

Małgorzata Kłys, Beata Bujak-Giżycka

Zastosowanie chromatografii cieczowej z detekcją masową (LC/MS) w ekspertyzie toksykologicznej

Usefulness of liquid chromatography with mass detection (LC/MS) in toxicological expertise

Z Katedry Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. B. Turowska

Wprowadzenie detekcji masowej do analityki chromatograficznej, zwłaszcza do chromatografii cieczowej poszerzyło znacznie możliwości analizy toksykologicznej. Zamierzeniem autorów niniejszej pracy jest wskazanie przykładów zastosowania metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją masową w ekspertyzie toksykologicznej. Przytoczone przykłady identyfikacji bromku pancuronium oraz mieszaniny opiatów i leków (amfetaminy, efedryny, oksazepamu) w płynach ustrojowych i tkankach pozwalają na rekomendację tej metody jako czułego i wiarygodnego narzędzia stosowanego do oceny toksykologicznej próbek biologicznych.

Introduction of mass detection to chromatographic technique, especially to liquid chromatography has been proof of the progress in this field enhancing significantly possibilities of toxicological analysis. The intention of the authors of this paper is to show examples of application of liquid chromatography with mass detection in forensic expertise. The examples of xenobiotic identifications presented in the work concerning two fatal poisonings - one with pancuronium bromide and the other with opiates and drugs (amphetamine, ephedryna, oxazepam) prove that the method used is a sensitive and powerfull tool for toxicological evaluation of forensic samples.

Słowa kluczowe: chromatografia cieczowa z detekcją masową (LC/MS), ekspertyza toksykologiczna, zatrucie pancuronium, przedawkowanie opiatami

Key words: liquid chromatography with mass detection (LC/MS), toxicological expertise, poisoning with pancuronium bromide, opiates abuse

WPROWADZENIE

Spektrometria mas, jako metoda dostarczająca informacji o masie i strukturze cząsteczkowej związków chemicznych, charakteryzująca się wysoką czułością i możliwością wykrywalności ksenobiotyków na ekstremalnie niskich poziomach stężeń oraz różnorodnością zastosowań, zyskała sobie szczególne miejsce wśród metod analitycznych. Detekcja masowa, wprowadzona do chromatografii stała się istotnym elementem postępu w toksykologii analitycznej (2, 7, 8).

W metodyce chromatograficznej zastosowanie znalazło głównie sprzężenie detektora masowego (MS) z chromatografem gazowym (GC) jako GC/MS lub z chromatografem ciekłym (LC) jako LC/MS. Podstawowym elementem różnicującym te techniki jest postać wprowadzanej do detektora masowego próbki: jako gazowej (GC/MS) lub ciekłej (LC/MS). Próbkę ta może być wprowadzona do detektora bezpośrednio lub też w postaci komponentów uzyskanych w wyniku poprzedzającego detekcję rozdzielania chromatograficznego (7).

Zastosowanie LC/MS jest bardzo szerokie (8, 3, 13), na polu toksykologii można je sprowadzić do opracowywania następujących zagadnień:

- Identyfikacji ksenobiotyków w procedurze Systematycznej Analizy Toksykologicznej (STA).
- Analizy ksenobiotyków w różnorodnych próbkach biologicznych (surowce roślinne, gleby, płyny ustrojowe i tkanki ludzkie czy zwierzęce) z szerokim wykorzystaniem do rozwiązywania problemów klinicznych, ekspertyzy sądowej, eksperymentu toksykologicznego, dopingu w sporcie.

Wprawdzie chromatografia ciekłowa z detekcją masową znana jest w analityce od około 20 lat (4), jednak dopiero w ostatnich latach zyskała sobie znaczącą popularność. W Polsce, technika ta dopiero jest wdrażana do toksykologii i nieliczne placówki dysponują możliwościami analizy z zastosowaniem LC/MS. Może więc niektóre informacje związane z elementami działania tej techniki, poparte przykładami zastosowania w rutynowej analizie toksykologicznej sądowej w krakowskim Zakładzie Medycyny Sądowej przybliżą zainteresowanym tę metodę, tym bardziej, że aparat (HPLC/MS) pracuje w popularnej wersji technicznej, rekomendowanej w szerokim znaczeniu do celów analityki toksykologicznej.

Do dyskusji wybrano dwa przypadki śmiertelne - zatrucie w wyniku przedawkowania bromku pancuronium i opiatów w mieszaninie z innymi ksenobiotykami (amfetaminą efedryną oksazepamem) - celem wykazania przydatności tej metody w identyfikacji trudnych analitycznie próbek.

MATERIAŁ I METODY

A. Materiał

Materiał do badań stanowiły tkanki pobrane w czasie sekcji zwłok dwóch osób zatrutych śmiertelnie: lekiem zwiotczającym bromkiem pancuronium i mieszaniną opiatów i innych ksenobiotyków. Próbki przygotowano według standardowej

procedury stosowanej w toksykologii sądowej, zamieszczonej w opisie poszczególnych przypadków poniżej (p. Opis przypadków).

B. Metoda analityczna - Chromatograf ciekłowy z detektorem masowym - Typ LCQ/MS Finnigan MAT - ION TRAP

W skład aparatu wchodzi następujące części:

I. Chromatograf ciekłowy wyposażony w :

- a) Pompę - typ P4000 w systemie gradientowego przepływu dwóch faz, składających się z acetonitrylu i roztworu wodnego kwasu trifluoroctowego (TFA),
- b) kolumnę chromatograficzną typu RP C18 Purospher 125-3, 5µm z przedkolumną Lichrocard 4-4 z Lichrospher 60, 5 µm (Merck, Niemcy),
- c) dodatkowy detektor typu UV - 2000 w zakresie 200-800 nm
- d) autosampler typ AS 3000,

II. Spektrometr Masowy, składający się z elementów umożliwiających mu następujące operacje:

- a) źródła jonów - wytwarzanie jonów analizowanej próbki w systemie rozpylania pod ciśnieniem atmosferycznym (AP/ESI),
- b) analizatora - rozdzielanie jonów w zależności od ich mas oraz poddanie ewentualnej dalszej fragmentacji wybranych jonów w wyniku kolizji i analizowanie ewentualnych dalszych fragmentów w systemie pułapki jonowej.
- c) detektora masowego (MS) - wykrywanie jonów opuszczających analizator - określanie mas w postaci odpowiednich wartości stosunku m/z (m - masa jonu; z - ładunek) i intensywności,
- d) komputera - rejestrowanie i przetwarzanie danych w postaci cyfrowej oraz sterowanie aparatem w sprzężeniu zwrotnym, komputer pracuje w programie LCQ Navigator Windows NT.

WYNIKI I DYSKUSJA

Przypadek I. Zatrucie bromkiem pancuronium (Pavulonem)

Opis przypadku. Znalaziono w domu martwą 31-letnią kobietę, lekarza-anestezjologa, która wstrzyknęła sobie w celach samobójczych, prawdopodobnie, sądząc po pustych fiolkach po leku, dawkę 16 mg bromku pancuronium (Pavulon, Polfa), leku stosowanego w anestezji celem zwiotczenia mięśni szkieletowych.

Badania makro- i mikroskopowe narządów wewnętrznych zmarłej nie wykazały zmian morfologicznych mogących tłumaczyć zgon, a jako przyczynę śmierci przyjęto uduszenie, wskutek porażenia systemu oddychania, będącego następstwem zwiotczenia mięśni. W czasie sekcji zwłok pobrano płyny ustrojowe i tkanki celem oceny toksykologicznej.

A n a l i z a t o k s y k o l o g i c z n a . Analiza materiału biologicznego pod kątem zawartości pancuronium wymaga specjalnego postępowania, bowiem w standardowej procedurze skринingowej lek ten pozostaje nie wykryty. Jest to między innymi spowodowane właściwościami chemicznymi pancuronium, jako czwartorzędowej zasady amoniowej, która pozostaje nie zdysocjowana w całym zakresie pH, czyniąc ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi mało efektywną. Izolacja ksenobiotyków tej grupy wymaga zastosowania zazwyczaj ekstrakcji w układzie par jonowych (9). Do identyfikacji, jak wskazują doniesienia, stosuje się natomiast metody strąceniowe (4), spektrofotometryczne oraz chromatografii gazowej z detekcją ECD (18), spektrofotometryczne i chromatografii cienkowarstwowej (11, 15).

Pancuronium, którego strukturę pokazano na ryciu, jest lekiem metabolizującym się przez deacetylację do wytworzenia pochodnych hydroksylowych: 3-hydroksylowej, kilka razy mniej aktywnej od prekursora oraz 3,17-dihydroksylowej pochodnej, prawie nieaktywnej. Wykazano także, że po 30 godzinach od iniekcji leku około 40% dawki eliminuje się z moczem jako niezmienny lek, a około 15% w postaci metabolitów, jak również, że około 11% dawki wydziela się z żółcią zarówno jako prekursor oraz w postaci metabolitów (6).

W przypadku prezentowanym w niniejszej pracy, do badań toksykologicznych pobrano krew, wątrobę, nerkę i mózg kobiety, a eluaty otrzymano w systemie par jonowych według wcześniej opracowanej procedury (5, 11, 15). Celem identyfikacji pancuronium w eluatach zastosowano postępowanie w tandemie spektrometru mas MS/MS z jonizacją typu elektrosprej (ESI) w bezpośredniej analizie (z pominięciem rozdzielania HPLC). Po identyfikacji wykonano analizę ilościową metodą chromatografii cienkowarstwowej i spektrofotometryczną według wcześniej opracowanej procedury (11, 14).

W y n i k i . Analiza bromku pancuronium, przeprowadzona w tandemowej spektrometrii mas (ESI/MS/MS) wykazała obecność leku w ekstraktach krwi i mózgu, w nerce i wątrobie analiza wypadła ujemnie. Analiza wykonana pod kątem obecności metabolitów wypadła ujemnie, nie wykazując obecności metabolitów w żadnym z badanych materiałów.

Na rycinie 1a przedstawiono widmo masowe fragmentu molekuly wzorca pancuronium, na którym wykazano jedynie jon soli pancuronium, pozbawiony jednego jonu Br, którego stosunek masy do jonu wynosi m/z 653.3 Th, podczas gdy masa molekuly pancuronium wynosi M=733 Da, a molekuly bez obu jonów Br M=572 Da. Widmo fragmentowane MS/MS pancuronium wykazało obecność jonu fragmentacyjnego m/z 286Th, pochodzącego najprawdopodobniej od szkieletu pancuronium oraz skorelowane z nim jony fragmentacyjne m/z 237 Th i m/z 206Th. Sekwencję tych właśnie jonów wykazano w ekstraktach krwi i wątroby (ryc. 1b), co przemawiało za obecnością pancuronium w badanym materiale.

Analiza spektrofotometryczną, zastosowana jako potwierdzająca i alternatywna metoda wykazała obecność pancuronium w stężeniach: we krwi - 1.05 mg/l i w mózgu 0.50 mg/l, w nerce i wątrobie - brak.

K o m e n t a r z . W toku analizy całego materiału badawczego porównano zawartości pancuronium w materiale sekcyjnym otrzymane w rozważanym

przypadku z innymi (6, 16, 11, 17, 18), opisanymi w literaturze toksykologicznej. Istnieje pełna zgodność, dotycząca zastrzeżeń i obiekcji w metodologii badań tej grupy związków. Przypadki zatrucia pancuronium są stosunkowo rzadkie, a większość z nich opisanych w piśmiennictwie dotyczy samobójstw anesteziologów. Analiza ksenobiotyków w tej grupie chemicznej nastręcza wiele trudności, a wyniki często wzbudzają wiele wątpliwości. Wiąże się to zarówno z ich izolacją z materiału biologicznego, jak i z detekcją. Podkreśla się znaczenie czasu w podejmowaniu analizy, gdyż leki te prawdopodobnie wskutek wiązania z krwinkami zanikają w materiale przechowywanym in vitro. Stąd też poszukiwanie rozwiązań związanych z metodyką badań wydaje się być całkowicie uzasadnione.

Zastosowana metoda detekcji masowej pancuronium, jako przedstawiciela zasad amoniowych czwartorzędowych, w tandemie MS/MS, poprzez selektywność i niski próg detekcji poszerzyła możliwości ekspertyzy toksykologicznej w tej grupie leków. Dotyczy to także aspektu wiarygodności metody. Spektrometria masowa wykluczyła obecność metabolitów w próbkach, co nie jest możliwe przy zastosowaniu metody spektrofotometrycznej. Dzięki temu wiadomo, że oznaczenia wykonane spektrofotometrycznie, po detekcji masowej ujmują ilościowo tylko macierzysty lek, a nie sumarycznie lek i metabolity. Wydaje się więc, że zastosowana metoda analityczna w pełni spełnia wymogi nowoczesnej analizy toksykologicznej w odniesieniu do pancuronium, a przypuszczalnie także do innych leków, należących do grupy zasad amoniowych czwartorzędowych.

Przypadek II. Zatrucie kompleksowe mieszaniną ksenobiotyków - opiatami, amfetaminą, efedryną, oksazepamem

O p i s p r z y p a d k u . Ekspertyza toksykologiczna dotyczyła 20-letniego narkomana, znalezionego w domu, który wstrzyknął sobie, jak wskazywały znalezione strzykawki i pozostałości płynów w buteleczce, znaczną dawkę narkotyku w postaci tzw. kompotu makowego, „wzmocnionego” amfetaminą, efedryną i oksazepamem. Wykonana sekcja zwłok nie wykazała zmian morfologicznych.

A n a l i z a t o k s y k o l o g i c z n a . Pobrano płyny ustrojowe i tkanki (p. Tabela I), poddano je ekstrakcji wg standardowej procedury (9), stosowanej w pracowni toksykologii Zakładu Medycyny Sądowej CMUJ do analiz rutynowych.

Po wstępnej identyfikacji otrzymanych wyciągów biologicznych metodami chromatografii cienkowarstwowej (TLC) z detekcją chemiczną i wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją diodową (HPLC/DAD), analizy dokonano metodą HPLC z detekcją masową w jonizacji dodatniej typu elektrosprej (ESI/MS).

W y n i k i . Analiza ujawniła obecność 11 ksenobiotyków (Tabela I), w tym składników opium oraz amfetaminy, efedryny i oksazepamu. Na ryc. 2a zamieszczono chromatogram ekstraktu moczu badanego w detekcji UV (200 - 400nm) i poszczególne fragmenty tego chromatogramu zamieszczono na ryc. 2b w funkcji stosunku m/z zidentyfikowanych składników w próbce. Poszczególnym pikom na chromatogramie, charakteryzowanym przez czas retencji można

przyporządkować piki widm masowych poszczególnych składników próbki. Ta cecha analizy jest najbardziej przydatna w prawidłowym zidentyfikowaniu poszczególnych komponentów w mieszaninie, co pociąga za sobą wiarygodną analizę ilościową. Na ryc. 2c przedstawiono przykładową dokumentację w postaci widm masowych morfiny i metabolitu heroiny monoacetylowanej morfiny 6-MAM, znalezionych w moczu denata. Wykaz tych składników oraz pozostałych, oznaczanych w tym przypadku przedstawiono w Tabeli I.

Tabela I. Wyniki analizy toksykologicznej (przypadek II) po zatruciu kompleksowym opiatami, amfetaminą, efedryną i oksazepamem.

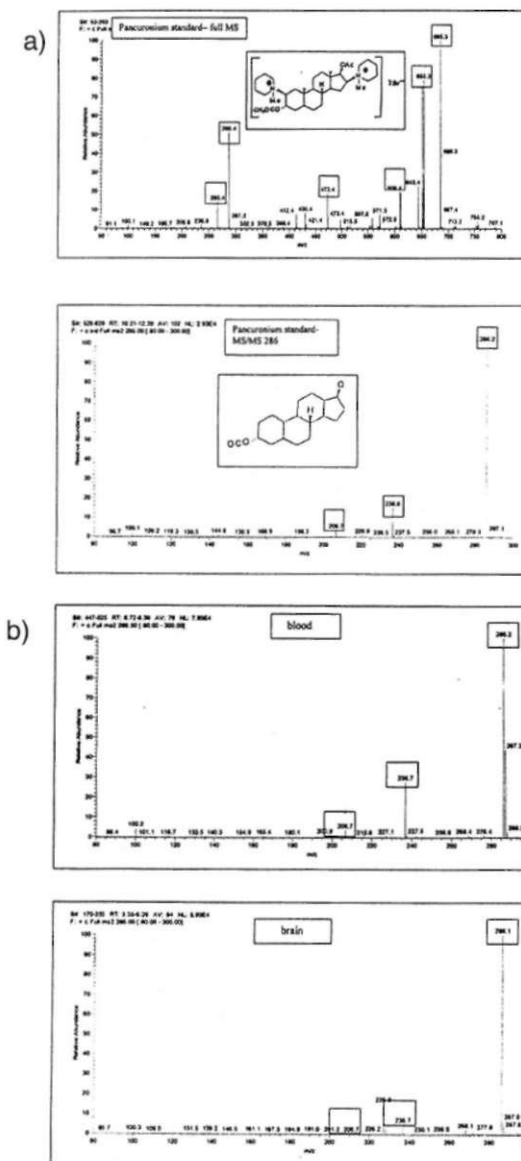
Table I. The results of toxicological analysis in multicomponent poisoning with opiates, amphetamine, ephedrine and oxazepam.

Ksenobiotyki Xenobiotic	Próbka Sample	Krew Blood	Mocz Urine	Mózg Brain	Nerka Kidney	Wątro- ba Liver	Wzorzec Standard
Morfina Morphine	(M+H) ⁺		286,24		286,07	286,30	286,24
	C(mg/l)		27,95		3,06	3,09	5,00
6-MAM 6-MAM	(M+H) ⁺		328,08				328,20
	C(mg/l)		6,46				5,00
Kodeina Codeine	(M+H) ⁺	300,36	300,14		300,04		300,24
	C(mg/l)	+	11,34		0,44		5,00
Norkodeina Norcodeine	(M+H) ⁺	286,20	286,27			286,12	
	C(mg/l)	+	+			+	
Tebaina Thebaine	(M+H) ⁺		312,02				312,11
	C(mg/l)		3,58				5,00
Papaweryna Papaverine	(M+H) ⁺		312,02				312,11
	C(mg/l)		3,58				5,00
Noskapina Noscapine	(M+H) ⁺		414,15				414,13
	C(mg/l)		0,07				5,00
Narceina Narceine	(M+H) ⁺	446,18	446,16		446,32		446,19
	C(mg/l)	0,40	6,63		0,45		5,00
Amfetamina Amphetamine	(M+H) ⁺	136,0	135,96		136,05	136,10	136,0
	C(mg/l)	1,23	38,01		3,29	5,15	10,00
Efedryna Ephedrine	(M+H) ⁺		166,02		166,12		166,1
	C(mg/l)		49,80		1,71		5,00
Oksazepam Oxazepam	(M+H) ⁺	286,90	286,97	286,99	287,00	286,90	287,07
	C(mg/l)	0,12	2,92	0,15	0,33	0,65	5,00
Klomidramina Clomipramine Standard wewnętrzny Internal standard	(M+H) ⁺	315,12	315,15	315,12	315,11	315,17	315,12
	C(mg/l)	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00

(M+H)⁺ = jon molekularny/molecular ion (Th)

C = stężenie/concentration (mg/l)

(+)= ślady/traces

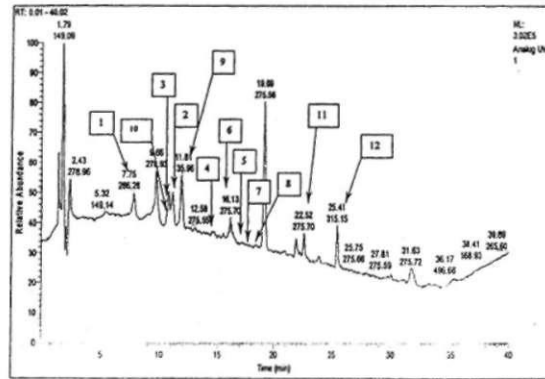


Ryc. 1.

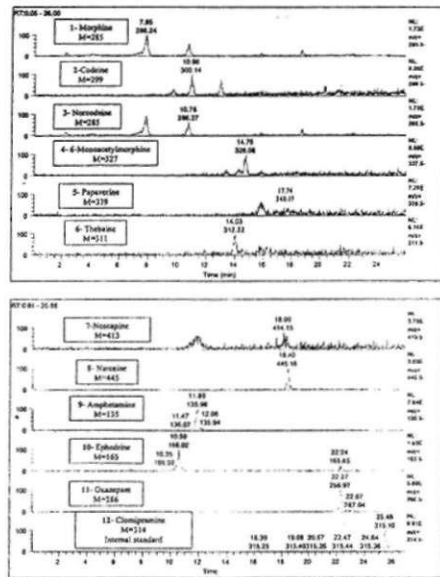
- a) Widma masowe MS i w tandemie MS/MS dla standardu pancuronium
b) Widma masowe MS w tandemie MS/MS dla pancuronium w badanych ekstraktach biologicznych

Fig. 1.

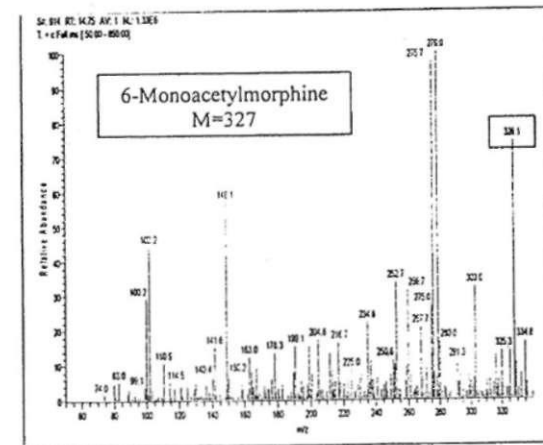
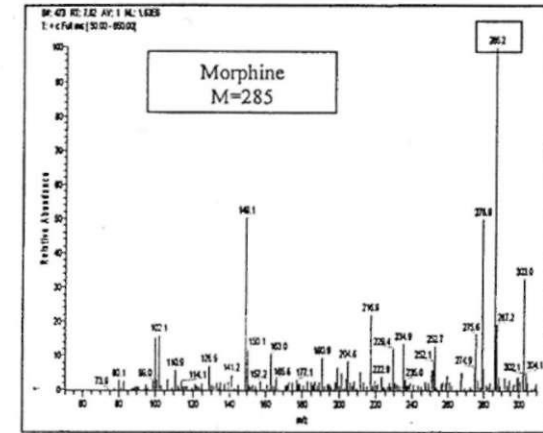
- a) Mass spectra MS and in the tandem MS/MS for pancuronium standard
b) Mass spectra MS and in the tandem MS/MS for pancuronium in the investigated biological extracts



a)



b)



c)

Hyc. 2.

- a) Chromatogram w detekcji UV (200-400nm) ekstraktu moczu denata ukazujący piki zidentyfikowanych ksenobiotyków jak 2b.
 b) Chromatogramu cząstkowy w detekcji UV (200-400nm) ukazujący charakterystyczne parametry m/z dla poszczególnych składników próbki moczu denata

Fig. 2.

- a) Chromatogram in UV detection (200-400nm) of urine extract presented peaks of identified xenobiotics of the deceased (explanations Fig. 2b)
 b) The fragments of chromatogram in the UV detection (200-400nm) presented m/z parameters for particular components of urine extract of the deceased.

Hyc. Z.

- c) Przykładowe widma masowe dla morfiny i 6-monoacetylmorfiny Fig. 2.

c) The examples of mass spectra for morphine and 6- monoacetylmorphine

Po identyfikacji metodą HPLC/ESI/MS poszczególnych składników badanych próbek biologicznych przystąpiono do oznaczeń ilościowych, które wykonano w oparciu o biologiczne standardy kalibracji, wykazanych w toku ekspertyzy ksenobiotyków, ekstrahowanych z tzw. „ślepych” tkanek i płynów ustrojowych, do których dodano wykazane w identyfikacji ksenobiotyki w odpowiednich stężeniach oraz klomipraminę jako standard wewnętrzny, po czym przeprowadzono przez podobną procedurę jak badane płyny i tkanki. Oceny ilościowej ksenobiotyków dokonano metodą HPLC, z użyciem pracującego równolegle obok detektora masowego detektora UV w zakresie 200-400 nm. Wyniki tych oznaczeń oraz niektóre parametry walidacyjne zamieszczono także w Tabeli I.

K o m e n t a r z . Przypadki zatruc śmiertelnych opiatami stanowią przedmiot badań toksykologii sądowej. Śledząc statystyki zatruc w Polsce obserwuje się systematyczny wzrost w tej grupie zatruc (9,10,12), jak również wzrasta tendencja do stosowania tzw. preparatów „wzmocnionych” innymi narkotykami czy lekami. Przypadki te skłaniają do rozważań z dwóch punktów widzenia: analitycznego i opiniodawczego.

Od analityka oczekuje się wiarygodnej detekcji, identyfikacji oraz analizy ilościowej, ujawniającej w sposób możliwie pełny zawartość ksenobiotyków w badanym materiale, co zapewniają przede wszystkim czułe i selektywne metody analityczne, charakteryzujące się możliwością detekcji wielu składników w próbce, w niskim pułapie stężeń. Wyniki tych analiz stanowią punkt wyjścia do dalszych rozważań o charakterze opiniodawczym.

Analizując przypadki śmiertelne w następstwie przedawkowania narkotyków coraz rzadziej występuje sytuacja na tyle jasna, że wykazane w badaniu ksenobiotyki zawierają się w wysokim przedziale stężeń tj. w przedziale spotykanym w ostrych zatruciach śmiertelnych. Coraz częściej mamy do czynienia z przypadkami, w których ksenobiotyki wykrywane są w płynach ustrojowych i tkankach w stężeniach śladowych, często tylko w płynach ustrojowych z wyłączeniem krwi. Ma to miejsce, między innymi wówczas, kiedy śmierć nastąpi w późnej fazie eliminacji ksenobiotyków, a efekt toksyczny może być związany z sumą działań cząstkowych poszczególnych składników próbki.

Brak wystarczająco czułej i selektywnej metody nie pozwala na wykrycie ewentualnych ksenobiotyków w wyciągach biologicznych i tym samym stawia pod znakiem zapytania przyjęcie przyczyny śmierci wskutek przedawkowania narkotyków, skłaniając medyka sądowego do stawiania mniej lub bardziej prawdopodobnych hipotez. Coraz doskonalsze metody analityczne pozwalają na ocenę takich właśnie przypadków, umożliwiając wykazanie rodzaju preparatu np. kompotu o różnym stopniu zawartości innych alkaloidów i innych związków np. leków mających na celu wzmocnienie efektu działania podstawowego narkotyku, co w ostatnich latach stało się dość powszechnym działaniem wśród narkomanów.

Badając różny materiał sekcyjny, poprzez identyfikację nie tylko związków macierzystych, ale także i ich metabolitów można dodatkowo wskazać na fazę w jakiej nastąpił zgon, czy też uściślić rodzaj preparatu, który został użyty np. czy „kompot” z zawartością heroiny czy czysta morfina. Związkiem pozwalającym odróżnić te narkotyki jest 6-monoacetylmorfina, która jest metabolitem heroiny, mogącym świadczyć o przyjęciu heroiny. Jednak charakteryzuje się ona krótkim okresem półtrwania oraz zazwyczaj wytwarza się w małych stężeniach, stąd też jej wykrycie musi wiązać się z czułą metodą detekcji, jaką niewątpliwie jest spektrometria masowa.

PODSUMOWANIE

Analiza ekstraktów biologicznych pod kątem zawartości poszczególnych ksenobiotyków, w tym pancuronium oraz opiatów opisywanymi w niniejszej pracy, z zastosowaniem detektora masowego, poprzez rejestrowanie widm

masowych - pełnych i fragmentowanych dla poszczególnych ksenobiotyków stanowi czułą selektywną i wiarygodną metodę. Niestety, wysoki koszt aparatury czyni ją metodą długo jeszcze powszechnie niedostępną.

Nie ulega także wątpliwości, że coraz doskonalsze metody analityczne, podnosząc poziom wykonywanych analiz toksykologicznych dobrze służą celom orzecznictwa sądowo-lekarskiego.

PIŚMIENNICTWO

I. Bogusz M. J., Maier R.D., Driessen S.: Morphine, morphine-3-glucuronide, morphine-6glucuronide, and 6-monoacetylmorphine determined by means of atmospheric pressure Chemical ionization - Mass Spectrometry - Liquid Chromatography in body fluids of heroin victims, *J.Anal. Toxicol.* 1997, 21, 346-355. - 2. Burlingame A.L., Boyd R.K., Gaskell S.J.: *Mass Spectrometry, Anal. Chemistry*, 1994, 66, 634R-679R. - 3. Careri M, Mangia A, Musci M.: Applications of liquid chromatography - mass spectrometry interfacing in food analysis: pesticides, drug and toxic substances residues, *J. Chromatogr.*, 1996, 722, 153-184. - 4. Curry A.: *Poison detection in human organs*. Charles C.Thomas, Publisher, Springfield, Illinois, 1976, 297-307. - 5. Frankę J.P., Wijsbeek J, Grewing JE and de Zeeuw RA.: Isolation and determination of quaternary ammonium compounds by means of Amberlite XAD-columns and thin layer chromatography. *Arch Toxicol.* 1979, 42, 15-121. - 6. Furuta T., Canfell PC, Castagnoli KP, Sharma MI and Miller RD.: Quantitation of pancuronium, 3-desacetylpancuronium, vecuronium, 3-desacetylvecuronium, pipecuronium and 3-desacetylpipecuronium in biological fluids by capillary gas chromatography using nitrogen - sensitive detection. *J. Chromatogr* 1988, 427, 41-53. - 7. Hoffman E., Charette J, Stroobant V.: *Spektrometria Mass*. Wydawnictwa Naukowo - Techniczne, Warszawa, 1998. - 8. Hoja H., Marquet P., Verneuil B., Lofti H., Penicaut B., and Lachatre G.: Applications of Liquid Chromatography - Mass Spectrometry in Analytical Toxicology. A review. *J.Anal. Toxicol.* 1997, 21, 116-126. - 9. Kłys M.: Problemy orzecznictwa i metodyczne w zatruciach śmiertelnych opiatami. *Arch. Med. Sąd Krym*, 1996,46,177-185. - 10. Kłys M.: Rola metodyki laboratoryjnej w toksykologii klinicznej i sądowej. *Przeg. Lek.* 1999,56/6,455-459.

II. Kłys M., Baran E.: Zatrucie śmiertelne pavulonem. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 1987, 37, 247-251. - 12. Kłys M., Baran E.: Zatrucia śmiertelne w materiale Zakładu Medycyny Sądowej w Krakowie, w latach 1946-1995. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 1996, 46, 277-287. - 13. Maurer H.H., Kraemer T., Schmitt C.J., Weber A.A.: Modern bioanalytical procedures. Scientific toys or key to new knowledge? , *Pharm. Unserer Zeit.*, 1996, 25/5, 269-269. - 14. Michael AJ., and Kinget R.: Ion-pair extraction method for quantitation of a bisquaternary ammonium compound pancuronium bromide. *Journal of the AOAC* 1976, 59/4, 802-806. - 15. Niessen W.M. A. and Tjaden U.R.: Strategies in developing interfaces for coupling liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 1991, 554, b 3-26. - 16. Poklis A., and Melanson EG.: A suicide by pancuronium

bromide injection: evaluation of the fluorometric determination of pancuronium in postmortem blood, serum and urine. J.Anal. Toxicol. 1980, 4, 275-280. - 17. Stone B.: Pancuronium bromide, Bull Intern. Assoc, Forensic Toxicol. 1975, 11, 15-16. - 18. Yashiki M., Miyazaki T., Iwasaki Y., Tniguchi T., Kojima T.: A case of suicide by an intravenous injection of pancuronium. Nippon Hoigaku Zasshi. ISS4 V. 1992, 46, 282-285.

Adres pierwszego autora:
Katedra Medycyny Sądowej CM UJ
ul. Grzegórzecka 16
31-531 Kraków

Adam Gross*, Jerzy Pohl*, Jacek Masełko

Obrażenia od postrzałów pociskami gumowymi z broni gładkolufowej

Injuries caused by rubber bullets fired from smooth-bore rifles

* Z Katedry Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. B. Turowska

** Z Zakładu Medycyny Sądowej Wojewódzkiego Centrum Medycznego w Opolu

Kierownik: lek med. A. Jastrzębski

Omówiono rodzaje gumowych i plastikowych pocisków stosowanych w broni obezwładniającej oraz przedstawiono zagrożenia dla zdrowia i życia związane z ich użyciem. Opisano dwa przypadki ciężkich obrażeń ciała od postrzałów z broni gładkolufowej z użyciem pocisków gumowych stosowanych przez oddziały Policji w Polsce. Pociski wystrzelone z bliskiej odległości spowodowały w pierwszym przypadku obrażenia wątroby i dwunastnicy a w drugim rozległą ranę szarpaną okolicy pachwinowej. Skutki obrażeń zakwalifikowano jako wyczerpujące znamiona odpowiednio "choroby realnie zagrażającej życiu" i art.157 1 kk.

The characteristics of rubber and plastic bullets and serious and fatal shooting injuries inflicted from by use are presented based on the literature. Two cases of serious injuries caused by rubber bullets fired from smooth - bore rifles were described. Bullets fired from a short distance injured the liver and duodenum in the first case and caused a large lacerated wound in the inguinal area in the second. Injuries were qualified as „life threatening injury" and severe body damage, according to 156 par. 1 and 157 par. 1 of the Polish Penal Code.

Słowa kluczowe: broń obezwładniająca, broń gładkolufowa, pociski gumowe, pociski plastikowe, obrażenia.

Key words: incapacitating weapon, smooth-bore weapon, rubber bullets, plastic bullets, injuries.

Broń rażącą pociskami gumowymi i plastikowymi zalicza się do broni obezwładniającej. Mianem jej określa się takie urządzenia, które oddziałując na sferę psychiczną i fizyczną człowieka wywołują jego krótkotrwałe obezwładnienie,