

Univerzita Pardubice

Fakulta Chemicko-technologická

Identifikace a stanovení omamných a psychotropních látek ve vlasech

Kurfířt David

Bakalářská práce

2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **David Kurfiřt**
Osobní číslo: **C15227**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Identifikace a stanovení omamných a psychotropních látek ve vlasech**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte literární rešerši zabývající se omamnými a psychotropními látkami ve vlasech. Zaměřte se zejména na jejich izolaci s následným stanovením pomocí chromatografických technik.
2. Závěry kriticky zhodnoťte

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Petra Bajerová, Ph.D.**

Katedra analytické chemie

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**

Katedra analytické chemie

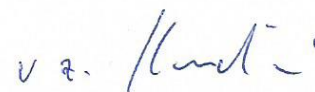
Datum zadání bakalářské práce: **27. listopadu 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

PROHLÁŠENÍ:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 4. 7. 2019

Kurfířt David

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat mé vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Petře Bajerové, Ph.D. za cenné rady, připomínky, trpělivost a ochotný přístup při vedení práce. Dále bych chtěl poděkovat své rodině a přátelům za jejich podporu po celou dobu studia.

ANOTACE

Cílem této práce je shrnout analytické metody sloužící k identifikaci a detekci omamných a psychotropních látek ve vlasech. V této práci jsou uvedeny nejčastěji zneužívané návykové látky, jejich charakteristika a vliv na lidský organismus.

KLÍČOVÁ SLOVA

vlasy, vlasový folikul, stanovení, omamné a psychotropní látky, chromatografie, extrakce

TITLE

Identification and determination of narcotic and psychotropic substances in hair

ANNOTATION

The aim of this work is to summarize the analytical methods used in the identification and determination of narcotic and psychotropic substances in hair. The most abused addicting substances, their characterization and influence on human organism are mentioned/presented in this work.

KEYWORDS

hair, hair follicle, determination, narcotic and psychotropic substances, chromatography, extraction

OBSAH

1.	ÚVOD	12
2.	VLASY	13
2.1.	Druhy vlasů	13
2.2.	Tvar vlasu.....	14
2.3.	Barva vlasu.....	14
2.4.	Stavba vlasu	15
2.5.	Anatomie vlasu a vlasového folikulu	16
2.6.	Fáze růstu vlasu.....	18
2.7.	Chemické složení vlasu.....	19
2.8.	Imunitní systém vlasu	19
3.	UKLÁDÁNÍ LÁTEK DO VLASŮ	20
4.	DROGY	22
4.1.	Drogová legislativa	23
5.	DĚLENÍ DROG.....	24
5.1.	Látky stimulující centrální nervovou soustavu	25
5.1.1.	Amfetamin a metamfetamin.....	25
5.1.2.	Extáze.....	26
5.1.3.	Kokain.....	27
5.2.	Halucinogeny	28
5.2.1.	Psilocybin a psilocin	28
5.2.2.	LSD	29
5.2.3.	Meskalin.....	30
5.2.4.	Konopné drogy.....	30
5.3.	Látky tlumící centrální nervovou soustavu	31
5.3.1.	Opiody.....	31

5.3.1.1.	Morfin	31
5.3.1.2.	Heroin	32
5.4.	Benzodiazepiny	33
5.4.1.	Rohypnol	33
6.	TOXIKOMANIE	34
7.	IDENTIFIKACE OMAMNÝCH A PSYCHOTROPNÍCH LÁTEK.....	36
7.1.	Postup toxikologické analýzy	37
7.1.1.	Odběr vzorku.....	37
7.1.2.	Dekontaminace.....	37
7.1.3.	Desintegrace a hydrolýza	37
7.1.4.	Extrakce.....	38
7.1.5.	Vlastní analýza	39
7.1.5.1.	Imunochemické metody.....	40
7.1.5.2.	Chromatografické metody	40
7.1.6.	Toxikologická analýza vlasů na konkrétní skupiny drog.....	41
8.	ZÁVĚR	43
9.	LITERATURA	44

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Stavba vlasu [6]	18
Obrázek 2: Možnosti distribuce návykových látek do vlasu [9].....	21
Obrázek 3: Strukturní vzorec metamfetaminu [10]	26
Obrázek 4: Strukturní vzorec amfetaminu [10]	26
Obrázek 5: Strukturní vzorec extáze [15]	27
Obrázek 6: Strukturní vzorec kokainu [17].....	27
Obrázek 7: Strukturní vzorec psilocinu [10].....	28
Obrázek 8: Strukturní vzorec psilocybinu [10].....	29
Obrázek 9: Strukturní vzorec LSD [23].....	29
Obrázek 10: Strukturní vzorec meskalinu [10].....	30
Obrázek 11: Strukturní vzorec THC [10]	31
Obrázek 12: Strukturní vzorec morfinu [10].....	32
Obrázek 13: Strukturní vzorec heroinu [10]	32
Obrázek 14: Strukturní vzorec flunitrazepamu [31]	33

SEZNAM TABULEK.

Tabulka 1: Rozdělení drog dle rizikovosti [12]	24
Tabulka 2: Dělení drog dle převládajícího účinku [12]	24

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AK	Aminokyseliny
APC	Antigen prezentující buňky
CE	Kapilární elektroforéze
CNS	Centrální nervová soustava
EI	Elektronová ionizace
ELISA	Enzymatická imunologická analýza
GABA	Kyselina gama-aminomáselná
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií
HIS	Imunitní systém organismu
HPLC	Vysoko účinná kapalinová chromatografie
IMS	Iontově mobilitní spektrometrie
LC	Kapalinová chromatografie
LC-HRMS	Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií o vysokém rozlišení
LC-MS	Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií
LLE	Extrakce z kapaliny do kapaliny
LSD	Diethylamid kyseliny lysergové
MDMA	Extáze (3,4-methylenedioxy-N-metamfetamin)
MS	Hmotnostní spektrometrie

OPL	Omamné psychotropní látky
PNS	Periferní nervová soustava
RIA	Radioimunoanalýza
SPE	Extrakce tuhou fází
SPME	Mikroextrakce tuhou fází
THC	Δ -9-tetrahydrocannabinol
WHO	Světová zdravotnická organizace

1. ÚVOD

Mezi celosvětové společenské problémy můžeme zařadit i užívání návykových látek. Zneužívání těchto substancí vede ke stoupající trestné činnosti ve všech zemích světa. Přestože existuje celá řada zákonů a bezpečnostních opatření nedaří se drogová činnost pozastavit. Naopak v celosvětovém měřítku roste spotřeba a výroba těchto substancí. Užívání omamných a psychotropních látek se často považuje za patologický jev, který vede k devastaci užívajícího jedince. Užívání těchto látek je spojeno se značnou mírou zdravotních komplikací. Distribuce a zneužívání těchto látek často vede k páchání trestných činů [1].

S rozvojem instrumentálních metod zaměřujících se na detekci omamných a psychotropních látek dochází k přínosu v řešení kriminálních případů. K objasnění těchto případů často slouží analýza biologického materiálu. Jako biologická materiál, při toxikologické analýze detekující návykové látky, mohou posloužit lidské vlasy. Jedná se především o analýzy podávající výsledek o chronickém zneužívání dané návykové látky. V lidském organismu dochází k postupné eliminaci návykových látek a jejich metabolitů prostřednictvím stolice a moči. Z důvodu eliminace není tedy možné zjistit intoxikaci organismu s časovým odstupem. Právě o drogové minulosti jedincem nám podá spolehlivý výsledek toxikologická analýza vlasu [2].

2. VLASY

Nejprve bychom si měli specifikovat pojem vlas a chlup. V této práci je pojem vlas, označení pro vlasy kštice. Chlupy je označení pro všechny typy chlupů lidského těla s výjimkou vlasů kštice. Toto definování pramení z anglické slova hair, které je obsaženo v anglických informačních zdrojích. V těchto zdrojích nelze vždy stoprocentně určit, zda autor slovem hair myslí pouze vlasy kštice nebo všechny typy lidského ochlupení [3].

Vlasy, chlupy, nehty a kožní žlázy jsou řazeny mezi deriváty kůže. Kůže je tvořena ze tří vrstev a to pokožky (epidermis), škáry (corium) a podkožního vaziva (tela subcutanea). Vlasy společně s ochlupením těla jsou produkty rohovění epidermis a řadíme je tedy mezi keratinované deriváty kůže, které vznikají již během nitroděložního života. Počet jednotlivých vlasových folikulů je tedy dán již při narození (celkově cca 5 milionů, z toho 100 000 ve kštici) a po narození se tento počet již nezvyšuje [3].

Kožní deriváty vyrůstají z epidermis, která obsahuje mitoticky aktivní buňky (matrix buňky). Stvol vlasu spolu s nehtovou ploténkou jsou tvořeny ze zrohovatělých buněk, které pocházejí z buněk matrixu. Rozdíl mezi zrohovatělými buňkami vlasu a nehtu jsou především v rychlosti růstu, prostorovém uspořádání a tvrdosti zrohovatělých částí [4].

Před chemickými a mechanickými vlivy jsou vlasy spolu s nehty chráněny díky neobyčejné tvrdosti a odolnosti zrohovatělých buněk, která je zapříčiněná biochemickou vlastností keratinu. Pro vlasy a nehty jsou charakteristické specifické typy tvrdých cytokeratinů, které spolu se zvýšeným obsahem cysteinu a proteinů umožňují silnější zesíťování, které je zapříčiněno disulfidickými můstky, než v keratinu pokožky. Spojení mezi jednotlivými buňkami vlasů a nehtů umožňují desmosomy a polární lipidy [3; 2].

2.1. DRUHY VLASŮ

U člověka lze rozeznat více druhů vlasů. Již během nitroděložního života se vyvíjí jemné, nepigmentované ochlupení, které pokrývá větší část těla tzv. lanugo. V 36. – 40. týdnu gestačního vývoje je lanugo nahrazeno velusovým vlasem, ten je již slabě pigmentován, ale stále neobsahuje dřev [3].

Další skupinou jsou terminální vlasy, obsahující dřev, jsou silnější s pigmentací. Tato skupina se dále dělí na terminální krátké vlasy (pili breves) a vlasy dlouhé (pili longi).

Do krátkých vlasů řadíme obočí, oční řasy, chloupky v nose a v ústní zevního zvukovodu. Mezi vlasy dlouhé patří vlasy kštice, vousy, chlupy v axile (podpažní jamce) a pubické ochlupení [3].

2.2. TVAR VLASU

Lidské vlasy lze rozdělit do tří základních skupin, dle etnické příslušnosti. A to tedy na vlasy asijského, afrického a evropského typu [5].

- **Asijský typ vlasu:** Vlas je rovný, hrubý, odolný, silný s kruhovým průřezem. Zbarvení je černé či tmavě hnědé. Vzniká hustá pigmentace. Stvol se silnou kutikulou. U tohoto typu vlasů nedochází ke vzniku tzv. androgenní alopecii (plešatění). Vlas o průměru 120 μm [5].
- **Africký typ vlasu:** Kudrnatý vlas s oploštělým průřezem, který podél stvolu kolísá. Vlas náchylný k poškození. Barva vlasu je tmavá až černá, se střední pigmentací. Vlasy s malým sklonem k androgenní alopecii. Průměr vlasu 90 μm [5].
- **Evropský typ vlasu:** Vlas s vysokou variabilitou (rovné i vlnité vlasy), eliptický průřez vlasu. Vlasy velmi jemné až středně silné se slabou kutikulou. Zbarvení je různorodé (převládá světlé zbarvení). Velmi častý vznik androgenní alopecie. Průměr činí 70 μm [5].

Tvar vlasu je dán genetickou predispozicí, odlišností ve vývoji vlasových buněk, postavením vlasové cibulky ve vlasovém folikulu [3].

2.3. BARVA VLASU

Zbarvení vlasu je dáno množstvím a rozmístěním melaninu (pigmentového barviva) ve vlasovém stvolu. Melanin, vznikající v bazální části vlasové cibulky, je dán činností melanocytů. Při keratinizaci vlasu je melanin fagocytován pomocí kortikálních buněk, zde je posléze nejvyšší koncentrace pigmentu. V buňkách je pigment obsažen ve formě pigmentových granulí nebo difuzně rozmístěn [3; 6].

Ve vlasovém stvolu lze nalézt dva typy pigmentu: hnědočerný (eumelanin) a žlutočervený (feomelanin). Jasnost vlasu udává eumelanin, který způsobuje hloubku barvy (černá, světle hnědá, blond apod.). Odstín vlasu je dán množstvím feomelaninu [6].

Zbarvení vlasu lze změnit pomocí chemických či fyzikálních faktorů. Změna barvy vlasu může být projevem některého systémového onemocnění, jako je například šedivění vlasu při onemocnění AIDS. Některé farmaceutické přípravky také mohou způsobit změnu zbarvení [3; 4].

K fyziologickému projevu stárnutí patří šedivění vlasu. Vzhled šedého vlasu je způsobem vzduchovými bublinkami, které se vytvoří mezi buňkami vlasového stvolu. Šedý vlas je bez obsahu pigmentového barviva [4].

Při omezené syntéze eumelaninu dojde k tvorbě zrzavého zbarvení vlasu. Zrzavé zbarvení se odborně nazývá rutilismus [4].

2.4. STAVBA VLASU

Na průřezu vlasu můžeme rozlišit tři struktury: kutikulu, kortex neboli vlasovou kůru a dřev (medulla) [3].

- **Kutikula (pokožka)**, jedná se o vrstvenou strukturu tvořenou z šesti až osmi vrstev plochých zrohovatělých buněk. Jednotlivé buňky připomínající šupiny, které jsou tvořeny z keratinu, jsou k sobě připojeny tmelem, který obsahuje aminokyseliny (AK) a lipidy. Čím více buněčných vrstev lze rozpoznat, tím je vlas silnější. Jednotlivé kutikulové buňky jsou složeny z více vrstev: epikutikuly, endokutikuly, exokutikuly a vnitřní vrstvy. Kutikulový kortex je zodpovědný za strukturu vlasového vlákna a chrání vlas před poškozením. Při porušení této vrstvy mechanickým vlivem nebo chemikáliemi dojde k jejímu narušení [3; 6; 4].
- **Kortex (vlasová kůra)**, tvoří z 80 % samotné vlasové vlákno. Hlavní funkcí kortexu je udržení mechanické pevnosti a pružnosti. Kortex je složen z protáhlých buněk, které jsou bohaté na keratinová vlákna a amorfní proteiny síry a to především cysteinu. Za tvar, stabilitu a právě odolnost vlasového vlákna může zbytek cysteinu tvořící disulfidické vazby. Dále se zde ve značné míře vyskytují melaniny, které jsou zodpovědné za barvu vlasu. V kortexu můžeme rozlišit pravidelnou strukturu tzv. ortokortex, který je tvořen makrofibrily, které vznikají ze snopečků kruhovitě uspořádaných vláken mikro fibril. U barveného vlasu můžeme nalézt parakortex nepravidelné struktury. Ortokortex a parakortex se od sebe značně liší a to nejen

fyzikálně, ale i chemicky, protože obě vrstvy jsou tvořeny různými AK a tím je dána i jejich rozdílná reaktivita [3; 6; 4].

- **Medulla (dřeň)** je tvořena z velkých keratinových buněk, mezi nimiž je vzduch. Prochází středem vlasového vlákna jako kanálek. Hlavní funkcí je vyživování vlasu a zajištění jeho lesku. Ve vlasovém vláknu zaujímá pouze malé procento objemu. Medulla může být ve vlasu přítomna nebo zcela chybět. Dále ji lze nalézt ve stavu přerušovaném nebo souvislém, v souvislém stavu se vyskytuje pouze u silných vlasů [3; 6; 4].

2.5. ANATOMIE VLASU A VLASOVÉHO FOLIKULU

Vlasové folikuly se značně liší velikostí a tvarem, v závislosti na jejich umístění. Ale všechny mají stejné základní struktury (viz obrázek 1) [4].

Vlasový stvol, představuje komplexně zrohovatělou část. Dolní konec vychází z vlasového folikulu a větší část, nad povrchem kůže, tvoří vlas nebo chlup. Vlasový stvol lze rozdělit na kůru, dřeň a kutikulu [6; 4; 7].

Kořen vlasu obsahuje stejné složky a má i shodný cylindrický tvar jako vlasový stvol. Ale jeho buňky stále nejsou zrohovělé. Mezi kořenem a stvolem vlasu se nachází keratogenní zóna, ve které dochází k zrohování buněk [6; 4; 7].

Vlasová cibulka má paličkovitý tvar. Jedná se o epitelový začátek vlasu, který se nachází ve spodní části folikulu. Vlasová cibulka obsahuje mitoticky dělicí se buňky, sloužící k růstu vlasu. Dceřiné buňky se posouvají nahoru a diferencují se podle své polohy v buňky dřeň, kůry nebo kutikuly. Na bazální membráně se nacházejí melanocyty, které dodávají budoucím buňkám kůry melanosomy [6; 4; 7].

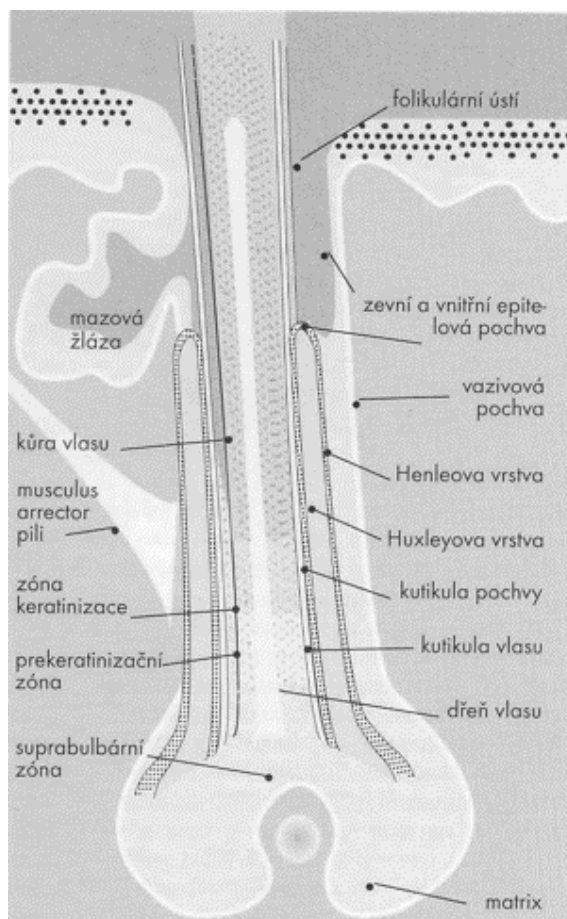
Vlasová papila vzniká vnořením vaziva pokožky do vlasové cibulky. Papila je nezbytná pro tvorbu vlasu. Obsahuje kapilární kličku, která slouží jako zásobárna živin. Dále obsahuje faktory, produkované fibroblasty, řídící dělení buněk matrixu a tím růst vlasu [6; 4; 7].

Infundibulum je vrchní část folikulu vystupující na povrch kůže. Ve spodní části se nachází mazová žláza, nad ní může ústít vývod apokrinní žlázy [6; 4; 7].

Epithelové kořenové pochvy nacházejí se uvnitř vlasového folikulu, kde tvoří obaly kořene a vlasového stvolu. Vnitřní kořenová pochva spolu s vlasovým kořenem či stvolem vytváří pevné spojení, které zasahuje až do spodní části infundibula. Její buňky velmi brzo rohovatí. Od povrchu do hloubky je vnitřní kořenová vrstva tvořena 3 vrstvami – Henleova vrstva, Huxleyova vrstva a kutikula pochvy. Zevní kořenová pochva se skládá ze světlých, nezrohovatělých buněk bohatých na glykogen, přecházející v povrch epidermis. Nejvýznamnější částí zevní kořenové pochvy je tzv. bulge, jedná se o vyklenutí v oblasti pod infundibulem. Zde se nacházejí kmenové buňky epidermis, tvořící matrixové buňky, ze kterých se skládá samotný vlas. Tyto buňky slouží i k tvorbě bazálních buněk mazové žlázy anebo k vytvoření nových buněk epidermis, které mohou být využity při větším poranění kůže [6; 4; 7].

Vazivová pochva slouží jako obal vlasového folikulu. Nachází se zde tlustá bazální membrána, která se tvoří mezi rozhraním epitelem zevní kořenové pochvy a vazivové pochvy [6; 4; 7].

Musculus arrector pili, jedná se o sval inervovaný sympatikem. Tento sval je tvořen z hladkých svalových buněk. Vychází z vrstvy dermis a upíná se do vazivové pochvy hned pod mazovou žlázu. Vždy se spolu s mazovou žlázou nachází na skloněné straně folikulu k povrchu kůže. M. arrector pili, způsobí napřímení šikmo skloněného folikulu spolu s vlasem, při napřímení dojde k vyprázdnění mazové žlázy [6; 4; 7].



Obrázek 1: Stavba vlasu [6]

2.6. FÁZE RŮSTU VLASU

Každý vlas vzniká z jednoho vlasového folikulu, ke kterému je připojen hladký sval a mazová žláza. Počet vlasových folikulů je omezen a je dán již před narozením jedince. Růst vlasu je také různorodý a skládá se z periodických cyklů (vlas neroste kontinuálně). Cykly růstu vlasu můžeme rozdělit na růst (anagen), stagnace (katagen) a vypadávání (telogen) [4; 6].

Jednotlivé fáze růstu vlasů:

- **Anagen:** Jedná se o období, kdy vlas roste jak do délky, tak i do šířky. Průměrná rychlost růstu je 1,25 cm za měsíc. Zárodečnou oblastí růstu je vlasová cibulka nad vlasovou papilou. V této fázi se za fyziologických okolností v jednom okamžiku nachází přibližně 85 % vlasů [3; 6; 4].
- **Katagen:** V této růstové fázi postupně zaniká vlasová cibulka a dochází k oddělení od vlasové papily, vlas z důvodu ztráty výživy přestává růst a postupně zaniká. Dojde

k zániku vlasového folikulu, postupně se zkracuje jeho délka a vlas je tím vytlačován směrem k pokožce. Tato fáze trvá 2 – 6 týdnů [3; 6; 4].

- **Telogen:** Vlas již není vyživován a je zastaven jeho růst, postupně vypadává. Na začátku této fáze je vlasová cibulka spolu s vlasovou papilou v klidovém režimu, později se probouzejí a vytvářejí nový vlas (začátek nové anagen). V této fázi se nachází za fyziologických podmínek 10 – 15 % všech vlasů [3; 6; 4].

2.7. CHEMICKÉ SLOŽENÍ VLASU

Základní složkou vlasového vlákna, které tvoří odumřelé buňky, je protein keratin. Vlákenné keratinizované proteiny tvoří 65 – 95 % celkového obsahu vlasového vlákna. Rozdílné procentuální zastoupení je dáno obsahem vlhkosti ve vlasu. Mezi zbylé složky patří právě zmiňovaná voda, která zajišťuje pružnost vlasu, strukturní a volné lipidy, pigmenty a stopové prvky [8].

Keratin je produkován keratinocyty, které se neustále dělí, což umožňuje obnovu vlasů pokožky a jejich derivátů. Keratin je tvořen dlouhým řetězcem aminokyselin (AK), mezi nejdůležitější AK patří cystein (až 17 %), který tvoří disulfidické můstky, které dávají keratinu jeho pevnost. Kromě disulfidických můstků obsahují vlasy i peptidové vazby, CO- a NH- skupiny, které umožňují vznik vodíkových vazeb. Zbarvení vlasu není dáno keratinem, (jedná se o bezbarvou látku), ale pigmenty, které jsou obsaženy ve vlasovém kortexu. Jednotlivé pigmenty způsobují charakteristické zbarvení vlasu: eumelanin (černohnědé zbarvení), feomelanin (červenohnědé zbarvení) a za blond odstíny můžou žlutohnědá železa strukturně shodná s melaninem. K syntéze pigmentů melaninu dochází již ve vlasovém folikulu pomocí enzymatických reakcí, ve kterých je hlavním účastníkem AK tyrozin. K těmto biosyntézám je zapotřebí enzymu tyrozinázy, který je produkován melanocyty [8].

2.8. IMUNITNÍ SYSTÉM VLASU

Vlasový folikul hraje velmi důležitou roli v imunitním systému organismu (HIS) a kůže. Je místem repopulace buněk lymfatických folikulů, které mají schopnost pomocí svých četných výběžků vychytávat imunokomplexy a interagovat s B-lymfocyty, řadíme je mezi antigen prezentující buňky (APC). Tvoří tedy samostatný HIS. Spolu s imunitou folikulu souvisí i autoimunitní ztráty ložisek vlasů. [2]

3. UKLÁDÁNÍ LÁTEK DO VLASŮ

Pro přesnou interpretaci a správné výsledky analýzy vlasů je nutné nejprve pochopit jejich základní stavbu. Ač se vlasy můžou zdát jako jednoduchá struktura, jedná se o komplexní část anatomie člověka, která je jen z části pochopena [9].

Jak přesně dochází k intoxikaci látek do vlasů, zůstává zatím nejasné. Můžeme však předpokládat řadu cest jak drogy do vlasu vstupují. Následkem rozdílné cesty intoxikace do různých částí vlasu dochází k časovému ovlivnění detekce těchto látek [9].

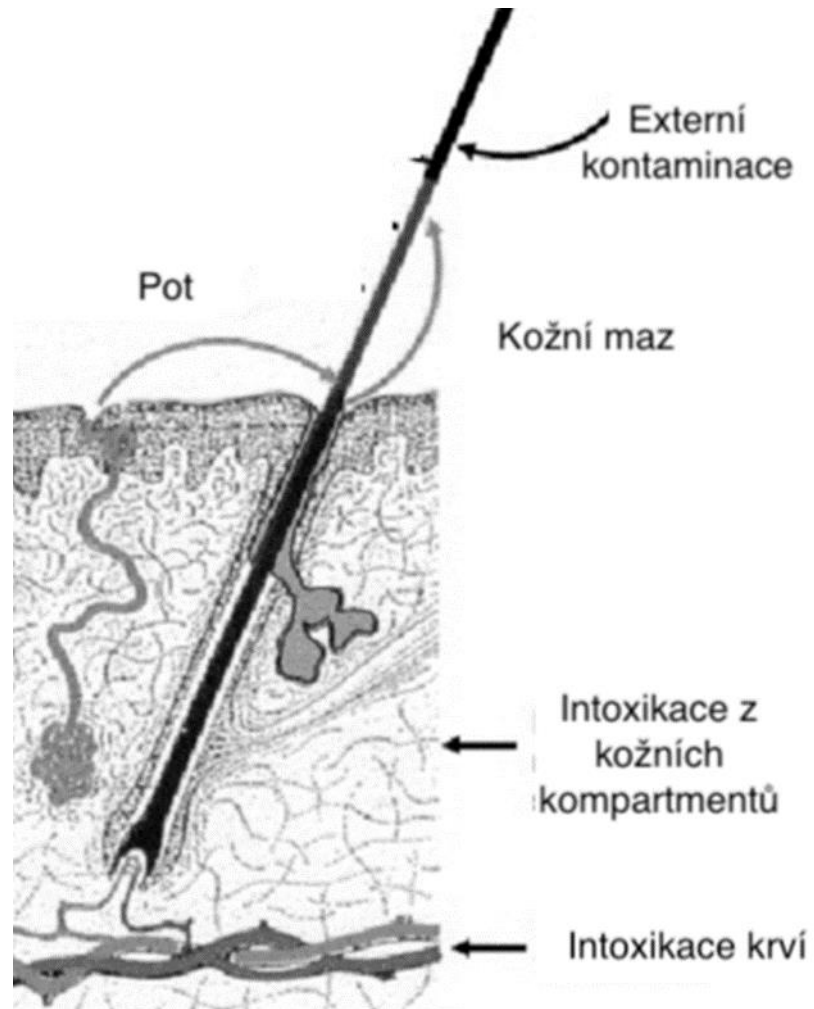
Experimentální nálezy ukazují, že látky mohou do vlasu vstupovat z více míst, prostřednictvím více mechanismů a v odlišných časech během cyklu růstu vlasu. Na základě naměřených experimentálních dat sestavil G. L. Henderson obecný model, který nám vysvětluje, jak dochází k začlenění látek do vlasů (viz obrázek 1). Přesné pochopení těchto mechanismů je důležité především pro správnou interpretaci toxikologické analýzy [9].

Jedna z možností distribuce je, že látky vstupují do vlasů pomocí pasivní difúze z krevních kapilár přímo do rostoucích buněk vlasového stvolu. Další možnou cestou je začleňování látek z hlubokých kožních kompartmentů při tvorbě vlasového stvolu, tato cesta má však větší časové zpoždění. Avšak nejdůležitější alternativní cestou ukládání je difúze z potu nebo sekrecí pomocí kožního mazu již do hotového vlasového stvolu. Možným způsobem intoxikace je intoxikace látek z vnějšího prostředí, jedná se o tzv. externí kontaminaci, které je možné zabránit mytím a praním vlasů před vlastní analýzou, aby nedocházelo k falešné pozitivitě výsledků [9].

Inkorporace jednotlivých látek je však ovlivněna i jinými faktory a to především chemickou povahou a strukturou dané látky a v neposlední řadě i fyziologickým stavem jedince [9].

Pokud vycházíme ze složení vlasu, který obsahuje proteiny, lipidy, stopové prvky, polysacharidy a vodu, jeho pH je slabě zásadité. Toto pH právě ovlivňuje, co za látky se bude do vlasu ukládat. Inkorporaci bude tedy ovlivňovat i pH gradient. Díky nižšímu pH než 7,4 (pH krve = $7,4 \pm 0,04$), které má vlasová matrix, se snáze budou ukládat látky bazické povahy než látky kyselé nebo neutrální. Další chemické vlastnosti, které ovlivňují inkorporaci spolu

s pH je bazicita i polarita dané látky. Amfetamin nebude přecházet do vlasů v takové míře jako metamfetamin, tato skutečnost je ovlivněna právě bazicitou daných látek. [9]



Obrázek 2: Možnosti distribuce návykových látek do vlasu [9]

4. DROGY

Pojem droga lze definovat více způsoby a to vždy v závislosti na tom kým a v jaké situaci je použit. Samotné slovo droga se historicky vyvíjelo, původně označovalo obecně léčivo, tzn. sušené či jinak konzervované orgány rostlin, živočichů, používaných v léčitelství. Světová zdravotnická organizace (WHO) roku 1969 začala označovat pojmem droga látky (přírodního nebo syntetického původu), které po vpravení do živého organismu pozmění jednu či více jeho funkcí [10; 11].

Pokud budeme drogu definovat z pohledu adiktologie, což je věda zabývající se etiologií, prevencí a léčbou závislostí, bude se jednat o látky užívané za účelem navození psychoaktivního efektu (například změnu nálady nebo povzbuzení či tlumení psychosomatických funkcí) [11].

Dalšími obory, ve kterých se můžeme setkat s pojmem droga, jsou farmakologie, medicína a právní sféra. V medicíně droga znamená látky, které se používají k prevenci či léčbě onemocnění, zlepšení psychického nebo fyzického stavu pacienta. Ve farmakologii hovoříme o látce, která ovlivňuje biochemické procesy v organismu a to především v centrálním nervovém systému (CNS) a periferním nervovém systému (PNS) [11].

Jako drogy jsou z právního hlediska ilegální, nezákonné, státem nepodporované omamné nebo psychotropní látky (OPL). OPL jsou od roku 1961 z právního hlediska definovány na mezinárodní úrovni pomocí tří Úmluv OSN. V České republice jsou tyto látky definovány zákonem č. 167/1998 Sbírky o návykových látkách [10; 11].

V českých podmínkách se za obecně platnou považuje definice MUDr. Jiřího Presla, která říká, že droga je látka splňující dva základní požadavky:

- 1) má psychotropní účinek
- 2) vyvolává závislost, hovoříme o tzv. závislostním potenciálu [11].

4.1. DROGOVÁ LEGISLATIVA

V České republice je zákony zakázána distribuce, nakládání či požívání drog a OPL. Výjimku ze zákona mají pouze osoby využívající drogy pro lékařské nebo farmaceutické využití. Základní legislativu týkající se drogové problematiky popisuje Trestní zákoník 40/2009 Sb. platný od 1. ledna 2010 [1; 10].

Výběr jednotlivých částí zákonů:

- § 283 Nedovolená výroba a jiné nakládání s omamnými a psychotropními látkami a s jedy
- § 284 Přechovávání omamné a psychotropní látky a jedu
- § 285 Nedovolené pěstování rostlin obsahujících omamnou nebo psychotropní látku
- § 286 Výroba a držení předmětu k nedovolené výrobě omamné a psychotropní látky a jedu
- § 287 Šíření toxikomanie
- § 289 Společné ustanovení

Jednotlivé zákony popisují nakládání s těmito látkami jako je jejich distribuce, vývoz, dovoz, zpracování či následné zneškodnění. Nejedná se pouze o OPL, ale i o jejich prekursory anebo přípravky ze kterých lze návykovou látku získat [10].

Konkrétní seznam OPL je ustanoven v zákoně č. 167/1998 Sb. V tomto zákoně dále nalezneme rozdělení na omamné a psychotropní látky a je zde stanovené co považujeme za tyto látky a jaké množství je větší než malé. Seznam je sestaven na základě mezinárodních úmluv, které platí i pro Českou republiku.

5. DĚLENÍ DROG

Drogy lze dělit pomocí řady systému, za nejčastější klasifikaci psychotropních látek se nejčastěji používají tři systémy dělení:

- 1) Dle vzniku → přírodní, semisyntetické a syntetické
- 2) Dle stupně společenské nebezpečnosti, dle míry rizika (viz tabulka 1)
- 3) Dle typu působení na organismus → stimulancia, tlumivé látky, halucinogeny (viz tabulka 2)

Mediálně nejvíce používané je dělení na „tvrdé“ a „měkké“ drogy (viz tabulka 1), toto dělení je postaveno na základě stupně společenské nebezpečnosti drogy, tedy na možném vzniku závislosti a možných zdravotních komplikací a to jak duševních tak tělesných [8].

Tabulka 1: Rozdělení drog dle rizikovosti [12]

Míra rizika	„Tvrдост“	Zástupci
Vysoká	„Tvrdé“	toluen, aceton, heroin, morfin
Vysoká až střední	„Tvrdé“	LSD, kokain, pervitin
Střední	„Tvrdé“	alkohol, extáze, efedrin, kodein
Relativně malá	„Měkké“	marihuana, hašiš

Tabulka 2: Dělení drog dle převládajícího účinku [12]

Tlumivé látky	Stimulační látky	Halucinogeny
opium, heroin, kodein, morfin, toluen	pervitin, kokain, efedrin, crack, amfetamin	lysohlávky, LSD, marihuana, hašiš, extáze, ketamin

5.1. LÁTKY STIMULUJÍCÍ CENTRÁLNÍ NERVOVOU SOUSTAVU

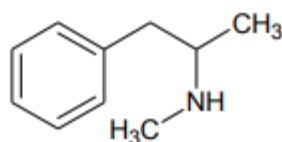
5.1.1. AMFETAMIN A METAMFETAMIN

Amfetamin (viz obrázek 4) stejně jako jeho metabolit metamfetamin (viz obrázek 3) známější spíše pod názvem pervitin, řadíme mezi psychostimulancia. Jedná se o bílý prášek bez zápachu, hořké chuti. Zbarvení drogy je podmíněno výchozí surovinou, a proto se na nelegálním trhu lze setkat s fialově či žlutě zbarvenou drogou. Právě pervitin se řadí mezi nejčastěji zneužívané drogy v České republice. Tato skutečnost je dána především nízkou pořizovací cenou a snadnou dostupností. K jeho popularitě přispívá i fakt, že lze pervitin vyrábět i v domácích varnách na rozdíl od jiných drog [13; 10].

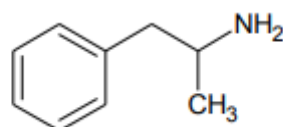
Amfetaminy jsou nejčastěji užívány perorálně, metamfetamin lze podávat ve formě tablet, injekcí nebo kouřením. Při intoxikaci organismu amfetaminem dochází ke zvýšené stimulaci organismu a to konkrétně k potlačení spánku a únavy, zrychlení myšlenkových pochodů, navození pocitu euforie, zlepšení nálady a zlepšuje asociaci. Tyto účinky na organismus se zvyšují při kombinaci amfetaminu spolu s alkoholem nebo opioidy. Při častějším užívání dochází k vyvolání tzv. amfetaminové psychózy, která se projevuje paranoidními představami a halucinacemi. Mezi běžné nežádoucí účinky metamfetaminu spojené s jeho užíváním řadíme bolesti hlavy a kloubů, sucho v ústech, nespavost, třes, nechutenství (dlouhodobé užívání vede u jedinců k podvýživě). Následkem dlouhodobého užívání dochází u jedince k celkovému vyčerpání organismu a to jak po fyzické tak i psychické stránce [10; 14].

Amfetaminy v centrální a periferní nervové soustavě uvolňují řadu nervových přenašečů tzv. neurotransmiterů, jako například dopaminu, serotoninu a noradrenalinu. Spolu s uvolňováním neurotransmiterů dochází k potlačení monoaminoxidázy. Jedná se o enzym metabolizující neurotransmitery v lidském organismu [10; 14].

Pervitin účinkuje na organismus již při malých koncentracích. Tento jev je dán jeho chemickou povahou, má malou molekulovou hmotnost, vykazuje bazické vlastnosti a má nižší afinitu k proteinům, které prostupují přes biologické membrány. Vlastnosti látky nám umožňují i její detekovatelnost v tělních tekutinách, nehtech a vlasech. Ve vlasech se amfetamin ukládá do keratinu, a proto lze amfetamin ve vlasech stanovit až měsíc od jeho požití [10; 14].



Obrázek 3: Strukturní vzorec metamfetaminu [10]



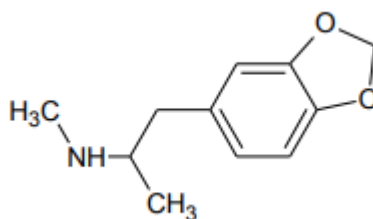
Obrázek 4: Strukturní vzorec amfetaminu [10]

5.1.2. EXTÁZE

Jedná se o synteticky připravovanou drogu, která byla poprvé syntetizována počátkem minulého století. Je zařazována mezi metamfetaminy, což potvrzuje i její druhotný název MDMA. MDMA je zkratka chemického názvu 3,4-methylendioxy-N-metamfetamin (viz obrázek 5). Extáze se užívá ve formě tablet či kapslí, které mají různě barevné formy a tvary. Nejčastěji se lze setkat s extází ve formě narůžovělé tablety s vyraženým logem, tyto tablety slouží k perorálnímu užití [15; 16].

V organismu pod vlivem MDMA dochází k inhibici enzymu tryptofanhydroxylázy. Tento enzym ovlivňuje produkci hormonu serotoninu, dochází tedy k jeho nadměrnému uvolňování. Na jedinci pod vlivem MDMA pozorujeme projevy euforie, sounáležitosti s okolím a pocity empatie. Při dlouhodobém užívání dochází k porušení centrální nervové soustavy a jater. Účinky na organismus se dostávají do jedné hodiny od požití [15; 16].

Extáze je též někdy označována jako empatogen, tedy látka zvyšující zájem o lidi či pocity sounáležitosti. Ve vyšší dávce však vykazuje spíše psychostimulační efekt. MDMA se řadí mezi tzv. víkendové drogy s typickým užíváním na tanečních akcích. Ve farmakoterapii nemá MDMA prozatím žádné využití [15; 16].



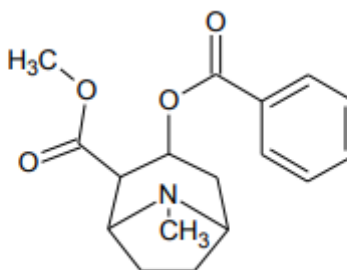
Obrázek 5: Strukturní vzorec extáze [15]

5.1.3. KOKAIN

Účinná látka kokainu je tropanový alkaloid získávaný z listů keře koky pravé. Kokain (viz obrázek 6) je výchozí surovina pro výrobu cracku, jedná se o směs kokainu a alkalického činidla jako je například soda či prášek do pečiva [17].

Kokain je prodáván jako bílý krystalický prášek s typickou hořkou chutí. Crack je oproti čistému kokainu více krystalický. Mezi způsoby užívání patří kouření, šňupání nebo injekční aplikace. Při požití drogy dochází ke zvýšené stimulaci mozku, která se především projevuje změnou teploty a dýchání. Typickým projevem je zvýšení sebedůvěry, navození pocitu euforie a přísun energie [17; 18].

Mezi nežádoucí účinky řadíme stavy spojené se změnou srdečního rytmu a to především nevolnost, třes, krvácení z nosu a bolesti hlavy. Při nadměrném užívání dochází k úbytku na váze, svalovým křečím a trvalému poškození nosní sliznice. Kokain účinkuje na organismus v podobě inhibice dopaminových a serotoninových přenašečů [17; 18; 19].



Obrázek 6: Strukturní vzorec kokainu [17]

5.2. HALUCINOGENY

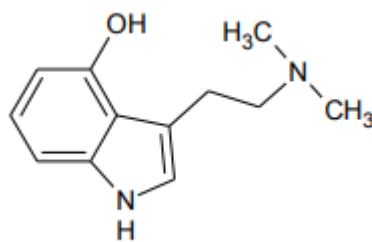
Jedná se o drogy, které jsou tvořeny především látkami přírodního původu. Společným znakem halucinogenů je ovlivňování vědomí a vnímání, a proto jsou halucinogeny řazeny mezi tzv. psychedelika. Obecně halucinogeny způsobují smyslové (zrakové, sluchové či hmatové) halucinace. K těmto představám dochází v důsledku stimulace serotoninových receptorů po navázání halucinogenu [20].

5.2.1. PSILOCYBIN A PSILOCIN

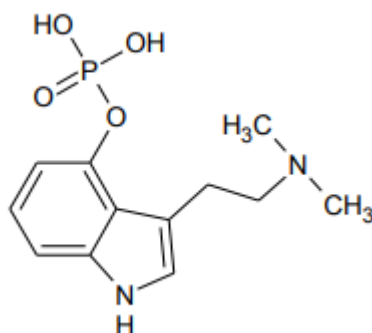
Tyto látky jsou obsaženy v různých druzích hub. Typickým zástupcem těchto hub jsou lysohlávky. V lysohlávkách je obsažen jak psilocybin (viz obrázek 8) tak i psilocin (viz obrázek 7) (psilocin je produktem metabolizace psilocybinu) a další alkaloidy, které se strukturně podobají amfetaminům. Koncentrace látek v lysohlávkách se liší dle druhu, ale i dle konkrétní houby [21].

Droga se užívá perorálně, účinek drogy přichází po požití 1 g sušené houby nebo 10 g čerstvých hub. Doba trvání účinku se pohybuje mezi 1 – 6 hodinami. Již první aplikace drogy ovlivňuje duševní stav člověka. Vzniklé halucinace se vracejí v podobě „flashbacku“ a mohou se vyskytovat i roky po požití halucinogenu [21; 22].

Halucinace se projevují změnou vnímání, ostřejším vnímáním barev, euforií nebo barevnými či obrazovými vizualizacemi. Při intoxikaci může docházet k nevolnostem či zvracení. Avšak předávkování nebylo zatím zaznamenáno [21].



Obrázek 7: Strukturální vzorec psilocinu [10]

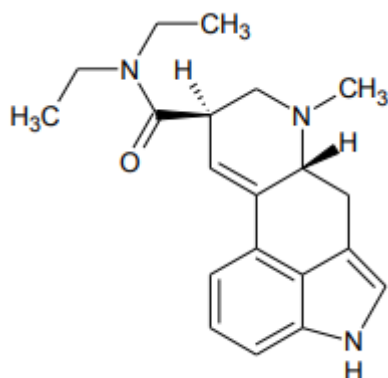


Obrázek 8: Strukturní vzorec psilocybinu [10]

5.2.2. LSD

LSD je zkratkou pro diethylamid kyseliny lysergové (viz obrázek 9), který je součástí alkaloidů vzniklých při metabolických pochodech houby rostoucí na obilí. Poprvé byla tato látka syntetizována roku 1938. Mechanismus účinku LSD spočívá v navázání na serotoninové či dopaminové receptory v mozku. Stavy organismu spojené se změnou vnímání a myšlení nastávají po požití i stopového množství LSD. Proto je tato látka řazena mezi nejsilnější halucinogeny. Vyšší koncentrace způsobují u jedinců psychedelické prožitky, které vedou k poruše osobnosti [21; 23]. Po 20 – 60 minutách od požití LSD můžeme u jedince pozorovat projevy veselosti, záchvaty smíchu, které postupně odeznívají a nastávají halucinace. Halucinace způsobené LSD se projevují sytějším vnímáním barev a pocitem plastické reality (představa, že neživé věci jsou v pohybu). Halucinace jsou doprovázeny nežádoucími účinky jako je třes, sucho v ústech, nevolnost, úzkost a paranoidní představy [24].

LSD lze užívat ve formě potištěných papírků, které jsou napuštěny čirou tekutinou. Další možností podání jsou perorální kapsle napuštěné LSD [21; 23].

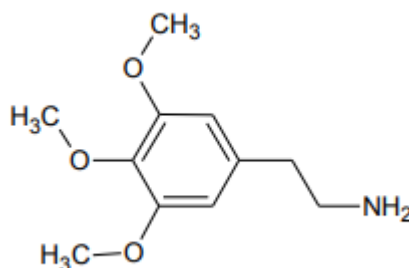


Obrázek 9: Strukturní vzorec LSD [23]

5.2.3. MESKALIN

Meskalin (viz obrázek 10) se získává z rostliny Peyotl, jedná se o kaktus rostoucí v severním Mexiku. Intoxikace organismu je provázena zvýšenou tepovou frekvencí, halucinacemi a neklidem organismu. Při vyšších koncentracích dochází k zažívacím potížím. Meskalin má shodný mechanismus účinku jako LSD či psilocybin.

Alkaloid meskalin získaný z listů kaktusu lze užívat ve formě tablet určených k perorálnímu požití, anebo jako odvar z listů [10; 21].



Obrázek 10: Strukturní vzorec meskalinu [10]

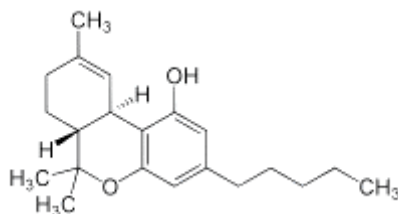
5.2.4. KONOPNÉ DROGY

Konopné drogy jako jsou marihuana a hašiš řadíme mezi halucinogeny, avšak způsobené halucinace se značně od halucinací spojených s užíváním „klasických“ halucinogenů liší. Halucinace z konopných drog nejsou tak časté, spíše dochází u jedince ke změnám myšlení či vnímání prostoru a času [21].

Účinnou látkou konopných drog představuje THC (Δ -9-tetrahydrocannabinol). THC (viz obrázek 11) je obsažen především v pryskyřici či květenství konopí. Sušené horní listy konopí spolu s květenstvím, které jsou rozdrobeny na menší kousky, nazýváme marihuana. Zatím co hašiš je vysušená a vylisovaná zkoncentrovaná pryskyřice získána z květenství samicích rostlin. Hašiš lze získat ve formě hnědé placičky či kostky [25; 26].

Po intoxikaci organismus THC dochází k navození pocitu euforie, zlepšení nálady s projevy neutichajících záchvatů smíchu, zvýšení introspekce. Častým důvodem užívání drog s obsahem THC je i zmírnění bolesti. K nežádoucím účinkům lze zařadit sucho v ústech, zvýšení krevního tlaku spojené s bušením srdce, pocit hladu či chladu [25; 26].

Konopné drogy se užívají formou kouření, jako součást potravy či nápojů. Možné je i užívání tzv. valorizace, odpařování účinné látky a následná inhalace bez vzniku kouře [26].



Obrázek 11: Strukturní vzorec THC [10]

5.3. LÁTKY TLUMÍCÍ CENTRÁLNÍ NERVOVOU SOUSTAVU

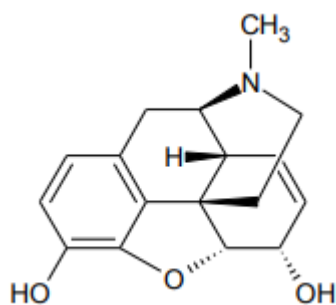
5.3.1. OPIOIDY

Opioidy jsou odvozeny od opia, tedy pryskyřice z nezralých makovic máku setého, která obsahuje směs přírodních alkaloidů. Opium také slouží jako výrobní surovina pro přípravu heroinu [1; 27].

5.3.1.1. MORFIN

Morfin (viz obrázek 12) spadá mezi silná analgetika, přispívající k tišení bolesti při pokročilém stádiu rakoviny. Značnou nevýhodou na lidský organismus je rychlý vznik tolerance a fyzické závislosti. Mezi účinky morfinu na organismus řadíme tišení bolesti, zmírnění kašlacího reflexu, pokles dechové frekvence, navození pocitu euforie. Při vyšší dávce dochází k útlumu organismu v podobě spánku či navození kómatu. Dochází k poruše centrální nervové soustavy a může dojít až k usmrcení organismu. Smrtelná dávka je uváděna jako 120 mg na dospělého člověka [10; 8; 27].

Morfin se aplikuje intravenózně. Mechanismus účinku je působení na opiátové receptory [10].



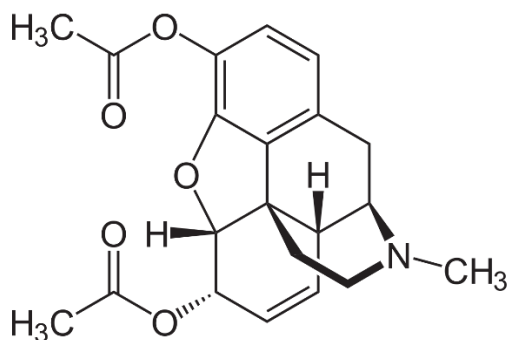
Obrázek 12: Strukturální vzorec morfinu [10]

5.3.1.2. HEROIN

Jedná se o polysyntetickou látku odvozenou od morfinu. Mezi postupně pro výrobu heroinu (viz obrázek 13) je opium. Nástup účinku je rychlejší a silnější než u morfinu. Poprvé byl syntetizován roku 1874 v Anglii [1].

Účinnou látkou heroinu je diacetylmorfin. Nejčastěji je k získání tzv. bílý heroin, jedná se o diacetylmorfin hydrochlorid (směs soli heroinu s HCl). Bílý heroin se prodává ve formě jemného bílého prášku. Vzhledem připomíná kokain, avšak záměna může mít fatální následky. Způsoby užívání heroinu jsou šňupání, inhalace, kouření a nitrožilní aplikace [28].

Při požití dojde u organismu k potlačení činnosti CNS a útlumu bolesti. Tlumivé účinky se projevují jako zpomalení vnímání, okolní svět se zdá být méně náročný. I přes své tlumivé účinky, heroin může navodit pocit euforie či zvýšení energie organismu. Mezi nežádoucí účinky patří nevolnost, cyanóza (nedostatečné okysličení organismu s projevem zmodrání pokožky), zástava dechu. Mechanismus účinku je dán stejně jako u ostatní opiátů, působením heroinu na opiátové receptory [10; 28].



Obrázek 13: Strukturální vzorec heroinu [10]

5.4. BENZODIAZEPINY

Benzodiazepiny jsou skupinou medikamentů, jejichž obecnou funkcí v organismu je navození zklidnění až odstranění úzkosti či strachu. Pomocí benzodiazepinů jsou léčeny deprese, epilepsie či nespavost [29; 30].

Lze je rozdělit do několika skupin medikamentů:

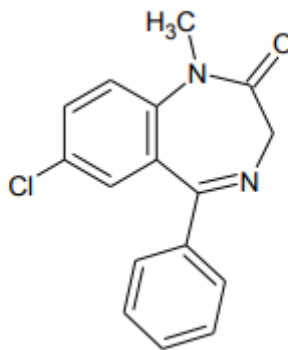
- anxiolytika – medikamenty proti úzkosti, např.: Xanax, Neurool
- sedativa – medikamenty na uklidnění, např.: Diazepam, Lexaurin
- hypnotika – medikamenty podporující spánek, např.: Nitrazepam, Rohypnol
- myorelaxancia – medikamenty snižující svalové napětí, např.: Grandaxin

Díky svému všestrannému využití se jedná o velmi snadno dostupné látky. V organismu působí především v centrální nervové soustavě, stimulací GABA receptorů, což vede k zvýšení sedativního účinku [29; 30].

5.4.1. ROHYPNOL

Jedná se o derivát benzodiazepinu – flunitrazepam (viz obrázek 14). Který je spíše znám pod obchodním názvem Rohypnol. Řadíme jej mezi hypnotika, léčící především poruchy spánku. Dále nachází uplatnění při anestezii [31; 32].

Při podání flunitrazepamu dojde v organismu k inhibici neurotransmiterů, což má za následek snížení polarizace buněčných membrán. Snížení polarizace se projeví především při přenosu nervového vzruchu mezi buňkami. U jedince nastává snížení pohyblivosti svalů, závratě a bezvědomí. Rohypnol se prodává ve formě tablet s nástupem účinku do 15 minut [31; 32; 33].



Obrázek 14: Strukturní vzorec flunitrazepamu [31]

6. TOXIKOMANIE

Toxikomanií řada odborných textů definuje jako závislost na látkách způsobujících euforii neboli stav chorobného lpění na opakovaném požití euforizující látky. Pro toxikomana je charakteristickým jevem vznik psychické nebo fyzické závislosti na droze, tato závislost je spojena s nutností zvyšovat dávku (toleranci) za účelem dosažení stejného účinku i přes možné riziko předávkování. V závislosti na druhu toxikomanie dochází k poškození jednotlivých orgánů. Spolu s možným předávkováním se vyskytuje velké nebezpečí v podobě přenosných infekcí zejména AIDS. Při nedostatku drogy organismus začne vykazovat známky abstinčních příznaků. Osoba s euforií se vyznačuje dobrou náladou, spojenou s fyzickou i duševní pohodou [1; 10].

Psychická závislost: nutková potřeba další dávky euforizující látky. Postupuje určitým vývojem. Bez pravidelného přísunu euforika se u organismu projevují deprese a dysforie. Po požití drogy se projeví euforizující účinky, které jsou motivací pro další opakování tohoto stavu. Organismus se proto stává psychicky závislý, a je schopen pro získání další dávky mnoha obětí. U psychické závislosti se obvykle neobjevují abstinční příznaky [33].

Fyzická též somatická závislost: jedná se o vyšší úroveň závislosti, pro kterou jsou charakteristické abstinční příznaky. Nastávají po vysazení drogy. Pro každou skupinu drog jsou charakteristické rozdílné abstinční příznaky. Například u osob závislých na morfinu mezi abstinční příznaky patří nespavost, neklid, třes. Pochopitelně osoba drogově závislá se snaží těmto nepříjemným abstinčním příznakům předcházet pravidelným přísunem drogy do organismu. Stává se tedy na droze zcela fyzicky závislou [33].

Po chemické stránce jsou zneužívané látky velmi rozmanité, v některých případech se jedná i o směsi. Společným znakem však je, že při působení na CNS vykazují euforizující účinky a jejich zneužívání je spojeno s možností vzniku závislosti [1; 10].

Dle legislativy České republiky a to konkrétně dle zákona ČR č. 167/1998 Sb. rozlišujeme dva typy euforik:

- **Omamné látky:** Do této skupiny radíme p irozen e nebo polosyntetické morfinové deriváty a náhražky morfinu pethidin, methadon a tilidin, kokain, ha i .
- **Psychotropní látky:** Jedná se o sympatomimetické aminy, barbituráty, benzodiazepinové deriváty a dal si, do této skupiny spadají i halucinogeny jako je LSD nebo psilocybin. Společným znakem pro tuto skupinu je ovlivn ov an i duševních d ej .

Všechny tyto látky podléhají zvláštním předpisům a nařizením, které kontrolují jejich spotřebu a sna i se zamezit jejich zneu iv an i. Mezinárodní kontrola p edev si m sleduje látky ze skupiny morfinu, kokainu a ha i e [1; 10].

7. IDENTIFIKACE OMAMNÝCH A PSYCHOTROPNÍCH LÁTEK

Identifikace omamných a psychotropních látek ve vlasech spadá do toxikologické analýzy. Toxikologická analýza se zaměřuje na identifikaci drogy a zjištění účinku dané drogy na živý organismus. Drogu zde představuje samotná látka či její metabolit. Předmětem analýzy je identifikace a kvantifikace neznámé látky. Dále lze dle výsledků analýzy zjistit příčinu úmrtí nebo objasnit vztah jedinců k návykovým látkám [34; 35].

Nejčastěji používaným materiálem v toxikologické analýze jsou tělní tekutiny (moč, krev a sliny). Modernizací metod a rozvojem nových technik, lze použít k diagnostikování i další biologické materiály jako jsou vlasy a nehty, které slouží k prokázání intoxikace organismu návykovou látkou v delším časovém rozmezí [34; 35].

Identifikace návykových látek ve vlasech má své výhody, ale i nevýhody.

Výhody:

- Analýzou lze prokázat intoxikaci organismu za poslední týdny či měsíce. Oproti tomu v moči lze některé látky detekovat pouze 2 – 4 dny od aplikace.
- Pomocí segmentální analýzy prokázat opakující se intoxikaci organismu a podat tedy výsledky o drogové závislosti jedince.
- Odběr vzorku vlasu je velmi snadný a pro jedince nenáročný. Oproti odběru krve či moče, při kterém může dojít ve vzniku bolesti či porušení soukromí.
- Transport a skladování vlasů nepotřebuje zvláštní nároky na teplotu či konzervaci. Skladování vzorků může probíhat po delší dobu [34; 10].

Nevýhody:

- Analýzou nelze získat výsledky intoxikace organismu za poslední hodiny či dny.
- Pro rutinní vyšetření je analýza vlasu značně finančně náročná [34; 10].

7.1. POSTUP TOXIKOLOGICKÉ ANALÝZY

Pro analýzu vlasu existuje předepsaný postup, který slouží jako návod pro toxikologické laboratoře zabývající se identifikací návykových látek ve vlasech. Daný postup byl sepsán ve Forensic Science International pod názvem *Recommendation for hair testing in forensic cases* [36].

Základní postup pro toxikologickou analýzu vlasu pro identifikaci návykových látek je následující [36]:

1. Odběr vzorku.
2. Dekontaminace vzorku.
3. Desintegrace vlasu a hydrolýza.
4. Izolace návykové látky, popřípadě převedení na detekovatelnou látku.
5. Vlastní analýza.

7.1.1. ODBĚR VZORKU

Odběr vlasu se provádí z oblasti temene, nejlépe v množství 50 – 100 vlasových vláken, přibližně 10 mg. Lze provést odběr celého pramene vlasu ve velikosti dřevěné tužky [10; 36].

7.1.2. DEKONTAMINACE

Dekontaminace se provádí za účelem odstranění chemických látek z povrchu vlasu, které by mohly rušit vlastní stanovení. Důležité je odstranění mastnoty, která se usazuje na vrchní části vlasového stvolu. Pro účely dekontaminace se používají roztoky tenzidů či organických rozpouštědel, které vzorek vlasů promývají. Odmaštění vlasů se provádí za pomoci acetonu [8; 10; 35].

7.1.3. DESINTEGRACE A HYDROLÝZA

V dalším kroku při analýze vlasu je nutné vzorek dobře zhomogenizovat. K tomu účelu se využívá mechanické zpracování či chemická hydrolýza [10; 34; 35].

V prvním kroku analýzy dochází k nastříhání vzorku na menší části. V případě, že provádíme sekvenční analýzu, tj. identifikace návykové látky v závislosti na rychlosti růstu vlasu, dochází k nastříhání vzorku vlasu na segmenty o délce 1 cm, které následně podrobíme samostatné analýze [34; 10; 35].

Dále je zapotřebí rozrušit strukturu vlasu a uvolnit drogu ze vzorku v co největší koncentraci. Chemickou hydrolýzu můžeme rozdělit na tři druhy: enzymatickou, alkalickou a kyselou hydrolýzu [34; 10; 35].

Enzymatická hydrolýza

Je řazena mezi finančně náročné metody, protože je prováděna za pomoci enzymatické směsi. Hydrolýza probíhá při teplotě 40 °C po dobu 2 hodin. Vzorek se následně musí centrifugovat a extrahovat pomocí extrakce na tuhé fázi (SPE) Slouží pro identifikaci kokainu. [36; 33; 10].

Alkalická hydrolýza

K alkalické hydrolýze se používá 0,1 – 2 M hydroxid sodný (NaOH). Hydrolýza trvá přibližně 12 hodin při teplotě 37 °C. Po následné úpravě pH za pomoci kyseliny, je provedena extrakce pomocí SPE. Využívá se pro zjištění přítomnosti amfetaminu, morfinu a THC ve vzorku [33; 10; 36].

Kyselá hydrolýza

Jedná se hydrolýzu využívající minerální kyseliny (HCl, H₂SO₄) nebo směs alkoholu s kyselinou trifluorooctovou. Hydrolýzy probíhá při 37° C po dobu 12 hodin. Dále musí následovat neutralizace a extrahování na tuhou fázi (SPE). Za pomoci kyselé hydrolýzy upravujeme vzorek na přítomnost morfinu [33; 36; 10].

Důležitým parametrem při desintegraci a hydrolýze je teplota a čas, po který hydrolýza probíhá [34; 10; 35].

7.1.4. EXTRAKCE

Následným krokem po desintegraci je extrakce. Pomocí extrakce ze vzorku odstraníme nečistoty, které by způsobovaly rušení analýzy. Dalším důvodem pro zařazení extrakce do postupu při toxikologické analýze vlasu je nízká koncentrace detekované látky. Proto provádíme tzv. prekoncentraci detekované látky před vlastním stanovením. Častými prekoncentračními metodami spadajícími do extrakčních technik, které lze použít při extrakci návykových látek ze vzorku vlasu můžeme zařadit extrakci z kapaliny do kapaliny nebo extrakci z kapaliny na tuhou fázi (SPE) [37; 10].

LLE extrakce je extrakcí z kapaliny do kapaliny. Tato metoda jde typická pro kapalné vzorky. Při LLE extrakci se převádí kapalný vzorek do roztoku organického rozpouštědla. Vlastní proces extrakce lze rozdělit do 3 kroků, které na sebe navazují:

1. Úprava vzorku, při které se vytvoří extrahovaná forma detekované látky.
2. Vlastní extrakce, při které dochází k ustanovení rovnováhy mezi organickou a vodnou fází.
3. Izolace detekované látky z organického rozpouštědla. Izolace se provádí jako reextrakce pomocí přídavku minerální kyseliny nebo odpaření rozpouštědla [38; 39].

Principem extrakce z kapaliny na tuhou fázi (SPE – z anglického Solid Phase Extraction) je zakoncentrování požadovaného analytu z většího objemu kapalného vzorku do menšího objemu. Tedy kapalný vzorek převádíme přes kolonku naplněnou sorbentem. Analyt se zachycuje na sorbentu, ze kterého je následně uvolněn pomocí malého množství rozpouštědla [40; 41].

Izolace látek pomocí mikroextrakce tuhou fází (SPME – z anglického Solid Phase Microextraction). Princip metody spočívá v sorpci analytu na křemenném vlákne, které je pokryto vrstvou stacionární fáze. Při SPME nepoužíváme rozpouštědla či složitou aparaturu, což spolu s rychlostí provedení a univerzálností metody lze považovat za značnou výhodu [33; 42].

7.1.5. VLASTNÍ ANALÝZA

Kritériem pro volbu vhodné analytické metody je její citlivost. Při použití metody s vysokou citlivostí se můžeme setkat s falešně pozitivním výsledkem, který je způsoben v důsledku externí kontaminace [10; 1].

Analytické metody, které slouží k identifikaci návykových látek ze vzorku, lze rozdělit na dva typy a to metody screeningové (vyhledávací) a metody identifikační (potvrzovací). Do metod screeningových řadíme imunochemickou a chromatografickou analýzu. Potvrzovací metody jsou především chromatografické metody. Screeningové metody jsou metody poskytující pouze orientační výsledek, který je nutné potvrdit specifitější metodou [10; 1; 43].

7.1.5.1. IMUNOCHEMICKÉ METODY

Principem metody je soutěž antigenu (detekovaná látka) se značenou formou dané detekované látky o možná vazebná místa na specifické protilátce za vzniku imunokomplexu [43; 33].

Dle označení antigenu pomocnou látkou rozlišujeme metody, jako jsou radioimunometody (RIA) značené pomocí radioizotopu, nebo enzymatické metody (např.: EIA, ELISA), kde jsou antigeny označeny enzymem. Místo značení antigenu lze popřípadě využít značení protilátky [33; 44].

Imunochemické metody poskytují citlivé a přesné výsledky. Předností těchto metod je jejich snadné provedení bez použití náročné instrumentální techniky. Avšak i tato metoda má své nevýhody v podobě časové náročnosti či nemožnosti detekce více látek společně [44] .

Typickou imunochemickou metodou je enzymatická imunologická analýza (ELISA – z anglického Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Tato levná a jednoduchá metoda poskytuje výsledky i pro nízké koncentrace detekované látky. ELISA se využívá k detekci metamfetaminu či morfinu. Citlivější metodou pro stanovení THC nebo kokainu je radioimunoanalýza (RIA) [44; 45; 46].

7.1.5.2. CHROMATOGRAFICKÉ METODY

V současnosti patří mezi toxikologicky standardně používané metody plynová či kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS, LC-MS) [43; 47].

Naměřená hmotnostní spektra slouží při toxikologické analýze jako standardy pro identifikaci neznámé látky [43; 10; 1].

Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) umožňuje analyzovat vzorky i s nízkým obsahem analyzované látky. GC-MS se standardně využívá pro stanovení kokainu, THC a amfetaminu [48; 49].

Zástupcem kapalinové chromatografie poskytující velmi citlivé výsledky je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Citlivost výsledku je závislá na řadě aspektů, především na dobře zvoleném detektoru. Lze použít detektory: UV-VIS,

coulometrické a hmotnostní [50; 19]. Za pomoci kapalinové chromatografie s použitím hmotnostní spektrometrie (LC-MS) lze stanovit amfetamin.

Při nedostupnosti chromatografické techniky lze použít alternativní metody, jako jsou kapilární elektroforéza (CE – z anglického Capillary Electrophoresis) nebo iontově mobilní spektrometrie (IMS – z anglického Ion Mobility Spectrometry). Příkladem detekovaných látek při toxikologické analýze vlasu za pomoci CE jsou kokain či morfin. Pomocí IMS lze stanovit benzodiazepiny [48; 50; 51].

7.1.6. TOXIKOLOGICKÁ ANALÝZA VLASŮ NA KONKRÉTNÍ SKUPINY DROG

- **Amfetaminy a jejich metabolity**

V prvním kroku analýzy je provedena dekontaminace za použití směsi ethanolu a dichlormethanu, dekontaminace probíhá po dobu 5 minut. Po dekontaminaci následuje alkalická hydrolyza. Hydrolyza probíhá při 80 °C po dobu 15 minut, k hydrolyze použijeme 1 M hydroxid sodný. Následujícím krokem v analýze je extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE) s použitím 3 ml směsi hexanu a ethylacetátu v poměru 2:1 (v/v). Takto upravený vzorek lze analyzovat pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s hmotností spektrometrií (LC-MS) [41].

Další možný postup při zjišťování přítomnosti amfetaminů je složen z dekontaminace roztokem 0,03 % Tween 20, následuje kyselá hydrolyza 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou (HCl) po dobu 12 hodin při 45 °C s následnou neutralizací za pomoci hydroxidu sodného (NaOH). Vlastní analýza je provedena za pomoci kapilární elektroforézy ve spojení s hmotnostní spektrometrií (CE-MS). Tímto způsobem, lze stanovit i přítomnost kokainu ve vzorku vlasů [52].

- **Benzodiazepiny**

Možným postupem při stanovení benzodiazepinů je dekontaminace vzorku směsí isooktanu a acetonu. Dále je vzorek podroben desintegraci pomocí ultrazvuku. V následujícím kroku je provedena extrakce 5 ml směsi dichlormethanu a diethyletheru v poměru 9:1 (v/v) po dobu 15 minut. Takto připravený vzorek je analyzován kapalinovou chromatografií ve spojení s hmotnostní spektrometrií o vysokém rozlišení (LC-HRMS) [53].

Benzodiazepiny můžeme prokázat i za pomoci kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LC-MS). Vzorek před vlastní analýzou je upraven dekontaminací dichlormethanem, hydrolyzován a upraven extrakcí LLE s použitím dichlormethanu [54].

- **Opioidy**

Při analýze na přítomnost morfinu či heroinu je vzorek nejprve podroben dekontaminaci 2 ml chlormethanu. Následuje kyselá hydrolyza 1 ml 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou (HCl) po dobu 1 hodiny při 100 °C. V dalším kroku je provedena extrakce na tuhou fázi (SPE). Takto upravený vzorek je možné analyzovat plynovou chromatografií ve spojení s hmotností spektrometrií (GC-MS). Tímto postupem lze prokázat i přítomnost extáze (MDMA) ve vzorku [55].

Dalším možností provedení analýzy na přítomnost morfinu nebo kokainu je použití směsi dekontaminačních činidel (dodecylsulfát, voda a aceton) s následující hydrolyzou za pomoci methanolu (CH₃OH), acetonitrilu (CH₃CN) a mravenčanu amonného (HCOONH₄). K vlastní analýze lze použít LC-MS či HPLC [56].

- **Kokain a jeho metabolity**

V prvním kroku analýzy je provedena dekontaminace za použití chlormethanu, 2-propanolu a fosfátového pufru. Vzorek je dále podroben kyselé hydrolyze 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou (HCl) a následně extrahován na tuhou fázi (SPE). K vlastní analýze se používá kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) [57].

8. ZÁVĚR

Omamné a psychotropní látky způsobují vznik závislosti a značně ovlivňují chování jedince. Tyto substance působí na centrální nervový systém a vyvolávají různé změny ve fungování lidského organismu.

Po aplikaci látky do organismu nastává její absorpce, distribuce a následná metabolizace. Proto pokud chceme danou látku prokázat, musíme zvolit vhodný biologický materiál. Pro zjištění chronického zneužívání návykových látek nám dobře poslouží sekvenční analýza vlasu. Tato analýza nám umožní zjištění kdy a v jakém množství byla návyková látka podána do organismu. Vlasy jsou i cenným materiálem při analýze post mortem a to v případě kdy je tělo v pokročilém stádiu hniloby, nebo pokud nemůžeme získat jiný biologický materiál.

Za značnou výhodu toxikologické analýzy vlasu můžeme považovat odběr vzorku, který není nijak bolestivý a je velmi snadný.

Vzorek vlasů je před vlastní analýzou na danou návykovou látku podroben řadě úprav. V prvním kroku musíme vzorek dekontaminovat, abychom zabránili falešně pozitivnímu výsledku. Následuje hydrolýza, při které dojde k uvolnění detekované substance ze struktury vlasového stvolu. Hydrolýza probíhá ve formě mechanického rozvolnění a následuje chemická hydrolýza. Detekované substance se ve vzorku vyskytují ve velmi nízkých koncentracích, a proto provádíme extrakci látky. Nejčastěji se jedná o extrakce LLE nebo SPE.

Vlastní stanovení návykových látek je prováděno za pomoci instrumentálních metod, které poskytují jak kvalitativní tak i kvantitativní výsledky. Pro identifikaci se nejčastěji používají chromatografické metody (GC-MS, LC-MS).

9. LITERATURA

PROKEŠ, Jaroslav. *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2005. ISBN 80-7262-301-X.

FINSTERLOVÁ, Marie. Hair diseases. *Interní medicína pro praxi*. 2008, **10**(10), 4.

ČIHÁK, Radomír. *Anatomie*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2011-2016. ISBN 978-80-247-5636-3.

BALKO, Jan, Zbyněk TONAR a Ivan VARGA. *Memorix histologie*. 2. vydání. Praha: Triton, 2017. ISBN 978-80-7553-249-7.

METTRIE, Roland de la., Didier. SAINT-LÉGER, Geneviève. LOUSSOUARN, Anne-Lise. GARCEL, Crystal. PORTER a André. LANGANEY. Shape Variability and Classification of Human Hair: A Worldwide Approach. *Human Biology* [online]. 2007, **79**(3), 265-281 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1353/hub.2007.0045. ISSN 1534-6617. Dostupné z: http://muse.jhu.edu/content/crossref/journals/human_biology/v079/79.3mettrie.html

LÜLLMANN-RAUCH, Renate. *Histologie*. 3. vydání. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3729-4.

EPSTEIN, Franklin H., Ralf PAUS a George COTSARELIS. The Biology of Hair Follicles. *New England Journal of Medicine* [online]. 1999, **341**(7), 491-497 [cit. 2019-04-16]. DOI: 10.1056/NEJM199908123410706. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199908123410706>

SIEGEL, Jay A., Pekka J. SAUKKO a Geoffrey C. KNUPFER. *Encyclopedia of forensic sciences*. San Diego: Academic Press, 2000. ISBN 9780122272158.

PRAGST, Fritz a Marie A. BALIKOVA. State of the art in hair analysis for

9] detection of drug and alcohol abuse. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2006, **370**(1-2), 17-49 [cit. 2019-04-16]. DOI: 10.1016/j.cca.2006.02.019. ISSN 00098981. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898106001227>

BALÍKOVÁ, Marie. *Forezní a klinická toxikologie: laboratorní toxikologická*
10] *vyšetření*. Praha: Galén, 2004. ISBN 80-7262-284-6.

EDWARDS, I Ralph a Jeffrey K ARONSON. Adverse drug reactions:
11] definitions, diagnosis, and management. *The Lancet* [online]. 2000, **356**(9237), 1255-1259 [cit. 2019-04-16]. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02799-9. ISSN 01406736. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673600027999>

Národní informační centrum pro mládež. *Národní informační centrum pro mládež*
12] [online]. 2018: ICM NIDM MŠMT, 2015 [cit. 2019-06-25]. Dostupné z: <http://www.nicm.cz/drogy-a-jine-zavislosti-charakteristika>

DE LA TORRE, Rafael, Mag?? FARR??, M??nica NAVARRO, Roberta
13] PACIFICI, Piergiorgio ZUCCARO a Simona PICHINI. Clinical Pharmacokinetics of Amphetamine and Related Substances. *Clinical Pharmacokinetics* [online]. 2004, **43**(3), 157-185 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.2165/00003088-200443030-00002. ISSN 0312-5963. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.2165/00003088-200443030-00002>

DE LA TORRE, Rafael, Mag?? FARR??, M??nica NAVARRO, Roberta
14] PACIFICI, Piergiorgio ZUCCARO a Simona PICHINI. Clinical Pharmacokinetics of Amphetamine and Related Substances. *Clinical Pharmacokinetics* [online]. 2004, **43**(3), 157-185 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.2165/00003088-200443030-00002. ISSN 0312-5963. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.2165/00003088-200443030-00002>

DE LA TORRE, R., M. FARRÉ, J. ORTUÑO, M. MAS, R. BRENNEISEN, P. N.
15] ROSET, J. SEGURA a J. CAMÍ. Non-linear pharmacokinetics of MDMA ('ecstasy') in humans. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 2000, **49**(2), 104-109 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1046/j.1365-2125.2000.00121.x. ISSN 03065251. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2125.2000.00121.x>

- MCCANN, UD, Z SZABO, U SCHEFFEL, RF DANNALS a GA RICAURTE.
- 16] Positron emission tomographic evidence of toxic effect of MDMA (“Ecstasy”) on brain serotonin neurons in human beings. *The Lancet* [online]. 1998, **352**(9138), 1433-1437 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)04329-3. ISSN 01406736. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673698043293>
- BREITER, Hans C, Randy L GOLLUB, Robert M WEISSKOFF et al. Acute
- 17] Effects of Cocaine on Human Brain Activity and Emotion. *Neuron* [online]. 1997, **19**(3), 591-611 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80374-8. ISSN 08966273. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627300803748>
- RAMAMOORTHY, S., A. L. BAUMAN, K. R. MOORE, H. HAN, T. YANG-
- 18] FENG, A. S. CHANG, V. GANAPATHY a R. D. BLAKELY. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1993, **90**(6), 2542-2546 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1073/pnas.90.6.2542. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.90.6.2542>
- CLAUWAERT, Karine M, Jan F VAN BOCXLAER, Willy E LAMBERT a
- 19] André P DE LEENHEER. Segmental analysis for cocaine and metabolites by HPLC in hair of suspected drug overdose cases. *Forensic Science International* [online]. 2000, **110**(3), 157-166 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/S0379-0738(00)00162-6. ISSN 03790738. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073800001626>
- BURDICK, Brittany Vasae a Bryon ADINOFF. A proposal to evaluate
- 20] mechanistic efficacy of hallucinogens in addiction treatment. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse* [online]. 2013, **39**(5), 291-297 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.3109/00952990.2013.811513. ISSN 0095-2990. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00952990.2013.811513>
- NICHOLS, David E. Hallucinogens. *Pharmacology & Therapeutics* [online].
- 21] 2004, **101**(2), 131-181 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2003.11.002. ISSN 01637258. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163725803001657>

BOROWIAK, Krzysztof S., Kazimierz CIECHANOWSKI a Piotr
22] WALOSZCZYK. Psilocybin Mushroom (*Psilocybe semilanceata*) Intoxication with Myocardial Infarction. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* [online]. 2009, **36**(1-2), 47-49 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.3109/15563659809162584. ISSN 0731-3810. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/15563659809162584>

BENNETT, James P. a Solomon H. SNYDER. Stereospecific binding of
23] lysergic acid diethylamide (LSD) to brain membranes: Relationship to serotonin receptors. *Brain Research* [online]. 1975, **94**(3), 523-544 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/0006-8993(75)90234-6. ISSN 00068993. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006899375902346>

DELL'ERBA, Sara, David J. BROWN a Michael J. PROULX. Synesthetic
24] hallucinations induced by psychedelic drugs in a congenitally blind man. *Consciousness and Cognition* [online]. 2018, **60**, 127-132 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/j.concog.2018.02.008. ISSN 10538100. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053810017305743>

MATSUDA, Lisa A., Stephen J. LOLAIT, Michael J. BROWNSTEIN, Alice C.
25] YOUNG a Tom I. BONNER. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* [online]. 1990, **346**(6284), 561-564 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1038/346561a0. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/346561a0>

HUESTIS, Marilyn A., Jack E. HENNINGFIELD a Edward J. CONE. Blood
26] Cannabinoids. I. Absorption of THC and Formation of 11-OH-THC and THCCOOH During and After Smoking Marijuana*. *Journal of Analytical Toxicology* [online]. 1992, **16**(5), 276-282 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1093/jat/16.5.276. ISSN 1945-2403. Dostupné z: <http://academic.oup.com/jat/article/16/5/276/797725/Blood-Cannabinoids-I-Absorption-of-THC-and>

LONGO, Dan L., Nora D. VOLKOW a A. Thomas MCLELLAN. Opioid Abuse
27] in Chronic Pain — Misconceptions and Mitigation Strategies. *New England Journal of Medicine* [online]. 2016, **374**(13), 1253-1263 [cit. 2019-06-25]. DOI:

10.1056/NEJMra1507771. ISSN 0028-4793. Dostupné z:
<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1507771>

MINHAS, Meenu a Francesco LERI. The Effect Of Heroin Dependence On
28] Resumption Of Heroin Self-Administration In Rats. *Drug and Alcohol Dependence*
[online]. 2014, **138**(1), 24-31 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2014.01.007.
ISSN 03768716. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376871614000246>

HOWARD, Paul, Robert TWYLCROSS, John SHUSTER, Mary MIHALYO a
29] Andrew WILCOCK. Benzodiazepines. *Journal of Pain and Symptom Management*
[online]. 2014, **47**(5), 955-964 [cit. 2019-06-25]. DOI:
10.1016/j.jpainsymman.2014.03.001. ISSN 08853924. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0885392414001080>

CHÈZE, Marjorie, Gaëlle DUFFORT, Marc DEVEAUX a Gilbert PÉPIN. Hair
30] analysis by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in toxicological
investigation of drug-facilitated crimes: Report of 128 cases over the period June 2003–
May 2004 in metropolitan Paris. *Forensic Science International* [online]. 2005, **153**(1),
3-10 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/j.forsciint.2005.04.021. ISSN 03790738. Dostupné
z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073805002112>

BYLUND, David B. Flunitrazepam ☆. *Reference Module in Biomedical Sciences*
31] [online]. Elsevier, 2017 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.98271-0.
ISBN 9780128012383. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128012383982710>

RICKERT, Vaughn I., Constance M. WIEMANN a Abbey B. BERENSON.
32] Flunitrazepam. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology* [online]. 2000, **13**(1),
37-42 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/S1083-3188(99)00038-8. ISSN 10833188.
Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1083318899000388>

VOKURKA, Martin a Jan HUGO. *Velký lékařský slovník*. 10. aktualizované

33] vydání. Praha: Maxdorf, 2015. Jessenius. ISBN 978-80-7345-456-2.

BARROSO, Mário, Eugenia GALLARDO, Duarte Nuno VIEIRA, Manuel
34] LÓPEZ-RIVADULLA a João António QUEIROZ. Hair: a complementary source of
bioanalytical information in forensic toxicology. *Bioanalysis* [online]. 2011, **3**(1), 67-79
[cit. 2019-06-25]. DOI: 10.4155/bio.10.171. ISSN 1757-6180. Dostupné z:
<http://www.future-science.com/doi/10.4155/bio.10.171>

COOPER, Gail A.A., Robert KRONSTRAND a Pascal KINTZ. Society of Hair
35] Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic Science International* [online]. 2012,
218(1-3), 20-24 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/j.forsciint.2011.10.024. ISSN
03790738. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073811004993>

Recommendations for hair testing in forensic cases. *Forensic Science*
36] *International* [online]. 2004, **145**(2-3), 83-84 [cit. 2019-06-25]. DOI:
10.1016/j.forsciint.2004.04.022. ISSN 03790738. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073804002361>

MADRY, Milena M., Thomas KRAEMER a Markus R. BAUMGARTNER.
37] Systematic assessment of different solvents for the extraction of drugs of abuse and
pharmaceuticals from an authentic hair pool. *Forensic Science International* [online].
2018, **282**(282), 137-143 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/j.forsciint.2017.11.027. ISSN
03790738. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073817304851>

OTHMER, Donald a Philip TOBIAS. Liquid-Liquid Extraction Data - The Line
38] Correlation. *Industrial & Engineering Chemistry* [online]. 1942, **34**(6), 693-696 [cit.
2019-06-25]. DOI: 10.1021/ie50390a600. ISSN 0019-7866. Dostupné z:
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie50390a600>

MUDIAM, Mohana Krishna Reddy a Ch. RATNASEKHAR. Ultra sound
39] assisted one step rapid derivatization and dispersive liquid-liquid microextraction
followed by gas chromatography-mass spectrometric determination of amino acids in
complex matrices. *Journal of Chromatography A* [online]. 2013, **1291**, 10-18 [cit. 2019-
06-25]. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.03.061. ISSN 00219673. Dostupné z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967313005281>

CAMEL, Valérie. Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochimica Acta*
40] *Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2003, **58**(7), 1177-1233 [cit. 2019-06-25]. DOI:
10.1016/S0584-8547(03)00072-7. ISSN 05848547. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0584854703000727>

ALEKSA, Katarina, Paula WALASEK, Netta FULGA, Bhushan KAPUR, Joey
41] GARERI a Gideon KOREN. Simultaneous detection of seventeen drugs of abuse and
metabolites in hair using solid phase micro extraction (SPME) with GC/MS. *Forensic
Science International* [online]. 2012, **218**(1-3), 31-36 [cit. 2019-06-25]. DOI:
10.1016/j.forsciint.2011.10.002. ISSN 03790738. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073811004774>

SNOW, Nicholas H. Solid-phase micro-extraction of drugs from biological
42] matrices. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, **885**(1-2), 445-455 [cit. 2019-06-
25]. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00192-8. ISSN 00219673. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967300001928>

ŠTEFAN, Jiří a Jiří HLADÍK. *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. 1. Praha:
43] Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3594-8.

MCCREEDY, Tom. Trends in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*
44] [online]. 1997, **347**(3), 396-397 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/S0003-2670(97)81187-
7. ISSN 00032670. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267097811877>

STRAMESI, C., C. VIGNALI, A. GROPPI, M. CALIGARA, F. LODI, S.
45] PICHINI a C. JURADO. The standardization of results on hair testing for drugs of abuse:
An interlaboratory exercise in Lombardy Region, Italy. *Forensic Science International*
[online]. 2012, **218**(1-3), 101-105 [cit. 2019-06-25]. DOI:
10.1016/j.forsciint.2011.10.005. ISSN 03790738. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073811004804>

MIECZKOWSKI, Tom, Rosemary MUMM a Harry CONNICK. A research note:
46] an analysis of RIA and GC/MS split hair samples from the New Orleans pretrial diversion program. *Forensic Science International* [online]. 1997, **84**(1-3), 67-73 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1016/S0379-0738(96)02050-6. ISSN 03790738. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073896020506>

PURNELL, Howard, Otto GRUBNER, Jaroslav JOKLÍK a Radko KOMRS.
47] *Plynová chromatografie*. Vyd. 1. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1966. Moderní metody v chemické laboratoři, sv. 15.

POOLE, C. F. *Gas chromatography*. 1. Amsterdam: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-48] 12-385540-4.

DORMAN, Frank L., Joshua J. WHITING, Jack W. COCHRAN a Jorge
49] GARDEA-TORRESDEY. Gas Chromatography. *Analytical Chemistry* [online]. 2010, **82**(12), 4775-4785 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1021/ac101156h. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac101156h>

SNYDER, Lloyd R., J. J. KIRKLAND a John W. DOLAN. *Introduction to*
50] *modern liquid chromatography*. 3rd ed. Hoboken, N.J.: Wiley, 2010. ISBN 978-0-470-16754-0.

GEIGER, Matthew, Amy L. HOGERTON a Michael T. BOWSER. Capillary
51] Electrophoresis. *Analytical Chemistry* [online]. 2012, **84**(2), 577-596 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1021/ac203205a. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac203205a>

GOTTARDO, Rossella, Ameriga FANIGLIULO, Federica BORTOLOTTI,
52] Giorgia DE PAOLI, Jennifer Paola PASCALI a Franco TAGLIARO. Broad-spectrum toxicological analysis of hair based on capillary zone electrophoresis–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2007, **1159**(1-2), 190-197 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.05.099. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196730700982X>

VOGLIARDI, Susanna, Donata FAVRETTO, Marianna TUCCI, Giulia
53] STOCCHERO a Santo Davide FERRARA. Simultaneous LC-HRMS determination of
28 benzodiazepines and metabolites in hair. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*
[online]. 2011, **400**(1), 51-67 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1007/s00216-011-4742-8. ISSN
1618-2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-011-4742-8>

XIANG, Ping, Qiran SUN, Baohua SHEN, Peng CHEN, Wei LIU a Min SHEN.
54] Segmental hair analysis using liquid chromatography–tandem mass spectrometry after a
single dose of benzodiazepines. *Forensic Science International* [online]. 2011, **204**(1-3),
19-26 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1016/j.forsciint.2010.04.046. ISSN 03790738.
Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073810002252>

DE LA TORRE, R., E. CIVIT, F. SVAIZER, A. LOTTI, M. GOTTARDI a M.
55] MIOZZO. High throughput analysis of drugs of abuse in hair by combining purposely
designed sample extraction compatible with immunometric methods used for drug
testing in urine. *Forensic Science International* [online]. 2010, **196**(1-3), 18-21 [cit.
2019-07-11]. DOI: 10.1016/j.forsciint.2009.12.039. ISSN 03790738. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073809005404>

ZHU, Kevin Y., K. Wing LEUNG, Annie K. L. TING et al. Microfluidic chip
56] based nano liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the
determination of abused drugs and metabolites in human hair. *Analytical and
Bioanalytical Chemistry* [online]. 2012, **402**(9), 2805-2815 [cit. 2019-07-11]. DOI:
10.1007/s00216-012-5711-6. ISSN 1618-2642. Dostupné z:
<http://link.springer.com/10.1007/s00216-012-5711-6>

QUINTELA, Oscar, Elena LENDOIRO, Angelines CRUZ, Ana DE CASTRO,
57] Alfredo QUEVEDO, Carmen JURADO a Manuel LÓPEZ-RIVADULLA. Hydrophilic
interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry (HILIC-MS/MS)
determination of cocaine and its metabolites benzoylecgonine, ecgonine methyl ester,
and cocaethylene in hair samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2010,
396(5), 1703-1712 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1007/s00216-009-3393-5. ISSN 1618-
2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-009-3393-5>

