



# **ANALÝZA VLASŮ V DIAGNOSTICE ZDRAVOTNÍHO STAVU**

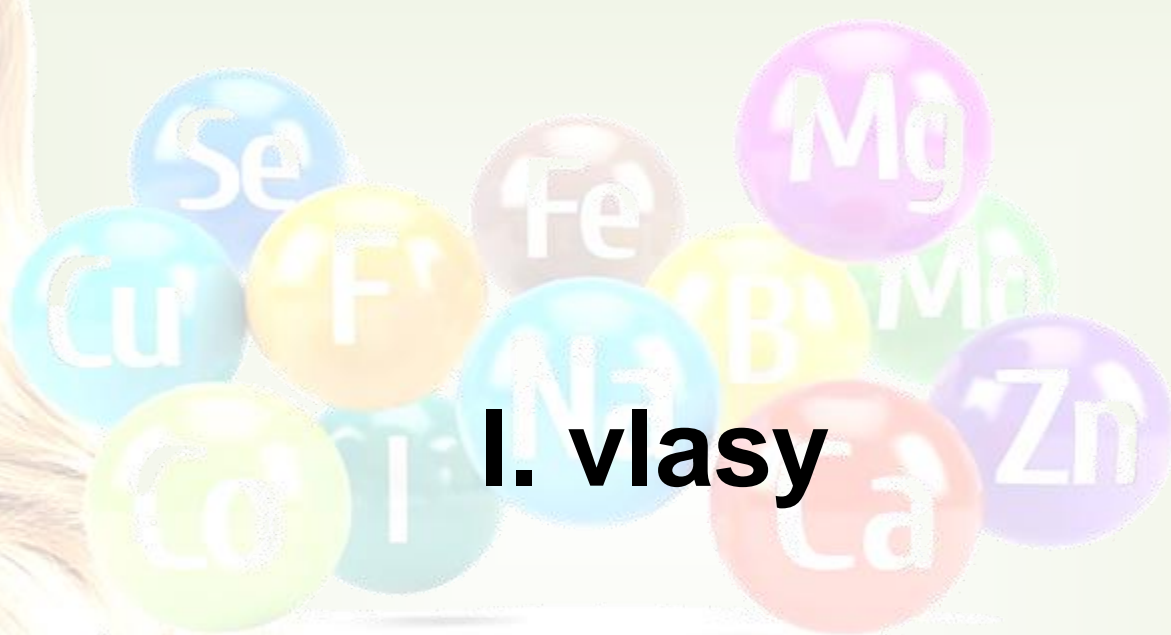
**Anna Krejčová**

**Univerzita Pardubice**

**Ústav environmentálního a chemického inženýrství**

# obsah přednášky

- vlas (srst):
  - růst, složení, průnik látek
  - vlas jako analytický vzorek
- využití analýzy vlasů
  - forenzní / kriminalistická analýza
    - případové studie
  - diagnostika zdravotního stavu
    - komerční nabídka
    - případové studie
    - spolehlivost
- naše studie

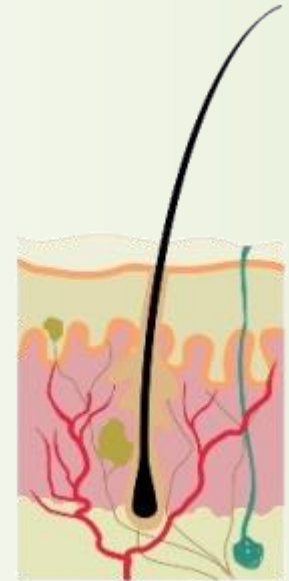


# I. vlasy

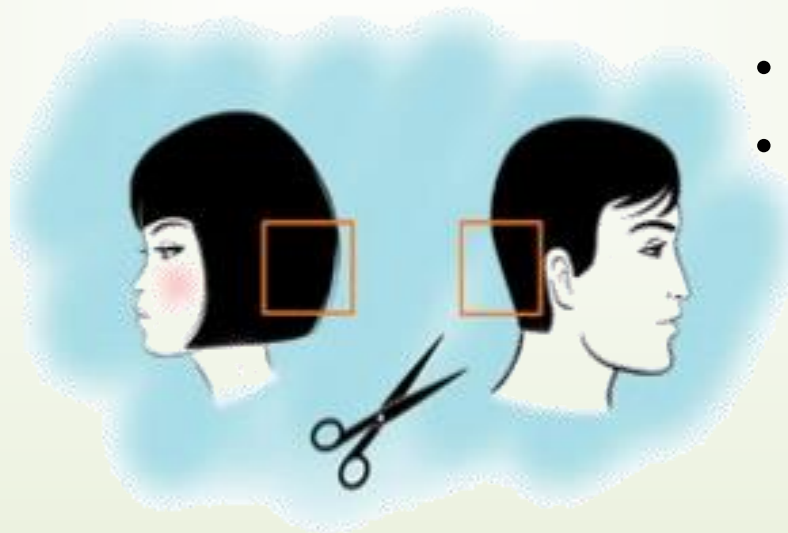
# růst

## fáze

- **anagenní**, růstová:  
tvorba nových buněk, metabolická aktivita, 2 - 7 roků
- **katagenní**, přechodná:  
ustává dělení buněk, 3 - 4 týdny
- **telogenní**, klidová:  
ukončen růst, odumřelý vlas snadno vypadává, 3 - 4 měsíce
- dospělý: cca 85 % vlasů ve fázi růstu cca 15 % ve fázi klidu
- důsledek: nehomogenita pramene vlasů



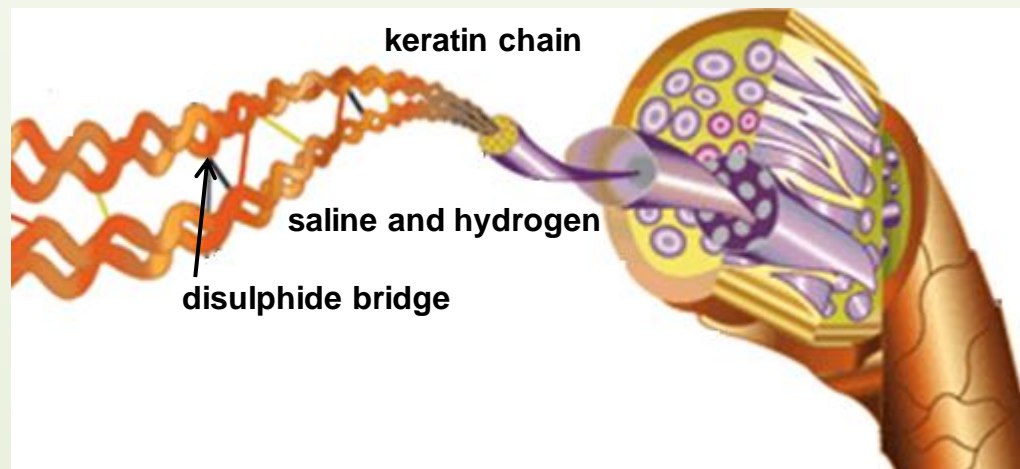
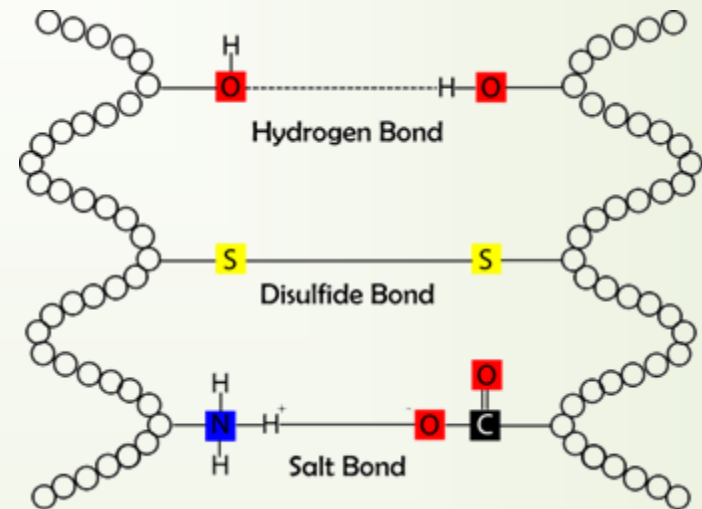
- 1cm  $\approx$  1 měsíc  
3 – 4 týdny pod pokožkou, těsně nad  $\approx$  5 – 8 týdnů
- časový záznam přítomnosti cizorodých látek  
→ časové profily – segmentační analýza
- odběr vzorku!



- typ vlasů
- věk
- pohlaví
- rasové rozdíly
- „chemická“ úprava

# složení

- vláknité proteiny (keratin) 85 – 93 %
- melanin 0,3 – 1,5 %
- lipidy 1 – 9 %
- stopové minerály 0,25 – 0,95 %
- polysacharidy
- voda 3 – 5 %, až 15 %
- slabě zásadité pH

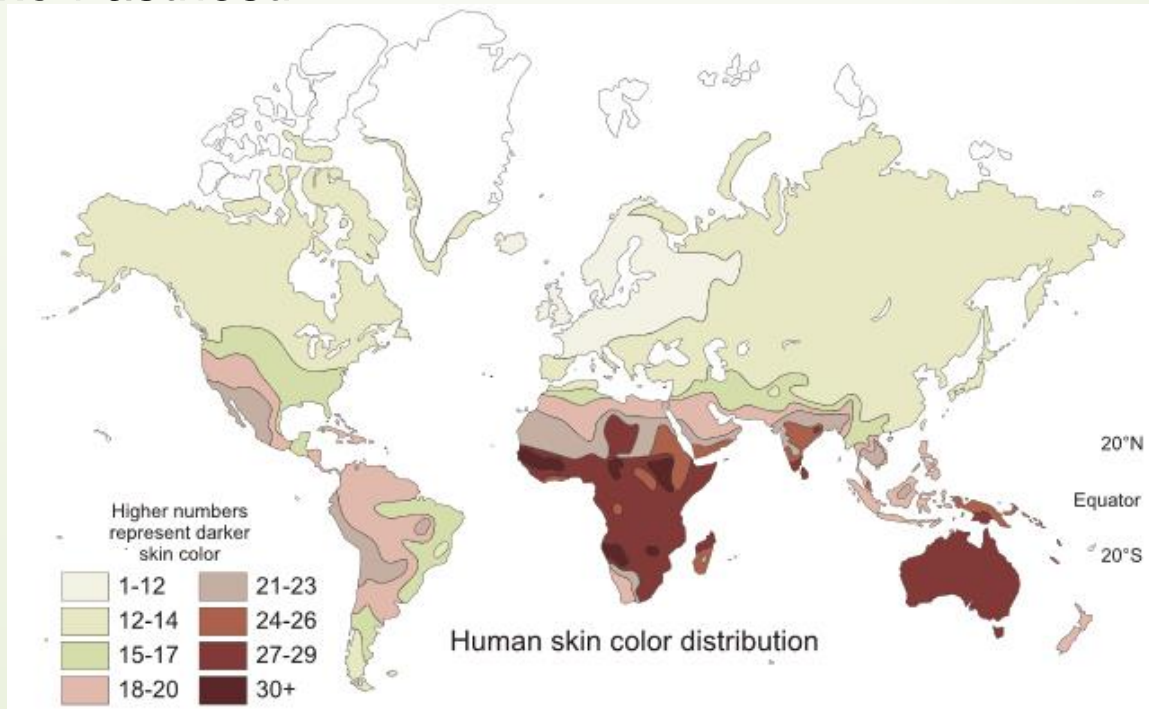
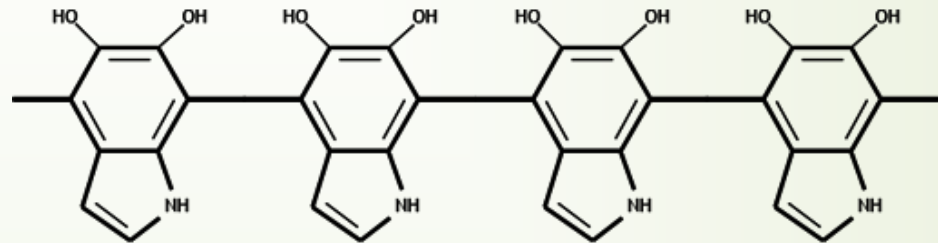




# ukládání látky

„svůj k svému“

- lipofilní charakter
- afinita k melaninu
- acidobazické vlastnosti



[https://cs.wikipedia.org/wiki/Melanin#/media/File:Unlabeled\\_Renatto\\_Luschan\\_Skin\\_color\\_map.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Melanin#/media/File:Unlabeled_Renatto_Luschan_Skin_color_map.svg)

# průnik látek do vlasu

## 1. vnitřní cesta

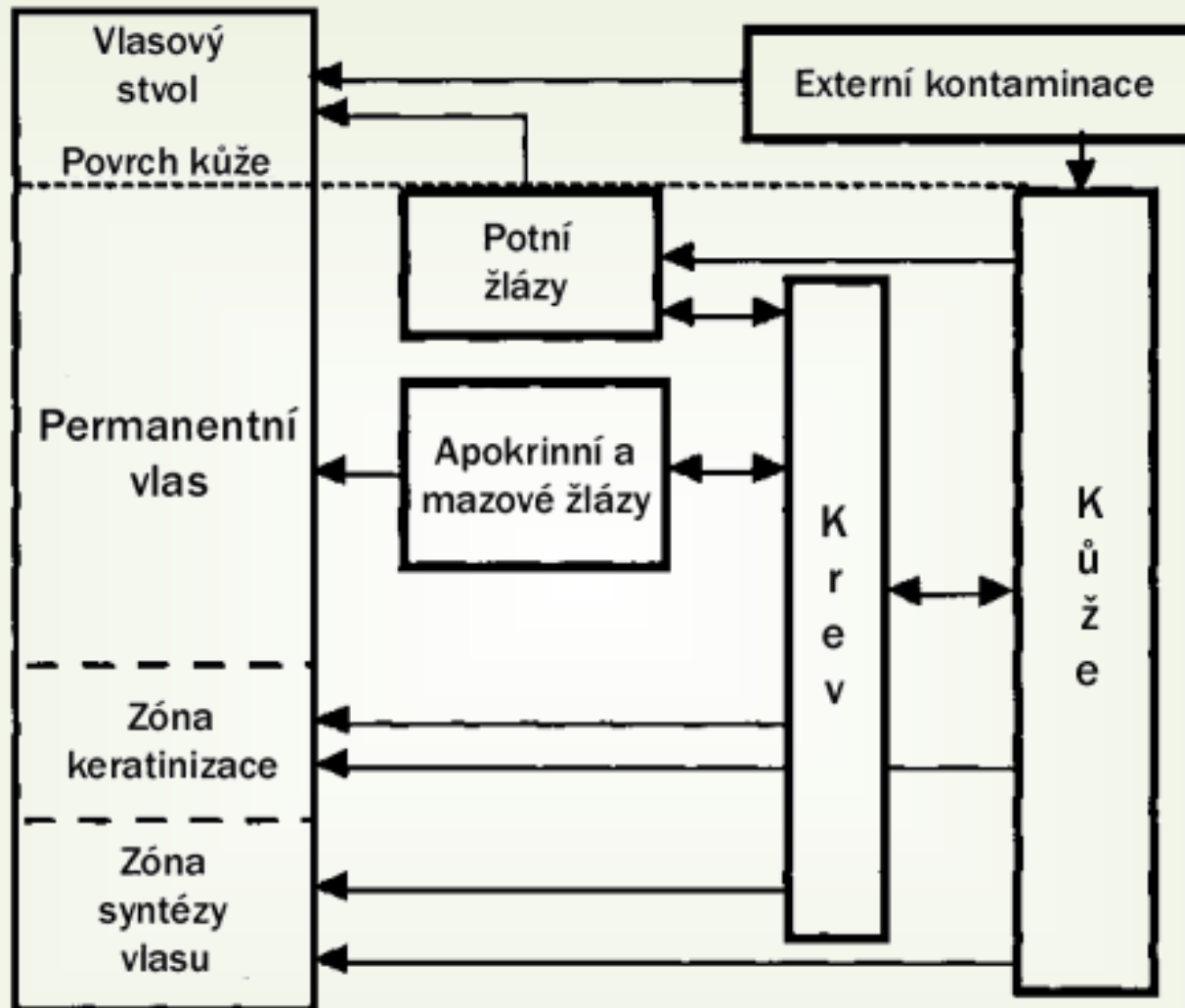
- pasivní difúze z krevních kapilár  
(největší podíl látek / metabolitů)
- vylučování na povrch vlasů z potu a kožního mazu

## 2. vnější

záchyt látek z vnějšího prostředí na povrchu vlasů







„Multi-compartment“ model inkorporace látek do vlasu během fází růstu vlasu (Henderson 1993, s.25)

# vlasý jako analytický vzorek

## vzorek

- neinvazivní
- snadno získatelný
- snadno uchovatelný („zkáza“)
- snadno rozložitelný / extrahovatelný

## analýza

- sekvenční: distribuce v čase
- celková koncentrace
- těžké kovy: speciace
- detekční okno

biologický materiál	detekční okno
sliny	1 – 24 hodin
pot	3 hodiny – 2dny / 1 týden
vlasý	> 3 dny – měsíce / roky
krev	3 hodiny – 2 dny
moč	6 hodin – 3 dny

# postup analýzy vlasů

- **odběr vzorku**  
z temene, optimálně pramen v síle klasické dřevěné tužky
- **dekontaminace**  
odstranění externí kontaminace - rozpouštědla, voda
- **dezintegrace vlasů**  
uvolnění analytů z vlasů, roztok
- **izolace látky**  
detekovatelnost, derivatizace, prekoncentrace, separace analytu
- **analýza**  
dle cílové analytu (noxu):  
GC-MS, LC-MS, HPLC, ICP-OES, AAS, ICP-MS



## II. využití analýzy vlasů

# Co je sledováno?

- 1/2 19. st.
- expozice škodlivinám
- akumulace v organismu
- životní / pracovní prostředí
- stravování
- otravy ...

## vzorky

- živé / post mortem
- růstová fáze:  
živé / mrtvé vlasy
- látky PBT
- těžké kovy
- drogy, doping



# Pro jaké účely?

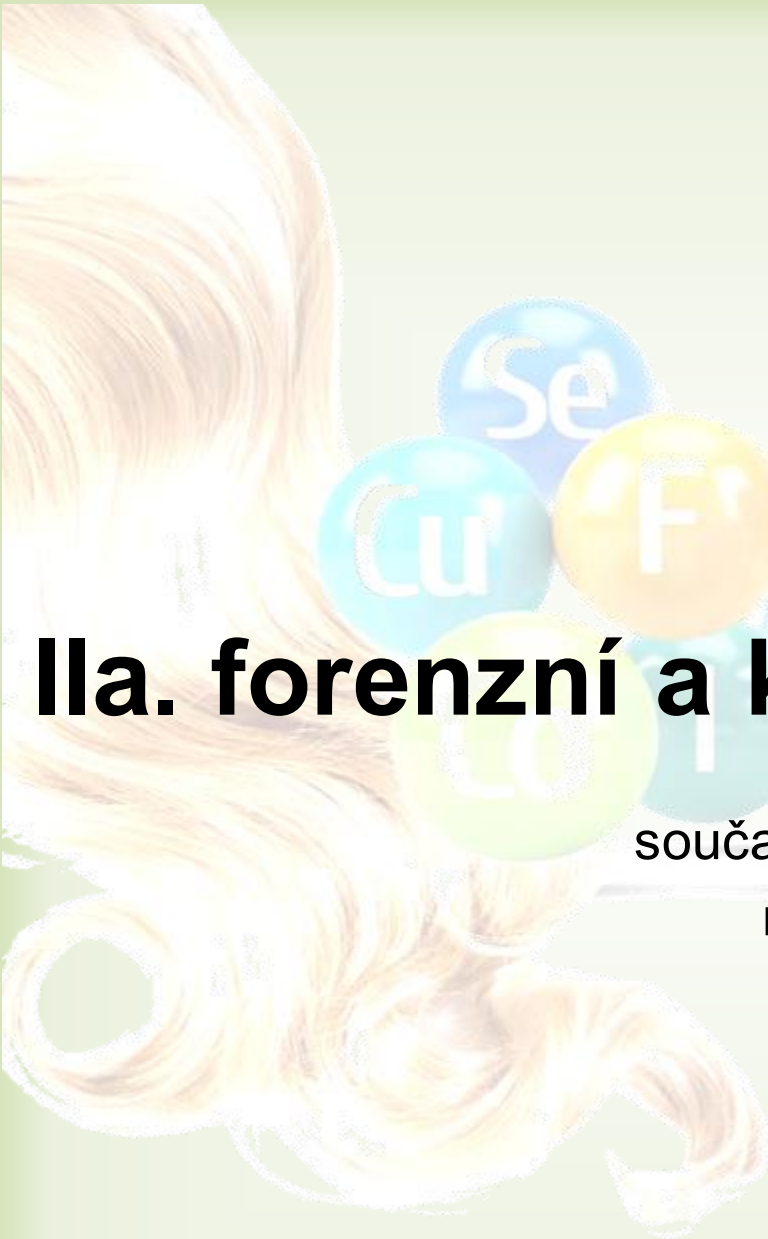
## a. toxikologie, forenzní vědy

- živé vzorky, post mortem
- otravy: akutní a chronické expozice
- doping sportovců
- drogová kariéra, drogy v dopravě
- profesionální expozice (human performance toxicology)

## b. nutriční stav organismu zdravotní stav organismu

- výživová doporučení





# Ila. forenzní a kriminalistická analýza

současné i historické kauzy  
mediální případy



# Costa Concordia

pátek 13. ledna 2012, 4252 pasažérů, 32 obětí

Požil kapitán Francesco Schettin kokain?



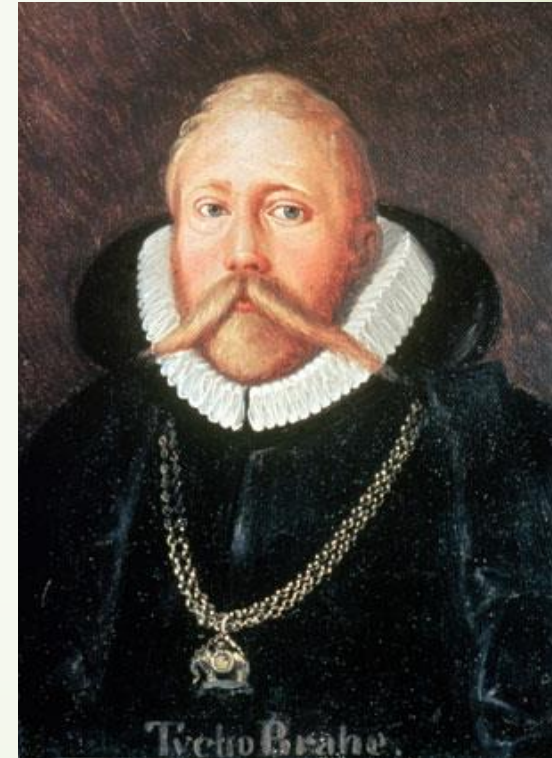
# Tycho de Brahe

- 1546 – 1604
- prasklý močový měchýř?
- otrava živým stříbrem?
  - Jan Kepler?
  - profesionální expozice

## analýza ostatků

- 1901: kosti, vlasy, vousy  
90. léta – AAS, Dánsko
- 2010: kosti, vlasy, vousy, textilie  
ÚJF AV: RNAA, CV-AAS  
otrava Hg neprokázána

Rasmussen, K. L., et al., *Archaeometry* 55, 1187–1195 (2013).



# Napoleon Bonaparte

- \*1769 - † 5.5.1821
- Sten Forshfwud, zubař, „expert na jedy“  
1961, NAA segmentů vlasů - otrava arsenem
- kalhoty → BMI → vývoj hmotnosti  
→ rakovina žaludku

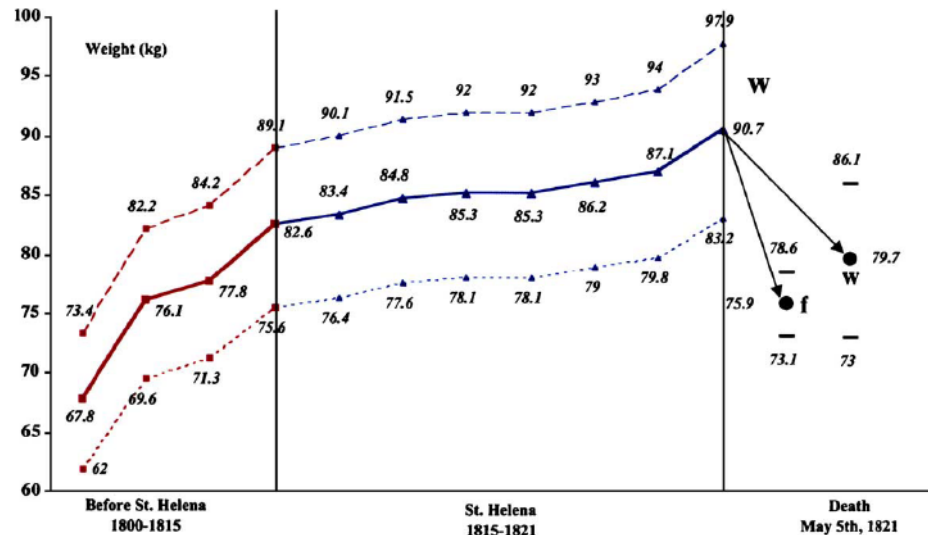


Fig. 3 Napoleon's weight development 1800-1821. Projected sort order of the trousers from two periods of Napoleon's life (before St. Helena: red; during St. Helena: blue) was according to historical sources. Estimated body weights are given together with 95% confidence intervals. w = waist measurement method, f = fat calculation method.

# Phar Lap

- \*1926 Nový Zéland - †1932 Kalifornie
- vítěz 37 z 51 závodů
- kolika, vysoká teplota, chrlení krve  
nepravidelná srdeční činnost,  
bakteriální infekce?  
otrava? ← stopy As ve vnitřních orgánech
  - předávkování tonikem?  
Fowler's Solution = As + Strychnos nux vomica  
(↑ vytrvalost, chuť k jídlu)
  - otrávená tráva?
- 2006: As v srsti a žíních



Kempson I.M., Henry D.A., *Angewandte Chemie International Edition* 49, 4237–4240 (2010)

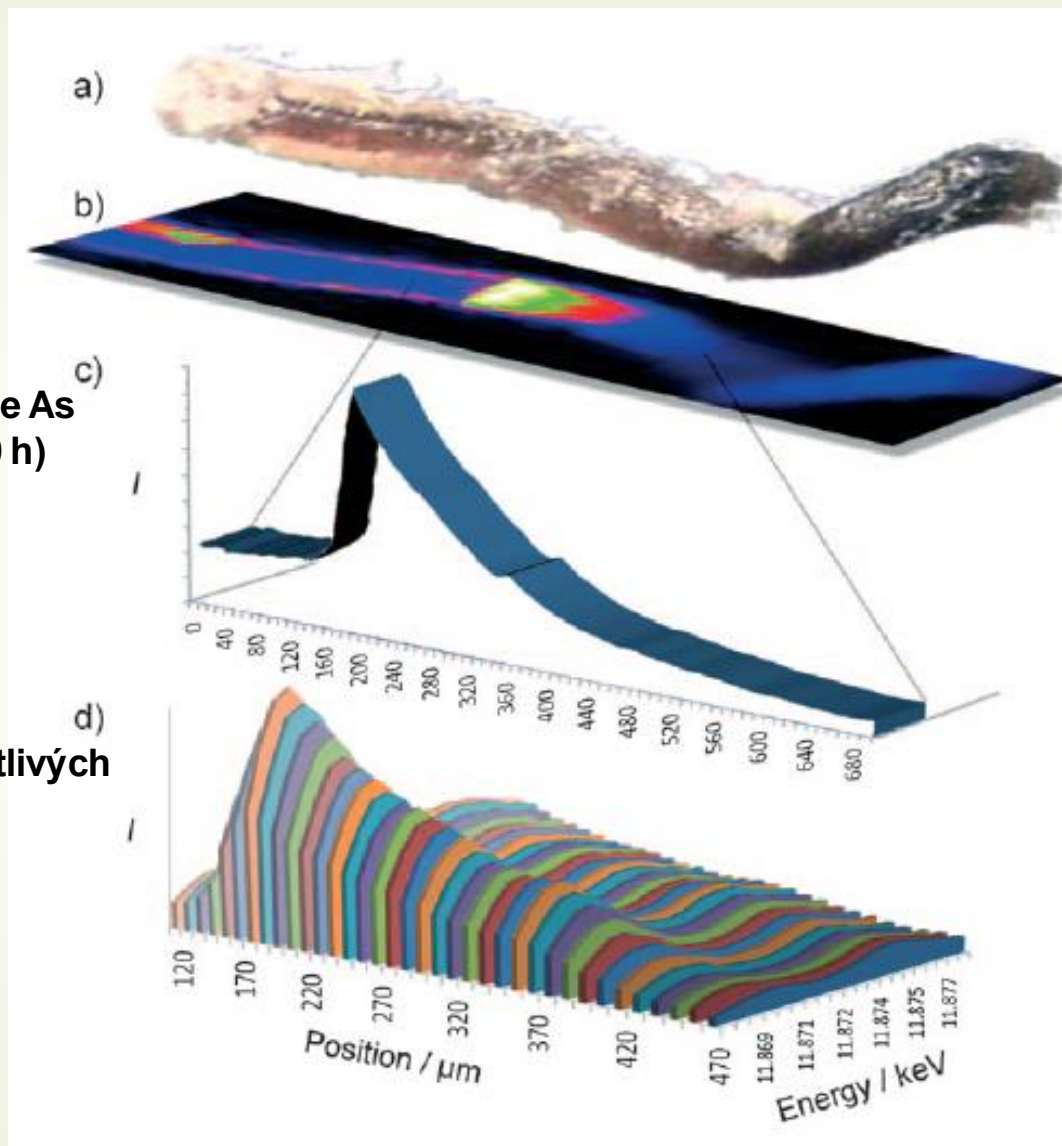


## chlupy + žíně z hřívky

- anagenní fáze růstu
- XRF mikrosonda
- 2D XANES zobrazení

podélná distribuce As  
(500  $\mu\text{m}$  - 10 až 30 h)

zastoupení jednotlivých  
forem As



Kempson I.M., Henry D.A., Angewandte Chemie International Edition 49, 4237 –4240 (2010)



# IIb. diagnostika zdravotního stavu

pracovní lékařství

otravy

nabídka pro širokou veřejnost

# složení vlasů a zdravotní stav

## prvky:

- esenciální pro životní procesy – součásti enzymů...(Ca, Cr, Cu, K, Zn...)
- toxické (As, Cd, Hg, Pb....)

## onemocnění:

- prokazatelná korelace prvkového („minerálního“) složení a nemocí deprese, rakovina, cukrovka, krevní tlak, osteoartritida, autismus...

## vlivy na složení:

- věk, pohlaví, barva vlasů, vzdálenost od hlavy, rychlost růstu, roční období, geografická poloha
- barvy na vlasy, zesvětlovače, šampony
- výživa, doplňky stavy, medikace



# komerční nabídka

<http://www.analyza-vasu.cz/>

## Rozbor vlasů Vám pomůže efektivně hubnout

A navíc Vám rozbor pomůže řešit alergie, kožní onemocnění, cukrovku, osteoporózu, nemoci pohybového aparátu, chronický únavový syndrom, roztroušenou sklerózu, neplodnost, atd. Pomůže zlepšit sportovní výkon a urychlit regeneraci organismu po sportovním či pracovním výkonu.



## Forenzní vlasové analýzy na drogy a léky

Napište první recenzi tohoto produktu

Poslat známému

19 520,22 Kč

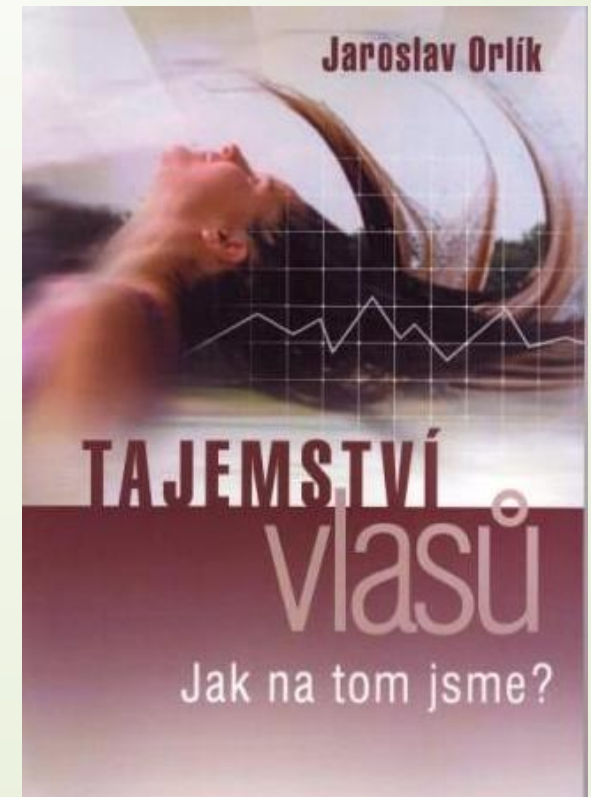
včetně 21% DPH, plus poštovné

Skladem

SKU : 641014

Vlasová analýza Forensis – screening drog a léčiv.

Jedná se o komplexní screeningové vyšetření na drogy a léčiva.



# Analýza prvků z vlasů

Vyšetření metabolismu minerálů těla

- ✓ Se dozvíte, jak je Vaše tělo vyživené
- ✓ Poznáte svůj metabolismus
- ✓ Najít své zdravotní tendence

Obdržíte:

- ★ individuální program výživy
- ★ program suplementace
- ★ doporučení týkající se fyzické aktivity

OZNAČENÍ (hodnoty uvedené v ppm – mg prvků / kg vlasů)

- vyšetřovaná hodnota
- správná hodnota
- přípustný rozsah prvků
- zkušební hodnota toxického prvku
- přípustná hodnota toxického prvku
- přípustný rozsah toxického prvku

Výsledek vyšetření vzorku schválil:  
dr. n. med. Dorota Bieńkowska

Datum přijetí vzorku: 2014-04-07. Datum vyšetření: 2014-04-24.

Datum schválení: 2014-04-24.

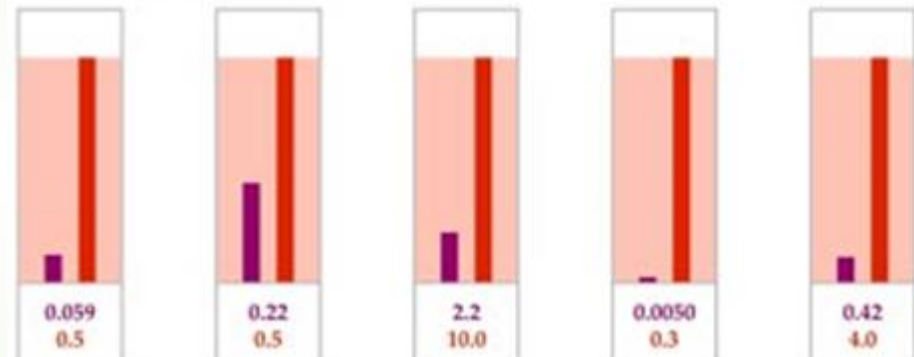
Prohlašujeme, že byl výsledek připraven ze vzorku přijatého dne 2014-04-07.

Analýza prvků byla provedena na spektrometrech Perkin Elmer OPTIMA 5000 DV i ICP MS DRC2.

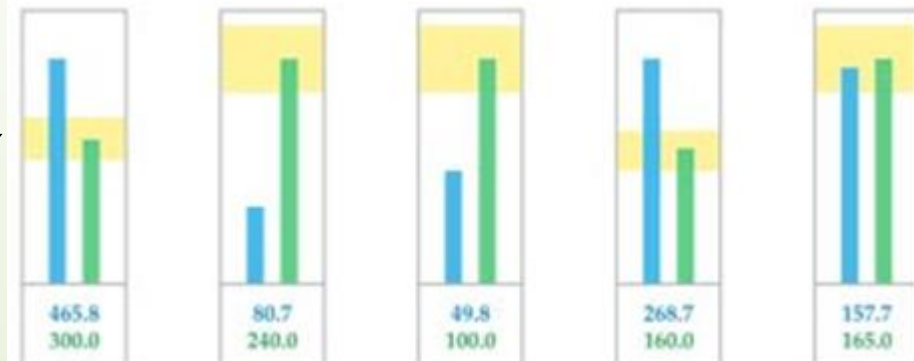
Nejistota měření byla určena v souladu s dokumentem EA-4/16.

Hodnoty nejistoty jsou rozlišené nejistoty při úrovni spolehlivosti asi 95% a koeficientu rozlišení k=2.

## TOXICKÉ PRVKY



## STOPOVÉ PRVKY



Ca (vápník)

+ 55 % ↑

Na (sodík)

- 66 % ↓

K (draslík)

- 50 % ↓

P (fosfor)

+ 68 % ↑

Zn (zinek)

- 4 %

## Lab. stopových prvků BIOMOL-MED

- polská společnost od 1998
- evropský lídr v oboru
- klientela z Evropy, Asie, Ameriky
- 250 000 analýz od začátku podnikání
- 20 000 analýz ročně
- ICP-OES-OPTIMA 2000
- 1393 – 2200 Kč

# spolehlivost analýzy vlasů

## využití analýzy vlasů

- posouzení stavu organismu → nutriční doporučení / medikace
- <http://www.sysifos.cz/index.php?id=vypis&sec=1206987051>
- [http://www.drkucera.eu/upload\\_doc/je\\_analyza\\_vlasu.pdf](http://www.drkucera.eu/upload_doc/je_analyza_vlasu.pdf)
- Barrett: J. Am. Med. Assoc. 254, 1041(1985) Commercial Hair Analysis: Science or Scam?

### USA

- 225 000 analýz za rok
- 10 mil \$ + dodatečné náklady
- analýza na hranici zákona, procesy stát NY - nelegitimní

# zdroje nejistot (chyb) v analýze vlasů

## povaha vzorku:

- obsah prvku ve vlasu neodráží skutečný stav organismu
- růst vlasu → „neaktuální“ výsledky
- vlivy: věk, pohlaví, rychlost růstu, způsob odběru, roční období, geogr. podmínky, prostředí, přirozená barva vlasů, péče o vlasy
- referenční hodnoty prvků?

## analýza:

- vlastní „normální“ hodnoty vlasových minerálů → interpretace
- laboratoře nemívají ověřenou platnost metod akreditace, okružní testy

problematická **příprava vzorku**

→ výsledky zatíženy chybami

# Commercial Hair Analysis: Science or Scam?

Barrett: J. Am. Med. Assoc. 254, 1041(1985)

- experiment:
  - vlasy 2 zdravé dívky → 13 lab
- výsledky – neshody:
  - identický vzorek v 1 lab
  - mezi labs
  - “normální” hodnoty
  - interpretace vzbuzující obavy
  - zcela rozdílná potravinová sup
- závěr
  - nevědecké, vyhozené peníze,

ANALYTE	RANGE	UNIT	%DIFFERENCE
ALUMINUM*	4-16	mcg/g	300
ARSENIC	0.06-1.3	mcg/g	2166
CALCIUM*	270-487	mcg/g	80
COPPER*	11-15	mcg/g	36
IRON	5-15	mcg/g	200
MAGNESIUM*	20-40	mcg/g	100
MERCURY	0.1-2.0	mcg/g	2000
PHOSPHORUS*	116-186	mcg/g	58
POTASSIUM*	0-40	mcg/g	---
SODIUM*	5-70	mcg/g	1300
ZINC*	149-213	mcg/g	43

# Příprava vzorku vlasů k analýze

## „prací“ postupy

- odstranění externí kontaminace bez narušení vnitřní struktury
- více postupných kroků ~ 10 - 15 min, různá činidla, US
- neexistuje standardní postup, doporučení IAEA

chemická povaha a druh pracího činidla		koncentrace
organická rozp.	MeOH, EtOH, aceton	
detergenty	laurylsulfát sodný, Triton X-100	0,5 - 5%
komplexotvorné látky	Chelaton III	0,05 - 5M
zředěné kyseliny	HCl, HNO <sub>3</sub>	0,01 – 0,1M
voda	studená, horká	



### III. naše studie

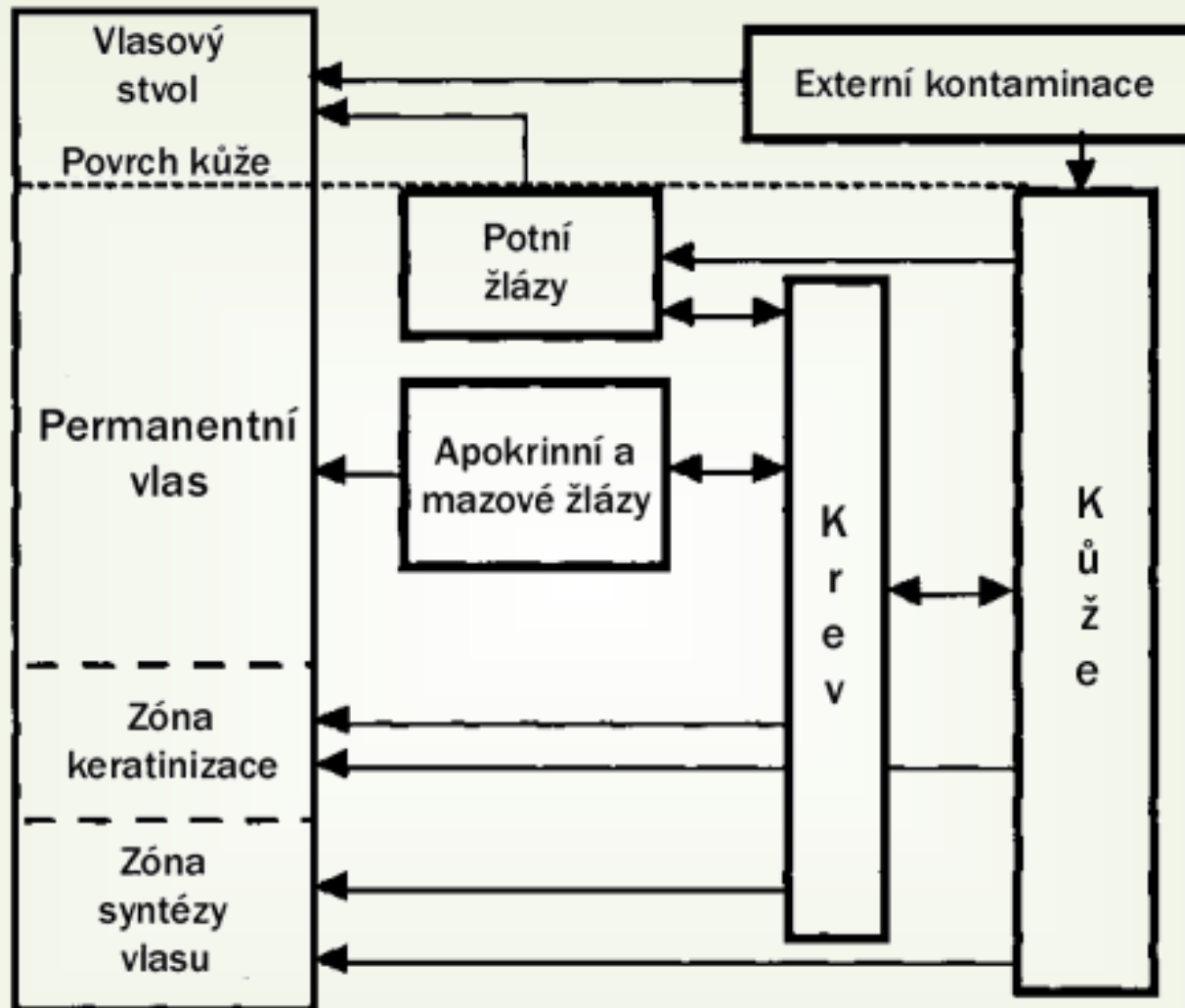
vzorky

metody

analyty

prací postup a jeho účinnost





„Multi-compartment“ model inkorporace látek do vlasu během fází růstu vlasu (Henderson 1993, s.25)

# Vzorky



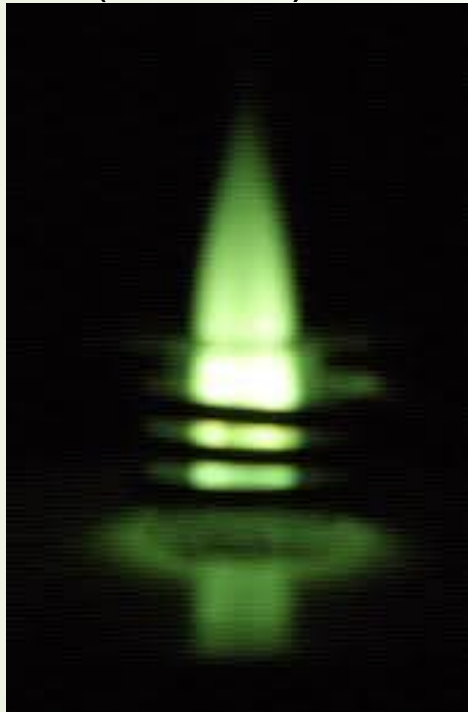
- **co**
- **odkud**
- **vhodné množství**
- **homogenita????**
  - věk, pohlaví, barva, ustájení, krmení, zdraví

	<b>RSD [%]</b>			
	<b>bez praní</b>	<b>horká voda</b>	<b>CRM</b>	<b>std. roztok</b>
<b>Al</b>	11,3	42,0	7,19	0,865
<b>Ca</b>	3,05	5,04	4,23	0,0566
<b>S</b>	1,74	9,77	1,87	0,805
<b>Zn</b>	10,1	16,9	3,09	4,98
<b>Sr</b>	3,68	7,59	4,90	0,592

# Analyty / metody / praní

## metody

- ICP OES
- (ICP MS)



## analyty

- „externí“:
  - Na, K (pot)
  - Al (prach)
- „vnitřní“:
  - S (keratin), Zn
- jiné:
  - detekovatelné ICP-OES
- environ. kontaminanty:
  - As, Cd, Pb

## čínidla

- studená / horká voda
- HNO<sub>3</sub>
- Triton X-100
- aceton
- EDTA

# Efekt praní: povrch

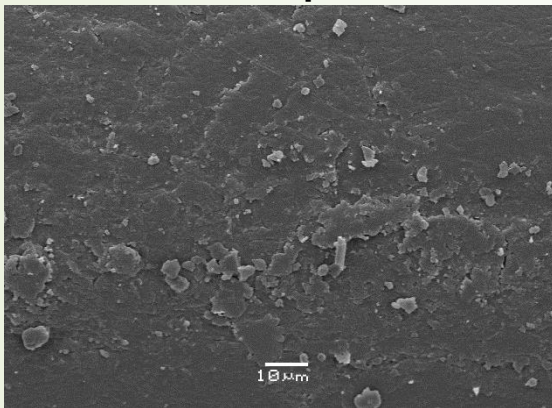
## „fyzikálně- chemické“ praní

- ionty na povrchu,  
„mastnota“ na vlasech
- kyselina dusičná

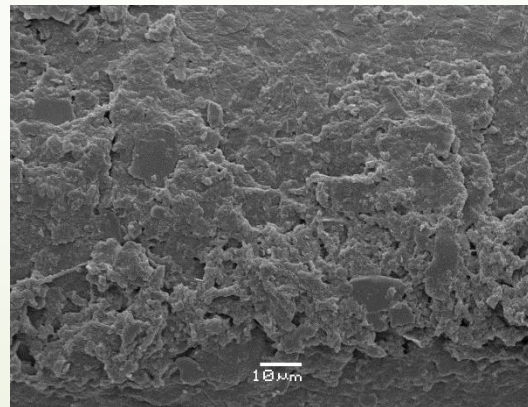
## „mechanické“ praní

- zachycené prachové částice
- ostatní činidla

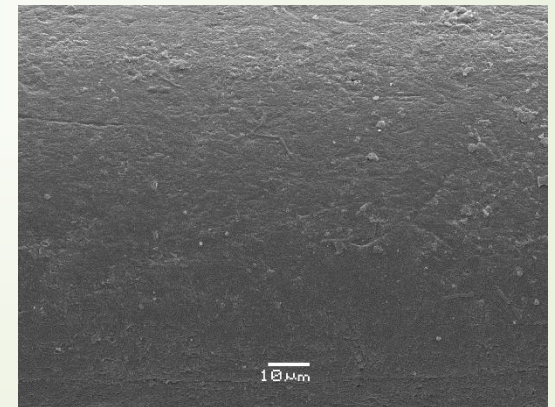
bez praní



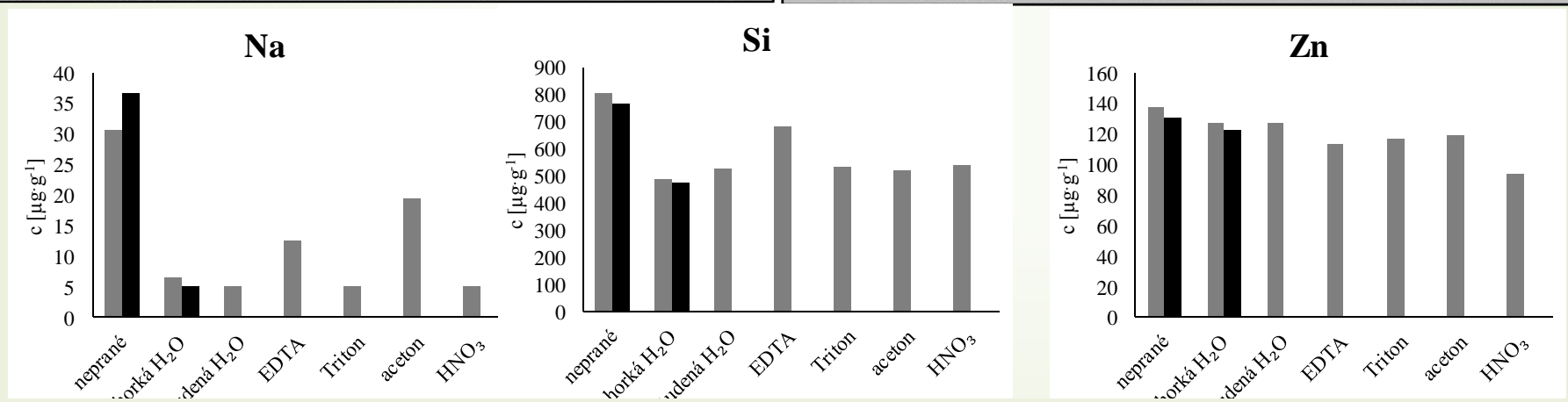
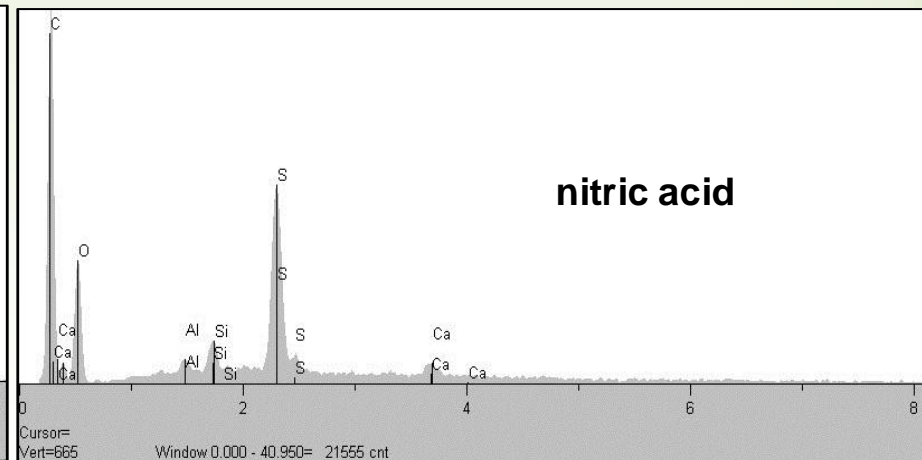
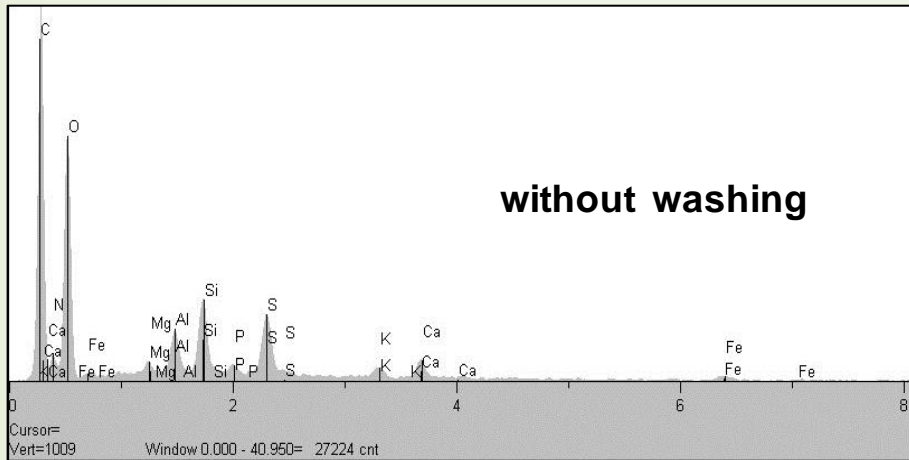
kyselina dusičná



horká voda



# Efekt praní: elementární analýza



- „fyzikálně-chemické“ → vnitřní struktura
  - „mechanické praní“ → vnější kontaminace
- **horká voda se jevila optimálně**

# Opravdu to funguje?

Je kontaminace odstranitelná?

→ kontaminační stude



## kontaminanty

- pevné:
  - půda
  - sediment
  - popílek
- kapalné:
  - umělý pot: Cu, Zn, As, Cd, Pb
  - 0,1 – 1 – 10 mg/l
  - pH 3 – 5,5 – 8

# Experimental procedure

## contamination:

- 1 g horsehair + 5 g soil / sediment / fly ash → PE bottle, shaken 15 h sieve-separated
- 1 g horsehair + 10 ml artificial sweat → PE bottle, shaken 1 - 6 – 24 h stocking-separated, 3x DW rinsed

## washing:

- 1-1.5 g + 50 ml WA (100 ml PE, 10 min US), pouring, DW, next WA

## drying:

- 50 °C, 24 h, laboratory oven

## decomposition (MWS2 , Berghof, Germany):

- MW: 0.2 g + 7 ml HNO<sub>3</sub>; 15 min 150 °C, 25 min 205 °C, 10 min 20 °C
- final volume 50 ml

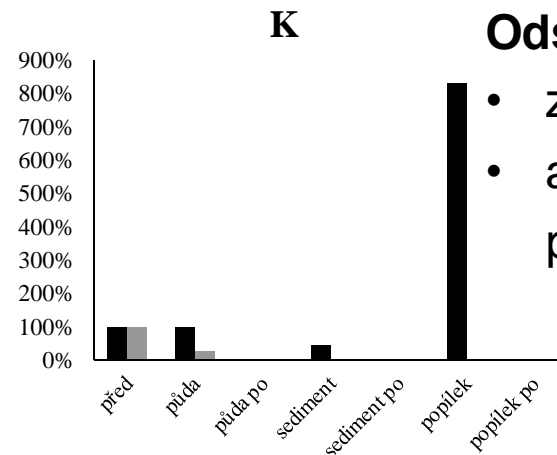
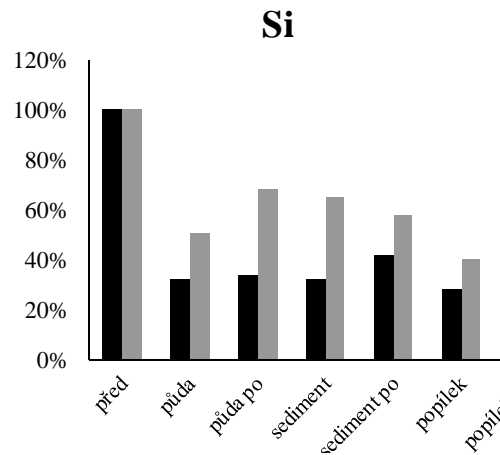
## analysis:

- ICP OES Integra XL2, ICP MS Optimass 8500 (GBC, Australia)



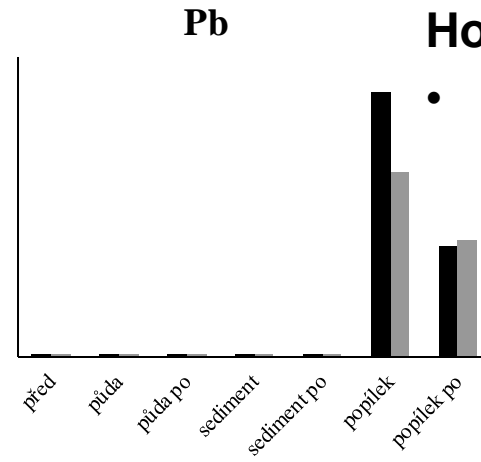
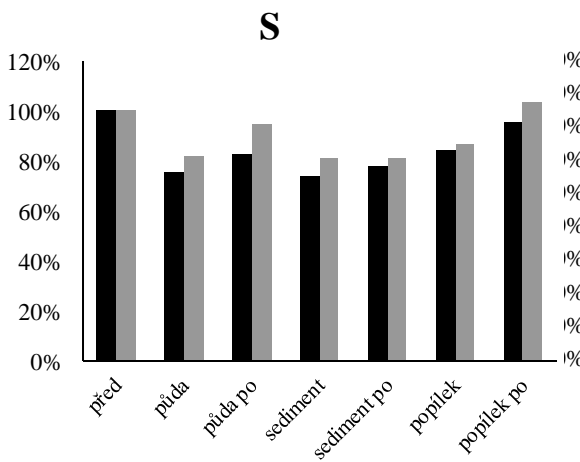
# Pevná kontaminace

- prach, říční bahno / písek, environ. emise, srážky, krmivo



## Odstranitelné?

- závislé na prvku
- adsorpce v průběhu praní



## Horká H<sub>2</sub>O OK?

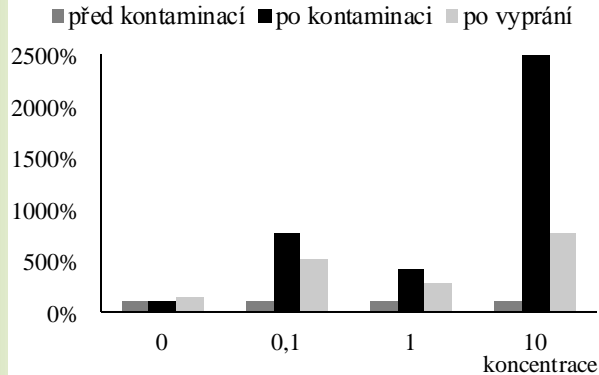
- spíše ano

# Kontaminace umělým potem

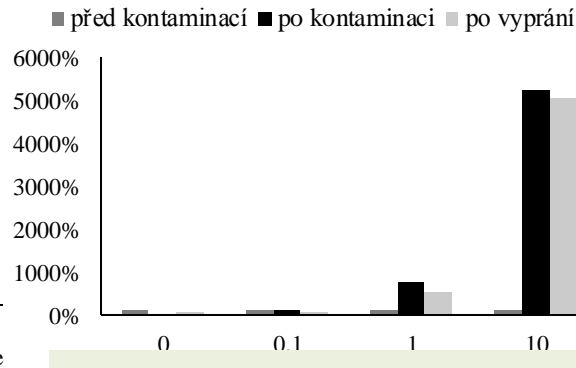
0,1 – 1 – 10 mg/l  
pH 3 – 5,5 – 8

Cu, Zn, As, Cd, Pb  
1 - 6 – 24 h

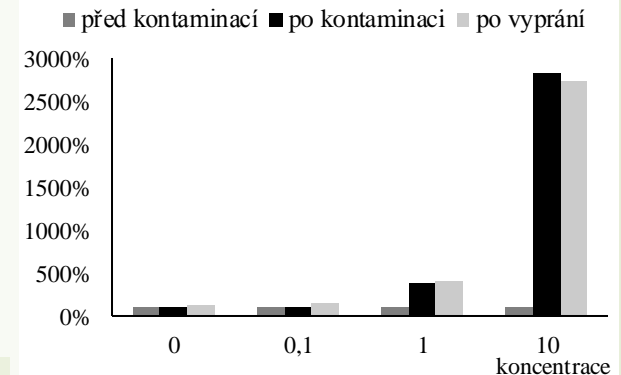
### As, pH 3



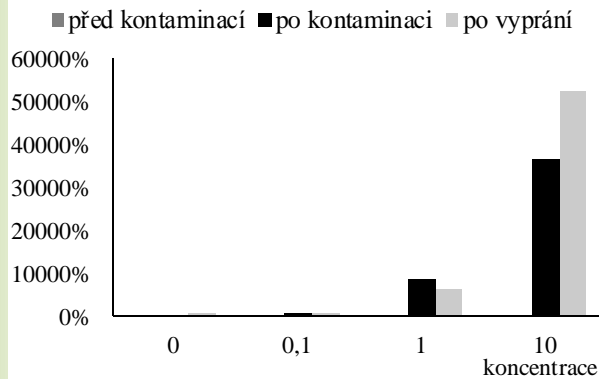
### Pb, pH 3



### Cu, pH 3



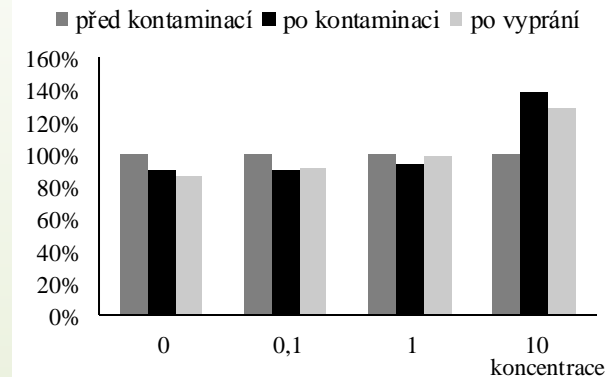
### Cd, pH 3



## Odstranitelné?.. záleží

- na prvku
- konc. poměrech
- pH
- doba kontaktu???

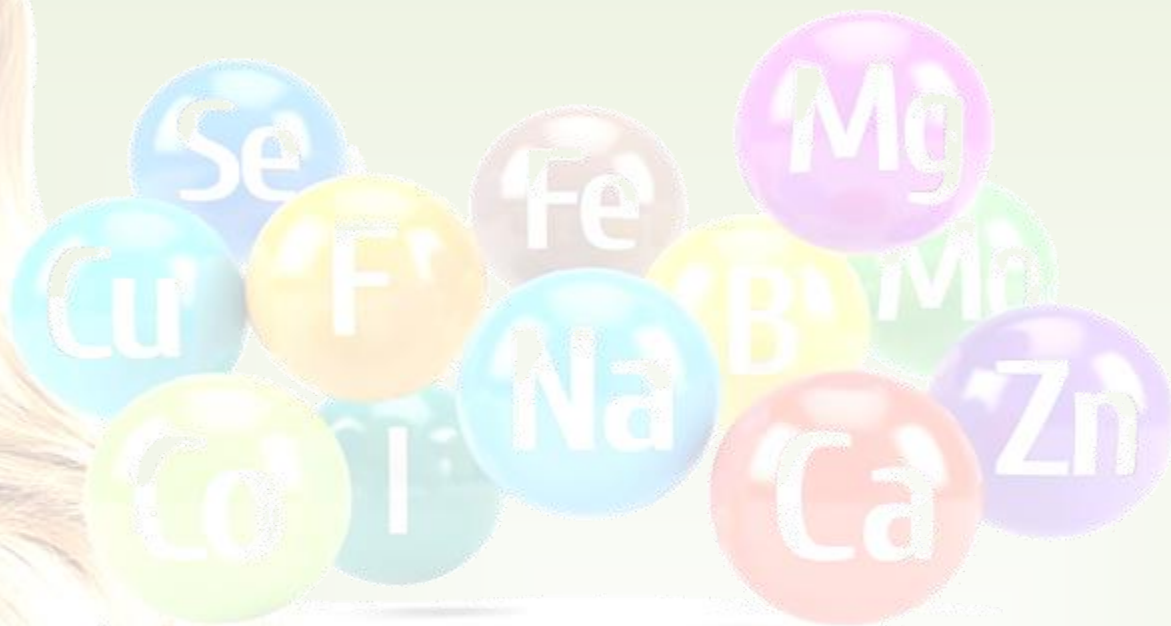
### Zn, pH 3



# Závěrem...

## Otázky.....

- Splnila studie naše očekávání?
- Je analýza vlasů spolehlivá?
  - Mohu získat doplňující informace?
  - Má nějaká úskalí?
- Podezřele nízká cena?
- Potřebuji tuto službu?



**děkuji za pozornost**