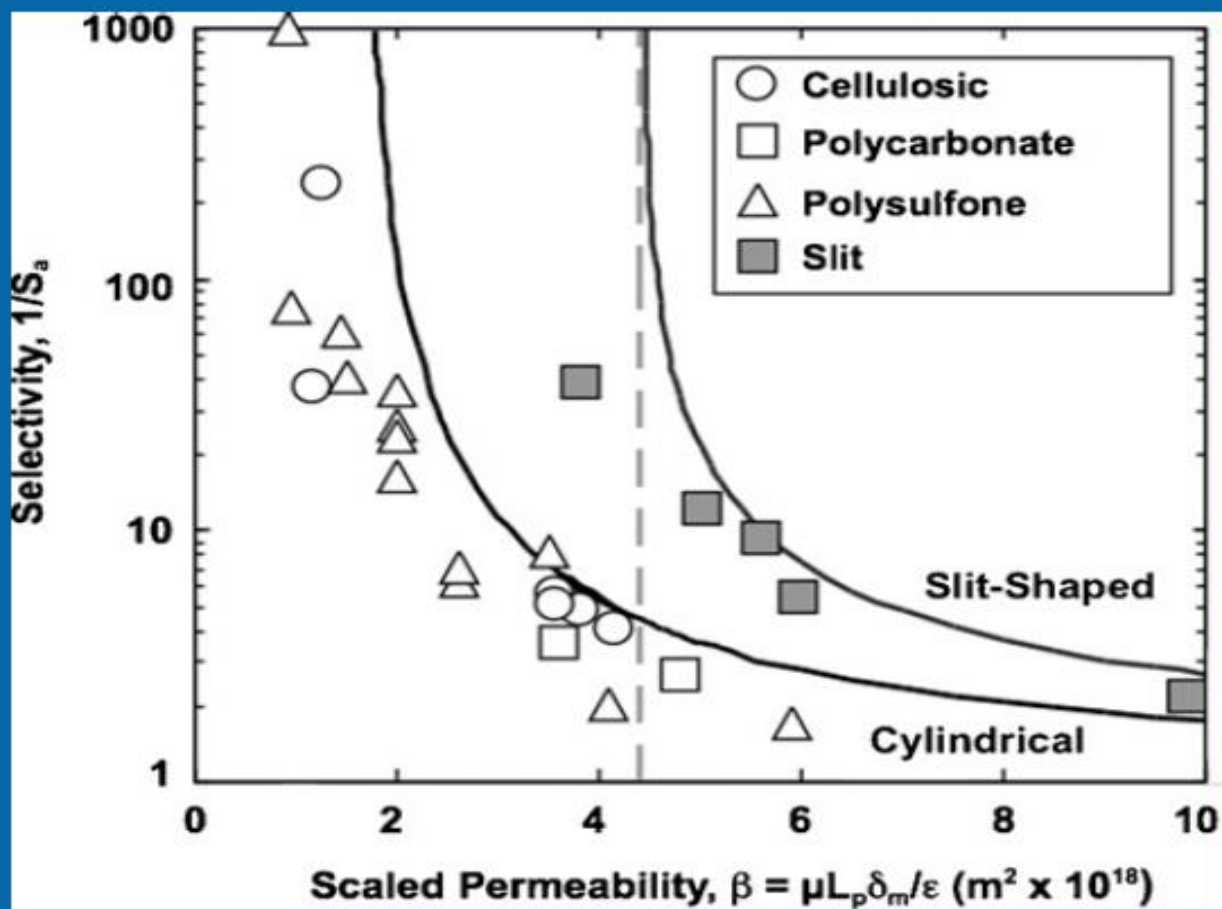


## Silicon Nanopore Membrane



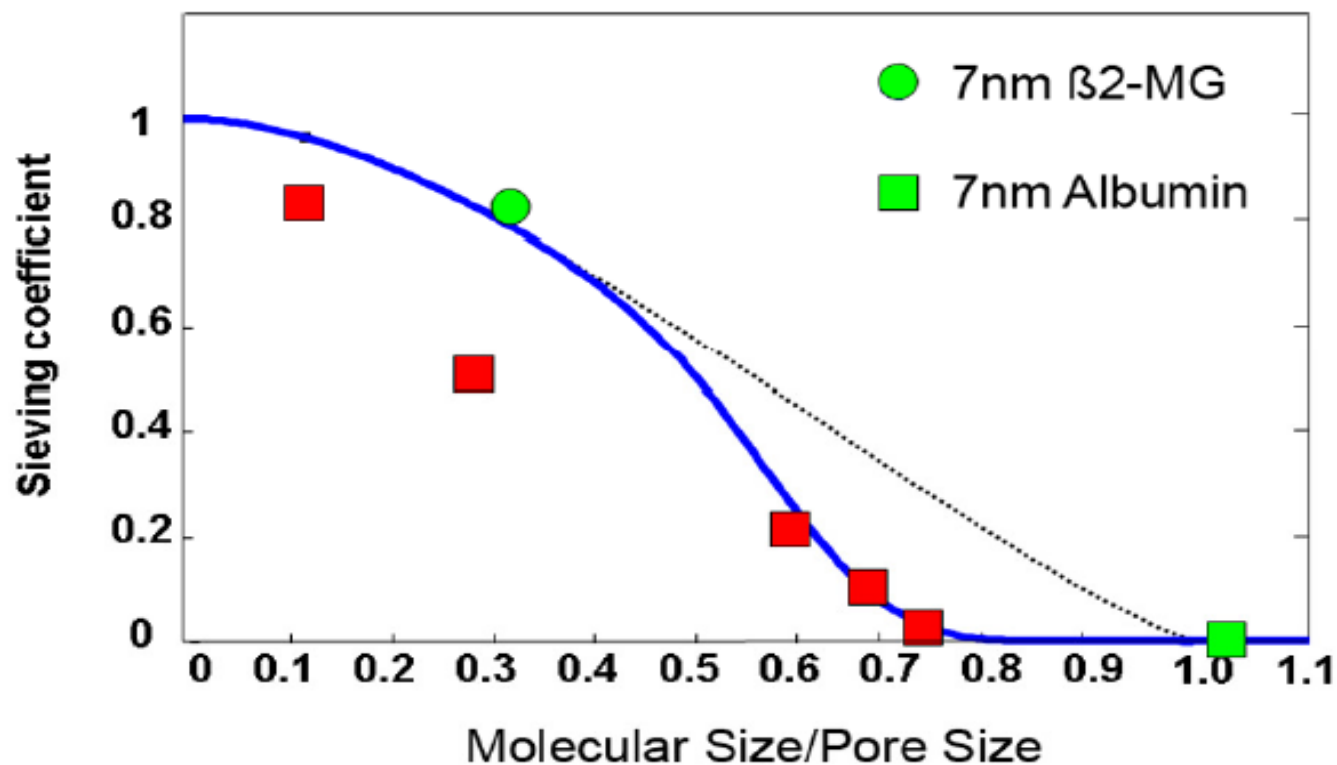


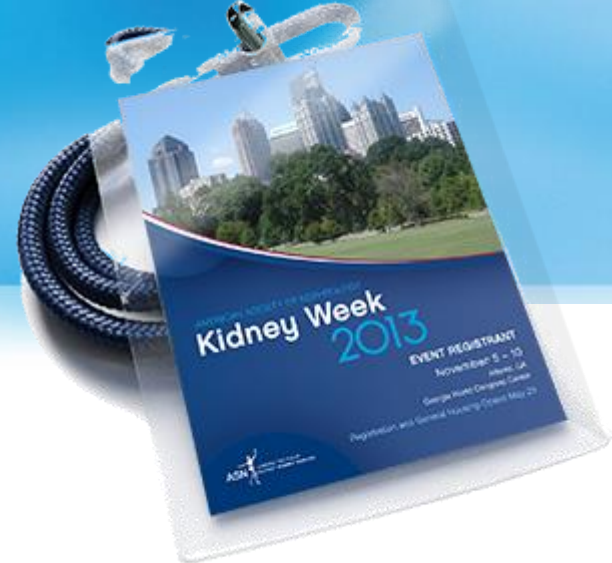
## Enhanced Selectivity of Slit Pores





## Silicon Nanopore Membrane: Selectivity





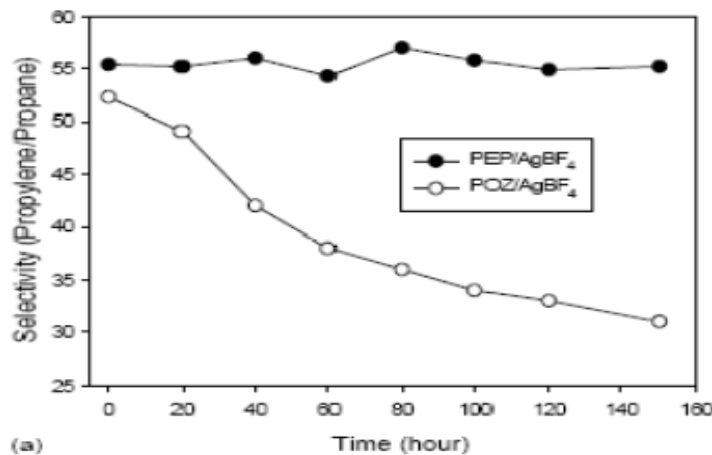
# Beyond the nanometric scale ?

Nanometric size increases the specific surface, which is often used to enhance well established properties at macrocale:

- Bacteriostatic properties of silver nanoparticles
- Catalysis of oxidation reactions in fuel cells



# Nanoscale provides selectivity for propylene/propane separation

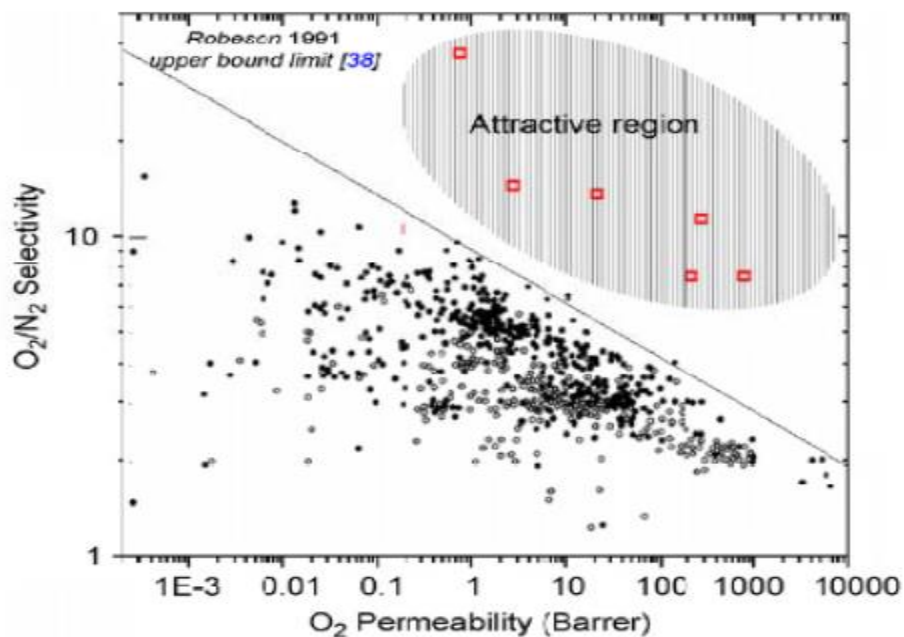


Propylene propane  
selectivity of a Ag BF<sub>4</sub>-POZ  
membrane  
poly(2-ethyl-2-oxazoline)

The selectivity decreased from an initial value of 52–31 after 150 h and, concomitantly, the size of the silver nanoparticles increased from 14.75 to 27.75 nm



## Beyond the nanometric scale: the nanometric structure



- Typical molecular sieves
- Rubber polymer
- Glass polymer

Particles with a controlled nanostructured have much better properties than standard ceramic or polymer films

# Mixed matrix (nanocomposite) membranes



A. Galve et al. / *Journal of Membrane Science* 370 (2011) 131–140

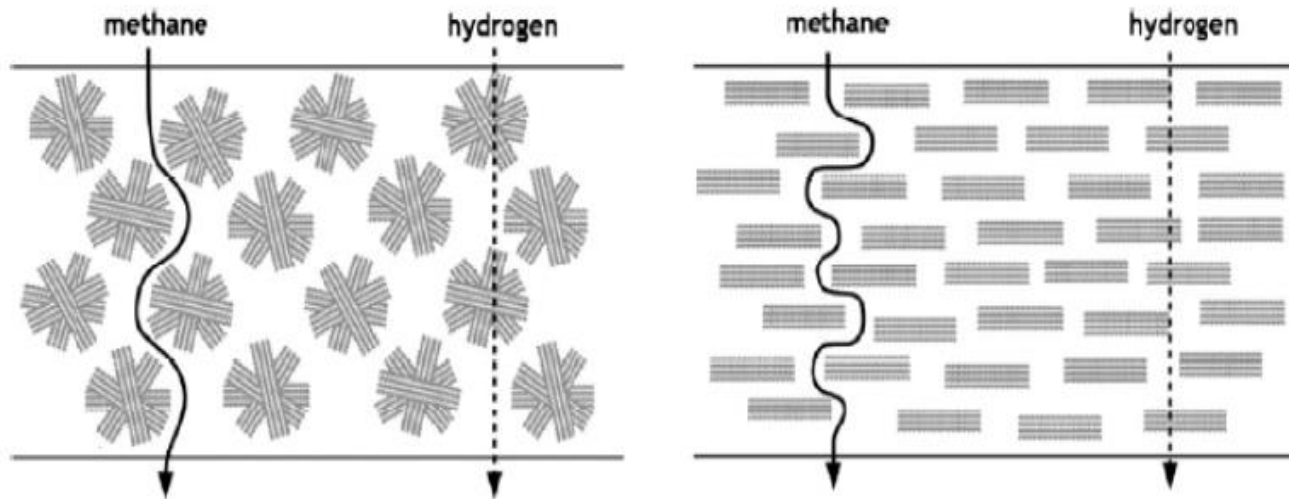


Fig. 3. Scheme of the approach for MMMs using sheet-shaped inorganic materials with horizontal orientation.



*S. Husain, W.J. Koros / Journal of Membrane Science 288 (2007) 195–207*

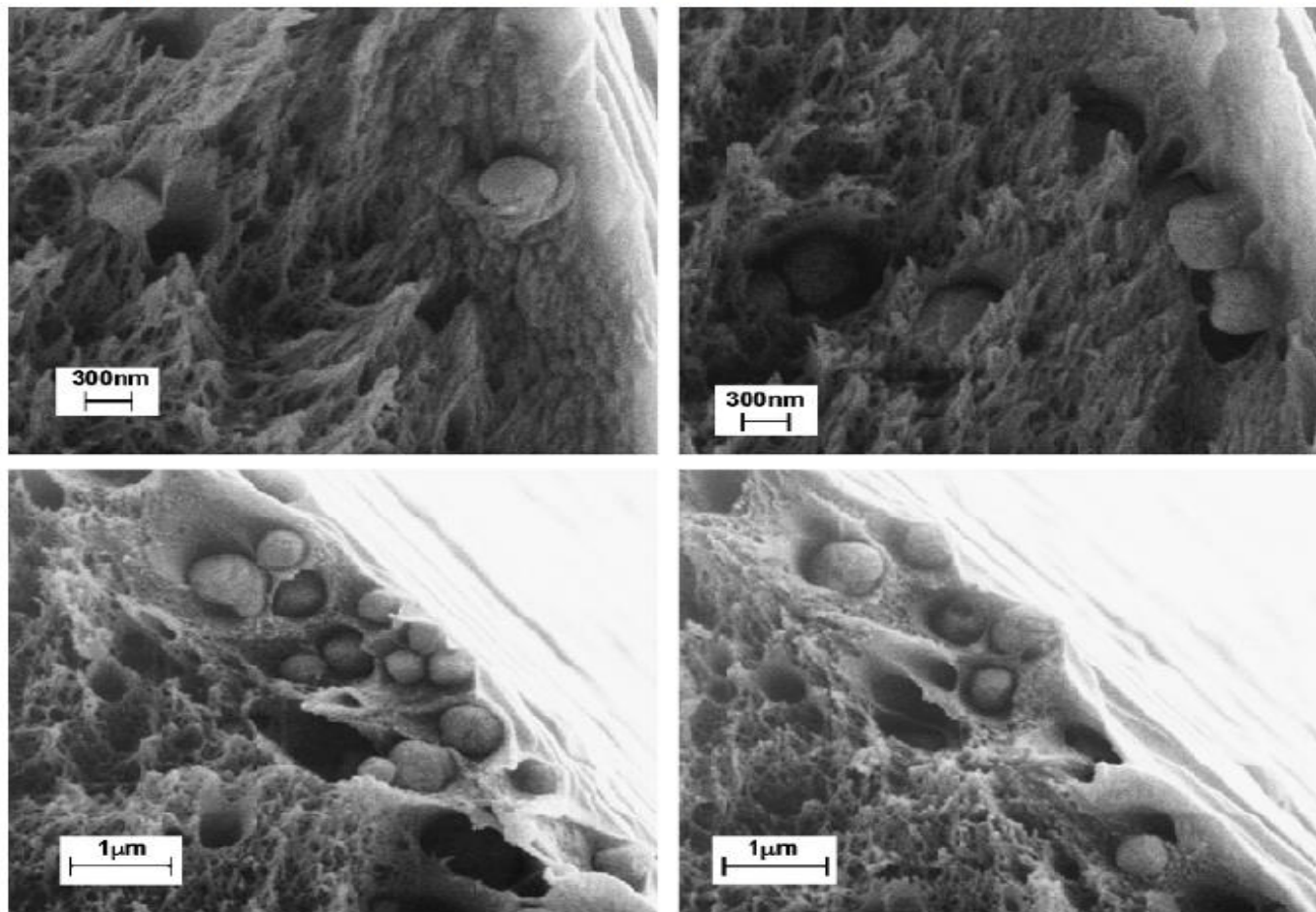


Fig. 5. SEM microphotographs of the skin region showing sieve-in-a-cage morphology in mixed matrix hollow fiber membranes incorporating Ultem<sup>®</sup> "sized" HSSZ-13 zeolites.

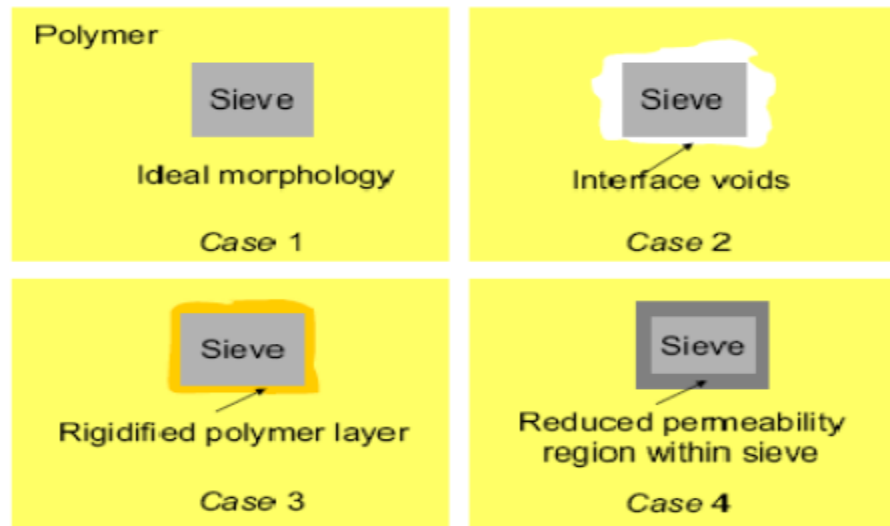


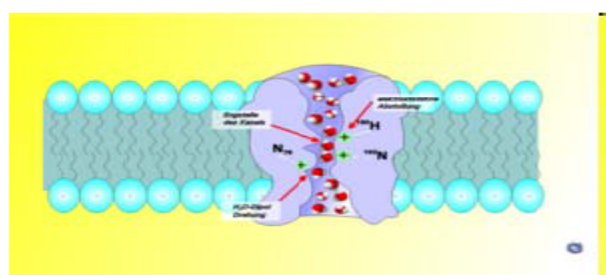
Fig. 8. The schematic diagram of various nanoscale morphology of the mixed matrix structure.

T.-S. Chung et al. / Prog. Polym. Sci. 32 (2007) 483–507

⇒ Very few papers can be found on the mass production of defect free nano-engineered Materials. This is one of the next challenges in membrane engineering:



# Mimicking natural beauty...



Aquaporins= water channel through bilipidic bi-layers

Agre P, Preston GM, Smith BL, Jung JS, Raina S, Moon C, Guggino WB, Nielsen S (1 October 1993). *Am. J. Physiol.* 265 (4 Pt 2): F463–76.

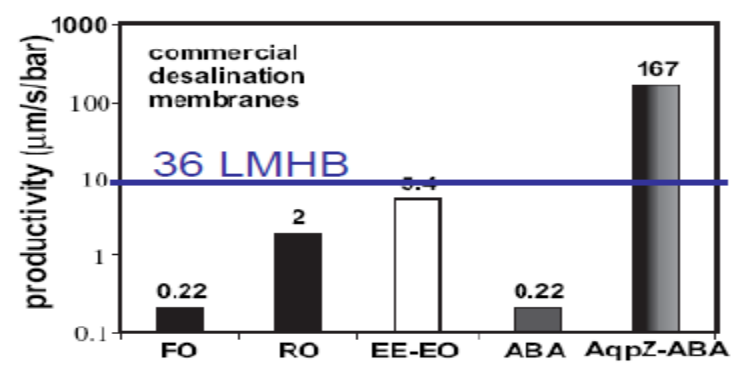


Fig. 5. Comparison of reported permeability values for polymeric membranes to those obtained in this study. FO is a commercial forward-osmosis membrane with data from McCutcheon and Elimelech (37) at 20°C. RO is a commercial reverse-osmosis desalination membrane with data from Matura (38) at room temperature (assumed 25°C). EE-EO is a polyethylene-polyethylene oxide diblock polymer with data from Discher *et al.* (13) at 20°C. ABA represents the polymer vesicles used in this study with permeability calculated at 20°C. AqpZ-ABA represents the polymer vesicles with incorporated AqpZ at 1:50 molar ratio used in this study at 20°C. Data for ABA and AqpZ were obtained at 5.5°C and calculated at 20°C by using  $E_a$  values.

M. Kumar, M. Grzelakowski, J. Zilles, M. Clark, W. Meier, PNAS, 104(52) (2007) 20723–20728

# Nanostructured particles: ideal candidate for desalination membranes ?

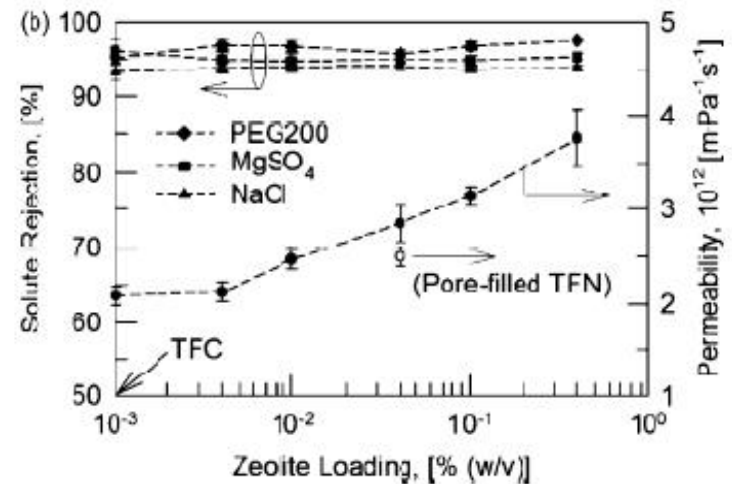
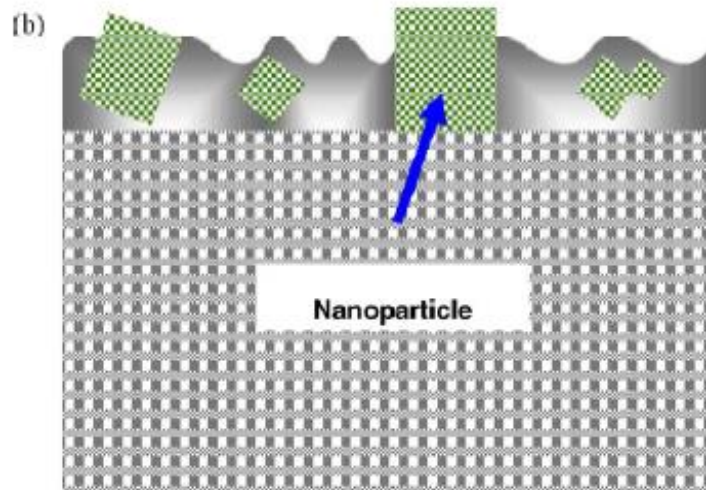
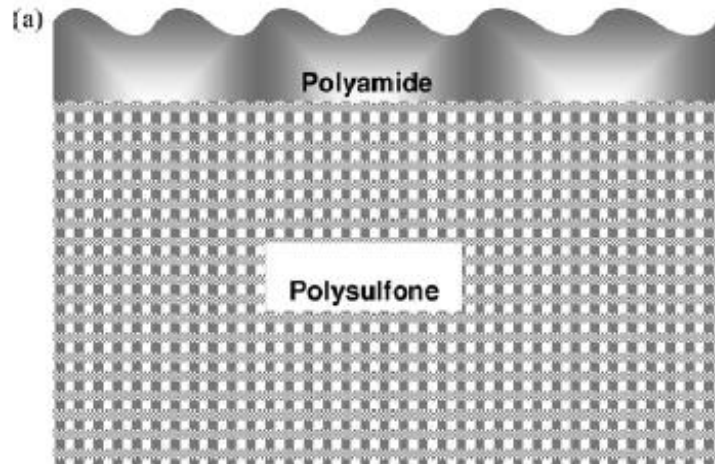
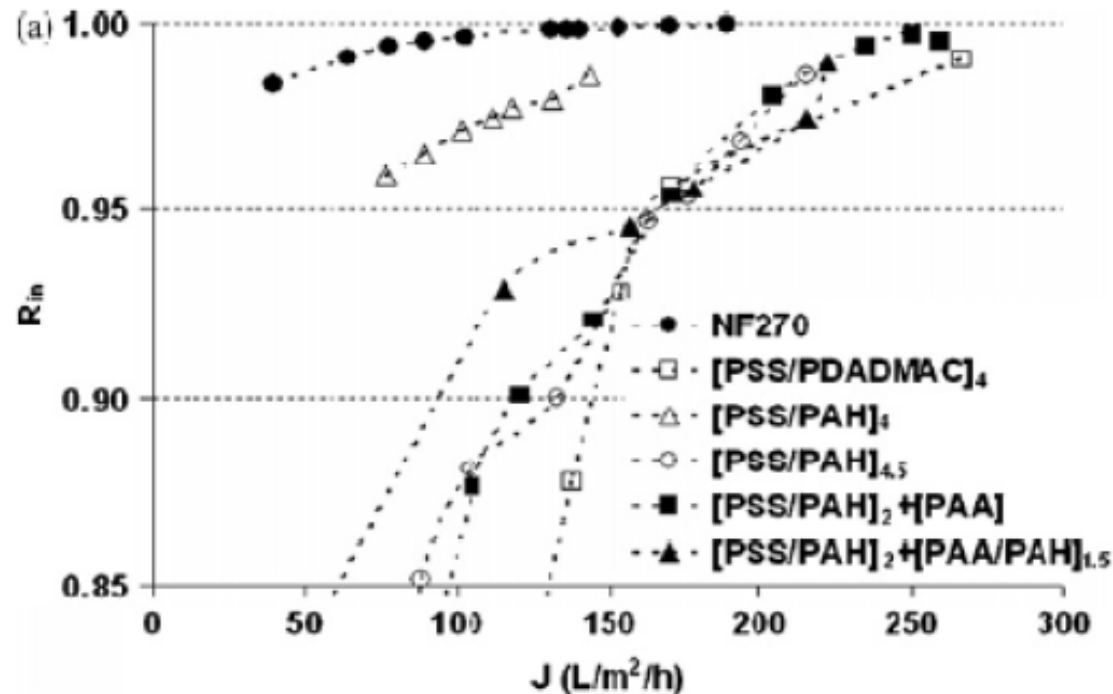


Fig. 5. Effect of zeolite loading on (a) surface properties and (b) separation performance of synthesized TFC and TFN membranes. Note: TFC data are plotted at  $10^{-3}$  for convenience.



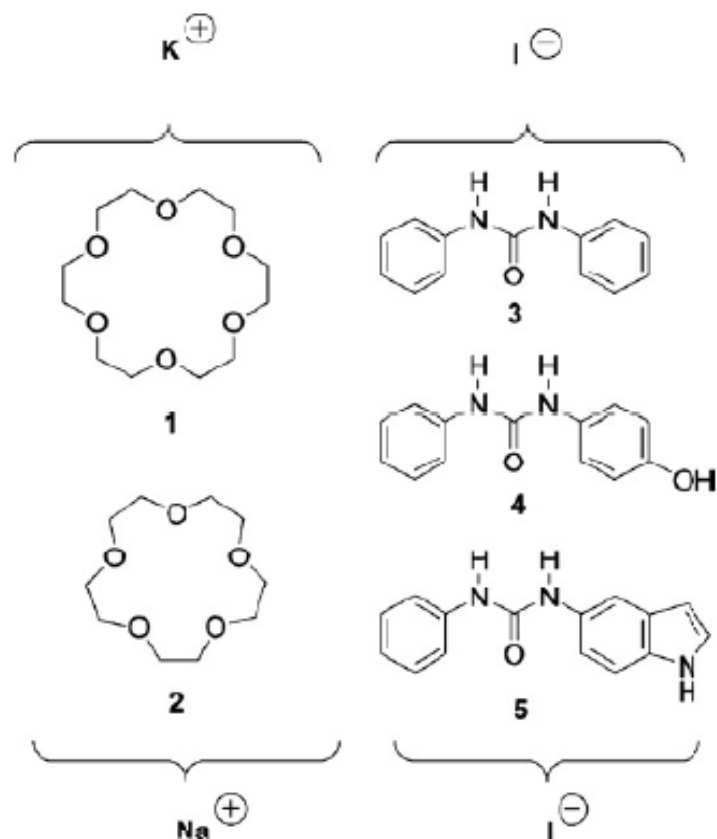
# Layer-by-layer fabrication or modification of membranes



Polyelectrolyte multilayer films as backflushable nanofiltration membranes with tunable hydrophilicity and surface charge, W. Shan, P. Bacchin, P. Aimar, M. L. Bruening, V. V. Tarabara, *Journal of Membrane Science* 349 (2010) 268–278.

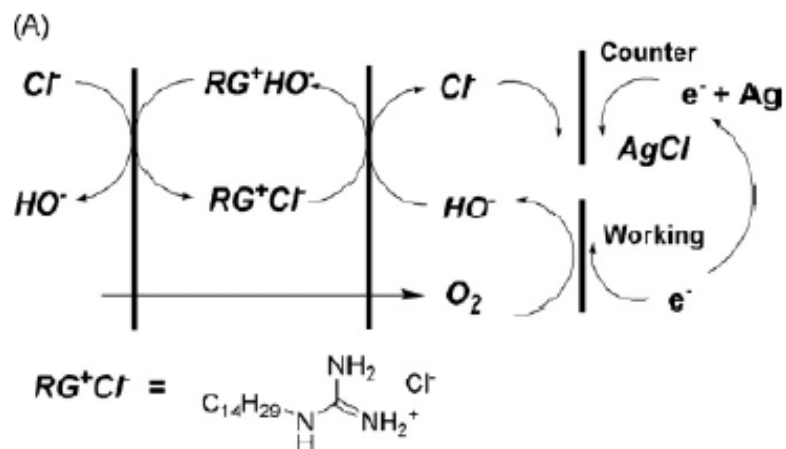
Poly(diallyldimethyl ammonium chloride) ( $M_w = 100,000$ – $200,000$ ), poly(allylamine hydrochloride) ( $M_w = 70,000$ ), and poly(styrene sulfonate) ( $M_w = 70,000$ )

# Design of ion channels by supramolecular chemistry



**Scheme 1.** Structures of the cation-carriers 18-crown-6, **1** and 15-crown-6, **2**  $M_1$ - $M_3$  and of the phenylureidoarene anion-carriers **3**-**5**.

Mixed supramolecular cation-carrier and anion-carrier facilitated transport for the selective alkali cations transport, C. Arnal-Hérault, M. Michau, M. Barboiu, JMS (321) 2008.



Nanoarchitected membranes:  
make good sensors



Fig. 3. (A) Antiport transport cycle for a printed DO sensor. (B) Layout of the electrodes on the substrate (overall dimensions: 20 mm × 70 mm; working electrode: 4 mm diameter; membrane opening in the covering dielectric: 13 mm diameter).

# Beyond the nanometric scale: Let's scale-up!

An interesting example at the University of Twente... at the microscale

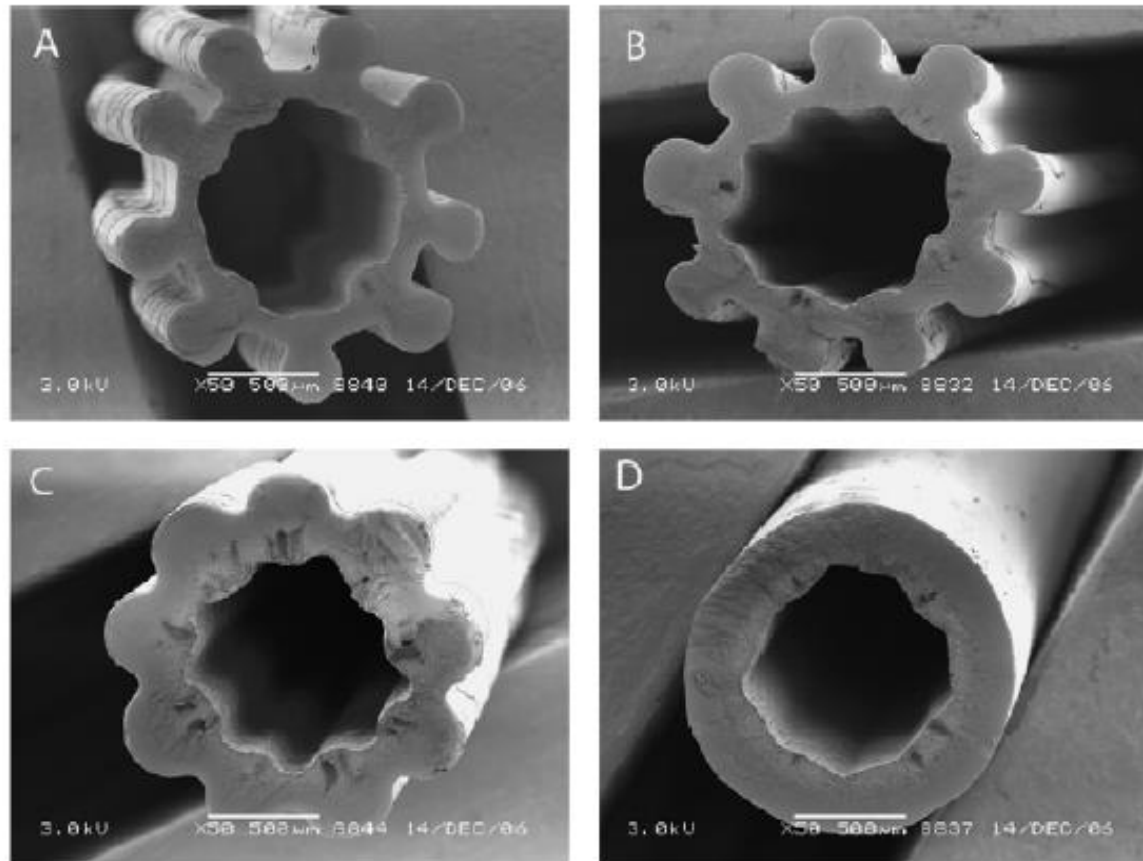


Fig. 2. Fibers spun with dope D1, using air gaps of (a) 5 mm, (b) 12 mm, (c) 32 mm and (d) 58 mm.

Microstructured hollow fibers for ultrafiltration, P. Zeynep C, ulfaz, E. Rolevink, C. van Rijn, R. G.H. Lammertink, M. Wessling, Journal of Membrane Science 347 (2010) 32–41

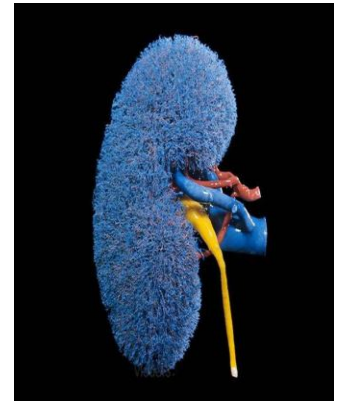
# Concluding remarks

- Membrane technologies are at the nanometric scale
- Membranes not yet involved in (literally) “nanotechnology”
- The interest of the “Membrane community” for nano\* is still growing fast.
- Papers on membranes in sensors or “lab-on-chip” (the smallest scale devices so far in operation) are published elsewhere (Small, Lab-on-Chip, Nano, ...)
- Promising perspective for membrane technology:
  - Properties of nanometric particles
  - Self assembling molecules or supramolecular architecture.
- Next challenges are CO<sub>2</sub> capture / Water supply and treatment / Gas purification / Fuel cells for ground transportation etc....:
  - ⇒ **mass production is the issue**

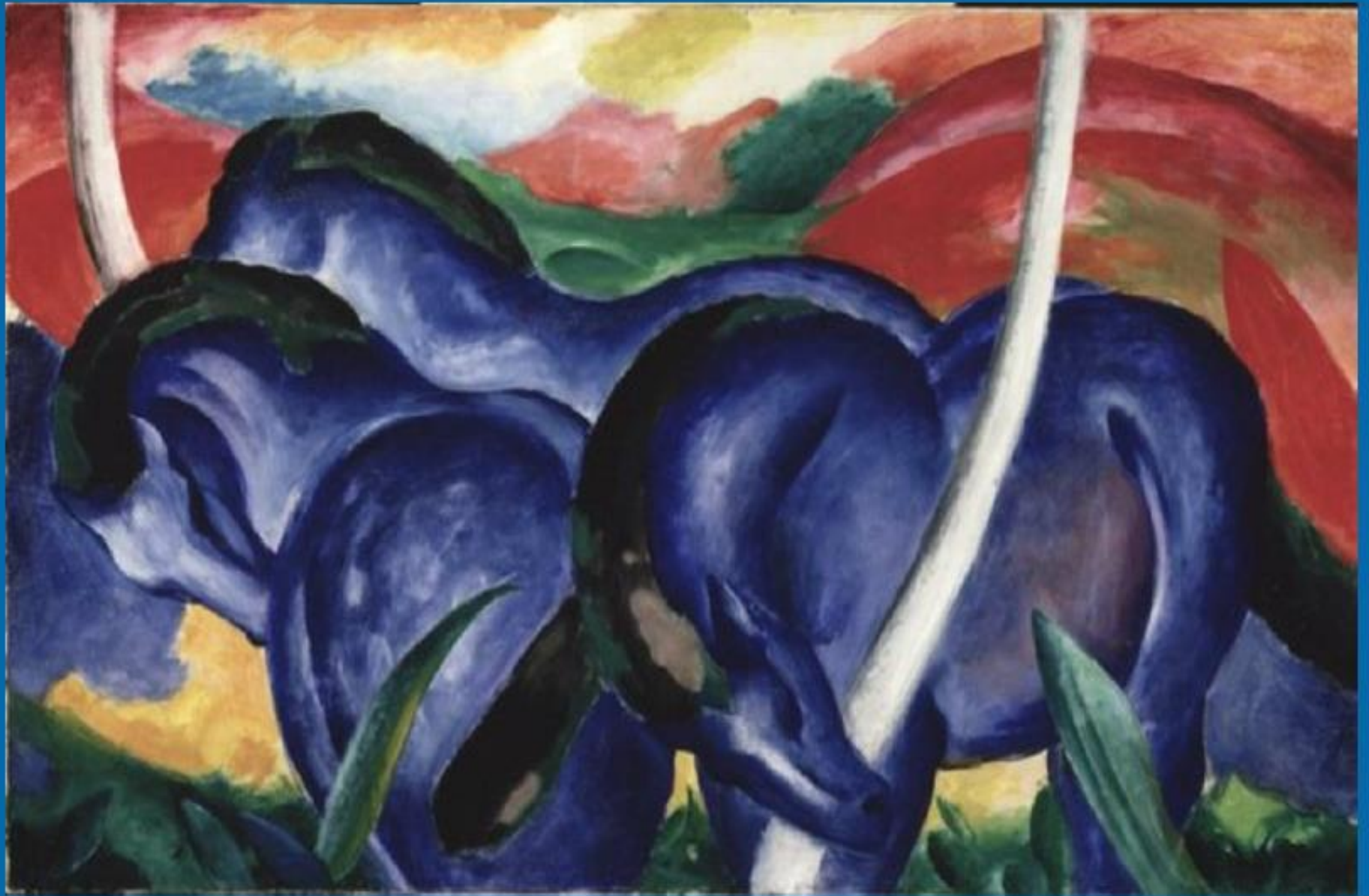


**“ If I have seen further it is because I  
have stood on the shoulders of  
Giants”**

**Sir Isaac Newton**



**“One must not stay within the lines”- Eric Carle**





# Back-up slides

# Dialysis



- What is dialysis?

Dialysis is a membrane process where solutes (MW~<100 Da) diffuse from one side of the membrane (feed side) to the other (dialysate or permeate side) according to their concentration gradient. First application in the 70's.

## ● General Principles

- Separation between solutes is obtained as a result of differences in diffusion rates.
- These are arising from differences in molecular size and solubility.
- This means that the resistance increases with increasing molecular weight.

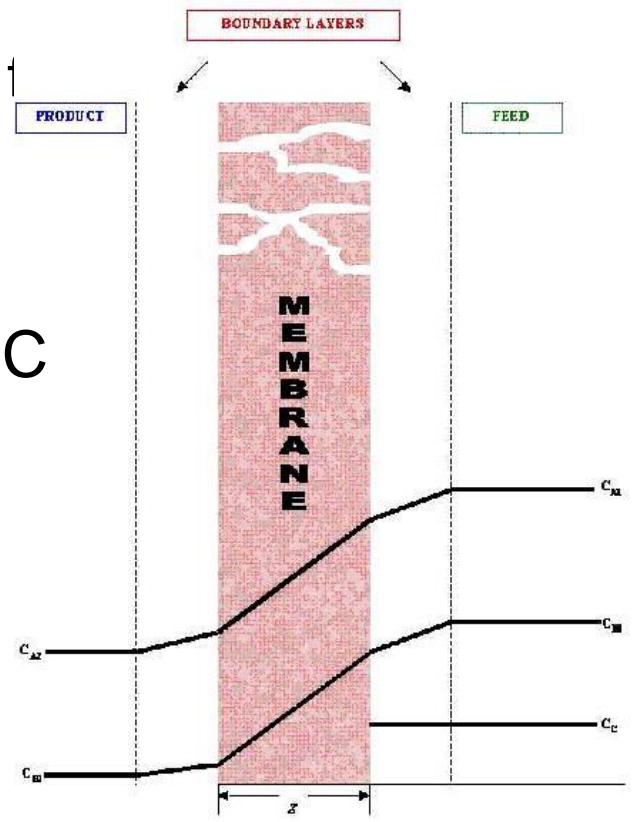


# Dialysis

A typical concentration profile  
boundary layer resistances

contains low-molecular-weight solute, A  
intermediate size molecules, B  
colloid, C

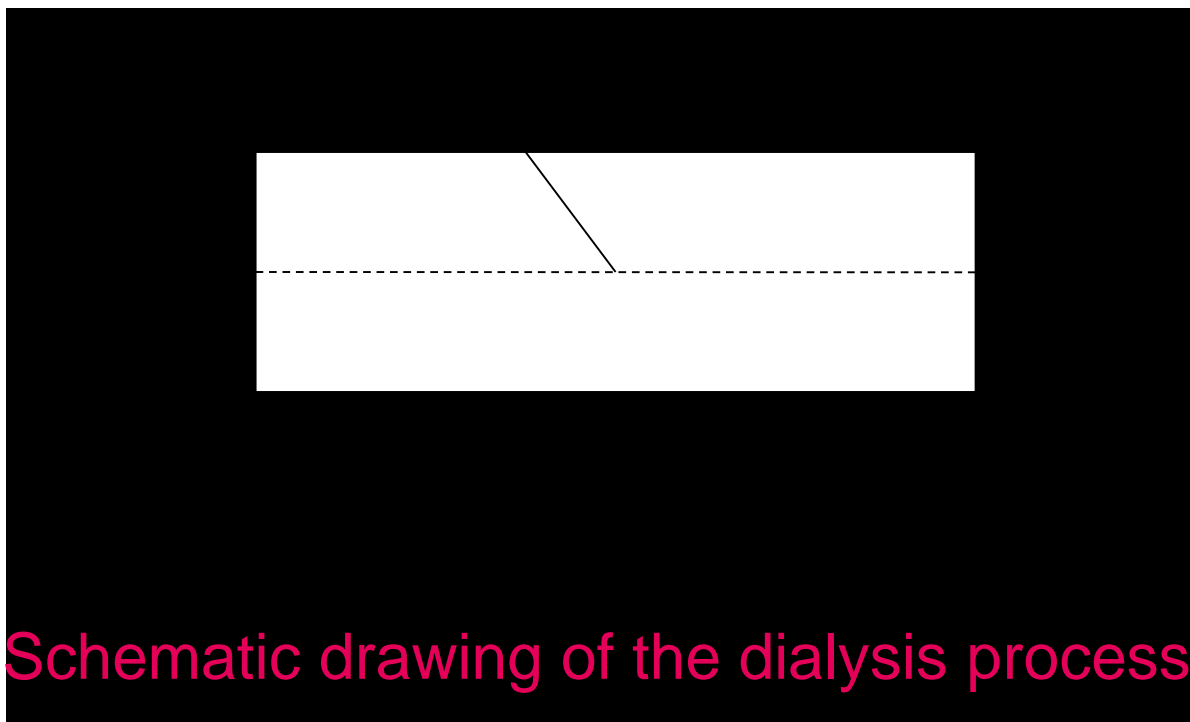
CONCENTRATION GRADIENTS IN DIALYSIS





In order to obtain a high flux, the membrane should be as thin as possible

# Dialysis



Schematic drawing of the dialysis process



## Membranes

# Dialysis

- homogeneous
- Thickness: 10 – 100  $\mu\text{m}$
- Membrane material: hydrophilic polymers  
(regenerated cellulose such as cellophane, cellulose acetate, copolymers of ethylene-vinyl alcohol and ethylene-vinyl acetate)
- Membrane application: optimum between diffusion rate and swelling

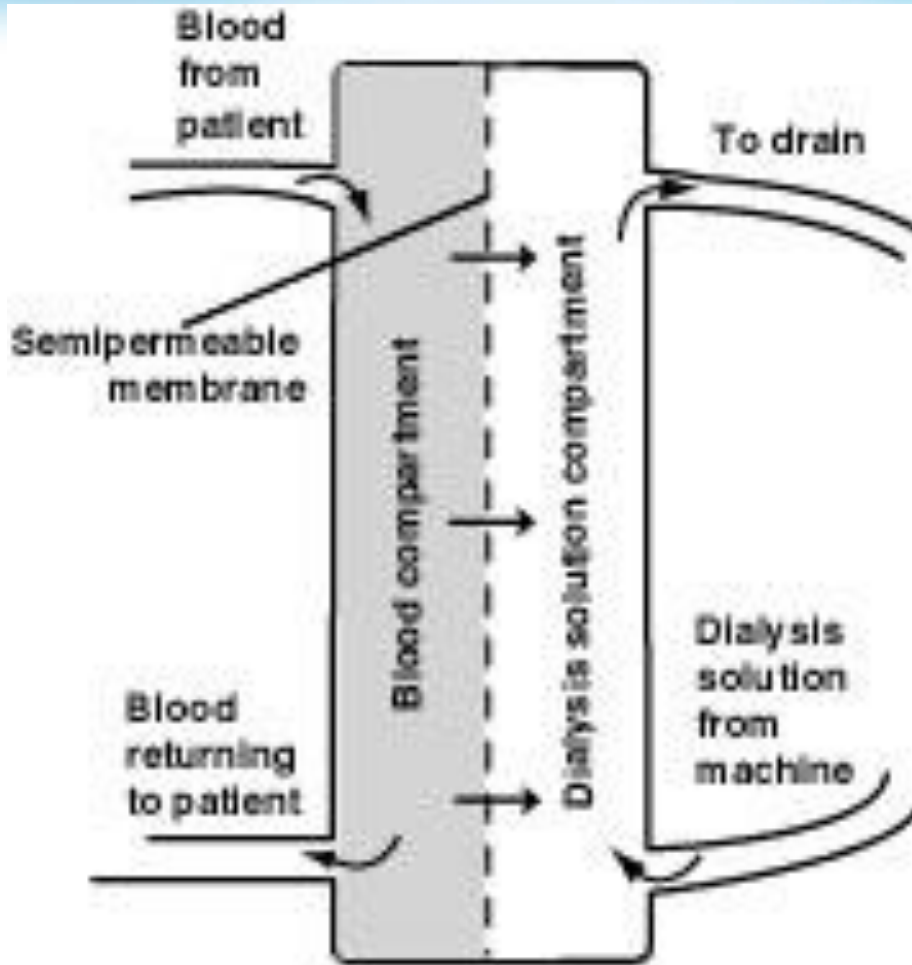


The solutes separate by passing through the membrane that behaves like a fibre filter and separation occurs by a sieving action based on the pore diameter and particle size (i.e. smaller molecules will diffuse faster than larger molecules).

Transport proceeds via diffusion through a nonporous membranes.

Membranes are highly swollen to reduce diffusive resistance.

# ΚΛΙΝΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ



### Inside the Dialyzer

Blood from your body enters the machine and flows past one side of a membrane.

The membrane is a barrier that keeps blood and dialysate from mixing, but lets waste through.

Dialysate is a special fluid that pulls waste from blood. It flows past the other side of the membrane.

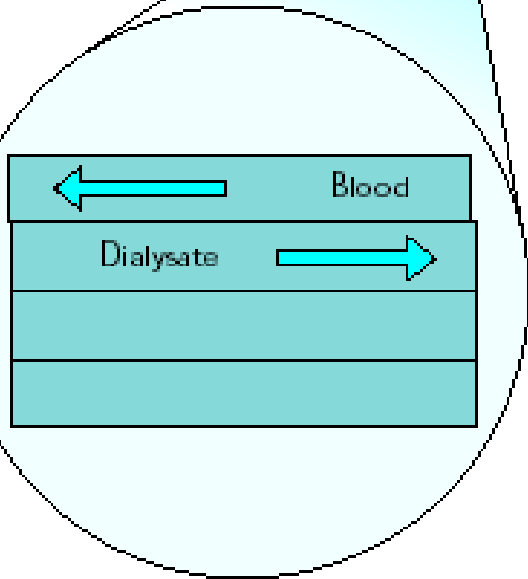
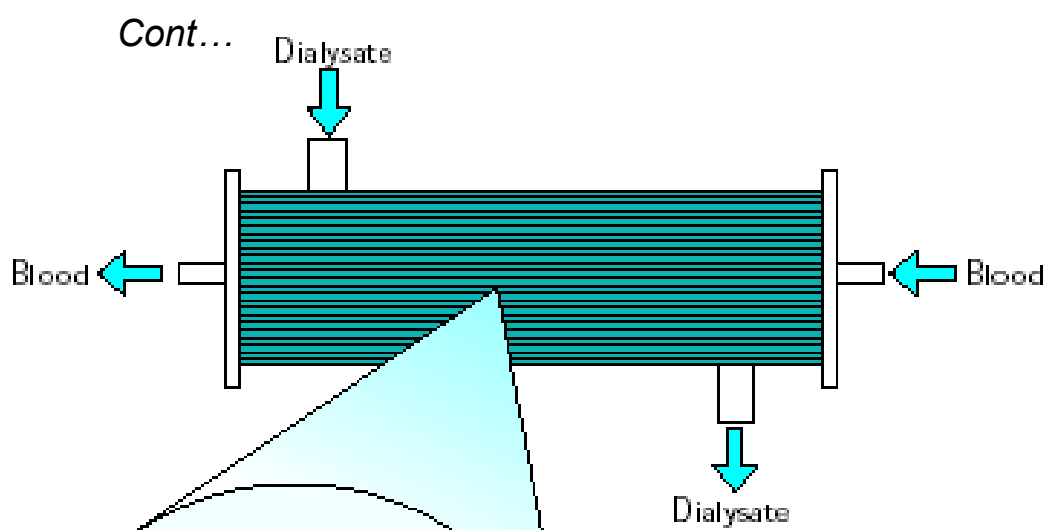
Waste, extra fluid, and chemicals move through the membrane into the dialysate.

Clean, filtered blood goes back to your body.

Dialysate with waste

Fresh dialysate

The diagram shows a cross-section of a dialyzer. A central tube carries blood from the patient (top) down to the bottom, where it is filtered and returns to the patient. On either side of this central tube is a chamber for dialysate. Arrows indicate the flow of dialysate from the bottom (labeled "Fresh dialysate") to the top (labeled "Dialysate with waste"). A semi-permeable membrane separates the blood from the dialysate. Small circles representing waste are shown moving from the blood side through the membrane into the dialysate side.



Blood from the patient is circulated through a synthetic extracorporeal membrane and returned to the patient. The opposite side of that membrane is washed with an electrolyte solution (dialysate) containing the normal constituents of plasma water

## Clinical implications of hemodialysis membrane biocompatibility



**Table 4. Biocompatibility factors in the development of  $\beta_2$ m amyloid bone disease**

- 
- A. Cellulosic membranes lead to an increase of synthesis and release of  $\beta_2$ m by MNC
  - B. Cellulosic membranes lead to the release of proteases (gelatinase, elastase) and ROS which favor polymerization of  $\beta_2$ m into amyloid.
  - C. Low flux cellulosic membranes do not adsorb or clear  $\beta_2$ m from the circulation.
  - D. Biocompatible membranes favor maintenance of residual renal function and endogenous  $\beta_2$ m excretion.
- 



## EDITORIALES

### *Clinical relevance of biocompatibility. «The material cannot be divorced from the device»*

H. Klinkmann (1), D. Falkenhagen (1) and J. H. Courtney (2)

(1) Klinik für Innere Medizin, W-Pieck University Rostock, República Democrática de Alemania. (2) Bioengineering Unit, University of Strathclyde, Glasgow, Reino Unido.



**Table II.** (Toxic?) substances being used for production of cellulose hollow fibers dialyzers

| Extrusion medium             | Hollow fiber production |                       | Dialyzer + Blood line production |                       |               |
|------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|---------------|
|                              | Care fluid              | Regeneration step     | Care fluid removal               | Polymer (resin)       | Sterilization |
| aqueous cooper ammonia       | isopropyl myristate     | acid or alkaline bath | organic solvent                  | Isocyanate<br>Polyole | ethylene      |
| Glycerin<br>Carbon disulfide | other organic liquids   |                       |                                  | plasticizer           |               |

**Table III.** (Toxic?) substances being used for the hemodialysis procedure (hemofiltration)

| Dialysate  | Heparin, Drugs<br>Infusion solutions<br>(Substitute) | Reused dialyzer                                 |
|--|--|---|
| Nitrate<br>Sulfate<br>Chloramines<br>Heavy metals<br>Bacteria and pyrogens | Bacteria and pyrogens<br>Viruses                     | Formaldehyde<br>Bacteria<br>Pyrogens<br>Viruses |

## EDITORIALES

### *Clinical relevance of biocompatibility. «The material cannot be divorced from the device»*

H. Klinkmann (1), D. Falkenhagen (1) and J. H. Courtney (2)

(1) Klinik für Innere Medizin, W-Pieck University Rostock, República Democrática de Alemania. (2) Biengineering Unit, University of Strathclyde, Glasgow, Reino Unido.



---

#### Table V. Possible clinical relevant. Biological activity of complement activation

---

##### Acute

- Anaphylatoxic reaction.
- Smooth muscle contraction.
- Microcirculatory disturbances.
- Pyrogenic reactions.
- Hypotension.

##### Chronic

- Pruritus, deficiency of host defence mechanism.
  - Disturbances of protein metabolism.
  - Production of amyloid like substances.
- 

---

#### Table VI. Possibilities to diminish the activation of the complement system in dialysis

---

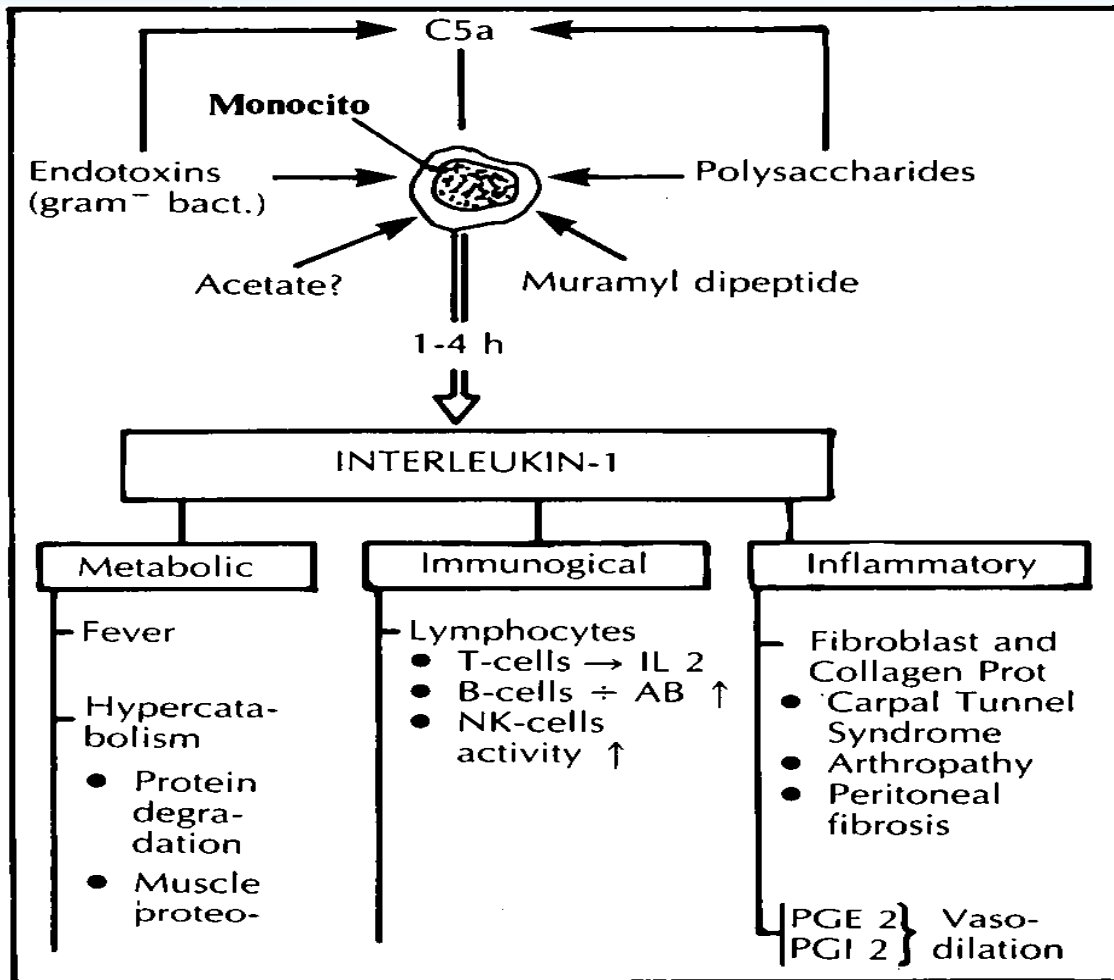
- Membrane Modification.
  - Reduction of Surface Area.
  - Larger Pore Size.
  - Reuse.
  - Decrease of Dialysate Temperature.
  - Application of Complement Inhibiting Anticoagulation.
-

## EDITORIALES

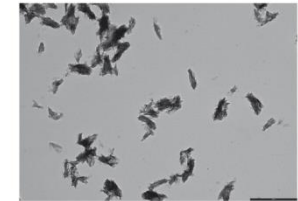
# Clinical relevance of biocompatibility. «The material cannot be divorced from the device»

H. Klinkmann (1), D. Falkenhagen (1) and J. H. Courtney (2)

(1) Klinik für Innere Medizin, W-Pieck University Rostock, República Democrática de Alemania. (2) Bioengineering Unit, University of Strathclyde, Glasgow, Reino Unido.



INDEXED BY EBSCO, MEDLINE, EMBASE, AME, BECS, SCIELO  
**nefrología**  
VOLUMEN 24 - NÚMERO 1 - 2014



TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2 EN EL PACIENTE CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA  
VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS NIVELES SÉRICOS DEL RECEPTOR SOLUBLE DE LA UROGINASINA  
CRACALCET TRAS EL TRASPLANTE RENAL  
DIÁLISIS PERITONEAL EN ESPAÑA  
MICROHEMATURIA PERSISTENTE CON PROTEINURIA NEGATIVA

Asociación Española de Nefrología  
Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología  
Versión integrada en español en [www.revistanefrologia.com](http://www.revistanefrologia.com)

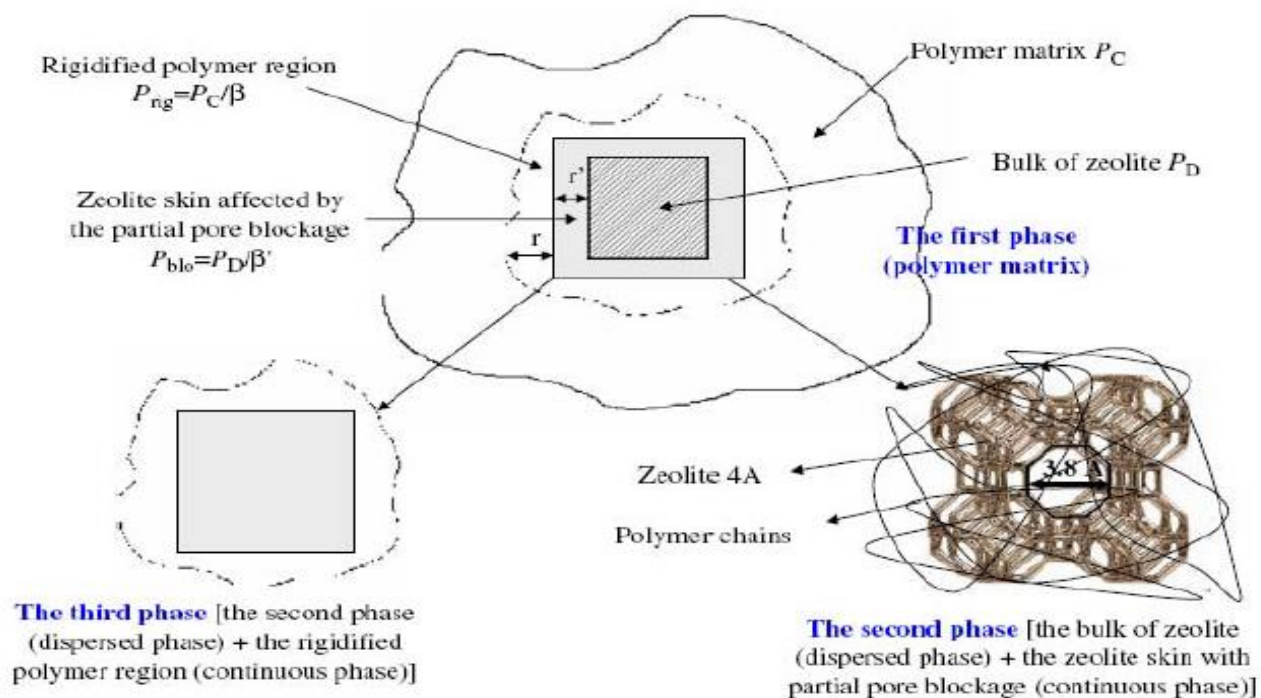


Fig. 15. Schematic diagram for the modified Maxwell model simultaneously considering both zeolite pore blockage and polymer chain rigidification [67].

