

Received: 2007.03.05  
Accepted: 2007.04.24  
Published: 2007.06.13

## Mikrodializa – zastosowanie metody w badaniach eksperymentalnych i klinicznych zaburzeń metabolizmu tkanek\*

### Microdialysis: Its application in experimental and clinical studies of disturbances in tissue metabolism

Iwona Maruniak-Chudek<sup>1</sup>, Janusz Świetliński<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika Intensywnej Terapii i Patologii Noworodka, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach

<sup>2</sup> Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Instytut-Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka, Warszawa

#### Streszczenie

Badanie homeostazy organizmów ludzkich i zwierzęcych, jak i jej zaburzeń w stanach chorobowych, opiera się w znaczącej mierze na pomiarach stężeń substratów i ich metabolitów, głównie w surowicy i moczu. W pracy omówiono nowe możliwości monitorowania metabolizmu tkanekowego związane z wprowadzeniem metody mikrodializy, w której materiałem do badań jest dializat płynu pozakomórkowego. Metoda mikrodializy dostarcza informacji nie tylko o zaburzeniach ogólnoustrojowych, ale umożliwia również wgląd w metabolizm lokalny narządu czy tkanki. Metoda ta znalazła dotychczas zastosowanie w badaniach doświadczalnych na modelach zwierzęcych (np. w neurofizjologii), jak i w praktyce klinicznej (epizody niedokrwienne mózgu, zaburzenia glikemii, badania farmakodynamiczne).

Technika mikrodializy jest relatywnie prosta i opiera się na implantowaniu sondy mikrodializacyjnej do badanej tkanki/narządu, a następnie na analizie próbek uzyskiwanego dializatu płynu pozakomórkowego. W ciągu ostatnich dwudziestu lat sondy mikrodializacyjne wprowadzono do różnych tkanek i narządów: mózgu, mięśni szkieletowych, podskórnej tkanki tłuszczowej, tkanek (płat skóry) i narządów przeszczepianych (wątroba), ścięgien, skóry, gruczołu sutkowego, mięśnia sercowego, jelit, płuc, jam ciała. Jej zaletą jest możliwość dokonywania częstych pomiarów (co 20–60 min) stężeń glukozy, glicerolu, mleczanów i pirogronianów na przyłóżkowym analizatorze w czasie 2–3 minut.

Mikrodializa niesie ze sobą szerokie możliwości lepszego poznania funkcjonowania organizmu, ale wymaga rozważnego zastosowania i walidacji w warunkach klinicznych w celu opracowania schematów i rekomendacji (stany chorobowe, substancje monitorowane, wartości i trendy referencyjne) dla jej powszechnego użycia.

#### Słowa kluczowe:

mikrodializa • metabolizm • monitorowanie biochemiczne • płyn pozakomórkowy

#### Summary

Homeostasis of human and animal organisms and its disturbance are explored mainly by evaluating metabolic substrates and metabolite concentrations and their changes under different clinical conditions. This review describes a method of tissue biochemistry monitoring by analysis of extracellular fluid dialysate. Microdialysis not only provides information about the general di-

\* Praca jest częścią projektu finansowanego nr 2 PO5E 144 27 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych.

sturbances of the body, but allows insight into the local metabolism of tissues and organs. It can be applied both in experimental conditions (e.g. animal neurophysiology) and in clinical practice (episodes of brain ischemia, glycemic disturbances, pharmacodynamic studies). The technique of microdialysis is relatively simple and is based on microdialysis probe implantation into the studied organ or tissue, followed by measurement of the obtained samples of extracellular fluid dialysate. During the last twenty years, microdialysis probes have been inserted into different part of the living organism: brain, skeletal muscles, subcutaneous adipose tissue, transplanted tissues (myocutaneous flap) and organs (liver), tendons, skin, breast gland, lungs, heart muscle, intestines, and body cavities. The possibility of frequent sampling (every 20–60 minutes) and measuring the concentrations of glucose, glycerol, lactates, and pyruvates with a bedside analyzer in an average time of 2–3 minutes is considered a great advantage of this method. Microdialysis gives many opportunities for a better understanding of how living organisms are functioning, but it requires cautious application and validation in clinical observations in order to make standards and recommendations (diseases and clinical conditions, substances for monitoring, referenced values and trends) for its common medical usage.

**Key words:** microdialysis • metabolism • biochemical monitoring • extracellular fluid

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_61/10562.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10562.pdf)

**Word count:** 7999

**Tables:** –

**Figures:** 3

**References:** 212

**Adres autorki:** dr n.med. Iwona Maruniak-Chudek, Klinika Intensywnej Terapii i Patologii Noworodka, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Górnośląskie Centrum Zdrowia Dziecka i Matki, ul. Medyków 16, 40-752 Katowice; e-mail: ich@mp.pl

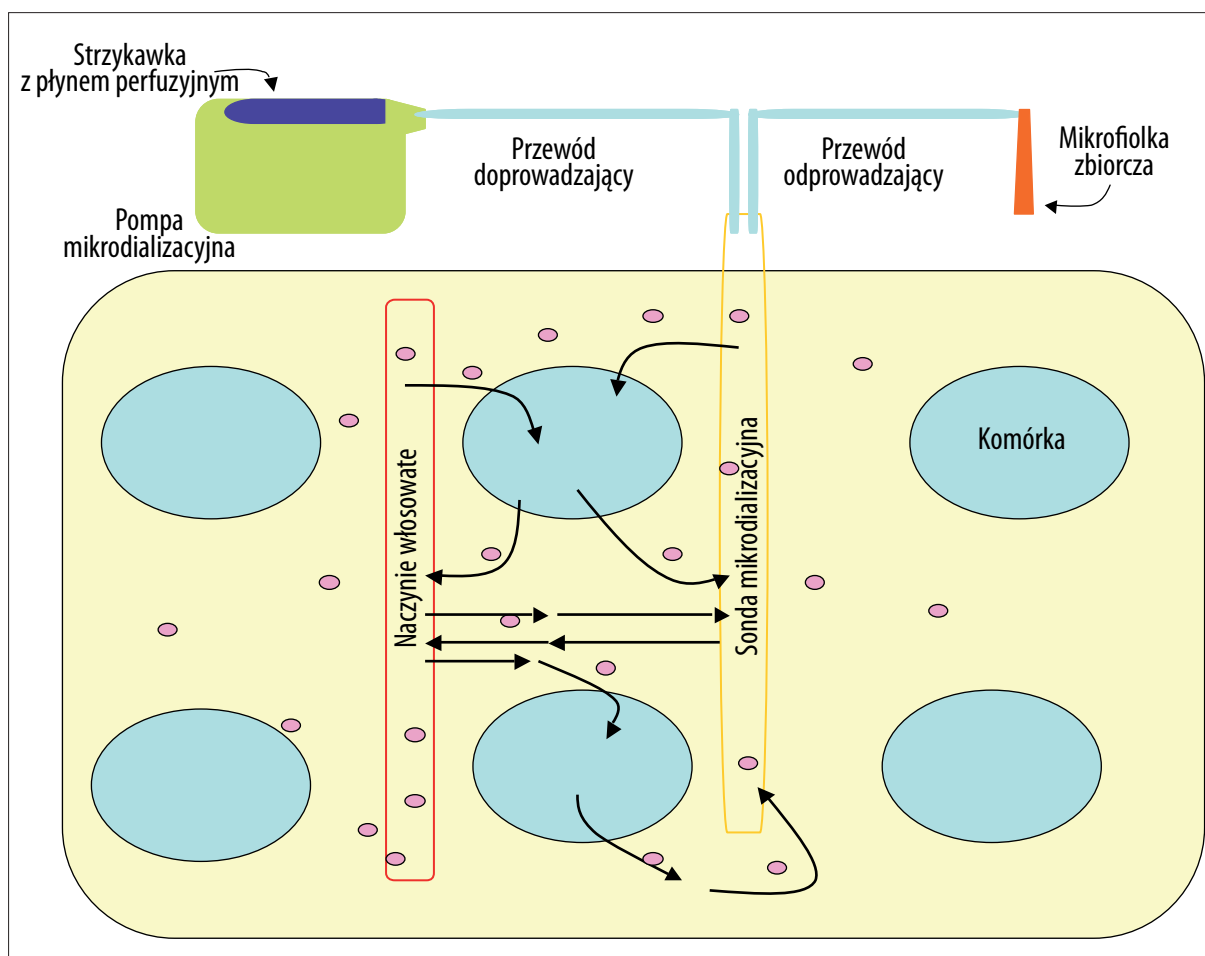
## HISTORIA

Badanie homeostazy organizmów ludzkich i zwierzęcych, jak i jej zaburzeń, opiera się w znaczącej mierze na pomiarach stężeń substancji (substratów i metabolitów) i zmian ich wartości zachodzących w różnych stanach klinicznych i pod wpływem innych związków chemicznych. Niewątpliwie głównym biologicznym materiałem badawczym pozostaje krew. Od lat trwają prace nad wykorzystaniem innych płynów ustrojowych, co wiąże się z rozwojem nowych metod ich pobierania i analizy. Jedną z potencjalnych metod analitycznych została opisana w 1964 r. przez Delgado i Rubinstein, którzy badali stężenia substancji dyfundujących przez błonę półprzepuszczalną [48]. Pierwsze informacje o możliwości badania stężenia substancji chemicznych bezpośrednio w tkankach pochodzą z 1966 r., kiedy to Bito i wsp. opisali użycie błon półprzepuszczalnych w procesie pozyskiwania aminokwasów i elektrolitów z płynu pozakomórkowego mózgu i osocza u psów [19]. W 1972 r. Delgado i wsp. [47] skonstruowali sondę do pozyskiwania substancji z płynu pozakomórkowego, tzw. „dialitrodę”. Koncepcja współcześnie stosowanej mikrodializy narodziła się w latach 70. ub.w. w Instytucie Neurofizjologii Uniwersytetu Karolińskiego (Szwecja) [197]. Obserwacja drobnych naczyń krwionośnych (kapilar) nasunęła Ungerstedtowi pomysł zastosowania rurki z półprzepuszczalnej błony dializacyjnej jako „sztucznego naczynia włosowatego” do badań metabolizmu tkanek. W pierwszych badaniach eksperymentalnych na zwierzętach Ungerstedt i Pycoczek zastosowali tzw. „dziurawe włókna” (hollow fibres), wzorując je na kapilarach używanych w hemodializoterapii [198]. Autorzy wykazali, że metoda ta umożliwia bezpośrednie badanie metabolizmu tk-

nek, uzupełniając obserwacje morfologiczne, histologiczne i kliniczne (zmiany behawioralne) o otrzymywane przeżywcio dane biochemiczne z tkanek w badanych obszarach. Możliwość badania zmian stężeń substancji wytwarzanych przez tkankę nerwową mózgu, a także miejscowego podawania substancji chemicznych wpływających na metabolizm mózgu otworzyło nowe perspektywy badań.

Pierwsze doniesienie o użyciu mikrodializy u ludzi pochodzi z 1987 r., kiedy to Meyerson i wsp. implantowali do ludzkiego mózgu sondę mikrodializacyjną, prowadząc pomiary metabolitów i neuroprzekazników u pacjentów cierpiących na chorobę Parkinsona [136]. Kolejnym krokiem było zastosowanie metodyki mikrodializy u osób poddawanych zabiegom neurochirurgicznym z powodu guzów lub urazów ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Za cel monitorowania przyjęto wczesne wykrywanie epizodów niedokrwienia mózgu [76,163]. Wyniki pierwszych obserwacji, jak również wzrastające zainteresowanie innych ośrodków nowym narzędziem diagnostycznym skłoniło neurofizjologów i neurochirurgów uniwersytetów w Sztokholmie i w Lund do opracowania systemu przyłożkowego monitorowania substancji odzwierciedlających zaburzony metabolizm tkanek i stworzenia przyrządów dla potrzeb klinicznych. W 1995 r. sondy mikrodializacyjne i pozostałe urządzenia przystosowane do użycia u ludzi uzyskały europejskie certyfikaty dopuszczające do stosowania klinicznego. W kolejnych latach metodyka została wprowadzona we wszystkich klinikach neurochirurgicznych w Szwecji.

W ciągu ostatnich dwudziestu lat sondy mikrodializacyjne wprowadzono do różnych tkanek i narządów: mięśni szkieletowych, podskórnej tkanki tłuszczowej, tkanek (płaty skór-



Ryc. 1. Schemat układu do monitorowania biochemii tkanek metodą mikrodiализy

ne) [169] i narządów przeszczepianych [152], ścięgien [111], skóry [90], gruczołu sutkowego [41], serca [8,103], płuc [196], jamy otrzewnowej i jelit [193] oraz żyły udowej [190]. Rosnące zainteresowanie mikrodiализą zarówno w badaniach eksperymentalnych, jak i w różnych specjalnościach medycznych przełożyło się na liczbę publikacji w bazie Medline, obejmującą obecnie ponad 11 tys. tytułów, w tym ponad 1000 opisujących zastosowanie kliniczne u ludzi.

## ZASADA DZIAŁANIA

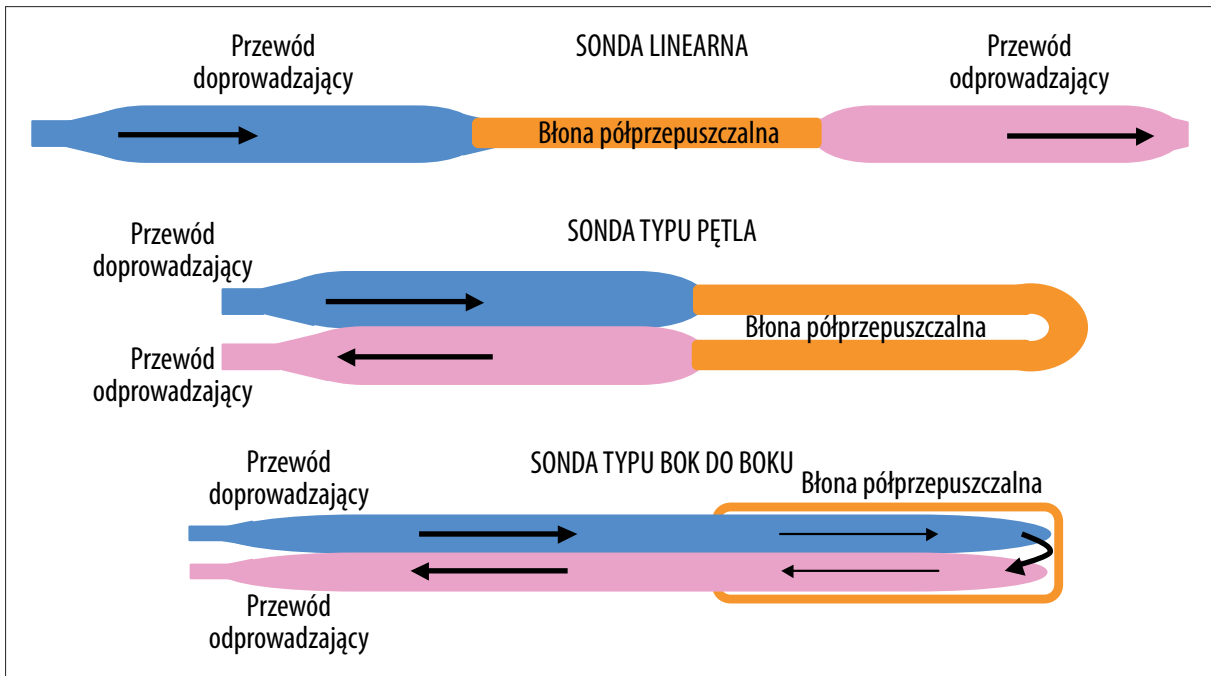
### Sonda mikrodiализacyjna

Nazwa mikrodiализa pochodzi od greckiego słowa *dialysis* (rozdzielać) i odnosi się do procesu separacji cząsteczek w obrębie niewielkiego obszaru. Podstawowym elementem technicznym mikrodiализy jest sonda mikrodiализacyjna, a jej zasadniczą częścią – błona półprzepuszczalna. Z sondą połączone są dwa przewody: doprowadzający (przewodzący perfuzat) i odprowadzający (którym przepływa dializat) [140] (ryc. 1).

Istnieją dwa główne typy sond: a) o różnych miejscach wejścia i wyjścia z tkanki (linearne i typu „shunt”), b) wchodzące do tkanki i wychodzące z niej w jednym punkcie (typu pętla – „loop”, bok do boku – „side by side”, koncentryczne – „concentric”) (ryc. 2).

W sondach liniarnych „dziurawe włókno”, czyli błona półprzepuszczalna, połączona na jednym końcu z przewodem doprowadzającym, a na drugim z odprowadzającym, jest umieszczana w tkankach obwodowych z zastosowaniem prowadnicy, którą usuwa się po ulokowaniu błony półprzepuszczalnej (okienka dializacyjnego) w żądanym obszarze. Nowszą wersją sondy „przepływowej” linearnej to sonda „przeciekowa” (shunt probe), mająca zastosowanie w kaniulacji przewodów żółciowych.

Sondy „jedno wejście/wyjście” charakteryzują się tym, że przewód doprowadzający i odprowadzający biegną obok siebie, a w zależności od kształtu okienka dializacyjnego wyróżnia się sondy: typu pętla lub koncentryczne. Sondy pętla jest używana w badaniach *in vivo* (tkanka podskórna, otrzewna) i *in vitro* (homogenaty tkanek, zawiesiny komórek, osocze). Najczęściej wykorzystywana w badaniach na zwierzętach i w obserwacjach u ludzi jest sonda koncentryczna: zbudowana z cylindrycznej błony półprzepuszczalnej zamkniętej w końcu dystalnym. Kanał wewnętrzny (wewnątrz cylindra) oraz kanał zewnętrzny (utworzony przez błonę półprzepuszczalną) w części proksymalnej łączą się z przewodami: doprowadzającym i odprowadzającym. Różnica między sondami koncentrycznymi stosowanymi w medycynie eksperymentalnej oraz implantowanymi do tkanek ludzkich dotyczy kierunków przepływu płynu w kanale zewnętrznym i wewnętrznym oraz długości błony



Ryc. 2. Typy sond mikrodializacyjnych

ny dializacyjnej. W sondach zwierzęcych płyn perfuzyjny jest pompowany przez kanał wewnętrzny i przy dystalnym jego końcu zmienia kierunek przepływu przechodząc do kanału zewnętrznego, gdzie w części dystalnej sondy następuje dyfuzja cząsteczek z płynu pozakomórkowego. W sondach zastosowanych u ludzi wprowadzono zmianę kierunku przepływu w celu skrócenia czasu transportu dializatu do mikrofiolki zbiorczej (redukcja przestrzeni martwej); płyn perfuzyjny przepływa kanałem zewnętrznym sondy i w części dystalnej wpływa do kanału wewnętrznego (o mniejszej średnicy), którym jest transportowany do przewodu odprowadzającego.

Modyfikacją sondy koncentrycznej jest typ „bok do boku”, w której kanały (dopływ i odpływ) są połączone bokami i otoczone cylindryczną błoną półprzepuszczalną zamkniętą na końcu dystalnym.

Błona półprzepuszczalna sond stosowanych u ludzi jest wykonana z poliamidu, a w sondach zwierzęcych wykorzystywane są inne materiały (poliwęglany, polisulfony, kuprofan). Przewody doprowadzające i odprowadzające są zwykle wykonane z polietylenu (poliuretanu), charakteryzują się giętkością i nie wchodzi w reakcje z perfuzatem/dializatem. Przewody łączą się z sondą klejem cyjanoakrylowym.

Zasada działania sondy opiera się na zjawisku dyfuzji substancji zgodnie z gradientem stężeń między płynem pozakomórkowym a perfuzatem.

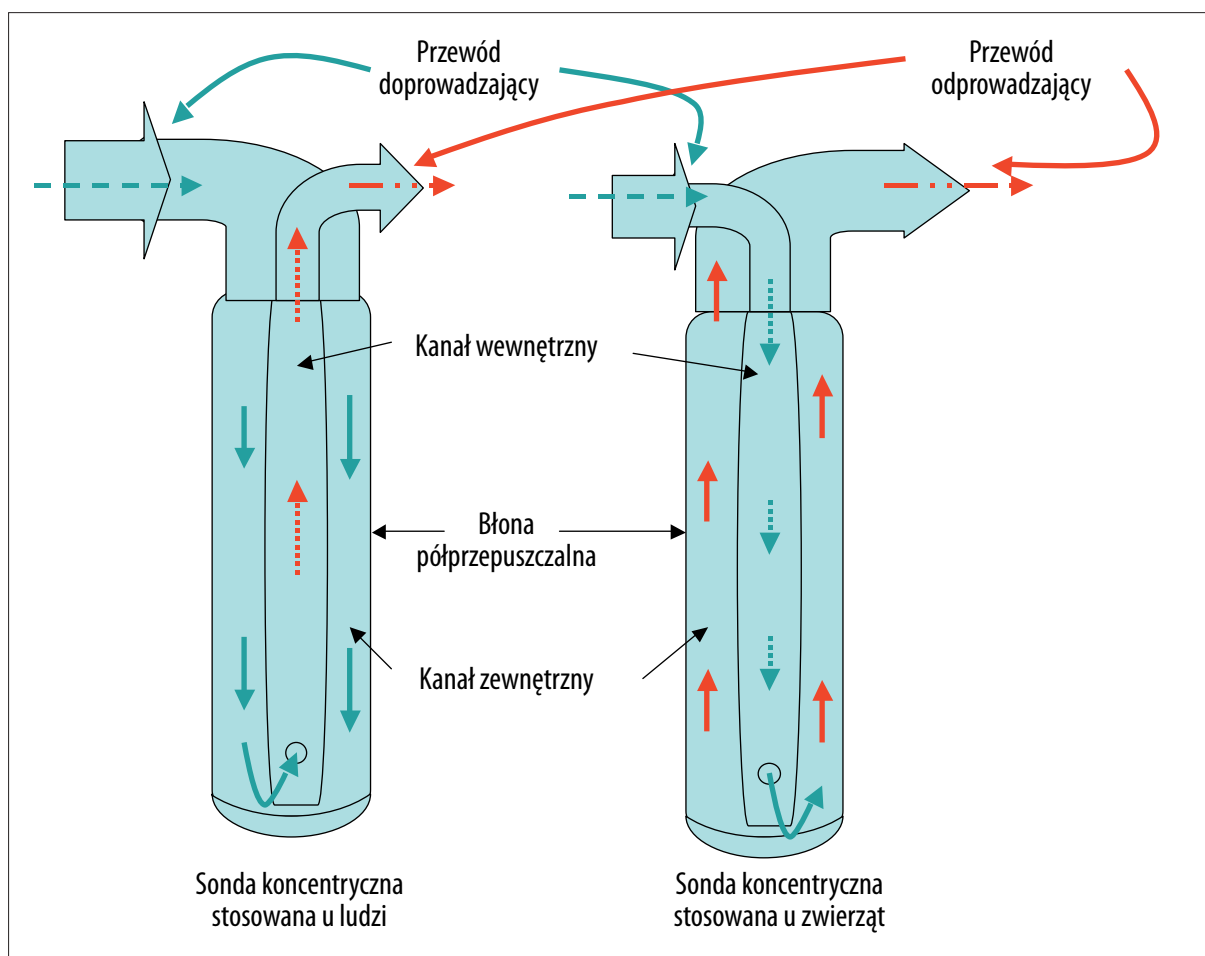
Skład płynu perfuzyjnego przypomina stężenia podstawowych elektrolitów płynu pozakomórkowego tkanki, do której została wprowadzona sonda (mózg, mięśnie, tkanka podskórna, wątroba etc). Płyn perfuzyjny (T1) jest roztworem jałowym o składzie (w mmol/L):  $\text{Na}^+$  147,  $\text{K}^+$  4,  $\text{Ca}^{++}$  2,3 i  $\text{Cl}^-$  156, niezawierającym mleczanów ani glu-

kozy. Płyn stosowany w neurochirurgii ma skład zbliżony do płynu mózgowo-rdzeniowego (w mmol/L):  $\text{Na}^+$  147,  $\text{K}^+$  2,7,  $\text{CaCl}_2$  1,2,  $\text{MgCl}_2$  0,85. Jednocześnie skład płynu perfuzyjnego można modyfikować dodając do niego wybraną substancję (np. lek). Metoda umożliwia zarówno analizowanie stężeń substancji endogennych (np. glukozy), jak i stężeń podawanych substancji egzogennych [140].

Mikrodializa monitoruje przeżyciowo skład płynu w przestrzeni pozakomórkowej naśladując fizjologię naczynia włosowatego. Naczynie włosowate i wprowadzona do tkanki sonda oddziałują na siebie nawzajem, konkurując o „wyłapywane” z płynu pozakomórkowego substancje. Związki chemiczne dyfundują z kapilary do przestrzeni pozakomórkowej, a następnie do komórek, gdzie są metabolizowane. Z kolei produkty przemian metabolicznych komórki – drogą płynu pozakomórkowego – osiągają naczynie krwionośne, są transportowane do krążenia centralnego i metabolizowane lub wydalane. Jeśli do tkanki zostaje założona sonda, wtedy część substancji transportowanych przez kapilare, jak i część produktów komórek dyfunduje do płynu dializacyjnego. Do płynu dializacyjnego dyfunduje sumarycznie więcej cząsteczek danego związku przy szybszym przepływie krwi w naczyniu krwionośnym (większy dowóz). Stężenie substancji w dializacie rośnie również, gdy zmniejszy się lokalny metabolizm, a tym samym wychwyt przez komórki, lub wzrasta ich synteza w tkance [197].

#### Odzysk i ocena stężenia substancji w płynie pozakomórkowym

Zasadę dyfuzji opisuje fizycznie pierwsze prawo Ficka, w którym szybkość dyfuzji jest wprost proporcjonalna do powierzchni wymiany (przekroju rurki) i różnic stężeń substancji, a odwrotnie proporcjonalna do długości rurki (odległości dyfuzji):  $dQ/dt = AD\Delta C/\Delta X$ , gdzie:  $dQ/dt$  – określa ilość cząsteczek przemieszczających się w czasie od środo-



Ryc. 3. Budowa sond koncentrycznych stosowanych u ludzi i zwierząt

wiska większego do niższego stężenia,  $A$  – powierzchnię wymiany,  $D$  – stałą dyfuzji ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ),  $\Delta C$  – różnicę stężeń substancji dyfundującej,  $\Delta X$  – długości drogi dyfuzji.

W mikrodiализie parametrem opisującym wielkość „poboru” cząstek z przestrzeni pozakomórkowej przez sondę (w mechanizmie dyfuzji) jest tzw. odzysk (recovery) [58]. Na ilość „odzyskanej” substancji w dializacji mają wpływ czynniki zależne od: sondy i badanej substancji. W pierwszej grupie (zależnej od sondy) znajdują się:

- prędkość przepływu płynu perfuzyjnego,
- wielkość powierzchni błony półprzepuszczalnej (odzysk jest wprost proporcjonalny do powierzchni błony, a więc tym samym sondy o większej średnicy dają lepszy odzysk na jednostkę długości),
- wielkość por w błonie półprzepuszczalnej.

Czynniki zależne od badanej substancji to: masa cząsteczkowa i współczynnik dyfuzji oraz stężenie substancji w płynie pozakomórkowym. Ten ostatni parametr warunkowany jest stopniem unaczynienia tkanki badanej, prędkością przepływu krwi, wielkością poboru/wytwarzania danej substancji przez komórki i szybkością lokalnego metabolizmu.

Wielkość por błony półprzepuszczalnej zależy od rodzaju sondy i jej przeznaczenia; cutoff value (graniczna wielkość

przenikających cząstek) wynosi zwykle 5 000–30 000 Daltonów ( $D$ ), ograniczając dyfuzję cząstek o większej masie. Wyniki doświadczeń w badaniu odzysku ujawniły, że w standardowej sondzie do kaniulacji tkanki podskórnej o wartości odcięcia 20 kDa przez otwory w membranie swobodnie przechodzą związki drobnocząsteczkowe o masie cząsteczkowej do 5 kDa [102]. Pomiar peptydów czy cytokin wymaga zatem zastosowania membrany o większych porach (100 kDa) [206].

Współczynnik dyfuzji definiuje „zdolność” dotarcia danego związku z płynu pozakomórkowego do sondy i jest on odwrotnie proporcjonalny do wielkości cząsteczki.

Odzysk całkowity (absolute recovery) określa ilość substancji uzyskanej w dializacji w określonej jednostce czasu (mol/jednostka czasu). Jego wartość jest zależna od współczynnika dyfuzji i szybkości przepływu płynu perfuzyjnego (wzrasta z przepływem).

W praktyce częściej stosuje się pojęcie odzysku względnego (procentowego) (relative recovery), definiowanego jako odsetek stężenia danej substancji zmierzonej względem jej stężenia w płynie pozakomórkowym (extracellular fluid – ECF):  $([\text{stężenie w dializacji}]/[\text{stężenie w ECF}]) \times 100$  [127]. Im dłuższy cewnik (większa powierzchnia błony półprzepuszczalnej) i im mniejsza prędkość przepływu płynu



nu perfuzyjnego, tym mniejszy gradient po obu stronach błony półprzepuszczalnej i wartość odzysku względnego zbliżona do 100%. Parametr ma zastosowanie, gdy perfuzat nie zawiera badanego związku, a zawiera go jedynie płyn pozakomórkowy. Jeżeli badana substancja znajduje się w perfuzacie, wprowadza się pojęcie wydajności ekstrakcji (extraction efficiency – EE), która wyraża się stosunkiem uzyskanego/utraconego związku przepływającego przez sondę (stężenie w dializacie – stężenie w perfuzacie) do różnicy stężeń między próbką (płynem pozakomórkowym, badanym roztworem) a perfuzatem (stężenie w środowisku badanym – stężenie w perfuzacie). Badania eksperymentalne nowej substancji metodą mikrodializy ilościowej, należy rozpocząć od określenia wydajności ekstrakcji, a więc od kalibracji sondy. Procedurę wykonuje się mierząc stężenie badanej substancji w środowisku (roztwór o znanym stężeniu) i w dializacie, z założeniem, że płyn perfuzyjny badanej substancji nie zawiera. W takiej sytuacji wydajność ekstrakcji sprowadza się do pomiaru odzysku względnego ( $EE_r$ ).

Mikrodializa wprowadza dodatkowo pojęcie przerwy czasowej (break-in-time) w odniesieniu do odzysku. Bezpośrednio po implantacji sondy, przestrzeń w błonie półprzepuszczalnej wypełniona są powietrzem. Czas potrzebny do wyparcia powietrza i zastąpienia go płynem perfuzyjnym (co warunkuje rozpoczęcie zjawiska mikrodializy) można skrócić przez wcześniejsze, przed implantacją, zanurzenie sondy w płynie perfuzyjnym lub rozpoczęcie przepłukiwania sondy przed umieszczeniem jej w tkankach. Takie postępowanie nie jest prawdopodobnie konieczne jedynie przy badaniu mózgowia (duża zawartość wody w tkance, dłuższy okres między implantacją w warunkach sali operacyjnej a rozpoczęciem pomiarów). Zakłada się jednak, że opóźnienie w uzyskiwaniu w pełni wartościowych danych („stable recovery”) wynosi minimum 30 minut i taką poprawkę należy przyjąć w interpretacji wyników. Trzeba jednocześnie pamiętać, że każdorazowy epizod „zablokowania” błony półprzepuszczalnej powietrzem będzie powodował zmniejszenie ilości dializatu do pustej próbki włącznie. Stąd nasuwa się praktyczna uwaga o konieczności ewakuowania pęcherzyków powietrza ze strzykawki wypełnionej płynem perfuzyjnym.

Ważnym zagadnieniem w praktyce klinicznej staje się też pytanie o miarodajność wyników stężeń w dializacie w odniesieniu do stężeń realnych w badanej tkance. Jest to więc pytanie o stężenie substancji w tkance i wartość współczynnika odzysku (recovery factor). Wyjściowo przyjęto, że odzysk *in vivo* jest równy odzyskowi *in vitro* [210]: odzysk *in vivo* = (stężenie w dializacie z tkanki/stężenie *in vivo*) × 100%, a odzysk *in vivo* = odzysk *in vitro*, z czego wynika, że stężenie *in vivo* = (stężenie *in vitro* × stężenie w dializacie z tkanki)/stężenie w dializacie *in vitro*. Jednakże wg Sarre’a i wsp. [173] stwierdzenie to nie zawsze jest prawdziwe (wpływ lepkości i niejednorodności tkanek).

Do metod stosowanych w celu walidacji wyników należą:

1) zmiana szybkości przepływu (changing flow rates), czyli ekstrapolacja stężeń realnych (extrapolation of true extracellular concentration): polega na pomiarze stężeń danej substancji przy dwóch prędkościach przepływu płynu

perfuzyjnego (np. 1 i 2  $\mu\text{l}/\text{min}$  na osi odciętych) i naniesieniu ich na układ współrzędnych – miejsce hipotetycznego przecięcia krzywej łączącej dwa punkty z osią rzędną (ekstrapolacja do prędkości zero) jest poszukiwaną wartością realną stężenia tkankowego (w praktyce wartość ta jest nieco zawyżona) [68];

- 2) metoda wolnego przepływu i zatrzymanego przepływu (low-flow and stop-flow method). Zastosowanie wystarczająco długiej membrany (30 mm) i stopniowe zwalnianie przepływu pozwoli na maksymalizowanie odzysku. Przy niskich wartościach przepływu płynu perfuzyjnego (poniżej 0,5  $\mu\text{l}/\text{min}$ ) płyn pozakomórkowy i perfuzat będą w kontakcie wystarczająco długi okres czasu, a stężenia substancji w dializacie nie będą dalej wzrastać pomimo zwalniania przepływu (odzysk bliski 100%, zrównoważenie stężeń po obu stronach błony półprzepuszczalnej) [58,127,133]. Obie powyższe metody zakładają, że stężenie badanej substancji nie podlega wahaniom, a zmienia się tylko przepływ perfuzatu;
- 3) metoda braku wymiany lub technika zrównoważenia (no-net-flux metod; equilibrium technique) – polega ona na przepłukiwaniu sondy (płyn perfuzyjny) roztworami o znanych stężeniach substancji, która znajduje się w badanej tkance (np. glukoza) i odnotowywaniu stężeń tej samej substancji w dializacie. Stosując kilka różnych stężeń (niskie i wysokie) uzyskuje się odpowiednio dializaty o podwyższonym stężeniu (tkanki „oddają” substancję na zasadzie gradientu stężeń) i o obniżonym stężeniu (tkanki „pobrały” substancję z roztworu o wyższym stężeniu). Na podstawie uzyskanych wyników oblicza się stężenie równowagi odpowiadające rzeczywistemu stężeniu badanego związku w tkance. W metodzie tej zmienia się stężenie substancji badanej, ale szybkość przepływu perfuzatu jest stała [4,58].

Dodatkowo do określenia wielkości odzysku względnego substancji, która nie występuje w środowisku badanym wykorzystuje się metodę wstecznej dializy (retrodialysis), podając w płynie perfuzyjnym (sondą nr 1) substancję o znanym stężeniu i badając jej stężenie w dializacie (sondą nr 2): odzysk badanej substancji =  $(1 - (\text{stężenie substancji w dializacie} / \text{stężenie substancji w perfuzacie})) \times 100\%$  [145].

Powyższe sposoby znajdują zastosowanie w pracach eksperymentalnych, w tym metodach pionierskich (kaniulacja tkanki wcześniej niebadanej, zastosowanie nowego leku, zmiany stanu klinicznego wpływające na perfuzję), a ich niedogodnością jest czasochłonność. Alternatywę może stanowić technika kalibracyjna z perfuzją izotopu, zakładająca, że względna podaż substratu zawierającego izotop do ECF będzie równa względnemu odzyskowi w dializacie tegoż substratu bez izotopu [94,120].

Przy standardowym zastosowaniu klinicznym można się opierać na wynikach wcześniejszych badań obserwacyjnych, przeprowadzanych w warunkach laboratoryjnych oraz badaniach klinicznych, które zakładają odzysk bliski 100% (80–100%) przy kaniulacji tkanek sondą o długości membrany 30 mm i niskim przepływie płynu perfuzyjnego (0,3  $\mu\text{l}/\text{min}$ ) [53]. W przypadku tkanki nerwowej mózgowia wystarczające jest zastosowanie sondy o długości błony półprzepuszczalnej 10 mm i wolnego przepływu (0,3  $\mu\text{l}/\text{min}$ ) – zakładany odzysk to 70–80%.

## Osmoza i ciśnienie hydrostatyczne

W krwi płynącej w naczyniach włosowatych znajdują się m.in. duże cząsteczki, które odpowiadają za wytworzenie ciśnienia onkotycznego i warunkują przemieszczenie wody z otoczenia (ECF) do kapilary. Po umieszczeniu w tkance sondy, w której przepływa płyn perfuzyjny, woda przenika do otaczającej przestrzeni (i dalej do kapilary). Aby zahamować ten mechanizm należałoby do roztworu płynu perfuzyjnego dodać duże cząsteczki (albuminy, dekstran) w celu zrównoważenia gradientu osmotycznego. Dodanie np. dekstranu 70 powoduje zwiększenie objętości próbki o 8–59% [67]. Jednak nie wykonuje się tego w standardowym monitorowaniu klinicznym, a jedynie uwzględnia straty wody z płynu perfuzyjnego, co prowadzi do wzrostu stężenia substancji w próbce. Prędkość osmozy w tkance mięśniowej wynosi 8  $\mu\text{l/h}$ , a w tkance tłuszczowej – 2  $\mu\text{l/h}$ . Jest to wielkość bezwzględna, a nie procentowy ubytek wody. W celu bardziej dokładnego określenia wielkości ubytku wody, rekomendowane jest ważenie mikrofiolki przed założeniem do zestawu i po kolekcji płynu (przy przepływie 0,3  $\mu\text{l/min}$ , po 60 min obserwacji masa mikrofiolki powinna wzrosnąć o 18  $\mu\text{g}$ , co w przybliżeniu odpowiada objętości dializatu wynoszącej 18  $\mu\text{l}$ ).

Ciśnienie hydrostatyczne w pewnym stopniu również wpływa na ilość płynu gromadzącego się w fiolce przez zmianę wielkości transferu wody pomiędzy sondą, środowiskiem zewnątrzkomórkowym i włosniczką. Układając mikrofiolkę powyżej lub poniżej miejsca założenia sondy, można zwiększyć lub zmniejszyć ilość płynu dializacyjnego. Wpływ ciśnienia hydrostatycznego ogranicza się prawie wyłącznie do zmian w ilości uzyskiwanego materiału, i nie przekłada się istotnie na zmiany stężeń substancji.

## Ocena perfuzji

Zmiany w stężeniu metabolitu w przestrzeni pozakomórkowej zależą od: wytwarzania miejscowego danego związku, poboru miejscowego lub rozkładu substancji przez komórki i usuwania przez perfuzję tkankową. Wobec powyższego ważne staje się uzyskanie informacji o przepływie krwi w tkankach obwodowych. Rozwiązaniem może być dodanie tzw. markera przepływu do płynu perfuzyjnego. Substancja ta nie może występować w organizmie, musi mieć relatywnie niewielką cząsteczkę umożliwiającą pasaż przez błonę półprzepuszczalną i nie może być toksyczna dla tkanek. Taką substancją jest np. etanol. Nasilenie przepływu obwodowego krwi szacuje się na podstawie różnic między stężeniem etanolu podawanego z płynem perfuzyjnym a jego stężeniem w płynie dializacyjnym. Im intensywniejsza perfuzja tkanki, tym niższe stężenie końcowe (więcej cząsteczek pobieranych jest przez krew), a więc stosunek stężenia „wyjściowego” do „wejściowego” maleje. Opisana metoda nie pozwala jednak na precyzyjne określenie zmian perfuzji [5,72]. Połączenie tej metody z pomiarem innych substancji pozwala natomiast na oszacowanie zmian w produkcji czy poborze miejscowym badanych związków w aspekcie zmian w przepływie obwodowym krwi. Obecnie do oceny wielkości perfuzji stosuje się coraz częściej metodę klirensu radioaktywnego kseno-

nu ( $^{133}\text{Xe}$ ) [71] lub mocznika zawierającego  $^{13}\text{C}$  (U-13C) (pomiar stosunku wypływu do napływu – outflow/inflow ratio) [27].

Z klinicznego punktu widzenia nasuwa się pytanie, jak istotne znaczenie mają zmiany w perfuzji tkanki wywołane założeniem sondy na uzyskiwane pomiary stężeń np. glukozy. Doniesienia o zaburzeniach w wynikach odzysku wraz z przyspieszeniem przepływu krwi [72,171] zostały zweryfikowane badaniem metodą Dopplera, które ujawniło powrót perfuzji do wartości wyjściowych do 15 minut po implantacji sondy [2].

Mikrodializa, jak każda metoda diagnostyczna, nie jest doskonała. Zasadniczym problemem jest wpływ założenia sondy (uraz tkanek, zniszczenie komórek, naczyń włosowatych) i miejscowy odczyn zapalny na uzyskiwane wyniki pomiarów. Według Wientjesa i wsp [207] czas potrzebny do regeneracji tkanek w miejscu insercji sondy wynosi około tygodnia (po 5–9 dniach wzrastał odzysk glukozy). Jednak wykazano, że sonda funkcjonowała przez cały zakładany okres obserwacji, tj. 3 tygodnie, a otrzymywane wartości stężeń glukozy z dializatu ściśle korelowały z wartościami glikemii mierzonymi z krwi kapilarnej. Postawiono również pytanie o wpływ sondy na miejscową zmianę stężeń glukozy (pobieranie substancji przez sondę z następowym przesunięciem stężeń w okolicie przez nią „drenowane”) [119]. Wyniki badań eksperymentalnych pozwalają jednak na marginalizację tego problemu [21,127].

Długoletnie obserwacje i badania [53,127] pozwoliły na przyjęcie pewnych założeń w stosowaniu metody mikrodializy, które gwarantują uzyskanie jak najbardziej miarodajnych wyników (odpowiednia długość i rodzaj membrany mikrodializacyjnej, wolny przepływ perfuzatu, budowa sondy, sposób implantacji)<sup>1</sup>.

## Elementy składowe układu do mikrodializy klinicznej

Zakładanie sondy jest proste, a różnice w sposobie implantacji wynikają z rodzaju badanej tkanki. W przypadku badania tkanki podskórnej (podskórna tkanka tłuszczowa okolicy okołopępkowej brzucha lub bocznej powierzchni uda) postępowanie obejmuje odkażenie skóry, ujęcie fałdu skórniego (w celu wytworzenia przestrzeni podskórnej), przekłucie skóry igłą na głębokość 2–5 mm (usunięcie igły), a przez powstały w skórze otwór wprowadzenie sondy wraz z prowadnicą (średnica 0,6 mm i długość 30 mm). Wprowadzanie powinno odbywać się w sposób płynny, dość szybki, z zachowaniem kierunku. Wszelkie niepotrzebne manipulacje mogą spowodować przemieszczenie sondy, jej zagięcie lub uszkodzenie o brzeg prowadnicy. Kolejnym etapem postępowania jest usunięcie prowadnicy i zabezpieczenie pozostawionej sondy jałowym opatrunkiem przeziernym.

Sonda może pozostawać w tkance przez okres kilku – kilkunastu dni. Miejsce jej wprowadzenia jest obserwowane pod kątem ewentualnego stanu zapalnego. Sonda nie powinna być wprowadzana w miejscu, w którym skóra jest zakażona lub uszkodzona. Należy też wykazać ostroż-

<sup>1</sup> Oprócz sprzętu firmy *CMA Microdialysis*, który uzyskał certyfikat MDD i FDA, istnieje wiele prototypów sond wykorzystywanych w eksperymentalnych pracach laboratoryjnych i klinicznych.

ność w przypadku trombocytopenii i innych skaz krwotocznych (miejscowe krwawienie wokół sondy zaburza proces mikrodializy)

Podobnie jak opisano powyżej, odbywa się zakładanie sondy do tkanki mięśniowej szkieletowej. Warunkiem powodzenia jest odpowiednio głęboka kaniulacja (sonda znajduje się w mięśniach, nie nad nimi), początkowo pod kątem 45 stopni, a po przebiciu powięzi – pod kątem 20 stopni. Ważne jest też nieuszkodzenie sondy w trakcie zakładania (twarda powięź, skurcz mięśnia), jak również unieruchomienie partii mięśni, w której jest ona umieszczona (brak ruchów czynnych i biernych).

Implantację sondy do narządów wewnętrznych (wątroba, płuca, jelita) wykonuje się w trakcie zabiegów operacyjnych, a stosowany sprzęt (rodzaj sondy) jest dostosowany do badanego narządu (prowadnice miękkie, rozdzielane, itp.).

Pierwsze kliniczne zastosowanie sondy mikrodializacyjnej dotyczyło ośrodkowego układu nerwowego. Obecnie, w części ośrodków neurochirurgicznych na świecie, wskazaniem do prowadzenia mikrodializy jest uraz lub krwawienie do OUN. Wprowadzanie sondy do tkanki nerwowej mózgu odbywa się w trakcie zabiegu operacyjnego ewakuacji krwiaka lub odbarczenia mózgowia po urazie, najczęściej w trakcie zakładania pomiaru ciśnienia śródczaszkowego (ICP – intracranial pressure) i ciśnienia perfuzji mózgowej (CPP – cerebral perfusion pressure). W zależności od miejsca założenia stosuje się metodę umocowania na sworzniu (Bolt fixation; w tzw. „lepszym” obszarze mózgowia, umieszczenie płytkie po przebiciu opony twardej; w dwu-trzykanałowej prowadnicy wraz z czujnikami ciśnienia i perfuzji mózgowej, a czasem też tkankowej przepływu tlenu), oraz umieszczenie stereotaksyczne w pobliżu ogniska chorobowego (na podstawie obrazowania TK, wskazane użycie sondy ze złotą końcówką dla lepszego neuroobrazowania jej położenia).

Przewód doprowadzający sondy łączy ją ze strzykawką wypełnioną jałowym płynem perfuzyjnym, która umieszczona jest w specjalnej pompie strzykawkowej zasilanej bateriami. Pojemność strzykawki wynosi 2,5 ml. Pompa pracuje cicho i okresowym (co 10 sekund) błyskiem zielonej diody sygnalizuje sprawność układu. Zmiana zabarwienia światła na czerwony i zmiana częstotliwości impulsów świetlnych informuje o awarii (wyczerpanie baterii, brak płynu w strzykawce). Uruchamianie i zatrzymywanie pompy odbywa się poprzez zamknięcie lub otwarcie pokrywy osłaniającej strzykawkę. Każdorazowe zamknięcie pokrywy inicjuje cykl przepłukiwania układu przez 5 min z prędkością 15  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Zmiana baterii nie zmienia trybu pracy pompy. W zależności od typu pompy możliwa jest jej praca tylko ze stałą prędkością 0,3  $\mu\text{l}/\text{min}$  (pompa CMA 6) lub też zmienną prędkością podaży 0,1–5  $\mu\text{l}/\text{min}$  (pompa CMA 7). W rutynowym monitorowaniu klinicznym zalecany jest przepływ 0,3  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Wzrost prędkości przepływu w sondzie powoduje również większe przenikanie wody do tkanki (zgodnie z gradientem osmozy), co może powodować zaburzenia jonowe i miejscowej odpowiadzi komórek.

Drugi koniec sondy – odprowadzający – zakończony jest uchwytem na mikrofolki, które zakłada się w celu ko-

lekcjonowania dializatu. Zarówno dren doprowadzający z pompą, jak i dren odprowadzający, uchwyt i mikrofolki znajdują się poza jałowym opatrunkiem i wszelkie manipulacje z nimi związane (zmiana strzykawki, zmiana mikrofolki) nie naruszają aseptycznego środowiska miejsca założenia sondy.

Płyn perfuzyjny swobodnie dyfunduje do tkanek, zmieniając nieznacznie skład płynu pozakomórkowego. Częsteczki substancji zawartych w ECF (o masie cząsteczkowej poniżej 5 kDa) dyfundują do wnętrza sondy. Następuje wyrównanie stężeń substancji – po założeniu sondy konieczny jest czas dla tzw. „kalibracji” w tkankach (usunięcie pęcherzyków powietrza z błony półprzepuszczalnej, wyrównanie stężeń) wynoszący minimum 30 minut, a optymalnie 1–2 godziny. Substancje chemiczne z płynu zewnątrzkomórkowego dyfundują przez błonę dializacyjną do kanału wewnętrznego sondy i wraz z dializatem (płyn perfuzyjny po wyrównaniu stężeń i wzbogaceniu w substancje z przestrzeni pozakomórkowej) przechodzą do folki zbiorczej.

Pompa z bateriami, strzykawka z płynem perfuzyjnym, sonda i mikrofolka tworzą podstawowy zestaw do monitorowania metodą mikrodializy. Próbką uzyskanego materiału jest wraz z mikrofolką przenoszona do analizatora, a wynik wyświetlany jest na ekranie. Próbki płynu zewnątrzkomórkowego mogą być pozyskiwane co 20–60 min.

Minimalna ilość płynu wymagana przez analizator do wykonania pojedynczej analizy wynosi 0,5  $\mu\text{l}$ , a czas trwania oznaczenia: 1–1,5 min. Próbki do dalszych badań są przechowywane w stanie zamrożenia i w późniejszym okresie poddawane różnym technikom analitycznym.

Analizatory (CMA 600, ISCUS) są wyposażone w oprogramowanie ułatwiające prezentację wyników (wartości stężeń substancji mierzonych w ECF) równoległe z danymi uzyskanymi z monitorów (akcja serca, saturacja  $\text{SatO}_2$ , ciśnienie krwi, CPP, ICP, tkankowy pomiar przepływu tlenu), pomp infuzyjnych, respiratora i manualnie wprowadzanymi zdarzeniami. Istnieje również możliwość połączenia analizatora z kamerą video (video capture unit), która rejestruje w sposób ciągły pobyt pacjenta w oddziale (monitoring stanowiska intensywnej terapii) i pozwala uchwycić wszelkie związane z nim zdarzenia. W połączeniu z danymi monitorowania biochemicznego i biofizycznego wzbogaca to w sposób istotny instrumentarium intensywnej terapii.

Wszystkie składowe układu do mikrodializy są dopuszczone do stosowania u ludzi przez Europejską Komisję ds. Urządzeń Medycznych (Medical Device Directive) i mają stosowne certyfikaty (CE 0413).

Wiodącym producentem oprzyrządowania dla potrzeb naukowych i medycznych jest powstała w 1984 roku szwedzka firma *CMA Microdialysis*. Firma ta jako pierwsza na świecie wprowadziła na rynek technologię mikrodializy, którą stale rozwija. Wytwarzane w Szwecji urządzenia, oprogramowanie i części zużywalne są opatrzone znakiem ISO 13485 i spełniają standardy FDA.

Podstawowe znaczenie w rzetelnym monitorowaniu odgrywa utrzymanie stałych odstępów czasowych pomię-



dzy pomiarami (regularność zmiany mikrofolek). Istotną rolę wobec powyższego ma ścisła współpraca zespołu lekarsko-pielęgniarskiego, a w szczególności przeszkolenie grupy pielęgniarek w zakresie zakładania sond podskórnych, pielęgnowania miejsca założenia, kompletowania zestawu do mikrodializy, opisywania mikrofolek, kalibracji aparatu, wymiany mikrofolek i wykonywania pomiarów oraz zabezpieczania materiału do dalszych badań (chłodzenie, zamrażanie). Nie ma natomiast konieczności wprowadzania nowego protokołu czy też formularzy w związku z prowadzonym monitorowaniem. Sumienne odnotowywanie danych klinicznych w karcie obserwacyjnej pacjenta wraz z nanoszonymi wartościami pomiarów mikrodializacyjnych jest wystarczające do uzyskania pełnego obrazu klinicznego pacjenta.

Precyzja i staranność prowadzenia monitorowania warunkują użyteczność metody. Najczęściej popełniane błędy, które są relatywnie łatwe do uniknięcia, to nieostrożne zakładanie sondy i nieuważne obchodzenie się z mikrofolekami. W pierwszym przypadku sfałdowania sondy o skórę lub twarde tkanki np. powięź, daje tzw. efekt robaczka, co może spowodować złamanie/zgięcie sondy lub uszkodzenie błony półprzepuszczalnej o ostry brzeg prowadnicy. W drugim przypadku niedokładne opisanie mikrofolek lub słabe dociśnięcie mikrofolki w uchwycie, a także przechowywanie w nieodpowiednich warunkach (brak schłodzenia próbki; wielomiesięczne przechowywanie w zamrażarce), powoduje utratę próbki. W przypadku mikrodializy neurochirurgicznej, przed założeniem opatrunku należy opisać dreny dochodzące (od pomp) i odprowadzające (do mikrofolek) ze wszystkich (dwóch lub więcej) założonych sond, aby nie nastąpiła pomyłka w zbieraniu danych.

## SUBSTANCJE MONITOROWANE

Substancje oznaczane najczęściej w warunkach klinicznych w płynie pozakomórkowym to glukoza, markery niedokrwienia i metabolizmu beztlenowego (mleczany, pirogroniany) i obliczany stosunek: mleczanów do pirogronianów (L/P) oraz wskaźnik uszkodzenia błony komórkowej komórki nerwowych i aktywności układu współczulnego – glicerol. Inne oznaczane substancje to aminokwasy o potencjalnym działaniu neurotoksycznym (glutaminian, aspartanian) czy też endogenne produkty metabolizmu (mocznik). Oprócz opisanych powyżej substancji, których oznaczanie wprowadzono w niektórych ośrodkach jako standard postępowania klinicznego, istnieje możliwość analizy dla celów badawczych innych związków, których wielkość cząsteczki umożliwia przejście przez błonę dializacyjną sondy. Są to peptydy i aminokwasy, adenozyne, inozyne, hipoksantryna, karnityna, cytokiny, neuroprzekazniki (serotonina, noradrenalina, dopamina), angiotensyna II, kwas askorbinowy, kwas moczowy, glutation i leki [3,155,161]. Nie zawsze jednak odzysk względny danej substancji jest wysoki, często wynosi jedynie 20–30%, a nawet mniej.

Glukoza jest podstawową substancją oznaczaną metodą mikrodializy. Odgrywa ona główną rolę w metabolizmie wielu tkanek i narządów. Zmiany w stężeniu glukozy w ECF zależą od jej stężenia we krwi, perfuzji tkankowej oraz od

natężenia jej poboru przez komórki (znaczny wzrost zapotrzebowania w hipoksji i przestawieniu metabolizmu na szlak glikolizy beztlenowej). Prawidłowe stężenie glukozy w tkance podskórnej wynosi około 5 mmol/l, a w móżdgu 1,5–2 mmol/l<sup>2</sup>.

Metabolizm glukozy wiąże się z drugą najczęściej oznaczaną substancją – mleczanami. Stężenie ich wzrasta w hipoksji, niedokrwieniu i hipermetabolizmie. W warunkach prawidłowego ukrwienia i utlenowania tkanek obwodowych glukoza ulega przemianie do pirogronianu, który jest substratem dla cyklu kwasu cytrynowego. Przy niedotlenieniu tkanek, pirogroniany są metabolizowane do mleczanów. Jeśli zaopatrzenie tkanek w tlen i glukozę jest prawidłowe, to stężenie mleczanów w płynie pozakomórkowym wynosi około 2 mmol/l, przy stężeniu pirogronianów około 120 μmol/l, a stosunek stężeń mleczanów/pirogronianów (L/P) nie przekracza wartości 15–20<sup>2</sup>.

W hipoksji, ale przy utrzymanym napływie glukozy, pirogroniany nie są metabolizowane w cyklu Krebsa, ale w całości ulegają przekształceniu w mleczany. Ilość wytwarzanej energii (do wytworzenia takiej samej ilości ATP jak w mechanizmie glikolizy tlenowej potrzeba 18 razy więcej glukozy) jest mała, a stężenie mleczanów wzrasta.

Niedokrwienie tkanek powoduje obniżenie dopływu zarówno glukozy, jak i tlenu. Komórki stają się zależne od beztlenowego wytwarzania ATP z glukozy, czego następstwem jest wzrost stężenia mleczanów. Jednak szybkie wyczerpanie zapasów substratu (glukozy) i niemożność jej uzupełnienia powoduje wzrost stosunku L/P (podwyższone stężenie mleczanów i zmniejszone stężenia pirogronianów), przy czym w tej sytuacji stężenie mleczanów nie musi osiągać bardzo wysokich wartości.

Glicerol jest składnikiem fosfolipidów błony komórkowej oraz triacylogliceroli tkanki tłuszczowej. W tkance tłuszczowej zachodzą równoległe procesy lipogenezy i lipolizy, stale więc uwalniana jest pewna pula glicerolu, który przenika do przestrzeni pozakomórkowej. Nasilenie lipolizy pod wpływem katecholamin i glukagonu powoduje wzrost stężenia glicerolu. Dodatkowo, w tkance tłuszczowej znajdują się zakończenia układu współczulnego, z których pod wpływem stymulacji uwalniana jest noradrenalina. Oddziałuje ona poprzez receptory beta3 powodując nasilenie rozpadu triacylogliceroli i wzrost uwalniania glicerolu [55]. Glicerol odzwierciedla więc pośrednio aktywność układu współczulnego. Wartości uznawane za prawidłowe mierzone sondą mikrodializacyjną w tkance tłuszczowej to około 200 μmol/l<sup>2</sup>, natomiast w okresie znacznego stresu stężenie glicerolu wzrasta nawet do 3–4 mmol/l.

Źródłem glicerolu w tkance nerwowej mózgu są błony komórkowe. Hipoksja i hipoglikemia zaburzając działanie pompy Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> inicjują napływ jonów wapniowych do komórki i aktywują fosfatazy, rozpoczynając proces niszczenia błony komórkowej, z której uwalniany jest glicerol (wartości przeciętne dla tkanki mózgowej wynoszą ok. 50 μmol/l)<sup>2</sup>. Masywny wzrost stężenia glicerolu obserwowany jest w mózgu zarówno u zwierząt jak i u ludzi w ta-

<sup>2</sup> Wartości uzyskiwane przy zastosowaniu sondy o długości 30 mm i prędkości przepływu płynu perfuzyjnego 0,3 μl/min w tkance podskórnej i sondy o długości 10 mm i prędkości przepływu płynu perfuzyjnego 0,3 μl/min w mózgu.

kich stanach klinicznych jak niedokrwienie, niedotlenienie czy zakażenie [77].

Uwalnianie glutamianu przez uszkodzone neurony powoduje wtórne uszkodzenie mózgu, co również objawia się zwiększeniem stężenia glicerolu w perfuzacji. Stężenie glutamianu uznawane za jeszcze nietoksyczne dla neuronów wynosi ok. 100  $\mu\text{mol/l}$ .

Metabolizm tkanek organizmu wymagającego intensywnej terapii zmienia się szybko i głęboko. Obecny stan wiedzy nie pozwala na interpretację i wytłumaczenie wszystkich obserwowanych zmian. Jednakże znaczne odchylenia od wartości prawidłowych zawsze są związane z istotnymi objawami patologicznymi.

## ZASTOSOWANIE – KIERUNKI BADAŃ

Mikrodializa znajduje zastosowanie zarówno w pracach doświadczalnych na zwierzętach, jak i w obserwacjach klinicznych u ludzi. Najszerze zastosowanie praktyczne metoda ta znalazła w intensywnej opiece neurologicznej [186].

### Neurochirurgia

Wskazaniem do monitorowania metodą mikrodializy jest: krwawienie podpajęczynówkowe po pęknięciu tętniaka, urazowe uszkodzenie mózgu, rozległe pierwotne krwawienie śródczaszkowe, rozległy zawał obszaru zaopatrywanego przez tętnicę środkową mózgu, bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i zapalenie mózgu [12]. Celem umieszczenia sond w mózgowiu po urazie lub epizodzie krwawienia jest kontrolowanie zmian w metabolizmie neuronów [32,82,134,149,150,175,199,203]. Jedną z sond zostaje wprowadzona do nieuszkodzonej tkanki (najczęściej do kory okolicy czołowej), niedotkniętej urazem strony mózgowia. Sonda jest często zakładana wraz z czujnikiem służącym do monitorowania ciśnienia śródczaszkowego (ICP) i mózgowego ciśnienia perfuzyjnego (CPP), rzadziej również czujnika ciśnienia parcjalnego tlenu w tkance mózgowej ( $\text{PbrO}_2$ )<sup>3</sup>. Druga sonda jest umieszczana w obszarze granicznym (penumbrze), wokół ogniska zniszczonego (zwykle około jednego centymetra od brzegu tkanki uszkodzonej). Penumbra jest obszarem mózgowia wokół ogniska uszkodzenia, które charakteryzuje się obrzękiem, zmianami zapalnymi i zaburzeniami metabolizmu. Jest to obszar, który wpływa na progresję uszkodzenia mózgu [185]. Tkanka ta jest szczególnie podatna na spadek utlenowania krwi [75].

Porównując stężenie badanych metabolitów (glicerolu jako markera uszkodzenia komórki oraz glukozy i stosunku L/P jako wskaźników niedokrwienia) w próbkach z obu sond można wnioskować o zagrożeniu penumbry i wdrożyć postępowanie terapeutyczne. Monitorowanie dostarcza również danych, na podstawie których można ocenić rokowanie co do stanu neurologicznego po urazach mózgu czy prognozować wystąpienie następczych deficytów neurologicznych po pęknięciu tętniaka [84,183].

Niedokrwienie i mechaniczne uszkodzenie tkanek prowadzi do wtórnego urazu mózgu:

- bezpośrednio poprzez otwarcie kanałów dla jonów wapniowych (unieruchomienie pompy  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  przy braku glukozy i tlenu),
- pośrednio przez uwolnienie „szkodliwych” aminokwasów (głównie glutamianu), które również stymulują otwarcie kanałów jonowych i napływ jonów wapnia do komórki,
- bezpośrednio poprzez zmianę potencjału błon komórkowych (otwiera kanały jonowe powodując wypływ potasu i napływ sodu).

Wolne jony wapniowe uruchamiają wiele reakcji enzymatycznych, prowadząc do zniszczenia błon organelli komórkowych i samych komórek, a także inaktywują dysmutazę nadtlenkową i blokują mechanizm wymiatania wolnych rodników. Rola jonów potasowych i sodowych wiąże się z obrzękiem astrocytów, wzrostem osmolarności przestrzeni międzykomórkowej, obrzękiem mózgu i wzrostem ICP [32]. Dane uzyskane z analizy próbek dializatu od pacjentów po urazie lub udarze OUN dostarczają informacji o zaburzeniach metabolizmu tkanki mózgowej, co może pomóc w wyborze metod postępowania terapeutycznego, tj. hipotermia czy śpiączka pentobarbitalowa [16,59,60]. Przydatność monitorowania potwierdzają również liczne badania eksperymentalne na modelu zwierzęcym niedotlenienia [60,83], w tym niedotlenienia okołoporodowego [52,118,132,162,194,212]

Monitorowanie metabolizmu mózgu jest istotnym elementem postępowania neurochirurgicznego w tzw. metodzie Lund [147,185,186]. Opiera się ona na założeniu, że proces zapalny towarzyszący urazowi OUN lub krwawieniu wewnątrzczaszkowemu uszkadza barierę krew-mózg, która staje się przepuszczalna dla krystaloidów i płynów koloidowych. Głównym elementem postępowania terapeutycznego jest radykalna ewakuacja tkanek zniszczonych oraz utrzymanie przepływu mózgowego na poziomie wystarczającym dla prawidłowego zaopatrzenia tkanek w tlen i glukozę, bez zwiększania ciśnienia hydrostatycznego w kapilarach, mogącego nasilić obrzęk mózgu (zakładane ciśnienie perfuzyjne mózgu CPP powyżej 50 mmHg, w przeciwieństwie do rekomendacji amerykańskich: CPP znacznie powyżej 70 mmHg). Do osiągnięcia takiego celu potrzebne jest odpowiednie obniżanie średniego ciśnienia tętniczego (celem utrzymania niskich wartości ICP) i CPP do wartości jeszcze zabezpieczających prawidłową perfuzję. Istotną rolę odgrywa kontrola ciśnienia onkotycznego (podaż albumin, preparatów krwi), unikanie infuzji amin katecholowych, obniżanie wewnątrzłóżniczkowego ciśnienia hydrostatycznego ( $\beta_1$ -antagoniści,  $\alpha_2$ -agoniści), a w przypadku opornego na postępowanie terapeutyczne wysokiego ICP – stosowanie m.in. dihydroergotaminy [50,148]. Krytycznym punktem tak prowadzonego leczenia jest bardzo dokładne monitorowanie metabolizmu mózgowia i na jego podstawie sterowanie terapią w sposób zapewniający optymalne zaopatrzenie w tlen i glukozę.

Wartości odniesienia (uznane za podstawowe) uzyskano monitorując pacjentów poddawanych zabiegom usunięcia

<sup>3</sup> Standard monitorowania neurochirurgicznego stosowanego w celu wykrycia urazu wtórnego zawiera w sobie pomiar ICP i CPP, a dodatkowo pomiary saturacji krwi żyłnej  $\text{SjVO}_2$  (jugular venous oxygen saturation) i utlenowania tkanki mózgowiej  $\text{PbrO}_2$  (brain tissue oxygen saturation) [161].

guzów tylnego dołu czaszki, u których z przyczyn klinicznych zakładano cewnik dokomorowy, oraz dodatkowo sondę mikrodiализacyjną [112,165]. Poczyniono wiele ciekawych obserwacji dotyczących funkcjonowania mózgu w stanie znieczulenia ogólnego i czuwania (np. bardzo znaczne nasilenie metabolizmu przy wybudzaniu, przejawiające się podwyższeniem stężenia mleczanów, pirogronianów i glutaminianu, ale przy niskim stosunku L/P).

Drugim bardzo ważnym zastosowaniem mikrodiализy w neurofizjologii i neuropatofizjologii są badania metabolicznych podstaw funkcjonowania OUN [1,54,81,153,158,159], powstawania zaburzeń (np. drgawki) [49], oznaczanie miejscowych stężeń neuroprzekaźników w stanach spoczynku, aktywności [57,209] i stanach patologicznych OUN [37,118,125], a także miejscowych stężeń leków [61]. Przykładem mogą być prace Borgia i wsp., którzy potwierdzili rolę brzusznośrodkowej części podwzgórza w regulacji zwrotnej odpowiedzi na hipoglikemię [23,24]. Dalsze badania zasugerowały udział glukozy w modulowaniu uwalniania GABA w istocie czarnej mózgu poprzez wpływ na kanały potasowe ( $K_{ATP}$ ) [211].

### Niedokrwienie i niedotlenienie

Duże znaczenie przywiązuje się do wykorzystania mikrodiализy w monitorowaniu konsekwencji biochemicznych niedokrwienia i niedotlenienia tkanek, w tym: uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego w tkance mięśniowej głównie kończyn dolnych, mięśnia sercowego (po zabiegach rewaskularyzacyjnych CABG), narządów i tkanek przeszczepianych (wątroba, płaty skórne) i zaburzeń perfuzji w posocznicy i wstrząsie.

Zakładanie sondy do tkanki mięśniowej (udo, łydka) umożliwiło zbadanie zmian zachodzących podczas niedokrwienia, w tym krytycznego [110,124,146] i dostarczyło danych o skutkach tzw. stresu oksydacyjnego i jego roli w poniedokrwiennych zanikach mięśniowych [40,135].

Medycyna sportowa wiąże nadzieje z szerszym zastosowaniem mikrodiализy w badaniach nad przemianami energetycznymi w tkankach poddawanych ekstremalnemu wysiłkowi, który niejednokrotnie przypomina stan występujący we wstrząsie [123]. Zmiany metaboliczne podczas wysiłku fizycznego i fizjologia układu stawowo-szkieletowego były przedmiotem badań prowadzonych po założeniu sond nie tylko do mięśni szkieletowych, ale też kości i ścięgien (głównie ścięgno Achillesa) [111,126,156,157,191,198]. Na odpowiedź czeka wiele pytań związanych z optymalizacją treningów, podawania substratów energetycznych, zapotrzebowaniem tlenowym [9,56,172,188].

Implantacja sondy do narządów wewnętrznych wiąże się najczęściej z zabiegami operacyjnymi (dostęp chirurgiczny). Obiecujących danych dostarczają prace badawcze, w których sonda mikrodiализacyjna została umieszczona w przestrzeni otrzewnowej u pacjentów po zabiegach chirurgicznych na narządach jamy brzusznej (wczesne wykrycie stanu zapalnego, zmian niedokrwiennych, rozejścia się zespolenia) [87,88,193,202]. Prace eksperymentalne na zwierzętach wykazały dobrą korelację pomiędzy podwyższonym stężeniem mleczanów mierzonych w świetle jelita a urazem niedokrwiennym jelit, a także stężeniem gli-

cerolu a poprawą stanu śluzówki jelit w okresie reperfuzyj [184,193]. Jednocześnie umieszczenie sondy w ścianie jelita dostarczało danych o ogólnoustrojowej hiperlaktatemii. Przydatność kliniczna tych informacji w monitorowaniu pacjentów septycznych i w stanie krytycznym jest niestety ograniczona ze względu na trudności techniczne w zakładaniu sondy do ściany jelita.

Również u pacjentów poddawanych zabiegom kardiologicznym, sonda mikrodiализacyjna była umieszczana w mięśniówce serca, dostarczając danych o zaburzeniach perfuzji tkanki [103]. Znaczący wzrost stosunku mleczanów do pirogronianów w dializacie z monitorowanej ściany komory serca u pacjentów po zabiegach CABG korelował z innymi biochemicznymi i biofizycznymi wskaźnikami zawału serca [164].

### Transplantologia

Monitorowanie metabolizmu tkanek przeszczepionych, szczególnie w obrębie głowy i szyi, znalazło swoje zastosowanie w klinice (wczesne wykrywanie zaburzeń perfuzji umożliwiło przyspieszenie interwencji i uratowanie przeszczepu) [169]. Zaburzenia ukrwienia świeżego przeszczepu skórnośrodkowego są poważnym problemem chirurgii plastycznej. Wnikliwa obserwacja kliniczna nie zawsze wystarczająco wczesnie dostarcza informacji o zaburzeniach w lokalnym krążeniu krwi. Dane płynące z analizy perfuzatu alarmują o niedokrwieniu objawiającym się obniżeniem stężenia glukozy oraz wzrostem mleczanów i glicerolu. Interwencję można przyspieszyć o 2–6 godzin [98,177].

W transplantologii interesujące wyniki uzyskano zakładając sondy mikrodiализacyjnej do wątroby przed pobraniem narządu i kontynuując pomiary po umieszczeniu w organizmie biorcy. Metoda ta pozwala nie tylko śledzić zaburzenia biochemiczne w przeszczepionej tkance we wczesnym okresie pooperacyjnym, ale jest przydatna w ocenie narządu przy kwalifikacji do przeszczepu [166]. Dotychczas przeprowadzone badania pozwoliły m.in. na ustalenie zależności pomiędzy występowaniem kwasicy mleczanowej w wątrobie dawcy a późniejszymi objawami uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego po przeszczepieniu narządu [179], jak również na obserwację metabolizmu wątroby po urazie związanym z przeszczepieniem (przemiany argininy i mocznika) [178] i wczesnego rozpoznania ostrego odrzucania [152].

### Posocznica, wstrząs

Monitorowanie stężenia mleczanów i glukozy w stanach krytycznych (posocznica, wstrząs septyczny, wstrząs pokrwotoczny, wstrząs pourazowy) jest istotnym elementem postępowania klinicznego [115,167,168,204]. Metodę mikrodiализy w określaniu laktademii i glikemii w tych jednostkach chorobowych stosowano dotychczas jedynie w eksperymentach na zwierzętach i nielicznych obserwacjach w populacji dorosłych [44,85,104,105,106,107,114,122,]. Przydatność tej metody wykazano we wczesnym rozpoznawaniu zaburzeń metabolicznych ponieważ wartości stężeń w ECF odzwierciedlały stężenia badane we krwi [51,104]. Monitorowanie za pomocą mikrodiализy prowadzone w stanach septycznych, klinicznych czy eksperymentalnych, pozwala również na śledzenie efektów



stosowanej terapii (użycie wazopresorów) [36,131,138]. Podobne dane o stężeniach markerów niedotlenienia uzyskiwano umieszczając cewnik w żyłę udowej u septycznych pacjentów w stanie ciężkim [190].

### **Tkanka tłuszczowa i mięśnie szkieletowe – gospodarka węglowodanowa i tłuszczowa**

Podskórna tkanka tłuszczowa ze względu na łatwość założenia sondy mikrodializacyjnej została poddana wielu badaniom [65,89,93,108]. Szczególną uwagę poświęcono chorym z cukrzycą [22,38], insulinoopornością [101] oraz otyłością [65,91,205]. Mikrodializa w diabetologii pozwala na śledzenie stężenia glukozy, wykrywanie epizodów niedocukrzenia i modyfikowanie podaży insuliny [69,99,137,181]. Stężenie glukozy, mleczanów i glicerolu w tkance podskórnej badano po stymulacji insuliną oraz po pobudzeniu układu współczulnego, przerwaniu insulino-terapii i w epizodach hiperglikemii [6,7,64,200]. Badania Janssona wykazały udział podskórnej tkanki tłuszczowej w wytwarzaniu mleczanów, jak również zidentyfikowały drugie ważne ich źródło – skórę [90,92].

Mięśnie szkieletowe są tkanką bardzo ciekawą z metabolicznego punktu widzenia. Tkanka ta jest ważnym konsumentem glukozy i producentem mleczanów, źródłem substratów do glukoneogenezy (aminokwasy). Badania z zastosowaniem mikrodializy wykazały, że w ECF tkanki mięśniowej stężenia mleczanów przekraczają wartości spotykane w tkance tłuszczowej i w osoczu [128]. Podobnie stężenie glicerolu jest wyższe w tkance mięśniowej niż w osoczu i bardzo znacznie wzrasta w trakcie wysiłku fizycznego o niewielkim i średnim nasileniu [66,188]. Znaczne ilości triacylogliceroli obecnych w tkance mięśni szkieletowych są substratem dla glukoneogenezy (glicerol), odgrywając rolę w występowaniu hiperglikemii i zaburzonej utylizacji glukozy (cykl glukoza-kwasy tłuszczowe) [129,180]. Stężenie glukozy w mięśniach szkieletowych jest niższe niż w tkance tłuszczowej i osoczu, a po podaży insuliny, obserwowane obniżenie glikemii trwa znacznie dłużej niż w osoczu [137]. Dodatkowo, w hiperinsulinemii wzrasta wytwarzanie i uwalnianie mleczanów przez mięśnie szkieletowe i inne tkanki [151]. Nasilenie glikozy tlenowej aktywuje również Na+K+ATP-azę, co może być źródłem powstawania mleczanów i tłumaczyć wzrost ich stężenia w ECF w obecności tlenu nawet o 135% [151]. Zwiększonego stężenia mleczanów nie obserwowano natomiast przy zahamowaniu Na+K+ATP-azy poprzez podaż oubainy [151].

### **Farmakologia**

Mikrodializa okazuje się również pomocnym narzędziem w farmakologii. Pozwala ona badać właściwości farmakokinetyczne i farmakodynamiczne bezpośrednio w płynie pozakomórkowym różnych tkanek [46,176,201]. Wprawdzie nowe techniki obrazowania: pozytronowa tomografia emisyjna (PET) i spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS) umożliwiają ocenę stężenia leków w narządach, jednak nie pozwalają często na rozróżnienie leków od ich metabolitów oraz substancji związanych i niezwiązanych. Stosowanie znaczników radioaktywnych jest dobrą, lecz czasochłonną metodą, dodatkowo narażającą na promieniowanie jonizujące [28].

Mikrodializa odwrotna (reverse microdialysis) polega na podaży leku poprzez sondę mikrodializacyjną bezpośrednio do tkanki. Jednocześnie poprzez drugą założoną sondę dializat jest zbierany i analizowany. W warunkach eksperymentalnych badano w taki sposób działanie lokalne leków w ośrodkowym układzie nerwowym, wątrobie, sercu, ciałku szklistym i skórze. U ludzi najczęściej metodę tę wykorzystywano w ocenie lokalnego stężenia i przemian leków w tkance mięśniowej, tłuszczowej, płucach i skórze [78].

Implantacja sondy do skóry pozwala również mierzyć stężenia leków aplikowanych zewnętrznie i odpowiedzieć na pytania związane z zasadnością stosowania leków miejscowych (czy osiągają wystarczające stężenie w tkankach) czy rodzaju podłoża i substancji wspomagających [14,39]. Metoda umożliwia też badanie miejscowego metabolizmu i odpowiedzi tkankowej, np. jakie jest rzeczywiste nasilenie hamowania aktywności fosfodiesterazy mierzone wzrostem stężenia cAMP po podaniu milrinonu i teofiliny [141].

Ważnym kierunkiem badań farmakologicznych jest ocena farmakokinetyki i farmakodynamiki różnych związków podawanych ogólnie (enteralnie i parenteralnie) i porównywanie wyników z pomiarami uzyskiwanymi z osocza, w szczególności stężeniami leków w tkankach (antybiotyki, cytostatyki, leki przeciwbólowe, leki przeciwdrgawkowe) po ich podaży ogólnej (dystrybucja leków w tkankach, przenikanie do kompartmentów w różnych stanach chorobowych, przemiany do metabolitów pośrednich, oddziaływanie na naczynia i perfuzję obwodową) oraz porównanie wartości stężeń ze skutecznością preparatu [18, 25,26,45,96,113,139,140,154]. Celem tych badań jest rozwój tzw. farmakologii interaktywnej (interactive pharmacology), zakładającej możliwość dawkowania specyfików z dostosowaniem do metabolizmu tkanek i ich odpowiedzi na dany lek. Oznaczając stężenia leków w tkankach i porównując ze stężeniami w osoczu krwi, trzeba wziąć pod uwagę frakcję związaną z białkami. Całkowite zastąpienie analizy stężenia leków pomiarami tkankowymi nie jest jeszcze możliwe, ale w przypadku niektórych specyfików stwierdzono, że ich tkankowe poziomy dobrze korelują z poziomami osiąganymi w surowicy (np. fenobarbital, teofilina) [117,144,187].

Badania stężeń tkankowych gentamycyny u zdrowych ochotników wykazały dobrą tkankową penetrację leku (stężenie maksymalne leku w tkance podskórnej stanowiło około 40% stężenia leku w surowicy) i osiągnięcie zadowalających wartości minimalnego stężenia hamującego (minimal inhibitory concentration – MIC) wobec wybranych patogenów [121]. Podobnie u osobników po operacji guzów płuc, ale bez cech zakażenia stężenie cefopiromu w miąższu płucnym stanowiło 66% stężenia osoczwego i przekraczało znacząco MIC dla większości bakterii w zakresie swojego działania [70]. Stężenia levofloksacyliny były natomiast dwukrotnie niższe niż mierzone w tkankach obwodowych [208]. U pacjentów z zapaleniami płuc i ropniakami opłucnej stężenia i pole pod krzywą dla piperacyliny w płucach wynosiły 50–60% wartości osoczwowych, co uznano za wartości satysfakcjonujące [196]. W miejscowych procesach zapalnych (dotyczących skóry i tkanki podskórnej) dystrybucja antybiotyków (chinolony, flu-



orochinolony, cefalosporyny 4-tej generacji) do tkanek nie była upośledzona [13,30,34,142].

Inaczej przedstawia się sytuacja w zakażeniach uogólnionych, posocznicy i wstrząsie septycznym. Wprawdzie w przypadku metronidazolu podawanego pacjentom septycznym, wartości stężeń tkankowych, chociaż niższe niż w osoczu, były osiągane w czasie porównywalnym z czasem dystrybucji we krwi i wystarczające do utrzymania właściwości bakteriostatycznych leku; jednak nie wszystkie antybiotyki powielały ten schemat [17,100]. Badania Joukhadara i Müllera wykazały, że stężenia antybiotyków beta-laktamowych w przestrzeni międzykomórkowej u osób zdrowych są porównywalne z wartościami stwierdzanymi w surowicy, ale u pacjentów z posocznicą czy we wstrząsie septycznym tkankowe stężenia leków mogą być podprogowe i nieskuteczne, nawet przy prawidłowych stężeniach osoczowych [96,97]. Także karbapenemy (imipenem, ertapenem) są antybiotykami, które w kompartmentach objętych procesem zapalnym (model zapalenia otrzewnej u szczura) i u pacjentów z posocznicą lub we wstrząsie septycznym charakteryzują się mniejszą szybkością dystrybucji i niższym stężeniem w tkankach niż w osoczu, co wskazuje na konieczność podaży specyfików w krótkich odstępach czasu lub we wlewie ciągłym [18,33,35,192]. Gorszą penetrację tkankową leku obserwowano także u pacjentów septycznych leczonych cefpirolem [174], linezolidem [31], chinolonami czy makrolidami [97]. Porównywalne obserwacje poczyniono u chorych po ciężkich operacjach i cierpiących na cukrzycę [29,182]. Spostrzeżenia te mogą tłumaczyć tzw. oporność na leczenie pomimo wrażliwości na lek *in vitro* oraz szybkie pojawianie się szczepów opornych.

Podobnie, badania stężeń leków przeciwnowotworowych w tkankach guzów (melanoma, rak piersi) wykazały słabą korelację ze stężeniami tych leków w osoczu [139,143]. Mikrodializa stworzyła możliwość określenia lokalnego stężenia cytostatyku, szczególnie u pacjentów słabo odpowiadających na chemioterapię [86,139]. Nowatorskim zastosowaniem mikrodializy odwrotnej jest podaż substancji terapeutycznych bezpośrednio do guza (glioblastoma) z dobrym efektem miejscowym i ogólnym [15].

### Pediatrya

Trzy podstawowe zalety mikrodializy, jak brak ubytku krwi w trakcie monitorowania, jednorazowe nakłucie tkanek związane z założeniem sondy i możliwość relatywnie częstych oznaczeń dializatu, od lat skłaniają badaczy i klinicystów do stosowania tej metody diagnostycznej w szczególnej grupie pacjentów, jaką są noworodki, niemowlęta i dzieci. Ilość publikacji dotycząca użycia metody mikrodializy u dzieci jest jednak ograniczona (35 tytułów w bazie PubMed).

W latach 1993–1994 Korf i Boer opisali przezskórne (transepidermal microdialysis) badanie stężeń glukozy i mleczanów u noworodków, wykazując dobrą korelację uzyskanych pomiarów z wartościami stwierdzanymi we krwi [109]. Podobnych wyników nie można osiągnąć u pacjentów w starszych grupach wiekowych, u których skóra nie jest tak cienka, a wartość odzysku względnego sięga zaledwie kilku procent. W kolejnych publikacjach badacze

skupili się na monitorowaniu stężeń glukozy i mleczanów w różnych stanach klinicznych: po zabiegach chirurgicznych [74], u noworodków hipotroficznym [80], donoszonych i urodzonych przedwcześnie [11] oraz noworodków matek cukrzycowych [95,189]. Wspólnym wynikiem obserwacji tych badaczy były dobre korelacje stężeń glukozy i mleczanów w płynie pozakomórkowym i we krwi, ale też znaczne fluktuacje stężeń glukozy w tkance podskórnej, nieuchwytnie w okresowo wykonywanych pomiarach glikemii. Wahania te nie były artefaktami, co zostało wykazane na podstawie pomiarów wykonywanych po założeniu dwóch sond i porównaniu wyników [74]. Obserwowano również wyższe stężenia mleczanów w ECF w porównaniu z krwią [73,74,80,130], a w pracy Hildingssona także wyższe stężenia glicerolu w ECF niż w osoczu [74].

Późniejsze doniesienia dotyczyły zastosowania mikrodializy w oznaczaniu stężeń aminokwasów [20,62,170], monitorowania dzieci i noworodków z cukrzycą lub zagrożonych tą jednostką chorobową [10,79,99], czy też dzieci z wrodzonymi wadami metabolicznymi (inborn errors of metabolism – IEM) [62,63].

Czasokres utrzymywania sondy w tkance podskórnej wahał się od kilku do kilkunastu dni, a najczęściej opisywanym powikłaniem było krwawienie w miejscu wkłucia. Nie obserwowano miejscowych ani uogólnionych zakażeń. Wszystkie sondy usuwano bez komplikacji i bez pozostawienia blizny.

### Inne

W kilku pracach klinicznych z dziedziny ginekologii i położnictwa podjęto badania metabolizmu endometrium (w poszukiwaniu zaburzeń mogących mieć wpływ na niepłodność – sondę umieszczono na wewnętrznej powierzchni macicy) [116]; badano też gruczoł sutkowy w okresie menopauzalnym pod kątem związków przyczynowo-skutkowych pomiędzy lokalnym metabolizmem, gospodarką hormonalną a występowaniem raka piersi [42,43].

Obiecującym rozwiązaniem technicznym dla potrzeb ciągłego monitorowania podstawowych parametrów biochemicznych wydaje się mikrodializa krwi [160,190]. Wysokie wartości odzysku względnego przy stosunkowo prostym uzyskiwaniu próbek co 30–60 min i jednoczesnym nieskrwawianiu pacjenta stanowią niewątpliwie zalety metody. W obu opisanych obserwacjach czasokres badania był jednak relatywnie krótki (do 24 h), co nie pozwoliło na jednoznaczne rozstrzygnięcie znaczenia potencjalnego problemu spadku odzysku/braku dializatu spowodowanego osadzeniem się włókniaka na sondzie mikrodializacyjnej. Brak szerszego wdrożenia mikrodializy krwi w kliniczne procedury diagnostyczne wskazuje na potrzebę dopracowania metodyki w tym zakresie i kontynuowania badań szczególnie w grupie pacjentów niestabilnych, wymagających częstych analiz biochemicznych.

### PODSUMOWANIE

Otrzymywane wyniki stężeń badanych substancji wymagają ostrożnego interpretowania, szczególnie w odniesieniu do wyników uzyskiwanych z próbek krwi. Należy zawsze pamiętać, że mikrodializa daje obraz biochemiczny

określonej tkanki/narządu (badanie kompartmentu), a nie całego organizmu. Na wynik pomiarów wpływać mogą czynniki ogólne (np. ciężka niedokrwistość – niedobór nośnika tlenu – hipoksja tkankowa), ale też czynniki lokalne (np. niedokrwienie przeszczepionego narządu spowodowane zaburzeniami drożności lokalnej tętnicy). Jest to jednocześnie jedyna znana dotychczas metoda badania metabolizmu określonego obszaru, która daje wgląd w wartości stężeń substancji w danej tkance, a nie jedynie globalnych różnic tętniczo-żylnych badanego regionu (pomiar przepływu tkankowego krwi i różnicy tętniczo-żylny wg zasady Ficka: uwalnianie badanej substancji przez tkankę = (stężenie substancji w osoczu krwi tętniczej - stężenie substancji w osoczu krwi włosniczki żylny)/100 × przepływ krwi w badanej tkance × (1 hematokryt/100), jednostka:  $\mu\text{mol}/\text{min}/100$  g tkanki) [5].

Jednocześnie metoda charakteryzuje się dostępnością i pozwala na bezpośrednie, częste i wielokrotne pomiary (w przeciwieństwie do badań metabolizmu tkanek za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej czy spektroskopii rezonansu magnetycznego).

Do niewątpliwych zalet metody należy zbliżony do ciągłego pomiar wybranych substancji oraz brak konieczności odbiać próbki przed wykonaniem analizy. Nieobecność enzymów w dializacie chroni substancje mierzone przed ich rozkładem. W przypadku konieczności częstego monitorowania biochemicznego parametrów badanych zarówno w krwi jak i ECF, i przy ich względnie dobrej korelacji, można zmniejszyć częstotliwość nakłuc (włosniczka, tętnica, żyła) i ilość pobieranej krwi, co ma szczególne znaczenie w pewnych populacjach pacjentów (noworodki, niemowlęta, pacjenci ze znaczną niedokrwistością, Świadkowie Jehowy). Równocześnie założenie sondy jest jednorazowym zabiegiem o umiarkowanej traumatyzacji tkanek.

Zwiększenie częstotliwości pomiarów, np. co 15–20 minut, pozwala na wczesne wykrywanie stanów hipoglikemii i zapobieganie nasilonemu deficytowi glukozy w tkankach. Ważna jest również możliwość różnicowania przyczyn pod-

wyższonego stężenia mleczanów w oparciu o współczynnik L/P oraz oznaczanie markera stresu tkankowego – glicerolu. Nie bez znaczenia pozostaje opcja długoterminowego analizowania wybranych parametrów metabolizmu z wieloma czynnikami potencjalnie wpływającymi na pomiary (wentylacja mechaniczna, leki, płyny, zdarzenia).

Niedogodność metody to jej inwazyjność związana z nakłuciem skóry i wprowadzaniem prowadnicy, a w przypadku monitorowania w neurochirurgii – założenie 2 lub 3 dodatkowych sond do mózgu. Należy też wziąć pod uwagę to, że dane płynące z analizy dializatu odzwierciedlają tylko lokalne (z danej części mózgowia) zaburzenia metaboliczne i neurochemiczne. Poza tym, wprowadzenie sondy do mózgowia może powodować zmiany otaczających tkanek (w średnicy około 500  $\mu\text{m}$ ), jak: mikroskopijne krwawienia, łagodne astrogliozy, nacieki makrofagów i wakuolizacje [161]. W tym ostatnim przypadku należy jednak rozpatrywać tę inwazyjność z punktu widzenia docelowych korzyści dla pacjenta.

Jak w przypadku każdego naruszenia ciągłości skóry i obecności ciała obcego w tkankach, metoda mikrodializy wiąże się z ryzykiem zakażenia miejscowego i miejscowego odczynu zapalnego, chociaż doniesienia na temat tego powikłania są bardzo skąpe. Realnym, aczkolwiek również rzadkim powikłaniem jest krwawienie z miejsca wkłucia.

Nie można także nie wspomnieć o ograniczeniu zastosowania w praktyce klinicznej związanym z ceną zestawów do mikrodializy, która przekracza kilkaset złotych.

Im więcej otrzymany danych z monitorowania biofizycznego i biochemicznego, tym większa sposobność poznania patofizjologii zaburzeń, ale też trudniejsza interpretacja obrazu klinicznego. Mikrodializa niesie ze sobą szerokie możliwości lepszego poznania funkcjonowania organizmu, ale wymaga rozważnego zastosowania i dalszych prac eksperymentalnych oraz obserwacji w warunkach klinicznych w celu opracowania schematów i rekomendacji (stany chorobowe, substancje monitorowane, wartości i trendy referencyjne) dla jej powszechnego użycia.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Abi-Saab W.M., Maggs D.G., Jones T., Jacob R., Srihari V., Thompson J., Kerr D., Leone P., Krystal J.H., Spencer D.D., During M.J., Sherwin R.S.: Striking differences in glucose and lactate levels between brain extracellular fluid and plasma in conscious human subjects: effects of hyperglycemia and hypoglycemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2002; 22: 271–279
- [2] Anderson C., Andersson T., Wardell K.: Changes in skin circulation after insertion of a microdialysis probe visualized by laser Doppler perfusion imaging. *J. Invest. Dermatol.*, 1994; 102: 807–811
- [3] Ao X., Stenzen J.A.: Microdialysis sampling of cytokines. *Methods*, 2006; 38: 331–341
- [4] Arner P., Bolinder J.: Microdialysis of adipose tissue. *J. Intern. Med.*, 1991; 230: 381–386
- [5] Arner P., Bülow J.: Assessment of adipose tissue metabolism in man. Comparison of Fick and microdialysis techniques. *Clin. Sci.*, 1993; 85: 247–256
- [6] Arner P., Kriegholm E., Engfeldt P., Bolinder J.: Adrenergic regulation of lipolysis *in situ* at rest and during exercise. *J. Clin. Invest.*, 1990; 85: 893–898
- [7] Arner P., Kriegholm E., Engfeldt P.: *In vivo* interactions between beta-1 and beta-2 adrenoreceptors regulate catecholamin tachyphylaxia in human adipose tissue. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999; 259: 317–322
- [8] Bahlmann L., Misfeld M., Klaus S., Leptien A., Heringlake M., Schmucker P., Sievers H.H., Ungerstedt U., Kraatz E.G.: Myocardial redox state during coronary artery bypass grafting assessed with microdialysis. *Intensive Care Med.*, 2004; 30: 889–894
- [9] Bangsbo J.: Vasoactive substances in the interstitium of contracting skeletal muscle examined by microdialysis. *Proc. Nutr. Soc.*, 1999; 58: 925–933
- [10] Baumeister F.A., Hack A., Busch R.: Glucose-monitoring with continuous subcutaneous microdialysis in neonatal diabetes mellitus. *Klin. Padiatr.*, 2006; 218: 230–232
- [11] Baumeister F.A., Rolinski B., Busch R., Emmrich P.: Glucose monitoring with long-term subcutaneous microdialysis in neonates. *Pediatrics*, 2001; 108: 1187–1192
- [12] Bellander B.M., Cantais E., Enblad P., Hutchinson P., Nordström C.H., Robertson C., Sahuquillo J., Smith M., Stocchetti N., Ungerstedt U., Unterberg A., Olsen N.V.: Consensus Meeting on Microdialysis in Neurointensive Care. *Intensive Care Med.*, 2004; 12: 2166–2169

- [13] Bellmann R., Kuchling G., Dehghanyar P., Zeitlinger M., Minar E., Mayer B.X., Muller M., Joukhadar C.: Tissue pharmacokinetics of levofloxacin in human soft tissue infections. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2004; 57: 563–568
- [14] Benfeldt E., Hansen S.H., Volund A., Menne T., Shah V.P.: Bioequivalence of topical formulations in humans: evaluation by dermal microdialysis sampling and the dermatopharmacokinetic method. *J. Invest. Dermatol.*, 2007; 127: 170–178
- [15] Bergenheim A.T., Roslin M., Ungerstedt U., Waldenstrom A., Henriksson R., Ronquist G.: Metabolic manipulation of glioblastoma *in vivo* by retrograde microdialysis of L-2, 4 diamino butyric acid (DAB). *J. Neurooncol.*, 2006; 80: 285–293
- [16] Berger C., Schabitz W.R., Georgiadis D., Steiner T., Aschoff A., Schwab S.: Effects of hypothermia on excitatory amino acids and metabolism in stroke patients: a microdialysis study. *Stroke*, 2002; 33: 519–524
- [17] Bielecka-Grzela S., Klimowicz A.: Application of cutaneous microdialysis to evaluate etronidazole and its main metabolite concentrations in the skin after a single oral dose. *J. Clin. Pharm. Ther.*, 2003; 28: 465–469
- [18] Bielecka-Grzela S., Klimowicz A.: Evaluation of ofloxacin penetration into the skin after a single oral dose assessed by cutaneous microdialysis. *Pol. J. Pharmacol.*, 2003; 55: 613–618
- [19] Bito L., Davson H., Levin E., Murray M., Snider N.: The concentrations of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, *in vivo* dialysate of brain, and blood plasma of the dog. *J. Neurochem.*, 1966; 13: 1057–1067
- [20] Boiko J., Jaquet D., Chevenne D., Rigal O., Czernichow P., Levy-Marchal C.: *In situ* lipolytic regulation in subjects born small for gestational age. *Int. J. Obes. (Lond)*, 2005; 29: 565–570
- [21] Bolinder J., Hagstrom E., Ungerstedt U., Arner P.: Microdialysis of subcutaneous adipose tissue *in vivo* for continuous glucose monitoring in man. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1989; 49: 465–474
- [22] Bolinder J., Ungerstedt U., Arner P.: Long term continuous glucose monitoring with microdialysis in ambulatory insulin-dependent diabetic patients. *Lancet*, 1993; 342: 1080–1085
- [23] Borg M., Sherwin R., Borg W., Tamborlane W.V., Shulman G.I.: Local ventromedial hypothalamus glucose perfusion blocks counterregulation during systemic hypoglycemia in awake rats. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 361–365
- [24] Borg W., Sherwin R., Doring M., Borg M.A., Shulman G.I.: Local ventromedial hypothalamus glucopenia triggers counterregulatory hormone release. *Diabetes*, 1995; 44: 180–184
- [25] Bouw R., Ederoth P., Lundberg J., Ungerstedt U., Nordstrom C.H., Hammarlund-Udenaes M.: Increased blood-brain barrier permeability of morphine in a patient with severe brain lesions as determined by microdialysis. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2001; 45: 390–392
- [26] Brunner M., Hollenstein U., Delacher S., Jager D., Schmid R., Lackner E., Georgopoulos A., Eichler H.G., Muller M.: Distribution and antimicrobial activity of ciprofloxacin in human soft tissues. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999; 43: 1307–1309
- [27] Brunner M., Joukhadar C., Schmid R., Erovic B., Eichler H.G., Muller M.: Validation of urea as an endogenous reference compound for the *in vivo* calibration of microdialysis probes. *Life Sci.*, 2000; 67: 977–984
- [28] Brunner M., Langer O.: Microdialysis versus other techniques for the clinical assessment of *in vivo* tissue during drug distribution. *AAPS J.*, 2006; 8: E263–E271
- [29] Brunner M., Pernerstorfer T., Mayer B.X., Eichler H.G., Muller M.: Surgery and intensive care procedures affect the target site distribution of piperacillin. *Crit. Care Med.*, 2000; 28: 1754–1759
- [30] Brunner M., Stass H., Moller J.G., Schrolnberger C., Erovic B., Hollenstein U., Zeitlinger M., Eichler H.G., Muller M.: Target site concentrations of ciprofloxacin after single intravenous and oral doses. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2002; 46: 3724–3730
- [31] Buerger C., Plock N., Dehghanyar P., Joukhadar C., Kloft C.: Pharmacokinetics of unbound linezolid in plasma and tissue interstitium of critically ill patients after multiple dosing using microdialysis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006; 50: 2455–2463
- [32] Bullock R., Zauner A., Woodward J.J., Myseros J., Choi S.C., Ward J.D., Marmarou A., Young H.F.: Factors affecting excitatory amino acid release following severe human head injury. *J. Neurosurg.*, 1998; 89: 507–518
- [33] Burkhardt O., Brunner M., Schmidt S., Grant M., Tang Y., Derendorf H.: Penetration of ertapenem into skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue in healthy volunteers measured by *in vivo* microdialysis. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2006; 58: 632–636
- [34] Burkhardt O., Derendorf H., Jager D., Kumar V., Madabushi R., Rohl K., Barth J.: Moxifloxacin distribution in the interstitial space of infected decubitus ulcer tissue of patients with spinal cord injury measured by *in vivo* microdialysis. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2006; 38: 904–908
- [35] Burkhardt O., Derendorf H., Welte T.: Ertapenem: the new carbapenem 5 years after first FDA licensing for clinical practice. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2007; 8: 237–256
- [36] Chen H.M., Shyr M.H., Jan Y.Y., Chen M.F.: Effects of dexopamine on regional blood flow and leukotriene production in multiple splanchnic sites in endotoxemic rats. *Hepatogastroenterology*, 2006; 53: 39–44
- [37] Chen Y., Engidawork E., Loidl F., Dell'Anna E., Goiny M., Lubec G., Andersson K., Herrera-Marschitz M.: Short- and long-term effects of perinatal asphyxia on monoamine, amino acid and glycolysis product levels measured in the basal ganglia of the rat. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 1997; 104: 19–30
- [38] Cline G.W., Petersen K.F., Krssak M., Shen J., Hundal R.S., Trajanoski Z., Inzucchi S., Dresner A., Rothman D.L., Shulman G.I.: Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 240–246
- [39] Cross S.E., Anderson C., Thompson M.J., Roberts M.S.: Is there tissue penetration after application of topical salicylate formulations? *Lancet*, 1997; 350: 636
- [40] Crowe A.V., McArdle A., McArdle F., Pattwell D.M., Bell G.M., Kemp G.J., Bone J.M., Griffiths R.D., Jackson M.J.: Markers of oxidative stress in the skeletal muscle of patients on haemodialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2007; 22: 1177–1183
- [41] Dabrosin C.: Technical aspects of microdialysis of human breast. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2001; 61: 269–272
- [42] Dabrosin C.: Microdialysis – an *in vivo* technique for studies of growth factors in breast cancer. *Front. Biosci.*, 2005; 10: 1329–1335
- [43] Dabrosin C., Johansson A.C., Ollinger K.: Decreased secretion of Cathepsin D in breast cancer *in vivo* by tamoxifen: mediated by the mannose-6-phosphate/IGF-II receptor? *Breast Cancer Res. Treat.*, 2004; 85: 229–238
- [44] De Boer J., Potthoff H., Mulder P.O.M., Dofferhoff A.S., Van Thiel R.J., Plijter-Groendijk H., Korff J.: Lactate monitoring with subcutaneous microdialysis in patients with shock: A Pilot Study. *Circ. Shock*, 1994; 43: 57–63
- [45] Delacher S., Derendorf H., Hollenstein U., Brunner M., Joukhadar C., Hofmann S., Georgopoulos A., Eichler H.G., Muller M.: A combined *in vivo* pharmacokinetic-*in vitro* pharmacodynamic approach to simulate target site pharmacodynamics of antibiotics in humans. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2000; 46: 733–739
- [46] De Lange E.C., de Boer A.G., Breimer D.D.: Methodological issues in microdialysis sampling for pharmacokinetic studies. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2000; 45: 125–148
- [47] Delgado J.M., DeFeudis F.V., Roth R.H., Ryugo D.K., Mitruka B.M.: Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1972; 198: 9–21
- [48] Delgado J.M., Rubinstein L.: Intracerebral release of neurohumors in unanesthetized monkeys. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1964; 150: 530–546
- [49] During M.J., Spencer D.D.: Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain. *Lancet*, 1993; 341: 1607–1610
- [50] Eker C., Asgeirsson B., Grande P.O., Schalen W., Nordstrom C.H.: Improved outcome after severe head injury with a new therapy based on principles for brain volume regulation and preserved microcirculation. *Crit. Care Med.*, 1998; 26: 1881–1886
- [51] Ellmerer M., Haluzik M., Blaha J., Kremen J., Svacina S., Toller W., Mader J., Schaupp L., Plank J., Pieber T.: Clinical evaluation of alternative-site glucose measurements in patients after major cardiac surgery. *Diabetes Care*, 2006; 29: 1275–1281
- [52] Engidawork E., Loidl F., Chen Y., Kohlhauser C., Stoeckler S., Dell'Anna E., Lubec B., Lubec G., Goiny M., Gross J., Andersson K., Herrera-Marschitz M.: Comparison between hypothermia and glutamate antagonism treatments on the immediate outcome of perinatal asphyxia. *Exp. Brain Res.*, 2001; 138: 375–383
- [53] Enoksson S., Hagstrom-Toft E., Arner P.: Role of phosphodiesterase III in the antilipolytic effect of insulin in human adipose versus skeletal muscle. *Int. J. Obesity*, 1996; 20 [Suppl. 4]: 84
- [54] Fedele E., Jin Y., Varnier G., Raiteri M.: *In vivo* microdialysis study of a specific inhibitor of soluble guanylyl cyclase on the glutamate receptor/nitric oxide/cyclic GMP pathway. *Brit. J. Pharmacol.*, 1996; 119: 590–594



- [55] Fellander G., Nordenstrom J., Ungerstedt U., Arner P., Bolinder J.: Influence of operation on glucose metabolism and lipolysis in human adipose tissue: a microdialysis study. *Eur. J. Surg.*, 1994; 160: 87–95
- [56] Flodgren G.M., Hellstrom F.B., Fahlstrom M., Crenshaw A.G.: Effects of 30 versus 60 min of low-load work on intramuscular lactate, pyruvate, glutamate, prostaglandin E(2) and oxygenation in the trapezius muscle of healthy females. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2006; 97: 557–565
- [57] Friedl I., Wilson C.L., Morrow J.W., Cameron K.A., Behnke E.D., Ackerson L.C., Maidment N.T.: Increased dopamine release in the human amygdala during performance of cognitive tasks. *Nat. Neurosci.*, 2001; 4: 201–206
- [58] Gardner E.L., Chen J., Paredes W.: Overview of chemical sampling techniques. *J. Neurosci. Methods*, 1993; 48: 173–197
- [59] Goodman J.C., Gopinath S.P., Valadka A.B., Narayan R.K., Grossman R.G., Simpson R.K. Jr., Robertson C.S.: Lactic acid and amino acid fluctuations measured using microdialysis reflect physiological derangements in head injury. *Acta Neurochir. Suppl.*, 1996; 67: S37–S39
- [60] Goodman J.C., Valadka A.B., Gopinath S.P., Cormio M., Robertson C.S.: Lactate and excitatory amino acids measured by microdialysis are decreased by pentobarbital coma in head-injured patients. *J. Neurotrauma*, 1996; 13: 549–556
- [61] Goraca A.: Minireview: microdialysis of the blood outflowing from the brain. *Endocr. Regul.*, 2001; 35: 229–236
- [62] Hack A., Busch V., Gempel K., Baumeister F.A.: Subcutaneous microdialysis for children – safe biochemical tissue monitoring based on a minimal traumatizing no touch insertion technique. *Eur. J. Med. Res.*, 2005; 10: 419–425
- [63] Hack A., Busch V., Pascher B., Busch R., Bieger I., Gempel K., Baumeister F.A.: Monitoring of ketogenic diet for carnitine metabolites by subcutaneous microdialysis. *Pediatr. Res.*, 2006; 60: 93–96
- [64] Hagstrom-Toft E., Arner P., Johansson U., Eriksson L.S., Ungerstedt U., Bolinder J.: Effect of insulin on human adipose tissue metabolism *in situ*. Interactions with beta-adrenoceptors. *Diabetologia*, 1992; 35: 664–670
- [65] Hagstrom E., Arner P., Ungerstedt U., Bolinder J.: Subcutaneous adipose tissue: a source of lactate production after glucose ingestion in humans. *Am. J. Physiol.*, 1990; 258: E888–E893
- [66] Hagstrom-Toft E., Qvist V., Nennesmo I., Ryden M., Bolinder H., Enoksson S., Bolinder J., Arner P.: Marked heterogeneity of human skeletal muscle lipolysis at rest. *Diabetes*, 2002; 51: 3376–3383
- [67] Hamrin K., Rosdahl H., Ungerstedt U., Henriksson J.: Microdialysis in human skeletal muscle: effects of adding a colloid to the perfusate. *J. Appl. Physiol.*, 2002; 92: 385–393
- [68] Hegemann L., Forstinger C., Partsch B., Lagler I., Krotz S., Wolff K.: Microdialysis in cutaneous pharmacology: Kinetic analysis of transdermally delivered nicotine. *J. Invest. Dermatol.*, 1995; 104: 839–843
- [69] Herkner H., Klein N., Joukhar C., Lackner E., Langenberger H., Frossard M., Bieglmayer C., Wagner O., Roden M., Muller M.: Transcapillary insulin transfer in human skeletal muscle. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2003; 33: 141–146
- [70] Herkner H., Muller M.R., Kreisnitz N., Mayer B.X., Frossard M., Joukhar C., Klein N., Lackner E., Muller M.: Closed-chest microdialysis to measure antibiotic penetration into human lung tissue. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2002; 165: 273–276
- [71] Hickner R., Bone D., Ungerstedt U., Jorfeldt L., Henriksson J.: Muscle blood flow during intermittent exercise: comparison of the microdialysis ethanol technique and <sup>133</sup>Xe clearance. *Clin. Sci. (Lond.)*, 1994; 86: 15–25
- [72] Hickner R., Rosdahl H., Borg I., Ungerstedt U., Jorfeldt L., Henriksson J.: Ethanol may be used with the microdialysis technique to monitor blood flow changes in skeletal muscle: dialysate glucose concentration is blood-flow-dependent. *Acta Physiol. Scand.*, 1991; 143: 355–356
- [73] Hildingsson U., Lonnqvist P.A., Sellden H., Eksborg S., Ungerstedt U., Marcus C.: Age-dependent variations in white adipose tissue glycerol and lactate production after surgery measured by microdialysis in neonates and children. *Paediatr. Anaesth.*, 2000; 10: 283–289
- [74] Hildingsson U., Sellden H., Ungerstedt U., Marcus C.: Microdialysis for metabolic monitoring in neonates after surgery. *Acta Paediatr.*, 1996; 85: 589–594
- [75] Hillered L., Persson L.: Neurochemical monitoring of the acutely injured human brain. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.*, 1999; 229: 9–18
- [76] Hillered L., Persson L., Ponten U., Ungerstedt U.: Neurometabolic monitoring of the ischemic human brain using microdialysis. *Acta Neurochir.*, 1990; 102: 91–97
- [77] Hillered L., Valtysson J., Enblad P., Persson L.: Interstitial glycerol as a marker for membrane phospholipid degradation in the acutely injured human brain. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1998; 64: 486–491
- [78] Hocht C., Opezzo J.A., Taira C.A.: Applicability of reverse microdialysis in pharmacological and toxicological studies. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 2007; 55: 3–15
- [79] Holzinger A., Bonfig W., Kusser B., Eggermann T., Muller H., Munch H.G.: Use of long-term microdialysis for subcutaneous glucose monitoring in the management of neonatal diabetes. A first case report. *Biol. Neonate*, 2006; 89: 88–91
- [80] Horal M., Ungerstedt U., Persson B., Westgren M., Marcus C.: Metabolic adaptation in IUGR neonates determined with microdialysis—a pilot study. *Early Hum. Dev.*, 1995; 42: 1–14
- [81] Humpel C., Ebendal T., Olson L.: Microdialysis: a way to study *in vivo* release of neurotrophic bioactivity: a critical summary. *J. Mol. Med.*, 1996; 74: 523–526
- [82] Hutchinson P.J., Al-Rawi P.G., O'Connell M.T., Gupta A.K., Maskell L.B., Hutchinson D.B., Pickard J.D., Kirkpatrick P.J.: Monitoring of brain metabolism during aneurysm surgery using microdialysis and brain multiparameter sensors. *Neuro. Res.*, 1999; 21: 352–358
- [83] Hutchinson P.J., Al-Rawi P.G., O'Connell M.T., Gupta A.K., Maskell L.B., Hutchinson D.B., Pickard J.D., Kirkpatrick P.J.: Head injury monitoring using cerebral microdialysis and Paratrend multiparameter sensors. *Zentralbl. Neurochir.*, 2000; 61: 88–94
- [84] Hutchinson P.J., Al-Rawi P.G., O'Connell M.T., Gupta A.K., Maskell L.B., Hutchinson D.B., Pickard J.D., Kirkpatrick P.J.: On-line monitoring of substrate delivery and brain metabolism in head injury. *Acta Neurochir. Suppl.*, 2000; 76: 431–435
- [85] Hutchinson P.J., O'Connell M.T., Maskell L.B., Pickard J.D.: Monitoring by subcutaneous microdialysis in neurosurgical intensive care. *Acta Neurochir.*, 1999; 75: 57–59
- [86] Jain R.K.: Barriers to drug delivery in solid tumors. *Sci. Am.*, 1994; 271: 58–65
- [87] Jansson K., Jansson M., Andersson M., Magnuson A., Ungerstedt U., Norgren L.: Normal values and differences between intraperitoneal and subcutaneous microdialysis in patients after non-complicated gastrointestinal surgery. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2005; 65: 273–281
- [88] Jansson K., Redler B., Truedsson L., Magnuson A., Ungerstedt U., Norgren L.: Postoperative on-line monitoring with intraperitoneal microdialysis is a sensitive clinical method for measuring increased anaerobic metabolism that correlates to the cytokine response. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2004; 39: 434–439
- [89] Jansson P., Fowelin J., Smith U., Lonnroth P.: Characterization by microdialysis of intercellular glucose level in subcutaneous tissue in humans. *Am. J. Physiol.*, 1988; 255: E218–E220
- [90] Jansson P.A., Krogstad A.L., Lonnroth P.: Microdialysis measurements in skin: evidence for significant lactate release in healthy humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 1996; 271: E138–E142
- [91] Jansson P.A., Larsson A., Smith U., Lonnroth P.: Glycerol production in subcutaneous adipose tissue in lean and obese humans. *J. Clin. Invest.*, 1992; 89: 1610–1617
- [92] Jansson P.A., Smith U., Lonnroth P.: Evidence for lactate production by human adipose tissue *in vivo*. *Diabetologia*, 1990; 33: 253–256
- [93] Jansson P.A., Smith U., Lonnroth P.: Interstitial glycerol concentration measured by microdialysis in two subcutaneous regions in humans. *Am. J. Physiol.*, 1990; 258: E918–E922
- [94] Jansson P., Veneman T., Nurjhan N., Gerich J.: An improved method to calculate adipose tissue interstitial substrate recovery for microdialysis studies. *Life Sci.*, 1994; 54: 1621–1624
- [95] Jordan J., Tank J., Stoffels M., Franke G., Christensen N.J., Luft F.C., Boschmann M.: Interaction between beta-adrenergic receptor stimulation and nitric oxide release on tissue perfusion and metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 2803–2810
- [96] Joukhar C., Derendorf H., Muller M.: Microdialysis. A novel tool for clinical studies of anti-infective agents. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 2001; 57: 211–219
- [97] Joukhar C., Frossard M., Mayer B.X., Brunner M., Klein N., Siostrzonek P., Eichler H.G., Muller M.: Impaired target site penetration of beta-lactams may account for therapeutic failure in patients with septic shock. *Crit. Care Med.*, 2001; 29: 385–319
- [98] Jyranki J., Suominen S., Vuola J., Back L.: Microdialysis in clinical practice: monitoring intraoral free flaps. *Ann. Plast. Surg.*, 2006; 56: 387–393



- [99] Kamel A., Norgren S., Persson B., Marcus C.: Insulin induced hypoglycaemia: comparison of glucose and glycerol concentrations in plasma and microdialysate from subcutaneous adipose tissue. *Arch. Dis. Child.*, 1999; 80: 42–45
- [100] Karjagin J., Pahkla R., Karki T., Starkopf J.: Distribution of metronidazole in muscle tissue of patients with septic shock and its efficacy against *Bacteroides fragilis in vitro*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005; 55: 341–346
- [101] Karlsson A.K., Attvall S., Jansson P.A., Sulivan L., Lonnroth P.: Influence of the sympathetic nervous system on insulin sensitivity and adipose tissue metabolism: a study in spinal cord-injured subjects. *Metabolism*, 1995; 44: 52–58
- [102] Kendrick K.M.: Microdialysis measurement of *in vivo* neuropeptide release. *J. Neurosci. Methods.*, 1990; 34: 35–46
- [103] Kennergren C., Mantovani V., Strindberg L., Berglin E., Hamberger A., Lonnroth P.: Myocardial interstitial glucose and lactate before, during, and after cardioplegic heart arrest. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003; 284: E788–E794
- [104] Klaus S., Bahlmann L., Gliemroth J., Heringlake M., Prussmann M., Schmucker P.: Microdialysis for metabolic monitoring during septicemia. *Biomed. Tech.*, 2001; 46: 304–306
- [105] Klaus S., Heringlake M., Block K., Nolde J., Staubach K., Bahlmann L.: Metabolic changes detected by microdialysis during endotoxin shock and after endotoxin preconditioning. *Intensive Care Med.*, 2003; 29: 634–641
- [106] Klaus S., Heringlake M., Gliemroth J., Pagel H., Staubach K., Bahlmann L.: Biochemical tissue monitoring during hypoxia and reoxygenation. *Resuscitation*, 2003; 56: 299–305
- [107] Klaus S., Staubach K., Heringlake M., Gliemroth J., Schmucker P., Bahlmann L.: Tissue metabolism during endotoxin shock after pretreatment with monophosphoryl lipid A. *Cardiovasc. Res.*, 2003; 59: 105–112
- [108] Kolehmainen M., Ohisalo J.J., Kaartinen J.M., Tuononen V., Paakkonen M., Poikolainen E., Alhava E., Uusitupa M.I.: Concordance of *in vivo* microdialysis and *in vitro* techniques in the studies of adipose tissue metabolism. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2000; 24: 1426–1432
- [109] Korf J., de Boer J., Baarsma R., Venema K., Okken A.: Monitoring of glucose and lactate using microdialysis: applications in neonates and rat brain. *Dev. Neurosci.*, 1993; 15: 240–246
- [110] Korth U., Merkel G., Fernandez F.F., Jandewerth O., Dogan G., Koch T., van Ackern K., Weichel O., Klein J.: Tourniquet-induced changes of energy metabolism in human skeletal muscle monitored by microdialysis. *Anesthesiology*, 2000; 93: 1407–1412
- [111] Langberg H., Rosendal L., Kjaer M.: Training-induced changes in peritendinous type I collagen turnover determined by microdialysis in humans. *J. Physiol.*, 2001; 534: 297–302
- [112] Langemann H., Alessandri B., Mendelowitsch A., Feuerstein T., Landolt H., Gratzl O.: Extracellular levels of glucose and lactate measured by quantitative microdialysis in the human brain. *Neuro. Res.*, 2001; 23: 531–536
- [113] Lefeuvre S., Marchand S., Lamarche I., Mimos O., Couet W.: Microdialysis study of imipenem distribution in the intraperitoneal fluid of rats with or without experimental peritonitis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006; 50: 34–37
- [114] Levy B., Gibot S., Franck P., Cravoisy A., Bollaert P.E.: Relation between muscle Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup> ATPase activity and raised lactate concentrations in septic shock: a prospective study. *Lancet*, 2005; 365: 871–875
- [115] Levy B., Sadoune L.O., Gelot A.M., Bollaert P.E., Nabet P., Larcan A.: Evolution of lactate/pyruvate and arterial ketone body ratios in the early course of catecholamine-treated septic shock. *Crit. Care Med.*, 2000; 28: 114–119
- [116] Licht P., Losch A., Dittrich R., Neuwinger J., Siebzehrubl E., Wildt L.: Novel insights into human endometrial paracrinology and embryomatern communication by intrauterine microdialysis. *Hum. Reprod. Update*, 1998; 4: 532–538
- [117] Lindberger M., Tomson T., Lars S.: Microdialysis sampling of carbamazepine, phenytoin and phenobarbital in subcutaneous extracellular fluid and subdural cerebrospinal fluid in humans: an *in vitro* and *in vivo* study of adsorption to the sampling device. *Pharmacol. Toxicol.*, 2002; 91: 158–165
- [118] Loidl C.F., Herrera-Marschitz M., Andersson K., You Z.B., Gojny M., O'Connor W.T., Silveira R., Rawal R., Bjelke B., Chen Y.: Long-term effects of perinatal asphyxia on basal ganglia neurotransmitter systems studied with microdialysis in rat. *Neurosci. Lett.*, 1994; 175: 9–12
- [119] Lonnroth P., Jansson P.A., Smith U.: A microdialysis method allowing characterization of intracellular water space in humans. *Am. J. Physiol.*, 1987; 253: E228–E231
- [120] Lonnroth P., Strindberg L.: Validation of the 'internal reference technique' for calibrating microdialysis catheters *in situ*. *Acta Physiol. Scand.*, 1995; 153: 375–380
- [121] Lorentzen H., Kallehave F., Kolmos H.J., Knigge U., Bulow J., Gottrup F.: Gentamicin concentrations in human subcutaneous tissue. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996; 40: 1785–1789
- [122] Lourido J., Ederoth P., Sundvall N., Ungerstedt U., Nordstrom C.H.: Correlation between blood glucose concentration and glucose concentration in subcutaneous adipose tissue evaluated with microdialysis during intensive care. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2002; 62: 285–292
- [123] Lundberg G.I., Olofsson P., Ungerstedt U., Jansson E., Sundberg J.: Lactate concentrations in human skeletal muscle biopsy, microdialysate and venous blood during dynamic exercise under blood flow restriction. *Pflugers Arch.*, 2002; 443: 458–465
- [124] Lundberg G.I., Wahlberg E., Swedenborg J., Sundberg C.J., Ungerstedt U., Olofsson P.: Continuous assessment of local metabolism by microdialysis in critical limb ischaemia. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2000; 19: 605–613
- [125] Lyng K., Braakhuis M., Froen J.F., Stray-Pedersen B., Saugstad O.D.: Inflammation increases vulnerability to hypoxia in newborn piglets: effect of reoxygenation with 21% and 100% O<sub>2</sub>. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005; 192: 1172–1178
- [126] MacLean D.A., Bangsbo J., Saltin B.: Muscle interstitial glucose and lactate levels during dynamic exercise in humans determined by microdialysis. *Am. J. Physiol.*, 1999; 87: 1483–1490
- [127] Maggs D.G., Borg W.P., Sherwin R.S.: Microdialysis techniques in the study of brain and skeletal muscle. *Diabetologia*, 1997; 40, Suppl. 2: S75–S82
- [128] Maggs D.G., Jacob R., Rife F., Caprio S., Tamborlane W.V., Sherwin R.S.: Counterregulation in peripheral tissues: effect of systemic hypoglycemia on levels of substrates and catecholamines in human skeletal muscle and adipose tissue. *Diabetes*, 1997; 46: 70–76
- [129] Maggs D.G., Jacob R., Rife F., Lange R., Leone P., Doring M.J., Tamborlane W.V., Sherwin R.S.: Interstitial fluid concentrations of glycerol, glucose, and amino acids in human quadriceps muscle and adipose tissue. Evidence for significant lipolysis in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 370–377
- [130] Marcus C.: How to measure and interpret glucose in neonates? *Acta Paediatr.*, 2001; 90: 963–964
- [131] Martikainen T.J., Tenhunen J.J., Giovannini I., Uusaro A., Ruokonen E.: Epinephrine induces tissue perfusion deficit in porcine endotoxin shock: evaluation by regional CO<sub>2</sub> content gradients and lactate-to-pyruvate ratios. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2005; 288: G586–G592
- [132] McCormick A., Suguihara C., Huang J., Devia C., Hehre D., Bruce J.H., Bancalari E.: Depressed ventilatory response to hypoxia in hypothermic newborn piglets: role of glutamate. *J. Appl. Physiol.*, 1998; 84: 830–836
- [133] Menacherry S., Hubert W., Justice J.B.Jr.: *In vivo* calibration of microdialysis probes for exogenous compounds. *Anal. Chem.*, 1992; 64: 577–583
- [134] Mendelowitsch A., Langemann H., Alessandri B., Kanner A., Landolt H., Gratzl O.: Microdialytic monitoring of the cortex during neurovascular surgery. *Acta Neurochir. (Wien)*, 1996; 67 (Suppl): 48–52
- [135] Metzsch C., Lundberg J., Norgren L.: Regional tissue metabolism during open or endovascular abdominal aortic aneurysm surgery. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2001; 21: 320–325
- [136] Meyerson B.A., Linderth B., Karlsson H., Ungerstedt U.: Microdialysis in the human brain: extracellular measurements in the thalamus of parkinsonian patients. *Life Sci.*, 1990; 46: 301–308
- [137] Moberg E., Hagstrom-Toft E., Arner P., Bolinder J.: Protracted glucose fall in subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle compared with blood during insulin-induced hypoglycaemia. *Diabetologia*, 1997; 40: 1320–1326
- [138] Möller A.D., Grände P.O.: Beneficial effects of low-dose prostacyclin on cat intestinal perfusion during endotoxemia as evaluated with microdialysis and oxygen transport variables. *Crit. Care Med.*, 2001; 29: 351–358
- [139] Müller M.: Microdialysis in clinical drug delivery studies. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2000; 45: 255–269
- [140] Müller M.: Microdialysis. Science, medicine, and the future. *BMJ*, 2002; 324: 588–591

- [141] Müller M., Burgdorff T., Jansen B., Singer E.A., Agneter E., Dörner G., Brunner M., Eichler H.G.: *In vivo* drug-response measurements in target tissues by microdialysis. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1997; 62: 165–170
- [142] Müller M., Haag O., Burgdorff T., Georgopoulos A., Weninger W., Jansen B., Stanek G., Pehamberger H., Agneter E., Eichler H.G.: Characterization of peripheral-compartment kinetics of antibiotics by *in vivo* microdialysis in humans. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996; 40: 2703–2709
- [143] Müller M., Mader R.M., Steiner B., Steger G.G., Jansen B., Gnant M., Helbich T., Jakesz R., Eichler H.G., Blochl-Daum B.: 5-Fluorouracil kinetics in the interstitial tumor space: clinical response in breast cancer patients. *Cancer Res.*, 1997; 57: 2598–2601
- [144] Müller M., v. Osten B., Schmid R., Piegl E., Gerngross I., Buchegger H., Eichler H.G.: Theophylline kinetics in peripheral tissues *in vivo* in humans. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1995; 352: 438–441
- [145] Müller M., Schmid R., Georgopoulos A., Buxbaum A., Wasicek C., Eichler H.: Application of microdialysis to clinical pharmacokinetics in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1995; 57: 371–380
- [146] Müller M., Schmid R., Nieszpaur-Los M., Fassolt A., Lonnroth P., Fasching P., Eichler H.G.: Key metabolite kinetics in human skeletal muscle during ischaemia and reperfusion: measurement by microdialysis. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1995; 25: 601–607
- [147] Naredi S., Olivecrona M., Lindgren C., Ostlund A.L., Grande P.O., Koskinen L.O.: An outcome study of severe traumatic head injury using "the Lund therapy" with low-dose prostacyclin. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2001; 45: 402–406
- [148] Nilsson F., Nilsson T., Edvinsson L., Bjorkman S., Nordstrom C.H.: Effects of dihydroergotamine and sumatriptan on isolated human cerebral and peripheral arteries and veins. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 1997; 41: 1257–1262
- [149] Nilsson O.G., Brandt L., Ungerstedt U., Säveland H.: Bedside detection of brain ischemia using intracerebral microdialysis: subarachnoid hemorrhage and delayed ischemic deterioration. *Neurosurgery*, 1999; 45: 1176–1184
- [150] Nilsson O.G., Polito A., Säveland H., Ungerstedt U., Nordstrom C.H.: Are primary supratentorial intracerebral hemorrhages surrounded by a biochemical penumbra? A microdialysis study. *Neurosurgery*, 2006; 59: 521–528
- [151] Novel-Chate V., Rey V., Chioloro R., Schneiter P., Leverve X., Jequier E., Tappy L.: Role of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in insulin-induced lactate release by skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001; 280: E296–E300
- [152] Nowak G., Ungerstedt J., Wernerman J., Ungerstedt U., Ericzon B.G.: Clinical experience in continuous graft monitoring with microdialysis early after liver transplantation. *Br. J. Surg.*, 2002; 89: 1169–1175
- [153] Nowak P., Dąbrowska J., Bortel A., Biedka I., Szczerbak G., Słomian G., Kostrzewa R.M., Brus R.: Histamine H3 receptor agonist- and antagonist-evoked vacuous chewing movements in 6-OHDA-lesioned rats occurs in an absence of change in microdialysate dopamine levels. *Eur. J. Pharmacol.*, 2006; 552: 46–54
- [154] Okura T., Komiyama N., Morita Y., Kimura M., Deguchi Y., Yamada S.: Comparative measurement of spinal CSF microdialysate concentrations and concomitant antinociception of morphine and morphine-6 beta-glucuronide in rats. *Life Sci.*, 2007; 80: 1319–1326
- [155] Oldner A., Gojny M., Rudehill A., Ungerstedt U., Sollevi A.: Tissue hypoxanthine reflects gut vulnerability in porcine endotoxin shock. *Crit. Care Med.*, 1999; 27: 790–794
- [156] Olesen J.L., Heinemeier K.M., Gemmer C., Kjaer M., Flyvbjerg A., Langberg H.: Exercise-dependent IGF-I, IGF1R, and type I collagen changes in human peritendinous connective tissue determined by microdialysis. *J. Appl. Physiol.*, 2007; 102: 214–220
- [157] Olesen J.L., Langberg H., Heinemeier K.M., Flyvbjerg A., Kjaer M.: Determination of markers for collagen type I turnover in peritendinous human tissue by microdialysis: effect of catheter types and insertion trauma. *Scand. J. Rheumatol.*, 2006; 35: 312–317
- [158] Orłowska-Majdak M.: Microdialysis of the brain structures: application in behavioral research on vasopressin and oxytocin. *Acta Neurobiol. Exp.*, 2004; 64: 177–188
- [159] Orłowska-Majdak M., Traczyk W.Z., Szymański D.: Hippocampal vasopressin release evoked by N-Methyl D-Aspartate (NMDA) microdialysis. *Physiol. Res.*, 2003; 52: 373–382
- [160] Páez X., Hernández L.: Blood microdialysis in humans: a new method for monitoring plasma compounds. *Life Sci.*, 1997; 61: 847–856
- [161] Peerdeman S.M., Girbes A.R., Vandertop W.P.: Cerebral microdialysis as a new tool for neurometabolic monitoring. *Intensive Care Med.*, 2000; 26: 662–669
- [162] Penning D.H., Chestnut D.H., Dexter F., Hrdy J., Poduska D., Atkins B.: Glutamate release from the ovine fetal brain during maternal hemorrhage: a study using chronic in utero cerebral microdialysis. *Anesthesiology*, 1995; 82: 521–530
- [163] Persson L., Hillered L.: Chemical monitoring of neurosurgical intensive care patients using intracerebral microdialysis. *J. Neurosurg.*, 1992; 76: 72–80
- [164] Poling J., Rees W., Klaus S., Bahlmann L., Hubner N., Mantovani V., Warnecke H.: Myocardial metabolic monitoring with the microdialysis technique during and after open heart surgery. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2007; 51: 341–346
- [165] Reinstrup P., Ståhl N., Mellergård P., Uski T., Ungerstedt U., Nordström C.H.: Intracerebral microdialysis in clinical practice: baseline values for chemical markers during wakefulness, anesthesia, and neurosurgery. *Neurosurgery*, 2000; 47: 701–710
- [166] Richards D.A., Silva M.A., Murphy N., Wigmore S.J., Mirza D.F.: Extracellular amino acid levels in the human liver during transplantation: a microdialysis study from donor to recipient. *Amino Acids*, 2007; Jan 19, [Epub ahead of print]
- [167] Rixen D., Raum M., Holzgraefe B., Sauerland S., Nagelschmidt M., Neugebauer E.A.: Shock and Trauma Study Group. A pig hemorrhagic shock model: oxygen debt and metabolic acidemia as indicators of severity. *Shock*, 2001; 16: 239–244
- [168] Rixen D., Raum M., Holzgraefe B., Schafer U., Hess S., Tenhunen J., Tuomisto L., Neugebauer E.A.: Shock and Trauma Study Group. Local lactate and histamine changes in small bowel circulation measured by microdialysis in pig hemorrhagic shock. *Shock*, 2002; 18: 355–359
- [169] Rojdmarm J., Blomqvist L., Malm M., Adams-Ray B., Ungerstedt U.: Metabolism in myocutaneous flaps studied by *in situ* microdialysis. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.*, 1998; 32: 27–34
- [170] Rolinski B., Baumeister F.A., Roscher A.A.: Determination of amino acid tissue concentrations by microdialysis: method evaluation and relation to plasma values. *Amino Acids*, 2001; 21: 129–138
- [171] Rosdahl H., Ungerstedt U., Jorfeldt L., Henriksson J.: Interstitial glucose and lactate balance in human skeletal muscle and adipose tissue studied by microdialysis. *J. Physiol.*, 1993; 471: 637–657
- [172] Rosendal L., Blangsted A.K., Kristiansen J., Sogaard K., Langberg H., Sjøgaard G., Kjaer M.: Interstitial muscle lactate, pyruvate and potassium dynamics in the trapezius muscle during repetitive low-force arm movements, measured with microdialysis. *Acta Physiol. Scand.*, 2004; 182: 379–388
- [173] Sarre S., Deleu D., Van Belle K., Ebinger G., Michotte Y.: Quantitative microdialysis for studying the *in vivo* L-DOPA kinetics in blood and skeletal muscle of the dog. *Pharm. Res.*, 1995; 12: 746–750
- [174] Saueremann R., Delle-Karth G., Marsik C., Steiner I., Zeitlinger M., Mayer-Helm B.X., Georgopoulos A., Müller M., Joukhadar C.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefpirome in subcutaneous adipose tissue of septic patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005; 49: 650–655
- [175] Säveland H., Nilsson O.G., Boris-Möller F., Wieloch T., Brandt L.: Intracerebral microdialysis of glutamate and aspartate in two vascular territories after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 1996; 38: 12–19
- [176] Sawchuk R.J., Elmquist W.F.: Microdialysis in the study of drug transporters in the CNS. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2000; 45: 295–307
- [177] Setala L., Papp A., Romppanen E.L., Mustonen P., Berg L., Harma M.: Microdialysis detects postoperative perfusion failure in microvascular flaps. *J. Reconstr. Microsurg.*, 2006; 22: 87–96
- [178] Silva M.A., Mirza D.F., Buckels J.A., Bramhall S.R., Mayer D., Wigmore S.J., Murphy N., Richards D.A.: Arginine and urea metabolism in the liver graft: A study using microdialysis in human orthotopic liver transplantation. *Transplantation*, 2006; 82: 1304–1311
- [179] Silva M.A., Murphy N., Richards D.A., Wigmore S.J., Bramhall S.R., Buckels A., Adams D.H., Mirza D.F.: Interstitial lactic acidosis in the graft during organ harvest, cold storage, and reperfusion of human liver allografts predicts subsequent ischemia reperfusion injury. *Transplantation*, 2006; 82: 227–233
- [180] Sjostrand M., Gudbjornsdottir S., Holmang A., Strindberg L., Ekberg K., Lonnroth P.: Measurements of interstitial muscle glycerol in normal and insulin-resistant subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87: 2206–2211

- [181] Sjostrand M., Holmang A., Strindberg L., Lonnroth P.: Estimations of muscle interstitial insulin, glucose, and lactate in type 2 diabetic subjects. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000; 279: E1097–E1103
- [182] Skhirtladze K., Hutschala D., Fleck T., Thalhammer F., Ehrlich M., Vukovich T., Muller M., Tschernko E.M.: Impaired target site penetration of vancomycin in diabetic patients following cardiac surgery. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006; 50: 1372–1375
- [183] Skjoth-Rasmussen J., Schulz M., Kristensen S.R., Bjerre P.: Delayed neurological deficits detected by an ischemic pattern in the extracellular cerebral metabolites in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.*, 2004; 100: 8–15
- [184] Solligard E., Juel I.S., Bakkelund K., Jynge P., Tvedt K.E., Johnsen H., Aadahl P., Gronbech J.E.: Gut luminal microdialysis of glycerol as a marker of intestinal ischemic injury and recovery. *Crit. Care Med.*, 2005; 33: 2278–2285
- [185] Ståhl N., Mellergård P., Hallström A., Ungerstedt U., Nordström C.H.: Intracerebral microdialysis and bedside biochemical analysis in patients with fatal traumatic brain lesions. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2001; 45: 977–985
- [186] Ståhl N., Ungerstedt U., Nordström C.H.: Brain energy metabolism during controlled reduction of cerebral perfusion pressure in severe head injuries. *Intensive Care Med.*, 2001; 27: 1215–1223
- [187] Stahle L., Arner P., Ungerstedt U.: Drug distribution studies with microdialysis. III: Extracellular concentration of caffeine in adipose tissue in man. *Life Sci.*, 1991; 49: 1853–1858
- [188] Stallknecht B., Kiens B., Helge J.W., Richter E.A., Galbo H.: Interstitial glycerol concentrations in human skeletal muscle and adipose tissue during graded exercise. *Acta Physiol. Scand.*, 2004; 180: 367–377
- [189] Stenninger E., Eriksson E., Stigfur A., Schollin J., Aman J.: Monitoring of early postnatal glucose homeostasis and cerebral function in newborn infants of diabetic mothers. A pilot study. *Early Hum. Dev.*, 2001; 62: 23–32
- [190] Stjernström H., Karlsson T., Ungerstedt U., Hillered L.: Chemical monitoring of intensive care patients using intravenous microdialysis. *Intensive Care Med.*, 1993; 19: 423–428
- [191] Street D., Bangsbo J., Juel C.: Interstitial pH in human skeletal muscle during and after dynamic graded exercise. *J. Physiol.*, 2001; 537: 993–998
- [192] Tegeder I., Schmidtko A., Brautigam L., Kirschbaum A., Geisslinger G., Lotsch J.: Tissue distribution of imipenem in critically ill patients. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2002; 71: 325–333
- [193] Tenhunen J.J., Kosunen H., Alhava E., Tuomisto L., Takala J.A.: Intestinal luminal microdialysis: a new approach to assess gut mucosal ischemia. *Anesthesiol.*, 1999; 91: 1807–1815
- [194] Thoresen M., Hallstrom A., Whitelaw A., Puka-Sundvall M., Loberg E.M., Satas S., Ungerstedt U., Steen P.A., Hagberg H.: Lactate and pyruvates changes in the cerebral gray and white matter during post-hypoxic seizures in newborn pigs. *Pediatr. Res.*, 1998; 44: 746–754
- [195] Thorsen K., Kristoffersson A.O., Lerner U.H., Lorentzon R.P.: *In situ* microdialysis in bone tissue: stimulation of prostaglandin E sub 2 release by weight-bearing mechanical loading. *J. Clin. Invest.*, 1996; 98: 2446–2449
- [196] Tomaselli F., Dittrich P., Maier A., Woltsche M., Matzi V., Pinter J., Nuhsbaumer S., Pinter H., Smolle J., Smolle-Juttner F.M.: Penetration of piperacillin and tazobactam into pneumonic human lung tissue measured by *in vivo* microdialysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2003; 55: 620–624
- [197] Ungerstedt U.: Microdialysis – principles and applications for studies in animals and man. *J. Intern. Med.*, 1991; 230: 365–373
- [198] Ungerstedt U., Pycock C.H.: Functional correlate of dopamine neurotransmission. *Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss.*, 1974; 1278: 1–13
- [199] Unterberg A.W., Sakowitz O.W., Sarrafzadeh A.S., Benndorf G., Lanksch W.R.: Role of bedside microdialysis in the diagnosis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.*, 2001; 94: 740–749
- [200] Van der Merwe T., Eklund L., Jansson P., Lonnroth P.N.: Effects of hyperglycemia on *in vivo* adipose tissue metabolism studied with microdialysis in IDDM subjects. *Diabetes*, 1994; 43: 866–870
- [201] Verbeek R.K.: Blood microdialysis in pharmacokinetic and drug metabolism studies. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2000; 45: 217–228
- [202] Verdant C.L., Chierego M., De Moor V., Chamou R., Creteur J., de Dieu Mutijima J., Loi P., Gelin M., Gullo A., Vincent J.L., De Becker D.: Prediction of postoperative complications after urgent laparotomy by intraperitoneal microdialysis: A pilot study. *Ann. Surg.*, 2006; 244: 994–1002
- [203] Vespa P., Prins M., Ronne-Engström E., Caron M., Shalmon E., Hovda D.A., Martin N.A., Becker D.P.: Increase in extracellular glutamate caused by reduced cerebral perfusion pressure and seizures after human traumatic brain injury: a microdialysis study. *J. Neurosurg.*, 1998; 89: 971–982
- [204] Vincent J.L., Dufaye P., Berre J., Leeman M., Degaute J.P., Kahn R.J.: Serial lactate determinations during circulatory shock. *Crit. Care Med.*, 1983; 11: 449–451
- [205] Virtanen K.A., Peltoniemi P., Marjamaki P., Asola M., Strindberg L., Parkkola R., Huupponen R., Knuuti J., Lonnroth P., Nuutila P.: Human adipose tissue glucose uptake determined using [18F]-fluoro-deoxyglucose ([18F]FDG) and PET in combination with Microdialysis. *Diabetologia*, 2001; 44: 2171–2179
- [206] Vaeltgaard L., Pharo A., Tonnessen T.I., Mollnes T.E.: Microdialysis for monitoring inflammation: efficient recovery of cytokines and anaphylotoxins provided optimal catheter pore size and fluid velocity conditions. *Scand. J. Immunol.*, 2006; 64: 345–352
- [207] Wientjes K.J., Vonk P., Vonk-van Klei Y., Schoonen A.J., Kossen N.W.: Microdialysis of glucose in subcutaneous adipose tissue up to 3 weeks in healthy volunteers. *Diabetes Care*, 1998; 21: 1481–1488
- [208] Zeitlinger M.A., Traunmuller F., Abraham A., Muller M.R., Erdogan Z., Muller M., Joukhadar C.: A pilot study testing whether concentrations of levofloxacin in interstitial space fluid of soft tissue may serve as a surrogate for predicting its pharmacokinetics in lung. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2007; 29: 44–50
- [209] Zeitzer J.M., Morales-Villagran A., Maidment N.T., Behnke E.J., Ackerson L.C., Lopez-Rodriguez F., Fried I., Engel J. Jr, Wilson C.L.: Extracellular adenosine in the human brain during sleep and sleep deprivation: an *in vivo* microdialysis study. *Sleep*, 2006; 29: 455–461
- [210] Zetterstrom T., Ungerstedt U.: Effects of apomorphine on the *in vivo* release of dopamine and its metabolites, studied by brain dialysis. *Eur. J. Pharmacol.*, 1984; 97: 29–36
- [211] Zini S., Tremblay E., Roisin M.P., Ben-Ari Y.: Regional distribution of sulfonylurea receptors in the brain of rodent and primate. *Brain Res.*, 1991; 542: 151–154
- [212] Zoremba N., Homola A., Rossaint R., Sykova E.: Brain metabolism and extracellular space diffusion parameters during and after transient global hypoxia in the rat cortex. *Exp. Neurol.*, 2007; 203: 34–41