PROBLEMATIKA VLASOVÉ ANALÝZY VE FORENZNÍ TOXIKOLOGII

Problems of hair analysis in forensic toxicology

Petr Procházka

8: 200 - 435, 2006

ISSN 1212-4117

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, katedra radiologie a toxikologie

Summary

The present work is aimed at summarizing knowledge and providing integral outline of problems of the hair analysis. It is particularly focused on its use in practice. It also offers the reader with an integral review of methods of carrying out tests of hair samples for the presence of certain substances. Last, but not least, it serves as a summarization of knowledge necessary for the hair analysis. The first part of the work deals with problems of the choice of the type of biological material for the analysis, particularly with the importance of the hair tissue and further alternative materials. The second part is aimed at the description of the mechanism of the incorporation of substances into the hair matrix. After these "theoretical" treatises, there is a description and discussion of methods of the hair analysis. Methods of the hair analysis are very interesting and even specialists cannot achieve agreement about a standard procedure. Thus, a general pattern has been established, according to which the analyses can be performed. General recommendations for methodical procedures are being issued by the society of hair testing. In accordance with these recommendations, particular methodical directions and procedures provided for given types of analyses are arranged. The last part offers an integral outline of the use of the hair analysis. In the literature, there are many conflicting and controversial facts. Not all the authors agree that the hair as an alternative biological material can have the same importance as for example the blood or urine, but when evaluating a wide spectrum of the use of the hair analysis, we can find that the hair is actually a very important type of samples. The determination of chemical substances or their metabolites in the hair tissue currently becomes a modern tool not only in forensic toxicology, but also in other branches of toxicology, such as e.g. "Human performance toxicology". In the Czech Republic, the use of the hair analysis is currently considered in association with investigation of traffic violations. Thus, it is obvious that requirements for knowledge of this problem increase not only among toxicologists, but also among specialists dealing e.g. with forensic practice.

Key words: hair – alternative materials – hair analysis – forensic toxicology – „Human performance toxicology” – methods of hair analysis

Souhrn

Cílem této práce je shrnout poznatky a poskytnout ucelený náhled na problematiku vlasové analýzy. Zabývá se zejména jejím použitím v praxi. Přináší čtenáři také ucelený náhled na metodiku provedení testů vzorků vlasů na přítomnost některých látek. V neposlední řadě slouží jako souhrn známých poznatků, které jsou pro analýzu vlasů nezbytné. Práce je rozdělena na pasáž zabývající se problematikou výběru typu biologického materiálu k analýze, a to zejména významem vlasové tkáně a dalších alternativních materiálů. Další část je věnována popisu mechanismu inkorporace látek do vlasové matrice. Po těchto „teoretických“ pasážích následuje popis a rozbor metodiky vlasové analýzy. Metodika vlasové analýzy je velmi zajímavá v tom smyslu, že ani odborníci se neshodují na standardním postupu. Je však vytvořen obecný vzor, podle kterého je možné analýzy provádět. Obecná doporučení pro metodické postupy jsou vydávána společností Society of hair testing. Podle těchto doporučení jsou pak sestavovány konkrétní metodické návody a postupy, vytvořené pro dané typy rozborů. Poslední část poskytuje ucelený přehled použití vlasové analýzy. V literatuře nalezneme mnoho rozporů a nesrovnalostí. Ne všichni autoři shodují v tom, že vlasy jako alternativní biologický materiál

mohou stát významově na stejné úrovni jako vzorky typu krev či moč, ale zhodnotíme-li široké spektrum použití vlasové analýzy, zjistíme, že vlasy jsou opravdu velmi významným typem vzorku. Zjišťování chemických látek nebo jejich metabolitů ve vlasové tkáni se v současné době stává moderním nástrojem nejen forenzní toxikologie, ale také jiných odvětví toxikologie, jako je např. tzv. „Human performance toxicology“. V současné době se v České republice uvažuje o použití vlasové analýzy i v rámci vyšetřování dopravních přestupků. Je tedy zřejmé, že stoupá nutnost znalosti této problematiky nejen mezi toxikology, ale také mezi odborníky zabývající se např. soudní praxí.

Klíčová slova: vlasy – alternativní materiály – vlasová analýza – forenzní toxikologie – „Human performance toxicology“ – metodika vlasové analýzy

ÚVOD

Analýzy vzorků lidských vlasů mají v současné forenzní toxikologii velký význam. Jelikož se celá řada nox ukládá do vlasové matrix, je možné je ve vlasech detekovat. Tohoto faktu je využíváno stále více, např. při průkazu dlouhodobého abúzu drog. Vlasy jako vzorek pro analýzu mají ve srovnání s ostatními biologickými materiály (krev, moč, plazma atd.) spoustu výhod, ale také značné nevýhody. Není v nich možné prokázat, zda je vyšetřovaný pod vlivem drogy v době odběru vlasů, ale umožňují vytvořit profil dlouhodobého zneužívání určitých látek. Při analýze vlasů jsme také dosti omezeni na spektrum látek, které chceme analyzovat. Některé látky se ve vlasech neukládají vůbec a v některých případech se ukládají jejich metabolity. Je proto nutné zvažovat, jakou látku budeme ve vzorku analyzovat. Vlasová analýza má také spoustu dalších výhod. Pomocí vlasové analýzy se již v mnoha případech podařilo usvědčit vraha. Tato technika je tedy velmi cenným nástrojem pro soudní praxi.

VOLBA BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

Většina chemických látek je po vstupu do organismu podrobena metabolizaci, tj. změně jejich původní struktury. Pokud chceme látku v těle prokázat, musíme zvážit, o jakou látku se jedná, jestli podléhá metabolizaci a proč ji prokazujeme. S tímto faktem souvisí i volba biologického materiálu, který na danou látku chceme testovat. Pro účel zjištění, zda je vyšetřovaný pod vlivem látky v době odběru, volíme krev. Krev odebíráme i post mortem (po smrti), abychom zjistili, zda byl mrtvý v době smrti pod vlivem této látky a zda hladina látky nalezená v krvi nesouvisí se smrtí. Pro tyto účely však vlasy neposlouží. Není možné zjistit z vlasů, zda je vyšetřovaný pod vlivem látky (Procházka, 2006).

Vlasy však slouží velmi dobře při zjišťování

průběhu dlouhodobého abúzu některých látek. Z tohoto důvodu se provádí tzv. sekvenční analýza (Balíková, 2005; Balíková, 2004; Procházka, 2006). Pokud budeme uvažovat, že vlasy rostou průměrnou rychlostí jeden centimetr za měsíc, je možné sledovat hladiny látek v jednotlivých měsících.

Volba vlasů pro forenzní účely také velmi úzce souvisí s dostupností ostatních typů biologických materiálů, které je možné pro účely analýzy použít. Pokud je prováděn odběr post mortem a tělo je v pokročilém stadiu hniloby, popř. není-li k dispozici v důsledku rozkladných procesů žádný jiný standardní materiál, jsou vlasy cenným biologickým materiálem. Jelikož mají vlasy omezené spektrum použití, patří mezi tzv. alternativní biologické materiály. Do této skupiny patří také sliny a mekonium (novorozenecká smolka). Vyšetřování těchto materiálů podstatně rozšiřuje možnosti detekce v čase po dávce (Balíková, 2004).

ZPŮSOB UKLÁDÁNÍ LÁTEK DO VLASŮ

Vlas se skládá z proteinů (65 – 95 %), lipidů, stopových minerálů, polysacharidů a vody. Má tedy slabě zásadité pH, což také ovlivňuje, jaké látky se budou ve vlasu ukládat. Literatura udává, že z chemického hlediska také ukládání ovlivňuje afinita látky k melaninu, bazicita a lipofilnost látky (Balíková, 2004). Vlasová matrix má nižší pH než krev, a proto je výsledný gradient pH výhodnější pro přechod spíše bazických látek než látek neutrálních nebo kyselých (Balíková, 2005). Jako mechanismy vstupu chemických látek do vlasů se uvažují tři způsoby. Prvním je pasivní difuze z krevních kapilár. Tímto způsobem se do vlasů dostává největší podíl látek i jejich metabolitů. Dalším způsobem je vylučování na povrch vlasů z potu a kožního mazu a částečná difuze do vnitřních struktur vlasů a další případná difuze z hlubokých kom-

partmentů kůže. Poslední je záchyt na povrch z vnějšího prostředí, tzv. externí kontaminace. Externí kontaminaci je nutné odstranit, jelikož ruší stanovení. Proto se do metodického postupu zahrnuje mytí a praní vlasů.

Z různých studií bylo potvrzeno, že koncentrace drog v tmavých vlasech byla větší než ve vlasech světlých. Polarita drogy také ovlivňuje transport do vlasů. Kokain bývá ve vlasech ve vyšší koncentraci než polárnější metabolit benzoylekgonin. Také bazicita drogy podporuje inkorporaci do vlasu. Metamfetamin do vlasů lépe přechází než amfetamin. Metabolit Δ^9 -THC, tj. 11-nor- Δ^9 -THC-karboxylová kyselina, je do vlasů ukládán velmi omezeně ve srovnání s parentní drogou (Balíková, 2005; Balíková, 2004).

METODICKÝ POSTUP VLASOVÉ ANALÝZY

Prvním krokem je odběr vlasů pro analýzu. Postupy pro tento krok zatím nebyly standardizovány. Nejlepší je odebírat vlasy ze zadních oblastí hlavy, nazývaných *vertex posterior*. Při porovnání s ostatními oblastmi hlavy vykazuje tato nejnížší variabilitu v rychlosti růstu vlasů, množství vlasů v růstové fázi je méně proměnlivé a vlasy jsou méně ovlivněny věkovými faktory a faktory závislými na pohlaví. Vlasové prameny jsou odebírány co nejbližší povrchu hlavy a lokace odběru musí být zaevidovaná. Odebrané vlasy mohou být skladovány při pokojové teplotě v hliníkové fólii, obálce nebo plastové trubici. Velikost odebíraných vzorků se liší v závislosti na laboratoru a závisí na typu analyzované drogy a metodě analýzy. Velikosti vzorků, uvedené v literatuře, jsou v rozmezí od jednoho vlasu až po 200 mg vzorku, odebíraných co možná nejbližší skalpu. Pro účely analýz je však ideální odebírat pramen vlasů o tloušťce tužky (Procházka, 2006).

Dále je nutné provést dekontaminaci vlasů, abychom odstranili látky, které by mohly rušit samotné stanovení. Doporučuje se promývání různými saponáty a mycími prostředky. Tuto dekontaminaci je nutné provést pečlivě. Po dekontaminaci následuje samotná příprava vzorku. Ta zahrnuje stříhání a homogenizaci. Stříhání vlasů je prováděno v souvislosti s účelem analýzy, tzn. pokud chceme provádět sekvenční analýzu, nastříhají se vlasy na segmenty o délce jednoho centimetru a poté jsou podrobeny homogenizaci. Samotná homogenizace je proces, při

kterém jsou vlasy nastříhány na segmenty o velikosti jednoho milimetru. Tento krok je zahrnut do přípravy vzorku z důvodu usnadnění následné dezintegrace. To je velmi důležité, aby se z vlasů následně uvolnilo největší množství analyzované látky. Dezintegrace se provádí metanolem, kyselinou nebo alkalickým hydroxidem (tento krok se nazývá hydrolyza) (Balíková, 2004; Kinz, 2004, s. 127-134; Procházka, 2006; Kinz, 1997, s. 151-156). Důležitá je také doba průběhu tohoto kroku a teplota, při které probíhá. Po rozložení je vzorek podroben extrakci. Volba extrakční metody je v některých případech problematická. Existují dva typy rutinně používaných extrakčních metod – extrakce kapalina – kapalina a extrakce na pevné fázi. Pomocí těchto metod je analyzovaná látka izolována z vlasové matrix. Když je látka izolována následuje vlastní stanovení. To se provádí větší pomocí metody GC/MS (plynová chromatografie s hmotnostní detekcí) nebo LC/MS (kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí), popř. HPLC/MS (vysoceúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí) (Balíková, 2005; Balíková, 2004; Procházka, 2006).

VYUŽITÍ VLASOVÉ ANALÝZY

Vlasová analýza má ve forenzní toxikologii široké použití. Jako celkem nová metoda je vlasová analýza využívána stále více. Velký význam má zejména v případech, kdy není možné použít pro toxikologické vyšetření žádný jiný materiál, např. v pokročilém stádiu hniloby mrtvol. Musíme si však v těchto případech uvědomit fakt, že analýza vlasů neprokáže akutní otravu, popř. zda byla příčinou smrti otrava. Můžeme pouze prokázat, zda vyšetřovaný užíval delší dobu nějakou látku ve významnějších dávkách. Ve významnějších dávkách proto, že všechny látky mají ve vlasech určitý limit detekce, tj. množství, které pomocí analytických metod lze zjistit. Ke zjišťování průběhu podávání určité látky vyšetřovanému slouží sekvenční analýza. Ta nám umožňuje stanovit kdy a v jakých dávkách byla látka pravděpodobně podána. Tato metoda může v soudní praxi prokazovat nejen závislost na drogách, ale může také napomoci k identifikaci těla. Víme-li, že mrtvé tělo s největší pravděpodobností patří osobě závislé na určité látce, a tuto látku ve vlasech prokážeme ve smyslu dlouhodobého zneužívání, může to významnou měrou přispět k identifikaci.

Vlasy jsou také vhodnějším materiálem pro průkaz chronické otravy než např. moč. V literatuře není mnoho informací o průkazu otrav neznámou látkou, jinou než návykovou. Pokud jsou však známy obecné patologické symptomy (hepatotoxicita, neurotoxita apod.) a není-li možné vysvětlit tyto symptomy, doceňuje se pak význam průkazu chronické otravy neznámou látkou. Dlouhodobá expozice environmentálního znečištění, popř. některé přídavné ingredience v potravinách mohou velmi významně ovlivnit zdraví člověka a působit na něj velmi nepříznivě. Pomocí vlasové analýzy je pak možné prokázat příčinu některých symptomů a popř. zamezit kontaktu mezi postiženým a látkou (Balíková, 2005).

Objevují se i ohlasy na provádění vlasových analýz i v soukromé sféře. V praxi to znamená, že by měl zaměstnavatel právo provést testování vzorků vlasů svých zaměstnanců na zjištění drog, návykových látek anebo chronických otrav látkami profesionálně používanými v daném oboru. Touto problematikou se zabývá tzv. „Human performance toxicology“. Toto je velmi dobrá myšlenka, nicméně naráží na legislativu. V evropských zemích je analýza vlasů omezena pouze na soudní praxi (Balíková, 2005).

Vlasová analýza může také sloužit i ke zjištění dopingu u vrcholových sportovců. Atleti si podávají anabolické steroidy proto, aby dosáhli většího objemu svalové hmoty a získali více síly za krátký čas. Látky jako jsou testosteron, androstenedion, dihydrotestosteron a např. 17- α -hydroxyprogesterone je možné ve vlasech prokázat. Mezi sledovanými látkami jsou však i amfetaminy, různá analgetika, β -blokátory nebo např. některá lokální anestetika (Kinz, 2003, s. 29-33; Scherer a Reinhardt, 1995, s. 55).

LITERATURA

- BALÍKOVÁ, M.: Hair analysis for drugs of abuse. Plausibility of interpretation. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech rep.* 2005. Vol. 149, no 2, s. 199-207.
- BALÍKOVÁ, M.: *Forenzní a klinická toxikologie*. Praha: Galén, 2004.
- KINZ, P.: Value of hair analysis in postmortem toxicology. *Forensic Science International*. 2004. Vol. 142, s. 127-134.
- LÁZNIČKOVÁ, J. et al.: Stanovení amfetaminu a metamfetaminu v lidských vlasech metodou GC/MS. *Soudní Lékařství*. 2000. Vol. 45, no 2, s. 26-29.
- KINZ, P.: Testing for anabolic steroids in hair: a review. *Legal Medicine*. 2003. Vol. 2, s. 29-33.
- KINZ, P.: Hair testing and doping control. *Toxicology Letters*. 1998. Vol. 102-103, s. 109-113.
- SCHERER, CR., REINHARDT, G.: Nachweis sechs endogener Steroide in menschlichen Haaren mit GC/MS und Isotopenverdünnungsanalyse Abstract.: *Althoff H, editor. 74. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Aachen*, 1995. s. 55.
- KINTZ, P., CIRIMELE, V., JEANNEAU, T., LUDÉS, B.: Identification of testosterone and testosterone esters in human hair. *J Anal Toxico*. 1999. Vol. 23, s. 352-356.
- VOREL, F.: *Soudní lékařství*. Praha: Grada, 1999.
- PROCHÁZKA, P.: *Srovnání extrakčních metod používaných při stanovení amfetaminů ve vzorcích lidských vlasů ve forenzní toxikologii*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, Zdravotně sociální fakulta. Bakalářská práce. 2006.
- RAUL, J. S. et al.: Detection of physiological concentrations of cortisol and cortisone in human hair. *Clinical Biochemistry*. 2004. Vol. 37, s. 1105-1111.
- BÁEZ, H. et al.: Drugs in prehistory: chemical analysis of ancient human hair. *Forensic Science International*. 2000. Vol. 108, s. 173-179.
- KINZ, P., SAMYN, N.: Determination of "Ecstasy" components in alternative biological specimens. *Journal of Chromatography B*. 1999. Vol. 733, s. 137-143.
- KINZ, P., et al.: Interlaboratory comparison of quantitative determination of amphetamine and related compounds in hair samples. *Forensic Science International*. 1997. Vol. 84, s. 151-156.
- Society of Hair Testing. (2004) *Recommendations for hair testing in forensic cases*. *Forensic Sci Int* 145, 83-84.

Petr Procházka
petr.prochazka2@gmail.com