

1 Toxikologie

Vladimír Antonín, Andrea Brzobohatá, Ivana Černá, Miroslav Hirt, Peter Ondra,
Marie Staňková, Lubomír Straka, Jana Tomková

„Všechny sloučeniny jsou jedy. Neexistuje sloučenina, která by jedem nebyla. Rozdíl mezi lékem a jedem tvoří dávka.“

Paracelsus

1.1 Forezní a klinická toxikologie

Peter Ondra, Marie Staňková,
Andrea Brzobohatá, Ivana Černá

1.1.1 Dělení toxikologie, základní pojmy, definice, klasifikace otrav a jedů

Toxikologie je nauka o jedech a účincích jedů v organizmech. Podle zaměření se dělí do několika hlavních odvětví (Staňková, 2014):

- **Toxikologie experimentální** – Zkoumá účinky látek na laboratorní zvířata (stanovuje toxické dávky, objasňuje mechanismus účinků, metabolismus atd.).
- **Toxikologie klinická** – Zabývá se diagnostikou otrav, studuje a popisuje účinky jedů na člověka (příznaky a průběh otravy), poskytuje podklady pro léčbu intoxikací.
- **Toxikologie soudní (forezní)** – Diagnostikuje intoxikace hlavně u zemřelých osob, její výsledky mají kriminální a právní význam. Je nedílnou součástí oboru soudního lékařství a pro svoji působnost využívá poznatky hlavně z oblastí klinické toxikologie.
- **Toxikologie vojenská** – Zabývá se účinky bojových chemických látek.
- **Toxikologie průmyslová** – Studuje toxické účinky surovin, meziproduktů, produktů a odpadů; zabývá se proble-

matikou ohrožení zdraví a stanovuje preventivní bezpečnostní opatření a limity při výrobě a zacházení s látkami a přípravky v různých oborech činnosti.

- **Toxikologie potravinářská** – Studuje rezidua škodlivin v potravinách, jejich chronické působení.
- **Toxikologie životního prostředí – ekologická toxikologie (ekotoxikologie)** – Zkoumá účinky škodlivin na flóru, faunu, ekosystémy a pohyb látek v biosféře.
- **Toxikologie přírodních látek (toxikologie)** – Studuje toxické látky nacházející se ve všech formách živých organizmů, zabývá se chemizmem jejich vzniku, izolováním a identifikací a studiem účinků na jiné živé organizmy.

Jedem nazýváme látku, která při vniknutí do organismu i v poměrně malém množství může vyvolat poškození organismu jako celku (otravu) a může přivodit dokonce smrt. Dalšími označeními pro „jed“ je **chemická škodlivina, noxa, xenobiotikum**.

Toxicita je schopnost chemické látky (noxy) způsobit otravu živého organismu.

Dávka je obecně množství škodliviny (chemické látky, xenobiotika), které pronikne do organismu. **Dávka prahová** je nejmenší dávka, která již vyvolává hodnotitelnou reakci. **Střední účinná dávka** (dosis effectiva media – ED₅₀) je dávka,

kteřá vyvolá 50% maximálně možné reakce, anebo dávka, při které dosáhneme očekávaného účinku u 50% objektů. **Střední letální dávka** (dosis letalis media – LD₅₀) je dávka, po jejíž aplikaci uhynie 50% pokusných zvířat. Tabulka 1.1 uvádí klasifikaci toxických látek podle hodnoty střední letální dávky.

Tab. 1.1 Klasifikace toxických látek podle hodnoty LD₅₀

supertoxická látka	< 5 mg
extrémně toxická látka	5–50 mg
vysoce toxická látka	50–500 mg
středně toxická látka	0,5–5 g
málo toxická látka	5–15 g
netoxická látka	> 15 g

Otrava (intoxikace) je celkové poškození organismu zapříčiněné vstupem jedu do organismu. Projevuje se příznaky (symptomy) nebo skupinou příznaků (syndromem), které mohou být pro určitou látku charakteristické nebo neurčité. Rozlišujeme **akutní otravu**, která je důsledkem jednorázové nebo krátkodobé expozice velkou dávkou jedu, a **chronickou otravu**, která vzniká následkem dlouhodobé expozice (měsíce, roky) malými dávkami škodliviny (jedu).

Pojem **tolerance** vyjadřuje postupné snižování účinků látky při jejím opakovaném podávání. Aby bylo dosaženo žádaných účinků, je nutné zvyšovat dávky.

Současné působení více škodlivin – Pokud chemické látky působí bez vzájemného ovlivňování svých účinků, pak je výsledný účinek dán sumací toxických účinků látek. Pokud jedna látka zvyšuje toxicitu druhé látky, pak je výsledný toxický účinek vyšší než součet toxických účinků jednotlivých chemických látek – **potenciace účinků**. V případě, že jedna

látka snižuje účinek druhé látky, je výsledný účinek nižší, než by odpovídalo součtu toxických účinků jednotlivých látek – **antagonistické působení**. Těto vlastnosti se využívá při léčbě otrav (Staňková, 2014; Van Leeuwen, 2007).

Kumulace škodlivých látek – U některých látek je známa jejich kumulace v organismu. Jde o zvyšování koncentrace noxy v plazmě a ve tkáních v případech, kdy přísun látky převyšuje její eliminaci.

Klasifikace otrav z klinického hlediska (Vorel, 1999):

- podle časového průběhu otravy – perakutní, akutní, subakutní, subchronické a chronické
- podle příznaků, které mohou jedy způsobit – to je důležité pro stanovení diagnózy a odlišení od chorobných stavů, například:
 - *bolesti břicha, zvracení, průjem* – možné užití hub, arzenu, rtuti
 - *křeče* – možné užití strychninu, kyanidů, působení oxidu uhelnatého
 - *kóma* – možné užití alkoholu, alkaloidů, barbiturátů
 - *delirium* – možné užití tropanových alkaloidů, marihuany
 - *mydriáza* – možné užití alkaloidů, např. atropinu
 - *mióza* – možné užití morfinu, barbiturátů, organofosfátů, chlorpromazinu

1.1.2 Cesty vstupu jedu do organismu

Cesty vstupu jedu do organismu můžeme rozdělit na:

- časté:
 - požitím (per os)
 - vdechnutím (inhalačně)
 - injekčně (intravenózně – i.v., intraarteriálně – i.a., subkutánně – s.c., intramuskulárně – i.m.)

- méně časté:
 - do konečníku (per rectum)
 - do vagíny (per vaginam)
 - přes kůži (per cutis)
 - nosní sliznicí (nazálně)
 - sliznicí pod jazykem (sublinguálně)

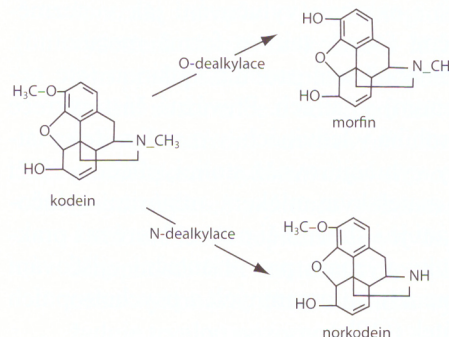
1.1.3 Biotransformace xenobiotik

Biotransformace se zabývá chemickou přeměnou noxy v organismu. Při biotransformaci dochází ke změně chemické struktury původní látky, a tím ke změně jejích vlastností. Vzniklý metabolit bývá hydrofilnější než původní látka a snadněji se vylučuje močí.

Biotransformační proces zahrnuje dvě fáze:

- **reakce I. fáze:**
 - oxidační – oxidace alkoholů, oxidace nenasycených vazeb (epoxidace), O-dealkylace, N-dealkylace, N-oxidace, S-oxidace, oxidační desulfurace, oxidační deaminace, hydroxylace
 - redukční – redukce aldehydů, ketonů, nitroskupin, azosloučenin, redukční štěpení disulfidů
 - hydrolytické – hydrolyza esterů, amidů, hydrolytické štěpení
- **reakce II. fáze** – interakce metabolitu biotransformační reakce s konjugacním činidlem (látka tělu vlastní) za vzniku konjugátu, který je obvykle méně aktivní; konjugacním činidlem bývají obvykle kyselina glukuronová, glycin, cystein, acetylcystein aj., nejrozšířenější jsou konjugáty s kyselinou glukuronovou – glukosiduronáty (tzv. glukuronidy)

Biotransformace probíhá převážně v játrech, v menší míře v plicích, ledvinách, střevní stěně, svalech či slezině. Přeměny probíhají většinou v endoplazmatickém retikulu buněk, především



hepatocytů (Večerková, 1997; Balíková, 2004; Van Leeuwen, 2007; Staňková, 2014).

1.1.4 Farmakokinetika

Farmakokinetika se zabývá zkoumáním a popisem osudu léčiv (nox, škodlivin) v organismu, a to od jejich podání až po vyloučení. Zahrnuje:

- absorpci
- distribuci
- eliminaci:
 - metabolismus (biotransformaci)
 - exkreci (vylučování)

Absorpce z gastrointestinálního traktu, z místa vpichu, z plic, z povrchu kůže je počátek cesty, kterou látka vstupuje do organismu a k cílovému orgánu. Rychlost a rozsah absorpce jsou dány způsobem aplikace noxy, vlastnostmi noxy (roztok, pevná látka) a vlastnostmi (stavem) organismu (např. venostáza zpomaluje vstřebávání z GIT). Nejrychlejší je intravenózní aplikace. Z toxikologického hlediska je nejvýznamnější absorpce z gastrointestinálního traktu.

Distribuce je transport noxy, případně jejích metabolitů do orgánů, tkání a buněk.

Eliminace je odstraňování původní noxy a jejích metabolitů z organismu. Jde tedy o biotransformaci (metaboliza-

ci) i exkreci (vyučování jak v nezměněné formě, tak ve formě metabolitů). Metabolizace probíhá většinou (ale nejenom) v játrech. Převážná část exkrece probíhá v ledvinách, v menší míře se látky vylučují rovněž stolicí, plícemi, žlučí a mateřským mlékem, minoritní vylučování je i slinami či potem, které má praktický význam pro orientační zjišťování zneužívání omamných a psychotropních látek (OPL).

Eliminace játry – Noxy přicházejí do jater portální žilou z gastrointestinálního traktu (méně cestou a. hepatica). V játrech jsou látky metabolizovány působením enzymů, a do systémové cirkulace se tak dostává menší podíl původní formy noxy.

Exkrece ledvinami – V ledvinách probíhají tři základní procesy: glomerulární filtrace, tubulární sekrece a pasivní reabsorpce. Vylučování noxy do moči závisí na stavu ledvin, na průtoku krve, na hodnotě pH moči (kyselé látky se rychleji vylučují do alkalické moči, bazické látky do kyselé moči – z důvodu lepší ionizace látek, a tím i lepší rozpustnosti ve vodě).

1.1.5 Toxikokinetika

Toxikokinetika se zabývá aktuální koncentrací noxy v organismu, časovým intervalem zahrnujícím eliminaci noxy z organismu a zvolením vhodného léčebného procesu na odstranění noxy z organismu za případného využití antidota.

Význam toxikokinetiky pro klinickou toxikologii:

- stanovení diagnózy
- určení vhodné terapie
- predikce průběhu otravy

Význam toxikokinetiky pro forenzní toxikologii (Vorel, 1999):

- stanovení příčiny smrti (vždy spolu s morfoloickým nálezem)
- posouzení ovlivnění účastníka dopravy léky, omamnými a psychotropními látkami, alkoholem včetně interakcí
- posouzení ovlivnění obětí pracovního úrazu
- posouzení ovlivnění pachatele nebo oběti trestného činu

1.1.6 Obecná pravidla pro léčbu akutních otrav

Obecná pravidla pro léčbu akutních otrav jsou následující (Lüllmann, Mohr, Wehling, 2004):

- **snížení resorpce jedu** – vyprázdnění žaludku, urychlení průchodu střevem, adsorpce na aktivní uhlí, snížení resorpce jedů rozpustných v tucích, podání antidota
- **zrychlení eliminace jedu** – forsírovaná diuréza, výměnná transfuze, dialýza (vhodná v případě, kdy jed není vázán ve tkáních, ale je přítomen v krvi v relativně vysokých koncentracích)
- **detoxikace jedů v organismu** – přímá chemická změna – určité jedy lze chemicky přeměnit tak, aby ztratily toxicitu (např. vazba těžkých kovů na dimerkaprol); podání antagonistů – snížení účinku jedu specifickým nebo funkčním antagonizmem (ke kompetitivnímu soutěžení dvou látek o jeden receptor patří např. podání naloxonu při předávkování morfinem, podání atropinu při předávkování parasympatomimetiky nebo podání etanolu při otravě metanolem či glykoly – etanol se snadněji a rychleji oxiduje než metanol, a tím brání tvorbě toxických metabolitů formaldehydu a kyseliny mravenčí, popřípadě glykolaldehydu a kyseliny glykolové při otravě glykoly)

V běžném klinickém provozu se dává přednost snížení resorpce a urychlení eliminace před terapií antidoty.

1.1.7 Diagnostika otrav v toxikologii

Otravy (intoxikace) zasahují jak do klinických, tak do forenzních oborů. V případě akutních intoxikací je pro klinického lékaře důležité vědět, čím je pacient otráven, aby mohl zahájit účinnou léčbu. Rovněž v případech nejasných zdravotních změn u pacienta (kvalitativní nebo kvantitativní změna vědomí, křeče a jiné) je toxikologické vyšetření nedílnou součástí diagnostických rozvah.

Forenzní toxikologie se zabývá jednak vyšetřováním biologického materiálu zemřelých osob pro objasnění příčiny úmrtí, jednak interpretuje výsledky toxikologické analýzy ve vztahu k možnému ovlivnění pachatele či oběti u trestných činů a podobně.

Současná moderní toxikologie využívá poznatků vědeckých bádání v oblasti medicíny, biologie, farmakologie, genetiky a jiných odvětví. Pro diagnostiku pak využívá moderní analytické metody a přístroje, které jsou schopny zachytit jedy ve velmi nízkých koncentracích a dokážou identifikovat a rozlišit s velkou přesností a správností množství látek s blízkou strukturou (Balíková, 2007).

Toxikologické vyšetření tedy slouží k objektivizaci otravy či ovlivnění osoby toxikologicky významnou látkou (TVL).

Toxikologické vyšetření je možno rozčlenit do tří na sebe navazujících kroků:

- **indikace toxikologického vyšetření** – užší vymezení požadavku pro toxikologické vyšetření:
 - *diagnostika akutní otravy* – toxikologickou analýzou je možno rychle stanovit, případně upřesnit diagnózu a pomoci usměrnit další léčebný postup

- *kontrola terapie* – toxikologické vyšetření slouží ke kontrole lékařem předepsané terapie nebo dodržování abstinence u odvykací léčby
- *kontrola užívání návykových látek v souvislosti s vykonáváním činností vyžadujících zvýšenou pozornost* – některé látky nepříznivě ovlivňují schopnosti řídit motorové vozidlo nebo vykonávat činnost, která vyžaduje trvalou pozornost
- *v souvislosti s trestnou činností* – průkaz a stanovení koncentrace TVL u pachatelů nebo obětí trestných činů
- *diagnostika příčiny smrti u zemřelých* – určení, zda se TVL podílela nebo spolupodílela na úmrtí pacienta

- **toxikologická analýza** – systematický postup, při kterém se využívá jednotlivých analytických metod k potvrzení nebo vyloučení otravy; toxikologickou analýzu je možno rozčlenit na tři na sebe navazující kroky:
 - *záchyt TVL* – odhalení TVL v biologickém materiálu
 - *identifikace TVL* – přesné určení konkrétní TVL
 - *stanovení koncentrace TVL*
- **interpretace toxikologického nálezu** – konfrontace s anamnézou, klinickým či pitevním nálezem, ve forenzní oblasti pak také interpretace ve vztahu k právní problematice

Předpoklady pro úspěšnou toxikologickou analýzu:

- správný odběr biologického materiálu (BM)
- správné uchování biologického materiálu
- vhodný výběr izolačních postupů
- vhodná volba metod průkazu a stanovení
- správná interpretace výsledků

1.1.7.1 Biologický materiál a jeho odběr k toxikologické analýze

■ Krev

Krev je tekutina, která je odpovědná za distribuci látek v těle. Exogenní látky se po aplikaci řídí kinetickými procesy, které jsou závislé na fyzikálně-chemických vlastnostech látky, způsobu podání apod.

Analýza krve může určit aktuální koncentraci sledované látky v krevním oběhu a dává možnost korelace s farmakologickými účinky a interpretace ve smyslu porovnání s literárně uváděnými terapeutickými, toxickými a letálními hladinami. Koncentrace léčiv v krvi jsou relativně nízké (v závislosti na velikosti dávky, farmakokinetických vlastnostech aj.) a jejich průkaz, resp. stanovení vyžadují specifické a citlivé analytické metody a postupy.

■ Moč

Močí jsou z těla odstraňovány produkty metabolismu endogenních látek a také látky tělu cizí – noxy (xenobiotika), a to buď v nezměněné formě, nebo po předchozí metabolické přeměně (biotransformaci) ve formě metabolitů.

Objem produkované moči je ovlivněn celou řadou faktorů (množství požitých tekutin, stav ledvin atd.). Z tohoto důvodu má moč z hlediska kvantitativní analýzy (stanovení přesné koncentrace sledovaného léčiva) velmi malý význam. Moč má však velký význam pro kvalitativní analýzu. Koncentrace noxy a jejich metabolitů v moči je ve většině případů mnohem vyšší než v krvi a vylučování moči (v závislosti na charakteru noxy, pH moči, diuréze a jiných faktorech) probíhá déle, to znamená, že záchyt sledované látky v moči je možný delší dobu než záchyt v krvi.

V moči bývá většina nox nacházena ve formě polárnějších metabolitů.

Původní forma u některých nox může v moči úplně chybět. Z toxikologického hlediska má tedy analýza moči význam pro průkaz požití nebo aplikace sledované noxy.

■ Žaludeční obsah (výplach)

V žaludečním obsahu většinou nalézáme noxy v původní formě. V tomto biologickém materiálu můžeme očekávat vysoké koncentrace látek po perorálním užití. V žaludečním výplachu můžeme nalézt také bazické látky, které byly aplikovány parenterálně (intravenózně...). Ty se resorbují z krve do žaludečních šťáv. Žaludeční obsah je nepostradatelným BM v případech intoxikací látkami, které se v organismu rozkládají nebo působí pouze místně.

■ Játra a další orgány

V játrech jsou noxy obsaženy ve vyšších koncentracích než v krvi. Jsou proto jedním z nejdůležitějších vzorků pro záchyt nox u zemřelých ve forenzní toxikologii.

Pro forenzní toxikologii zemřelých mají dále význam ledviny, mozek a žluč; v případech silně hnilobně změněného těla, kdy aktuální koncentrace noxy v době smrti může být výrazně ovlivněna postmortálními vlivy, mohou být užitečné mozkomíšní mok nebo sklivec, které neobsahují enzymy a nejsou mikrobiálně kontaminovány.

■ Alternativní materiály

S rozvojem citlivých analytických metod se rozšířily i možnosti záchytu cizorodých látek v jiných než tzv. „klasických“ materiálech. Jde především o analýzu slin, potu a vlasů, u novorozenců pak o analýzu smolky (mekonia).

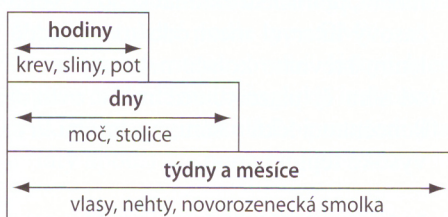
Sliny – Sliny patří mezi snadno získatelné biologické materiály. Záchyt léčiv (případně návykových látek) ve slinách vyžaduje citlivé a specifické analytické metody.

Pot – Pot je z 90 % tvořen vodou a rychlost tvorby potu je běžně kolem 20 ml/h, krátkodobě může být vyšší než 1 ml/min. V potu je rovněž možné provádět záchyt nox. Nález ukazuje na aktuální aplikaci prokázané látky. Koncentrace v potu jsou nízké a vyžadují citlivé a specifické analytické metody.

Vlasy – Ve vlasech je možný záchyt nox (včetně léčiv a návykových látek), které jsou užívány nebo zneužívány chronicky. Vlasy rostou rychlostí 0,7 až 1,5 cm za měsíc, a je proto možno provádět segmentovou analýzu u chronicky užívaných látek.

Mekonium – První stolicí novorozence je mekonium (smolka). Tvoří se asi od 10.–12. týdne těhotenství a analýzou je možné prokázat dlouhodobé užívání nebo zneužívání léčiv a návykových látek matkou během těhotenství (Moffat, 2004; Fenton, 2001; Vorel, 1999).

Dobu, po kterou lze prokázat toxikologicky významné látky v různých biologických materiálech, ukazuje obrázek (Balíková, 2007).



Zásady odběru a skladování biologického materiálu:

- odběr materiálu do zcela čistých nádob
- odběr každého druhu biologického materiálu do zvláštní nádoby

- označení každého materiálu štítkem (jméno osoby, druh materiálu, datum a hodina odběru)
- v případě materiálu (moč, krev) odebraného ke zjištění koncentrace těkavých látek nutno naplnit zkumavku až po okraj a dokonale utěsnit (viz Forenzní alkoholologie – kap. 1.6.5)
- materiál zajistit proti rozlití a rozbití
- s každým materiálem zaslat dokumentaci (průvodku, žádanku) s podrobnými údaji o daném případě
- biologický materiál nekonzervovat chemicky
- biologický materiál uchovávat v uzavřené nádobě v chladu (lednice), v případě delšího skladování BM zamrazit

Odběr biologického materiálu u zemřelých osob:

- krev (1 až 2 zkumavky po 10 ml):
 - pro kvalitativní analýzu není důležitá lokalizace
 - pro kvantitativní analýzu je nutný odběr z periferní oblasti (je doporučen odběr z vén dolní končetiny)
- moč (veškerá)
- žaludeční obsah, část obsahu tenkého střeva (100 ml)
- orgány (játra, plíce, mozek) po cca 100 g, ledvina jedna celá
- další možný biologický materiál: sklivec, žluč, vlasy aj.

Odběr biologického materiálu k vyšetření alkoholu a těkavých látek:

viz Forenzní alkoholologie – kap. 1.6.5

Odběr biologického materiálu k vyšetření léků a drog:

Pro toxikologické vyšetření léků a drog je kvalitativní vyšetření prioritně prováděno z moči, u akutních intoxikací také ze žaludečního obsahu (výplachu). V krvi je následně prováděna (na vyžádání) kvantifikace prokázaných látek.

Moč – Odběr se provádí vždy do čistých suchých nádob; pokud byl použit na umytí nádob dezinfekční prostředek, je nutno provést řádný výplach, neboť stopy dezinfekčních prostředků mohou vést ke zkreslení výsledku. Doporučené množství moči k toxikologickému vyšetření je minimálně 50 ml, ale platí, že „čím více, tím lépe“, a zároveň „něco lepší než nic“.

Žaludeční obsah – Používá se první podíl výplachu žaludku (případně zvratky), minimálně 50 ml.

Krev – Odebírá se minimálně 10 ml srážlivé krve, v případě kvantifikace (zjištění koncentrace) prokázaných tox je nutný odběr dvou zkumavek krve.

Odběr biologického materiálu u otrav houbami:

- pro instrumentální analýzu krev a moč
- pro mikroskopické vyšetření přítomnosti výtrusů první podíl žaludečního obsahu (výplachu); případně střevní výplach – při delším časovém intervalu mezi požitím hub a hospitalizací
- zbytky hub a požitého jídla (pokud jsou k dispozici)

Odběr biologického materiálu pro speciální vyšetření (např. novorozenci):

- smolka – maximální množství
- moč – maximální množství
- vlasy – maximální množství

Odběr biologického materiálu při intoxikacích oxidem uhelnatým (COHb):

- zkumavka nesrážlivé krve

Odběr biologického materiálu k vyšetření vlasů:

Provádí se například při podezření na dlouhodobé zneužívání návykových látek. Odběr se provádí odstřížením pramene vlasů tloušťky tužky, a to u hlavy z týlní krajiny. Pramen je nutno před

odstřížením dole svázat, aby byla zachována jeho celistvost a byl označen směr růstu vlasů.

Chyby při odběrech, skladování a transportu vzorků:

- *Chyby při přípravě nemocného* – V době odběru anebo těsně před odběrem dostal pacient infuzi, případně byl odběr krve proveden z místa, kde je infuze zavedena.
- *Chyby vedoucí k hemolýze vzorku* – Hemolýza znemožňuje většinu toxikologických vyšetření zejména proto, že řada látek přešla z erytrocytů do séra či plazmy nebo zbarvení interferuje s vyšetřovacím postupem. Hemolýzu může způsobit znečištění skla stopami saponátů a dezinfekčních prostředků, použití příliš tenké jehly, kterou se pak krev násilně nasává, prudké vystříknutí krve ze stříkačky do zkumavky, stékání krve po povrchu kůže a následné nabírání do zkumavky, prudké třepání krve ve zkumavce, transfer potrubní poštou, dlouhodobé uskladnění plné krve v lednici (prodloužení doby mezi odběrem a dodáním do laboratoře).
- *Chyby při skladování a transportu* – Nedostatečné označení zkumavky s materiálem, potřísnění zkumavky krví, velký časový interval mezi odběrem a oddělením krevního koláče nebo erytrocytů od séra či plazmy, což může ovlivnit koncentraci léků v séru, vystavení krve vysoké teplotě apod.

Informace důležité pro úspěšnou toxikologickou analýzu (Staňková, 2014):

- *u živých osob* – stav pacienta, příznaky, informace, zda je na něco léčen, vpichy, poleptání, zbarvení ústní dutiny, biochemické parametry (acidóza, jaterní testy...), medikace podávaná před odběrem BM, časové údaje atd.

- *u zemřelých osob* – okolnosti případu, charakteristický pitevní nález atd.

1.1.7.2 Izolace toxikologicky významných látek z biologického materiálu

Účelem izolace je oddělit a zkoncentrovat hledané látky z biologického materiálu.

Izolace pro účely kvalitativní analýzy:

- screeningové extrakční postupy, které mají široký záběr látek (i za cenu určitých ztrát)
- volba podle použité metody identifikace (TLC, GC-MS, LC-MS)
- není důležitá 100% výtěžnost
- jednoduché, rychlé a technicky nenáročné

Izolace pro účely kvantitativní analýzy:

- postupy cíleně zaměřené podle typu stanovované látky
- volba podle použité metody stanovení (GC-MS, LC-MS, UV-VIS fotometrie)
- důležitá je výtěžnost (recovery) – optimálně 80–100 %

Interferující látky:

- fyziologické součásti biologického materiálu (různé podle typu BM)
- metabolity stanovované látky, které jsou často farmakologicky inaktivní
- kontaminace z okolního prostředí (řetlaty apod.)

Nejčastěji používanou metodou izolace medikamentů a návykových látek je **extrakce**, jejímž principem je převedení hledané látky z biologického materiálu do organického rozpouštědla:

- frakční extrakce – látky se rozdělí podle extrahovatelnosti z kyselého, neutrálního a alkalického prostředí

- screeningové postupy extrakce – jsou jednoduché, rychlé, s nejširším záběrem látek, není zde kladen důraz na co největší výtěžnost a čistotu extraktů
- cílené postupy extrakce – jsou zaměřeny na určité skupiny látek nebo jednotlivé látky s velkým důrazem na výtěžnost a čistotu v závislosti na použité detekční metodě

V praxi se nejčastěji používají dvě skupiny extrakčních technik:

- extrakce kapalina-kapalina (dvě navzájem nemísitelné kapaliny)
- extrakce na pevných fázích (solid phase extraction – SPE)

Nejčastěji užívaným rozpouštědlem je diethyléter, dále pak dichlormetan, chloroform, n-hexan aj.

Před vlastní extrakcí je pro určité typy látek nutné vzorek BM upravit např. deproteinací nebo hydrolýzou. Deproteinace se používá hlavně při zpracování krve a orgánů (játra, ledvina...). Nejčastěji se používá amoniumsulfátová deproteinace, tj. síranem amonným v kyselém prostředí (vhodná pro následnou izolaci bazických látek). Hydrolýza se používá k uvolnění látek z konjugační vazby, neboť řada toxů a jejich metabolitů se močí vylučuje ve formě konjugátů, které jsou dobře rozpustné ve vodě. Nejužívanější postupy hydrolýzy jsou:

- kyselá hydrolýza – uvolnění varem s minerální kyselinou (nejčastěji HCl), přičemž u některých látek vznikají produkty odlišné od původních látek (např. u benzodiazepinů vznikají benzofenony)
- alkalická hydrolýza – uvolnění vazby v prostředí alkalického hydroxidu
- enzymatická hydrolýza – hydrolýza pomocí beta-glukuronidázy (nebo ve směsi s arylsulfatázou), je nejšetrnější, ale ne vždy dostatečně účinná

Méně časté postupy používané při přípravě vzorku před izolací TVL jsou dialýza, mineralizace a destilace.