

Ewa Pufal, Marzena Sykutera, Teresa Nowacka, Anna Stefanowicz, Karol Śliwka

Opracowanie metody oznaczania citalopramu i desmetylocitalopramu w paznokciach i włosach i jej wykorzystanie w toksykologii sądowej*

Development of a method for estimation of citalopram and desmethylcitalopram in nails and hair and its usefulness in forensic toxicology

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Kierownik Katedry: dr hab. med. T. Grzybowski, prof. UMK

W pracy przedstawiono możliwość wykorzystania włosów i paznokci do oznaczania citalopramu i jego metabolitu (desmetylocitalopramu). Citalopram jest lekiem przeciwdepresyjnym z grupy selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) stosowanym w leczeniu depresji, w zapobieganiu nawrotów zaburzeń depresyjnych oraz w niektórych zaburzeniach lękowych. Do badań wykorzystano metodę chromatografii cieczowej z detektorem masowym. W toku przeprowadzonych badań opracowano metodę izolacji i identyfikacji citalopramu i jego metabolitu (desmetylocitalopramu) z włosów i paznokci. Paznokcie i włosy pozyskano od osób, które przyjmowały citalopram w terapeutycznych dawkach co najmniej przez okres 12 miesięcy. Materiał pobierano po zaprzestaniu przyjmowania leku. W wyniku przeprowadzonych badań, w paznokciach stwierdzono obecność citalopramu w stężeniu 0,40-10,49 ng/mg, a desmetylocitalopramu w stężeniu 0,32-3,70 ng/mg. We włosach stężenie citalopramu wynosiło 1,04-8,69 ng/mg, a desmetylocitalopramu 0,07-1,27 ng/mg.

The report presents the possibility of using an alternative material of determining citalopram and its metabolite (desmethylcitalopram) in hair and nails. Citalopram (Cipramil, Citaratio, Citaxin, Oropam,

Cital, Cilon, Aurex) is an antidepressant drug of the selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) class, employed in treatment of depression, prevention of depressive disorders recurrence and in some anxiety disorders. The investigations were performed using liquid chromatography coupled with electrospray-ionization mass spectrophotometry (LC-ESI-MS). In the course of the study, the authors developed a method for isolation and identification of Citalopram and its metabolite (desmethylcitalopram) from hair and nails. Determination were performed in hair and nail samples collected from individuals who had been administered citalopram in therapeutic doses at least for 12 months before sample collection. Hair and nail samples were obtained 4, 6, 9 and 15 months after discontinuing drug administration. The concentration of citalopram in nails was 0.40-10.49 ng/mg and the concentration of desmethylcitalopram was 0.32-3.70 ng/mg. In hair, citalopram concentration was 1.04-8.69 ng/mg and for desmethylcitalopram, the concentration range was 0.07-1.27 ng/mg.

Słowa kluczowe:

citalopram, desmetylocitalopram,
paznokcie, włosy, LC-ESI-MS

Key words:

citalopram, desmethylcitalopram,
nails, hair, LC-ESI-MS

* Poszerzona wersja referatu, przedstawionego podczas XV Zjazdu Naukowego PTMSiK, Gdańsk 16-18.09.2010. Badania zostały sfinansowane przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu w ramach grantu UMK 2/2009 (Collegium Medicum).

WSTĘP

Citalopram (1-[3-(dimetylamino)propylo]-1-(4-fluorofenylo)-1,3-dihydro-5-izobenzofurankarbonitryl) jest lekiem przeciwdepresyjnym z grupy selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI), stosowanym w leczeniu depresji, w zapobieganiu nawrotów zaburzeń depresyjnych oraz w niektórych zaburzeniach lękowych. Depresja i związana z nią obniżona jakość życia sprawia, że coraz częściej stosowane są leki przeciwdepresyjne a w tym citalopram. Został on wprowadzony do światowego lecznictwa w 1989 roku przez duńską firmę farmaceutyczną H. Lundbeck pod nazwą handlową Cipramil. Obecnie jest składnikiem czynnym preparatów, takich jak: Cipramil, Seropram, Cital, Citalon, Citaxin, Cilon, Oropam. Citalopram występuje w postaci pary izomerów optycznych S- i R-enancjomerów, z których S-enancjomer odpowiada za działanie przeciwdepresyjne, natomiast R-enancjomer jest nieaktywny. Citalopram wchłania się szybko po podaniu doustnym, osiągając największe stężenie w osoczu średnio po 4 h (1-7 h). Jego biodostępność wynosi 80%, a okres półtrwania 33 h. Stężenie citalopramu we krwi osiąga stan równowagi po upływie 1-2 tygodni od podania leku i mieści się w granicach 20-200 ng/ml. Leczenie citalopramem rozpoczyna się od podawania leku w dawce 20 mg, po czym zwiększa się dawkę do 40-60 mg. Przed zakończeniem terapii dawkę leku stopniowo się zmniejsza. Citalopram jest eliminowany przez wątrobę (85%) oraz nerki (15%). Tylko 12-23% citalopramu jest wydalone w postaci nie zmienionej. Głównym metabolitem citalopramu jest desmetylocitalopram.

Citalopram jest dobrze tolerowany przez organizm, nie wywołuje uzależnienia, a dzięki wysokiej selektywności ma niewiele działań niepożądanych. W przypadku inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny najniebezpieczniejszym działaniem niepożądanym jest zespół serotoninergiczny. Stan ten jest wynikiem znacznie podwyższonego stężenia serotoniny. Do takiej sytuacji może dojść po znacznym przedawkowaniu citalopramu [1] lub po przypadkowym podaniu go pacjentowi, który przyjmuje leki będące inhibitorami enzymów z grupy MAO [2].

W dostępnej literaturze opisano wiele metod oznaczania citalopramu i desmetylocitalopramu

w materiale biologicznym takim jak krew, surowica czy włosy [1-5]. Wyniki analizy krwi czy surowicy pozwalają na stwierdzenie, czy dana osoba w chwili pobrania próby była pod działaniem leku, natomiast nie dają odpowiedzi czy lek był przyjmowany w przeszłości. W takich sytuacjach analiza paznokci lub włosów pozwoli na retrospektywną ocenę przyjmowania danego leku.

Badania prowadzone przez wielu autorów [6-14] dowodzą, że cennym materiałem diagnostycznym są włosy dlatego, iż większość ksenobiotyków, w tym między innymi substancje psychoaktywne czy leki, odkłada się w nich i daje możliwość ich wykrycia. Z badań prowadzonych przez Müllera C. i innych [12], którzy oznaczali citalopram we włosach osób, które były w trakcie leczenia citalopramem wynika, że stężenie tego leku we włosach w segmencie 0-2 cm wynosiło 1107 ng/mg, a w segmencie 2-4 cm 557 ng/mg.

Obserwacja kierunków rozwoju toksykologii wskazuje, że pośród materiałów alternatywnych duże znaczenie mają również paznokcie [7-9, 14-19]. Wyniki dotychczasowych badań ksenobiotyków w paznokciach zachęcają do rozszerzenia tych badań na inne leki. W literaturze brak jest danych na temat oznaczania citalopramu w paznokciach.

Analiza paznokci wzbudza coraz większe zainteresowanie zarówno w medycynie sądowej, jak i medycynie klinicznej. Paznokcie, podobnie jak włosy, rosną w sposób ciągły (u rąk 2-4 razy szybciej, niż u stóp). Średni dobowy przyrost płytki paznokciowej kciuka wynosi 0,1 mm na dobę, natomiast całkowity odrost paznokcia od rąk trwa około 3-6 miesięcy, a od stóp średnio 12-18 miesięcy. Tempo wzrostu zależy od płci, wieku (najszybciej rosną w 2 i 3 dekadzie życia, z wiekiem wzrost paznokci jest coraz wolniejszy), diety, czynników dziedzicznych, pory roku (szybszy wzrost paznokcia obserwuje się latem aniżeli zimą).

Celem niniejszej pracy było opracowanie metody oznaczania citalopramu i jego metabolitu – desmetylocitalopramu w paznokciach i włosach oraz wykorzystanie jej do oznaczania tych związków w próbkach pobieranych od pacjentów, którzy zakończyli terapię citalopramem. Celem pracy było również wykazanie jak długo po zaprzestaniu przyjmowania leku istnieje możliwość wykrycia citalopramu.

MATERIAŁ I METODA

Materiał

Materiał do badań stanowiły paznokcie z rąk i stóp oraz włosy pobrane od osób, które przyjmowały citalopram w dawkach terapeutycznych przez okres 12 miesięcy. Paznokcie i włosy pobierano po upływie 4, 6, 9 i 15 miesięcy od chwili zakończenia terapii. Do badań pobierano fragmenty włosów o długości 1 cm, przycięte przy skórze oraz paznokcie z rąk i stóp o długości 1-2 mm. Próby przechowywano w temperaturze pokojowej.

Ekstrakcja

Próbki paznokci i włosów przed ekstrakcją poddano dekontaminacji z użyciem wody destylowanej a następnie n-heksanu. Procedurę przeprowadzono w łaźni ultradźwiękowej. Wysuszone paznokcie i włosy pocięto na drobne segmenty i poddano hydrolizie z użyciem 1M NaOH przez 10 min. w temp. 95°C. Ekstrakcję citalopramu i desmetylocitalopramu przeprowadzono z użyciem chlorku metylenu (pH 8-10).

Analiza LC-ESI-MS

Analizę jakościową i ilościową citalopramu i desmetylocitalopramu przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu ciekłego sprzężonego z detektorem masowym z jonizacją elektrosprej (LC-ESI-MS) firmy Agilent Technologies 1100 Series. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie Eclipse XDB C18 (150 mm x 4,6 mm, 5µm). Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę acetonitryl-TFA (60:40 v/v) z przepływem 0,4 ml/min. Parametry detektora masowego: napięcie fragmentora 70 V, napięcie kapilary 3 kV, temperatura N₂ 350°C, ciśnienie nebulizera 30 psi, przepływ gazu suszącego 12 L/min.

Analizę citalopramu i desmetylocitalopramu prowadzono w opcji monitorowania wybranego jonu (SIM) [MH⁺] 325 m/z dla citalopramu, [MH⁺] 311 m/z dla desmetylocitalopramu. Czas retencji dla citalopramu t_R = 5,2 min, dla desmetylocitalopramu t_R = 4,8 min, dla diazepam (IS) t_R = 7,1 min.

Walidacja metody

Do kalibracji metody wykorzystano materiał kontrolny – paznokcie oraz włosy pobrane od osób,

które nie przyjmowały citalopramu. Przygotowano próby wzorcowe paznokci i włosów, zawierające citalopram o stężeniu 0,05 ng/mg, 0,1 ng/mg, 1 ng/mg, 15 ng/mg. Tak przygotowane próby poddano analizie w identycznych warunkach, jak próby włosów i paznokci pobrane od pacjentów.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Analizę citalopramu i desmetylocitalopramu we włosach i w paznokciach przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografii ciekowej z detektorem masowym. Krzywa kalibracyjna dla obu związków wykazywała liniowy przebieg w badanym zakresie stężeń (0,05 - 15 ng/mg). Współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio: R² = 0,9711 (citalopram, włosy), R² = 0,9936 (citalopram, paznokcie), R² = 0,9953 (desmetylocitalopram, włosy), R² = 0,9990 (desmetylocitalopram, paznokcie). Granica wykrywalności (LOD) citalopramu i desmetylocitalopramu wynosiła 0,01 ng/mg, natomiast granica oznaczalności LOQ=0,05 ng/mg. Precyzję w seriach wewnątrz- i międzygrupowych, wyrażoną w RSD, obliczono na podstawie serii trzech powtórzeń (n=3) analiz prób włosów i prób paznokci, zawierających citalopram i desmetylocitalopram o stężeniu 0,75 ng/mg. Serie powtarzano w ciągu trzech dni (p=3). Wyznaczone precyzje w seriach wewnątrzgrupowych nie przekraczały 5,2%, natomiast precyzje w seriach międzygrupowych dla analizowanych związków nie były wyższe niż 5,7%.

Opracowaną metodę wykorzystano do oznaczenia poziomu citalopramu i desmetylocitalopramu – jego metabolitu we włosach oraz paznokciach rąk i stóp, pobranych od osób przyjmujących citalopram w dawkach terapeutycznych przez 12 miesięcy. Materiał pobierano od pacjentów po upływie 4, 6, 9 i 15 miesięcy po zaprzestaniu terapii. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli I i II.

W analizowanych próbach włosów i paznokci stwierdzono obecność citalopramu i desmetylocitalopramu, nawet po upływie 15 miesięcy po zakończeniu terapii. W próbach włosów, pobranych po upływie 4 miesięcy od zakończenia terapii, stwierdzono najwyższe stężenie citalopramu (8,6 ± 2,1 ng/mg), które zmniejszało się wraz z upływem czasu. Jeszcze po 15 miesiącach od zakończenia leczenia można było stwierdzić we

Tabela I. Stężenie citalopramu i desmetylocitalopramu we włosach pobranych od osób, po zakończeniu terapii citalopramem.

Table I. Citalopram and desmethylcitalopram concentration in hair samples collected from patients after cessation of citalopram treatment.

Czas po zakończeniu terapii Time after cessation of therapy	Citalopram [ng/mg]	Desmetylocitalopram [ng/mg]
4 miesiące 4 months	8,6 ± 2,1	0,98 ± 0,16
6 miesięcy 6 months	6,5 ± 1,6	0,90 ± 0,12
9 miesięcy 9 months	6,6 ± 1,5	1,27 ± 0,20
15 miesięcy 15 months	1,0 ± 0,3	0,07 ± 0,01

Tabela II. Zawartość citalopramu i desmetylocitalopramu w paznokciach pobranych od osób, po zakończeniu terapii citalopramem.

Table II. Citalopram and desmethylcitalopram concentration in nails samples collected from patients after cessation of citalopram treatment.

Czas po zakończeniu terapii Time after cessation of therapy	Citalopram [ng/mg]		Desmetylocitalopram [ng/mg]	
	pazn. z rąk fingernails	pazn. ze stóp toenails	pazn. z rąk fingernails	pazn. ze stóp toenails
4 miesiące 4 months	0,40 ± 0,13	0,91 ± 0,43	0,47 ± 0,22	1,20 ± 0,36
6 miesięcy 6 months	2,36 ± 0,71	5,24 ± 2,23	0,74 ± 0,36	1,71 ± 0,39
9 miesięcy 9 months	6,80 ± 2,64	10,49 ± 4,02	2,67 ± 0,55	0,99 ± 0,37
15 miesięcy 15 months	0,69 ± 0,20	1,14 ± 0,73	0,58 ± 0,16	0,32 ± 0,12

włosach obecność leku w stężeniu $1,0 \pm 0,3$ ng/mg. Interpretacja analizy ilościowej włosów stwarza wiele problemów, bowiem mechanizm wbudowywania ksenobiotyków we włosy, jak dotąd nie został jeszcze wystarczająco poznany. Jest to proces złożony i zależy od wielu czynników takich jak na przykład tempo wzrostu włosów, kolor włosów, wiek, płeć oraz właściwości osobnicze. Ważną rolę odgrywa również charakter chemiczny związku, jego właściwości fizykochemiczne takie jak lipofilność i polarność, powinowactwo do połączeń z białkami krwi, metabolizm, szybkość przepływu krwi, rozpuszczalność ksenobiotyku w lipidach [20]. Z danych literaturowych wynika, że w zależności od właściwości osobniczych włosy rosną od 0,7 do 3,6 cm/miesiąc. Mając na uwadze fakt, iż włosy do badań były pobierane od osób w podeszłym wieku można by przyjąć, że tempo ich wzrostu było mniejsze niż 1 cm/miesiąc. W związku z tym włosy pobrane po 15 miesiącach odzwierciedlałyby okres czasu około 10-11 miesięcy po zakończeniu terapii. Jak dotąd brak w literaturze danych dotyczących czasu pojawiania się citalopramu we włosach po zaprzestaniu przyjmowania leku. Takie badania przeprowadzono dla innych związków. Z badań prowadzonych nad ustaleniem czasu pojawiania się ksenobiotyków we włosach po jednorazowym ich podaniu w dawce terapeutycznej wynika, że w przypadku kokainy związek ten można było jeszcze wykryć po 10 dniach od podania, morfinę po 7-8 dniach a meprobamat po 4-5 dniach [20]. Müller C. i inni [12] w swojej pracy przedstawił wyniki badań włosów pobranych od osoby będącej w trakcie terapii citalopramem i przyjmującej ten lek od 4 miesięcy. Badania dowiodły, że w trakcie leczenia citalopramem stężenie tego leku we włosach jest bardzo wysokie. Stężenie citalopramu oznaczone metodą LC/ESI-CID/MS oraz metodą GC/MS wynosiło w segmencie 2-4 cm czyli na początku terapii 557 ng/mg, natomiast w segmencie 0-2 cm wynosiło aż 1107 ng/mg. Stwierdzone przez Müllera stężenie citalopramu we włosach osoby będącej w trakcie leczenia jest więc 1000 razy większe niż, jak wykazano w przeprowadzonych przez nas badaniach, stężenia citalopramu we włosach pobranych po zakończeniu terapii citalopramem.

W paznokciach rąk i stóp stwierdzono wyraźnie

wyższe stężenia citalopramu w próbach pobranych po upływie 9 miesięcy po zaprzestaniu terapii. Być może jest to związane z tym, iż w początkowym okresie terapii podawane są mniejsze dawki citalopramu, które są zwiększane stopniowo w dalszym etapie leczenia. Wyższe stężenia citalopramu w paznokciach pobranych ze stóp niż w paznokciach pobranych z rąk, można by tłumaczyć różnym tempem wzrostu paznokci. Przeprowadzone badania wykazały, że stężenie citalopramu było zdecydowanie wyższe we włosach niż w paznokciach z rąk, jak i stóp. Podobną zależność można było zaobserwować w przypadku analizy innych leków w tym między innymi atenololu [7], gdzie we włosach stwierdzono 1,5 ng/mg tego leku a w paznokciach 0,5 ng/mg.

Na rozmieszczenie citalopramu i jego kumulowanie się w poszczególnym materiale biologicznym mogą mieć wpływ zarówno jego właściwości chemiczne, jak i procesy biochemiczne. Stąd też mogą wynikać różnice w rozmieszczaniu się citalopramu i desmetylocitalopramu pomiędzy włosy i paznokcie.

WNIOSKI

Przedstawiona w niniejszej pracy metoda oznaczania citalopramu i desmetylocitalopramu we włosach i paznokciach pozwala na oznaczenie tego związku na poziomie 0,05 ng/mg. Alternatywny materiał biologiczny, taki jak włosy i paznokcie, może być wykorzystywany do badań za życia, jak również w badaniach pośmiertnych w toksykologii sądowej, z uwagi na to, że nie ulega takim zmianom rozkładowym, jak krew czy mocz. Ponadto pobieranie włosów i paznokci do badań jest metodą nieinwazyjną, zapewniającą większą wiarygodność otrzymanego materiału (w przypadku niepewności istnieje możliwość ponownego pobrania próby lub jej porównania). Próby nie wymagają również szczególnych warunków w czasie przechowywania i transportu. Analiza włosów i paznokci może być wykorzystana do retrospektywnego zobrazowania przyjmowania leku zarówno w medycynie sądowej oraz toksykologii klinicznej. Umiejętność oznaczania rodzaju i poziomu leku w paznokciach jest szczególnie istotna wtedy, gdy z uwagi na modę lub inne uwarunkowania, u danego osobnika włosów brak.

PIŚMIENICTWO

1. Horak E. L., Jenkins A. J.: Postmortem distribution of olanzapine and citalopram in a drug intoxication. *J. Forensic Sci.* 2005, 50, 679-681.

2. Dams R., Benijts T. H., Lambert W. E., Van Bocxlaer J. F., Van Varenbergh D., Van Peteghem C., De Leenheer A. P.: A fatal case of serotonin syndrome after combined moclobemide-citalopram intoxication. *J. Anal. Toxicol.* 2001, 25, 147-151.

3. Olesen O. V., Linnet K.: Simplified high-performance liquid chromatographic method for the determination of citalopram and desmethylcitalopram in serum without interference from commonly used psychotropic drugs and their metabolites. *J. Chromatogr. B.* 1996, 675, 83-88.

4. Matsui E., Hoshino M., Matsui A., Okahira A.: Simultaneous determination of citalopram and its metabolites by high-performance liquid chromatography with column switching and fluorescence detection by direct plasma injection. *J. Chromatogr. B.* 1995, 668, 299-307.

5. Meng Q. H., Gauthier D.: Simultaneous analysis of citalopram and desmethylcitalopram by liquid chromatography with fluorescence detection after solid-phase extraction. *Clin. Biochem.* 2005, 38, 282-285.

6. Kłys M., Rojek S., Ściśtowski M., Bolechała F.: Znaczenie analizy włosów w ocenie kompleksowych zatrucí śmiertelnych lekami dla celów orzecznictwa sądowo-lekarskiego. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2004, 54, 125-138.

7. Pufal E.: Badania nad oznaczaniem leków w wytworach naskórka i ich przydatność w toksykologii sądowej. *Problems of Forensic Sciences*, 2002, 52, 7-20.

8. Pufal E.: Oznaczanie ksenobiotyków w wytworach naskórka i ich przydatność w toksykologii sądowej. *Problems of Forensic Science*, 2004, 54, 5-17.

9. Pufal E., Piotrowski P., Śliwka K.: Bestimmung von Ticlopidin in Kopfharen, Fingernägeln und Zehennägeln. XIV. Mosbacher Symposium der GTFCh, 14-16.04.2005, Mosbach, Germany (Posterpräsentation).

10. Rojek S., Kłys M., Konopka T.: Zastosowanie analizy wybranych substancji psychoaktywnych we włosach dla celów opiniowania sądowo-lekarskiego. Część I. Analiza segmentowa włosów

w przypadkach śmiertelnych zatrucí opioidami i amfetaminami. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2009, 59, 273-278.

11. Rojek S., Kłys M., Rzepecka-Woźniak E., Konopka T.: Zastosowanie analizy wybranych substancji psychoaktywnych we włosach dla celów opiniowania sądowo-lekarskiego. Część II. Przypadki złożonych zatrucí śmiertelnych: heroina-kokaina-amfetaminy w mechanizmie interakcji. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2010, 60, 12-17.

12. Müller C., Vogt S., Goerke R., Kordon A., Weinmann W.: Identification of selected psychopharmaceuticals and their metabolites in hair by LC/ESI-CID/MS and LC/MS/MS. *Forensic Sci. Int.* 2000, 113, 415-421.

13. Weinmann W., Müller C., Vogt S., Frei A.: LC-MS-MS analysis of the neuroleptics clozapine, flupentixol, haloperidol, penfluridol, thioridazine and zuclopenthixol in hair obtained from psychiatric patients. *J. Anal. Toxicology* 2002, 26, 303-307.

14. Sykutera M., Pufal E., Bloch-Bogusławska E.: Oznaczanie leków przeciwdepresyjnych w materiale biologicznym pobranym od osób, których zgon był skutkiem samobójstwa przez powieszenie. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2008, 58, 177-181.

15. Pufal E., Sykutera M., Piotrowski P.: Opracowanie metody oznaczania leków przeciwdepresyjnych w paznokciach i jej wykorzystanie w toksykologii sądowej. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2008, 58, 171-176.

16. Paleri A., Pichini S., Pacifici R., Zuccaro P., Lopez A.: Drugs in nails: physiology, pharmacokinetics and forensic toxicology. *Clin. Pharmacokinet.* 2000, 38, 195-210.

17. Cingolani M., Scavella S., Mencarelli R., Mirtella D., Foldi R., Rodriguez D.: Simultaneous detection and quantitation of morphine, 6-acetylmorphine and cocaine in toenails: comparison with hair analysis. *J. Anal. Toxicol.* 2004, 28, 128-131.

18. Daniel C. R., Piraccini B. M., Tosti A.: The nail and hair in forensic science. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004, 50, 258-261.

19. Garside D., Roper-Miller J. D., Kolberger B. A., Hamilton W. F., Maples W. R.: Identification of cocaine analytes in fingernail and toenail specimens. *J. Forensic Sci.* 1998, 43, 113-117.

20. Wenig R.: Potential problems with the interpretation of hair analysis results. *Forensic Sci. Int.* 2000, 107, 5-12.

Adres do korespondencji:
Katedra Medycyny Sądowej
UMK w Toruniu
Collegium Medicum w Bydgoszczy
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9
85-094 Bydgoszcz
Tel. 052 585 35 52