

Sebastian Rojek, Małgorzata Kłys, Ewa Rzepecka-Woźniak, Tomasz Konopka

Zastosowanie analizy wybranych substancji psychoaktywnych we włosach dla celów opiniowania sądowo-lekarskiego.

Część II. Przypadki złożonych zatruc śmiertelnych: heroina – kokaina – amfetaminy w mechanizmie interakcji

Application of hair analysis of selected psychoactive substances for medico-legal purposes.

Part II. Cases of complex fatal poisonings: interactions of heroine – cocaine – amphetamines

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UJ CM
Kierownik: prof. dr hab. M. Kłys

W pracy podjęto próbę wykorzystania segmentowej analizy włosów w kompleksowych zatruciach mieszaninami ksenobiotyków: heroina – kokaina – amfetaminy w aspekcie przyczyny śmierci, jako wyniku złożonych mechanizmów interakcji, powstałych w okresie poprzedzającym zgon. Analizie poddano dwa przypadki złożonych zatruc: heroina – kokaina i heroina – kokaina – amfetaminy, udokumentowane badaniami makro- i mikroskopowymi oraz kompleksowymi badaniami toksykologicznymi obejmującymi analizę klasycznego materiału biologicznego (krwi sekcyjnej) oraz alternatywnego (włosów). Do oznaczania opioidów, kokainy i jej metabolitu oraz amfetamin w tle matrycy biologicznej włosów zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas z jonizacją chemiczną pod ciśnieniem atmosferycznym (HPLC-APCI-MS-MS). Segmentowana analiza włosów badanych przypadków wskazywała na długofalowe przyjmowanie podobnych mieszanin substancji psychoaktywnych oraz rozwiniętą adaptację uzależnionych na mechanizmy interakcji, prowadzących jednakże stopniowo do wielonarządowych zmian anatomopatologicznych, a w konsekwencji do zgonu.

The study represents an attempt at employing segmental hair analysis in complex poisonings with xenobiotic

mixtures of heroine – cocaine – amphetamines in the context of the cause of death as a consequence of complex interaction mechanisms which occurred prior to death. Two cases of complex poisonings: heroine – cocaine and heroine – cocaine – amphetamines were analyzed and documented with macro- and microscopic examinations and complex toxicological examinations, including the analysis of classic biological material, i.e. samples of selective blood, and alternative material, i.e. hair samples. Determinations of opioids, cocaine and its metabolite and amphetamines in the hair biological matrix were performed using high performance liquid chromatography – atmospheric pressure chemical ionization – tandem mass spectrometry (HPLC-APCI-MS-MS). Segmental hair analysis of the investigated cases indicated a prolonged intake of similar psychoactive substances and a developed adaptation of the addicted to interaction mechanisms, which, however, led gradually to multiorgan anatomopathological changes, and in consequence to death.

Słowa kluczowe: segmentowa analiza włosów, substancje psychoaktywne, interakcje, HPLC-APCI-MS-MS, ekspertyza medyczno-sądowa
Key words: segmental hair analysis, psychoactive substances, interactions, HPLC-APCI-MS-MS, medico-legal opinion

WSTĘP

Oficjalne dane, powstałe w oparciu o ekspertyzy z zakresu toksykologii sądowej, przeprowadzone w wielu krajach w świecie, wskazują na stały wzrost liczby przypadkowych zgonów wskutek politoksykomanii, podczas gdy zgony po przyjęciu jednej substancji utrzymują się na podobnym poziomie [1, 2].

Spostrzeżenia w tym zakresie wskazują na to, iż w populacjach różnych krajów świata istnieją różne sposoby i zwyczaje zażywania substancji psychoaktywnych, w tym ich jakościowych kompozycji, co może prowadzić do różnych, często nieprzewidywalnych skutków [3-8]. W Polsce, w latach wcześniejszych, osoby uzależnione preferowały zażywanie opioidów w połączeniu z amfetaminami, często z dodatkiem leków takich jak benzodiazepiny czy nawet barbiturany [9-12].

Ostatnie lata jednakże przyniosły zmiany w tym zakresie, do mieszanin włączono kokainę, powielając w ten sposób modele istniejące w innych krajach [3, 13].

Spowodowało to w naszym kraju serię zgonów przypadkowych, w wyniku powikłań wytworzonych w czasie długofalowego przyjmowania ksenobiotyków o różnym mechanizmie działania.

Z punktu widzenia naukowego zgony te stworzyły okazję do studiów nad lepszym poznaniem mechanizmów działań skojarzonych w aspekcie przyczyny śmierci. Kompleksowe ujęcie problemu kieruje uwagę na wieloparametrową analizę obejmującą badania makro- i mikroskopowe oraz toksykologiczne materiału pośmiertnego. Celem możliwie szerokiego wyjaśnienia przyczyny śmierci w interakcji toksykologia, oprócz materiałów podstawowych, jak krew i tkanki wykorzystuje jeszcze włosy, jako alternatywny materiał mogący stanowić ważne ogniwo łączące okres zażyciowy ze stanem po śmierci, w aspekcie zawartości ksenobiotyków w organizmie ujawnionych w badaniach pośmiertnych.

W pracy podjęto próbę wykorzystania segmentowej analizy włosów w dwóch przypadkach kompleksowych zatruc mieszaninami ksenobiotyków: heroina – kokaina – amfetaminy, w konfrontacji z badaniami makro- i mikroskopowymi w aspekcie przyczyny śmierci.

MATERIAŁ I METODA

Materiał biologiczny do badań eksperymentalnych:

- a) kosmyki włosów pobrane w czasie sekcji zwłok dwóch osób;

- b) włosy kontrolne do opracowania i walidacji metod analitycznych pobrane od siedmiu wolontariuszy – nie przyjmujących substancji uzależniających.

Wzorce substancji psychoaktywnych i odczynniki chemiczne:

- a) wzorce substancji psychoaktywnych oraz wzorców wewnętrznych (IS): morfina, kodeina, 6-monoacetylmorfina, kokaina, benzoiloeogonina, amfetamina, metamfetamina, MDA, MDMA, MDEA, morfina-d₃, kodeina-d₃, 6-MAM-d₃, kokaina-d₃, benzoiloeogonina-d₃, amfetamina-d₃, metamfetamina-d₅, MDA-d₅, MDMA-d₅, MDEA-d₆;
- b) rozpuszczalniki organiczne: acetonitryl, metanol czystości gradient HPLC (Merck, Niemcy), aceton, n-heksan, octan etylu czystości cz.d.a. (POCh, Gliwice).

Wstępne przygotowanie próbek i segmentacja

Procedurę przygotowania próbek poprzedzono oględzinami badanego materiału pod kątem ewentualnych zanieczyszczeń, charakterystycznych dla materiału sekcyjnego, ustalono także, który koniec kosmyka został ścięty tuż przy skórze głowy. Poczynając od części potylicznej, wiązano je białą, grubą nicią w zależności od grubości badanego kosmyka włosów, co 1 lub 2 cm, a następnie cięto kosmyk na odpowiednie segmenty jedno- lub dwucentymetrowe. Kolejne segmenty oznaczono cyframi rzymskimi począwszy od potylicy, zaś ich długość cyframi arabskimi. Każdy element umieszczano w oddzielnej probówce o objętości 50 ml.

Dekontaminacja

Do każdej próbki o objętości 50 ml zawierającej segment odmierzano 10 ml n-heksanu i odstawiano na 1 minutę do łaźni ultradźwiękowej. Po zdekantowaniu rozpuszczalnika włosy suszono na powietrzu. Po wysuszeniu umieszczano je ponownie w probówkach, dodawano 10 ml acetonu i analogicznie, jak w przypadku n-heksanu odstawiano do łaźni ultradźwiękowej, dekantowano aceton i suszono na powietrzu.

Pulweryzacja

Suche próbki włosów w miarę potrzeby rozdrabniano nożyczkami a następnie poddawano procesowi mielenia w młynku kulowym, o czę-

stości drgań 25 Hz, przez 20 min. Na wadze analitycznej odważano 20 mg zmielonych włosów.

Ekstrakcja

Do próbki o objętości 1,5 ml zawierającej odważoną próbkę włosów dodawano 20 μ l roztworu mieszaniny IS morfiny- d_3 , kodeiny- d_3 , 6-MAM- d_3 , amfetaminy- d_3 , metamfetaminy- d_5 , MDA- d_5 , MDMA- d_5 , MDEA- d_6 w stężeniu 1 ng/mg (tj. 20 ng w 20 μ l) i 1 ml metanolu. Zabezpieczoną parafilmem próbkę przed ubytkiem i zanieczyszczeniem, pozostawiano najpierw na łaźni ultradźwiękowej przez 60 minut w temperaturze 50°C, a następnie odstawiano na 17 godzin. Po tym czasie próbkę mieszano na wortexie i odwirowywano. Rozpuszczalnik organiczny przenoszono do czystej 1,5 ml próbki za pomocą pipety automatycznej i odparowywano metanol w strumieniu azotu.

Analiza metodą HPLC-APCI-MS-MS

Analizę opioidów, amfetamin oraz kokainy i jej metabolitów w analitach przeprowadzono z zastosowaniem metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas w opcji jonizacji chemicznej pod ciśnieniem atmosferycznym (HPLC-APCI-MS-MS).

Zastosowano chromatograf cieczowy składający się z poczwórnej pompy gradientowej TSP P4000, urządzenia do odgazowywania fazy ruchomej SCM 1000 i automatycznego podajnika próbek TSP A3000 firmy FinniganMAT (San Jose, USA). Rozdział chromatograficzny analitów i ich IS prowadzono w kolumnie LiChroCART z wypełnieniem Purospher RP-18e 125x3 mm i wielkością ziaren 5 μ m z przedkolumną LiChroCART z wypełnieniem LiChrospher RP-18e 4 x 4 mm (Merck, Darmstadt, Niemcy). Faza ruchoma A składa się z wody redestylowanej z dodatkiem kwasu mrówkowego (1 ml kwasu mrówkowego/1 l wody) i B z acetonitrylu. Fazy ruchome przepływały przez kolumnę chromatograficzną w zaprogramowanym układzie gradientowym (rycina 19) ze stałym natężeniem przepływu 0,4 ml/min. Objętość nstrzyku na kolumnę chromatograficzną wynosiła 10 μ l.

Zastosowano spektrometr mas LCQ firmy FinniganMAT (San Jose, USA) wyposażony w analizator mas w postaci kwadrupolowej pułapki jonowej z możliwością pracy w trybie MSⁿ, komorę do chemicznej jonizacji pod ciśnieniem atmosferycznym (APCI) wraz z oprogramo-

waniem Xcalibur. Spektrometr mas pracował w opcji tandemowej (MS-MS) w trybie jonów dodatnich, monitorując wybrane reakcje (SRM, selected reaction monitoring) jon macierzysty m/z /jon potomny m/z . Zbieranie jonów potomnych odbywało się w opcji skanowania pełnego widma MS-MS (widmo jonów potomnych).

WYNIKI

W tabeli I zamieszczono wyniki badań postmortalnych w dwóch przypadkach zgonów, będących następstwem skojarzonego działania heroiny i kokainy – przypadek 1: A.G. oraz heroiny, kokainy i amfetamin – przypadek 2: M.R. W tabeli tej zamieszczono także istotne dane dotyczące okoliczności śmierci, jak również wyniki badań histologicznych dokumentujących zmiany w narządach.

Analiza wywiadów w obu przypadkach wskazuje na ich podobieństwo w zakresie zażywania mieszanin narkotyków, zaś długoczasowe zażywanie wyżej wymienionych mieszanin ksenobiotyków w okresie przyżyciowym, doprowadziło do istotnych zmian anatomopatologicznych w narządach, przede wszystkim w układzie oddechowym (heroina) i układzie sercowo-naczyniowym (kokaina, amfetaminy).

Stężenia morfiny i kokainy oraz ich metabolitów w porównaniu z danymi z piśmiennictwa [14-16] prezentują relatywnie niskie wartości w konfrontacji z występującymi w zatruciach ostrych, wskazując równocześnie na zgony w późnej fazie eliminacji.

DYSKUSJA

W prezentowanych przypadkach mamy do czynienia z kompleksowym i przewlekłym zażywaniem mieszanin heroiny i kokainy oraz amfetaminy. Analiza segmentowa włosów pozwoliła na określenie minimalnego czasu owego nadużywania, co w pierwszym przypadku może wskazywać na okres około 8 miesięcy (analiza 4 segmentów włosów, każdy o długości 2 cm), a w drugim 10 miesięcy (5 segmentów włosów, każdy o długości 2 cm). Nie można także wykluczyć, iż okresy nadużywania mieszanin narkotyków w obu przypadkach były dłuższe.

Wykazane w badaniu histopatologicznym zmiany, przede wszystkim w płucach i sercu, znajdują uzasadnienie w toksycznym działaniu heroiny oraz kokainy i amfetaminy. Wyniki badań histopatologicznych same w sobie jednakże

Tabela I. Wyniki kompleksowych badań analizowanych przypadków zgonów w mechanizmie interakcji.
Table I. Results of complex investigations of cases of death in interaction mechanisms.

Opis przypadków wraz z wynikami badań makro- i mikroskopowych Cases histories with results of macro- and microscopic investigation	Stężenie narkotyków we krwi Concentration of narcotics in blood (mg/l)	S _n (X)	Opiaty	Amfetaminy	Kokainowce
			Stężenie we włosach Concentration in hair (ng/mg)		
Przypadek 1 – M.R. Zwłoki 29-letniego mężczyzny znaleziono w mieszkaniu. Brak zmian o charakterze urazowym. Zatrucie mieszaniną opiatów, kokainy i amfetamin. Badania histologiczne wykazały w mięśni sercowym umiarkowane przekrwienie, miejscami z niewielkimi wybroczynami krwawymi, fragmentacja włókien, w jednym z wycinków rozsiarne skupiska włókien z obrazem tzw. martwicy z węzłami skurczu, obrzęk podścieliska, w płucach przekrwienie, obrzęk, w jednym z wycinków ropne zapalenie oskrzeli, rozlewające się ropne odoskrzelowe zapalenie, w mózgu przekrwienie mózgu i opon, rozsiarne krwinkotki okołonaczyniowe i drobne wybroczyny krwawe, w wątrobie silne przekrwienie, mieszane stłuszczenie rozsiarnych hepatocytów, nacieki z komórek jednojądrzastych i włóknienie, w nerce przekrwienie i cechy autolizy.	M-0,08 M3G-0,52 M6G-0,04 K-0,01 K6G-0,01	S ₁ (2)	6-MAM-5,45 M-0,21	A-14,25 MDMA-12,25 MDA-0,84	Ko-28,22 B-5,41
		S ₂ (2)	6-MAM-7,42 M-0,25	A-13,25 MDMA-15,23 MDA-0,86	Ko-29,11 B-4,83
		S ₃ (2)	6-MAM-6,89 M-0,23	A-13,28 MDMA-12,25 MDA-0,25	Ko-25,42 B-3,91
		S ₄ (2)	6-MAM-7,42 M-0,28	A-10,28 MDMA-13,26 MDA-0,66	Ko-24,25 B-4,51
		S ₅ (2)	6-MAM-6,25 M-0,12	A-10,25 MDMA-10,25 MDA-0,78	Ko-21,23 B-3,21
Przypadek 2 – A.G. Zwłoki 21-letniej kobiety ujawnione w mieszkaniu. Nieudana akcja reanimacyjna. Brak zmian o charakterze urazowym poza punktowymi nakłuciami w okolicach obu kostek. Zgon w wyniku zatrucia mieszaniną heroiny z kokainą. Badania histologiczne wykazały w mięśni sercowym umiarkowane przekrwienie, miejscami z niewielkimi wybroczynami krwawymi, fragmentacja włókien, w jednym z wycinków rozsiarne skupiska włókien z obrazem tzw. martwicy z węzłami skurczu, obrzęk podścieliska, w płucach przekrwienie, obrzęk, niewielkie ogniska niedodmy i ostrego rozdęcia, w rozsiarnych oskrzelach treść ropna, ogniska ropnego odoskrzelowego zapalenia z komponentą krwotoczną, w mózgu przekrwienie mózgu i opon, rozsiarne krwinkotki okołonaczyniowe i drobne wybroczyny krwawe, w wątrobie silne przekrwienie, mieszane stłuszczenie rozsiarnych hepatocytów, w nerce przekrwienie.	M-0,16 M3G-0,90 M6G-0,09 K-0,04 K6G-0,06	S ₁ (2)	6-MAM-0,72	-	Ko-29,12 B-8,06
		S ₂ (2)	6-MAM-0,72	-	Ko-29,12 B-5,73
		S ₃ (2)	6-MAM-1,11	-	Ko-34,62 B-5,21
		S ₄ (2)	6-MAM-1,82	-	Ko-47,22 B-6,71

S_n(x) – numer kolejnego segmentu włosów począwszy od potylicy długość (cm), M – morfina, M3G – 3-glukuronid morfiny, 6-glukuronid morfiny, K – kodeina, K6G – 6-glukuronid kodeiny, 6-MAM – 6-monoacetylmorfina, A – amfetamina, MDMA – 3,4-metylenodioksymetamfetamina, MDA – 3,4-metylenodioksyamfetamina, Ko – kokaina, B – benzoilekgonina

są za mało charakterystyczne, aby samoistnie mogły być dowodem nadużywania wykazanych w badaniu pośmiertnym ksenobiotyków. Komplementarne badanie włosów ofiar dokumentuje toksykologicznie istotę owych zmian, wskazując na minimalny okres, w którym mogły się wytworzyć.

Analiza mechanizmu zejścia śmiertelnego podana w ogólnym zarysie w protokole sekcji zwłok w obu przypadkach wskazuje na zgony w wyniku powikłań. W wyniku przyjmowania środków uzależniających mogło dojść do depresji ośrodka oddechowego, spowodowanego przez morfinę (heroinę) przy równoczesnym

wzroście zapotrzebowania na tlen, wskutek podniesienia ciśnienia krwi i niedotlenienia mięśnia sercowego pod wpływem działania kokainy, a także pochodnych amfetaminy (MDMA, MDA) (p.2-M.R.).

Analiza kompleksowych wyników badań pośmiertnych kieruje zatem uwagę opiniodawcy przede wszystkim na mechanizm śmierci, związany z powikłaniami, wynikającymi z zażywania mieszanin narkotyków. Jakkolwiek analiza toksykologiczna dostarcza istotnych danych w postaci ilościowej oceny mieszanin narkotyków w materiale pośmiertnym, sugerując „toksykologiczną” przyczynę zgonu, to jest ona niewystarczająca w formułowaniu przez medyka sądowego ostatecznej przyczyny zgonu.

W badaniach toksykologicznych istotną rolę w ocenie czasu zgonu w odniesieniu do zażycia dawki ksenobiotyku odgrywa analityka metabolitów, szczególnie istotna w przypadku morfiny i kokainy. Badanie relacji pomiędzy morfiną a jej aktywną formą – 6-glukuronidu morfiny (M6G) oraz nieaktywną – 3-glukuronidu morfiny (M3G) wskazuje na tzw. zgony późne, w kilkanaście godzin po przyjęciu opioidów, czyli w fazie ich eliminacji z krwi. Do podobnych wniosków doprowadza analiza stosunków stężeń kokainy do jej nieaktywnego metabolitu benzoiloekgoniny we krwi sekcyjnej badanych przypadków, wskazując również na zgony późne, w fazie eliminacji ksenobiotyków z krwi [17-22].

Studium piśmiennictwa analizowanego zagadnienia w tej pracy wskazuje na doniesienia obejmujące ogólną analizę zgonów w wyniku zażywania rozmaitych mieszanin związków psychoaktywnych [3-8], zwracających uwagę na niebezpieczeństwo przypadkowych śmierci w mechanizmie interakcji w efekcie takiego proceduru.

Analiza prezentowana w niniejszej pracy jednakże pozwala dostrzec ten problem bardziej szczegółowo od strony mechanizmu, którego elementy powstały w wyniku kompleksowych badań pośmiertnych obejmujących ogląd makro- i mikroskopowy w konfrontacji z analizą toksykologiczną.

PIŚMIENNICTWO

1. Coffin P. O., Galea S., Ahern J., Leon A. C., Vlahov D., Tardiff K.: Opiates, cocaine and alcohol combinations in accidental drug overdose deaths in New York City, 1990-98. *Addiction* 2003, 98/6, 739-747.

2. Jones A. W., Kugelberg F. C., Holmgren A., Ahlner J.: Drug poisoning deaths in Sweden show a predominance of ethanol in mono-intoxications, adverse drug-alcohol interactions and poly-drug use. *Forensic Sci Int.* 2010.

3. Kłys M., Rojek S., Kowalski P., Rzepecka-Woźniak E.: Death of a female addict due to heroin and cocaine overdoses: a case report with multiparameter evaluation. *Forensic Toxicol.* 2008, 26, 36-40.

4. Preti A., Miotto P., De Coppi M.: Deaths by unintentional illicit drug overdose in Italy, 1984-2000. *Drug Alcohol Depend* 2002, 66, 275-282.

5. Marzuk P. M., Tardiff K., Leon A. C., Hirsch C. S., Stajic M., Pertera L., Hartwell N.: Poverty and fatal accidental drug overdose of cocaine and opiates in New York City: an ecological study. *Am J Drug Alcohol Abuse.* 1997, 23, 221-228.

6. Kronstrand R., Grundin R., Jonsson J.: Incidence of opiates, amphetamines, and cocaine in hair and blood. in fatal cases of heroine overdose. *Forensic Sci Int.*, 1998, 92, 29-38.

7. Torralba L., Brutal M. T., Villalbi J. R., Tortosa M. T., Toribio A., Valverde J. L.: Mortality due to acute adverse drug reactions: opiates and cocaine in Barcelona, 1989-93. *Addiction.* 1996, 91, 419-426.

8. Kłys M., Bystrowska B., Bujak-Giżycka B., Nowak G.: Significance of toxic interactions in medicolegal evidence. Complex fatal poisonings with drugs of abuse in the material of the Chair of Forensic Medicine, Collegium Medicum Jagiellonian University in Kraków. *Pol J Pharmacol.* 2001, 53, 653-658.

9. Kłys M., Rojek S., Kulikowska J., Bożek E., Ścisłowski M.: Usefulness of multiparameter opiate analysis in hair of drug users and victims of fatal poisonings. *Przegl. Lek.* 2005, 62, 595-590.

10. Kłys M., Rojek S., Kulikowska J., Bożek E., Ścisłowski M.: Usefulness of multi-parameter opiate analysis in hair of drug users for the evaluation of an abuse profile by means of tandem LC-APCI-MS-MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007, 854, 299-307.

11. Kłys M.: Problemy orzecznicze i metodyczne w zatruciach śmiertelnych opiatami: *Arch. Med. Sąd. i Krym.* 1996, 46, 177-186.

12. Kłys M., Bystrowska B., Bujak-Giżycka B., Konopka T., Rojek S.: Amfetamina i pochodne w opiniowaniu sądowo-lekarskim przypadków śmiertelnych. *Przegl. Lek.* 2003, 60, 239-244.

13. Kłys M., Kowalski P., Rojek S., Gross A.: Death of a female cocaine user due to the serotonin syndrome following moclobemide-

venlafaxine overdose. *Forensic Sci Int.* 2009, 184(1-3), e16-20.

14. Baselt R. C.: *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*. 5th ed. Chemical Toxicology Institute, Foster City 2000. Str. 49-51, 205-210, 589-592.

15. Moffat A. C., Osselton M. D., Widdop B.: *Clarcke's Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material*. 3rd ed. Pharmaceutical Press, London, 2004. Str. 612-614, 842-845, 1302-1305.

16. Winek Ch. L., Wahba W. W., Winek Ch. L. Jr., Balzer Winek T.: *Drug and chemical blood-level data 2001*. *Forensic Sci Int.* 2001, 122, 107-123.

17. Kłys M., Rojek S.: *Four nonfatal and six fatal cases of opiate use: utility of morphine, its metabolites, and their ratios in blood specimens*. *Forensic Toxicol.* 2008, 26, 41-44.

18. Aderjan R., Hofmann S., Schmitt G., Skopp G.: *Morphine and morphine glucuronides in serum heroin consumers and in heroin-related deaths determined by HPLC with native fluorescence*. *J Anal Toxicol.* 1995, 19, 163-168.

19. Antonilli L., Semeraro F., Suriano C., Signore L., Nencini P.: *High levels of morphine-6-glucuronide in street heroin addicts*. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003, 170, 200-204.

20. Bogusz M. J., Maier R. D., Erkens M., Driessen S.: *Determination of morphine and its 3- and 6-glucuronides, codeine, codeine-glucuronide and 6-monoacetylmorphine in body fluids by liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry*. *Journal of Chromatography B.* 1997, 703, 115-127.

21. Goldberger B. A., Cone E. J., Grant T. M., Caplan Y. K., Levine B. S., Smiatek J. K.: *Dispo-*

sition of heroin and its metabolites in heroin-related deaths. *J Anal Toxicol.* 1994, 18, 22-28.

22. Skopp G., Potsch L., Klingman A., Mattern R.: *Stability of morphine, morphine-3-glucuronide, and morphine-6-glucuronide in fresh blood and plasma and postmortem blood samples*. *J Anal Toxicol.* 2001, 25, 2-7.

23. Preti A., Miotto P., De Coppi M.: *Deaths by unintentional illicit drug overdose in Italy, 1984-2000*. *Drug Alcohol Depend* 2002, 66, 275-282.

24. Marzuk P. M., Tardiff K., Leon A. C., Hirsch C. S., Stajic M., Pertera L., Hartwell N.: *Poverty and fatal accidental drug overdose of cocaine and opiates in New York City: an ecological study*. *Am J Drug Alcohol Abuse.* 1997, 23, 221-228.

25. Kronstrand R., Grundin R., Jonsson J.: *Incidence of opiates, amphetamines, and cocaine in hair and blood in fatal cases of heroine overdose*. *Forensic Sci Int.*, 1998, 92, 29-38.

26. Torralba L., Brutal M. T., Villalbi J. R., Tortosa M. T., Toribio A., Valverde J. L.: *Mortality due to acute adverse drug reactions: opiates and cocaine in Barcelona, 1989-93*. *Addiction.* 1996, 91, 419-426.

27. Kłys M., Bystrowska B., Bujak-Giżycka B., Nowak G.: *Significance of toxic interactions in medicolegal evidence. Complex fatal poisonings with drugs of abuse in the material of the Chair of Forensic Medicine, Collegium Medicum Jagiellonian University in Kraków*. *Pol J Pharmacol.* 2001, 53, 653-658.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Sebastian Rojek

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej UJ CM

ul. Grzegorzewska 16, 31-531 Kraków

e-mail: msrojek@cyf-kr.edu.pl