

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

Olha Konchakivska

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Pot není jen voda  
Olha Konchakivska

Bakalářská práce

2017

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology

Sweat is not only water

Olha Konchakivska

Bachelor thesis

2017

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2014/2015

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Olha Konchakivska**  
Osobní číslo: **C12236**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Pot není jen voda**  
Zadávající 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. Seznamte se s literárními údaji zabývající se složením a významem potu u člověka
2. Vypracujte přehlednou práci pojednávající o významu a funkci potu
3. Zaměřte se na odběr potu a jeho zpracování pro analýzy za účelem diagnostiky některých onemocnění

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

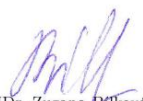
Vedoucí bakalářské práce: **doc. Mgr. Roman Kandřár, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **12. prosince 2014**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. července 2015**

  
prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.  
děkan

L.S.

  
prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 27. února 2015

Prohlašuji:

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

Byla jsem seznámena 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.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

.....  
Olha Konchakivska

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce doc. Mgr. Romanu Kand'árovi, Ph.D., nejen za cenné rady, připomínky a pomoc při řešení problémů, ale také za strávený čas a trpělivost v průběhu zpracování této práce. V neposlední řadě děkuji svému otci a blízké kamarádce za velkou podporu při studiu.

## **ANOTACE**

Tato práce poukazuje na význam potu, který obsahuje řadu důležitých látek. Shrnuje základní poznatky o potu jako biologické tělní tekutině, která je v poslední době stále více využívána pro diagnostiku některých nemocí.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Potní žlázy, pot, techniky odběru potu, cystická fibróza

## **TITLE**

Sweat is not only water

## **ANNOTATION**

This work points to the importance of the sweat which contains many important substances. It summarizes the basic knowledge about the sweat as a biological fluid used for diagnosis different diseases.

## **KEYWORDS**

Sweat glands, sweat, sweat collection techniques, cystic fibrosis

# OBSAH

ÚVOD .....	11
1. KŮŽE .....	12
1.1 Složení a funkce kůže .....	12
1.2 Kožní žlázy .....	13
2. LIDSKÝ POT .....	16
2.1 Xenobiotika v potu.....	16
2.2 Funkce potu.....	17
2.2.1 Pocení a jeho typy.....	17
2.3 Pocení jako symptom.....	19
2.3.1 Hyperhidróza .....	19
2.3.2 Hypohidróza .....	20
2.3.3 Souvislost potu s pachem .....	21
3. ANALÝZA POTU .....	22
3.1 Zařízení pro odběr potu.....	22
3.1.1 Pilokarpinová iontoforéza.....	22
3.1.2 Odběr potu systémem Macroduct® .....	23
3.1.3 Náplasti .....	25
3.2 Testování potu.....	26
3.2.1 Drug Wipe® .....	26
3.2.2 Neuropad® .....	26
3.2.3 Sudoscan .....	27
3.2.4 Test termoregulačního pocení .....	27
3.2.5 FISA systém .....	29
3.3 Analytické metody používané k analýze látek obsažených v potu.....	30
3.3.1 Hmotnostní spektrometrie .....	30
3.3.2 Chromatografické metody .....	30
3.3.3 Kombinované techniky.....	33
3.3.4 Studie zabývající se analýzou látek v potu .....	34
4. ONEMOCNĚNÍ DIAGNOSTIKOVÁNA ANALÝZOU POTU .....	38
4.1 Cystická fibróza .....	38
4.1.1 Potní test .....	39
4.2 Crisponi syndrom.....	39
4.3 Diabetická neuropatie .....	40
ZÁVĚR .....	41
ZDROJE.....	42

## SEZNAM ZKRATEK

cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CF	cystická fibróza
CFTR	z angl. Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
CLCF	z angl. Cardiotrophin-Like Cytokine Factor
CRLF	z angl. Cytokine Receptor-Like Factor
CS	z angl. Crisponi Syndrome
FISA	z angl. Flexible Integrated Sensing Array
GC	plynová chromatografie, z angl. Gas Chromatography
HILIC	hydrofilní interakční chromatografie, z angl. Hydrophilic Interaction Chromatography
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti, z angl. Human Immunodeficiency Virus
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie, z angl. High Performance Liquid Chromatography
IRT	Imunoreaktivní trypsin
LC	kapalinová chromatografie, z angl. Liquid Chromatography
MRM-MS	z angl. Multiple Reaction Monitoring Mass Spectrometry
MS	hmotnostní spektrometrie, z angl. Mass Spectrometry
PAN	periferní, autonomní neuropatie
RPC	chromatografie na reverzní fázi, z angl. Reversed-Phase Chromatography
SPE	extrakce tuhou fází, z angl. Solid Phase Extraction
TB	tuberkulóza
TST	test termoregulačního pocení, z angl. Thermoregulatory Sweat Testing

## ÚVOD

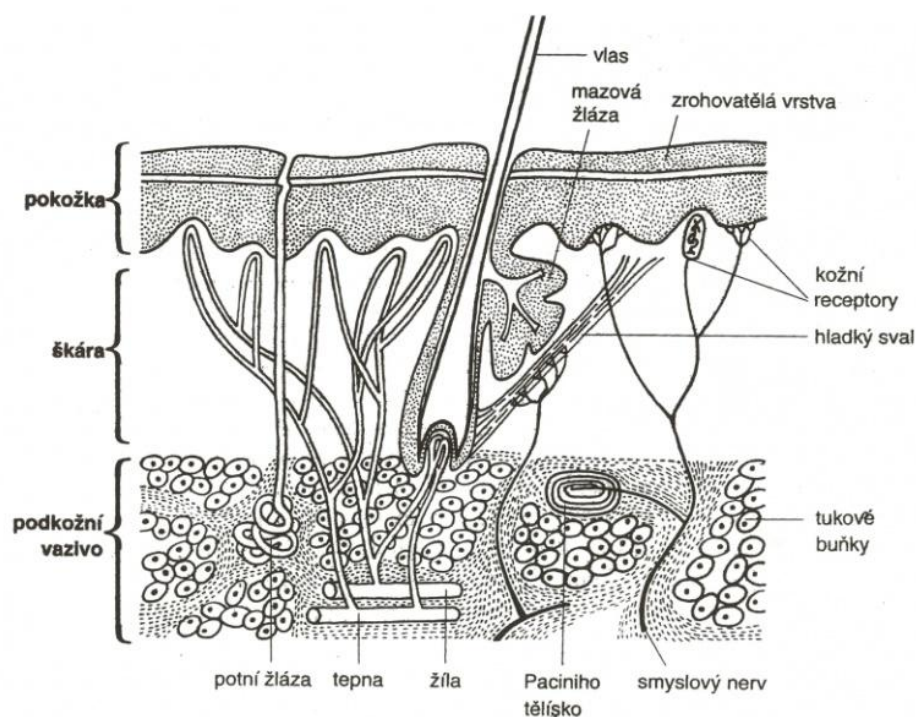
Tato bakalářská práce shrnuje základní poznatky o potu jako biologické tělní tekutině, která je v poslední době stále více využívána pro diagnostiku některých nemocí. Cílem této práce je rozbor významu a funkce potu, přiblížení technik odběru potu a jeho zpracování pro analýzy.

Pot je biologická tekutina produkovaná potními žlázami, a to ekrinními a apokrinními, obsahující desítky různorodých látek. Sekrece potu je důležitý fyziologický jev, který organismus využívá k termoregulaci, odstranění nadbytečného množství látek a detoxikaci.

Běžné biologické materiály užívané k vyšetření a diagnostice zdravotních obtíží je krev, moč, sputum aj. Analýzou potu a jeho potenciálně rozsáhlejšího využití v diagnostice se již zabývá řada vědeckých skupin, už jen z toho důvodu, že odběr potu je neinvazivní a bezbolestná metoda. Již teď se v některých případech pot využívá k diagnostice dědičných onemocnění, jako je cystická fibróza nebo diabetická neuropatie. Další studie poukazují na možné využití potu např. k diagnostice rakoviny či neurologických onemocnění.

# 1. KŮŽE

Kůže (*cutis, derma*, obr. 1) je největší orgán lidského těla. Její povrch činí 1,5–2,0 m<sup>2</sup> a závisí na konstituci a výšce jedince. Tloušťka kůže je proměnlivá a ovlivněna jak anatomickou lokalizací, tak výživou, hydratací i věkem jedince<sup>1</sup>. Z celkové tělesné hmotnosti člověka připadá na kůži 16 %. Kůže se skládá z pokožky (*epidermis*), škáry (*dermis*) a podkožní tkáně (*tela subcutanea*). Tyto hlavní části kůže doplňují adnexální orgány, jimiž jsou žlázy mazové a potní (ekrinní, apokrinní), dále vlasy a nehty<sup>2</sup>. Kůže vykonává mnoho důležitých funkcí, ochrannou či termoregulační, je hraničním orgánem mezi vnějším a vnitřním prostředím, je členitá a skladebně i vývojově složitá.



Obrázek 1: Struktura kůže, převzato z ref.<sup>3</sup>

## 1.1 Složení a funkce kůže

Kůže má tři základní vrstvy a to pokožku, škáru a podkoží (podkožní vazivo). Pokožka je bazální povrchová vrstva tvořená dlaždicovým vrstevnatým epitelem, který je ektodermního původu. V mezibuněčném prostoru se vyskytuje tkáňový mok, důležitý pro výživu a transport látek<sup>4</sup>. Škára je vrstva obsahující vazivo, které má několik druhů vláken, a to kolagenní, retikulární a elastická. Její tloušťka činí asi 0,5-2,5 mm. Škára se skládá ze dvou vrstev, tenčí, *pars papillaris*, a silnější, hlouběji uložené, *pars reticularis*<sup>4</sup>. Dále jsou ve škáře uloženy kožní žlázy, které se dělí na mazové, malé

a velké potní žlázy<sup>5</sup>. Podkožní vazivo (*tela subcutanea*) spojuje kůži s povrchovou fascií nebo periostem. Součástí jsou vazivové pruhy (*retinacula cutis*), vedoucí k fasciím a periostu<sup>4</sup>.

Kůže má několik významných a nepostradatelných funkcí. V první řadě tvoří ochrannou bariéru těla před mechanickými, fyzikálními i chemickými vlivy vnějšího prostředí. Kožní film na povrchu pokožky je souvislá tenká vrstva tvořená z mazu a potu, která brání průniku škodlivých látek do těla. Kůže je důležitý orgán, který přijímá kyslík a vydává oxid uhličitý i vodu. Součástí kůže jsou nervová zakončení, která jsou buď vyživovací (řídí výživu kůže) nebo sekreční (vyučování mazu a potu). Receptory a nervová zakončení v kůži zajišťují vnímání bolesti, tepla, chladu a jiných hmatových podnětů. Tukové buňky podkožního vaziva chrání kostěné výčnělky a důležité orgány před poraněním. Pigmentové buňky v kůži produkují barvivo melanin, které chrání naše tělo před škodlivými účinky ultrafialového záření. Kromě ochranné funkce má kůže důležitou termoregulační schopnost. Dále je také zásobárnou vody, energie a vitamínů rozpustných v tucích (vitamín A, D). Kůže reaguje změnou vzhledu, barvy i struktury na stres, napětí a jiné pocity, což umožňuje pozorovat příznaky různých onemocnění<sup>6</sup>.

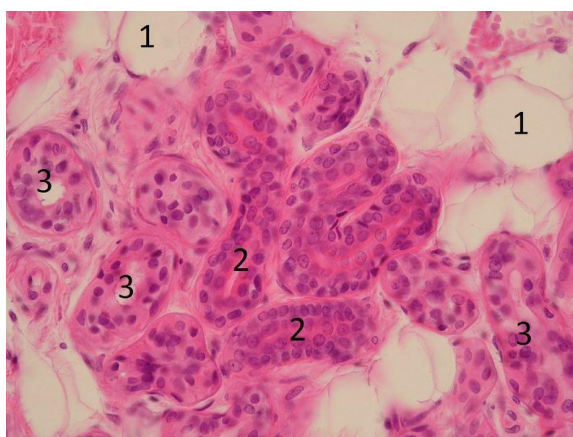
## 1.2 Kožní žlázy

První identifikace potních pórů je často přičítána italskému fyziologovi Malpighimu, který v roce 1684 popsal epidermální hřebeny a potní póry na ruce a nohou. Potní žlázy jako takové byly objeveny v roce 1833 českým fyziologem Purkyněm (1787-1869), a Wendtem, který byl jedním z jeho studentů. Francouzský histolog Louis-Antoine Ranvier provedl rozdělení sekrečních kožních žláz do dvou tříd na základě jejich způsobu sekrece, na holokrinní (mazové) a merokrinní (potní) žlázy. O dvacet až třicet let později byly merokrinní žlázy rozděleny na apokrinní a ekrinní potní žlázy, nakonec byla přidána i třetí třída, apoekrinní žlázy<sup>7</sup>.

Jak již bylo zmíněno, existují dva druhy kožních žláz, a to mazové a potní. Mazové žlázy (*glandulae sebaceae*) se řadí mezi tzv. holokrinní žlázy. Tyto žlázy jsou vystlány buňkami, které se při tvorbě mazu rozpadají, tudíž je třeba, aby se po vyprázdnění obsahu žlázy vytvořily buňky nové. Holokrinní žlázy se vyskytují takřka v kůži celého povrchu těla, a to v blízkosti vlasových váčků, do nichž ústí. Produktem těchto žláz je kožní maz (*sebum*), který povrch kůže zvláčňuje a chrání proti smáčení.

Potní žlázy (*glandulae sudoriferae*) patří mezi tzv. tubulosní žlázy. Tyto žlázy jsou tvořené dlouhým nerozvětveným kanálkem, který je rozdělen na klubkovitě stočenou sekreční část, která zasahuje do škůry, a na dlouhý vývod ústící na povrch pokožky. Jedná se o žlázy apokrinní, ekrinní a apoekrinní. Póry těchto žláz se vyskytují po celém těle, kromě okraje rtů, především hlavně na dlaních, ploskách nohou, krku, čele a šíji<sup>5; 8</sup>.

Potní žlázy jsou řízeny hormonálním nebo nervovým systémem. Hormonální řízení probíhá především vlivem zátěže a zajišťuje jej adrenalin<sup>9</sup>. Inervace potních žláz je realizována cholinergními sympatickými vlákny, nicméně pot obsahuje bradykinin, proto pro začátek pocení není vždy nervový impulz potřebný. Bradykinin reaguje na teplo a působí přímo v místě zahřátí, kdy následně dojde k vasodilataci a evaporaci potu z ekrinních žláz. Omezení nebo úplné zastavení činnosti sekrece ekrinních žláz zajišťuje atropin. V případě sekrece apokrinních potních žláz, které jsou řízené neurotransmiterem adrenalinem, atropin funkci žláz neomezuje<sup>10</sup>.



**Obrázek 2:** Ekrinní potní žláza, 1: tuková tkáň; 2: vývod žlázy; 3: žláza, URL1

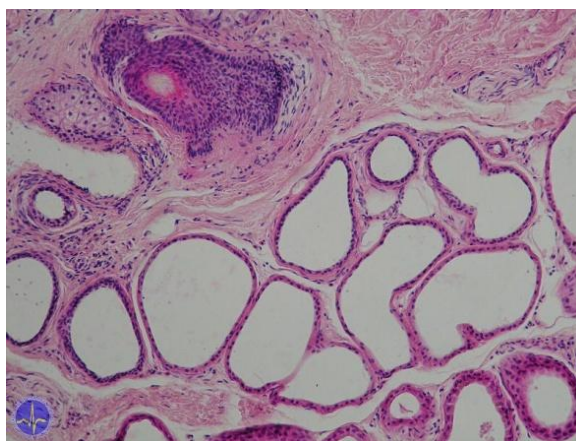
### **Ekrinní potní žlázy**

Ekrinní potní žlázy pokrývají prakticky celé tělo. Nejhojněji se vyskytují na čele, dlaních a ploskách nohou. Celkem má člověk okolo 2–5 milionů ekrinních potních žláz (obr. 2). Po narození člověka jsou ihned aktivní a další nové již nevznikají. Ekrinní žlázy se skládají ze sekreční a vývodové části. Sekreční oddíl žlázy je uložen ve spodní vrstvě škůry, někdy se může vyskytovat i v podkožním vazivu. Tento sekreční oddíl žlázy je stočen do klubíčka, jehož závitů jsou vystlány jednou vrstvou cylindrických sekrečních buněk. Vývodový úsek žlázy je vystlán dvouvrstevným kubickým epitelem. Produkt ekrinních potních žláz je mírně kyselý roztok a obvykle bývá bez zápachu. Ekrinní potní žlázy slouží hlavně k ochlazování těla neboli termoregulaci<sup>8; 11</sup>.

### **Apokrinní potní žlázy**

Apokrinní potní žlázy (obr. 3) jsou mnohem větší než ekrinní. Označují se jako žlázy aromatické. Aktivita apokrinních žláz začíná až v období puberty. Sekretem apokrinních potních žláz je hustá viskózní kapalina, jejíž hodnota pH nabývá hodnot v rozmezí 5,0-6,5. Nacházejí se v oblasti podpažní a pubické, u žen v *labia maiora*, dvorci prsní bradavky a okolí análního otvoru<sup>8</sup>.

Produktem apokrinních žláz je pot, který v čerstvém stavu nezapáchá, ale po jeho rozkladu bakteriemi kožního povrchu získává charakteristický pach neboli mošuš<sup>7</sup>. Sekrece apokrinních žláz může být spuštěna např. emocionálními, stresovými podněty, či sexuálním vzrušením. U žen se navíc aktivita žláz a složení sekretu mění i během menstruačního cyklu. Oproti mužům mají ženy apokrinních potních žláz více, ovšem apokrinní potní žlázy mužů jsou větší a mají vyšší sekreční aktivitu. Například v axilární oblasti mají ženy přibližně o 75 % více apokrinních žláz než muži<sup>8</sup>.



**Obrázek 3:** Apokrinní potní žláza, URL2

### **Apokrinní potní žlázy**

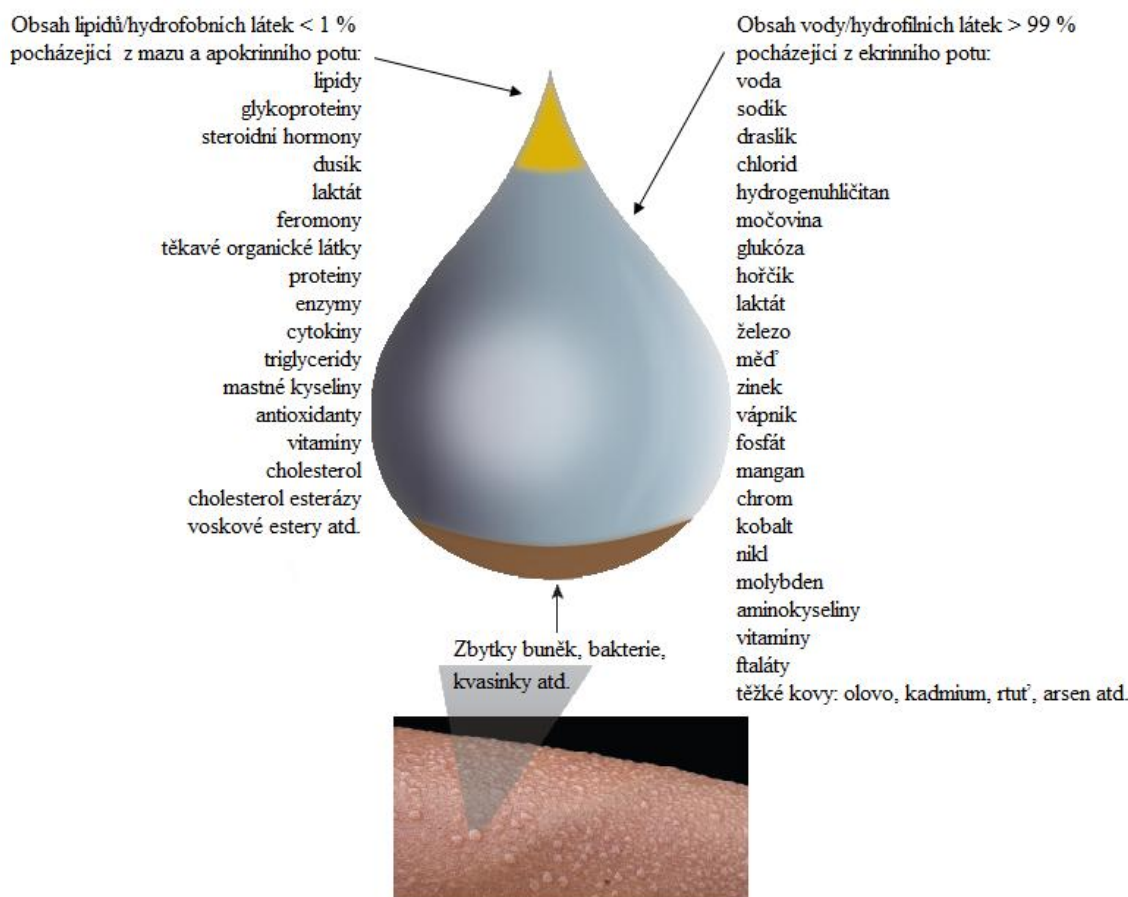
Apokrinní potní žlázy se vyvíjí v průběhu puberty z ekrinních prekurzorů a jsou vyvedené stejně jako ekrinní potní žlázy přímo na povrch pokožky. Byly objeveny při izolaci lidského axilárního potu od pacientů s nadměrným pocením. Nachází se v axile a jejich relativní četnost výskytu se liší člověk od člověka<sup>12</sup>.

## 2. LIDSKÝ POT

Pot (*sudor*) je produktem ekrinních potních žláz, jde o hypotonický roztok obsahující ionty  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , fosfáty, sírany, laktát, kyselinu močovou, močovinu, aminokyseliny (hlavně arginin a histidin), glukosu, vitamín C, biogenní aminy a řadu cizorodých látek, jako jsou drogy, kosmetika a ethanol<sup>1; 13</sup>. Složení potu je uvedeno na obrázku 4 (ref.<sup>14</sup>). Tyto látky jsou uloženy v potních žlázách, vylučovány do potu, a nakonec transportovány do pokožky s částečnou reabsorpcí iontů sodných a chloridových, což je řízeno  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasou<sup>9</sup>. Za normálních okolností je hodnota pH potu 4,0-6,8; v klidovém režimu je průměrné pH 6,3. Během cvičení se sekrece potu urychluje a vede ke zvýšení pH, na hodnotu 6,8 (ref.<sup>15</sup>). Sekreci potu ovlivňuje celá řada látek, jako jsou např. neurotransmitery cholin, acetylcholin a adrenalin, případně i jiné, jako skopolamin. Organismus je schopný vyprodukovat asi 800-1000 ml potu za 24 hodin, za mimořádných okolností to může být dokonce až 10 litrů. Množství potu, které může být produkováno jednou žlázou, se odhaduje na 3-10  $\mu\text{g}$  potu za minutu. Regulace sekrece potu je řízena hypothalamem na základě teploty krve<sup>1; 2</sup>. Faktory, jako jsou genetické dispozice, věk, přírodní klima či fyzická zátěž, ale také zdravotní a psychický stav, ovlivňují vznik a množství potu. Podle příčiny, která spouští pocení, se mění i složení potu. Na složení sekretu potních žláz, tedy na chemickém složení potu, má také vliv strava<sup>8; 16</sup>.

### 2.1 Xenobiotika v potu

Pot obsahuje mimo jiné i látky, které jsou pro organismus škodlivé. Procesem pocení se tělo snaží tyto látky vyloučit (obrázek 4). Jedná se například o těžké kovy jako je arsen, olovo, kadmium a rtuť, které mají toxické účinky a mohou poškozovat nervový, endokrinní, imunitní či kardiovaskulární systém. Potem jsou vylučovány také omamné látky, jako amfetamin, tetrahydrokanabinoidy, kokain, morfin, kodein aj.<sup>16</sup>. Stanovení metabolitů drog v potu je přínosné především v klinické, soudní a hlavně ve forenzní toxikologii za účelem odhalení zneužívání drog<sup>17-19</sup>.



**Obrázek 4:** Přehled látek obsažených v potu, převzato z ref.<sup>14</sup>

## 2.2 Funkce potu

Významnou funkcí potu je regulace teploty organismu, také přispívá k udržování optimální hydratace rohové vrstvy kůže a jeho prostřednictvím se vylučují toxické látky (léky, drogy, alkohol), má tedy tzv. exkrecně-detoxikační funkci<sup>2; 20</sup>. Pot významně ovlivňuje hospodaření organismu s minerálními látkami. Pocením se mění jejich hladina v krevní plazmě, buňkách a mění se také jejich celková zásoba v organismu. Pot je v poslední době stále více využíván pro sledování různých biologických ukazatelů a diagnostiku některých nemocí<sup>21</sup>. Dále je pot vhodným biologickým materiálem pro detekci zneužívání drog nebo monitorování hladin léků<sup>19</sup>.

### 2.2.1 Pocení a jeho typy

Pocení neboli sudomotoriku rozdělujeme na termoregulační, reflexní, emocionální, gustatorní a farmakologicky vyvolané. Fyziologický proces pocení udržuje teplotu těla, což znamená, že sekrece potu je považována za ochrannou funkci, která přizpůsobuje tělo vysokým vnějším teplotám<sup>22</sup>. Pocení organismu zabraňuje jeho přehřátí. Průměrná tělesná teplota člověka se pohybuje v rozmezí 35,8 až 37,3 °C.

Pokud tělesná teplota překročí hodnotu 41 °C, dochází k poškození buněk. Při teplotě nad 42 °C dochází k denaturaci bílkovin. Pocením se kůže vylučuje hlavně voda. Minimální hodnoty denní ztráty vody z lidského těla v klidovém režimu činí přibližně 2200 ml/den. Z toho je asi 500 ml vyloučeno kůží, tedy formou pocení, 350 ml plícemi, 1200 ml močí a 150 ml stolici<sup>8; 16</sup>. Rozdíly v množství produkce a složení potu lze pozorovat např. u jedinců trpících atopickým ekzémem, ichtyózou, psoriázou, hyperhidrózou, hypohidrózou a jinými<sup>2; 20</sup>. Mezi hlavní faktory ovlivňující produkci potu patří věk, procento tělesného tuku, únava potního systému, dehydratace nebo nadměrný přívod tekutin a charakter pocení<sup>7</sup>.

Termoregulační pocení zajišťují ekrinní potní žlázy, které jsou distribuovány přes téměř celý povrch těla. Spolu s vasodilací v kůži, slouží termoregulační pocení jako systém pro snížení teploty těla. Porucha tohoto mechanismu může vést k hypertermii, která může způsobit smrt. Hlavní centrum termoregulace je v hypothalamu, který reguluje aktivitu potních žláz. Centrum termoregulace reaguje nejen na změny tělesné teploty, ale také na hormony, endogenní pyrogeny, pohybovou aktivitu a emoce. Je sledována vnitřní tělesná teplota a střední teploty pokožky. Rychlost pocení je ovlivněno zvýšenou okolní teplotou, což vede ke zvýšení produkce potu a současně probíhá vasodilatace a evaporace<sup>10</sup>. Kromě tělesné teploty, je termoregulační pocení ovlivněno mnoha dalšími vnitřními faktory, jako je pohlaví, fyzická zdatnost, menstruační cyklus a cirkadiánní rytmus. Dále je také ovlivněno i vnějšími faktory tj. vlhkost vzduchu a jiné.

Evaporační chlazení se rozděluje na tři fáze. V první fázi stoupá množství potu v závislosti na stoupající teplotě prostředí jen nepatrně a tvoří 25 % z celkové tepelné ztráty. V druhé fázi stoupá množství vylučovaného potu téměř lineárně s teplotou zevního prostředí a v třetí fázi se množství potu prudce zvyšuje exponenciálně s teplotou prostředí. Například při několikahodinové práci v extrémním horku dochází k únavě potního systému a produkce potu klesá. Také se zvyšujícím se věkem, stoupajícím procentem tělesného tuku se produkce potu snižuje. Na tomto poklesu se podílí především úbytek potních žláz<sup>7</sup>.

Emocionální pocení je fyzická reakce na emotivní podněty, jako je stres, úzkost, strach a bolest, které může nastat kdekoli na povrchu těla, ale nejčastěji k němu dochází na dlaních, ploskách nohou a v podpaží, kde dochází k sekreci tzv. studeného potu. Emocionální pocení, na rozdíl od termoregulačního, vzniká nezávisle na teplotě okolí.

Emocionální pocení dlaní a chodidel se vyskytuje již u dětí a vyvinulo se jako ochranná reakce<sup>23</sup>.

Regulační pocení je mechanismus objevující se při nárazové fyzické zátěži. Svalová činnost, speciálně u sportovců, vede k rychlé produkci až 2 litrů potu za hodinu. Regulační pocení je rovněž typické pro saunování<sup>10</sup>.

## **2.3 Pocení jako symptom**

Ačkoliv je pocení běžný fyziologický projev organismu, zejména při potřebě termoregulace, může nadměrné pocení samo o sobě být onemocněním nebo především důležitým projevem organismu na různá onemocnění, která nelze snadno odhalit. Nadměrné pocení často vede k rozsáhlému komplexnímu vyšetření, které může odhalit závažné onemocnění. Pocení mohou vyvolávat i konzumace ostrých jídel, diuretických nápojů obsahujících kofein, či alkoholu, ale také látky ze skupiny farmak, užívané např. ke snížení teploty.

### **2.3.1 Hyperhidróza**

Hyperhidróza neboli nadměrné pocení je způsobená zvýšenou aktivitou potních žláz. Ačkoliv je pocení přirozeným opatřením těla k regulaci teploty, je abnormálně zvýšená sekrece potu nežádoucí<sup>24</sup>. Přestože regulace teploty formou pocení patří mezi běžné projevy organismu, určité procento populace má neblahou zkušenost s nadměrným, obtěžujícím pocením, které se mnohdy těžce toleruje.

Nadměrné pocení po celém těle může být důsledkem řady faktorů, jako užívání některých léků, onemocnění štítné žlázy, hormonální léčba, psychiatrické poruchy, obezita, změny koncentrace hormonů během menstruačního cyklu či menopauzy, atd. Hyperhidróza se dělí na primární a sekundární, přičemž obě formy postihují především místa o vysoké hustotě potních žláz, jako jsou dlaně, chodidla, podpaží či obličej. Sekrece potu má různou intenzitu např. od lehkého zvlhčení až po odkapávání potu z různých oblastí těla. Obecně je známo, že míra pocení různých oblastí těla je ovlivněna psychickým, fyzickým či emocionálním rozpoložením. Zvýšené pocení dlaní, v podpaží nebo na čele, je často způsobeno pouze psychickým rozpoložením, avšak pocení na hrudníku a zádech není tímto rozpoložením ovlivněno, protože je normální, fyziologické a k životu nezbytné. Obzvláště ruce jsou nedílnou součástí bližšího kontaktu v pracovních a sociálních vztazích, a proto se někteří jednotlivci s hyperhidrózou straní tělesnému kontaktu, jako je podání ruky. Řada lidí

přisuzuje nadměrné pocení vysoké okolní teplotě či emocionálnímu rozpoložení. Odborníci uvádějí, že člověk, který pocítuje zvýšené pocení při běžných činnostech, trpí hyperhidrózou<sup>2; 25; 26</sup>.

Výzkumy prokázaly, že primární neboli fokální hyperhidróza je způsobena dysfunkcí regulace ekrinních potních žláz, ale příčina je stále neobjasněná, nejčastěji se pravděpodobně jedná o vrozené dispozice. Nemoc může být přítomna již v dětství a přetrvávat po celý život, avšak častěji začíná v pubertě nebo u dospělých jedinců<sup>27</sup>.

Sekundární hyperhidróza je nadměrné pocení, které je výsledkem některých onemocnění či změn hladin hormonů, např. v těhotenství či menopauze. Toto pocení doprovází řadu nemocí, jako jsou endokrinní nemoci, tedy porucha hormonální regulace typická pro již zmíněnou menopauzu nebo poruchu činnosti štítné žlázy. Nadměrné pocení může být také důsledkem hypoglykémie, diabetu nebo neurologických (poškození hypothalamu, mozková ischemie, infarkt, poruchy autonomního nervového systému, epilepsie, apod.) či nádorových (feochromocytom, Hodgkinova nemoc apod.) onemocnění<sup>24; 27</sup>.

Častou příčinou nadměrného pocení je užívání některých léčiv. Běžná farmaka, která svými vedlejšími účinky ovlivňují regulaci ekrinních potních žláz, jsou psychofarmaka, hormony (tamoxifen), antidiabetika, kortikosteroidy a antihypertenziva (hydralazin)<sup>27</sup>.

### **2.3.2 Hypohidróza**

Hypohidróza, nebo také anhidróza, je projev organismu spojen s nedostatečnou schopností vylučovat pot nebo až s úplným deficitem pocení. Nedostatečná nebo žádná sekrece potu je nejčastěji způsobena dysfunkcí potních žláz. Anhidróza může být lokalizována po celém těle nebo jen na určité oblasti. Žádná nebo omezená sekrece potu obvykle způsobuje přehřátí organismu. Mírná forma hypohidrózy probíhá ve většině případů bez povšimnutí, což je hlavním důvodem obtížné diagnostiky. Příčin zamezující nebo zcela eliminující pocení je celá řada, mezi běžné příčiny patří dědičné faktory nebo jiná onemocnění, jako je *diabetes mellitus*, psoriáza, dermatitidy, potničky, sklerodermie či ichtyóza. Poškození kůže, způsobené těžkým popálením, může trvale poškodit potní žlázy, což může omezit nebo zcela eliminovat pocení. Užívání některých léků, především anticholinergik, může způsobovat sníženou sekreci potu<sup>2; 25</sup>.

### 2.3.3 Souvislost potu s pachem

Lidský pot je nejdůležitějším nosičem pachu. Na povrchu lidského těla se vyskytuje 2,5 až 3 miliony vyústění potních žláz. Pot je vylučován nepřetržitě, jeho množství ovlivňují již zmíněné okolnosti, jako jsou teplota okolního prostředí, tělesná námaha či psychický stav člověka<sup>28</sup>.

Axilární pachová stopa vzniká v podpaží z produktů kožních žláz (mazové a potní) působením mikroflóry a je významně odpovědná za charakter tohoto pachu<sup>28</sup>. Významnou složkou lidského pachu jsou feromony, které jsou v potu obsaženy. Jsou to přírodní chemické látky produkované apokrinními potními žlázami v kůži, především v podpaží, pod ušima, v okolí prsních bradavek a pohlavních orgánů. Lidský pach s obsahem feromonů podává informace o našem pohlaví, tělesném stavu a genetické konstelaci<sup>29</sup>.

Některé studie poukazují na to, že v závislosti na složení potu a některých dalších procesů po vyloučení potu na povrch kůže, jako je např. působení bakterií, je pach důležitou součástí i pro mezilidské vztahy. Bylo např. prokázáno, že na základě složení vyloučeného potu, který vnímáme jako vůni nebo zápach, rozpoznáváme příbuzné nebo si vybíráme partnera<sup>28</sup>.

### 3. ANALÝZA POTU

Pot, jak již bylo uvedeno dříve, je vodný roztok obsahující celou řadu látek, které jsou buď produktem kožních žláz, a to ekrinních a apokrinních, nebo jsou to látky, které organismus vylučuje z těla na povrch pokožky. V rámci diagnostiky se nejběžněji stanovují látky produkované ekrinními potními žlázami. Screeningové vyšetření potu je využíváno nejen ve zdravotnictví, ale také v oblasti kriminalistiky pro rychlou detekci přítomnosti omamných a psychotropních látek u podezřelých jedinců.

Vzorek potu se u pacientů odebírá neinvazivně, tj. bez narušení jakékoliv části organismu. Pro získání vzorku potu byly a jsou vyvíjené postupy, techniky, metody nebo sofistikovanější zařízení, které zamezují ztrátě vzorku např. odpařováním, či aby nedocházelo ke kontaminaci při manipulaci s odebraným materiálem, ať už personálem, či vlivem vnějšího prostředí. Techniky využívané ke screeningovému vyšetření potu by měly být dostatečně spolehlivé, citlivé a rychlé. Příprava vzorku pro analýzu by neměla být časově náročná. Samotná analýza by měla být snadno proveditelná a relativně levná<sup>30</sup>.

#### 3.1 Zařízení pro odběr potu

Klíčovým aspektem využití vzorku potu pro stanovení různých látek je neinvazivní odběr, který je vhodný u pacientů s hemofilií, novorozenců nebo starších osob, u kterých je odběr vzorků krve buď obtížný, nebo nebezpečný v souvislosti se zdravotním stavem. Vzorek potu má méně složitou matici v porovnání například se vzorkem moči. Příprava vzorku potu před vlastní analýzou je relativně jednoduchá.

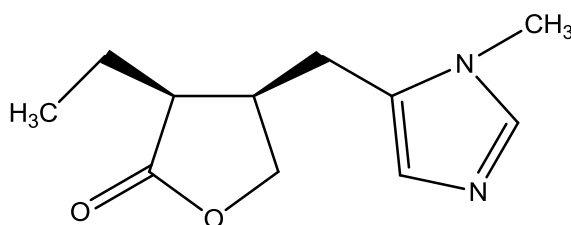
Ideální zařízení pro odběr vzorku potu je takové, které nepoškozuje kůži nebo jiné části těla, odebírá pot v dostatečném objemu, zamezuje vnější kontaminaci a není ovlivněno např. okolním prostředím, je spolehlivé a nevyžaduje komplikovaný postup během samotného odběru<sup>13</sup>.

##### 3.1.1 Pilokarpinová iontoforéza

Iontoforéza je metoda určená pro transport elektricky nabitých částic do tkání. Využívá se pro transport některých léků do tkání, je vhodná i pro terapii či diagnostiku. K stimulaci tvorby potu se používá tzv. pilokarpinová iontoforéza, při níž se využívá stejnosměrného elektrického pole. Pilokarpin (obr. 5) tak pronikne kůží k potním žlázám, kde stimuluje pocení<sup>31</sup>.

Pilokarpin[(3S,4R)-3-ethyl-4-((1-methyl-1*H*-imidazol-5yl)methyl)dihydrofuran-2(3H)-on] je látka přírodního původu, která se vyskytuje v listech rostliny *Pilocarpus pennatifolius*. Tato látka obsahuje ve své struktuře terciární dusík, což znamená, že dobře proniká membránami a má tak účinek na centrální nervový systém, kde stimuluje pocení<sup>32</sup>.

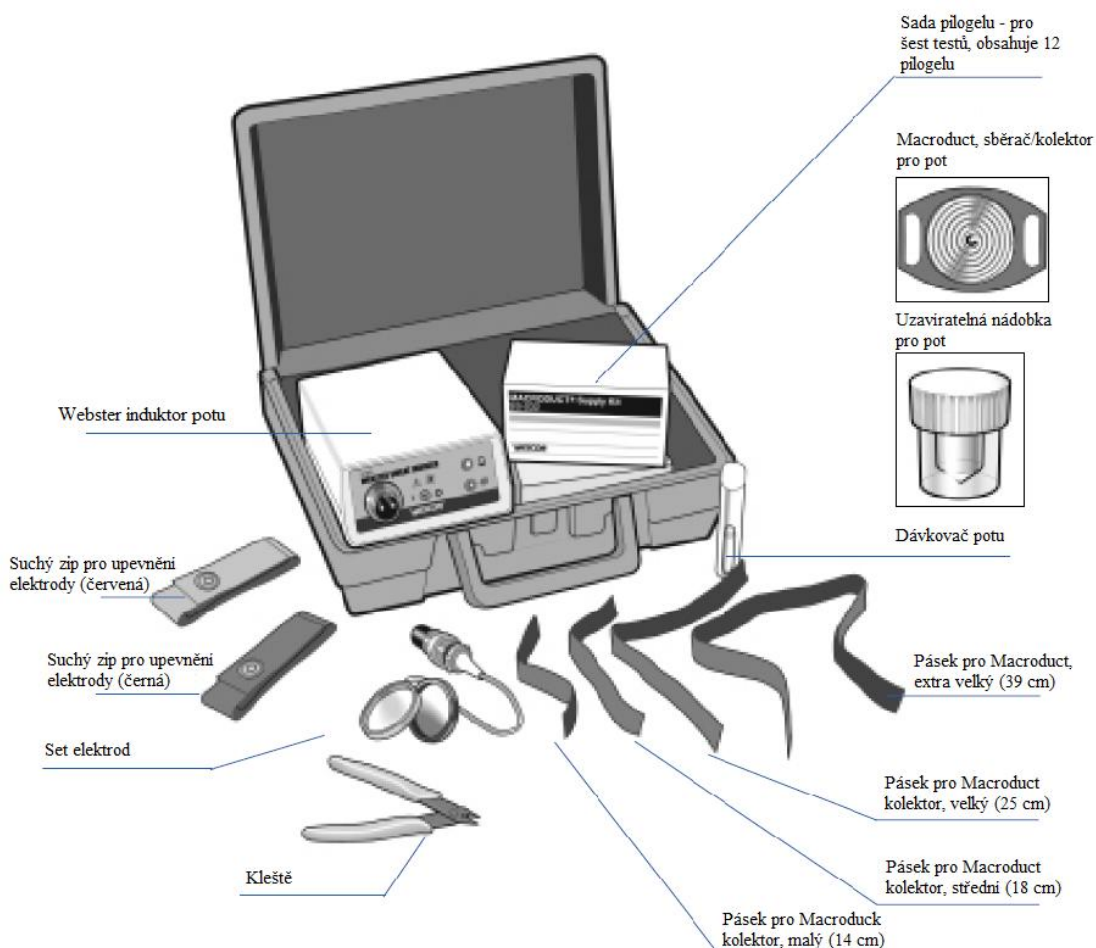
Za účelem odběru vzorku potu, musí být pocení stimulováno buď tepelně, nebo chemicky stimulačními látkami. Nejpoužívanějším stimulantem pocení je právě pilokarpin, který je aplikován do kůže iontoforézou. Iontoforéza trvá asi 5 minut a je použit stejnosměrný proud o intenzitě 2,5 až 3,0 mA. Pot se získává po ukončení iontoforézy v místě anody. Místem sběru potu u dospělých pacientů je kůže předloktí a u dětských pacientů se vzorek potu odebírá z horní části zad. Kontraindikací pilokarpinové iontoforézy je dermatitida nebo předchozí výrazné pocení<sup>13; 33</sup>.



**Obrázek 5:** Strukturní vzorec pilokarpinu

### 3.1.2 Odběr potu systémem Macroduct<sup>®</sup>

Odběrový systém Macroduct<sup>®</sup> je určený pro stimulaci pocení na povrchu kůže pacienta a pro následný odběr vzorku potu přímo do kapiláry odběrového systému, kolektoru. Stimulace pocení je založena na principu pilokarpinové iontoforézy (kapitola 3.1.1). Odběrový systém Macroduct<sup>®</sup> je vhodný pro odběr potu jak u dospělých, tak i dětských pacientů. Jednotlivé části zařízení pro odběr potu Macroduct<sup>®</sup> jsou popsány na obrázku 6.



**Obrázek 6:** Systém Macroduct® pro odběr potu, URL3

Testování potu má tři fáze: stimulaci, oděr a analýzu potu. Nejprve se elektrody připojí k induktoru potu. Následně, po očištění kůže vybrané odběrové oblasti, se elektrody s pilogely připevní na dané místo suchým zipem. Po aktivaci zařízení se zapne induktor a zhruba po 20 vteřinách začne stimulace pocení, tj. vlastní pilokarpinová iontoforéza. Po dokončení této fáze se elektrody odpojí od kůže pacienta a vypne se induktor potu. Poté se systém Macroduct® připevní k povrchu kůže a pot vylučovaný žlázami je tlakem vytlačován do plastové spirálovité hadičky zabudované v kolektoru. Pot při průchodu kolektorem modrá, přichází do kontaktu s malým množstvím barviva, což umožňuje sledovat průběh vylučování potu. Po dokončení sběru potu je kolektor odpojen od kůže a injekční stříkačkou je pot přenesen z hadičky do uzavíratelné nádoby. Takto odebraný vzorek je připraven k následné analýze<sup>34; 35</sup>.

Odebraný vzorek potu systémem Macroduct® byl v některých studiích využit k analýze ukazatelů tuberkulózy a schizofrenie kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí<sup>21; 36-39</sup>.

### 3.1.3 Náplasti

Zpočátku se pot odebíral jednoduchými savými materiály, které byly tvořeny např. z okluzivního obvazu složeného z jedné až tří vrstev filtračního papíru, kousků bavlny nebo gázy. Nicméně použití těchto materiálů bylo časově náročné, navíc byly náchylné ke ztrátám potu a získávalo se jen malé množství<sup>13</sup>. Kromě toho na kůži způsobovaly řadu problémů, jako je například podráždění pokožky, změnu pH pokožky a jiné<sup>40</sup>. K překonání těchto problémů byly pro sběr potu vyvinuty neokluzivní zařízení, náplasti, obsahující vrstvu lepidla na tenké průhledné fólii, ke které byla připojena obdélníková absorpční vložka (nejjednodušší je bezpopelnatý filtrační papír Whatman)<sup>13</sup>. Lepidlo je speciálně vyvinuto tak, aby mohlo být použito pouze jednou a nemohlo být odstraněno a znovu úspěšně připevněno na povrch kůže<sup>19</sup>.

#### PharmCheck

PharmCheck je druh náplasti, která slouží pro sběr potu. Tato náplast je složená z adhezivní polyuretanové folie a absorpční vložky. Folie umožňuje průchod kyslíku, oxidu uhličitého a vody, takže kůže může volně dýchat. Místo na kůži, nejčastěji horní část paže, musí být před aplikací náplasti očištěné a to např. tamponem napuštěným isopropylalkoholem. Větší molekuly, jako jsou např. metabolity drog či léčiv, jsou zachycovány uvnitř absorpční vložky. Nevýhody náplastí PharmCheck jsou například vysoké pořizovací náklady, vyšší riziko kontaminace před aplikací nebo nechtěné odstranění náplasti z odběrového místa. Při teplotě 22 °C je náplast schopna zachytit minimálně 300 µl potu za den. Fyzická zátěž a zvýšená teplota umožňuje zvýšení množství získaného vzorku potu. Systém se ponechává připevněn na kůži i několik dnů, v některých případech i déle než týden a poté se polštářek umístí do uzavřené zkumavky, která obsahuje směs acetátového pufru o pH 5,0 a methanolu. Vzorek je tak připraven k vlastní analýze<sup>13; 30; 40</sup>.

Někteří autoři uvádějí i jiná zařízení, jakož jsou například jednorázové pipety nebo skleněné lahvičky pro odběr potu přímo z pokožky jedince vykonávajícího nějaké cvičení<sup>14</sup>. Dalším zařízením pro sběr malého množství potu je mikronáplast z agarozového hydrogelu s polytetrafluoroethylenem.

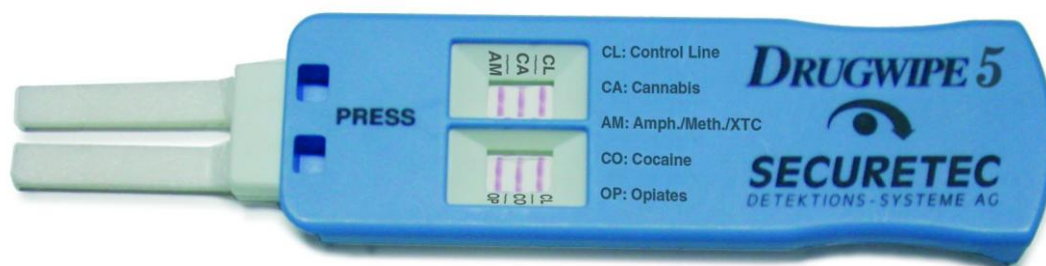
## 3.2 Testování potu

Pot jako vzorek lze využít k orientačnímu testu např. na přítomnost drog nebo lze studovat či sledovat funkci potních žláz, ale i jiných částí tkání a buněk, které mají nějakou spojitost s potem. Je snaha vyvinout nejen komerčně dostupné, ale především jednoduché, rychlé a přesné testy či zařízení využívající vzorek potu k detekci či monitorování hladin různých látek.

### 3.2.1 Drug Wipe<sup>®</sup>

DrugWipe<sup>®</sup> (obr. 7) je určen pro kvalitativní detekci omamných a psychotropních látek v lidském vzorku slin nebo potu. Tímto testem lze detekovat přítomnost kanabinoidů, opiátů, kokainu, amfetaminu či metamfetaminu, včetně extáze, u testovaných jedinců. Je to rychlý orientační test založený na imunochemických reakcích.

Stěrové čtverečky slouží ke stěru potu a následné přenesení na testovací proužky. Na testovacích proužcích jsou specifické protilátky proti jednotlivým drogám. Pokud vzorek potu obsahuje testovanou drogu, dojde k vazbě a tvorbě komplexu droga-protilátka. Testovací proužek obsahuje navíc kontrolu. Je to obdobné jako u těhotenského testu<sup>15; 41</sup>.



Obrázek 7: DrugWipe<sup>®</sup> systém k detekci drog v potu, URL4

### 3.2.2 Neuropad<sup>®</sup>

Neuropad<sup>®</sup> je jednoduchý a rychlý screeningový test, kterým lze diagnostikovat onemocnění dolních končetin nazývané periferní neuropatie. Neuropad<sup>®</sup> je název pro náplast, jíž lze kontrolovat funkci potních žláz v oblasti nohou, tj. na chodidle. Testem lze odhalit poruchu funkce potních žláz, což může nasvědčovat přítomnosti neuropatie. Tento test je jednoduchý, časově nenáročný, a proto ho lze provést i v domácím prostředí. Nejprve se ploska nohy musí aklimatizovat na pokojovou teplotu, poté se náplast nalepí na chodidlo (obr. 8) a přibližně po deseti minutách se hodnotí barevná

změna náplasti. Samotná náplast je modrá, a pokud tak zůstane, či po provedení testu částečně zružoví, poukazuje to na poškození činnosti potních žláz u daného pacienta. Jestliže celá plocha náplasti zružoví, je činnost potních žláz v pořádku, bez významných defektů<sup>42</sup>.



**Obrázek 8:** Náplast Neuropad<sup>®</sup>, vyšetření funkce potních žláz, URL5

### 3.2.3 Sudoscan

Sudoscan je neinvazivní, vysoce citlivé zařízení, kterým lze kontrolovat funkci potních žláz. Tento typ kontroly je využíván u pacientů trpících onemocněním *diabetes mellitus* typu 2, které způsobuje řadu zdravotních komplikací. Vyšetření zařízením Sudoscan napomáhá sledovat a následně definovat léčbu těchto komplikací.

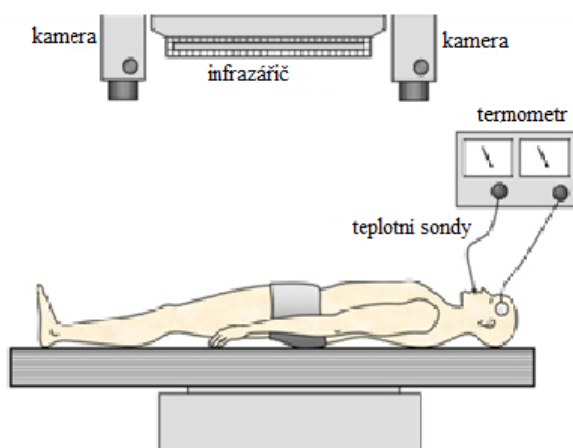
Pacient položí ruce a nohy na elektrody, na které je následně po dobu dvou minut aplikováno napětí nepřesahující 4 V. Výstupní veličina, elektrická vodivost kůže, je hodnota získaná z poměru naměřené velikosti elektrického proudu a aplikovaného napětí. Tato metoda je oproti jiným vyšetřením sudomotorických funkcí výhodná především tím, že je rychlá, neinvazivní a není třeba pacienta speciálně připravovat. Práce s přístrojem a jeho obsluha je jednoduchá<sup>43</sup>.

### 3.2.4 Test termoregulačního pocení

Test termoregulačního pocení (TST, z angl. Thermoregulatory Sweat Testing), se používá k hodnocení centrálních a periferních sudomotorických funkcí.

TST (obr. 9) se provádí v místnosti, ve které lze regulovat teplotu a vlhkost vzduchu. Teplota se nastaví na 45-50 °C a vlhkost vzduchu na 35-40 %. Pacient je umístěn v poloze na zádech a zároveň je pokrytý indikátorovým práškem. Rovnoměrné rozložení indikátorového prášku po celém povrchu těla je zajištěno rozprašovačem. Vylučovaný pot způsobuje lokální změnu hodnoty pH, což je využito k označení

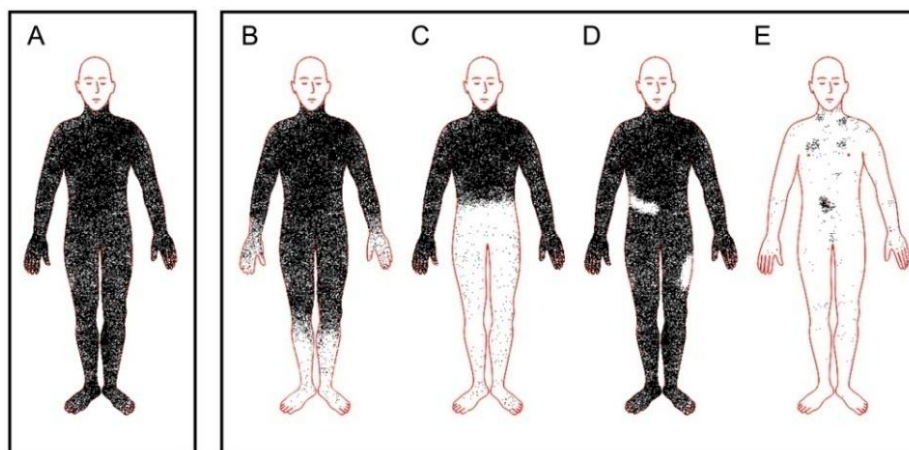
oblastí, kde dochází k pocení. Mezi nejčastěji používané indikátory patří alizarinový prášek ve formě červeného pudru a jodový kukuřičný škrob<sup>44</sup>.



**Obrázek 9:** Zařízení pro termoregulační testování, převzato z ref.<sup>44</sup>

Na tělo pacienta jsou připojeny teplotní sondy, které kontrolují teplotu kůže. Průměrná teplota kůže se udržuje mezi 38,5-39,5 °C použitím infračervených ohřivačů umístěných nad hlavou pacienta. Teplota úst musí vzrůst minimálně o 1,0 °C nad základní teplotu, nebo na 38 °C (dle toho, která je vyšší). Maximální činnosti potních žláz, tedy maximální produkce potu, je dosaženo během 30-65 minut. Doba ohřívání těla by neměla přesáhnout 70 minut, aby nedošlo k poklesu celkové produkce potu a přehřátí. Průměrný vzestup teploty těla během standardního TST je 1,2 stupně a průměrná doba ohřívání je 45 minut. Vyloučený pot změní barvu indikátoru ze žluté na tmavě červenou v případě použití alizarinu nebo z hnědé do fialové v případě jodového kukuřičného škrobu. Jsou pořízeny digitální fotografie a mapa hustoty pocení je vytvořena na standardním anatomickém nákresu. Výstupní data jsou vyjádřena jako hodnota TST v procentech, což je měřená oblast anhidrózy dělena celkovým povrchem těla a vynásobena stem<sup>44</sup>.

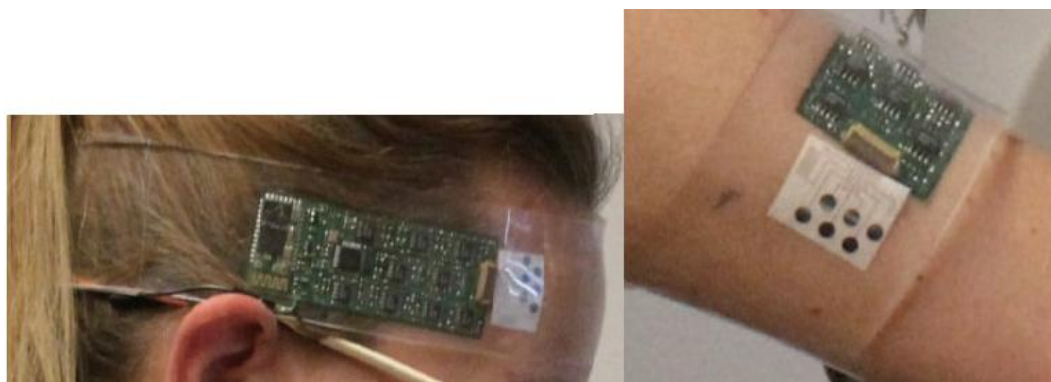
Normální vzory pocení jsou obvykle symetrické, ale liší se v množství vyloučeného potu (obr. 10A). Asymetrické vzory pocení a anhidrotické oblasti (fokální, segmentové, regionální) jsou znázorněny na obrázku 10B-E. Výsledná procenta TST mohou poskytovat základní informace o závažnosti a rozsáhlosti autonomních poruch<sup>44</sup>.



**Obrázek 10:** Výstupní scan z TST zařízení, převzato z ref.<sup>44</sup>

### 3.2.5 FISA systém

FISA systém (z angl. Flexible Integrated Sensing Array) slouží ke kontrole a sledování zdravotního stavu jedince. Jedná se o screeningové vyšetření, kdy se v potu stanovují takové látky jako glukosa a laktát či ionty  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$ . Dále je sledována teplota těla, čímž lze diagnostikovat dehydrataci. Velkou výhodou systému FISA (obr. 11) je, že umožňuje sledovat jednotlivé biomarkery v reálném čase. V současné době jsou komerčně dostupné pouze senzory umožňující sledovat fyzickou aktivitu, např. srdeční frekvenci. Systémem FISA je možné monitorovat zdravotní stav pacienta v reálném čase<sup>45</sup>.



**Obrázek 11:** Čelenka a náramek se systémem FISA pro kontinuální monitorování hladiny glukosy, laktátu, iontů sodných a draselných a teploty těla, převzato z ref.<sup>45</sup>

Systém FISA se skládá z plastových snímačů (5 různých snímačů) a více než deseti čipů), dále obsahuje baterii, a bluetooth zařízení sloužící k přenosu dat např. do mobilního telefonu. Mezi pokožku a senzory se umísťuje tenká absorpční vložka, která pohlcuje pot a chrání pokožku před poškozením, např. poškrábáním. Na snímače pro monitorování hladin glukosy a laktátu jsou imobilizovány enzymy glukosaoxidas a laktáttoxidas. Aktivita iontů  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$  je měřena iontově selektivními elektrodami<sup>45</sup>.

### **3.3 Analytické metody používané k analýze látek obsažených v potu**

Pot je komplexní biologická matrice obsahující desítky různých látek, proto analýza vzorku potu vyžaduje použití různých analytických metod.

Analýzou různých látek v potu se již zabývala řada studií, ve kterých se buď snažili identifikovat jednotlivé látky v potu, nebo se snažili stanovit specifické ukazatele v rámci diagnostiky některých onemocnění.

Nejčastěji používanými metodami v různých studiích jsou chromatografické techniky v kombinaci s hmotnostní spektrometrií.

#### **3.3.1 Hmotnostní spektrometrie**

Hmotnostní spektrometrie (MS, z angl. Mass Spectrometry) je separační technika, kterou se vzorek převádí na ionizovanou plynnou fázi, vzniklé ionty jsou separované podle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje  $m/z$ . Základními kroky v této technice jsou odpaření vzorku, tvorba iontů (ionizace), vstup iontů do hmotnostního analyzátoru, separace iontů a jejich detekce. Výstupem je hmotnostní spektrum (osa  $x$  přísluší hodnotě  $m/z$ , osa  $y$  přísluší četnosti iontů)<sup>46</sup>.

Tvorba iontů neboli ionizace může být elektronová nebo chemická, která probíhá za sníženého tlaku, ale existuje také ionizace elektrosprejem či laserem za účasti matrice, které probíhají za atmosférického tlaku. Dělení iontů v analyzátoru probíhá za vysokého vakua, cca  $10^{-3}$ - $10^{-11}$  Pa, v závislosti na typu analyzátoru (kvadrupólový, iontová past nebo průletový analyzátor). K detekci iontů lze využít elektronový násobič, fotonásobič nebo Faradayovu klec.

Výhodou hmotnostní spektrometrie je vysoká citlivost a selektivita. Nověji má hmotnostní spektrometr uplatnění při spojení se separačními metodami jako je plynová či kapalinová chromatografie, kde slouží jako detektor.

#### **3.3.2 Chromatografické metody**

Chromatografie (z řečtiny chroma - barva, graphein - psát) je metoda, kterou na přelomu 19. a 20. století objevil ruský botanik Michail Semjonovič Cvět, když dělil rostlinná barviva ve skleněné koloně naplněné uhlíčitánem vápenatým<sup>47; 48</sup>.

Chromatografické techniky jsou separační metody, při kterých se dělí (separují) složky obsažené ve vzorku. Principem těchto metod je dělení složek směsi mezi dvě

fáze, a to mobilní (pohyblivou) a stacionární (pevnou) fází. V závislosti na typu mobilní fáze rozdělujeme chromatografii na plynovou a kapalinovou. Dále se chromatografie dělí podle uspořádání stacionární fáze a to na kolonovou, papírovou a tenkovrstvou<sup>47</sup>.

Chromatografie je velice využívanou separační technikou, která umožňuje spolu s dalšími technikami, např. elektromigračními, dělit složité směsi, a tak získat kvalitativní a kvantitativní informace o složkách analytu<sup>47</sup>.

### **Kapalinová chromatografie**

V kapalinové chromatografii (LC, z angl. Liquid Chromatography) je mobilní fází kapalina. Na rozdíl od plynové chromatografie, nerozhoduje o separaci složek vzorku jen jejich interakce se stacionární fází, ale výrazný vliv na separaci má také použitá mobilní fáze. Během separace se analyt rozděluje mezi mobilní a stacionární fází. Čas, jaký stráví v jedné nebo druhé fází, závisí na afinitě analytu ke každé z nich. Během dělení složek mezi mobilní a stacionární fází jsou využité všechny možné mechanismy separace, adsorpce, rozdělování látek na základě různé rozpustnosti (rozdělovací koeficient), iontová výměna, molekulově síťový efekt nebo specifické interakce v afinitní chromatografii. Protože je možno pracovat za laboratorní teploty, bez nutnosti převádět vzorek na plyn, je kapalinová chromatografie vhodná pro separaci tepelně nestálých a netěkavých sloučenin<sup>46</sup>.

Jak již bylo zmíněno, separace složek probíhá různými mechanismy a dle převládajícího mechanismu separace látek rozlišujeme adsorpční, rozdělovací, iontově výměnou a gelovou permeační neboli též vylučovací chromatografii. Každá z výše jmenovaných chromatografických technik má více separačních módů, a proto metoda separace se vybírá podle polaritativy a molekulové hmotnosti analytu. Důležitým kritériem v LC je rozpustnost všech složek v mobilní fází<sup>47; 49</sup>. Dále budou podrobněji zmíněny jen módy, které byly použity v publikacích zabývajících se stanovením látek ve vzorcích potu.

### **Vysokoúčinná kapalinová chromatografie**

V principu je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC z angl. High Performance Liquid Chromatography) shodná s klasickou kolonovou chromatografií. Chromatograf je vybaven zásobníkem a čerpadlem mobilní fáze, dávkovacím zařízením pro nástřik vzorku a detektorem. Mobilní fáze je rozpouštědlo nebo směs mísitelných rozpouštědel. Vysoké účinnosti se dosahuje použitím stacionárních fází, které obsahují

malé částice pravidelného tvaru a jednotné velikosti, které homogenně vyplňují kolonu. Tím se dosahuje účinnosti řádově desítek tisíc pater na metr kolony. Mobilní fáze je protlačována skrz kolonu za vysokého tlaku (jednotky až desítky MPa), a proto také bývá tato metoda někdy nazývána vysokotlaká kapalinová chromatografie (high pressure liquid chromatography). K detekci jsou nutné dostatečně citlivé detektory, které umožňují kontinuální monitorování látek na výstupu z kolony. Signál detektoru je zpracováván počítačem. Z výše uvedeného je zřejmé, že HPLC vyžaduje poměrně náročnou instrumentaci<sup>46; 47</sup>.

### **Chromatografie na reverzní fázi**

Chromatografie na reverzní fázi (RPC z angl. Reversed-Phase Chromatography) je typ chromatografie, kdy oproti běžnému provedení, je stacionární fáze nepolární a mobilní fáze je polární. Dnes jsou nejčastěji používané stacionární fáze s oktadecylovými C18, oktylovými C8, butylovými C4 či fenolovými skupinami navázanými na pevném nosiči, nejběžněji silikagelu nebo také kopolymeru styrenu a divinylbenzenu. Ve většině případů je mobilní fází směs vody a organického rozpouštědla, jako jsou acetonitril, isopropanol, methanol apod. Jako modifikátory mobilní fáze se používají kyselina fosforečná, trifluoroctová nebo heptafluormáselná kyselina<sup>50; 51</sup>.

### **Hydrofobní interakční chromatografie**

Hydrofobní interakční chromatografie je metoda založena na obdobném principu jako RPC. Separace je založena na interakci mezi nepolární stacionární fází a hydrofobními částmi separovaných molekul. Tento typ chromatografie využívá jako nosič stacionární fáze hydrofilní gely, na nichž jsou navázány nepolární alkylové či arylové skupiny, jako jsou methyl-, oktyl-, oktadecyl- či fenyl. Obě metody, jak RPC, tak hydrofobní interakční chromatografie, se liší stupněm substituce hydrofilního gelu, dále se také liší v elučním roztoku, zde se eluce zajišťuje postupným snižováním koncentrace soli v mobilní fází. Mobilní fáze je obvykle pufr s obsahem vhodné soli. Nejčastěji se používá fosfátový pufr. Vývojem nových typů stacionárních fází u této metody se zvyšuje aplikační potenciál<sup>51</sup>.

## **Plynová chromatografie**

Plynová chromatografie (GC z angl. Gas Chromatography) je separační metoda, kde mobilní fáze je inertní plyn, nejčastěji dusík, vodík, nebo helium. GC se používá pro separaci látek, které jsou teplotně stálé a zároveň těkavé nebo jejich vhodných derivátů. Díky jednoduchosti, citlivosti a účinnosti při separaci látek je GC jednou z nejdůležitějších technik. Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně, v případě náplňových kolon to může být aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý, polymerní sorbenty apod., nebo vysokovroucí kapalina nanosená v tenké vrstvě na pevném, inertním nosiči. V případě kapilárních kolon je stacionární fáze nanosená v tenké vrstvě přímo na upravenou vnitřní stěnu křemenné kapiláry.

Prvním krokem při použití metody GC je odpaření vzorku v temperovaném dávkovacím zařízení, tj. injektoru, následuje separace jednotlivých složek směsi v chromatografické koloně, poté detekce jednotlivých složek vzorku a následné vyhodnocení<sup>46; 47</sup>.

Plynný nebo kapalný vzorek se injektorem dávkuje do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou. Aby vzorek mohl být unášen mobilní fází, musí se ihned přeměnit na plyn. V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky opouštějící kolonu jsou identifikovány detektorem. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek<sup>46</sup>.

### **3.3.3 Kombinované techniky**

S technickým pokrokem byly a jsou vyvíjeny kombinované analytické techniky (spřažené techniky) spojující separační techniku s prvkově nebo molekulově specifickou detekcí. Více či méně rozvinuté spřažené analytické techniky umožňují simultánní kvantitativní a kvalitativní analýzu složitých maticí. Jedná se především o spojení plynové a kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. V jedné analýze lze zároveň separovat i identifikovat látky ve složité směsi.

#### **Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí**

Při spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií se jedná o spojení velmi účinné separační techniky a velmi účinné techniky identifikace vzorku. Důležitým faktorem analýzy je omezení ionizace mobilní fáze, a proto se upřednostňuje používání helia jako mobilní fáze před dusíkem či vodíkem. V současnosti je to zcela

rutinní metoda, ve které se nejčastěji používají kapilární analytické kolony vyznačující se nízkým průtokem mobilní fáze (cca. 1 ml/min). Nosný plyn unáší analyt z kolony přímo do iontového zdroje ve vakuu, kde vakuový systém odstraní přebytečný nosný plyn. Kapilára je před vstupem do iontového zdroje vyhřívána, aby nedocházelo ke kondenzaci analytů a tedy ztrátě při přechodu do vakua v iontovém zdroji hmotnostního spektrometru<sup>47</sup>.

### **Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem**

Kapalinová chromatografie a hmotnostní spektrometrie pracují za zcela odlišných podmínek, mobilní fáze je pumpována za vysokého tlaku, hmotnostní spektrometr pracuje při vysokém vakuu, a proto se k ionizaci vzorku používají desorpční techniky pracující za atmosférického tlaku a těmi jsou elektrosprej či ionizace nárazem urychlených atomů. Dalším úskalím tohoto spojení je velký průtok mobilní fáze, a proto ke spojení s MS se často používají kapilární kolony s nízkým průtokem. Pomalejší frekvence skenování spektra sektorovým analyzátozem zde nevádí, protože pohyb vzorku v mobilní fázi u kapalinové chromatografie je pomalejší oproti pohybu vzorku v plynové chromatografii<sup>47</sup>. Spojení LC-MS našlo široké uplatnění v potravinářském nebo farmaceutickém průmyslu, toxikologii či ekologii.

#### **3.3.4 Studie zabývající se analýzou látek v potu**

První rozsáhlá analýza proteinů ve vzorku potu proběhla v roce 1990. Bílkoviny ve vzorku potu byly separovány elektroforézou v polyakrylamidovém gelu s přídavkem dodecylsulfátu sodného. Separované proteiny byly identifikovány imunoblotovací metodou<sup>52</sup>.

Adewole a kol. se ve své studii zabývali identifikací ukazatelů aktivní formy tuberkulózy (TB) ve vzorcích potu, sekretovaného ekrinními žlázami, u pacientů s tuberkulózou metodou LC-MS. Vzorky potu byly odebrány 32 pacientům s aktivní formou TB, 27 pacientům s jinými plicními chorobami a 24 jedincům netrpícím ani TB ani jinými plicními chorobami (kontrolní skupina). Všichni testovaní byli negativní na virus HIV (z angl. Human Immunodeficiency Virus). V potu pacientů i dobrovolných dárců bylo identifikováno více než sto unikátních proteinů. Dvacet šest proteinů bylo detekováno výhradně v potu pacientů s TB, zatímco zbývající detekované proteiny se mezi skupinami překrývaly. Výsledky studie ukázaly, že proteiny detekované v potu pacientů s TB se podílejí na imunitní reakci a že některé produkty

buněčných elementů (např. ribozomů) byly detekovány pouze u pacientů s aktivní TB. Tato studie poukazuje na nový přístup identifikace biomarkerů TB, která by mohla umožnit vyvinout test k detekci TB v potu<sup>36</sup>.

Calderon Santiago a kol. se ve své studii zabývali identifikací ukazatelů rakoviny plic ve vzorcích lidského potu metodou LC-MS. Ve studii bylo zahrnuto 41 jedinců s diagnostikovaným karcinomem plic a zároveň kuřáků. Diagnostika byla provedena klasickými klinickými testy, jako jsou bronchoskopie, biopsie aj. Kontrolní skupina zahrnovala 55 jedinců, kteří neměli diagnostikovaný karcinom plic, včetně 24 aktivních kuřáků. Vzorky potu, přibližný odebraný objem vzorku byl 50  $\mu\text{l}$  během 15 minut, byly jedincům odebrány zařízením Macroduct<sup>®</sup>, poté převedeny do zkumavky a uchovány při teplotě  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  až do doby analýzy. Vzorky potu (10  $\mu\text{l}$ ) byly před analýzou naředěny kyselinou mravenčí a po dobu 1 minuty třepány na vortexu. Všechny vzorky byly zpracovávány v duplikátu. Separace jednotlivých složek analytu byla provedena kapalinovou chromatografií na reverzní fázi (C18) o velikosti částic 3  $\mu\text{m}$ . Mobilní fázi byla směs acetonitrilu a vody s přidavkem kyseliny mravenčí jako ionizačního činidla, eluce byla gradientová. Ionizace byla elektrosprej a ionty byly separovány TOF analyzátozem. Byly identifikovány metabolity, díky nimž šlo rozlišit pacienty s rakovinou plic, kuřáky a jedince v kontrolní skupině. Identifikovali pět metabolitů, konkrétně trihexosu, tetrahexosu, kyselinu suberovou, kyselinu nonandiovou a monoglycerid, který poskytovali 80% specifitu a 79% citlivost k predikci rakoviny plic<sup>37</sup>.

Calderon Santiago a kol. se v jedné ze svých dalších studií snažili vyvinout metodu kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí pro analýzu látek v lidském potu. Zkoušeli různé postupy přípravy vzorků a testovali režimy LC, jako je RPC nebo hydrofóbně interakční chromatografii. Této studii se zúčastnilo 96 jedinců, přičemž jeden jedinec byl náhodně vybrán a poskytl 7 vzorků potu, odebraných v různých dnech, pro testování variability a reprodukovatelnosti. Vzorky potu byly odebrány zařízením Macroduct<sup>®</sup> po dobu 15 minut. Následně převedeny do zkumavek a uchovány při teplotě  $-80^{\circ}\text{C}$  do doby analýzy. Vzorky byly před vlastní analýzou připraveny několika způsoby. Jedna sada vzorků (10  $\mu\text{l}$ ) byla před analýzou ředěna kyselinou mravenčí (20  $\mu\text{l}$ ) a analyzována. Při jiném postupu přípravy vzorku byla provedena kyselá (0,1 mol/l HCl) a alkalická (0,1 mol/l NaOH) hydrolyza vzorku, aby došlo k uvolnění metabolitů, které jsou konjugovány s proteiny nebo peptidy.

Posledním postupem přípravy vzorku bylo přečištění a zakoncentrování za použití extrakce na pevné fázi (SPE, z angl. Solid Phase Extraction) s vázanou oktadecylovou fází. Vlastní separace látek byla prováděna na dvou typech analytických kolon, a to na koloně s vázanou reverzní fází (C18), o velikosti částic 3  $\mu\text{m}$ , kdy analyty byly separovány gradientovou elucí a mobilní fází byla směs acetonitrilu a vody s přídavkem kyseliny mravenčí jako ionizační činidlo. Druhou použitou kolonou byla HILIC. Jako mobilní fáze zde byla použita také směs acetonitrilu a vody s přídavkem mravenčanu amonného, eluce byla gradientová. Detekce byla stejná jako v případě studie prezentované výše<sup>44</sup>. Byla identifikována celá řada látek, jako aminokyseliny, inosin, kyselina močová, cholin, kyselina kumarová aj. Výsledky naznačily, že hydrolytická úprava vzorku je pro identifikaci složek potu nevhodná. Nejvhodnější je přímá analýza vzorku potu, bez jakékoliv úpravy vzorku<sup>21</sup>.

Raiszadeh a kol. ve své práci analyzovali vzorky potu pacientů se schizofrenií a jedinců kontrolní skupiny, získaných exkrecí ekrinních žláz, metodou LC-MS v MRM-MS módu (z angl. Multiple Reaction Monitoring Mass Spectrometry). Celkový počet analyzovaných vzorků potu bylo 78, z nichž 55 vzorků bylo od jedinců z kontrolní skupiny a 23 vzorků bylo od pacientů s diagnostikovanou schizofrenií, jejichž diagnostiku provedl vyškolený tým psychiatrů. Vzorky potu byly odebrány zařízením Macroduct<sup>®</sup>. Objem potu odebraný během třicetiminutového intervalu byl 50–60  $\mu\text{l}$ . Vzorek potu byl přenesen do zkumavky a transportován na suchém ledu. Před samotnou analýzou byly vzorky potu upraveny třemi různými způsoby. Jedním postupem byl přídavek redukčního činidla (10mmol/l dithiothreitol v roztoku močoviny o koncentraci 8 mol/l) a inkubace při teplotě 50°C po dobu 20 minut. Druhý postup zahrnoval přídavek alkylačního činidla (jódacetamidu o koncentraci 50 mmol/l) a inkubaci při pokojové teplotě ve tmě po dobu 20 minut. Při třetí přípravě vzorku byl přidán trypsin v roztoku hydrogenuhličitanu amonného o koncentraci 50 mmol/l a pH 8, inkubace probíhala při teplotě 37°C přes noc. Hydrolytické štěpení bylo ukončeno přídavkem kyseliny mravenčí. Všechny vzorky, připravené různými postupy, byly odsoleny a odpařeny ve vakuovém koncentrátoru. K rekonstituci odparů byly použity různé roztoky. V této studii bylo identifikováno 17 proteinů vykazujících rozdílné množství, přibližně dvojnásobné, mezi kontrolní skupinou a skupinou pacientů s diagnostikovanou schizofrenií. Bylo prokázáno, že pot obsahuje velké množství proteinů a peptidů, které se liší od proteinů obvykle se vyskytujících v séru, z čehož vyplývá, že pot může obsahovat jedinečné molekuly spojené s tímto onemocněním.

V této studii bylo prokázáno, že proteom ekrinního potu se výrazně liší od proteomu séra. Ekrinní pot je tedy bohatý zdroj funkčně důležitých proteinů, které mohou odrážet fyziologický stav různých tkání, včetně centrálního nervového systému. Zároveň tato studie poukazuje na význam dalšího zkoumání biomarkerů potu, které mohou být potenciálně užitečné při včasné diagnostice a monitorování schizofrenie<sup>38</sup>.

Delgano-Povedano a kol. ve své publikaci vyvinuli metodu pro analýzu látek v potu metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Optimalizovali způsob přípravy vzorku před analýzou za účelem identifikace co nejvíce přítomných metabolitů. Odběr potu byl proveden zařízením Macroduct<sup>®</sup> a pot byl uchován při teplotě -80 °C do doby analýzy. Studie se zúčastnilo šest dobrovolníků (2 muži a 4 ženy). Za účelem získání co nejvyššího počtu identifikovatelných látek v potu, byl vzorek připraven třemi postupy. První postup zahrnoval deproteinizaci směsi rozpouštědel, a to methanolu a acetonitrilu v poměru 70:30. V druhém a třetím postupu byla použita extrakce kapalina-kapalina, a to dichlormethanem a ethylacetátem. Po deproteinizaci nebo extrakci byla směs centrifugována. Supernatant byl převeden do skleněné vialky a rozpouštědlo odpařeno. Rekonstituce byla provedena přidáním methoxyaminhydrochloridu v pyridinu s následným třepáním po dobu 90 minut. Poté byly analyty derivatizovány silylačním činidlem, a to směsí bis-(trimethylsilyl)fluoroacetamidu a trimethylchlorosilanu. Takto připravené vzorky byly přímo analyzovány. Nejvíce látek (62) v potu bylo identifikováno ve vzorcích připravených postupem deproteinizace. Byly identifikovány aminokyseliny, mastné kyseliny, sacharidy a deriváty kyseliny benzoové<sup>39</sup>.

## 4. ONEMOCNĚNÍ DIAGNOSTIKOVÁNA ANALÝZOU POTU

### 4.1 Cystická fibróza

Cystická fibróza (CF) je jedno z nejčastějších autosomálně recesivních onemocnění člověka, které postihuje zejména činnost žláz s vnější sekrecí. Je způsobena mutací genu CFTR (z angl. Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), který kóduje molekulu, která plní funkci chloridové pumpy závislé na cyklickém adenosinmonofosfátu (cAMP). Nejběžnější mutací, nalezenou u 70 % pacientů s CF, je delece kodonu pro aminokyselinu fenylalanin na 508. místě molekuly ( $\Delta F508$ )<sup>1</sup>. Postihuje zhruba jedno dítě na 2500 narozených. Genetická mutace způsobuje dysfunkci exokrinních žláz. CF vyžaduje každodenní léčbu po celý život. Onemocnění je sice nevyléčitelné, ale jeho symptomy se dají dobře léčit nebo potlačit. Léčba se soustřeďuje především na zmírnění a prevenci plicních příznaků<sup>53; 54</sup>.

CFTR proteiny transportují sodné a chloridové ionty v epiteliálních buňkách s vnější sekrecí. Genetická modifikace CFTR způsobuje změnu v transportu, což vede k tvorbě lepivých hlenů v různých orgánech, jako jsou plíce, střeva, atd. Tento stav vede u postižených jedinců k závažné a opakované infekci slinivky břišní. Kromě toho jsou také pozorována mužská neplodnost či dehydratace<sup>4; 54</sup>.

Příznaky CF jsou rozmanité a jejich závažnost je u jednotlivých pacientů různá. První příznaky se zpravidla objevují již u dětí. Prakticky u každého pacienta s CF můžeme pozorovat opakované infekce dýchacích cest, což vede k jejich poškození. Známým příznakem CF je nepřiměřeně slaný pot, který obsahuje až 5x více soli, než je obvyklé. Proto se děti s CF často označují jako „slané“ děti. Jejich slanost je zřetelná při polibku na jejich kůži anebo při horkých letních měsících, kdy dokonce můžeme pozorovat na jejich čele krystalky soli. Průměrná doba přežití pacientů s CF je 25 let<sup>55; 56</sup>.

Screeningové vyšetření CF je prováděno již u novorozenců v prvních dnech života z kapky krve odebrané z patičky. V suché kapce krve se stanovuje hladina imunoreaktivního trypsinu (IRT), který je produkován slinivkou břišní, jehož koncentrace v krvi novorozenců s CF je významně vyšší než u zdravých jedinců. Jestliže je u novorozence naměřena zvýšená hladina IRT, následuje molekulárně genetická analýza nejběžnějších mutací CFTR genu. V případě zjištění 2 mutací CFTR genu je onemocnění CF potvrzeno, jestliže je zjištěna pouze 1 mutace CFTR genu,

je proveden potní test. Je-li potní test negativní, jedinec je pouze přenašečem CF. V případě pozitivního výsledku je velká pravděpodobnost onemocnění CF. Pro sto procentní jistotu je znovu provedena molekulárně genetická analýza, kde se analyzují vzácnější typy mutací CFTR genu<sup>54; 57; 58</sup>.

#### **4.1.1 Potní test**

Potní test je označením pro stanovení chloridových iontů ve vzorku potu. Základem potního testu je odběr vzorku potu, realizovaný podle Gibsona a Cooka a spočívá ve sběru potu systémem Macroduct<sup>®</sup> (kapitola 3.1.2) pilokarpinovou iontoforézou (kapitola 3.1.1). Odběr vzorku potu je zcela bezbolestný a lze jej provádět ambulantně proškoleným personálem. Je důležité, aby následná analýza byla provedena v akreditované laboratoři. Je běžné, že se test provádí dvakrát, a to z důvodu, aby se vyloučila chyba měření. Tímto testem se odhaluje zdravý jedinec přenášející ve svém genu mutaci CFTR nebo potvrzuje onemocnění CF s následnou podrobnější molekulárně genetickou analýzou, která upřesní typ mutace genu CFTR<sup>59</sup>.

Stanovení přesné hodnoty koncentrace chloridových iontů v potu nemocných CF je poměrně komplikovaný. Koncentrace chloridových iontů v potu zdravého jedince se pohybuje v rozmezí 10–30 mmol/l. U nemocných CF je koncentrace vyšší než 60 mmol/l. Existují však i pacienti, u nichž jsou hladiny chloridových iontů hraniční a u kterých nelze s jistotou prokázat onemocnění CF. Jedná se o hodnoty v rozmezí 30–60 mmol/l. Tyto hodnoty se objevují u nositelů tzv. mírných mutací genu CFTR, ale i u dalších onemocnění, jako jsou Klinefelterův syndrom, ektodermální dysplazie, Mauriacův syndrom a jiné<sup>59; 60</sup>.

## **4.2 Crisponi syndrom**

Crisponi syndrom (CS z angl. Crisponi Syndrome) je pocení vyvolané chladem. Je to vzácné autosomálně recesivní onemocnění, způsobené mutacemi genů CRLF-1 (z angl. Cytokine Receptor-Like Factor), z 90 %, a CLCF-1 (z angl. Cardiotrophin-Like Cytokine Factor), z 10 %. Proteiny, kódované těmito geny, se podílejí na normálním vývoji nervové soustavy. Syndrom chladem vyvolaného pocení ovlivňuje regulaci tělesné teploty či hojení ran na rohovce. Tento syndrom byl poprvé náhodně objeven v sardinské populaci, od té doby byl zaznamenán v různých oblastech celého světa. Projevuje se již v kojeneckém období, a to špatným sáním z matčina prsu a polykáním, což vede k nedostatečné výživě. Kojenci mají neobvyklé rysy, včetně širších nozder,

dlouhých mezer mezi nosem a horním rtem, malé brady, nízko posazených uší, nadměrně sliní a jejich obličejové svaly jsou ochablé. Také mají potíže s dýcháním, mají šupinatou kůži, jsou neschopny úplně roztáhnout ruce či trpí malformací dolních končetin a prstů. Kojenci, kteří se dožijí šesti měsíců, mají nevysvětlitelně vysoké teploty, které zvyšují riziko vzniku záchvatu a náhlé smrti. Trpí nadměrným pocením, především v horní části těla a svalovým třesem. Toto nadměrné pocení je spouštěné chladem, už při teplotách 18-20 °C, nebo také nervozitou a při konzumaci sladkostí<sup>61</sup>.

### **4.3 Diabetická neuropatie**

Diabetická neuropatie je onemocnění postihující periferní nebo autonomní nervy (PAN), což se projevuje nejčastěji bolestmi a křečemi svalů dolních končetin, ale může postihnout i jakékoliv další svaly. Dalšími příznaky bývá snížená citlivost dolních končetin nebo se také vyskytují problémy s trávicím a močovým ústrojím, cévami a srdcem. Diabetická neuropatie je nejčastější pozdní komplikace u nemocných postižených diabetem a postihuje přibližně 40-50 % pacientů, a to jak diabetiků prvního, tak druhého typu. Především vzniká při dlouhodobě nedostatečným léčením diabetu, tedy pokud jsou po dobu několika let hladiny glukosy zvýšené<sup>62</sup>.

Atrofie potních žláz způsobuje diabetickou neuropatii, a tím snižuje reakci sudomotoru, což má vliv na pružnost pokožky a flexibilitu, která brání vzniku kožních trhlin a vředů. Dále také snižuje pocení, což vede k abnormálnímu kožnímu onemocnění, jako je suchá pokožka, trhliny a puchýře. Příznaky neuropatie je pocení, které se objevuje po jídle, zvláště po některých aromatických sýrech nebo se také může objevit v noci. Periferní autonomní neuropatie je prokázána přítomností dvou nebo více klinických příznaků a postihuje 43 % diabetických pacientů ve věku 40-70 let. PAN se obvykle hodnotí funkčními testy, např. se sleduje inervace cholinergními nervovými vlákny sympatiku, nebo funkce sudomotoru, či se provádí termoregulační test (kapitola 3.2.4). Tyto metody jsou časově náročné a vyžadují proškolený personál<sup>63</sup>.

K vyšetření diabetické periferní neuropatie byl vyvinut jednoduchý neinvazivní test Neuropad<sup>®</sup> (kapitola 3.2.2). Výhodou tohoto testu je jednoduchost, proveditelnost v domácím prostředí a vysoká citlivost (65,1 až 100 %)<sup>63</sup>.

## ZÁVĚR

Tato práce shrnuje základní poznatky o potu jako biologické tělní tekutině, která je v poslední době stále více využívána pro diagnostiku některých nemocí. Je rozdělena do čtyř částí. První část se zabývá složením a funkcí kůže a kožních žláz. V druhé části je pojednáno o složení a funkci potu, pocení a jeho souvislosti s pachem. V následující třetí části jsou popsána některá zařízení pro odběr potu, jako je systém Macroduct<sup>®</sup> a DrugWipe<sup>®</sup>, kterým je možné detekovat omamné a psychotropní látky jako je kokain, amfetamim, metamfetamin aj. Poslední část popisuje některá onemocnění spojené s potem, a to cystickou fibrózu (zvýšená hladina chloridových iontů v potu), Crisponi syndrom (chladem vyvolané pocení) a diabetickou neuropatii (porucha funkce potních žláz).

Vzorek potu lze využít k orientačnímu testu na zneužití drog nebo lze monitorovat funkci potních žláz, ale i jiných částí tkání a buněk, které mají s potem nějakou spojitost. Je snahou vyvinout nejen komerčně dostupné, ale především jednoduché, rychlé a přesné testy či zařízení pro stanovení hladin různých látek v potu. Klíčovým aspektem využití vzorku potu pro stanovení různých látek je neinvazivní odběr, který je vhodný u pacientů s hemofilií, novorozenců nebo starších osob, u kterých je odběr vzorků krve buď obtížný, nebo nebezpečný v souvislosti se zdravotním stavem.

Lidskou populací je pot vnímán nepříjemně, proto se používají různé antiperspiranty. Tato práce měla za cíl poukázat na to, že pot není jen voda, ale tekutina, která obsahuje řadu důležitých látek, díky kterým lze například diagnostikovat různá onemocnění. Odběr této biologické tekutiny je neinvazivní, tudíž nezatěžující pacienty.

## ZDROJE

- 1 BRYCHTA, P., J. J. STANEK, Y. BERGEROVÁ. *Elastická plastická chirurgie a korektivní dermatologie*. Praha: Grada Publishing a.s., 2014. 329 s. ISBN 978-80-247-0795-2.
- 2 ZÁPECOVÁ, D. *Sekreční funkce lidské kůže*. Zlín, 2014. 58 s. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Vedoucí práce doc. MUDr. Milan Buček, CSc.
- 3 NOVOTNÝ, I., M. HRUŠKA. *Biologie člověka*. 4. vyd. Praha: Fortuna, 2007. 239 s. ISBN 978-80-7373-007-9.
- 4 BÍNOVÁ, R. *Informovanost veřejnosti o problematice melanomu kůže*. Pardubice, 2008. 69 s. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta zdravotnických studií, Vedoucí práce MUDr. David Stuchlík
- 5 REJLOVÁ, M. *Periorální dermatitida*. Plzeň, 2016. 101 s. Diplomová práce. Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta zdravotnických studií, Vedoucí práce prof. MUDr. Vladimír Resl, CSc.
- 6 MARIEB, E. N., J. MALLATT. *Anatomie lidského těla*. Brno: CP Books, 2005. 863 s. ISBN 80-251-0066-9.
- 7 TAYLOR, N. A. S., C. A. MACHADO-MOREIRA. Regional variations in transepidermal water loss, eccrine sweat gland density, sweat secretion rates and electrolyte composition in resting and exercising humans. *Extreme Physiology & Medicine*, 2013, 2(1): 4.
- 8 TODOROVÁ, I. *Co přitahuje klíšťata (Ixodes ricinus) k hostiteli*. Brno, 2014. 35 s. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Vedoucí práce doc. RNDr. Alena Žáková, Ph.D.
- 9 VIČÁR, T. *Modul pro záznam elektrodermální aktivity*. Brno, 2014. 54 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vedoucí práce Ing. Karel Bubník
- 10 JANDOVÁ, D. *Balneologie*. Praha: Grada Publishing a.s., 2009. ISBN 978-80-247-2820-9.
- 11 MCGRATH, J. A., R. A. J. EADY, F. M. POPE. *Rook's Textbook of Dermatology*. 8th. Oxford: Wiley-Blackwell, 2013. 4432. ISBN 978-1-118-69775-7.

- 12 KOLARSICK, P. A. J., M. A. KOLARSICK, C. GOODWIN. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 2011, 3(4): 203-213.
- 13 MENA-BRAVO, A., M. D. LUQUE DE CASTRO. Sweat: A sample with limited present applications and promising future in metabolomics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, 90: 139-147.
- 14 HUSSAIN, J. N., N. MANTRI, M. M. COHEN. Working up a good sweat—The challenges of standardising sweat collection for metabolomics analysis. *The Clinical Biochemist*, 2017, 38(1): 13.
- 15 DE GIOVANNI, N. 22 Sweat as an alternative biological matrix. *Forensic Toxicology: Drug Use and Misuse*, 2016: 438.
- 16 SEARS, M. E., K. J. KERR, R. I. BRAY. Arsenic, cadmium, lead, and mercury in sweat: A systematic review. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012, (10): 10.
- 17 BARNES, A. J., B. S. DE MARTINIS, D. A. GORELICK, R. S. GOODWIN, et al. Disposition of MDMA and metabolites in human sweat following controlled MDMA administration. *Clinical chemistry*, 2009, 55(3): 454-462.
- 18 ISHIYAMA, I., T. NAGAI, T. NAGAI, E. KOMURO, et al. The significance of drug analysis of sweat in respect to rapid screening for drug abuse. *International Journal of Legal Medicine*, 1979, 82(4): 251-256.
- 19 DE GIOVANNI, N., N. FUCCI. The current status of sweat testing for drugs of abuse: a review. *Current medicinal chemistry*, 2013, 20(4): 545-561.
- 20 LOW, P. A. Evaluation of sudomotor function. *Clinical Neurophysiology*, 2004, 115(7): 1506-1513.
- 21 CALDERÓN-SANTIAGO, M., F. PRIEGO-CAPOTE, B. JURADO-GÁMEZ, M. D. LUQUE DE CASTRO. Optimization study for metabolomics analysis of human sweat by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in high resolution mode. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1333: 70-78.
- 22 PENG, Y., X. CUI, Y. LIU, Y. LI, et al. Systematic review focusing on the excretion and protection roles of sweat in the skin. *Dermatology*, 2014, 228(2): 115-120.
- 23 WILKE, K., A. MARTIN, L. TERSTEGEN, S. S. BIEL. A short history of sweat gland biology. *International Journal of Cosmetic Science*, 2007, 29(3): 169-179.
- 24 LUKÁŠ, K., A. ŽÁK. *Chorobné znaky a příznaky*. Praha: Grada Publishing a.s., 2010. 519 s. ISBN 80-247-2764-1.

- 25 BENDO VÁ, H. *Fyzikální a chemické účinky faktorů životního prostředí na kůži*. Praha, 2010. 124 s. Disertační práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, Vedoucí práce doc. RNDr. Hana Kolářová, CSc.
- 26 SCHLERETH, T., M. DIETERICH, F. BIRKLEIN. Hyperhidrosis-Causes and Treatment of Enhanced Sweating. *Deutsches Ärzteblatt International*, 2009, 106(3): 32-37.
- 27 ENDOCARE, MUDr. Martina Rosická, Ph.D. Dostupné z: <http://endokrinologie-obezitologie.cz/cs/clanky/nadmerne-poceni/nadmerne-poceni-priciny-diagnostika-lecba/> [2017-06-06]
- 28 MIČKAL, M. *Kriminalistická metoda olfaktorické identifikace osob*. Brno, 2013. 77 s. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Právnická fakulta, Vedoucí práce JUDr. Marek Fryšták, Ph.D.
- 29 POLOUČKOVÁ, T. *Kritéria volby životního partnera u žen a mužů ve věku od 20 do 30 let*. Zlín, 2009. 76 s. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta humanitních studií, Vedoucí práce Mgr. Jana Křemenová
- 30 JANICKA, M., A. KOT-WASIK, J. NAMIEŚNIK. Analytical procedures for determination of cocaine and its metabolites in biological samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2010, 29(3): 209-224.
- 31 ROUSTIT, M., S. BLAISE, J. L. CRACOWSKI. Trials and tribulations of skin iontophoresis in therapeutics. *British journal of clinical pharmacology*, 2014, 77(1): 63-71.
- 32 LÜLLMANN, H., K. MOHR, M. WEHLING. *Farmakologie a toxikologie: 47 tabulek*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing a.s., 2004. 725 s. ISBN 80-247-0836-1.
- 33 SEKK<sup>®</sup>, Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/> [2017-06-06]
- 34 MASTELLA, G., G. DI CESARE, A. BORRUSO, L. MENIN, et al. Reliability of sweat-testing by the Macroduct<sup>®</sup> collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. *Acta Paediatrica*, 2000, 89(8): 933-937.
- 35 WILDER, E. *Human Subjects Testing of Sweat Stimulation Technologies*. 2016. 58 s. Thesis. University of Cincinnati, Vedoucí práce Gerald Kasting, Ph.D.

- 36 ADEWOLE, O. O., G. E. ERHABOR, T. O. ADEWOLE, A. O. OJO, et al. Proteomic profiling of eccrine sweat reveals its potential as a diagnostic biofluid for active tuberculosis. *Proteomics Clinical Application*, 2016, 10(5): 547-553.
- 37 CALDERÓN-SANTIAGO, M., F. PRIEGO-CAPOTE, N. TURCK, X. ROBIN, et al. Human sweat metabolomics for lung cancer screening. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2015, 407(18): 5381-5392.
- 38 RAISZADEH, M. M., M. M. ROSS, P. S. RUSSO, M. A. SCHAEPPER, et al. Proteomic analysis of eccrine sweat: implications for the discovery of schizophrenia biomarker proteins. *Journal of proteome research*, 2012, 11(4): 2127-2139.
- 39 DELGADO-POVEDANO, M. M., M. CALDERÓN-SANTIAGO, F. PRIEGO-CAPOTE, M. D. LUQUE DE CASTRO. Development of a method for enhancing metabolomics coverage of human sweat by gas chromatography–mass spectrometry in high resolution mode. *Analytica Chimica Acta*, 2016, 905: 115-125.
- 40 CHAWARSKI, M. C., D. A. FIELLIN, P. G. O'CONNOR, M. BERNARD, et al. Utility of sweat patch testing for drug use monitoring in outpatient treatment for opiate dependence. *Journal of substance abuse treatment*, 2007, 33(4): 411-415.
- 41 GENTILI, S., R. SOLIMINI, R. TITTARELLI, G. MANNOCCI, et al. A Study on the Reliability of an On-Site Oral Fluid Drug Test in a Recreational Context. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016.
- 42 MENDIVIL, C. O., W. KATTAH, A. ORDUZ, C. TIQUE, et al. Neuropad for the detection of cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications*, 2016, 30(1): 93-98.
- 43 SELVARAJAH, D., T. CASH, J. DAVIES, A. SANKAR, et al. SUDOSCAN: a simple, rapid, and objective method with potential for screening for diabetic peripheral neuropathy. *PloS ONE*, 2015, 10(10): 138-224.
- 44 ILLIGENS, B. M., C. H. GIBBONS. Sweat testing to evaluate autonomic function. *Clinical Autonomic Research*, 2009, 19(2): 79.
- 45 GAO, W., S. EMAMINEJAD, H. Y. Y. NYEIN, S. CHALLA, et al. Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis. *Nature*, 2016, 529(7587): 509-514.
- 46 KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-863-6907-2.

- 47 ZÁRUBA, K. *Analytická chemie 1. díl*. Praha: VŠCHT, 2016. 224 s. ISBN 978-80-7080-950-1.
- 48 ŠVEC, F. What is going on in today's liquid chromatography? *Chem. Listy*, 2009, 103(4): 266-270.
- 49 KRÁLOVÁ, B. *Bioanalytické metody*. 3. vyd. Praha: VŠCHT, 2008. ISBN 97-880-7-080-449-0.
- 50 MEYER, V. R. *Practical high-performance liquid chromatography*. 4th. Chichester: Wiley, 2004. 357 s. ISBN 97-804-7-009-377-1.
- 51 ŠTULÍK, K. *Vysokoúčinné analytické separace biologicky aktivních látek* [online]. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/separace.pdf> [2017-05-24]
- 52 NAKAYASHIKI, N. Sweat protein components tested by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis followed by immunoblotting. *The Tohoku journal of experimental medicine*, 1990, 161(1): 25-31.
- 53 FARRELL, P. M., T. B. WHITE. Introduction to "Cystic fibrosis foundation consensus guidelines for diagnosis of Cystic fibrosis". *J Pediatr*, 2017, 181: 3.
- 54 OTOVÁ, B., R. MIHALOVÁ. *Základy biologie a genetiky člověka*. Praha: Karolinum, 2012. 227 s. ISBN 978-80-246-2109-8.
- 55 LANGOVÁ, R. *Sledování produkce a vlastností protilátek pomocí biosensorů*. Brno, 2006. 85 s. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Vedoucí práce doc. RNDr. Petr Skládal, CSc.
- 56 ZEMKOVA, D., L. SMOLIKOVA, L. FILA, J. BARTOSOVA, et al. Factors influencing the worsening of lung function between 16 and 18 years of age in Czech patients. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2009, 8: 59.
- 57 KEREM, E., M. COREY, B.-S. KEREM, J. ROMMENS, et al. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis-analysis of the most common mutation ( $\Delta F508$ ). *New England Journal of Medicine*, 1990, 323(22): 1517-1522.
- 58 GREEN, A., J. KIRK. Guidelines for the performance of the sweat test for the diagnosis of cystic fibrosis. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2007, 44(1): 25-34.
- 59 FILA, L. Cystická fibróza u dospělých. *Interní medicína*, 2014, 16(2): 54-60.
- 60 VÁVROVÁ, V. *Cystická fibróza*. Praha: Grada Publishing a.s., 2006. 516 s. ISBN 80-247-0531-1.

- 61 CRISPONI, L., G. CRISPONI, A. MELONI, M. R. TOLIAT, et al. Crisponi syndrome is caused by mutations in the CRLF1 gene and is allelic to cold-induced sweating syndrome type 1. *The American Journal of Human Genetics*, 2007, 80(5): 971-981.
- 62 OLŠOVSKÝ, J. Terapie diabetické neuropatie. *Medicína pro praxi*, 2006: 204-208.
- 63 PAPANAS, N., A. BOULTON, R. MALIK, C. MANES, et al. A simple new non-invasive sweat indicator test for the diagnosis of diabetic neuropathy. *Diabetic Medicine*, 2013, 30(5): 525-534.

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Struktura kůže, převzato z ref. <sup>3</sup> .....	12
Obrázek 2: Ekrinní potní žláza, 1: tuková tkáň; 2: vývod žlázy; 3: žláza, URL1 .....	14
Obrázek 3: Apokrinní potní žláza, URL2 .....	15
Obrázek 4: Přehled látek obsažených v potu, převzato z ref. <sup>14</sup> .....	17
Obrázek 5: Strukturní vzorec pilokarpinu .....	23
Obrázek 6: Systém Macroduct <sup>®</sup> pro odběr potu, URL3 .....	24
Obrázek 7: DrugWipe <sup>®</sup> systém k detekci drog v potu, URL4 .....	26
Obrázek 8: Náplast Neuropad <sup>®</sup> , vyšetření funkce potních žláz, URL5 .....	27
Obrázek 9: Zařízení pro termoregulační testování, převzato z ref. <sup>44</sup> .....	28
Obrázek 10: Výstupní scan z TST zařízení, převzato z ref. <sup>44</sup> .....	29
Obrázek 11: Čelenka a náramek se systémem FISA pro kontinuální monitorování hladiny glukosy, laktátu, iontů sodných a draselných a teploty těla, převzato z ref. <sup>45</sup> ...	29

## ZDROJE OBRÁZKŮ

URL1, převzaté z:

[http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Potn%C3%AD\\_%C5%BE1%C3%A1zy\\_ekrinn%C3%AD.jpg](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Potn%C3%AD_%C5%BE1%C3%A1zy_ekrinn%C3%AD.jpg)

URL2, převzaté z: <http://histologie.lf3.cuni.cz/atlas/demo/41/ipage00014.htm>

URL3, převzaté z: <http://www.wescor.com/translations/Translations/M2551-7A-EN.pdf>

URL4, převzaté z:

<http://converseprisonnews.com/wp-content/uploads/2015/01/drugwipe5.jpg>

URL5, převzaté z: <http://www.ilpiedediabetico.it/il-piede-neuropatico/>