

MAGDALENA MAKARSKA*, ANDRZEJ L. DAWIDOWICZ*

*Analiza leków w niekonwencjonalnych matrycach
i płynach ustrojowych za pomocą różnych technik
analitycznych*

Drug analysis in nonconventional human body materials
by means of different analytical techniques

1. NIEKONWENCJONALNE MATRYCE I PŁYNY USTROJOWE

W większości testów laboratoryjnych oraz innych badań prowadzonych w celu określenia zawartości leków i ich metabolitów w płynach ustrojowych używa się zazwyczaj tylko krwi lub jej frakcji (głównie osocza) oraz moczu. Tymczasem inne płyny i matryce fizjologiczne są równie przydatne, dostarczając nam niekiedy więcej informacji niż możemy uzyskać badając podstawowe media analityczne. Do chwili obecnej analizowano występowanie i działanie leków w kilkunastu substancjach, takich jak: ślina, łzy, włosy, pot, paznokcie, płyn mózgowo-rdzeniowy, wydzielina oskrzelowa, płyn otrzewnowy, płyn śródtkankowy, żółć, kał, krew płodowa, płyn owodniowy, mleko kobiece, śluz szyjki macicy, nasienie [1]. W dalszej części niniejszego artykułu substancje te będą dość często określane mianem matrycy. Wśród nich jedynie ślina może być stosowana w terapeutycznym monitorowaniu leków jako substytut krwi. Analiza włosów czy paznokci umożliwia natomiast odczytanie indywidualnej historii leczenia pacjenta. Obecność leków i ich metabolitów w żółci czy kale pozwala nam na wykazanie istnienia innej niż przez układ moczowy drogi wydalania

* Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin.

substancji leczniczych z organizmu. Analiza łez, potu, płynu mózgowo-rdzeniowego, wydzieliny oskrzelowej, płynu otrzewnowego czy śródtkankowego pomaga wyjaśnić sposób działania farmaceutyków w określonych miejscach organizmu. Monitorując leki w śluzie szyjki macicy i nasieniu można ocenić zmiany morfologiczno-fizjologiczne i tzw. efekt genotoksyczny (genetyczne i komórkowe uszkodzenie narządów rozrodczych), powodowany szkodliwym działaniem leków. Natomiast badania mleka kobiecego, krwi płodowej i płynu owodniowego dostarczają informacji dotyczących możliwości narażenia płodu czy noworodka na toksyczne działanie leków przyjmowanych przez matkę.

Biorąc powyższe pod uwagę należy stwierdzić, że współczesna medycyna i nauki jej pokrewne coraz częściej zajmują się analizą leków nie tylko we krwi i moczu, ale również w innych tkankach organizmu, a także substancjach przez niego wytwarzanych. Zawartość leku w płynach i matrycach ciała ludzkiego zależy przede wszystkim od transportu tego leku do badanego medium. Z tego też względu istotne wydaje się omówienie właśnie mechanizmu transportu leków do niektórych płynów i matryc organizmu ludzkiego.

2. MECHANIZMY TRANSPORTU LEKÓW DO POSZCZEGÓLNYCH MATRYC

Aby lek mógł zadziałać we właściwy i charakterystyczny dla siebie sposób, musi się znaleźć w określonym miejscu organizmu, osiągając stężenie terapeutyczne. Chociaż leki podawane są zawsze w ściśle dobranych ilościach, to ich stężenie, które osiągają w organizmie, zależy od stopnia i szybkości sorpcji leku, jego redystrybucji, siły związania, umiejscowienia w tkance, biotransformacji i sposobu wydalenia [2]. Powodzenie stosowanej terapii wiąże się więc zarówno z doborem dawki aplikowanego leku, jego właściwościami fizykochemicznymi, metabolizmem [3], jak również z odpowiednim sposobem jego podania (doustnie, dożylnie, domięśniowo czy do określonego miejsca ciała).

Na obecnym poziomie rozwoju analityki klinicznej monitorowane i analizowane są już prawie wszystkie klasy leków. Materiał badań stanowią między innymi leki antyarytmiczne, antydepresyjne, leki przeciw grypowe, hipnotyczne, uspokajające, sterydy, barbiturany. Najczęściej jednak w materiale niekonwencjonalnym poddaje się analizie trzy grupy leków: antybiotyki (gentamycynę, ampicilinę), środki uzależniające (opium, morfinę, kokainę, amfetaminę) oraz używki (nikotynę, kofeinę). W cytowanej literaturze brak kompleksowych danych dotyczących zestawienia wszystkich badanych leków w każdej ze wspomnianych we wstępie matryc. Można jednak zauważyć, że jednymi z chętniej

analizowanych w materiale biologicznym są leki przeciwdrgawkowe – karbamazepina (w ślinie, płynie mózgowo-rdzeniowym, żółci, mleku kobiecym, nasieniu) i fenytoina (w ślinie, płynie mózgowo-rdzeniowym, mleku kobiecym, nasieniu)[1]. Monitorowanie wymienionych klas i poszczególnych przykładów leków wpływa zapewne z ich częstego stosowania w terapii oraz związanej z tym konieczności lepszego poznania mechanizmu ich działania.

W większości przypadków leki podane pacjentowi docierają do krwi, która transportuje je do innych części ciała. Z uwagi na znaczenie informacji, jakie możemy uzyskać badając lek w licznych substancjach i tkankach ciała ludzkiego, od dawna prowadzone są prace mające na celu poznanie szczegółowego mechanizmu transportu leków w organizmie. Do klasycznych należą dziś publikacje opisujące badanie mechanizmu przechodzenia leków z krwi do śliny, płynu mózgowo-rdzeniowego, żółci, płynu owodniowego, kobiecego mleka, nasienia i włosów; w przypadku innych substancji pozostaje on w dalszym ciągu nieznany [2–4].

Do płynów i matryc leki przechodzą przeważnie na zasadzie dyfuzji biernej [2, 7], przy czym ten proces zależy od fizykochemicznych właściwości leku (masy cząsteczkowej, objętości cząsteczki, stałych dysocjacji, rozpuszczalności w tłuszczach i stopnia wiązania się z białkami, itp.). W przypadku związków lipofilowych stosunek całkowitego stężenia leku (formy jonowej i niejonowej) w płynie fizjologicznym, który jest oddzielony od osocza za pomocą bariery lipidowej, do stężenia tego leku we krwi może być wyrażony zmodyfikowaną wersją równania Hendersona-Hasselbalcha (definiującego parametry równowagi kwasowo-zasadowej organizmu [5]):

$$\frac{C_F}{C_P} = \frac{1 + 10(pH_F - pK_A)}{1 + 10(pH_P - pK_A)} \quad \text{w przypadku słabych kwasów}$$

$$\frac{C_F}{C_P} = \frac{1 + 10(pH_A - pK_F)}{1 + 10(pH_A - pK_P)} \quad \text{w przypadku słabych zasad}$$

gdzie C_F i C_P – całkowite stężenie leku w płynie (*fluid*) i we krwi (*plasma*); pK_A – ujemny logarytm ze stałej dysocjacji kwasowej dla leku; pH_F i pH_P – ujemne logarytmy ze stężenia jonów wodorowych w płynie i we krwi.

Równanie to oznacza, że nie związane z białkiem leki (powszechnie przyjmuje się, że tylko takie mają znaczenie terapeutyczne [6]), które są słabymi

zasadami, będą się gromadzić w płynach, których pH jest niższe niż pH krwi (pH krwi w temperaturze ciała $36,6^{\circ}\text{C}$ wynosi $7,35\text{--}7,45$). Odwrotna sytuacja ma miejsce, gdy leki są słabymi kwasami. Jedynie wówczas, gdy lek znajdzie się w płynie o pH zbliżonym do pH krwi, jego stężenie w obu środowiskach będzie podobne. W przypadku leków, które nie są ani kwasami, ani zasadami, stosunek stężenia w płynie do stężenia we krwi będzie zbliżony do jedności.

Nieco inaczej wygląda sytuacja w przypadku transportu leków do włosów. Do chwili obecnej uważano, że leki przenoszone są do włosów z krwi tylko na zasadzie dyfuzji biernej, tzn. dostają się do rozwijających się komórek u podstawy torebki włosowej, gdzie wbudowywane zostają w trzon włosa dzięki włóknom keratyny. Ostatnie badania ujawniają jednak istnienie bardziej złożonego modelu tego transportu, uwzględniającego jednocześnie istnienie kilku mechanizmów, które zachodzą we wszystkich stadiach rozwoju włosa [7]. Model ten zakłada, że lek może być przenoszony zarówno podczas pierwszej fazy formowania się trzonu włosa (dzięki krwi dopływającej do torebki włosowej), jak i wtedy, gdy włos jest już w pełni uformowany. W tym drugim przypadku leki dostają się do włosa wraz z wydzielinami gruczołów łojowych i potowych lub pochłaniane są ze środowiska zewnętrznego, razem z zanieczyszczeniami wody i powietrza oraz stosowanymi kosmetykami. Ponadto leki transportowane są do włosa z różnych części ciała (np. ze skóry) oraz tkanek otaczających torebkę włosową. Zauważono, że pewną rolę w procesie przenoszenia odgrywa także zawartość melaniny [7]. Co więcej, wydaje się, że mechanizm przenoszenia leku może być specyficzny, tzn. zależny od indywidualnych parametrów każdego leku.

Warto zwrócić uwagę na to, iż wspomniane tu mechanizmy mogą zachodzić nie tylko w przypadku włosów, ale również innych rozpatrywanych mediów fizjologicznych. W tej sytuacji celowe wydaje się prowadzenie dalszych wnikliwych badań, które umożliwiłyby dogłębne wyjaśnienie wpływu wszelkich mechanizmów transportu w odniesieniu do poszczególnych tkanek czy substancji wytwarzanych przez organizm.

3. TECHNIKI ANALITYCZNE WYKORZYSTYWANE DO OZNACZANIA LEKÓW

O skuteczności działania środków leczniczych w określonym miejscu organizmu możemy się przekonać oznaczając stężenie leków w odpowiednim materiale fizjologicznym. W zależności od warunków i celu analizy, a przede wszystkim od składu chemicznego oraz parametrów fizykochemicznych zarów-

no oznaczanego leku, jak i matrycy, w której jest on badany, wykorzystuje się różne techniki analityczne: niechromatograficzne oraz chromatograficzne [8] (Tab. 1).

Tab. 1. Techniki analityczne najczęściej stosowane w analizie leków
The most popular analytical techniques used in drug concentration monitoring

NIECHROMATOGRAFICZNE	CHROMATOGRAFICZNE
RIA – radioimmunologiczne	TLC – chromatografia cienkowarstwowa
EMIT – enzymoimmunologiczne	HPLC – wysokosprawna chromatografia cieczowa
CE – elektroforetyczne	GC – chromatografia gazowa
	GCMS – sprzężenie chromatografii gazowej ze spektrometrią masową

RIA – **R**adioimmunoassay

EMIT – **E**zyme-**m**ultiplied immunoassay technique

CE – **C**apillary electrophoresis

TLC – **T**hin layer chromatography

HPLC – **H**igh performance liquid chromatography

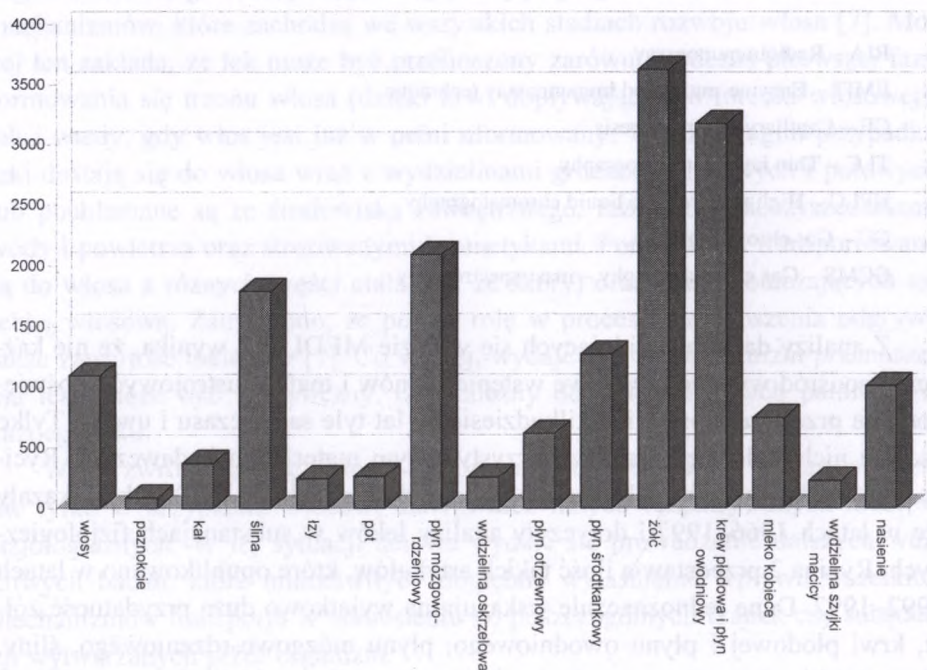
GC – **G**as chromatography

GCMS – **G**as chromatography – **m**ass spectrometry

Z analizy danych znajdujących się w bazie MEDLINE wynika, że nie każdemu spośród wymienionych we wstępie płynów i matryc ustrojowych poświęcono na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat tyle samo czasu i uwagi. Tylko sześć z nich stało się często wykorzystywanym materiałem badawczym. Rycina 1 przedstawia ilość publikacji (wg bazy danych MEDLINE), jakie ukazały się w latach 1966–1997 i dotyczyły analizy leków w substancjach fizjologicznych. Rycina 2 przedstawia ilość takich artykułów, które opublikowano w latach 1992–1997. Dane jednoznacznie wskazują na wyjątkowo dużą przydatność żółci, krwi płodowej i płynu owodniowego, płynu mózgowo-rdzeniowego, śliny, płynu śródtkankowego oraz włosów jako matryc. Stosunki liczbowe publikacji poświęconych poszczególnym matrycom pozostają podobne w obu rozważanych okresach. Znaczne zainteresowanie takim a nie innym materiałem badawczym wskazuje, że jedynie niektóre z matryc mogą na równi z krwią i moczem stać się w przyszłości standardowym materiałem analitycznym.

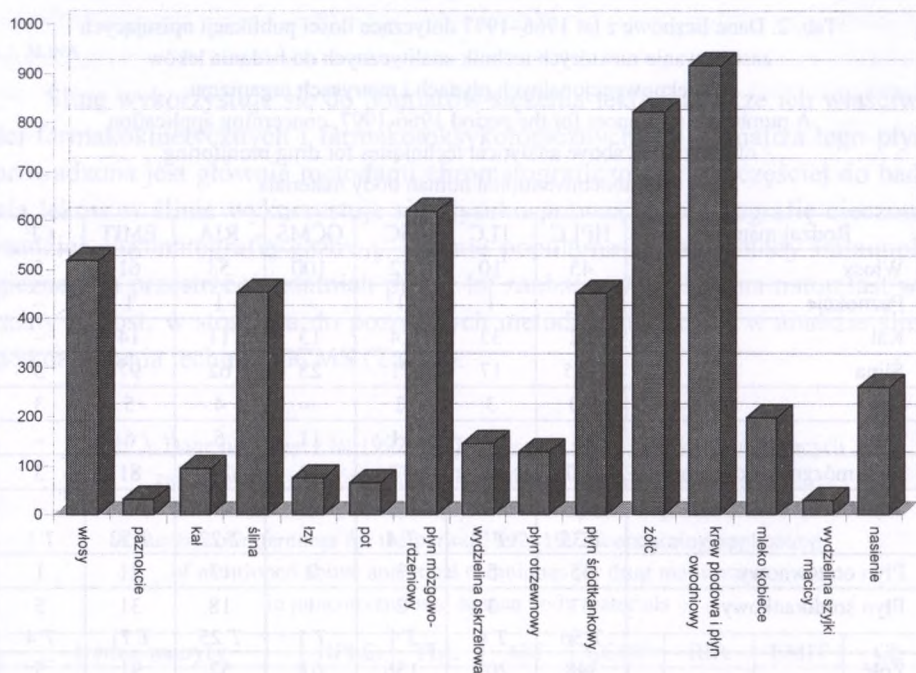
Tabele 2 i 3 przedstawiają ilość publikacji dotyczących badania leków w materiale fizjologicznym, lecz z uwzględnieniem zastosowania rozmaitych technik analitycznych. Tabela 2 odnosi się do lat 1966–1997, natomiast Tabela

3 do lat 1992–1997. Obie tabele umożliwiają ocenę popularności poszczególnych metod analitycznych. Techniki niechromatograficzne są wykorzystywane rzadziej niż techniki chromatograficzne. Fakt ten, w przypadku metod immunologicznych, spowodowany jest zapewne ich mniejszą selektywnością i specyficznością. Metody immunologiczne nadają się przede wszystkim do oznaczania różnych klas związków, a mniej do analizy pojedynczych leków. Niewielka liczba publikacji na temat analizy farmaceutyków metodami elektromigracyjnymi wiąże się ze stosunkowo krótkim, w porównaniu z innymi metodami, czasem ich stosowania. Różne warianty elektroforezy kapilarnej rozwijają się jednak ostatnio w zawrotnym tempie [9], co spowoduje zapewne zwiększenie ilości oznaczeń przeprowadzanych za ich pomocą.



Ryc. 1. Dane liczbowe z lat 1966–1997 dotyczące ilości publikacji opisujących analizę leków w niekonwencjonalnych płynach i matrycach organizmu

A number of references for the period 1966–1997, concerning drug monitoring in nonconventional human body materials



Ryc. 2. Dane liczbowe z lat 1992–1997 dotyczące ilości publikacji opisujących analizę leków w niekonwencjonalnych płynach i matrycach organizmu
 A number of references for the period 1992–1997, concerning drug monitoring in nonconventional human body materials

Ocena zaprezentowanych danych dowodzi jednoznacznej hegemonii metod chromatograficznych w dziedzinie analityki leków oznaczanych w materiale biologicznym. Odpowiednia czułość tych metod, ich selektywność i precyzja, a także możliwość badania przy ich zastosowaniu większości matryc fizjologicznych, gwarantują osiągnięcie najlepszych rezultatów.

Złożoność i zróżnicowanie materiału biologicznego wymaga zazwyczaj zastosowania odpowiedniej metody przygotowania reprezentatywnej próbki lub użycia stosownie zmodyfikowanej aparatury. Z tego też względu publikacje dotyczące wykorzystania wzmiankowanych technik analitycznych, a szczególnie chromatograficznych, w głównej mierze poświęcone są tym właśnie problemom [10–13].

Tab. 2. Dane liczbowe z lat 1966–1997 dotyczące ilości publikacji opisujących zastosowanie niektórych technik analitycznych do badania leków w niekonwencjonalnych płynach i matrycach organizmu

A number of references for the period 1966–1997, concerning application of mentioned above analytical techniques for drug monitoring in nonconventional human body materials

Rodzaj matrycy	HPLC	TLC	GC	GCMS	RIA	EMIT	CE
Włosy	45	10	72	100	53	61	5
Paznokcie	4	1	1	–	1	1	–
Kał	62	33	24	13	11	14	–
Ślina	125	17	71	23	62	97	5
Łzy	20	3	2	–	4	5	3
Pot	7	–	11	11	5	6	–
Płyn mózgowo-rdzeniowy	137	13	47	19	71	81	3
Wydzielina oskrzelowa	8 <i>T 35</i>	– <i>T 3</i>	1 <i>T 4</i>	– <i>T 4</i>	8 <i>T 22</i>	14 <i>T 53</i>	– <i>T 1</i>
Płyn otrzewnowy	45	5	3	2	17	21	1
Płyn śródtkankowy	67 <i>T 56</i>	3 <i>T 4</i>	2 <i>T 1</i>	1 <i>T 1</i>	18 <i>T 25</i>	31 <i>T 71</i>	5 <i>T 4</i>
Żółć	348	207	156	61	52	91	5
Krew płodowa i płyn owodniowy	82	23	52	15	115	137	2
Mleko kobiece	53	8	37	9	20	27	1
Wydzielina szyjki macicy	–	2	2	–	10	8	–
Nasienie	34	12	11	4	39	41	–

T – dotyczy ilości publikacji wyszukanych z wykorzystaniem opcji Thesaurus

4. ANALIZA LEKÓW W NIEKONWENCJONALNYCH PŁYNACH I MATRYCACH USTROJOWYCH

Analiza leków zawartych we wspomnianych we wstępie substancjach wiąże się z odrębnymi problemami i metodami postępowania. Wynikają one nie tylko ze zróżnicowanego składu omawianych substancji czy ich specyficznych właściwości, ale także z różnego stopnia dostępności samej matrycy. Pomimo iż poszczególnym matrycom poświęcono w literaturze odmienną ilość publikacji, w chwili obecnej można już nakreślić indywidualny obraz analizy leków w przypadku każdej z nich.

4.1. ŚLINA

Ślinę wykorzystuje się do pomiarów stężenia leków, a także ich właściwości farmakokinetycznych i farmakotoksykologicznych [14]. Analiza tego płynu prowadzona jest głównie metodami chromatograficznymi. Najczęściej do badania leków w ślinie wykorzystuje się wysokosprawną chromatografię cieczową, rzadziej chromatografię gazową. Równie popularne są też metody immunologiczne. Na przestrzeni ostatnich pięciu lat zaobserwować można natomiast wyraźny wzrost, w stosunku do pozostałych metod stosowanych w analizie śliny, wykorzystania techniki GCMS (Tab. 3).

Tab. 3. Dane liczbowe z lat 1992-1997 dotyczące ilości publikacji opisujących zastosowanie niektórych technik analitycznych do badania leków w niekonwencjonalnych płynach i matrycach organizmu
A number of references for the period 1992-1997, concerning application of mentioned above analytical techniques for drug monitoring in nonconventional human body materials

Rodzaj matrycy	HPLC	TLC	GC	GCMS	RIA	EMIT	CE
Włosy	34	3	55	89	33	42	4
Paznokcie	1	–	–	–	–	–	–
Kał	23	4	9	5	3	5	–
Ślina	43	2	13	9	11	33	4
Łzy	8	–	–	–	3	3	2
Pot	5	–	10	10	2	3	–
Płyn mózgowo – rdzeniowy	57	4	8	4	23	30	2
Wydzielina oskrzelowa	4 T 18	– T 1	1 T 4	–	5 T 11	10 T 32	–
Płyn otrzewnowy	4	–	1	–	4	5	–
Płyn śródtkankowy	43 T 39	2 T 3	2 T 1	1 T 1	6 T 14	15 T 44	5 T 4
Żółć	112	13	29	14	14	40	4
Krew płodowa i płyn owodniowy	34	1	11	5	24	52	1
Mleko kobiece	27	1	5	1	9	10	1
Wydzielina szyjki macicy	–	–	–	–	2	1	–
Nasienie	19	4	–	1	10	10	–

T – dotyczy ilości publikacji wyszukanych z wykorzystaniem opcji Thesaurus

Ślina jest najczęściej używanym w zastępstwie krwi płynem ustrojowym. Ostatnio prowadzone badania wskazują nawet, że niejednokrotnie jest ona lepszym materiałem analitycznym niż krew [15–17]. Duża użyteczność śliny wynika z kilku powodów:

- pobieranie jej jest łatwiejsze i mniej kosztowne niż krwi;
- badanie stężenia leków w ślinie jest szczególnie korzystne wtedy, kiedy ma się do czynienia z dziećmi, osobami starszymi i kobietami w ciąży, a także w sytuacjach, w których nie należy denerwować pacjenta, drażnić skóry i narażać na ryzyko infekcji [18];
- pobieranie śliny jest wskazane szczególnie wówczas, gdy trzeba przygotować wiele próbek oraz w sytuacji leczenia pacjenta w domu [19];
- pobieranie śliny jest wygodne podczas badania leków, gdy rytm dobowy ma wpływ na ich parametry farmakokinetyczne [20].

Do oznaczeń w ślinie najbardziej nadają się leki występujące w formie niejonowej (np. przeciwpadaczkowe). Analizowane są w niej także substancje uzależniające (*abuse drugs*). Z publikacji poświęconych oznaczaniu tych substancji w ślinie wynika [23], że doustne czy donosowe używanie narkotyków zawyża ich stężenie w ślinie, w porównaniu ze stężeniem stwierdzonym przy przyjmowaniu dożylnym. Analiza leków w tej matrycy znajduje często zastosowanie w toksykologii, medycynie sądowej oraz przy oznaczaniu efektów palenia czynnego i biernego [21–22]. Ślinę wykorzystuje się także do badania interakcji między lekami (gdy pacjent przyjmuje kilka rodzajów leków równocześnie), przy szacowaniu stopnia zaawansowania choroby (np. przy schorzeniach wątroby), a także w badaniu indywidualnych zdolności pacjenta do metabolizowania leków [24].

4.2. ŁZY

Łzy stanowią konkurencyjny w stosunku do śliny przedmiot badań. Zdecydowanie najczęściej stosowaną techniką analityczną w przypadku tego płynu jest HPLC. Trudno jest natomiast znaleźć publikacje opisujące wykorzystanie metody GCMS do badania leków we łzach. Próbkę łez pobierane są równie bezboleśnie, jak próbki śliny, a niewielkie stężenia leków w małej objętości płynu mieszczą się jeszcze w granicach wykrywalności powszechnie stosowanej aparatury analitycznej. Niektórzy autorzy uważają [25], że łzy, szczególnie uzyskane na skutek podrażnienia gruczołów łzowych, stanowią bardziej homogeniczny niż ślina i stały pod względem składu materiał biologiczny. Kolejną zaletą tego płynu jest występowanie w nim leków w postaci wolnej, nie związanej z białkiem [26–27]. Może to być powodem uznania łez za medium, które służyłoby

do określania nie związanej z białkiem frakcji leku u pacjentów dorosłych i dzieci. Niestety, stwierdzono [1], że charakterystyczne pH łez ($pH = 7,35$), determinujące stężenie leków w tym płynie, uniemożliwia wykonanie prawidłowych oznaczeń w przypadku wszystkich klas leków. Dodatkowe badania wykazały, że właściwie tylko leki niejonowe i leki kwaśne o wysokiej wartości pK_a przechodzą z krwi do łez w przewidywalnych ilościach. Dlatego monitorowanie stężenia leków w tym płynie nie nadaje się do rutynowej analizy medycznej, a jedynie do badań pomocniczych.

4.3. POT

Pot jako materiał badawczy nie osiągnął do tej pory dużego znaczenia. Wynika to głównie ze skomplikowanej procedury pobierania próbek (dostarcza zbyt małych ilości materiału badawczego). Wiąże się to z koniecznością stosowania bardzo czułych metod analitycznych [25]. Dlatego analizę potu do chwili obecnej prowadzono używając przede wszystkim chromatografii gazowej oraz jej sprzężenia ze spektrometrią masową. Znane są w literaturze prace opisujące wykorzystanie tej matrycy do analizy niektórych leków [28–29], zwłaszcza uzależniających [30], a szczególnie u osób zażywających amfetaminę i metamfetaminę [31].

Interesującym problemem jest poszukiwanie wzajemnych korelacji między zawartością leków w pocie oraz we włosach. Wiąże się to z tym, że gruczoły potowe i łojowe umiejscowione są w bliskiej odległości od mieszków włosowych. Z tego też względu mogą odgrywać znaczącą rolę w przenoszeniu leków do rdzenia włosa. Badania kinetyki transportu leków z potu do włosów, przeprowadzone na podstawie analizy leków uzależniających, potwierdziły istnienie wzajemnych związków [7] między wspomnianymi dwoma elementami.

4.4. PŁYN MÓZGOWO-RDZENIOWY

Płyn mózgowo-rdzeniowy badano, podobnie jak ślinę, wykorzystując wszystkie ważniejsze techniki analityczne. Najwięcej publikacji na temat analizy leków w omawianym medium wiąże się ze stosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Tab. 2 i 3). Dużą rolę w badaniach tego płynu odgrywają także techniki immunologiczne.

Analiza płynu mózgowo-rdzeniowego dostarcza wielu ważnych informacji, związanych szczególnie z chorobami układu nerwowego. W płynie tym oznacza się przede wszystkim stężenia leków antybakteryjnych, podawanych w przypadkach jego infekcji (czasem te leki podaje się nawet bezpośrednio do rdzenia [32]), a także leków mających zdolność przechodzenia przez barierę krew–mózg

[33–35]. Ze względu na duże trudności przy pobieraniu materiału oraz ból, jaki temu zabiegowi towarzyszy, płyn mózgowo-rdzeniowy nie jest jednak badany często.

4.5. PŁYN OTRZEWNOWY

Jednym z istotnych materiałów badawczych u pacjentów poddawanych stałej dializie otrzewnowej (np. na skutek niektórych infekcji bakteryjnych) jest płyn otrzewnowy [36]. W celu analizy tego materiału wykorzystuje się najczęściej technikę HPLC, a ponadto metody radio- i enzymoimmunologiczne. Rezultaty uzyskane na podstawie analizy gentamycyny, vancomycyny i cefoksytyny w wymienionym medium wykazały między innymi, że antybiotyki te podawane dootrzewnowo osiągają duży efekt terapeutyczny, podczas gdy podane dożylnie praktycznie nie docierają do płynu otrzewnowego [36]. Wnioski dotyczące zagadnienia, na ile analiza płynu otrzewnowego jest istotna w przypadku innych leków, są jednak niepełne, gdyż do tej pory ten płyn pobiera się tylko od pacjentów z poważnymi schorzeniami, wymagającymi przeprowadzenia dializy.

4.6. PŁYN ŚRÓDTKANKOWY

Doustne lub dożylnie podawanie leku niejednokrotnie jest utrudnione. W niektórych przypadkach (np. u noworodków) lepsze rozwiązanie stanowi bezpośrednia aplikacja leków na skórę. Taka droga podawania leków nie zawsze jednak przynosi pozytywne rezultaty, gdyż dana substancja może przeniknąć przez tę barierę biologiczną jedynie wtedy, gdy ma odpowiednie właściwości fizykochemiczne i farmakokinetyczne [37, 40].

Stopień wchłaniania niektórych leków przez skórę badano wykorzystując właśnie płyn śródtkankowy i stosując różne techniki analityczne. Wśród tych ostatnich zdecydowanie dominuje metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Tab. 2 i 3). Płyn śródtkankowy pobiera się od dorosłych i noworodków z pęcherzy skórnych [38], przy czym w przypadku niemowląt wykorzystuje się specjalne techniki nieinwazyjne [39].

4.7. WYDZIELINA OSKRZELOWA

Leki podawane domięśniowo lub dożylnie do organizmu pacjenta nie zawsze docierają tam, gdzie są najbardziej potrzebne. W przypadku występowania infekcji lokalnych sytuacja taka prowadzić może nawet do rozprzestrzenienia infekcji.

Aby określić najlepszą drogę podawania leków pacjentom z chorobami układu oddechowego, zazwyczaj monitoruje się stężenia tych leków w wydzie-

linie oskrzelowej. Najczęściej wydzielinę oskrzelową analizuje się przy zastosowaniu technik enzymoimmunologicznych. W równym stopniu używa się też metod radioimmunologicznych i HPLC. Inne techniki wykorzystuje się sporadycznie. Przykładem rezultatów badań wydzieliny oskrzelowej może być określenie zdolności do przenikania przez barierę pęcherzykowo-włośniczkową ampiciliny, cefalotyny, aminoglikozydów oraz gentamycyny [41–42], podawanych zarówno domięśniowo, jak i do wnętrza krtani. Uzyskane wyniki nie są jednoznaczne. Dowodzą, że trudno jest określić zależności między aplikowanymi lekami, z których każdy w różnym stopniu przechodzi do wydzieliny oskrzelowej.

4.8. ŻÓŁĆ

Wydzielina żółciowa stanowi ważną drogę eliminacji niektórych leków i ich metabolitów z organizmu ludzkiego [43]. Z tego też względu jest często analizowanym niekonwencjonalnym płynem ustrojowym. Do oznaczeń leków w tym medium stosuje się przede wszystkim techniki chromatograficzne. Najwięcej publikacji traktujących o analizie leków w żółci dotyczy technik HPLC, TLC i GC, chociaż na przestrzeni ostatnich pięciu lat daje się jednak zauważyć wyraźny spadek zainteresowania wykorzystaniem chromatografii cienko-warstwowej i wzrost zainteresowania – metod enzymoimmunologicznych.

Szerokie spektrum technik analitycznych stosowanych podczas monitorowania leków w żółci wiąże się zarówno z jej złożonym składem, jak i tym, iż leki wydzielane wraz z żółcią mogą być poddawane wielu procesom, takim jak krążenie jelitowo-wątrobowe (wydłużenie czasu przebywania leków w wątrobie powoduje zwiększenie ich toksyczności), metabolizm jelitowo-wątrobowy czy eliminacja z kałem. Procesy te niewątpliwie wpływają na parametry farmakokinetyczne analizowanych leków.

Pomimo skomplikowanego składu wydzielina żółciowa służy jako materiał badawczy wielu analiz. Badania te umożliwiają nie tylko ustalenie związku pomiędzy ilością wydzielanej żółci a chorobami wątroby i nerek [43, 44, 45], ale przyczyniają się także do lepszego zrozumienia mechanizmu krążenia jelitowo-wątrobowego leków.

Żółć w większości przypadków uzyskiwana jest podczas wykonywania różnych zabiegów chirurgicznych, od pacjentów z zaburzeniami wydzielania tego płynu [46]. Warto podkreślić, że skomplikowana procedura pobierania materiału prowadzi często do zmiany jego składu chemicznego. Poza tym, jak wspomniano wyżej, płyn ten bada się głównie u ludzi chorych, co prowadzi często do jednostronnych wniosków. Poprawę wyników badań prawdopodobnie będzie

można uzyskać po opracowaniu doskonalszej metody pobierania żółci od osób zdrowych oraz odpowiedniej procedury przygotowania próbek z tak złożonych matryc.

4.9. KAL

Monitorowanie stężenia leków w próbkach kału prowadzi się sporadycznie. Do oznaczeń poszczególnych leków wykorzystuje się różne techniki analityczne, wśród których największą popularnością cieszy się (tak jak w większości przypadków omawianych mediów fizjologicznych) wysokosprawna chromatografia cieczowa. Rezultaty analizy tego materiału służą zazwyczaj do zdefiniowania parametrów farmakokinetycznych nowo wprowadzanych leków [47–48]. Dostarczają też informacji dotyczących wydzielania leków wraz z żółcią.

4.10. MLEKO KOBIECE

Głównym powodem badania leków w mleku ludzkim jest wykazanie, czy niemowlę karmione przez matkę przyjmującą określony lek jest narażone na jego działanie [49–50]. Istotnym aspektem tego problemu jest to, że jednakowa dawka leku może spowodować różne skutki uboczne, w zależności od wieku dziecka.

Badania prowadzone zarówno metodami chromatograficznymi (szczególnie HPLC i GC), jak i metodami immunologicznymi, umożliwiają uzyskanie jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o wpływ leku na niemowlę. Potwierdzają one ogólnie przyjęty pogląd, że karmiąca matka powinna w maksymalnym stopniu ograniczyć przyjmowanie leków. Tym bardziej, że nawet małe ich dawki przyjmowane stale mogą być niebezpieczne dla dziecka. Jeśli matka koniecznie musi być poddana kuracji farmakologicznej, zaleca się, aby na czas przyjmowania leków zaprzestała karmienia.

Z analizy leków w mleku kobiecym wynika, że matki uzależnione od narkotyków nie powinny karmić niemowląt [51]. Badania mleka prowadzone wśród matek palących dowodzą bardzo szybkiego przenoszenia nikotyny z krwi do mleka [52]. Wynika z nich, że nikotyna ma dość krótki czas połowicznego zaniku (97 ± 20 minut), dlatego też matki, które podczas karmienia nie potrafią się powstrzymać od nałogu, powinny spróbować jak najbardziej wydłużyć czas między karmieniem a ostatnim papierosem, aby w ten sposób zmniejszyć ryzyko narażenia dziecka na wpływ nikotyny.

4.11. KREW PŁODOWA I PŁYN OWODNIOWY

Krew płodowa i płyn owodniowy są matrycami fizjologicznymi analizowanymi równie często, jak żółć. W tym przypadku jednak najbardziej popularnymi metodami oznaczania leków nie są techniki chromatograficzne, ale radio- i enzymoimmunologiczne.

Od dawna uważano, że leki podawane kobietom ciężarnym mogą przechodzić przez błony płodowe i zagrażać rozwijającemu się płodowi. Potwierdzeniem tej hipotezy stała się przeprowadzona przez Heikkilę [53] analiza porównawcza stężeń określonego leku we krwi płodowej i płynie owodniowym w odniesieniu do stężenia tego leku we krwi matki. Badania te umożliwiły dokonanie pomiaru przybliżonej ilości leku docierającego do płodu. Uzyskane rezultaty dostarczyły dowodu na przechodzenie przez błony leków i ich metabolitów.

Pacifici i Nottoli dowiedli [54], że prawie wszystkie leki i używki (choć w różnym stopniu) mają zdolność przenikania przez błony płodowe. Niektóre z nich (np. nikotyna) akumulują się w wodach płodowych i krwi płodu, osiągając stężenia znacznie większe niż te, które oznacza się we krwi przyszłej matki [55]. Fakt ten bezspornie wskazuje na konieczność powstrzymywania się od palenia podczas ciąży. Monitorowanie antybiotyków, antykonwulsantów czy środków uspokajających [56–59] przyjmowanych przez matki w okresie ciąży również dowodzi ich zagrożenia dla płodu.

Niektórzy autorzy twierdzą, że analiza omawianych płynów może być przydatna w przypadku konieczności leczenia samego płodu (np. podczas infekcji). Umożliwi określenie, czy dany lek potrzebny podczas terapii ma wystarczającą zdolność przechodzenia przez błony. W razie niespełnienia tego kryterium lek prawdopodobnie trzeba będzie podawać bezpośrednio do płynu owodniowego.

Pobieranie próbek krwi płodowej i płynu owodniowego jest niestety techniką inwazyjną, która także może prowadzić do uszkodzenia płodu. Dlatego rozważane są nowe metody, umożliwiające pobieranie próbek jedynie w drugiej połowie ciąży.

4.12. NASIENIE

Do oznaczania leków w nasieniu wykorzystuje się różne metody analityczne. Najczęściej stosowane są jednak techniki immunologiczne oraz wysoka sprawna chromatografia cieczowa.

Badania przeprowadzone przy zastosowaniu tych właśnie metod prowadzą do wniosku, że niektóre z przyjmowanych leków i używek (np. propranolol,

kofeina, nikotyna czy salicylany) wywierają wpływ na komórki plemnikowe, powodując zmiany w funkcjonowaniu i metabolizmie nasienia [60–61]. Procesy te prowadzą często do uszkodzenia gamet, zmniejszenia ilości i ruchliwości plemników [62–63], co w konsekwencji prowadzić może do niepłodności.

Ważny aspekt badań stanowi też wpływ pobieranych leków na przyszłe potomstwo [64]. Dowiedziono, że zdegenerowane czy uszkodzone gamety mogą doprowadzić do powstania nieprawidłowo rozwijającego się płodu, a leki przenoszone z nasieniem do organizmu kobiety zwiększają jedynie zagrożenie wystąpienia kolejnych nieprawidłowości.

4.13. ŚLUZ SZYJKI MACICY

Śluz szyjki macicy jest chyba jedynym medium fizjologicznym, do badania którego prawdopodobnie nie zastosowano techniki HPLC. W przypadku analizy tego materiału fizjologicznego najczęściej wykorzystuje się metody immunologiczne. Monitorowanie stężenia leków w śluzie szyjki macicy prowadzi się przede wszystkim podczas leczenia różnego rodzaju infekcji dróg rodnych, aby zmniejszyć ryzyko wystąpienia efektów genotoksycznych [65]. Prowadzone badania wskazują na zdolność wielu leków do akumulacji w tym płynie. Szczególnie zainteresowanie budzi gromadzenie się w śluzie szyjki macicy nikotyny, kotyniny i ich metabolitów [66]. Palenie papierosów może więc w jakiś sposób zwiększać ryzyko powstawania zmian nowotworowych w macicy.

Stosowane obecnie metody analityczne dostarczyły także dowodów na to, że pewne zagrożenie dla kobiety stanowi współżycie z partnerem będącym w trakcie terapii lekowej [67–68]. Pobierane przez mężczyznę leki przedostają się wraz z nasieniem do organizmu kobiety, stając się potencjalnym źródłem zmian chorobowych u niej i przyszłego dziecka.

4.14. WŁOSY

Włosy służą jako materiał badań już od ponad stu lat. W tym okresie wykształciło się wiele procedur uwzględniających rozmaite modyfikacje pobierania, przygotowywania i analizy próbek włosów [69]. O dużym znaczeniu wniosków, jakie można wysnuć na podstawie analizy tego materiału świadczy to, że w 1996 roku założono Towarzystwo Analizy Włosów (*Society of Hair Testing*), które od chwili powstania koordynuje wszystkie badania prowadzone w tym kierunku, zwracając uwagę nie tylko na problemy analityczne i chemiczne, ale również na aspekty prawne tego zagadnienia [70].

Główną korzyścią, wynikającą z analizy tego typu materiału jest to, że można w nim badać zawartość leków długo jeszcze po ich podaniu. Ich stężenie

we włosach nie spada tak szybko, jak w próbkach krwi czy moczu [71]. Wyniki licznych analiz określiły rozmieszczenie ilości danych leków wzdłuż całej długości włosa. Dzięki temu można poznać historię leczenia pacjenta na przestrzeni ostatnich miesięcy. Dużą zaletą tego materiału jest również proste, nieinwazyjne, powtarzalne w razie konieczności próbkowanie.

Analiza włosów znajduje zastosowanie w badaniach leków antybakteryjnych, antypsychotycznych, środków uzależniających (można nawet stwierdzić stopień uzależnienia pacjenta [73–74]). Z tych też względów pomocna jest nie tylko w diagnostyce klinicznej [75], ale również w medycynie sądowej [72].

Prawidłowa analiza leku wymaga doboru odpowiedniej procedury postępowania z materiałem badawczym, uwzględniającej parametry fizykochemiczne oznaczanego farmaceutyku. Pierwszym etapem analizy leku we włosach jest jego izolacja z matrycy fizjologicznej. Najczęściej stosowane są w tym celu metody ekstrakcyjne przy użyciu kwasów, ekstrakcja nadkrytyczna, hydroliza enzymatyczna czy rozpuszczanie w NaOH. Kolejny etap – oczyszczanie leku – odbywa się dzięki ekstrakcji ciecz-ciecz (LLE) lub ekstrakcji ciecz-ciało stałe (SPE). Do oznaczeń natomiast wykorzystuje się głównie metody chromatograficzne (GCMS, GC lub HPLC), a także metody radioimmunologiczne (RIA). Z przeglądu literatury wynika, że leki w próbkach włosów najczęściej oznacza się techniką GCMS, zaś GC i HPLC wykorzystuje się nieco rzadziej.

B o s t [76] wykazał, że kolejne etapy procedury stosowanej w trakcie analizy leków we włosach mogą powodować wiele błędów. Wskazał na konieczność uwzględnienia w procedurze: masy próbki, rejonu ciała, z którego jest ona pobrana, a także sposobu uzyskania pasma włosów (poprzez ścięcie, wyrwanie lub wykorzystanie włosów, które wypadły samoistnie). Zwrócił uwagę na konieczność zadecydowania, czy należy próbkę rozpuścić, czy poddać ekstrakcji. Wskazał też, że nie można zapominać o umyciu włosów przed poddaniem ich analizie, co umożliwia pozbycie się zanieczyszczeń zewnętrznych mogących wpływać na wyniki, szczególnie wówczas, gdy są to substancje lotne (kokaina, nikotyna).

Wprawdzie analiza włosów powoduje uzyskanie wielu istotnych informacji, niemniej jednak niektóre doniesienia wskazują [1], że używanie tego materiału do badania zawartych w nim leków ma też swoje wady. Przy wykonywaniu oznaczeń trudno jest zachować precyzję i dokładność podczas ekstrakcji, a zawartość leku uzależniona jest od kilku czynników. Według niektórych źródeł [1] stężenie danego leku jest zawsze większe we włosach ciemnych, co wiąże się z występowaniem melaniny, która ma zdolność do akumulowania leków. Poza tym rozmieszczenie leku wzdłuż włosów wyrwanych różni się od tego, z którym

mamy do czynienia we włosach wypadających samoistnie. B o s t [76] zwraca również uwagę na różnice w parametrach włosów, spowodowane przynależnością do odmiennych ras ludzkich. Poza tym zostało udowodnione [77], że niektóre zabiegi prowadzą do naruszenia stabilności leku w próbce włosów. Dotyczy to głównie włosów kobiet, które poddają się różnym zabiegom fryzjerskim, takim jak malowanie, rozjaśnianie, prostowanie, trwała ondulacja. Substancje zawarte w środkach kosmetycznych powodują destrukcję leków, a przy tym i samego włosa. Zbyt intensywne działanie promieni słonecznych również prowadzi do podobnych skutków. Obniżenie stężenia leku we włosach poprzez działania kosmetyczne może mieć niekorzystne następstwa w odniesieniu do analityki, powodując np. fałszywe zaniżenie wyników w przypadku pomiaru ilości pobranych narkotyków u osób uzależnionych.

Analityka włosów stoi na bardzo wysokim poziomie [78–79]. Przy założeniu, że włos rośnie przeciętnie 1 cm na miesiąc, współcześnie stosowane procedury analityczne dają szansę oznaczenia dokładnej ilości wchłoniętej nikotyny każdego dnia na przestrzeni ostatnich miesięcy. A zatem znacznie większą efektywność analizy nikotyny wchłoniętej przez organizm uzyskujemy stosując jako materiał badawczy właśnie włosy, a nie mocz i krew.

Do badań toksykologicznych i w medycynie sądowej używa się również włosów pachowych i łonowych. Według niektórych naukowców pewne leki uzależniające mogą występować w tych włosach nawet w większych stężeniach niż we włosach rosnących na głowie [80]. Związane jest to zapewne z lepszym krążeniem krwi w tych częściach ciała, występowaniem większej ilości gruczołów wydzielniczych pod pachami, a także z wolniejszym przyrostem włosów łonowych.

Analiza włosów służy też do określenia stopnia narażenia płodu (podczas całego okresu życia wewnątrzmacicznego) na nikotynę, leki uzależniające i inne środki przyjmowane przez matkę. Bada się również włosy noworodków, dzięki czemu można udowodnić, jak bardzo dzieci są wrażliwe na działanie nikotyny [81].

4.15. PAZNOKCIE

Analiza leków w paznokciach prowadzona jest bardzo rzadko. W bogatej literaturze dotyczącej analizy leków znane są pojedyncze publikacje traktujące o zastosowaniu niektórych metod analitycznych do oznaczania leków w tym medium. Tymczasem paznokcie uznane zostały za doskonały materiał badań wykorzystywany w medycynie sądowej [1]. Dzięki dużej zdolności akumulacji leków matryca ta ma szczególne znaczenie podczas analizy długoterminowo działają-

cych leków uzależniających. Niektórzy naukowcy dowodzą, że takie leki jak metamfetamina, kokaina czy ich pochodne występują w paznokciach osób uzależnionych w ilościach porównywalnych, a nawet większych od tych, które są stwierdzone w ich włosach [31].

Analiza paznokci może być również przydatna w terapii przeciwgrzybiczej [82]. Monitorowanie stężenia leków w skeratynizowanych tkankach potwierdza spadek stężenia leku po zaprzestaniu leczenia, co umożliwia ustalenie odpowiedniego czasu trwania terapii.

5. PODSUMOWANIE

Wysokie wymagania co do jakości i efektywności terapeutycznej, stawiane stosowanym obecnie środkom leczniczym, a także wzrost zapotrzebowania na informacje dotyczące wpływu podawanych farmaceutyków są przyczyną coraz częstszych badań zawartości i działania poszczególnych leków nie tylko we krwi i w moczu, ale także w innych tkankach i substancjach fizjologicznych. Analiza niekonwencjonalnych płynów i matryc wiąże się jednak często ze złożonym sposobem pobierania materiału badawczego, skomplikowaną procedurą przygotowania próbek i zastosowaniem odpowiednio zmodyfikowanej aparatury, co przyczynia się do stosunkowo małej częstotliwości wykorzystania niekonwencjonalnego materiału fizjologicznego do standardowej analizy klinicznej. Przytoczone tu informacje wskazują zatem na dużą przydatność omówionych matryc przede wszystkim podczas badań farmakokinetycznych, farmakodynamicznych i w monitorowaniu terapeutycznym. Zestawienia dotyczące metod wykorzystywanych do badania leków znajdujących się w niekonwencjonalnych matrycach wskazują, że wprawdzie najczęściej do tego typu analiz stosuje się wysokosprawną chromatografię cieczową, niemniej jednak coraz powszechniejsze stają się metody radio- i enzymoimmunologiczne.

LITERATURA

- [1] S. Pichini, I. Altieri, P. Zuccaro, R. Pacifici: *Clin. Pharmacokinet.*, 30/3 (1996) 211–228.
- [2] *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed. (two volumes), A. G. Gilman, T. W. Rak, A. S. Nies et al., McGraw-Hill, Inc, New York 1992.

- [3] M. Rowland, T. N. Tozer: *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications*, 2nd ed., Lee & Febiger, Philadelphia 1989.
- [4] *Clark's Isolation and Identification of Drugs*, 2nd ed., A. C. London: Moffat Senior Consulting, The Pharmaceutical Press, London 1986.
- [5] S. Angielski: *Biochemia kliniczna*, PZWL, Warszawa 1991, 570–641.
- [6] J. T. Wilson: *Ann. NY Acad. Sci.*, 694 (1993) 48–61.
- [7] G. L. Henderson: *Forensic Sci. Int.*, 63 (1993) 19–29.
- [8] M. R. Moeller, *J. Chromatogr.*, 580 (1992) 125–134.
- [9] V. Baeyens, E. Varesio, J. L. Veuthey: *J. Chromatogr.*, 692 (1997) 222–226.
- [10] L. A. Saris, G. J. Brekelmans, G. J. van der Linden: *J. Chromatogr.*, 691 (1997) 409–415.
- [11] Z. Mei, J. Williams: *Ther. Drug. Monit.*, 19 (1997) 92–94.
- [12] N. Takayama, S. Tanaka, K. Hayakawa: *Biomed. Chromatogr.*, 11 (1997) 25–28.
- [13] M. Uhl: *Forensic Sci. Int.*, 84 (1997) 281–294.
- [14] R. K. Drobitch, C. K. Svensson: *Clin. Pharmacokinet.*, 23 (1992) 365.
- [15] R. Haeckel, P. Hanecke: *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 34 (1996) 171–191.
- [16] T. C. Lee, B. G. Charles, P. A. Steer: *Ther. Drug Monit.*, 18 (1996) 288–293.
- [17] C. P. Babalola, O. O. Bolaji, F. A. Ogunbona: *Ther. Drug Monit.*, 18 (1996) 30–33.
- [18] R. Gorodischer, G. Koren: *Der. Pharmacol. Ther.*, 19 (1992) 161–177.
- [19] K. Y. Chee, D. Lee, D. Byron et al.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 35 (1993) 311–313.
- [20] A. Tal, M. Aviram, R. Gorodischer: *J. Allergy Clin. Immunol.*, 86 (1990) 238–243.
- [21] A. D. McNeil, M. J. Jarvis, J. A. Stapleton et al.: *Am. J. Public Health*, 79 (1989) 172–175.
- [22] M. Currall, E. Kazemi Vala, C. R. Enzell et al.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 47 (1990) 42–49.
- [23] I. A. Siegal: *Ann. NY Acad. Sci.*, 694 (1993) 86–90.
- [24] Z. Yuan Hou, L. W. Pickle, P. S. Meyer et al.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 49 (1991) 410–419.
- [25] R. Haeckel, P. Hanecke: *Ann. Biol. Clin.*, 50 (1993) 903–910.
- [26] S. Piredda, F. Monaco: *Ther. Drug Monit.*, 3 (1981) 321–323.
- [27] N. J. Van Haeringen: *Cur. Eye Res.*, 4 (1985) 485–488.
- [28] P. Kintz, A. Tracqui, C. Jamey: *J. Anal. Toxicol.*, 20 (1996) 197–201.
- [29] P. Kintz, A. Tracqui, P. Mangin: *J. Forensic Sci.*, 41 (1996) 851–854.
- [30] I. Ishiyama, T. Nagai et al.: *Z. Rechtsmed.*, 82 (1979) 251–256.
- [31] S. Suzuki, T. Inoue: *J. Anal. Toxicol.*, 13 (1989) 176–178.
- [32] M. S. Luer, J. Hatton: *Ann. Pharmacother.*, 27 (1993) 912–921.
- [33] G. F. Blom, P. J. M. Guelen: *The distribution of antiepileptic drugs between serum, saliva and cerebrospinal fluid*, [in:] Gardner - G. W. Thorpe, ed., *Antiepileptic Drug Monitoring*, Pitman Medical, London 1977, 287–297.
- [34] G. W. Houghton, A. Richens, P. A. Foseland et al.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 9 (1975) 73–78.

- [35] P. L. Morselli, A. Baruzzi, M. Gerna et al.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 4 (1977) 535–540.
- [36] P. Somani, R. S. Shapiro, H. Stockard et al.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 32 (1982) 113–121.
- [37] R. J. Schenplein, I. H. Blank: *Physiol. Rev.*, 51 (1971) 702–747.
- [38] M. J. Herfst, P. M. Edelbroek, F. A. De Wolff: *Clin. Chem.*, 26 (1980) 1825–1828.
- [39] M. G. Murphy, C. C. Peck, D. P. Conner et al.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 47 (1990) 427–434.
- [40] J. P. Laugier, C. Surber, H. Bun: *J. Pharm. Sci.*, 83 (1994) 623–628.
- [41] G. A. Wong, T. H. Peirce, E. Goldstein: *Am. J. Med.*, 59 (1975) 219–223.
- [42] P. C. Stillwell, M. R. Alexander, J. E. Kasik: *Drug Intell. Clin. Pharm.*, 22 (1988) 577–581.
- [43] D. E. Rollins, C. D. Klaassen: *Clin. Pharmacokinet.*, 4 (1979) 368–379.
- [44] U. Christians, F. Braun, N. Kosian: *Transplant. Proc.*, 23 (1991) 2741–2744.
- [45] G. L. Chan, S. S. Weinstein, W. W. Lefor: *Ther. Drug Monit.*, 14 (1992) 42–47.
- [46] G. Carruthers, C. A. Dujovne: *JAMA*, 240 (1978) 2756–2757.
- [47] A. Bernareggi: *Drugs*, 46 Suppl.1 (1993) 64–72.
- [48] R. Van Gijn, S. Kuijs, H. Rosing et al.: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 11 (1993) 1345–1348.
- [49] H. C. Atkinson, B. A. Darlow: *Clin. Pharmacokinet.*, 14 (1988) 217–240.
- [50] O. Spigset, L. Carlborg, A. Norstrom: *J. Clin. Psychiatry.*, 57 (1996) 39.
- [51] G. Pons, E. Rey, I. Matheson: *Clin. Pharmacokinet.*, 27 (1994) 270–289.
- [52] W. Luch, H. Nau: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 18 (1984) 9–15.
- [53] A. Heikkila, O. V. Renkonen, R. Erkkola: *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 36 (1992) 2652–2655.
- [54] G. M. Pacifici, R. Nottoli: *Clin. Pharmacokinet.*, 28 (1995) 235–269.
- [55] W. Luck, H. Nau: *N. Engl. J. Med.*, 311 (1984) 672.
- [56] P. Bourget, H. Fernandez, C. Delouis: *Obstet. Gynecol.*, 78 (1991) 908–911.
- [57] J. G. Omtzigt, H. Nau, F. J. Los et al.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 43 (1992) 381–388.
- [58] C. W. G. Redman, L. J. Beilin, J. Bonner: *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 84 (1977) 419–426.
- [59] R. E. Winecker, B. A. Goldberger, I. Tebbett: *J. Anal. Toxicol.*, 21 (1997) 97–104.
- [60] *Controls of sperm motility: biological and clinical aspects*, C. Gagnon, ed., CRC Press, Boca Raton USA (FL) 1990.
- [61] D. G. Winnigham, N. J. Nemoy, T. A. Stamey: *Nature*, 219 (1968) 139–143.
- [62] O. Porat-Soldin, S. J. Soldin: *Ther. Drug Monit.*, 14 (1992) 366–370.
- [63] P. Mahajan, E. D. Grech, R. M. Pearson: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 18 (1984) 849–852.
- [64] G. Friedler: *Neurobehav. Toxicol. Teratol.*, 7 (1985) 739–743.
- [65] R. L. Green, M. A. Green: *JAMA*, 254 (1985) 531.
- [66] I. M. Sasson, N. J. Haley, D. Hoffmann: *N. Engl. J. Med.*, 312 (1985) 315–316.
- [67] D. I. Macht: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, X (1918) 509–522.

- [68] B. F. Hales, S. Smith, B. Robaire: *Toxicol. Appl. Pharm.*, 84 (1986) 423–430.
- [69] H. Sachs: *Forensic Sci. Int.*, 84 (1997) 7–16.
- [70] *Forensic Sci. Int.*, 84 (1997) 3–6.
- [71] T. Kematsu: *Clin. Pharmacokinet.*, 25 (1993) 83–87.
- [72] M. J. Welch, L. T. Sniegowski, C. C. Allgood et al.: *J. Anal. Toxicol.*, 17 (1993) 389–398.
- [73] P. Kintz, P. Mangin: *J. Forensic Sci.*, 38 (1993) 657–662.
- [74] F. Mersch, M. Yegles, R. Wennig: *Forensic Sci. Int.*, 84 (1997) 237–242.
- [75] J. P. Gouille, P. Kintz: *Rev. Med. Interne.*, 17 (1996) 826–835.
- [76] R. O. Bost: *Forensic Sci. Int.*, 63 (1993) 31–42.
- [77] L. Potsch, G. Skopp: *Forensic Sci. Int.*, 81 (1996) 95–102.
- [78] N. J. Haley, D. Hoffmann: *Clin. Chem.*, 31 (1985) 1598–600.
- [79] S. Pichini, R. Pacifici, I. Altieri et al.: *Analysis of nicotine and cotinine in human hair by high-performance liquid chromatography and comparative determination by radioimmunoassay*, [in]: E. J. Cone, M. J. Welch, M. B. Grigson Babeki eds.: *Hair testing for drugs of abuse: international research on standards and technology*, National Institute on Drug Abuse, NIH Publication No. 95-3727, Bethesda (USA, Maryland) 1995, 212–224.
- [80] S. Balabanova, H. U. Wolf: *Lab. Med.*, 13 (1989) 46–47.
- [81] S. Pichini, I. Altieri, M. Pellegrini et al.: *Forensic Sci. Int.*, 84 (1997) 253–258.
- [82] M. Schafer-Korting: *Clin. Pharmacokinet.*, 25 (1993) 329–341.

SUMMARY

Contemporary therapy very often uses the achievements of clinical analysis. A large number of new medicines requires many specialistic studies, concerning drug influence on human body. The most popular in laboratory testing are such analytical materials as blood and urine, but other biological fluids and matrices are also examined. This article shows the possibilities of using in clinical analysis several nonconventional human body matrices, like: hair, nails, faeces, saliva, tears, sweat, cerebrospinal fluid, bronchial secretions, peritoneal fluid, interstitial fluid, bile, fetal blood and amniotic fluid, breast milk, cervical mucus, seminal fluid. Review of references describing the above mentioned materials can be useful for confrontation of differentiation and popularity of analytical techniques used in drug monitoring. A considerable part of the article refers to characterization of particular matrices and main problems of drug analysis in each of them.