

Sebastian Rojek, Małgorzata Kłys, Tomasz Konopka

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

Część I. Analiza segmentowa włosów w przypadkach śmiertelnych zatruc opioidami i amfetaminami

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

Part I. Segmental hair analysis in cases of fatal opioids and amphetamines poisoning

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

Inspiracją do podjęcia badań eksperymentalnych w temacie niniejszej pracy stała się konieczność standaryzacji procedur i metod analitycznych stosowanych w analizie włosów, w aspekcie retrospektywnej oceny zażywania rozmaitych ksenobiotyków. Głównym celem pracy było opracowanie autorskich procedur chemiczno-toksykologicznych analizy substancji psychoaktywnych we włosach w dwóch podstawowych grupach środków uzależniających: opioidów (morfiny, 6-monoacetylmorfiny, kodeiny) i amfetamin (amfetaminy, metamfetaminy, MDA, MDMA, MDEA) oraz ich weryfikacja w toksykologicznej praktyce medyczo-sądowej, obejmującej opiniowanie w grupie przypadków zmarłych wskutek zatrucia substancjami psychoaktywnymi w aspekcie przyczyny śmierci. Do oznaczania opioidów i amfetamin w tle matrycy biologicznej włosów zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczą sprężoną z tandemową spektrometrią mas z jonizacją chemiczną pod ciśnieniem atmosferycznym (HPLC-APCI-MS-MS). W grupie zatruc śmiertelnych „polską heroiną” analiza segmentowa włosów przypadków zatruc potwierdziła przede wszystkim profil uzależnień typu opiatowego bądź mieszanego opiatowo-amfetaminowego, charakteryzującego polską narkomanię, wskazując na obecność tych ksenobiotyków w badanych segmentach włosów w okresie poprzedzającym zgon.

The present experimental investigations were inspired by the necessity of standardizing the procedures and analytical methods employed in hair analysis aiming at a retrospective evaluation of ingestion of various xenobiotics. Thus, in keeping with the principal premises, the main objective of the study was development of unique, novel chemico-toxicological procedures for analyzing hair content of psychoactive substances in two basic groups of substances of abuse: opioids (morphine, 6-monoacetylmorphine, codeine) and amphetamines (amphetamine, methamphetamine, MDA, MDMA, MDEA) by HPLC-APCI-MS-MS, followed by verification of the thus worked out procedures in medico-legal practice through opinionating in selected group of patients deceased due to fatal psychoactive substance poisoning (cause of death determination). Determinations of opioids 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). In the group of fatal poisonings by „Polish heroine”, hair segmental analysis confirmed the abuse profile of the opiate or mixed (opiate-amphetamine) type, which to some measure is characteristic of Polish drug addiction, indicating the presence of these xenobiotics in the investigating hair samples in the premortem period.

Słowa kluczowe: segmentowa analiza włosów, substancje psychoaktywne, HPLC-APCI-MS-MS, opiniowanie sądowo-lekarskie
Key words: segmental hair analysis, psychoactive substances, HPLC-APCI-MS-MS, medico-legal opinion

WSTĘP

Obserwacja kierunków rozwoju toksykologii wskazuje na zainteresowanie obok materiału biologicznego klasycznego, materiałami alternatywnymi, spośród których największy potencjał możliwości wykorzystania w wielu analizach medyczno-sądowych mają włosy. Dzięki swoim unikalnym właściwościom fizykochemicznym przedstawiają niekwestionowaną wartość, jako źródło informacji w badaniach toksykologicznych, kryminalistycznych i wielu innych. Obecnie uważa się, że większość ksenobiotyków, w tym narkotyków i leków wprowadzonych różnymi drogami do organizmu, wbudowuje się do włosów. Segmentowa (sekwencjonowana) analiza włosów umożliwia retrospektywną ocenę stosowania substancji psychoaktywnych (w celach medycznych), jak i używania ich (w celach nie medycznych) i może mieć znaczenie z różnych punktów widzenia [1, 2].

Analiza włosów w swym podstawowym znaczeniu dla badań pośmiertnych ma na celu poszerzenie pola możliwości opiniowania w aspekcie przyczyny śmierci. Na tej podstawie chodzi przede wszystkim o ujawnienie profilu uzależnienia osoby zmarłej w okresie przyżyciowym, co pozwala uzupełnić analizę toksykologiczną skierowaną na patomechanizm zatruc śmiertelnych. Analiza włosów zatem zapewnia unikalną możliwość spojrzenia wstecz na historię nadużywania substancji psychoaktywnych i stanowi uzupełnienie obrazu toksykologicznego przypadku, jaki dostarcza analiza krwi [3, 4].

Przedmiotem badań w tej części pracy było 11 przypadków zejść śmiertelnych osób uzależnionych od środków psychoaktywnych w wyniku ich zażywania. We wszystkich przypadkach ustalono profil uzależnienia w okresie przyżyciowym, który w różnym stopniu został wykorzystany do opinii sądowo-lekarskiej. Badania te zostały poprzedzone opracowaniem procedur chemiczno-toksykologicznych analizy substancji psychoaktywnych we włosach w podstawowych grupach środków uzależniających, w tym opioidów i amfetamin [5, 6].

MATERIAŁ I METODY

Materiał biologiczny

- włosy pobrane w czasie sekcji zwłok 11 osób (11 próbek),
- włosy kontrolne do opracowania i walidacji metod analitycznych pobrane od 7 wolontariuszy – nie przyjmujących substancji uzależniających.

Wzorce substancji psychoaktywnych i odczynniki chemiczne

- wzorce substancji psychoaktywnych oraz wzorców wewnętrznych (IS): morfina, kodeina, 6-monoacetylmorfina, amfetamina, metamfetamina, MDA, MDMA, MDEA, morfina-d₃, kodeina-d₃, 6-MAM-d₃, amfetamina-d₃, metamfetamina-d₅, MDA-d₅, MDMA-d₅, MDEA-d₆;
- 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 został ścięty tuż przy skórze głowy. Poczynając od części potylicznej wiązano je białą, grubą nicią w zależności od grubości badanego kosmyka włosów, długości 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 probówki o objętości 50 ml zawierającej segment włosów 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 częstotliwości 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-d₃, kodeiny-d₃, 6-MAM-d₃, amfetaminy-d₃, metamfetaminy-d₅, MDA-d₅, MDMA-d₅, MDEA-d₆ 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 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 nastrzyku 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 oprogramowaniem Xcalibur. Spektrometr mas pracował w opcji tandemowej (MS-MS) w trybie

jonów dodatnich, monitorując wybrane reakcje (SRM, selected reaction monitoring). Zbieranie jonów potomnych odbywało się w opcji skanowania pełnego widma MS-MS.

WYNIKI

W tabeli I zamieszczono opracowane dane dla 7 przypadków zgonów będących następstwem przedawkowania „polskiej heroiny” przyjętej w mieszaninie z amfetaminą lub lekami, z wyjątkiem przypadku 6, w którym zgon nastąpił wskutek powikłań związanych z długoczasowym zażywaniem środków uzależniających omawianych w tej grupie. Analiza toksykologiczna krwi w sposób rozstrzygający tłumaczyła przyczynę śmierci, pozostając w zgodności z wynikami pośmiertnych badań makro- i mikroskopowych.

DYSKUSJA

Przeprowadzona analiza segmentowa włosów przypadków zatruc „polską heroiną” potwierdziła przede wszystkim profil uzależnień typu opiatowego bądź mieszanego opiatowo-amfetaminowego, charakteryzującego w pewnym stopniu polską narkomanię [7-12], wskazując na obecność tych ksenobiotyków w badanych segmentach włosów w okresie poprzedzającym zgon.

Oznaczone stężenia opioidów we włosach, w większości przypadków, są zgodne z danymi prezentowanymi w piśmiennictwie. U osób uzależnionych od morfiny, jej stężenie wahało się w zakresie 0,1-10,9 ng/mg [13] natomiast u pacjentów leczonych morfiną, wartości te mieściły się w mniejszym zakresie stężeń 1,5-1,8 ng/mg [14]. Stężenie amfetaminy we włosach badanych przez innych autorów i prezentowane w niniejszej pracy wahały się w granicach 0,96-12,71 ng/mg [15], z wyjątkiem znacznie większych wartości w przypadku 4.

Spośród 7 przypadków zamieszczonych w tabeli I w czterech przypadkach (1, 3, 4 i 7) analiza włosów potwierdziła profil uzależnienia przed śmiercią ofiar, tłumacząc tym samym zgon, jako konsekwencję owego uzależnienia.

Wiele osób uzależnionych nadużywa w długich ciągach czasowych wysokich dawek opiatów, w tym w mieszaninie z amfetaminą i lekami. Dokumentacja takiego uzależnienia przy pomocy analizy włosów pozwala dostrzec ten problem w kategoriach kompleksowych, wskazując na jego związek najprawdopodob-

Tabela I. Wyniki kompleksowych badań toksykologicznych osób zatrutych śmiertelnie „polską heroiną”.
Table I. Results of comprehensive investigations of fatal poisonings with “Polish heroin”.

Informacje o przypadkach Information about cases		Sn(X)	Stężenie we włosach Concentration in Hair (ng/mg)	
HISTORIA PRZYPADKÓW Case histories	KREW blood (ng/ml)		OPIOIDY Opioides	AMFETAMINY Amphetamines
Przypadek 1 – M. P. Kobieta lat 22. Znaleziona w kompleksie leśnym. Sekcyjnie ślad po wkluciu na przednio-przyśrodkowej powierzchni uda lewego oraz drobne blizny na kończynie górnej lewej. Na ciele denatki nie stwierdzono zmian urazowych ani chorobowych. Przyczyna śmierci – zatrucie śmiertelne opiatami.	M-120	S ₁ (2)	6-MAM-0,20; M-1,54; K-0,20	–
	K-10	S ₂ (2)	6-MAM-0,20; M-2,53; K-0,32	–
	D-130	S ₃ (2)	M-1,66; K-0,22	–
	ND-50	S ₄ (2)	M-1,53; K-0,29	–
	T-25	S ₅ (2)	M-1,50; K-0,20	–
		S ₆ (2)	M-1,31	–
		S ₇ (2)	M-1,62; K-0,2	–
		S ₈ (2)	M-1,65; K-0,2	–
		S ₉ (2)	M-0,97	–
		S ₁₀ (2)	M-0,96	–
		S ₁₁ (2)	M-1,14	–
		S ₁₂ (2)	M-1,12	–
		S ₁₃ (2)	M-1,24	–
		S ₁₄ (2)	M-1,28	–
		S ₁₅ (2)	M-1,14	–
		S ₁₆ (2)	M-1,30	–
Przypadek 2 – P. K. Mężczyzna lat 29. Zgon nagły w Klinice Chorób Zakaźnych CM UJ gdzie przebywał z powodu AIDS. Przedawkowanie narkotyków prawdopodobnie dostarczonych do Kliniki. Sekcyjnie brak zmian urazowych i chorobowych. Przyczyna śmierci – zatrucie kompleksowe opiatami i amfetaminą.	M-20	S ₁ (2)	–	A-1,39
	A-740	S ₂ (2)	–	A-1,64
	D-40			
	ND-20			
	Ox-50			
Przypadek 3 – P. B. Mężczyzna lat 25. Nosiciel wirusa HIV. Zgon nagły. Sekcyjnie widoczne liczne ślady po wkluciu, w głębi podbiegnięte krwią, brak zmian urazowych i chorobowych. Przyczyna śmierci – zatrucie kompleksowe opiatów w mieszaninie z benzodiazepinami.	M-20	S ₁ (1,3)	M-0,68; K-0,20	A-1,86
	K-23	S ₂ (1,3)	M-0,50; K-0,21	A-1,87
	D-850	S ₃ (1,3)	M-0,47; K-0,21	A-2,65
	ND-100			
	T-50 Ox-125			
Przypadek 4 – P. P. Mężczyzna lat 21. Przy zwłokach ujawniono puste opakowania po strzykawkach i lekach. Wyszedł z leczenia odwykowego. Sekcyjnie obecne punkcikowate blizny po starych iniekcjach dożylnych, brak zmian urazowych i chorobowych. Przyczyna śmierci – zatrucie mieszaniną opiatów i barbituranów.	M-51	S ₁ (1,5)	M-1,80; K-0,21	A-27,76
	K-39	S ₂ (1,5)	M-1,07	A-18,49
	CB-6000	S ₃ (1,5)	M-0,59	A-17,73
		S ₄ (1,5)	M-0,60	A-15,87
Przypadek 5 – N. D. Mężczyzna lat 30. Wcześniej uzależniony od opiatów, próbował wyjść z uzależnienia. Przy zwłokach ujawniono puste opakowania po strzykawkach. Sekcyjnie na grzbiecie przedramienia lewego i na grzbietach obu rąk punkcikowate ślady po iniekcjach dożylnych, brak zmian urazowych i chorobowych. Przyczyna śmierci – zatrucie mieszaniną opiatów z benzodiazepinami.	M-44	S ₁ (1)	K-2,64	–
	K-43			
	D-125			
	ND-45			
	T-12 Ox-45			
Przypadek 6 – D. B. Mężczyzna lat 26. Kilka miesięcy przed śmiercią rozpoczął program terapii metadonem. Hospitalizowany w Klinice Toksykologii CM UJ. Nosiciel HIV, HBV i HCV. Zgon w trzeciej dobie. Przyczyna śmierci – zgon późny na skutek powikłań związanych ze zmianami w narządach wewnętrznych (płuca, serce)	Mtd-17	S ₁ (2)	M-0,23; Mtd-0,44	A-2,31
	EDDP-11	S ₂ (2)	M-0,21	A-1,22
Przypadek 7 – P. P. Zwłoki 23-letniego mężczyzny znaleziono w toalecie miejskiej. Brak zmian o charakterze urazowym i chorobowym. Przyczyna śmierci – zatrucie kompleksowe mieszaniną opiatów i amfetaminy.	M-54	S ₁ (2)	6-MAM-0,21; M-1,75; K-0,52	A-2,23
	K-74	S ₂ (2)	6-MAM-0,22; M-1,66; K-0,48	A-1,32
	A-1240	S ₃ (2)	6-MAM-0,20; M-1,55; K-0,44	A-2,23
		S ₄ (2)	M-1,98; K-0,44	A-1,75
		S ₅ (2)	M-2,00	A-3,66

S_i(X) – numer kolejnego segmentu włosów począwszy od potylicy długość (cm), M – morfina, 6-MAM – 6-monoacetylmorfina, K – kodeina, A – amfetamina, D – diazepam, ND – nordiazepam, T – temazepam, Ox – oksazepam

niej z wytworzoną formą tolerancji, zależną od adaptacji farmakodynamicznych.

W niektórych przypadkach, analiza segmentowa włosów może prowadzić do wyjaśnienia przyczyny przypadkowego zgonu w świetle bardziej skomplikowanych zależności, niż prosta konsekwencja trwającego długo przed śmiercią ujawnionego w toku procedury pośmiertnej uzależnienia.

Dobłą ilustracją tego problemu jest przypadek 2 (tabela I) 29-letniego mężczyzny, który kilka dni przed śmiercią hospitalizowany był w Klinice Chorób Zakaźnych UJ CM z powodu rozpoznanego pełno objawowego AIDS. Przeprowadzone kompleksowe badania toksykologiczne wykazały wolną morfina i amfetaminę w stężeniach odpowiednio 20 ng/ml i 740 ng/ml we krwi oraz 330 ng/ml i 3110 ng/ml w moczu. W moczu oznaczono dodatkowo 6-MAM w stężeniu 170 ng/ml wskazując na wstrzyknięcie „kompotu” świeżo po acetylacji. Poziomy oznaczonych narkotyków we krwi zawierały się dla morfiny w zakresach stężeń terapeutycznych oraz dla amfetaminy w zakresach stężeń toksycznych [16]. Rozkład stężenia ksenobiotyków przemawiał za zgonem w późnej fazie eliminacji. Wykonana analiza dwóch 2-cm segmentów włosów wykazała jedynie obecność amfetaminy, a wobec braku opiatów w segmentach odpowiadających okresowi poprzedzającemu zgon tłumaczyła wystąpienie spadku tolerancji na opiaty. Przeprowadzone dochodzenie wykazało, iż amfetamina była dostarczana zmarłemu do Kliniki, najprawdopodobniej przez znajomą osobę, która w wieczór poprzedzający zgon, dostarczyła również opiaty.

Interesujący z punktu widzenia podobnej interpretacji wyników jest przypadek 5 (tabela I). Mężczyzna ów próbując zerwać z nałogiem zażywania „polskiej heroiny” przestawił się na zażywanie kodeiny, na co wskazała analiza włosów obejmująca jeden miesiąc zażywania tego specyfiku w okresie przyżyciowym. Powrót do nałogu przez przyjęcie dawki „kompotu” w mieszaninie z benzodiazepinami skutkowało nagłym zgonem, będącym prawdopodobnie konsekwencją spadku tolerancji na opiaty.

W innym świetle natomiast można wyjaśnić zgon 26-letniego mężczyzny – przypadek 6 (tabela I). Jakkolwiek negatywna analiza w kierunku środków uzależniających we krwi pośmiertnej i dowodząca podjętej próby leczenia uzależnienia w programie metadonowym obecność metadonu i jego metabolitu nie mogą tłumaczyć zgonu, to uzależnienie w okresie przed śmiercią, udokumentowane analizą włosów, zapewne mo-

gło tłumaczyć zgon spowodowany powikłaniami, wynikającymi z zażywania opiatów z amfetaminą przez dłuższy czas przed śmiercią.

Oznaczone niskie stężenia morfiny w przypadkach śmiertelnych zatruc heroiną są często przypuszczalnie wynikiem okresów wolnych od przyjmowania opioidów poprzedzających przyjętą, finalną dawkę narkotyków. W abstinencji, wskaźnikiem tolerancji opioidowej jest informacja na temat wcześniejszego używania narkotyku, pochodząca z historii chorobowej czy wywiadu środowiskowego. Z wielu jednak przyczyn takie informacje nie dają często prawdziwego obrazu uzależnienia. Rozstrzygającym rozwiązaniem w przypadku opioidów może być analiza włosów. Takie podejście wykazywania abstynencji przed śmiercią, w grupach śmiertelnych ofiar zatruc zaprezentował Kronstrandt i wsp. [17]. Tagliaro i wsp. [18], którzy w późniejszych badaniach pokazali, iż poziomy morfiny we włosach ofiar zatruc śmiertelnych heroiną były niższe niż u aktywnych, uzależnionych heroinistów. Podobne wyniki prezentowane przez Darke i wsp. [13] podtrzymują hipotezę, że śmierć heroinowa może być tłumaczona redukcją tolerancji na opiaty. Przeprowadzone przez Kronstrandta kompleksowe badania toksykologiczne w Instytucie Medycyny Sądowej w Sztokholmie, w latach 2003-2004, obejmujące analizę próbek krwi i włosów pobranych w czasie sekcji zwłok 28 zmarłych na skutek przedawkowania heroiny wykazały, że w 18 przypadkach nie oznaczono opioidów w pierwszym segmencie odpowiadającym okresowi 10-15 dni poprzedzającemu zgon (przy założonym współczynniku wzrostu włosa na poziomie 0,44 mm/dzień). Sytuacja taka tłumaczyła spadek tolerancji na opioidy. Jednocześnie oznaczone średnie stężenia wolnej morfiny wynosiły odpowiednio w tej grupie 380 ng/ml i 160 ng/ml i były analogiczne jak dla grupy kontynuującej przyjmowanie opioidów przed zgonem (370 ng/ml i 150 ng/ml). Wyniki te jednak nie powinny wykluczać hipotezy o stopniu czasowej abstynencji jako faktorze ryzyka zgonu. Wykazany brak różnic w stężeniach morfiny w obu grupach być może należałoby tłumaczyć obecnością większej liczby leków współobecnych z opioidami we krwi i włosach zapewniających możliwość wystąpienia interakcji farmakodynamicznych [20].

PIŚMIENNICTWO

1. Kintz P: Value of hair analysis in postmortem toxicology. *Forensic Sci Int* 2004, 142, 127-134.

2. Kintz P., Tracqui A., Mangin P.: Detection of drugs in human hair for clinical and forensic applications. *Int J Legal Med* 1992, 105, 1-4.
3. Gaillard Y., Pepin G.: Testing hair for pharmaceuticals. *J Chromatogr B* 1999, 733, 231-246.
4. Kłys M., Rojek S., Ścisłowski M., Bolechała F.: Znaczenie analizy włosów w ocenie kompleksowych zatruc śmiertelnych lekami dla celów orzecznictwa sądowo-lekarskiego. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2004, 54/2, 125-138.
5. 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.
6. 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.
7. Kłys M.: Problemy orzecznicze i metodyczne w zatruciach śmiertelnych opiatami. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 1996, 46, 177-186.
8. 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.
9. Kłys M., Klementowicz W., Trela F.: Wybrane problemy orzecznictwa medyczno-prawnego w zatruciach substancjami uzależniającymi. *Przegl. Lek.* 1997, 54, 404-409.
10. 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.
11. Kłys M., Rojek S., Kulikowska J., Brożek E.: Usefulness of multi-parameter opiate analysis in hair of drug users and victims of fatal poisonings. *Przegl. Lek.* 2005, 62, 585-590.
12. Kłys M., Rojek S., Kulikowska J., Bożek E., Ścisłowski M.: Usefulness of multi-parameter opiates-amphetamines-cocainics analysis in hair of drug users for the evaluation of an abuse profile by means of LC-APCI-MS-MS. *J. Chrom. B.* 2007, 854, 299-307.
13. Offidani C., Carnevale A., Chiarotti M.: Drugs in hair: a new extraction procedures. *Forensic Sci. Int.* 1989, 41, 35-39.
14. Püschel K., Thomasch P., Arnold W.: Opiate levels in hair. *Forensic Sci. Int.* 1983, 21, 181-186.
15. Kintz P., Mangin P.: Opiate concentration in human head, axillary, and pubic hair. *J. Forensic Sci.* 1993, 38, 657-662.
16. Baselt R. C.: Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 5th ed. Chemical Toxicology Institute, Foster City 2000. Str. 49-51, 589-592, 205-210.
17. Kronstrad R., Grundin R., Jonsson J.: Incidence of opiates, amphetamines, and cocaine in hair and blood in fatal cases of heroin overdose. *Forensic Sci. Int.* 1998, 92, 29-38.
18. Tagliaro F., Marigo M., Dorizzi R., Rigolin F.: Detection of morphine in the hair of opiate addicts with the Abbott TDx: a note of caution. *Clin. Chem.* 1988, 34, 1365-1366.
19. Darke S., Hall W., Kaye S., Ross J., Duflo J.: Hair morphine concentrations of fatal heroin overdose cases and living heroin users. *Addiction.* 2002, 97, 977-984.
20. Kronstrad R., Druid H.: Hair in postmortem toxicology. W "Analytical and practical aspects of drug testing in hair" P. Kintz (Ed.). CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA 2007. Str. 223-240.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Sebastian Rojek

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej UJ CM

ul. Grzegórzecka 16, 31-531 Kraków

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