

## **OTKA 61611 zárójelentés**

### **Bevezetés**

A pályázat eredeti célkitűzése az emberi bőr és haj spektroszkópiai vizsgálatára fókuszált azzal a céllal, hogy az IR színeképekből próbálkozzunk meg orvosi diagnosztikában hasznosítható eredményeket produkálni különös tekintettel az emberi szervezet fiziológiai állapotának jellemzésére.

A meglepően új és igen értékes eredményeinket szabadalmaztatási lehetőségei miatt nem volt célszerű publikálnunk. Ezért a zárójelentés ezen kutatási területét a szokásosnál bővebben kell, hogy tárgyaljuk.

Az OTKA pályázat futamideje alatt bekövetkezett sajnálatos szervezeti változások miatt a Pannon Egyetemen működő és általam vezetett Analitikai Kémiai Kutatócsoport megszűnése (2007. január 1.), valamint az MTA Kémiai Kutatóközpontban működő Spektroszkópiai Laboratórium átszervezése következtében Hren Brunó, Hajba László, Gyivicsán András, Illés Bernadett, Kállai Roland, Gombás Veronika és Töröcsváryné Kovács Zsuzsanna állása megszűnt Veszprémben, és Kocsis László, Komlósi Viktória ill. Bacsik Zoltán kényszerült elhagyni a Spektroszkópiai Laboratóriumot Budapesten.

A futamidő elején bekövetkezett jelentős fiatal kutatói létszámcsökkenés mellett, sajnos a rendkívül ígéretes közel 2 éves orvosi együttműködés is megszűnt 2008 végén. A XVI. Kerületi Önkormányzati Rendelő Intézetben az új vezetés nem adott lehetőséget további szakmai együttműködésre. Ilyen körülmények között az orvosi diagnosztikai kutatások jelentős csökkenése mellett olyan biológiai rendszerek (pl. emberi fog, tengeri kagylók, állati szövetek stb.), valamint biológiai szempontból fontos molekulák és fémkomplexek (cisztein, karbamid, Pt akva és amino komplexei, stb.) vizsgálatára koncentráltunk, mely témák kevesebb hazai munkaerővel nemzetközi együttműködés keretében művelhetők voltak.

A fentiek alapján a zárójelentésben az alábbi fő témákról számolunk be:

- 1.) FTIR spektroszkópia alkalmazása az emberi szervezet fiziológiai állapotának jellemzésére.
- 2.) Betegség specifikus spektroszkópiai jellemzők felismerése,
- 3.) Biológiai rendszerek spektroszkópiai szerkezetkutatása,
- 4.) Biológiai szempontból fontos vegyületek és fémkomplexek spektroszkópiai és elméleti szerkezetkutatása.

### **1. FTIR spektroszkópia alkalmazása az emberi szervezet fiziológiai állapotának jellemzésére**

#### *A téma kezdete*

Az infravörös és Raman (rezgési) spektroszkópia számos előnyös sajátossága, hogy

- a különböző funkciós csoportokra/molekula fragmensekre jellemző infravörös (IR) és Raman aktív rezgési átmenetek jelentős információt szolgáltatnak nagyméretű biomolekulák esetében is,
- a mérés roncsolásmentes és nem invázív mintavételt igényelnek,
- elvileg nem limitált a molekula méret, nagy molekulásúlyú biopolimerek (pl. DNS) is vizsgálhatók,

mindezek a sajátságok különösen alkalmassá teszi biológiai minták vizsgálatára.

Az első IR-spektroszkópiai vizsgálatok visszanyulnak az 1950-es, 1960-as évekre a szteroidok [1], természetes anyagok [2] vagy komplex heterociklusos molekulák [3] vizsgálatára.

A kísérleti háttér különös mérföldköve a lézer-Raman spektroszkópia (~1965) és a Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (~1970) kifejlesztése volt, majd a 1980-as és 1990-es évek további műszerfejlesztése (dinamikus vezérlés, multidetektoros mikroszkópia, UV és NIR lézerek a Raman spektroszkópiában, stb.) valamint az adatfeldolgozás és kemometria jelentős fejlődése nagyban segítette a biospektroszkópia orvosi diagnosztikai alkalmazhatóságát. Az 1980-as évektől kezdődően számos könyv és proceedings megjelenése is igazolja a téma egyre növekvő fontosságát.

A NÁTO 1983-as iskolájának összefoglalója [4], a proteinek rezgési spektroszkópiája [5], biológiai minták színképének újszerű feldolgozása [6], a Raman spektroszkópiái alkalmazások [7], baktériumok és sejt kolóniák spektroszkópiái jellemzése [8].

Az 1990-es évektől kezdődően számos jelentős könyvkiadó kezdett publikálni többszerzős összefoglalókat a korszerű biospektroszkópia területéről pl. Clark és Hester szerkesztésében [9], majd számos új könyv jelent meg az utóbbi 15 évben [10-14].

Az 1960-as évek elejétől, mint fiatal kutató átélhettem és nyomon követhettem a különböző fejlődési szakaszokat igyekezve azok újabb és újabb lehetőségeit kihasználni. Az 1970-es években már kisebb kutatócsoportot vezettem és intenzíven foglalkoztunk koordinációs és fémorganikus vegyületek spektroszkópiái és elmélet szerkezetkutatásával, az FTIR spektroszkópia katalitikus alkalmazásával, az infravörös emissziós mérés technika fejlesztésével, majd légköri szennyezők IR spektroszkópiái detektálásával. A 2000-es évek elejére jelentős létszámú kutatócsoportokat vezettem a mai Pannon Egyetem Analitikai Kémia Tanszékének vezetőjeként, valamint az MTA Kémiai Kutatóközpont Molekulaspektroszkópiái Osztályának vezetőjeként.

Lelkes és már meglehetősen jól képzett fiatal kutatókkal körülvéve elhatároztuk, hogy szakmai felkészültségünket megpróbáljuk a „tisztá” alap kutatások területéről a magyar társadalom és az ország számára hasznos és fontos témákra, azaz a spektroszkópia biológiai és orvosi alkalmazási területeire átcsoportosítani.

Miután tüzetesen átvizsgáltuk az infravörös és Raman spektroszkópiái közleményeket, a klinikai és az orvosi diagnosztika területéről, számuk a 1995-2005 közötti években az alábbi területeken oszlott meg:

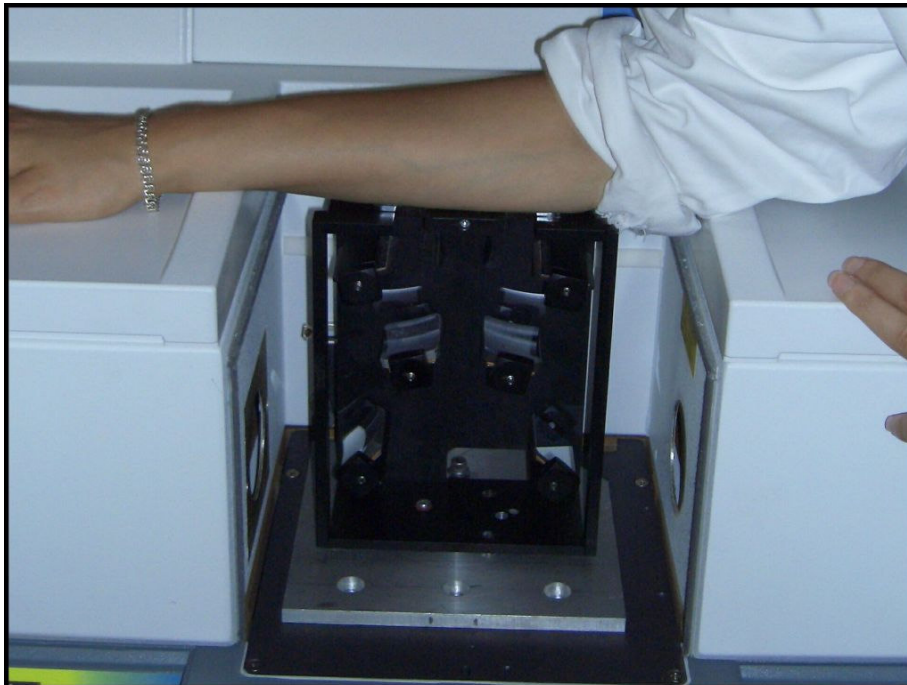
<b>Alkalmazás típusa</b>	<b>Tudományos közlemények száma</b>
Tumoros sejtek és szövetek vizsgálata	94
Testnedvek analízise	53
Agyszövetek, sejtek vizsgálata	24
Baktériumok, mikrokolóniák vizsgálata	18

Az világos volt, hogy a klinikai analitikai- és orvosdiagnosztikai módszerek akkor már széles körében alkalmazták az infravörös és Raman-spektroszkópiát. Ezek iránt, az újszerű mérés technikák iránt évről-évre nő az érdeklődés, alkalmazhatóságuk határai még ma is felmérhetetlenek. Mivel a klinikai analitikai alkalmazások és a szövettani (főként tumoros szövetekkel kapcsolatos) tanulmányok akkor már teljesen kidolgozottak és közel 200 kiváló kutató aktívan foglalkozott ezekkel a témákkal, mi nem láttuk célszerűnek „201.-ként” bekapcsolódnunk ezekbe a kutatásokba.

Az akkori technikai felszereltségünk lehetővé tette, hogy kozmetikumok *emberi bőrre* gyakorolt hatását tanulmányozzuk horizontális ATR (Attenuated Total Reflection) módszerrel. Ameriaki kutatók [15] eredményeire alapozva a narkotikumok emberi hajban való akumlálódásával kezdtünk foglalkozni. A *hajminták* néhány mm hosszú darabját vizsgáltuk egy Golden Gate fantázia nevű gyémánt ATR kristályt tartalmazó mikroreflexiós feltétellel.

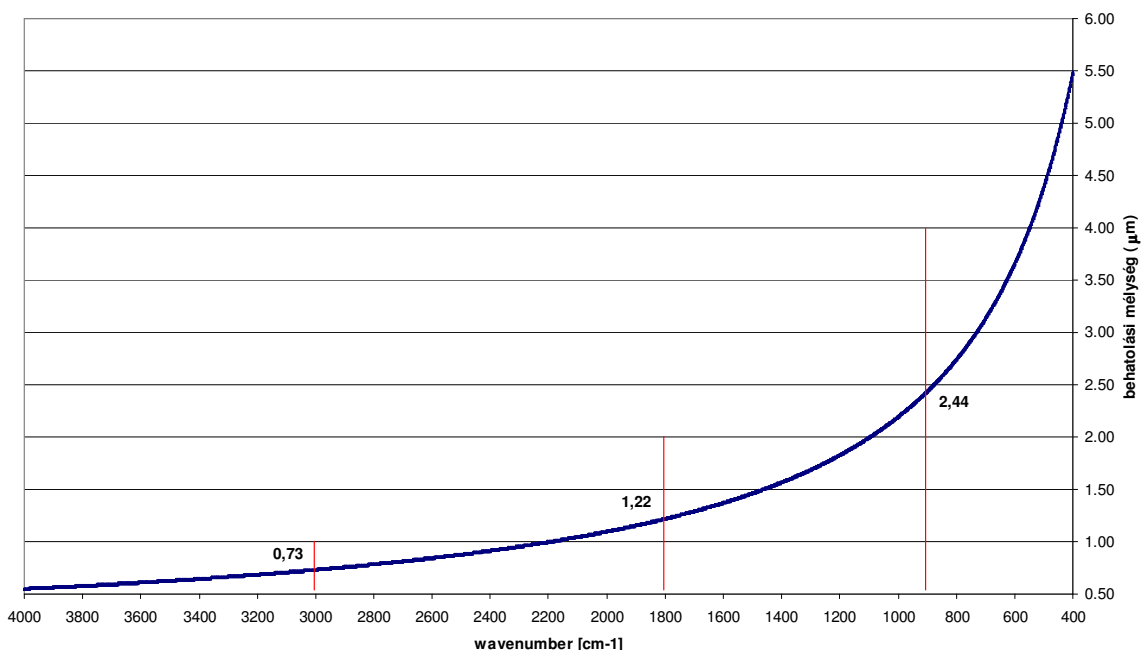
### 1.1 Eredmények az emberi bőr infravörös spektroszkópai vizsgálatára területén.

A bőr a testünk legnagyobb szerve, a felülete mintegy  $2 \text{ m}^2$ . Négyzetcentiméterenként 6 millió sejtet tartalmaz. Számos igen fontos szerepe van a szervezetünk működésében. A bőr külső rétegének, a *stratum corneum*nak a tipikus összetétele a víztartalmat leszámítva: 70-80% protein, 5-15 % lipidek és 5-10 % különböző egyéb szénhidrát származékok. Mivel élő emberből bőr mintát nem tudunk venni (és nem is akarunk), így azt *in situ* a testen kell megmérnünk. Erre a legjobb módszernek a multireflexiós technika használható, ahol a bőr felületét érintkezésbe hozzuk egy néhány  $\text{cm}^2$  méretű optikai felülettel, ZnSe kristállyal. A kristályon áthatoló infravörös fény minden reflexiónál behatol a bőr felületébe 1-5  $\mu\text{m}$  mélységbe (behatolási mélység hullámhossz függő), így a *stratum corneum* felületéről kapunk színképi információt. Az 1. ábra szemlélteti a mérés módját, miszerint az alkar alsó részét ráhelyezzük a horizontális ZnSe kristályra és mérsékeltén rányomjuk.



1. ábra. Horizontális multireflexiós (ATR) feltét elhelyezkedése az infravörös spektrométer mintaterében és a mérés módja

A 2. ábrán látható, hogy  $3000 \text{ cm}^{-1}$ -nél csak  $0,7 \mu\text{m}$ , míg  $400 \text{ cm}^{-1}$ -nél  $5,5 \mu\text{m}$  az infravörös fény behatolási mélysége. Ez a jelenség igen eltorzítja a bőr színképében mért elnyelési sávok relatív intenzitását, de ezt az effektust ún. ATR korrekcióval kiegyenlítjük.



**2. ábra.** Az infravörös fény bőrbe történő behatolási mélység függése a hullámszámtól ( $\text{cm}^{-1}$ ) ill. a hullámhossztól. (A bőr törésmutatóját 1,5-nek véve, ZnSe multireflexiós kristály esetében,  $45^\circ$ -os beesési szög mellett számított elméleti görbe.)

#### *Hidratáló kozmetikumok hatása és az új felismerés*

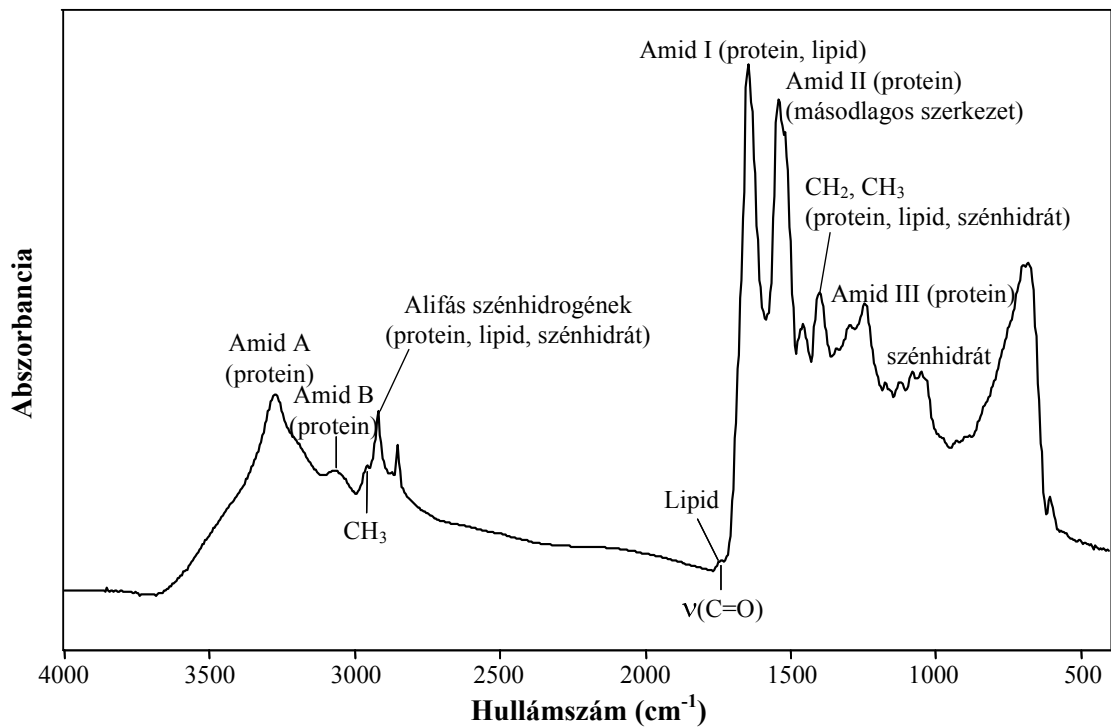
Az emberi bőr reprezentatív infravörös színe látható a 3. ábrán. A bőr alapvető komponenseinek (a fehérjék (Amid A, B, I, II és III sávjai), a lipidek ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  ill. ( $\text{C}=\text{O}$ ) sávjai) és a szénhidrátok  $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$  tartományban lévő sávjai) jellemző elnyelése.

A bőr nedvesség tartalmára jellemző széles sáv intenzitása  $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  között (nagyjából az Amid A és B keskenyebb sávok alatt) jól mérhető. Meglepő eredményre jutottak a különböző márkájú hidratáló krémek vizsgálatával. A bőr nedvesség tartalmát mértük az idő függvényében és kiderült, hogy hidratálás „sebessége” nem mutatott korrelációt a krémek árával. Az „olcsóbb” krémek sokkal hatásosabban közvetítették a nedvességet a bőrbe, mint a költségesebb készítmények.

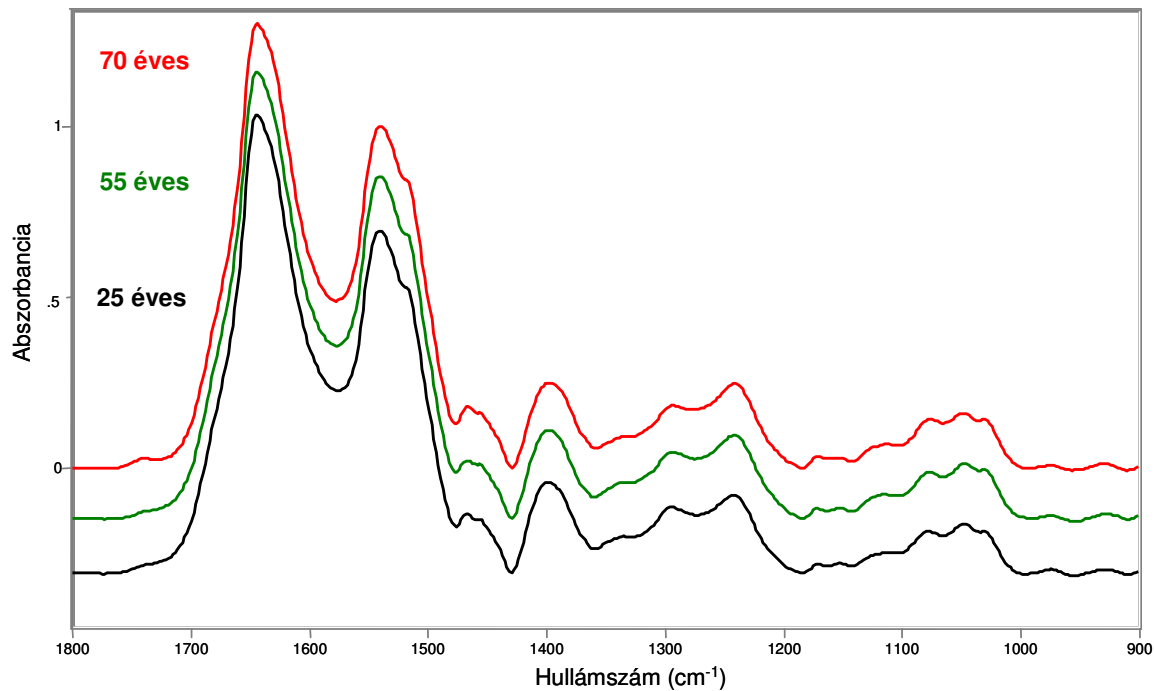
Meglepő eredményre jutottunk, amikor különböző korú egészséges felnőttek (20-25 év felett) bőrének FTIR színeket mértük. Kiderült, hogy a különböző korú (25-75 év közötti) felnőttek alkari bőrének színe független a kortól. Ezt illusztrálja a 4. ábra. Feltehetően a színesbőrű (ázsiai vagy afrikai) páciensek bőrének színe eltér a fehérbőrű (kaukázusi) emberek színeitől, de ezekről nincsenek még tapasztalataink.

Ugyanakkor gondot jelentett a fiatal generáció bőrének vizsgálata, mivel a testi növekedés közben folyamatosan változik ill. módosul a bőr FTIR színe. Tehát gyermekek és serdülőkorú fiatalok bőrének tanulmányozása különös körütekintést igényel. Azonos korú fiatalok a biológiai fejlődés különböző szintjén lehetnek, így nehéz a bőr színeinek összevetése.

Kozmetikumok bőrre gyakorolt hatásának FTIR spektroszkópiai detektálásakor referencia színekre volt szükségünk. Kiderült, hogy bizonyos esetekben a páciensek bőrének színe nem egészen egyezett azok korábbi méréseivel. Ekkor ismertük fel azt az alapjelenséget, miszerint az emberi bőr színe összefüggésben van az egyén egészségi állapotával. Megfázás, gyomorrontás, stresszes állapot, menstruációs ciklus, stb. megváltoztatja a bőr színeit.



3. ábra. Az emberi bőr (alkar) infravörös színképe teljes közép-infravörös tartományban és a főbb összetevők sávjainak azonosítása.



4. ábra. Az emberi bőr IR spektruma gyakorlatilag kortól és nemtől független.

Ekkor határoztuk el tömeges mérések végzését és a lelkes fiatal csapatunk hétvégeken különböző városok művelődési házaiban ingyenes méréseket végzett, gyakran akár 200 fő önkéntes bőr színekét regisztráltuk (Budapest, Eger, Nagykanizsa, Keszthely, Balatonöszöd, stb. helyeken).

Kezdeti eredményeinket igazoltuk mintegy további 1500 páciens bőrének FTIR spektroszkópiai vizsgálatával, melyek egyértelműen alátámasztották azt a jól ismert orvosi tapasztalatot, miszerint a „bőr az egészség tükré”. Valóban sikerült igazolnunk, hogy gyakorlatilag valamennyi olyan betegség, mely kapcsolatba hozható az emésztési folyamatokkal, az immunrendszer, az idegrendszer, a szív- és érrendszer káros változásaival, vagy az egyes szervek (pl. gyomor, tüdő, máj, vese, stb.) funkcionális problémáival jól mérhető módon megváltoztatják az emberi bőr IR színekét.

Sajnos a bőr biomolekuláris folyamatainak bonyolultsága és a megfelelő orvosi háttér kontrolljának hiányában nem volt módunk összefüggésbe hozni a színképi jeleket az egyes betegség típusokkal. Viszont az már az addigi méréseinkből is kiderült, hogy képesek vagyunk a szervezet ún. fiziológiai állapotát értékelni. Ezek az eredmények unikálisak a szakirodalomban. Ezt szeretnénk az alábbi kutatási eredményeinkkel illusztrálni.

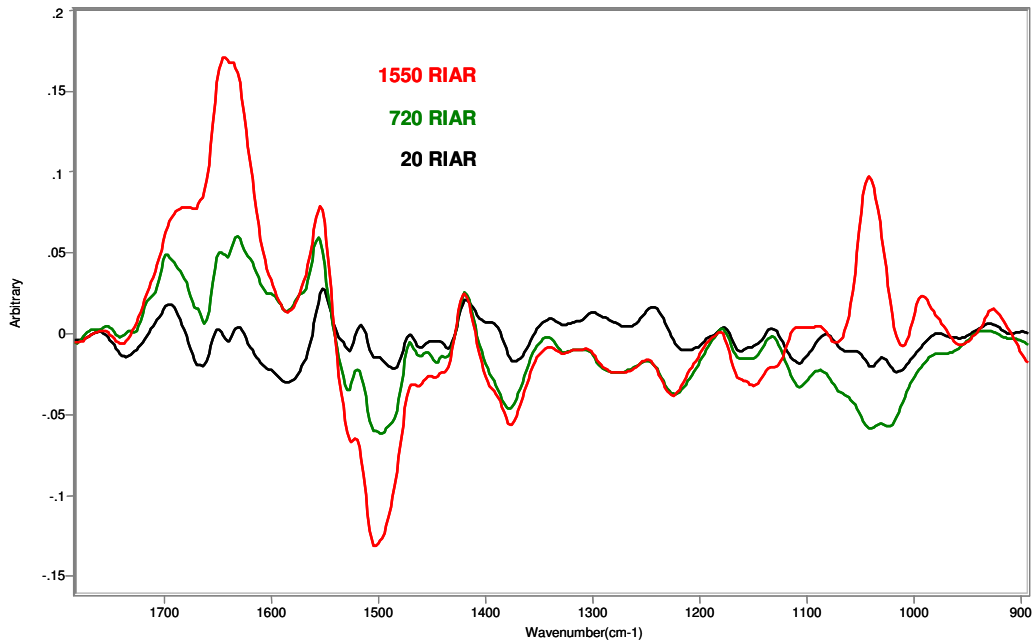
### *Bőr színeképek alapján történő ún. pre-diagnózis*

Kellő körültekintéssel létrehozhatunk egy emberi bőr (alkar) színeképek tartalmazó könyvtárat, melyben jelenleg 100-150 „egészséges” páciens bőrének színeképe, mint referencia szerepel. Jelenleg ezeknek az átlag színeképet használjuk *referencia színeképnek*.

Annak érdekében, hogy „kvantitatíve” mérni tudjuk az egészséges állapotra jellemző színeképhez képest az eltérések mértékét, bevezettünk egy ún. RIAR (Relative Infrared Analytical Risk) egységet, ami nem más, mint egy súlyozott összege a színeképek abszorbancia eltéréseinek mintegy 20 karakterisztikus hullámhossznál ( $\text{cm}^{-1}$ -nél) mérve. Az eddigi mérési tapasztalataink szerint az „egészséges” emberek bőrének színeképe 0 és 400 RIAR egység között változik. Ezen kívül létrehoztunk még három kategóriát is amelyek az alábbiak:

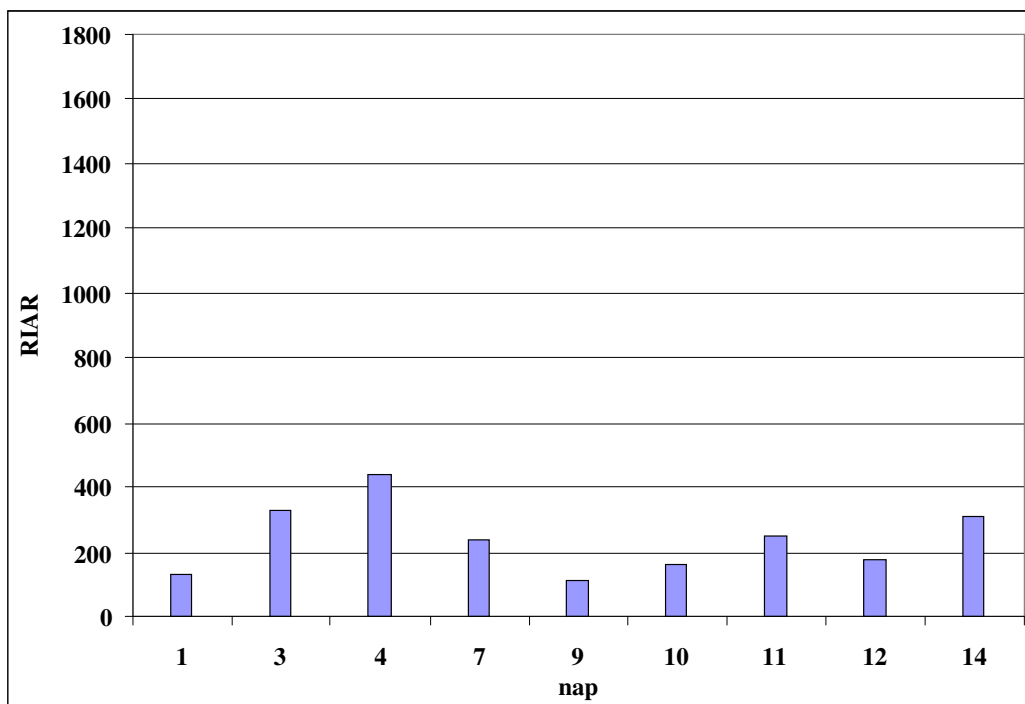
<b>RIAR egység</b>	<b>Besorolás</b>
0-400	egészséges
400-600	gyengén veszélyeztetett
600-800	veszélyeztetett
800-2500	erősen veszélyeztetett

Ezeket a színképi eltéréseket szemlélteti a 5. *ábra*, melyen egy erősen veszélyeztetett (1550 RIAR), egy veszélyeztetett (720 RIAR) és egy egészséges (20 RIAR) pácienseknek az egészséges színeképtől való spektrális eltéréseit szemléltetjük.



**5. ábra.** Az egészséges páciensek átlagszínképétől való eltérés mértéke, melyet színképi kivonással állítottunk elő RIAR értékek értelmezését lásd a szövegben.

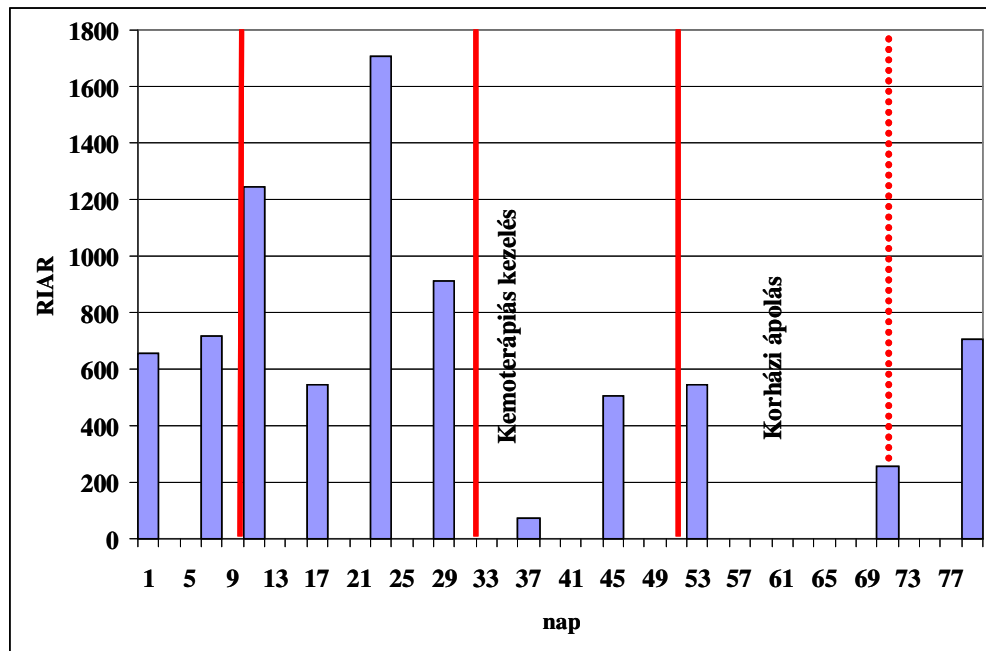
Annak igazolására, hogy mennyire megbízható az általunk kialakított RIAR mérőszám a *6. ábrán* szemléltetjük egy egészséges páciens bőr színképéből meghatározott RIAR értékek változását egy kéthetes mérési periódusban. Az értékekben nincsen jelentős különbség, 100 és 420 RIAR között változnak, gyakorlatilag az ún. egészséges szint határán belül maradnak.



**6. ábra.** Egy egészséges egyén RIAR értékének változása.

### Beteg páciensek RIAR értékeinek változása

Felmerül a kérdés, hogy beteg emberek esetében a magas RIAR értékek miként változnak? Egy tüdőrákos beteg (máj és csonttrákos áttéttel) RIAR értékeinek változását szemlélteti a 7. ábra.



7. ábra. Tüdő (máj és csont) rákos beteg RIAR értékeinek ingadozása.

Látható, hogy a bőr állapota rendkívül instabil, nagy és kis RIAR értékek váltakoznak, mely értékek bizonyos terápiák után javulni látszanak, de nem stabilizálódnak az egészségeshez közeli szinten.

Igen hasonló eredményeket kaptunk egy tüdőrákos beteg bőrének rendszeres FTIR spektroszkópiai monitorozásával. A RIAR értékek változását mértük hat hónapon át. A beteg közben négy kemoterápiás és egy radioterápiás kezelést kapott, de egyetlen alkalommal sem közelítette meg az egészséges emberek átlag szintjét és semmiféle stabilizálódásnak sem mutatta jelét.

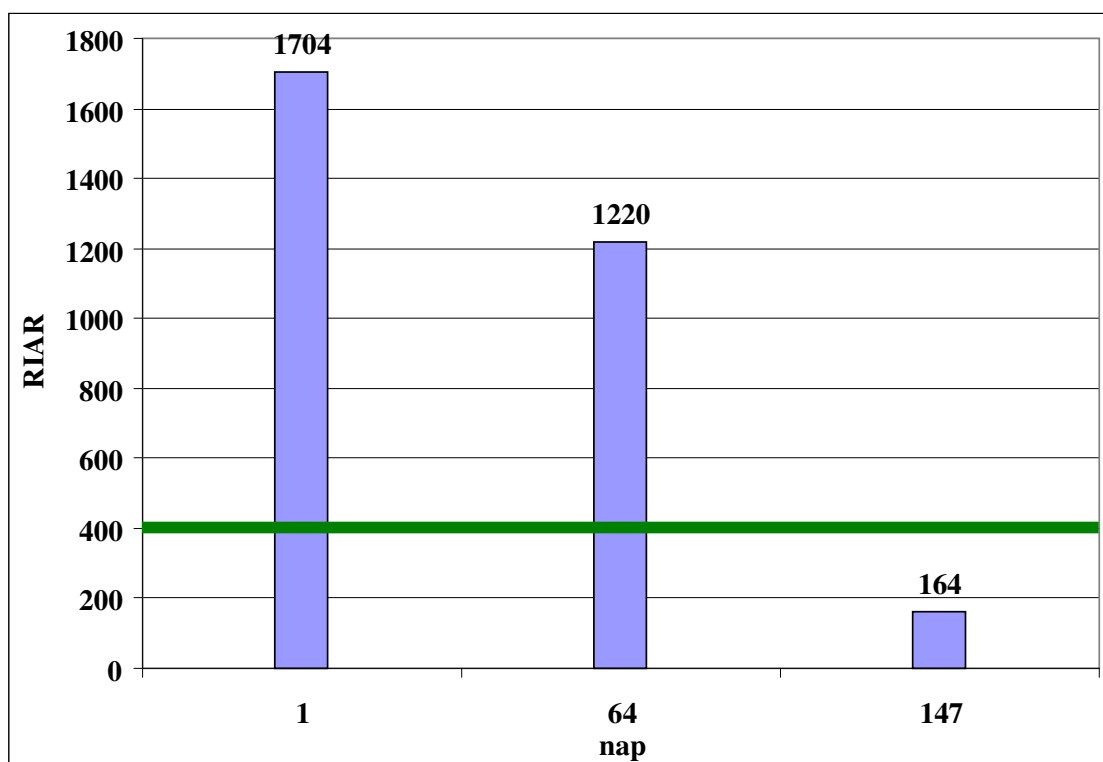
Sajnos már mindkét páciensünk az életét vesztette. Vajon azonkívül, hogy egy betegség folyamatos fennállását (stagnálását) tudjuk detektálni, lehetséges-e egy felépülési folyamatot nyomon követni?

### Felépülési folyamat monitorozása

Módunkban állt egy időben diagnosztizált hasnyálmirigy rákos beteg bőrének FTIR szinképek mérésével a gyógyulási folyamatának nyomonkövetése (8. ábra). A beteg a kemo- és sugárterápiás kezeléseket követően került hozzánk. Az első alkalommal igen nagy RIAR értéket kaptunk (1704 RIAR) majd két hónap múlva az jelentősen csökkent (1220 RIAR), de közel öt hónap elteltével az ún. „egészséges” szint tartományba került (164 RIAR). Ettől kezdve egy alacsony RIAR értéken stabilizálódott az állapota. Méréseink teljesen összhangban voltak a klinikai diagnosztika eredményeivel, azaz a páciens sikeresen felépült.



Ez a mérési sorozatunk nemcsak azt igazolja, hogy követni tudjuk az egészségi állapot alakulását, hanem azt is, hogy a RIAR értéket korreláltathatjuk a betegség progresszivitásával.



8. ábra. Hasnyálmirigy rákos beteg gyógyulási folyamatának nyomon követése. A zöld vonal az egészséges RIAR érték felső határa.

### Tömeges szűrővizsgálataink eredményei

Az egészséges állapotra jellemző RIAR értéket sikerült meghatároznunk a bőr FTIR színekpe alapján 1350 páciens esetében. A megvizsgáltakból 960-an adták meg betegségtypusukat, azaz tudtak szervi betegségeikről. Ezen páciensek 85-90 %-ban kiválasztódtak a bőrük színekpe alapján a magas RIAR értékeknek megfelelően, ami 820 főt eredményezett. A kapott eredményeket betegségtypusok szerint a 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat. 820 beteg páciens bőrének IR színekpében észlelt elváltozások eloszlása betegség típusonként

Kardiovasculáris rendszer betegségei	287 fő	(35 %)
Rákos megbetegedés	270 fő	(33 %)
Gyomor és bélrendszeri betegség	82 fő	(10 %)
Idegrendszeri károsodások	74 fő	(9 %)
Diabetes	67 fő	(8 %)
Allergia	40 fő	(5 %)
<b>Összesen:</b>	<b>820 fő</b>	

Az országos statisztikai adatokkal összhangban a két fő betegségtypól, az érrendszeri és a rákos betegségektől, szenved a betegek közel 70 %-a. A többi gyakoribb betegség a 820 fő 5-10 %-át adják (1. táblázat).

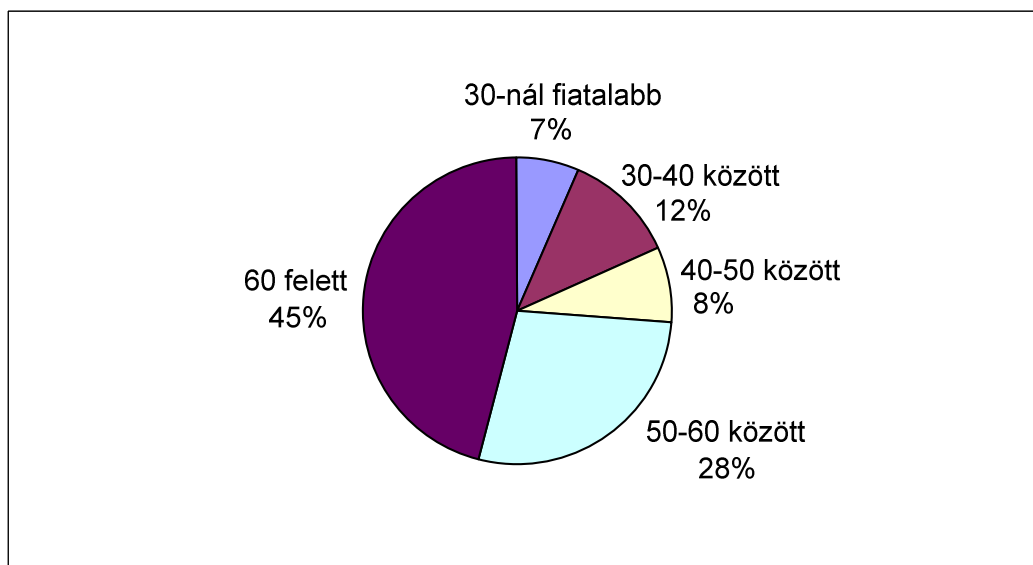
A legmeglepőbb eredményünk az volt, hogy a magát egészségesnek érző/tartó páciensek közel 60 %-a méréseink alapján a közepesen- ill. az erősen veszélyeztetettek kategóriájába került (2. táblázat). Ezek a mérési eredmények világosan alátámasztják azt a tényt, hogy ún. egészségügyi előszűrésre a bőr IR színeképének vizsgálata **kiválóan alkalmas!**

**2. táblázat.** Önmagát egészségesnek tartó emberek mérési eredményei (380 fő)

Egészséges, enyhén veszélyeztetett	152 fő	(40%)	228 fő (60%)
Közepesen veszélyeztetett	137 fő	(36%)	
Erősen veszélyeztetett	91 fő	(24%)	

Természetesen a 228 fő esetében javasoltuk a sürgős orvosi vizsgálatot. Néhány esetben később köszönetüket fejezték ki azok a páciensek kiknél a korai diagnosztika segítette a gyors és sikeres felépülésüket. Sajnos a meggyőző eredmények ellenére nem sikerült z orvosi etikai bizottságtól engedélyt kapni hivatalos szűrővizsgálatokra. Az indok az volt (jogosan), hogy a szűrést orvosi kontrol hiányában végeztük. Ekkor vettük fel a kapcsolatot a XVI. Kerületi Önkormányzati Szakorvosi Rendelő Intézettel, ahova telepítettünk egy FTIR spektrométert helyszíni bőrvizsgálatokra. Dr. Várkonyi Ákos igazgató főorvos és munkatársai közreműködésével 404 páciens mérését végeztük el teljes orvosi kontrol mellett.

A vizsgált páciensek 80%-a volt nő és 20%-a férfi. A kor szerinti eloszlást az alábbi (9. ábra) szemlélteti.



9. ábra: A megvizsgált személyek kor szerinti eloszlása

A korszerinti eloszlásból látható, hogy a „merítés” nem a legsikeresebb, sajnos az 50 év alattiak aránya mindössze 27% volt.

A megvizsgált 404 páciens bőrének FTIR spektroszkópiai vizsgálatait egyeztetve az orvosi diagnosztika eredményeivel, illetve a sikeres és sikertelen mérések összevetésével az alábbi eredmények születtek (3. táblázat).

3. táblázat: A 404 paciens bőrének (alkarjának) FTIR spektroszkópiai méréséből származó eredmények.

Mérési eredmények leírása	Szám	Százalék
1) Sikertelen mérések száma	20	5
2) Hibás pozitív diagnózis	28	7
3) Hibás negatív diagnózis	12	3
4) Szívbeteg, csont és izomrendszeri és kötőszöveti betegségek	97	24
5) Érrendszeri megbetegedések és hipertónia	120	30
6) Rákos megbetegedések	30	7,5
7) Emésztőszervi betegségek	10	2,5
8) Egészségesnek talált páciensek	87	21

A fenti adatok egyértelműen igazolják, hogy az alkari bőr FTIR színeképek speciális adatfeldolgozásával a módszer u.n. „találati aránya” közel 85% volt, összevetve az orvosi vizsgálatok eredményeivel.

A vizsgált személyek 5%-a esetében nem sikerült értékelhető színeképet regisztrálnunk. Bizonyos esetekben nem lehet jó „optikai kontaktust” teremteni az alkari bőr felülete és a ZnSe kristály között. Ez az eset u.n. nagyon „száraz” bőr esetében áll elő. Ezen kívül a hibás pozitív (7%) és hibás negatív (3%) diagnózis mértéke nem veszélyezteti a módszerünk alkalmazhatóságát.

Hangsúlyozni szeretnénk, hogy sem az 1. sem a 3. táblázatban szereplő adatok esetében nem a betegség típusát állapítottuk meg, hanem a bőr színeképe alapján általánosságban a megromlott egészségi állapotra tudunk következtetni.

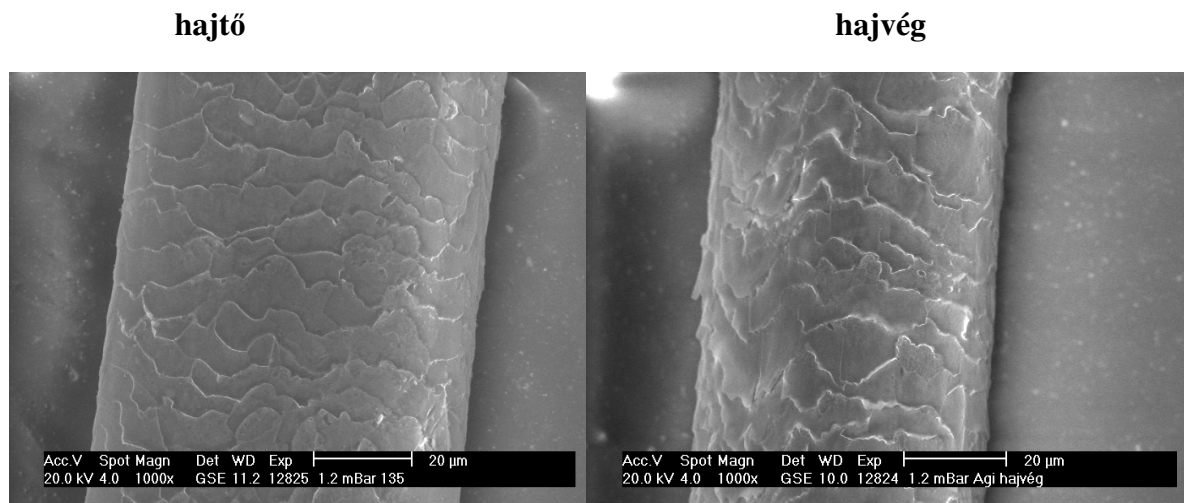
### 1.2. Eredmények az emberi haj infravörös spektroszkópiai és mikroszkópiai vizsgálati területén.

Számos közlemény foglalkozik a haj infravörös spektroszkópiai vizsgálatával. Főként a kozmetikumok hatását, az oxidálószer okozta degradációját vizsgálták. Mi K. Kalasinszky [15] munkájára alapozva a narkotikumok hajba történő akkumulálásával kezdtünk foglalkozni. A bőr mérésekhez hasonlóan itt is egészséges (és drogmentes) emberektől kellett referencia mintákat gyűjtenünk. A hajminták számának növekedésével kiderült, hogy a bőrhöz hasonlóan az emberi haj színeképe is összefüggést mutat az egészségi állapottal. Azokban az esetekben, ahol a bőr színeképe egészségi problémákra utalt, a haj színeképében is eltéréseket észleltünk az „egészségesek” hajához képest. Az emberi haj ilyen céllal történő vizsgálatát mi kezdtük el elsőként a szakirodalomban. Gyakorlatilag eddig nem talákoztunk olyan közleménnyel, amely a haj infravörös színeképek jellegét összefüggésbe hozta volna az emberi szervezet általános fiziológiai állapotával, azaz egészségével ill. betegségével. Ez a téma is a bőrhöz hasonlóan úttörő a szakirodalomban.

#### Elővizsgálatok eredményei

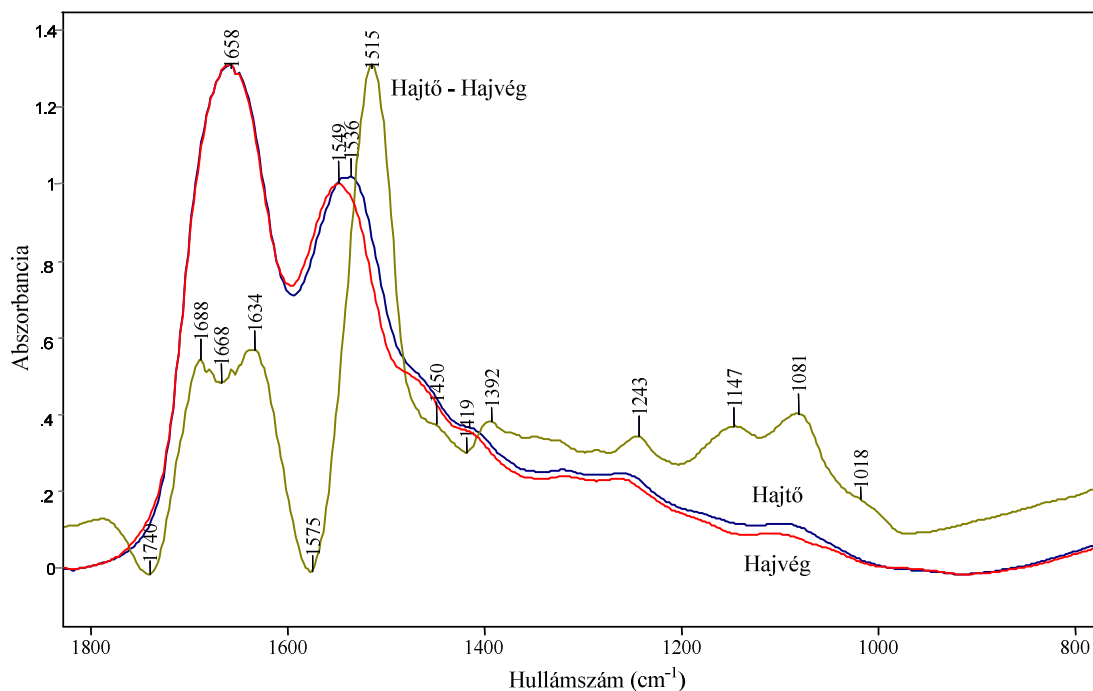
A hajminták mintegy néhány mm hosszú darabját vizsgáltuk egy Golden Gate fantázia nevű gyémánt kristályt tartalmazó mikroreflexiós (ATR) feltétellel. Próbálkoztunk nagynyomású gyémánt cellát is használni FTIR mikroszkóp segítségével, de az u.n. mikro-ATR jobban reprodukálható színeképeket adott. Mindenek előtt meg kellett ismernünk az emberi haj infravörös színeképek néhány, a kiértékelés szempontjából, fontos sajátosságát.

Jelentős szerkezeti és színképi különbségeket tapasztaltunk a hajtó ill. a hajvég méréseinek összehasonlításakor. A hajtó és a hajvég pásztázó elektronmikroszkópos felvétele látható a 10. ábrán.



10. ábra. A hajtó és a hajvég pásztázó elektronmikroszkópiás felvétele

A felvételen nemcsak a vastagság, hanem a morfológiai különbség is jól felismerhető. A hajvég jelentősen degradált állapotot mutat. Ezzel összhangban igen jelentős a színképi különbség a **hajtó** ill. a **hajvég** (40 cm-re a hajtótól) között (11. ábra). Különösen jól látható az eltérés a különbség színkép (hajtó-hajvég) alapján. Az Amid I (~1650  $\text{cm}^{-1}$ ) és Amid II (~1530  $\text{cm}^{-1}$ ) sávok jelentős eltérése a fehérje szerkezet megváltozására utal. Ez a kísérleti tény azt támasztja alá, hogy a méréseinket a hajtó közelében a haj környezeti hatásoknak ki nem tett, még nem károsodott részén célszerű végeznünk.

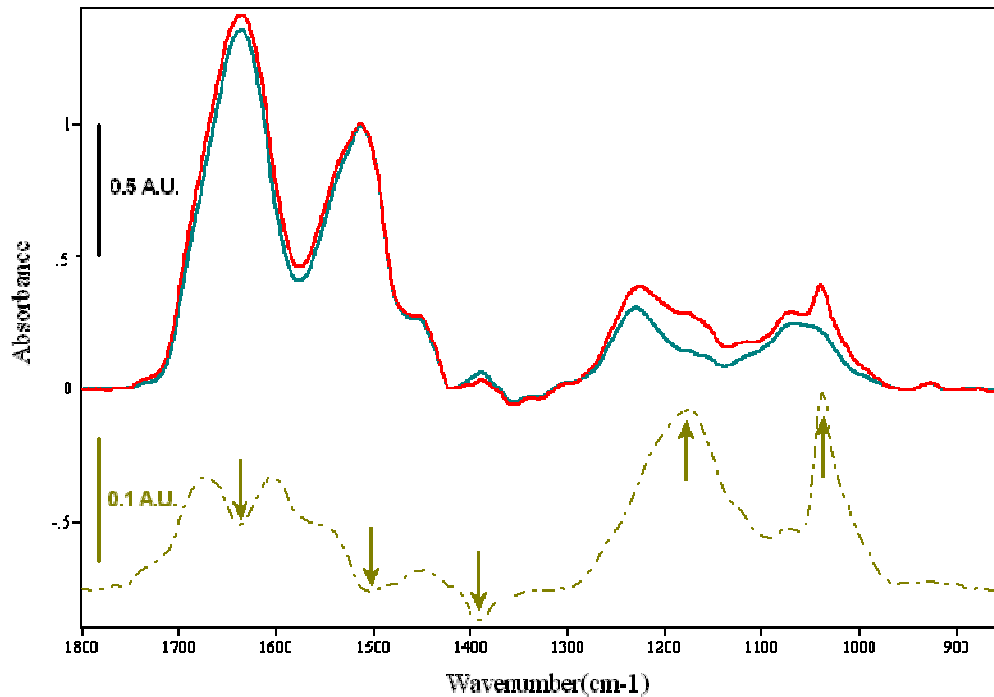


11. ábra. 40 cm-es haj tövének és végének IR színképei és azok különbsége

Az infravörös spektroszkópiai méréseink azt is igazolják, hogy a hajszínek (szőke, barna, fekete, vörös) nem befolyásolták az infravörös színképeket. Tehát a különböző melaninok

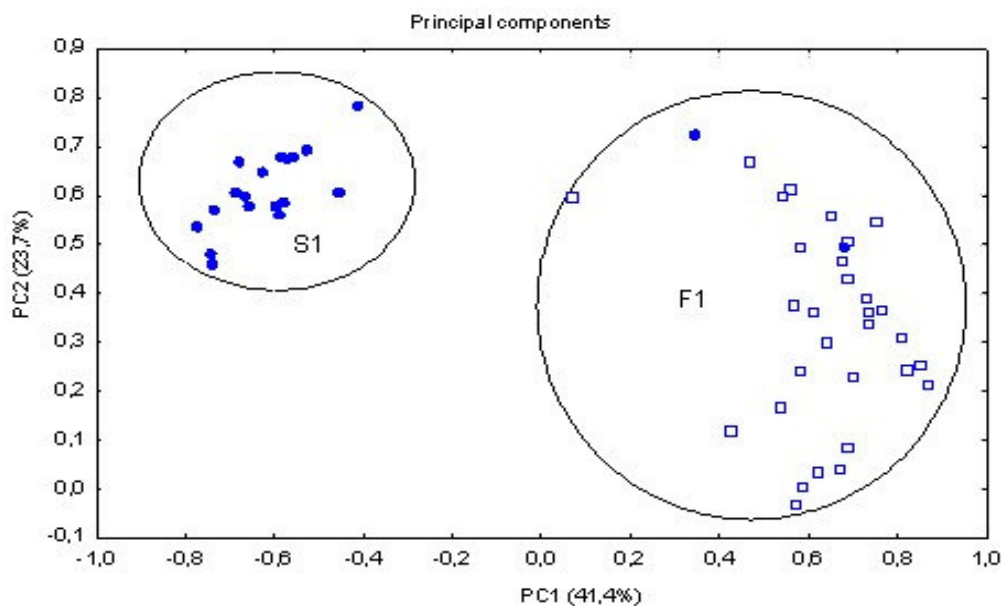
(pigment anyagok) jelenléte ill. azok koncentrációjának változása nem okozott mérhető spektrális különbségeket! (A melaninok a tirozin oxidációs termékei az epidermisz bazális rétegeiben előforduló pigmentanyagok. A bőr és a szőrzet színének kialakításában van szerepük.)

Az előbbiekkal ellentétben különös gondot okoz a szőkített, festett hajak vizsgálata. Peroxid hatására a cisztein  $-SH$  ill. a cisztin  $-S-S-$  fragmense  $-SO_2$  csoportokká oxidálódik (sáv  $1040\text{ cm}^{-1}$ -nél), ami jelentősen módosítja a haj IR színeképét (12. ábra). A színeképi különbség lényegesen meghaladja a különböző betegségek által okozott spektrális változásokat. Ezért a szőkített, festett ill. dauerolt hajminták vizsgálata nem használható arra, hogy az egészséget és a beteg státuszt megkülönböztessük.



12. ábra. Szőkített és „eredeti” nem festett haj IR színeképe és azok közötti különbség (szaggatott vonal).

Fontosnak találtuk megvizsgálni azt, megkülönböztethető-e egy ugyanarról a fejről származó ősz és nem ősz haj? A színeképi különbségek „szemmel nem azonosíthatók” (mint pl. a szőkítés esetében), de statisztikus adatfeldolgozással megkülönböztethetők. Főkomponens analízis segítségével a barna és az ősz hajsál FTIR színeképe nagyszerűen megkülönböztethető. Ezt szemlélteti a 13. ábra.



13. ábra: Ugyanattól a személytől származó ősz (□) és barna haj (●) FTIR színekének megkülönböztetése főkomponens analízis segítségével.

Ebből a tényből megállapítható, hogy az őszülés folyamata nem csak a melanin mint festékanyag hiányát okozza, hanem a haj szerkezete biológiailag is átalakul.

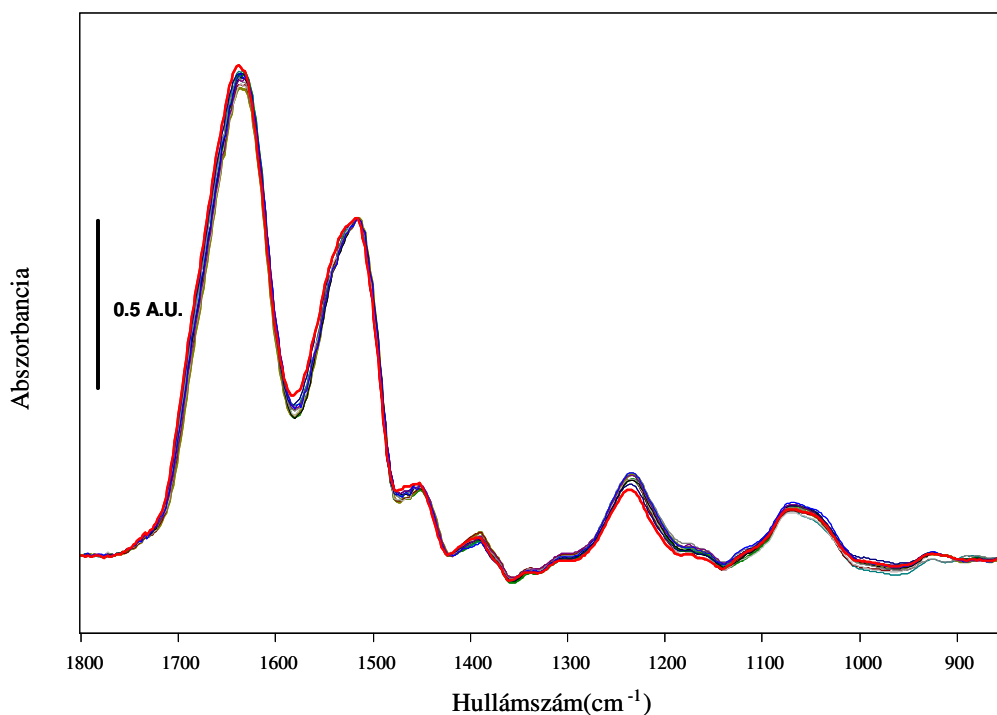
A fentiekben vázolt és egyéb méréseinkből összefoglalva megállapíthatjuk:

- a haj színe (hogy szőke, barna, fekete, vörös) nem befolyásolja a méréseinket;
- a hajvég és hajtő színe jelentősen eltér(het) egymástól (hajhossz függvénye)
- az ősz hajszálak minimális spektrális eltérését figyelembe kell vennünk;
- kor szerint nincs jelentős színképi változás (felnőttek esetében);
- haj esetében nemek szerint minimális különbségek mérhetők;
- emberi etnikumok szerinti jelentős különbségek (Európai, Ázsiai, Kaukázusi, Afrikai, Dél-Amerikai) (irodalmi adatok).

### Referencia színek

A különböző helyszíneken és a XVI Kerületi Rendelő Intézetben mért páciensek bőr színekének felvételekor, hajmintát is vettünk, melyek hosszadalmasabb mérését később a spektroszkópai laboratóriumban (Veszprém vagy Budapest) végeztük el. (A haj mintavételhez a személyek írásos beleegyezését kértük minden alkalommal.)

Több mint száz egészséges, különböző korú férfi és nő hajmintáit gyűjtöttük össze. A 14. ábrán jól látható, hogy az Amid-II sávra normált színek közötti eltérés elhanyagolhatóan kicsi, azaz átlagolással rendkívül hasonló referencia színekhez jutunk. Közel száz színek átlagát normáltuk ezután referenciának.

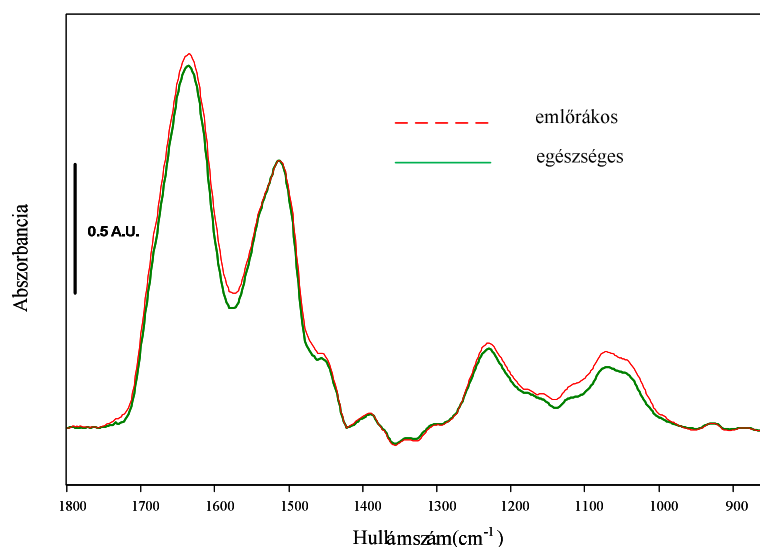


**14. ábra.** Egészségesek FTIR spektrumai (14 fő férfi)

#### *A rákos állapot azonosítása hajmintákból*

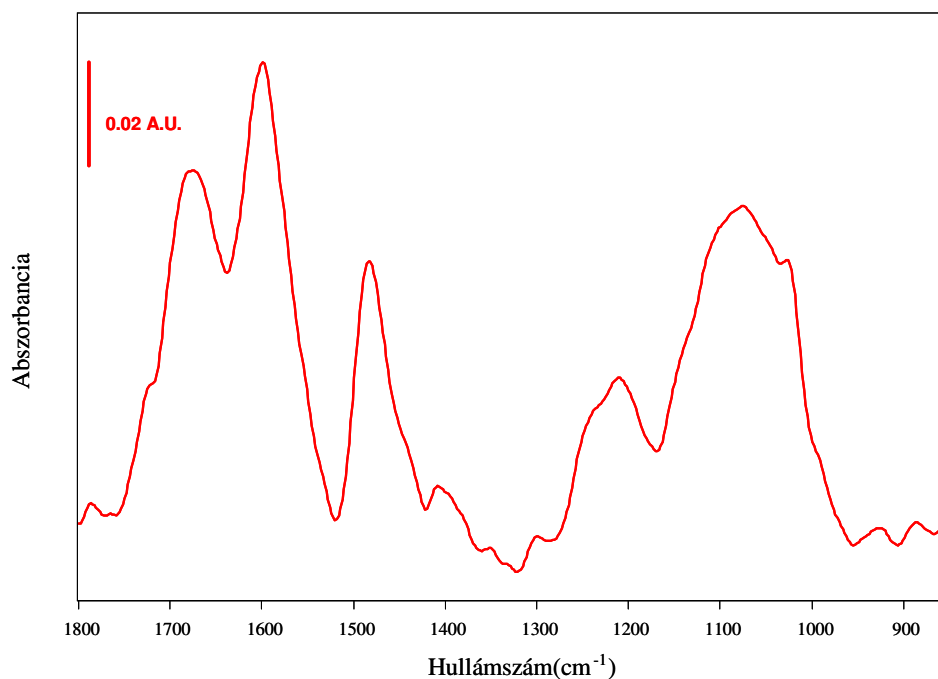
Az a mechanizmus, amely a haj szerkezetét módosítja rákos megbetegedések esetén még nem ismert, de számos hajnövekedést befolyásoló tényező jelen van a rákos daganatok növekedéskor is.

Hogy valóban milyen különbségek láthatók az egészséges és beteg (emlőrákos) páciens FTIR színeke között, az alábbi 15. ábra szemlélteti.



**15. ábra.** Egészséges és emlőrákos beteg hajának infravörös spektrumai.

A két színekép különbsége látható a 16. ábrán. A mért különbség igen jelentős és egyértelmű, bizonyítékot szolgáltat a betegség jelenlétére.



**16. ábra.** Az előző két spektrum (15. ábra) különbsége.

A színeképek második deriváltjai alapján igyekeztünk precízen mérhetővé tenni a sáveltolódások mértékét. Ezt szemlélteti az *4. táblázat*.

**4. táblázat.** Az egészséges és emlőrákos beteg hajának színeképeiben mért sáveltolódások (FTIR mikroszkópiás felvételekből készültek).

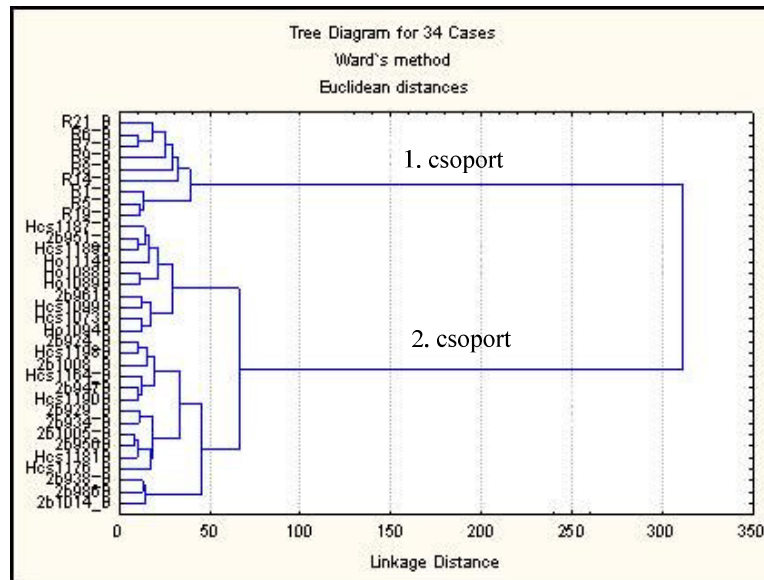
Egészséges (cm <sup>-1</sup> )	Emlőrákos (cm <sup>-1</sup> )	Sáveltolódás (cm <sup>-1</sup> )
1742	1739	-3
1686	1691	+2
1676	1680	+4
1625	1628	+3
1530	1539	+9
1530	1532	+2
1448	1440	-8
1401	1405	+4
1282	1280	-2
1124	1126	+2
1111	1113	+2
-	1043	Új sáv
1039	-	-
-	1028	Új sáv
1020	1014	-6
956	961	-4
852	864	+12

\* Csak azok a sávok vannak feltüntetve, amelyekben mérhető volt a sáveltolódás (min. érték:  $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ).



Kilenc emlőrákos páciens FTIR színeképét választottuk ki további matematikai/statisztikai műveletek elvégzésére. Ezekhez hozzátettünk 11 egészséges férfi és 14 egészséges nő hajszíneképét. Az így kapott 34 színeképet az alábbi kemometriai módszerekkel dolgoztuk fel.

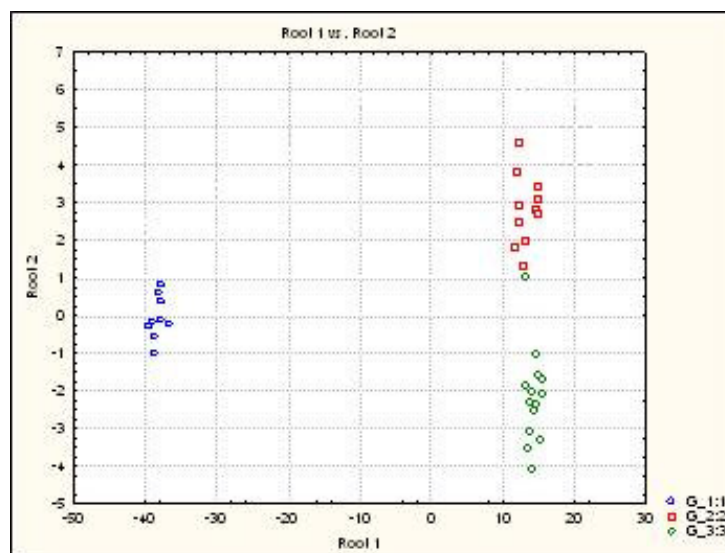
Először a multivariáns klaszter analízist alkalmaztuk, a színeképi azonosságok és különbségek felismerésére. A hierarchikus klasszifikáció eredménye látható az ún. dendogramokon. (17. ábra).



17. ábra. 34 személy haj IR spektrumainak dendogramja (Cluster analysis).

Az első osztály, melyet R betűvel jelöltünk az emlőrákos betegeknek felel meg és a 17. ábra felső részében csoportosulnak. Míg a második csoport az egészséges férfiak és nők színeképeit reprezentálja.

Ezen kívül lineáris diszkriminációs analízist (LDA) végeztünk ugyanezen 34 színeképpel (18. ábra).



18. ábra. A spektrális különbségek főkomponens analízis alapján.

Meglepetésként tapasztaltuk, hogy a színeképek 3 különböző csoportra oszlanak. Az *első* (a bal oldali) az emlőrákosokat foglalja magába, a *második* (jobbra felül) az egészséges férfiaknak felel meg és a *harmadik* (jobbra alul) az egészséges nők szubcsoportját reprezentálja. Rendkívül meglepő és igen érdekes mérési és adatfeldolgozási eredmény az emlőrákos hajak egyértelmű szeparációja, valamint a nők és férfiak hajszíneképeinek ilyen mértékű megkülönböztetése.

### *A vizsgálataink várható elméleti és gyakorlati jelentősége*

A pályázatban tervezett célt a korábban említett problémák mellett részben elértük. A több mint 2000 hajminta mérését és feldolgozását nem tudtuk befejezni. Ettől függetlenül igazoltuk a szakirodalomban elsőként, hogy az emberi bőr és haj kiválóan alkalmas, mint szűrővizsgálati minta az emberi szervezet fiziológiai állapotának értékelésére, azaz a betegségek okozta változások detektálására.

Az emberi haj és bőr spektroszkópiai vizsgálata olyan alapkutatói témákhoz sorolható, melyeknek igen fontos gyakorlati jelentősége lehet. Meggyőződésünk, hogy minden újszerű próbálkozás, amely segít akár a diagnózis felállításában, akár a betegség korai felismerésében, vitathatatlanul fontos az egész társadalom számára. Ezt a célt szeretnénk szolgálni szakmai felkészültségünkkel és az új mérési módszerek iránti érdeklődésünkkel. Biztosak vagyunk abban, hogy a hagyományos szövettani és egyéb diagnosztikai módszerek mellett az infravörös- és Raman-mikroszkópia gyorsasága (néhány másodperces mérés), egyszerűsége, relatív olcsósága és megbízhatósága versenyképessé teszi a meglévő módszerekkel szemben, ami egyértelműen indokolja kutatásaink fontosságát. Eredményeinkkel tovább szeretnénk erősíteni azt az orvosi tapasztalatot, hogy a szervezet fiziológiai állapotát, a szervezet egészséges vagy beteg voltát a hajban és a bőrben mérhető elváltozásokat spektroszkópiai úton detektáljuk. A méréseink egyszerűsége, gyorsasága indokolja azt, hogy ezeket a mintákat a társadalom legszélesebb körében mérni tudjuk, és mint egy jelző rendszert az emberi test egészségi állapotáról, melyet a gyógyászat számára hozzáférhetővé tennénk. Biztosak vagyunk benne, hogy a gyógyászatban jelentős hatásai lehetnek kutatásainknak és eredményeinket az ország minden régiójában, minden kórházában és klinikáján hasznosíthatják.

## **2. Betegség specifikus spektroszkópiai jellemzők felismerése.**

A korábbiakban tárgyalt haj és bőr spektroszkópiai vizsgálatával különbséget tudtunk tenni az „egészséges” és „beteg” páciensek között. A mellrákos státusz detektálásánál sem a mellrákot azonosítottuk, hanem a betegség jelenlétét igazoltuk.

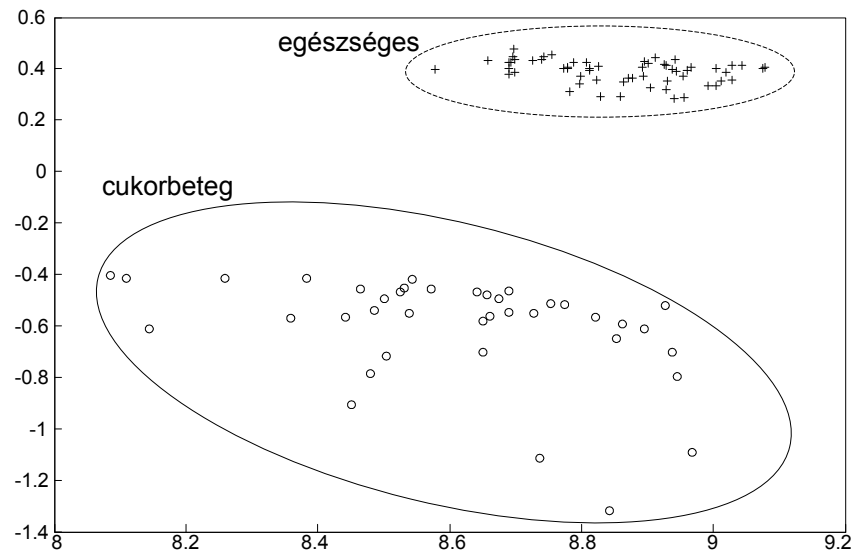
Éveken keresztül kerestük annak a lehetőségét, hogy a haj és bőr FTIR spektroszkópiai vizsgálatából lehetséges-e a betegség típusára következtetni? Más szavakkal, találunk-e a színeképben betegség specifikus elváltozásokat? Néhány esetben ez sikerült.

### *2.1. Diabetesz felismerése az alkar bőrének színeképe alapján.*

Ahhoz, hogy betegség specifikus színeképi jeleket találjunk, azaz bizonyos betegségeket a méréseink alapján diagnosztizáljunk, nagyszámú azonos betegségben szenvedő páciens vizsgálatára volt szükség. Ezért kezdtük el a XVI. kerületben lévő Önkormányzati Orvosi Rendelőintézetrel való együttműködést, hogy teljes orvosi kontroll alapján módunk legyen

esetleg néhány betegség azonosítására, azaz a „diagnózis” pontosítására. Eddig közel 400 páciens bőrének mérését végeztük el, akik között 39 cukorbeteg páciens volt.

A kutatásaink jelenlegi stádiumában módunkban van a cukorbeteg színeképi specifikumainak felismerése. Statisztikai módszerekkel (itt főkomponens analízist használtunk (PCA)) sikeresen szét tudtunk választani 39 cukorbeteg és 50 egészséges a bőrük multireflexiós FTIR színeképe alapján (19. ábra).



**19. ábra.** Főkomponens analízis (PCA) eredménye 39 cukorbeteg és 59 egészséges személy bőrének IR színeképe alapján.

Igazoltuk, hogy a cukorbeteg izzadságában, kis mennyiségben glukóz van jelen, ami megjelenik a bőr felületén, és amelynek igen specifikus jól felismerhető elnyelési sávjai vannak. A módszerünk a betegség egész korai stádiumában is működik. (Szabadalmaztatási eljárás miatt bővebb részleteket nem áll módunkban közölni!)

### 2.2. A prosztatata rák felismerése a haj infravörös színeképe alapján.

Közel 40 prosztatata rákos páciens hajának FTIR színeképéből sikerült betegség specifikus sávokat felismernünk. Ezek a kutatásaink kezdeti stádiumban vannak és folytatni szeretnénk egy új OTKA pályázat keretében.

### 2.3. Bőrrák detektálása FTIR spektroszkópiával.

Eddigi méréseink mindössze néhány melanómában szenvedő páciens bőrét (alkarját) vizsgáltuk. Előrehaladott bőrrák esetében az alkaron is mérni tudtunk specifikus spektrális jeleket. Ezeket a kezdeti eredményeinket szeretnénk tovább folytatni egy új OTKA pályázat keretében. Természetesen felhasználnánk a mikrotommal szeletelt rákos bőr szövetek multidetektoros FTIR spektroszkópiai vizsgálatát is.

Publikációink a fenti témákban (megkülönböztetésként saját közleményeinket vastag számmal jelöljük):

Az általunk kidolgozott diagnosztikai módszerekről [5, 14, 22, 23], külön a hajvizsgálatokról [10, 14-17] illetve kemometriai módszerek alkalmazhatóságáról [12, 14] számos hazai és nemzetközifórumon számoltunk be. Eredményeink 4 esetben plenáris előadásként hangzottak el [5, 14, 21, 23].

### 3. biológiai rendszerek spektroszkópai szerkezetkutatása.

Az utóbbi években sikerült korszerű műszeres háttérrel teremtenünk biológiai minták infravörös spektroszkópai vizsgálatára. Így nem csak az emberi haj és bőr méréseivel foglalkoztunk, hanem nemzetközi és hazai együttműködés keretében egyéb kutatási feladatokat is igyekeztünk megoldani.

- *Tengeri kagylók és korallok vizsgálata:* Megpróbálkoztunk u.n. tengeri kagyló (*Philippine venus*) és korall (*Porites*) FT-Raman, FTIR és FT-távolsági infravörös spektroszkópai vizsgálatával. A színek alapján megállapítható volt, hogy mindkét minta alapvetően aragonit szerkezetű  $\text{CaCO}_3$ . A részletes spektroszkópai vizsgálatok azonban spektroszkópai különbségeket mutattak ki, főként az aragonit kristályok mérete és külső formája alapján. Igazoltuk, hogy a *Porites* tartalmaz kalcit szerkezetű karbonátot is,  $(\text{CaMg})\text{CO}_3$  u.n. magneziakalcit formában. A rendkívül intenzív Raman sáv, a  $\text{CO}_3^{2-}$  totálszimmetrikus vegyértékrezgése ( $\nu_1$ ) érzékenyen változik a különböző minták esetében. Precíz méréssel néhány  $\text{cm}^{-1}$  különbség jól reprodukálható. Mindkét minta homogénnek bizonyult [8].
- *Emberi fogak IR és Raman spektroszkópai vizsgálata:* Egészséges és szuvas emberi fogak fogzománcjának FT-Raman színe alapján az u.n. Fisher index számítás segítségével egyértelműen megkülönböztethetők. Ezt szemlélteti a 2. ábra. A színképi különbségeket a fogzománcban lévő hidroxipatit kristályszerkezetének változása okozza mely szerkezeti változás a fogszuvasodás hatására történik [1, 24].
- Növényvédőszerrel kezelt tojásokból kikelő naposcsirkék máját vizsgáltuk FTIR spektroszkópiával. A mérgezés jelentős koleszterin csökkenést okozott [2, 7].
- Hasonlóan tanulmányoztuk  $\text{Cu}_2\text{SO}_4$ -oldattal „mérgezett” tiszai halak belső szerveinek károsodását. Karakterisztikus szulfát sávok jelentek meg a belső szervekben [7].

### 4. Biológiai szempontból fontos vegyületek és fémkomplexek spektroszkópai és elméleti szerkezetkutatása.

- A CdS nanorészecskéket széles körben alkalmazzák elektronikai és optikai eszközök előállítására. Fontos elvárás, hogy a szulfid alapú félvezető környezetvédelmi szempontból megfelelő anyagokból készüljön. Így a ciszteinnek, mint kis biomolekulának a Cd-al képzett komplexek kiváló kiinduló anyag. Foglalkoztunk a  $\text{Cd}(\text{HCys})_2$  típusú komplexek szerkezetvizsgálatával. Infravörös, távolsági-infravörös és Raman spektroszkópai mérések alapján megállapítottuk, hogy a komplex tetramer szerkezetű, terminális és hídkötésű tetraéderes Cd-S kötésekkel. A  $-\text{COO}-$  csoportok oxigén atomja csak gyengén kötődik a Cd-hez [20].
- Távolsági infravörös és Raman spektroszkópai és elméleti módszerekkel vizsgáltuk a Pt(II) és Pd(II) hexakva-, illetve ammónium-komplexeinek szerkezetét. Igazoltuk, hogy a  $[\text{Pt}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$ , a  $[\text{Pd}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$ , valamint a  $\text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_4]^{2+}$ , komplexek oktaéderes szerkezetűek. Az ekvatoriális síkban lévő négy ligandum kötése erősebb, mint a két axiális

H<sub>2</sub>O molekula koordinációja, így az [M(OH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, komplexek C<sub>4v</sub> szimmetriájúak, illetve a cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, komplex a C<sub>s</sub> pontcsoportba sorolható [**11, 18, 26**].

- Karbamid valamint metil-származékainak szerkezetvizsgálata. Karakterisztikus vázrezgéseket azonosítottunk az N<sub>2</sub>C=O csoportot tartalmazó biológiai molekulákon, mint citozin, timin, uracil, DNS és RNS esetében [**29, 30**]. A kutatással kapcsolatos preparatív tevékenységet külföldi (University of Calgary, Stockholm University, St. Petersburg University) partnereink végezték.

## Hivatkozások

1. K. Dobriner, E.R. Katzenellenbogen, R.N. Jones, *Infrared Spectroscopy of Steroids: An Atlas*. Vol. 1 and 2, (760 spectra) New York, Interscience, 1953.
2. A.R-H. Cole, *Infrared Spectra of Natural Products*, In: L. Zechmeister, ed. *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, Vienna: Springer-Verlag, 1956, pp. 1-69.
3. A.R. Katzitzky, P. Ambler, *Infrared Spectra*, In: A.R. Katzitzky ed. *Physical Methods in Heterocyclic Chemistry*, New York, Academic Press, 1963, pp. 161-360.
4. C. Sándorffy, T. Theophanides eds. *Spectroscopy of Biological Molecules*, Dordrecht, The Netherlands, Reidel, 1983.
5. F.S. Parker, ed. *Application of Infrared, Raman and Resonance Raman Spectroscopy in Biochemistry*, New York, Plenum Press, 1983.
6. T. Theophanides ed. *FT-IR Spectroscopy: Industrial, Chemical and Biological Applications*. Dordrecht, The Netherlands, Reidel, 1983.
7. T.G. Spiro, ed. *Biological Application of Raman Spectroscopy*, Vols. 1-3, Wiley, New York, 1987-1988.
8. D. Naumann, D. Helm, H. Labiskinski, P. Geisbrecht. *The Characteristic of microorganisms by FT-IR spectroscopy*; In: W.H. Nelson ed. *Modern Techniques for Rapid Microbiological Analysis*, New York, VCH, 1991, pp. 43-96.
9. R.J.H. Clark, R.E. Hester, eds. *Biomolecular Spectroscopy, Part A*, Chichester, England, Wiley, 1993.
10. H.H. Mantsch, D. Chapman, eds. *Infrared Spectroscopy and Biomolecules*, New York, Wiley-Liss, 1996.
11. H.-V. Gremlich B. Yan, eds. *Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials*, New York, Basel, Marcel Dekker, 2001.
12. P. Lasch, J. Kneipp, ed. *Biomedical Vibrational Spectroscopy*, Wiley, Hoboken, New Jersey 2008.
13. K. Nakamoto, M. Tsuboi, G.D. Strahan, *Drug-DNA Interactions, Structures and Spectra*, Wiley, Hoboken, 2008.
14. E. Salzer, H.W. Siesler, eds. *Infrared and Raman Spectroscopic Imaging*, Springer, 2010.
15. K.S. Kalasinsky, *Cell. Mol. Biol*, **44**, 81-87, 1998.

## Saját publikációk:

1. Mihály Judith, Gombás Veronika, Hajba László, Mink János: Fogzománc FT-Raman és FTIR spektroszkópiai vizsgálata. *50. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*, 2007. május 29 - június 1, Sopron
2. Komlósi Viktória, Mink János, Keserű Mihály, Várnagy László: Napos csirke agy és máj mintáinak FTIR és FT-Raman spektroszkópiai vizsgálata. *50. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*, 2007. május 29 - június 1, Sopron.
3. Illés Bernadett, Mink János: A haj infravörös spektroszkópiai vizsgálata. *50. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*, 2007. május 29 - június 1, Sopron.
4. Mink, L. Kocsis, V. Komlósi, É. Pfeifer, B. Illés, K. Héberger, V. Gombás: Novel applications of FTIR spectroscopy and microscopy in medical diagnostics. *4th ICAVS*, June 10-15, 2007, Corfu, Greece.
5. J. Mihály, V. Gombás, L. Hajba, A. Afshah, F.A. Aziz, J. Mink: FT-Raman spectroscopic investigation on human dental enamel. *4th ICAVS*, June 10-15, 2007, Corfu, Greece.
6. V. Komlósi J. Mink: FTIR and FT-Raman spectroscopic study of animal tissues. *4th ICAVS*, June 10-15, 2007, Corfu, Greece.
7. Liubov V. Stepakova, Mikhail Yu. Skripkin, Lyudmila V. Chernykh, Galina L. Starova, László Hajba, János Mink, Magnus Sandström: Vibrational spectroscopic and force field studies of copper(II) chloride and bromide compounds, and crystal structure of  $KCuBr_3$  *Journal of Raman Spectroscopy*, 39, (1) 16-31, (2008).
8. Fadhlia Zafarina Zakaria, Judith Mihály, István Sajó, Róbert Katona, László Hajba, Fauziah Abdul Aziz, János Mink: FT-Raman and FTIR spectroscopic characterization of biogenic carbonates from Philippine venus seashell and *Porites* sp. coral (p n/a). *Journal of Raman Spectroscopy*, 39(9), 1204-1209, (2008)
9. Kocsis László, Pfeifer Éva, Mink János: Gyógyiszapok hatásának vizsgálata FTIR spektroszkópiával. *50. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*, 2007. május 29 - június 1, Sopron.
10. B. Illés, J. Mink: FTIR spectroscopy study of human hair: a comparison of hair samples from different persons. *Journal of Chemometrics* (előkészületben)
11. J. Mink, F. Jalilehvand, O. Berkesi, L. Kocsis, M. Sandström: Raman spectroscopic study of the hydrated Pt(II) and Pd(II) in acidic aqueous solutions. *XXI. International Conference on Raman Spectroscopy*, August 17-22, 2008, London.
12. V. Gombás, J. Mink: Chemometrics Methods Used by Spectroscopic of Biological Samples. *XXIX. European Congress on Molecular Spectroscopy*, August 31 – September 5, 2008. Opatija, Croatia.

13. J. Mihály, J. Mink, V.T. Dobosi, S.F. Parker, J. Tomkinson: FTIR and INS Study of Lower Palaeolithic Burned Animal Bones from Vértesszőlős (Hungary). *XXIX. European Congress on Molecular Spectroscopy*, August 31 – September 5, 2008. Opatija, Croatia.
14. V. Gombás, J. Mink: Chemometrics methods used for IR-spectroscopy of human hair samples. *4th International Symposium on Computer Applications and Chemometrics in Analytical Chemistry*, 1-5 Sept. 2008, Balatonalmádi, Hungary (ISBN 978-963-9696-46-4)
15. B. Illés, T.L. Pap, J. Mink,: Classification of different age person's hairs with different colours by FTIR spectra using principal component analysis. *4th International Symposium on Computer Applications and Chemometrics in Analytical Chemistry*, 1-5 Sept. 2008, Balatonalmádi, Hungary (poster) (ISBN 978-963-9696-46-4).
16. B. Illés, T.L. Pap, J. Mink: Classification of human hairs with different colours from one head by FTIR spectra using principal component analysis. *4th International Symposium on Computer Applications and Chemometrics in Analytical Chemistry*, 1-5 Sept. 2008, Balatonalmádi, Hungary (poster) (ISBN 978-963-9696-46-4).
17. B. Illés, T.L. Pap, J. Mink: Classification of human hairs with different colours from two different head by FTIR spectra using principal component analysis. *4th International Symposium on Computer Applications and Chemometrics in Analytical Chemistry*, 1-5 Sept. 2008, Balatonalmádi, Hungary (poster) (ISBN 978-963-9696-46-4).
18. A Stirling, I. Bakó, L. Kocsis, L. Hajba, J. Mink: Pt(II)-ion hydration: Structural and vibrational characteristics from theory and experiment., *International Journal of Quantum Chemistry*, 109, 2591-2596, 2009.
19. E. Damian Risberg, J. Mink, A. Abbasi, M. Yu. Skripkin, L. Hajba, P. Lindqvist-Reis, É. Bencze, M. Sandström: Ambidentat coordination in hydrogen bonded dimethyl sulfoxide, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO...H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, and in dichlorobis(dimethyl sulfoxide) palladium(II) and platinum(II) solid solvates ..., *Dalton Transactions*, 1328-1338, 2009.
20. F. Jalilehvand, V. Mah, B.O. Leung, J. Mink, G.M. Bernard, L. Hajba: Cadmium(II) cysteine complexes in the solid state: a multispectroscopic study., *Inorganic Chemistry*, 48, 4219-4230, 2009.
21. J. Mihály, P. Németh, Á. Csanády, J. Mink: Characterisation of thin films on rough steel substrates by FTIR microscopy and imaging., *Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVII*, 2009.
22. J. Mink, J. Mihály, É. Pfeifer, V. Komlósi, V. Gombás, B. Illés, L. Kocsis, Cs. Németh, L. Hajba: New application of infrared and Raman spectroscopy and microscopy in medical diagnostic., University of Turku, Turku, Finland; invited lecture, 2009.
23. J. Mink, J. Mihály, É. Pfeifer, V. Komlósi, V. Gombás, Z. Bacsik, L. Kocsis, Cs. Németh, L. Hajba, L. Kővágó: Infrared Microscopy and Imaging in Biology and Medicine., *Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVII*, 2009.
24. Judith Mihály, Veronika Gombás, Alias Afishah, János Mink: FT-Raman investigation of human dental enamel surfaces., *Journal of Raman Spectroscopy*, 40, 898-902, 2009.



25. L. Hajba., F. Jalilehvand, J. Mink: Infrared and Raman Spectroscopic Studies of Cadmium(II) Cysteine Complexes., *5th International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (ICAVS5)*, Melbourne, Australia, 2009.
26. L. Kocsis, J. Mink, F. Jalilehvand, L. J. Laffin, O. Berkesi, L. Hajba: Vibrational spectroscopic study of the hydrated platinum(II), palladium(II) and cis-diammineplatinum(II) ions in acidic aqueous solutions., *Journal of Raman Spectroscopy*, 40, 481-490, 2009.
27. V. Velekey, Z. Bacsik, Gy Kiss, J. Mink: New possibilities of FTIR microscopic study and speciation of atmospheric aerosols., *5th International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (ICAVS5)*, Melbourne, Australia, 2009.
28. Z. Bacsik, X. Zou, J. Mink: High temperature FTIR microscopic study of zeolite family with chiral structure., *5th International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (ICAVS5)*, Melbourne, Australia, 2009.
29. Farideh Jalilehvand, Vicky Mah, Bonnie O. Leung, János Mink, Guy M. Bernard, László Hajba: Cadmium(II) Cysteine Complexes in the Solid State: A Multispectroscopic Study. *Inorg. Chem.*, 48(9), 4219–4230, 2009.
30. Mink, J., Hajba, L., Pápai, I., Mihály, J., Németh, C., Skripkin, M. Yu., Sandström: Raman, infrared, far-infrared and theoretical studies of urea derivatives with biological interest. *M.AIP Conference Proceedings*, Volume 1267, Pages 605-606, (2010).