

z zakresu medycyny sądowej. Arch. Med. Sąd. Krym. 1998, 48, 215-219. -7. Kunz J.: Błąd opiniodawczy w świetle materiału Zakładu Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie w latach 1991-1996, Arch. Med. Sąd. Krym. 1988, 48, 35-46. -8. Kunz J.: Niektóre przyczyny rozbieżności stanowisk prawników i biegłych lekarzy w opiniowaniu sądowo-lekarskim. Część I: Problematyka związku przyczynowego, Arch. Med. Sąd. Krym. 1992, 42, 38-60. -9. Leleńtal S.: Przesłępstwa przeciwko prawom pracowniczym, [w:] Andrejew I., Kubicki L., Waszczyński J. (red): System prawa karnego, tom IV, część 2, Ossolineum, Wrocław 1985, s. 129-139. -10. Lisowski A.: Przesłępstwa przeciwko zdrowiu i życiu. Orzecznictwo Sądu Najwyższego, Wyd. Comer 1996.

11. Popielski B.: Orzecznictwo lekarskie, PZWL, Warszawa 1981. -12. Raszeja S., Nasiłowski W., Markiewicz J.: Medycyna sądowa. Podręcznik dla studentów, PZWL, Warszawa 1990, 1993. -13. Ratajczak A.: Przesłępstwa przeciwko rodzinie, opiece i młodzieży, w: Andrejew I., Kubicki L., Waszczyński J. (red): System prawa karnego, tom IV, część 2, Ossolineum, Wrocław 1985, s. 249-342. -14. Spotowski A.: Funkcja niebezpieczeństwa w prawie karnym, PWN, Warszawa 1990. -15. Stefański R.A.: Prawna ocena stanów związanych z używaniem środków odurzających w ruchu drogowym, Prok. i Pr. 1999 (4), 18-24. -16. Stefański R.A.: Ucieczka sprawcy z miejsca wypadku drogowego. Prok. i Pr. 1996 (1), 7-23. -17. Stefański R.A.: Wypadek w komunikacji jako przestępstwo w nowym kodeksie karnym, Prok. i Pr. 1998, 10, 47-70. -18. Teresiński G., Mądro R.: Lekarskie aspekty narażenia na niebezpieczeństwo utraty zdrowia lub życia. I. Problem skutku potencjalnego w opiniowaniu sądowo-lekarskim. Arch. Med. Sąd. Krym. 2001, 51, 45-58. -19. Zoll A. (red.): Kodeks karny: część szczególna: komentarz do art. 117-277 Kodeksu karnego, wyd. Zakamycze, Kraków 1999. -20. Zoll A.: Narażenie na chorobę weneryczną, [w:] Andrejew I., Kubicki L., Waszczyński J. (red): System prawa karnego, tom IV, część 1, Wyd. PAN, Wrocław 1985, s. 471-473.

21. Zoll A.: Narażenie na niebezpieczeństwo [w:] Andrejew I., Kubicki L., Waszczyński J. (red): System prawa karnego, tom IV, część 1, Wyd. PAN, Wrocław 1985, s. 463-471. -22. Zoll A.: Nieudzielenie pomocy [w:] Andrejew I., Kubicki L., Waszczyński J. (red): System prawa karnego, tom IV, część 1, Wyd. PAN, Wrocław 1985, s. 473-481.

Adres pierwszego autora:  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej  
ul. Jaczewskiego 8  
20-090 Lublin

**Małgorzata Kłys**

## Problemy redystrybucji ksenobiotyków w toksykologii sądowej

### Redistribution problems in forensic toxicology

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie  
Kierownik: dr hab. F. Trela - profesor UJ

Podstawę merytoryczną niniejszej pracy stanowią dwa przypadki zatruc śmiertelnych lekami - werapamil i levomepromazyną. Wykonane badania toksykologiczne w materiale pobranym w okresie poprzedzającym sekcję i w czasie sekcji zwłok wykazały leki i ich liczne metabolity. Na podstawie tych badań zaobserwowano istotne zmiany w stężeniach leków i ich metabolitów we krwi i ciałku szklistym oka w okresie pośmiertnym. Przeprowadzona dyskusja obejmuje mechanizmy redystrybucji, przebiegające w ramach procesów tanatochemicznych, w świetle analizowanych przypadków zatruc lekami i zebranego piśmiennictwa. Dotyczy ona także praktycznych aspektów redystrybucji pośmiertnej ksenobiotyków, takich jak wybór materiału do badań toksykologicznych i sposobu jego pobierania.

The subject of the study are two cases of fatal poisoning with the drugs - verapamil and levomepromazine. Toxicological investigations carried out with the use of material collected in a period before autopsy and during autopsy revealed the above mentioned drugs and their numerous metabolites. As a result of the examinations significant changes in the concentration of drugs and metabolites in blood and vitreous humor in the postmortem period were observed. The discussion in the present paper includes the mechanism of redistribution taking place in the body after death in the light of analysed cases of poisonings and available scientific literature. The discussion concerns the practical aspects of postmortem redistribution, ie. postmortem material for toxicological examination and the procedure of collection.

Słowa kluczowe: redystrybucja, LC/MS, werapamil, levomepromazyna

**Key words: redistribution, LC/MS, verapamil, levomepromazine**

## WPROWADZENIE

Ocena dystrybucji leków i ich metabolitów w zatruciach śmiertelnych stanowi czołowe zagadnienie problematyki orzecznictwa sądowo-lekarskiego, mającego na celu konstruowanie opinii o przyczynie śmierci.

W powiązaniu z tak wytyczonymi zadaniami wytworzyła się w toksykologii sądowej ogólnie akceptowana tendencja odnoszenia wyników badań w aktualnie opracowywanych przypadkach do wcześniej badanych. Na przestrzeni lat powstał kierunek badań zmierzający do tworzenia baz danych, pochodzących z szeroko rozumianej kazuistyki. W odniesieniu do orzecznictwa toksykologicznego, oprócz opisu ewentualnych zmian morfologicznych zaobserwowanych w czasie autopsji w badanych przypadkach największe znaczenie mają zbiory stężeń ksenobiotyków w materiale biologicznym, w zatruciach bez skutku śmiertelnego i śmiertelnych, w konfrontacji z opracowywanymi dla potrzeb medycyny klinicznej stężeniami leków w terapii (1, 4, 18, 26, 27). Na wykorzystaniu takich zbiorów danych bowiem opiera się filozofia orzecznictwa sądowo-lekarskiego.

Jednak kształtujący się w takim duchu obraz orzecznictwa musiał ulec istotnej korekcie, wynikającej między innymi, z wykrycia zjawiska redystrybucji ksenobiotyków, którą autorzy jednej z pierwszych prac na ten temat nazwali „toksykologiczną marą nocną” (21). Chodziło mianowicie o to, że we krwi pobranej z różnych miejsc ciała (ze zwłok) zatrutych, krwi płucnej, żyłnej, tętnicznej, z serca, wykazywano różne stężenia ksenobiotyków (14, 21). Późniejsze obserwacje i prace doświadczalne (8, 9, 10, 22) pozwoliły na przypuszczenie, że zjawisko z jakim mamy do czynienia związane jest przemieszczaniem ksenobiotyków, obecnych w płynach ustrojowych i tkankach organizmu. Przemieszczanie to, zgodne z kierunkiem gradientu stężeń, zachodzi w ramach procesów pośmiertnych, związanych między innymi z przesunięciami wody w organizmie, zmianami pH płynów ustrojowych, rozpadem błon komórkowych (21). W efekcie tego zjawiska istnieje możliwość błędnych interpretacji wyników toksykologicznych, a w konsekwencji może to prowadzić do błędnych opinii. Jak wskazują cytowane wyżej prace doświadczalne, zasięg i wielkość procesu redystrybucji zależy jednak od wielu czynników, związanych zarówno z cechami fizykochemicznymi ksenobiotyku jak i charakterem podłoża, w którym został osadzony.

Badanie tego zjawiska może być prowadzone w dwóch kierunkach. W pierwszym przypadku można oceniać zawartość leków i ich metabolitów w różnych punktach ciała np. we krwi, ciałku szklistym oczu i tkankach pobranych w tym samym czasie lub też w materiale pobranym z miejsc o podobnej lokalizacji, ale w różnym czasie po śmierci. Podobny schemat można włączyć do eksperymentu na materiale zwierzęcym.

Jakkolwiek samo zjawisko redystrybucji ksenobiotyków zostało już opisane w wielu pracach, to w szczegółowych badaniach zatruc poszczególnymi lekami stanowi stale otwarty problem.

Przedmiotem badań i późniejszej dyskusji, mieszczących się w zakresie podjętego tematu były dwa przypadki zatruc śmiertelnych lekami - werapamilem i lewomepromazyną. W tych przypadkach bowiem była możliwość pobrania materiału pośmiertnego w okresie poprzedzającym autopsję.

## MATERIAŁ I METODY

### Opis przypadków

a) Zatrucie śmiertelne werapamilem.

Kobieta, lat 32, przyjęła w niewyjaśnionych okolicznościach nieznaną dawkę leku. Wobec gwałtownych objawów chorobowych, spadku ciśnienia oraz utraty przytomności podjęto intensywną akcję reanimacyjną, która jednakże nie przyniosła rezultatu i po trzech godzinach pacjentkę uznano za zmarłą.

Po dwóch godzinach od zgonu pobrano płyn z gałki oka, krew z żyły udowej oraz podobojczykowej. Po 20 godzinach od zgonu (18 godzin od pierwszego pobrania materiału) pobrano ponownie płyn z drugiej gałki oka, krew z żyły udowej oraz z żyły podobojczykowej. Godzinę później przeprowadzono sekcję zwłok, w czasie której pobrano krew z aorty (sercową) oraz próbki wątroby i nerki.

Przeprowadzona sekcja zwłok nie wykazała zmian morfologicznych, a w wyniku przeprowadzonej ekspertyzy chemiczno-toksykologicznej wykazano obecność blokerów wolnego kanału wapniowego - werapamilu i jego 12 metabolitów, w stężeniach spotykanych w ostrych zatruciach śmiertelnych, wskazując na przyczynę śmierci z zatrucia werapamilem.

b) Zatrucie śmiertelne lewomepromazyną.

Kobieta, lat 50, przyjęła w celach samobójczych nieznaną dawkę leku. W czasie przyjęcia do Kliniki Toksykologii pacjentka była nieprzytomna, nie odzyskała również przytomności w czasie pobytu w szpitalu przez okres 3 dob, po czym nastąpił jej zgon. Wstępny test diagnostyczny, przeprowadzony w Klinice Toksykologicznej wykazał obecność leku(ów) z grupy fenotiazyn.

Po 9-ciu godzinach od zgonu pobrano płyn z gałki oka, krew z żyły udowej oraz podobojczykowej. Po 31-godzinach od zgonu (22 godziny od pierwszego pobrania materiału) pobrano ponownie płyn z drugiej gałki oka, krew z żyły udowej oraz z żyły podobojczykowej. Godzinę później przeprowadzono sekcję zwłok, w czasie której pobrano krew z aorty (sercową) oraz próbki wątroby i nerki.

Przeprowadzona sekcja zwłok nie wykazała zmian morfologicznych, a w wyniku przeprowadzonej ekspertyzy chemiczno - toksykologicznej wykazano obecność neuroleptyku z grupy fenotiazyn - lewomepromazyny oraz jej 24 metabolitów, w stężeniach spotykanych w ostrych zatruciach śmiertelnych, wskazując na przyczynę śmierci z zatrucia lewomepromazyną.

Badania toksykologiczne w obu przypadkach (15, 16) wykonano stosując standardowe metody ekstrakcji cieczy - ciecz, analizy badano z zastosowaniem chromatografii cieczowej z detektorem masowym (LC/MS) w opcji chemicznej jonizacji dodatniej (APCI) według wcześniej opracowanej procedury (17).

## WYNIKI

W obu przypadkach uzyskano przejrzysty obraz analityczny wykazanych leków i ich metabolitów dzięki zastosowanej metodzie LC/MS. Kryterium identyfikacji stanowiły ich masa cząsteczkowa i otrzymane parametry m/z (17). Parametry analityczne metabolitów zarówno werapamilu jak i lewomepromazyny wykazują zgodność z teoretycznymi schematami. Stężenia wykazanych leków wskazują także na toksykologiczną przyczynę śmierci.

W zatruciu werapamilem, w kontekście istniejących baz danych (4, 12), posługując się teoretycznymi schematami szlaków metabolicznych tego leku (27, 28) zidentyfikowano werapamil i jego 12 metabolitów. Metabolity, w najwyższych stężeniach reprezentowane były przez norwerapamil, N-desalkilwerapamil i N-desalkil-O-desmetylwerapamil, pozostałe wykazano w znacznie mniejszych stężeniach.

Analiza ilościowa, której wyniki zamieszczono w Tabeli I wykazała niewielkie różnice w stężeniach werapamilu we krwi udowej i obojczykowej, większe różnice zaś wykazano w stężeniach metabolitów. Wykazane zarówno leki i ich metabolity natomiast ujawniły się w znacząco wyższych stężeniach we krwi z serca. Różnice te dotyczą zwłaszcza metabolitów. Na podstawie tych danych wyznaczono indeksy redystrybucji krew sercowa / krew obwodowa. Istotne dane zamieszczono w Tabeli III.

Tabela I. Wyniki oznaczeń toksykologicznych w zatruciu śmiertelnym werapamilem  
Table I. Toxicological findings in fatal verapamil poisoning

Próbka Sample	Verapamil	Norverapamil	N-des alkyl verapamil	N-desalk O-desmethyl verapamil	Stężenie sumaryczne Total metabolites (12)	Stężenie śmiertelne Fatal conc. [lit. (1)]
Oko 1 Vitreous humouM	0,10	0,31	0,55	0,12	1,67	-
Oko 2 Vitreous humour2	0,22	0,46	1,17	0,17	3,34	-
Krew-udo 1 Femoral blood1	0,80	0,56	0,23	0,11	3,12	0.9-85
Krew-udo 2 Femoral blood2	1,0	0,68	1,33	0,38	6,01	-
Krew -ręka 1 Brachial blood1	0,84	0,68	0,89	0,29	4,10	-
Krew- ręka 2 Brachial blood2	0,66	0,48	2,37	0,57	7,90	-
Krew-serce Heart blood	1,47	1,06	1,94	0,50	17,11	15
Wątroba Liver	33,84	21,11	24,05	4,98	93,08	3.2 - 280
Nerka Kidney	4,57	4,97	14,62	4,90	52,8	10-28

W ciałku szklistym oka stężenia zarówno leków jak i ich metabolitów uległy podwojeniu w interwale czasowym pośmiertnym pomiędzy badaniami.

W wątrobie i w nerce zakresy stężeń zarówno prekursorów jak i metabolitów były większe niż we krwi, jednakże stosunek metabolitów do prekursorów pozostaje w podobnej proporcji jak dla krwi.

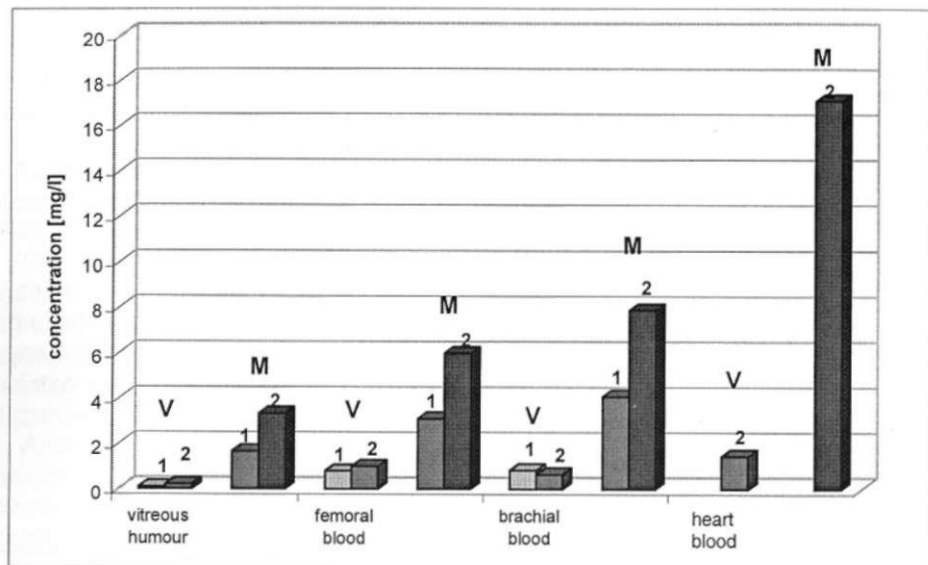
W drugim przypadku, w zatruciu lewomepromazyną zgodnie z teoretycznymi schematami dróg metabolicznych tego leku (1, 29, 30) wykazano lewomepromazynę i jej 24 metabolity, reprezentowane przez S-oksylewomepromazynę, N-desmetyllewomepromazynę, N-desmetyl-S-oksylewomepromazynę, O-desmetyl-S-oksylewomepromazynę w relatywnie najwyższych stężeniach, pozostałe 20 metabolitów wykryto w znacznie mniejszych stężeniach. Poziom wykrytych ksenobiotyków zawiera się w przedziale uznany za zakres spotykany w zatruciach śmiertelnych (8, 9, 10, 24). W tabeli II przedstawiono wyniki ekspertyzy toksykologicznej.

Tabela II. Wyniki oznaczeń toksykologicznych w zatruciu śmiertelnym lewomepromazyną.

Table II. Toxicological findings in total poisoning with levomepromazine

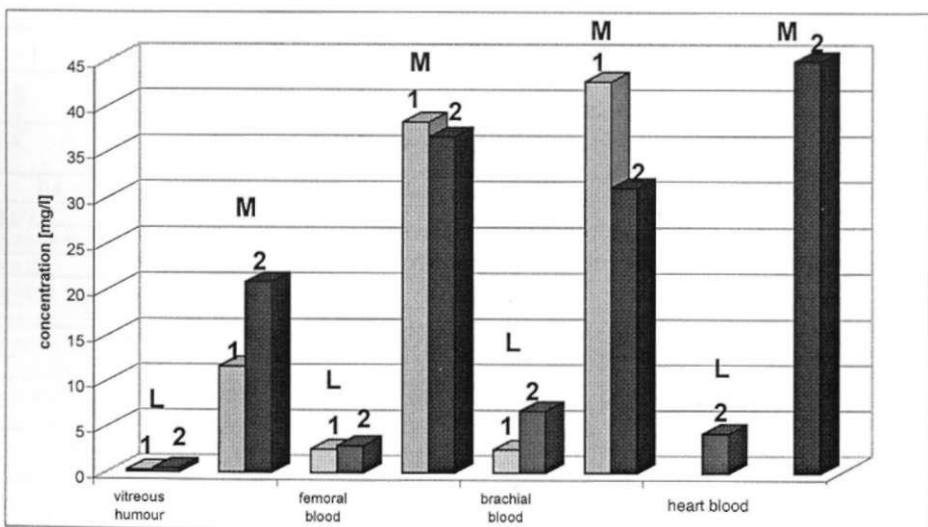
Próbka Sample	Levome Promazine	S-oxide levomepromazine	N des methylle vomepromazine	N-des- methyl-S- oxylemepromazine	O-des- methyl-S-oxylevo- mepromazine	Metabolity sumarycznie Total metabolites (24)	Stężenie śmiertelne Fatal conc. [lit. (1)]
Oko 1 Vitreous humouM	0,23	6,75	0,25	2,08	1,31	11,64	-
Oko 2 Vitreous humour2	0,45	12,27	0,65	3,52	2,61	20,86	-
Krew-udo 1 Femoral blood1	2,55	7,96	5,19	8,26	6,52	38,33	0.8-4.1
Krew -udo 2 Femoral blood2	2,95	7,56	5,87	6,99	5,09	36,69	-
Krew-ręka 1 Brachial blood1	2,52	9,29	5,09	10,36	7,85	42,78	-
Krew- ręka 2 Brachial blood2	6,76	7,52	3,77	5,84	4,50	31,17	-
Krew- serce Heart blood	4,31	10,05	6,33	9,13	6,35	45,09	0.8-3.6
Wątroba Liver	51,30	21,35	138,64	65,16	46,76	422,93	160
Nerka Kidney	16,30	30,44	34,26	40,43	23,91	182,55	

Komentując poziomy stężeń we krwi pobranej w różnym czasie w zatruciu lewomepromazyną zaobserwowano, że we krwi pochodzącej z żyły udowej stężenia zarówno prekursora jak i metabolitów wykazują niewielkie różnice, we krwi obojczykowej zaś różnice te są większe.



Ryc. 1. Zmiany w stężeniach werapamilu i metabolitów (sumarycznie) w materiale pobranym w okresie pośmiertnym.

Fig. 1. Concentration changes of verapamil and metabolites (total) in material collected during the postmortem interval



Ryc. 2. Zmiany w stężeniach lewomepromazyny i metabolitów (sumarycznie) w materiale pobranym w okresie pośmiertnym

Fig. 2. Concentration changes of levomepromazine and metabolites (total) in material collected during the postmortem interval

W ciałku szklanym oka uzyskano podobne wyniki jak w przypadku zatrucia werapamillem, a więc stężenia zarówno lewomepromazyny jak i jej metabolitów uległy podwojeniu w interwale czasowym pośmiertnym, pomiędzy badaniami.

Na rycinach 1 i 2 przedstawiono graficznie różnice w stężeniach analizowanych ksenobiotyków w obu przypadkach. Reasumując wyniki uzyskano zbieżność obserwacji - stężenia obu leków i ich metabolitów w ciałku szklanym oka uległy podwojeniu podczas gdy w próbkach krwi różnice te, wprawdzie statystycznie niewielkie, ale miały różny zakres i kierunek, w zależności od materiału.

Tabela III. Analiza porównawcza przypadków zatruc werapamillem i lewomepromazyną

Table III. Comparative analysis of cases of poisonings with verapamil and levomepromazine

Próbka Samples	Stężenie ksenobiotyku w biologicznych próbkach [mg/kg] Xenobiotic concentrations in biological samples [mg/kg]									
	Levomepromazine		Total metabolites (24)			1 >	Total metabolites (12)			
Oko 1 Vitreous humour 1	0,23	-	11,64		50,6	0,10	-	1,67	-	16,7
Oko 2 Vitreous humour 2	0,45	-	20,86		46,4	0,22	-	3,34	-	15,18
Krew- udoi Femoral blood1	2,55	1,7	38,33	1,2	15,03	0,80	1,8	3,12	5,4	3,90
Krew-udo 2 Femoral blood 2	2,95	1,5	36,69	1,2	12,4	1,0	1,5	6,01	2,8	6,01
Krew-ręka1 Brachial blood1	2,52	1,7	42,78	1,1	16,9	0,84	1,8	4,10	4,2	4,88
Krew-ręka2 Brachial blood2	6,76	0,64	31,17	1,5	4,6	0,66	2,2	7,90	2,2	11,96
Krew-serce Heart blood	4,31	1	45,09	1	10,5	1,47	1	17,11	1	11,63
Wątroba Liver	51,30	-	422,93	-	8,24	33,84	-	93,08	-	2,75
Nerka Kidney	16,30	-	182,55	-	11,2	4,57	-	52,8	-	11,55

H/P - stosunek stężeń we krwi w sercu do krwi obwodowej

L - lewomepromazyną , V - werapamil

M - metabolity, Total metabolites - sumaryczne stężenia metabolitów

M/L, M/V- stężenia relatywne metabolitów do lewomepromazyny, werapamilu

## DYSKUSJA

Badania związane z procesem redystrybucji leków i ich metabolitów miały na celu poszukiwanie uchwytnych wskaźników, pozwalających na określenie tego zjawiska w pewnym schemacie. O ile badania toksykologiczne na zwierzętach (10, 11, 25) pozwalają na wyciągnięcie pewnych konstruktywnych wniosków co do kierunków tych zmian to badania toksykologiczne przypadków śmiertelnych przedstawiają znacznie trudniejszy materiał badawczy.

Czynnikami mającymi wpływ na proces redystrybucji są parametry związane z samym ksenobiotykiem (struktura chemiczna, wielkość cząsteczki, jej polarność, zdolność do wiązania z matrycą biologiczną objętość dystrybucji  $V_d$ ) oraz z podłożem (rodzaj tkanki, stopień rozkładu). Wszystkie te czynniki ostatecznie decydują o tym jaki będzie zasięg i intensywność tego procesu.

Jednym z celów niniejszej pracy było omówienie otrzymanych wyników badań nad redystrybucją na przykładzie zatruc werapamilom i lewomepromazyną w świetle istniejącej wiedzy na temat redystrybucji.

Problemem o podstawowym znaczeniu, opisywanym w wielu pracach jest istota samego mechanizmu powstawania redystrybucji pośmiertnej, który może być rozpatrywany jedynie w powiązaniu z czynnikami wyżej wymienionymi.

W większości opinii przeważa sugestia o mechanizmie dyfuzji biernej ksenobiotyków przez błony komórkowe (8, 9, 10, 23), opierająca się na prawie Ficka, według którego zasięg procesu dyfuzji jest wprost proporcjonalny do gradientu stężeń na granicy dwóch ośrodków, przez które dyfunduje ksenobiotytek. Prawa fizyki pozwalają także stwierdzić, że sam proces dyfuzji dąży do osiągnięcia stanu równowagi. Zgodnie z podstawowymi prawami fizyki zatem ksenobiotytek o małej masie cząsteczkowej, niepolarny, łatwiej może się przemieszczać poprzez błony komórkowe zgodnie z kierunkiem tego przemieszczenia. Wydaje się logiczne więc to, że obecność łatwo odszczepialnych, pękających łańcuchów alkilowych będzie sprzyjała tworzeniu produktów rozkładu, także metabolitów. Temat związany bezpośrednio z metabolitami jednakże zajmuje niewiele miejsca w dostępnym piśmiennictwie. W naszych badaniach zaobserwowano duże różnice w stężeniach metabolitów w kolejnych próbach krwi pobranych pośmiertnie, we krwi z serca zaś nagromadzenie metabolitów było szczególnie duże. W mechanizmie powstawania zjawiska redystrybucji logiczną wydaje się koncepcja pośmiertnej biokonwersji prekursorów do odpowiednich metabolitów przy udziale bakterii (26, 27), przebiegająca obok biernej dyfuzji zarówno prekursorów jak i metabolitów, wytworzonych w okresie zażyciowym. Proces ten może być szczególnie intensywny we krwi w obszarze serca, na co wskazują nasze badania, a także badania innych autorów (8).

Analizując parametry fizykochemiczne obu leków, będących przedmiotem badań można teoretyzować, że werapamil, posiadając dużą cząsteczkę ( $M=454$ ) w porównaniu z lewomepromazyną ( $M=328$ ), może mieć trudniejsze warunki do przemieszczania. Z kolei werapamil posiada strukturę łańcuchową co może sprzyjać tworzeniu mniejszych struktur, w tym o budowie metabolitów. Lewomepromazyną tworzy prawdopodobnie w pierwszej kolejności sulfotlenki, potem struktury demetylowane. Teoria pozwala przypuszczać, że demetylowane struktury mogą tworzyć się łatwiej.

Komentując ten problem w odniesieniu do badanych przypadków, zaobserwowano ogólnie wyższy stosunek globalnych stężeń metabolitów do prekursora (Tabela III) w przypadku lewomepromazyny niż werapamilu. Wydaje się prawdopodobne jednakże, że to przede wszystkim liczbowa przewaga metabolitów lewomepromazyny mogła zadecydować o takim wyniku.

Podstawowym założeniem badań toksykologicznych do celów orzecznictwa sądowo-lekarskiego jest to, aby stężenie ksenobiotyków uzyskane w toku badań pośmiertnych odpowiadało, czy było najbardziej zbliżone do poziomu istniejącego tuż przed śmiercią. Celem uzyskania odpowiedzi na to pytanie porównywano zawartości leków u pacjentów tuż przed śmiercią z ich zawartością tuż po śmierci. Prouty i Anderson (24) wykonali takie badania na pewnej niewielkiej liczbie przypadków, zaś Hilberg (11) opracował ten temat na większym materiale. Autorzy, interpretując wyniki badań wielu przypadków podają relacje liczbowe stężenia leków we krwi udowej *postmortem* do krwi *antemortem* (ostatniej próbki pobranej tuż przed śmiercią) odnosząc je do wartości objętości dystrybucji  $V_d$  leków w badanych przypadkach zatruc śmiertelnych, jako parametru toksykokinetycznego, charakteryzującego możliwości ksenobiotyku do kumulacji w narządach. Z badań tych wynika, że większa wartość  $V_d$  leku uzasadnia większą różnicę pomiędzy zawartością leku uzyskaną we krwi *postmortem* - *antemortem*. Różnice te jednak są mniejsze dla krwi obwodowej niż dla krwi z serca.

Z punktu widzenia omawianego w niniejszej pracy zagadnienia, zainteresowanie wzbudzają wyniki otrzymane dla zatrucia śmiertelnego werapamilom. Stosunek stężenia werapamilu ( $V_d=5,5$  L/kg) we krwi pośmiertnej do zawartości we krwi zażyciowej wyniósł 1.5, dla krwi z serca stosunek ten kształtował się na poziomie 5.4. Autorzy tej pracy sugerują, że różnice te mogą być jeszcze większe dla leków o większej wartości  $V_d$  np. w zatruciu chlorochiną ( $V_d=200$  L/kg) stosunek leku we krwi udowej do zażyciowej wynosił 49, dla imipraminy  $V_d=20$  L/kg uzyskano wartość 3.3, dla amitriptyliny ( $V_d=35$  L/kg) - 3.1 dla nortryptyliny ( $V_d=$  ok. 14-40) 3.5 dla amfetaminy ( $V_d=3-4$  L/kg) stosunek ten wynosił 1.6.

W naszych badaniach nie dysponowaliśmy materiałem zażyciowym, stąd też można jedynie domniemywać, opierając się na powyższych informacjach i odnosząc nasze badania do wyżej cytowanej pracy, że lewomepromazyną, posiadającą  $V_d$  około 20 L/kg może wykazywać większe różnice w stężeniach prekursora we krwi pośmiertnej do zażyciowej niż werapamil. Praktyczny wniosek wypływający z cytowanych wyżej badań pozwala przypuszczać, że większy błąd można popełnić w orzecznictwie toksykologicznym zatruc lekami o wysokich wartościach  $V_d$ .

Drugą grupę czynników, mających związek z intensywnością i zasięgiem procesu redystrybucji są parametry związane z medium, tworzonym przez matrycę biologiczną w którym osadzony jest ksenobiotytek. Jednym z elementów badania mechanizmu procesu redystrybucji, związanego z właściwościami podłoża biologicznego jest określanie parametrów biochemicznych wskazujących na intensywność przemian pośmiertnych. Jakkolwiek wskaźnikiem samych przemieszczeń ksenobiotyków są różnice w stężeniach w zależności od

lokalizacji w ciele zatrutego, z którego pobrano materiał biologiczny, to u podstaw leżą zmiany w parametrach biochemicznych. Interesującą koncepcję stanowi propozycja pomiaru niektórych enzymów, których obecność wzrasta w przestrzeni międzykomórkowej po śmierci (2, 18). Spowodowane jest to rozpadem błon komórkowych i wylaniem się zawartości wewnątrzkomórkowej na zewnątrz. Ciekawe wyniki przyniosły prace Langforda i Poundera (18) mające na celu poszukiwanie owych biomarkerów. U merytorycznych podstaw tych prac leży założenie, wynikające z doświadczeń na zwierzętach, że płuca i wątroba stanowią podstawowe układy depozytu ksenobiotyków, z których mogą być uwalniane w trakcie procesów pośmiertnych do innych miejsc ciała, jakkolwiek także nerki i mięśnie szkieletowe mogą pełnić rolę zbiorników ksenobiotyków (9, 11).

Z prac doświadczalnych wyżej cytowanych wynika, że istnieje wysoka korelacja pomiędzy niektórymi lekami (amitryptylina, nortryptylina) a aminokwasami surowicy takimi jak glicyna, leucyna, seryna, walina a szczególnie metionina - dla krwi pobranej płuc. Z kolei, we krwi pobranej z dużych naczyń krwionośnych i prawej komory serca, jako miejsc zaopatrywanych przez rezerwuar wątrobowy zaobserwowano pewną, aczkolwiek słabą korelację pomiędzy lekami a enzymami wątrobowymi takimi jak aminotransferaza alaninowa, fosfataza alkaliczna, aminotransferaza asparaginianowa gama - glutamylotransferaza oraz glukoza, kwas mlekowy i bilirubina. Dla krwi płucnej korelacja ta była całkowicie negatywna. W konkluzji stwierdzono, że enzymy wątrobowe są generalnie słabymi markerami pośmiertnej migracji ksenobiotyków, enzymy surowicze zaś mogą być przydatne do oceny fluktuacji ksenobiotyków we krwi płucnej.

Do opisywanych doświadczeń użyto leków o zbliżonej cząsteczce do badanych aminokwasów, takich jak amitryptylina i nortryptylina. Dla tych leków właśnie badania wykazały wysoką korelację pomiędzy fluktuacją cząsteczek tych leków a zawartością powstałych w procesie tanatochemicznym aminokwasów surowicznych. Można przypuszczać, że inne leki o zbliżonej strukturze chemicznej mogą zachowywać się podobnie w procesie redystrybucji.

Czynnikiem niewątpliwie decydującym o rozpadzie błon biologicznych i tym samym o przebiegu procesów tanatochemicznych jest czas. Można się spodziewać, że nasilenie tych procesów może przebiegać równolegle do wielkości jednostek czasowych po śmierci. Wydaje się logiczne, że najbardziej adekwatnym wynikiem do momentu śmierci będą wczesne chwile okresu pośmiertnego. W badanych przypadkach zatruc werapamilę i lewomepromazyną materiał pobierano do 23 godzin (przypadek A) i 33 godzin (przypadek B) po zgonie. Jest to okres, w którym, zazwyczaj dokonuje się sekcji zwłok oraz pobiera się materiał do badań pośmiertnych. Nie sposób w tym miejscu nie wspomnieć także o udziale temperatury w warunkach przechowywania materiału biologicznego (zwłok).

Aspektem praktycznym, wpływającym z przeprowadzonych badań w omawianym zjawisku może być niewątpliwie wybór materiału do badań pośmiertnych.

Krew sercowa, jak również krew pochodząca z centralnych naczyń w poszczególnych przypadkach może zawierać większe stężenia ksenobiotyków niż krew z naczyń obwodowych. Stąd też uzasadnione jest twierdzenie, że krew

zżyły udowej najlepiej odzwierciedla stężenie ksenobiotyku w chwili śmierci. Langford uważa (18), że krew z naczyń obwodowych jest mniej narażona na przesunięcia pochodzące z narządów stanowiących pewnego rodzaju zaplecze - wątroby, płuc czy serca. Ale ta obserwacja nie wyjaśnia obecności pojawiających się w tej tkance metabolitów. Jednakże bliższe zbadanie omawianego zjawiska każe ostrożnie podchodzić do powyższego twierdzenia. Może się bowiem zdarzyć, że niekoniernie krew z naczyń obwodowych jest reprezentatywna do oceny stężenia ksenobiotyku w chwili śmierci. Hilberg uważa także (11), że jakkolwiek krew obwodowa uważana jest za najbardziej stabilną to jednak w wielu przypadkach obserwuje się znaczące zmiany w stężeniach ksenobiotyków po śmierci. Twierdzi on za Garriotfem (6), że niektóre tkanki, takie jak np. mięśnie szkieletowe są bardzo stabilne jeżeli chodzi o stężenie ksenobiotyków i mogą być z powodzeniem stosowane do oznaczeń ksenobiotyków do celów orzecznich. Langford (18) podkreśla, że stężenie leków w mięśniach może być wielokrotnie wyższe niż we krwi obwodowej, co może być korzystne dla celów ekspertyzy.

Pewną wartość z punktu widzenia redystrybucji ksenobiotyków jest wyznaczenie ilorazu stężeń ksenobiotyków we krwi z serca i obwodowej, jako wskaźnika tego procesu w danym przypadku. Wiele prac, w których publikuje się wartości stężeń w materiale pośmiertnym zawiera takie dane. W tabeli III zamieszczono obliczone stosunki stężeń krew z serca/ krew udowa (krew z obojczyka), obejmując tą oceną także sumarycznie metabolity. Z informacji tam zawartych wynika, że współczynnik ten w przypadku lewomepromazyny przyjmuje większe wartości dla prekursora niż dla metabolitów, w przypadku werapamilu jest odwrotnie. Z danych tych może wynikać, że werapamil, a zwłaszcza metabolity, bardziej kumulują się we krwi z serca niż w innych miejscach ciała.

Inny problem poruszony w pracy Hilberga (11) dotyczy techniki pobierania próbek krwi np. przez ucisk lub przy pomocy strzykawki. Postuluje on standaryzację tego postępowania, aby mogło być ono użyteczne do celów orzecznich.

Moriya (21) na podstawie swoich badań rekomenduje do oznaczeń krew pochodzącą z prawej komory serca jak również krew udową twierdząc, że są one równie przydatne do celów orzecznich we wczesnym okresie po śmierci. Autor tej pracy zwraca uwagę także na mechaniczny czynnik związany z przemieszczeniami ciała po śmierci, który może wpływać na przesunięcia ksenobiotyków tkankach.

Inni badacze zwracają uwagę na zabiegi mające miejsce przed śmiercią związane z resuscytacją (11, 19), wymuszające określony przepływ krwi w naczyniach krwionośnych. Te procesy nie mogą nie pozostawić śladów w późniejszym rozmieszczeniu leków i ich metabolitów w organizmie. W przypadkach, w których przeprowadzane były takie zabiegi istnieje teoretycznie mniejsza możliwość fluktuacji pośmiertnej ksenobiotyków.

Model empiryczny wskazuje, że najlepiej chronionymi tkankami barierą dyfuzji może być krew z naczyń obwodowych, ciało szkliste oka oraz maź stawowa (14,28). Specjalnego komentarza zatem wymagają jeszcze wyniki otrzymane w płynie z gałki oka. W naszych badaniach, stężenie prekursorów badanych

leków, zarówno werapamilu i lewomepromazyny jak i ich metabolitów przedstawiało dwukrotnie wyższe wartości w drugim pobraniu (z drugiego oka) w porównaniu z pierwszym, w badanym interwale czasowym. Tak duże różnice w płynie z gałki oka w podobnym interwale czasowym otrzymali inni badacze (8) dla kokainy.

Ta wyjątkowa zbieżność wyników może wskazywać na to, że gałka oka nie jest doskonale izolowanym układem z punktu widzenia redystrybucji pośmiertnej ksenobiotyków, jak wcześniej przypuszczano. W konsekwencji więc wydaje się, że ciało szkliste oka nie musi być dużo lepszym materiałem niż np. krew. Jednakże problem ten wymaga zbadania na większej liczbie przypadków. Wydaje się także prawdopodobne, że stopień uwodnienia płynu w gałce oka może być zróżnicowany i może wpływać na wyniki oznaczeń. Nie ma także pewności, że różnice w stężeniach ujawnione w płynie pobranym z obu gałek oka istniały przed śmiercią.

W podsumowaniu tematu może warto wrócić na chwilę do podstaw opiniowania i podstaw orzecznictwa sądowo-lekarskiego (13). Toksykologia sądowa jako integralna część medycyny sądowej z założenia zajmuje się poszukiwaniem pewnych schematów, prawidłowości, typowości w zjawiskach i obserwacjach. Nasze badania miały na celu także i to. Dotychczasowe próby uchwycenia zjawiska redystrybucji leków pozwoliły wprawdzie na wyciągnięcie pewnych wniosków, wskazując równocześnie na wiele interesujących kwestii służących praktycznemu wykorzystaniu, ale pokazały jak bardzo jest to złożone zjawisko. Na podstawie badań własnych i opracowywanych przez innych autorów wynika, że próba uchwycenia zjawiska redystrybucji w prostych schematach, nie jest możliwa. Zbyt wiele bowiem czynników, decydujących o tym zjawisku nakłada się na siebie. O ile można opanować metodycznie sferę procedury pobierania materiału do badań (czas, sposób, miejsce pobrania, rodzaj tkanki), to nie można określić elementów wiążących się bezpośrednio z cechami badanego obiektu (przypadku).

Wydaje się więc realne i to, że badania eksperymentalne związane z redystrybucją mogą dostarczyć wielu konstruktywnych wniosków, mieszczą się one jednak w innych kategoriach.

## PIŚMIENNICTWO

1. Baselt R.C, Cravey R.H., editors: Disposition of toxic drugs and chemicals in man, 4<sup>th</sup> ed. California: Chemical Toxicology Institute, 1995. -2. Coe J. L: Postmortem chemistry update: Emphasis on forensic application. Am. J. Forensic Pathol, 1993, 14, 91-117. -3. Dalpe-Scott M., Degouffe M., Garbutt D., Drost M.: A comparison of drugs concentrations in postmortem cardiac and peripheral blood in 320 cases. Can Soc. Forensic Sci J, 1995, 28 (20), 113-21. -4. Druid H., Holmgren P.: A compilation of fatal and control concentrations of drugs in postmortem femoral blood, J. Forensic Sci., 1997, 42, 79- 87. -5. Eichelbaum M., Ende M., Remberg G., Schomerus M. and Dengler H.J.: The metabolism of DL-(<sup>14</sup>C) Verapamil in man, Drug Metabolism and Disposition, 7,

1979, 145-148. -6. Garriott J.C.: Skeletal muscle as an alternative specimen for alcohol and drug analysis. J. Forensic Sci. 1999, 36, 60-9. -7. Hals P.A., Dahl S.G.: Metabolism of levomepromazine in man, Eur J. Drug Metab Pharmacokin 1995, 20/1, 60-71.-8. (11) Hearn W.L., Keran E.E., Wei H., Hime G.: Site - dependent postmortem changes in blood cocaine concentrations, J Forensic. Sci. 36, 1991, 673- 684. -9. Hilberg T., Bugge A., Beylich K.M., Ingum J., Bjorneboe A., Morland J.: An animal model of postmortem amitriptyline redistribution. J. Forensic Sci. 1993, 38(1), 81-90. -10. Hilberg T., Morland J., Bjorneboe A.: Postmortem release of amitriptyline from the lungs; mechanism of postmortem drug redistribution. Forensic Sci Int. 1994, 64(1), 47-55.

11. Hilberg T., Rodge S., Morland J.: Postmortem drug redistribution-human cases related to results in experimental animals. J. Forensic Sci. 1999, 44 (1), 3-9. -12. Hofer C.A., Smith J.K., Tenholder M.F.: Verapamil intoxication: A literature review of overdoses and discussion on therapeutic options, Am. J. Med. 95, 1993, 431-438. -13. Jaegermann K.: Opiniowanie sądowo - lekarskie (Eseje o teorii), Wydawnictwo Prawnicze, Warszawa, 1991. -14. Jones G.R. and Pounder D.J.: Site dependence of drug concentrations in postmortem blood - a case study. J.Anal. Toxicol.11, 1987, 186-190. -15. Kłys M, Bujak-Giżycka B., Woźniak K., and Bystrowska B. Postmortem distribution and redistribution of verapamil and its metabolites in fatal poisoning by LC/MS, J. Forensic Sci. (w druku). -16. Kłys M., Bujak-Giżycka B., Klementowicz W., Kunz J. Distribution and redistribution of levomepromazine and metabolites in fatal poisoning by LC/MS, Can. Soc. Forensic Sci. (w druku). -17. Kłys M, Bujak-Giżycka B.: Application of liquid chromatography with mass detection (LC/MS) in the evaluation of drug metabolism in fatal poisoning, Acta Poloniae Toxicologica, 2000, 8/2, 187- 203. -18. Langford A.M., Pounder D.J.: Possible markers for postmortem drug redistribution. J Forensic Sci. 1997, 42(1), 88-92. -19. Mayer J.M., Kofoed J. and Robinson D.W.: Postmortem changes in drug concentrations in blood. Proceeding of the 24<sup>th</sup> International Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists, published by Alberta Society of Clinical and Forensic Toxicologists, Edmonton, Alberta, Canada, 1988, 40-47. -20. Moffat A.C., Jackson J.V., Moss M.S., Woddop B., editors.: Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and postmortem materials. 2<sup>nd</sup> ed. London: Pharmaceutical Press, 1986.

21.Moriya F. et al.: Redistribution of basic drugs into cardiac blood from surrounding tissues during early-stages postmortem. J. Forensic Sci.,1999, 44(1), 10-6. -22. O'Neill J., Fountain A.: Levomepromazine (methotrimeprazine) and the last 48 hours, Hosp Med 1999, 60/8, 564-7. -23. Pounder D.J.: Postmortem drug redistribution - a toxicological nightmare, Forensic Sci. Int. 1990, 35/5, 1572-9. -24. Prouty R.W., Anderson W.H.: The forensic science implication of site and temporal influences on postmortem blood - drug concentrations. J. Forensic Sci. 1990, 35, 243-70. -25. Ouatrehomme G., Bourret F., Liao Z. and Ollier A.: An experimental methodology for the study of postmortem changes in toxic concentrations of drugs, using secobarbital as an example, J. Forensic Sci. 39, 1994, 1300-1304. -26. Robertson M.D., Drummer O.H.: Postmortem drug metabolism by bacteria. J. Forensic Sci. 1995, 40, 282 -

6. -27. Robertson M.D., Drummer O.H.: Postmortem distribution and redistribution of nitrobenzodiazepines in man. J. Forensic Sci. 1998, 43 (1), 9-13. - 28. Stead A.H. and Moffat A.C.: A collection of therapeutic, toxic and fatal blood drug concentrations in man. Human Toxicol. 1983; 3, 437-64. -29. Uges D.R.A.: Therapeutic and toxic drug concentrations, The Bulletin of the International Association of Forensic Toxicologists, 26/1,1996. Supplement. -30. Winek C L Wetwood S.E. and Wahba W.W.: Plasma versus bone marrow desimipramine: A comparative study, For. Sci. Int. 48, 1990, 49-57.

Adres autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej CM UJ  
30-531 Kraków  
ul. Grzegórzecka 16

**Małgorzata Kłys\*, Zbigniew Jankowski\*\*, Beata Bystrowska\*,  
Beata Bujak-Giżycka\*, Gabriel Nowak\*\*\***

## **Znaczenie interakcji toksycznej w orzecznictwie sajdowo-lekarskim. Złożone zatrucie śmiertelne pochodnymi amfetaminy i kokainą („UFO”?)**

**A significance of toxic interaction in medicolegal evidence.  
Complex fatal poisoning with amphetamine derivatives and  
cocaine (“Ufo”?)**

- \* Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie  
Kierownik: dr hab. F. Trela - profesor UJ
- \*\* Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Gdańsku  
Kierownik: dr hab. Z. Szczerkowska - profesor AM
- \*\*\* Z Samodzielnej Pracowni Radioligandów CM UJ  
Kierownik: dr hab. M. Stępniewski

Przedmiotem badań niniejszej pracy był przypadek złożonego zatrucia śmiertelnego narkotykami młodego mężczyzny. W wyniku przeprowadzonych badań pośmiertnych przyjęto hipotezę zgonu o charakterze kardiotoxycznym, w następstwie interakcji toksycznej pomiędzy pochodnymi amfetaminy i kokainy, ksenobiotykami ujawnionymi w toku ekspertyzy toksykologicznej. Wyniki badań pozwalały na przypuszczenie, że zgon ten mógł być następstwem zażycia preparatu znanego na narkotykowym rynku pod nazwą "UFO". W dyskusji podjęto próbę interpretacji uzyskanych wyników w odniesieniu do interakcji toksycznej przebiegającej w fazie toksykokinetycznej i toksykodynamicznej.

The subject of the study was a fatal complex narcotic poisoning of a young man. Postmortem investigation revealed cardiotoxic death as the result of interaction between amphetamine derivatives and cocaine - xenobiotics detected during toxicological expertysis. The results suggested that the death could be have been caused by administration of narcotics known on the narcotic market as a complex mixture „UFO”. Discussion in the paper concerns the results obtained in the light of problems of toxicokinetic and toxicodynamic phases of interaction.

Słowa kluczowe: interakcje, pochodne amfetaminy, kokaina, „UFO”