

Mikrodialýza

Pracovníci ústavu lékařské chemie a biochemie se zabývají aplikací mikrodialýzy pro výzkum metabolismu tkání, biotransformaci léčiv a střevní bariérové funkce. Zaměřují se na vliv zánětu na střevní stěnu a v dlouhodobém horizontu usilují o tvorbu nových elektrochemických detektorů pro on-line mikrodialýzu.

Střevní propustnost

Složení střevní mikroflóry je do značné míry ovlivňováno kvalitou (složením stravy). Dále je také regulováno slinami (lysozymy), žaludeční kyselinou (pH), žlučí (laktoferrin, nekonjugované žlučové kyseliny) pankreatickou šťávou (lipáza) a střevní motilitou. Důležitou roli rovněž hraje regenerace buněk střevní sliznice. Střevní mikroflóra má vlastní regulační schopnosti (tzv. kolonizační rezistence), brání průniku nežádoucích organizmů a látek, inhibuje patogenní mikroflóru baktericidním působením mastných kyselin s krátkým řetězcem a produkcí peroxidu vodíku a sirovodíku.

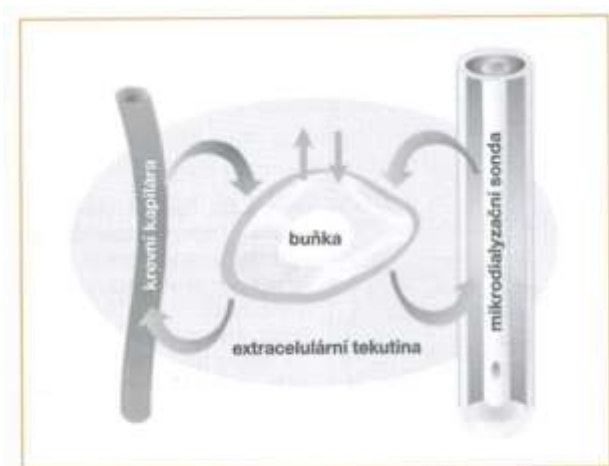
Metabolismus léčiv a přírodních látek

Metabolismus (biotransformace) je souhrn biochemických reakcí, kterými jsou endogenní i exogenní látky přeměňovány na metabolity. Cílem je zbavit tělo látek toxických, které se absorbovaly do těla ze zevního prostředí, a přeměna, resp. využití látek nutričně hodnotných. Většina léčiv je biotransformována nespecifickými enzymy vázanými v hladkém retikulu (mikrozomech) především jaterních buněk, v plicích, ledvinách, střevu aj. Jejich vlivem vznikají metabolity s vyšší rozpustností ve vodě, které se nemohou reabsorbovat a z těla se vylučují (exkretují). Tento pochod se nazývá biodegradace.

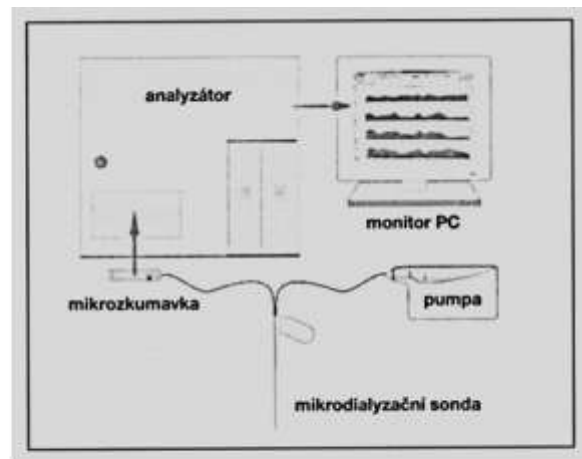
Významný vztah k bariérové funkci střeva má střevní mikroflóra, protože brání masivnímu průniku makromolekulárních látek. Poškození střevní bariéry hraje roli v patogenezi některých chorob např. u nemocných v kritickém stavu, po operacích, při zánětech střeva nebo při podávání léčiv (např. laxativa nebo antibiotika přímo ovlivňují střevní mikroflóru). Změny střevní propustnosti jsou také popisovány po chemoterapii nebo radioterapii.

Princip mikrodialyzační techniky

Technika mikrodialýzy je založena na obousměrné prosté difúzi látek (iontů, metabolitů, xenobiotik atd.) po jejich koncentračním gradientu probíhající mezi perfúzním médiem a okolním tkáňovým mokem skrze semipermeabilní membránu (obr. 1). Nejjednodušší mikrodialyzační systém sestává ze sondy, vstupního a výstupního systému trubic, perfúzní pumpy, perfúzního roztoku, sběrných mikrozkuvek a samozřejmě vyšetřovaného subjektu (obr. 2). Perfúzní roztok je volen tak, aby co nejlépe odpovídal extracelulární tekutině (ECT), se kterou přijde do kontaktu a umožnil tak žádoucí výměnu látek. Polopropustná membrána je součástí mikrodialyzační sondy, kdy v závislosti na jejím designu tvoří zakončení. Sondu lze zavést a fixovat v jakékoliv tkáni nebo tělesné tekutině, včetně střevní stěny zvířat nebo lidí. Pumpou může být jakýkoliv perfuzor schopný kontinuálního lineárního dávkování kapaliny řádově v desetinách až jednotkách mikrolitrů za minutu optimálně s nastavitelným průtokem u několika stříkaček. Sběrné mikrozkuvky lze od běžných mikrozkuvek s výhodou využít v klinice, kde ve spojení se zvláště upraveným komerčně vyráběným „bed-side“ analyzátozem poskytují snadné a rychlé měření i u lůžka pacienta. V případě tzv. „on-line“ mikrodialýzy může experimentátor napojit odtokový systém přímo do sběrného analytického modulu (např. on-line injektor u HPLC) nebo elektrochemické cely.



Obr. 1 Princip mikrodialýzy



Obr. 2 Schéma mikrodialýzy