

**Małgorzata Albert, Joanna Kulikowska, Artur Soja,
Halina Sybirska**

Badania chemiczno–toksykologiczne materiału ze zwłok w przypadku nagłego zgonu osoby uzależ- nionej od leków

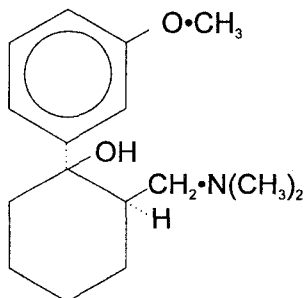
Chemico–toxicological examinations of autopsy material in ca- se of a sudden death of drug addict

Z Katedry Medycyny Sądowej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
p.o. Kierownik Katedry: prof. dr hab. H.Sybirska

W pracy przedstawiono wyniki badań chemiczno–toksykologicznych materiału biologicznego pobranego ze zwłok mężczyzny, który został znaleziony w dyżurce szpitalnej, gdzie pełnił dyżur. Zmarły jak wykazało dochodzenie i wskazywały oględziny zwłok był lekomanem. Przeprowadzona analiza dowiodła, że w momencie zgonu znajdował się pod wpływem tramalalu, diazepamu i cyklobarbitalu.

Results of the chemico–toxicological examinations of autopsy material taken from the man found on his turn of duty has been presented in this paper. As it was confirmed by investigation and medicolegal examination, the man was a drug addict. The analysis we made showed that the man was under the influence of tramadol, diazepam and cyclobarbitale. Thin – layer chromatography (screening), UV spectrophotometry and the HPLC method with UV (scanning) and diode detections were used for autopsy material examinations. The FPIA method was used for systemic fluids.

Tramal jest silnym lekiem przeciwbólowym z grupy opioidów o działaniu agoni-
styczno–antagonistycznym w stosunku do receptora opioidowego.



Ryc. Tramadol (Tramal) 2-dimetylamino-
metyl-1-(3-metoksyfenyl)-cykloheksanol

Używany jest w terapii silnych i średnio silnych bólów ostrych i przewlekłych różnego pochodzenia. Stosunkowo słabe oddziaływanie depresyjne tego analgetyku na OUN nasila alkohol, a także inne leki o działaniu sedatywnym (nasenne, anksjolityki). (3, 4).

Zastosowanie lecznicze tramalu jest ograniczone ze względu na możliwość wystąpienia przy długotrwałej kuracji tolerancji, a także uzależnienia. Przyjmowanie tramalu w celach niemedycznych przez osoby uzależnione od leków pociąga za sobą konieczność zwiększania dawek leku, względnie zażywanie innych środków o działaniu psychotropowym. Takie praktyki przynoszą wysokie ryzyko wystąpienia silnego efektu toksycznego jako wyraz interakcji przyjętych substancji.

Przedstawiony poniżej przypadek zgonu jest sygnałem realności pojawiającego się zagrożenia. Dotyczył on 40-letniego mężczyzny J.K. – lekarza anestezjologa, którego zwłoki ujawniono w dyżurce lekarskiej, gdzie poprzedniego dnia podjął dyżur. W pomieszczeniu znajdowały się leki – tramal, relanium, a także strzykawki i waciki. Ze wstępnych ustaleń wynikało, że J.K. nadużywał leków psychotropowych, kilkakrotnie próbował popełnić samobójstwo.

Oględziny zwłok wykazały, że na lewej ręce denata przyklejona była plastrzem igła z pustą strzykawką. W obu dółkach łokciowych i na przyśrodkowej powierzchni przedramienia prawego obserwowano liczne, stare i świeże ślady po iniekcjach dożylnych. W czasie badania sekcyjnego (badanie wykonano poza Zakładem Medycyny Sądowej) stwierdzono jedynie przekrwienie i obrzęk mózgu oraz płuc, a także stłuszczenie wątroby oraz zastój krwi w narządach wewnętrznych.

Do badań toksykologicznych nadesłano próbki krwi, moczu, płynu mózgowo-rdzeniowego, płynu z gałki ocznej oraz wycinki narządów wewnętrznych.

W próbkach krwi i moczu analizowanych metodami chromatografii gazowej i enzymatyczną (ADH) nie stwierdzono obecności alkoholu etylowego.

Przeprowadzony metodą immunofluorescencyjną w świetle spolaryzowanym (FPIA) wstępny test na zawartość środków odurzających wykazał we krwi, moczu, płynie z gałki ocznej i płynie mózgowo-rdzeniowym obecność substancji z grupy pochodnych 1,4-benzodwuzepiny, natomiast tylko w moczu, płynie z gałki ocznej i płynie mózgowo-rdzeniowym obecność pochodnych kwasu barbiturowego. Badanie na obecność narkotyków z grupy opium i amfetaminy dało wynik ujemny.

Rezultaty badań przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Rezultaty analizy screeningowej przeprowadzonej metodą FPIA

Table I. Results of the screening analysis by the FPIA method

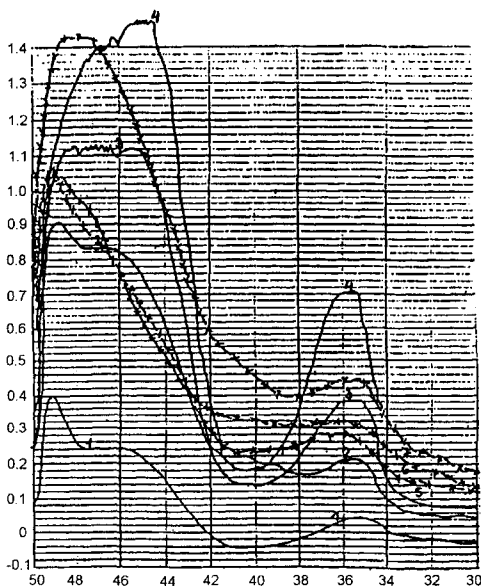
Materiał badany Material examined	Użyte testy test used	
	Barbiturany Barbiturates	Benzodwuzepiny Benzodiazepines
Krew Blood	badanie ujemne negative	0,57 mg%
Mocz Urine	0,08 mg%	1,23 mg%
Płyn z gałki ocznej Vitreous humor	0,03 mg%	0,06 mg%
Płyn mózgowo-rdzeniowy Cerebrospinal fluid	0,02 mg%	0,08 mg%

Badaniem chemiczno–toksykologicznym objęto 50 ml krwi, 50 g wątroby i 50 g nerki. Materiał poddano rutynowym zabiegom odbiałczania i ekstrakcji eterem ze środowiska kwaśnego, następnie chloroformem ze środowiska zasadowego. Podjęszone wyciągi organiczne badano metodą chromatografii cienkowarstwowej w systemie screeningowym. W ekstraktach kwaśnych i zasadowych stwierdzono obecność diazepam i jego metabolitów. W ekstraktach zasadowych ze wszystkich materiałów badanych obserwowano obecność substancji, którą w toku dalszych badań zidentyfikowano metodą chromatografii cienkowarstwowej jako tramal. W ekstrakcie kwaśnym z wątroby obserwowano ponadto obecność cyklobarbitalu.

Uzyskane wyniki dla ekstraktów eterowo–kwaśnych i chloroformowo–zasadowych przedstawiono w tabeli II.

Dodatkową identyfikację wykrytego tramalu przeprowadzono metodą spektrofotometrii w nadfiolecie wykorzystując do badań zdjęte z chromatogramu cienkowarstwowego za pomocą 0,1 n HCl strefy badanej substancji. Uzyskane dla ekstraktów biologicznych krzywe absorpcji wykazały pełną zgodność z przebiegiem krzywych absorpcji wzorcowego tramalu sporządzonych w tych samych warunkach doświadczalnych. λ max. absorpcji mieściło się w paśmie 272 nm, a λ min. absorpcji w paśmie 246 nm.

Zestawione krzywe przedstawiono na ryc. 1.



Ryc. 1. Krzywe absorpcji w nadfiolecie sporządzone w 0,1 N HCl dla roztworu wzorcowego tramalu i ekstraktów chloroformowo–zasadowych z wątroby, nerki i krwi.

Fig. 1. Absorption curves for tramal standard and chloroform alkaline extracts from liver, kidney and blood

1–4. r–r wzorcowy tramalu / tramal standard

5. wątroba / liver

6. nerka / kidney

7. krew / blood

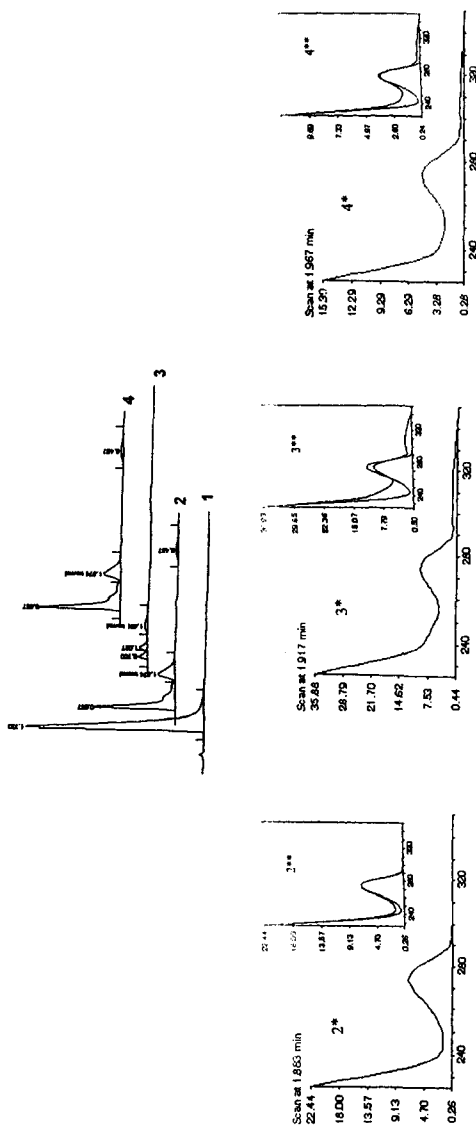
Tabela II. Wyniki badań screeninngowych metodą chromatografii cienkowarstwowej
 Table II. Results of screening examinations by the TLC method

Materiał badany Material examined	Układ rozwijający evolving system					
	chloroform : aceton (90:10) Chloroform : acetone (90:10) ekstrakty eterowo-kwaśne ether acid extracts	metanol : amoniak (99:1) ekstrakty chloroformowo-zasadowe	metanol : amoniak (99:1) ekstrakty chloroformowo-zasadowe			
azotan rtęciawy mercurous nitrate	od. Bratton-Marshall'a Bratton-Marshall reagent	odcz. Dragendorff'a Dragendorff reagent	odcz. Marquis'a Marquis reagent	odcz. Mandelina Mandelin reagent	jodoplatynian jodoplatinate	metanol : amoniak (99:1) chloroform alkaline extracts
barwa strefy i wartość współczynnika zone colour and coefficient value (Rf x 100)						
1* wątroba liver	szaro-czarna grey-black (60)	różowo-fioletowa lilac-pink (16,20)				
2* nerka kidney	reakcja ujemna negative	różowo-fioletowa lilac-pink (15)				
3* krew blood	reakcja ujemna negative	różowo-fioletowa lilac-pink (15)				
fanodorm phanodorm	szaro-czarna grey-black (60)					
4* wątroba liver		niebieska, blue (68) fioletowo-różowa lilac-pink (50,60)	pomarańczowa orange (67,68)	stalowo-niebieska steel-blue (67)	bordowo-brązowa crimson-brown (67)	granatowa navy blue (67,68)
5* nerka kidney		niebieska, blue (68) fioletowo-różowa lilac-pink (50,60)	pomarańczowa orange (67,68)	stalowo-niebieska steel-blue (67)	bordowo-brązowa crimson-brown (67)	granatowa navy blue (67,68)
6* krew blood		niebieska, blue (68)	pomarańczowa orange (68,68)	stalowo-niebieska steel-blue (67)	bordowo-brązowa crimson-brown (67)	granatowa navy blue (67,68)
tramal			pomarańczowa orange (67)	stalowo-niebieska steel-blue (67)	bordowo-brązowa crimson-brown (67)	granatowa navy blue (67)
reladorm	szaro-czarna grey-black (60)	niebieska, blue (68) zielono-żółte świecenie green-yellow luminescence (68)	pomarańczowa orange (68)	pomarańczowa orange (67)		granatowo-brązowa navy blue-brown (68)
demoksepam		różowo-fioletowa pink-lilac (15,53)				
desmetylodiazepam		różowo-fioletowa pink-lilac (20,48)				

1-3* – ekstrakty eterowo-kwaśne

4-6* – ekstrakty chloroformowo-zasadowe

Dalsze badania jakościowe wyosobnionego z tkanek tramalu przeprowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy użyciu detektora UV w wersji skanującej. W badaniach wykorzystano eluaty z odpowiednich stref chromatogramu cienkowarstwowego sporządzone w metanolu. Wykreślone w obszarze nadfioletu od 200 – 350 nm krzywe absorpcji zestawione z krzywymi wzorcowymi tramalu sporządzonymi w takich samych warunkach doświadczal-nych przedstawiono na ryc. 2.



Ryc. 2. Identyfikacja metodą HPLC – ekstrakty biologiczne

Fig. 2. Identification by the HPLC method – biological extracts

Aparat firmy Thermo separation products: detektor diodowy w wersji skanującej Spectromonitor 5000; kolumna C-18 S5 ODS2 5cm – 4,6mm – 5µm; faza ruchoma – metanol; bufor fosforanowy (50:50) o pH=3; przepływ 1,0ml/min. HPLC apparatus by Thermo Separation Products, diode array scan detector, Spectromonitor 5000, column: C-18S5ODS2 5cm x 4,6mm x 5µm, mobile phase: methanol; phosphatic buffer pH=3 (50:50); flow: 1,0ml/min 1. czas retencji – r – r wzorcowy tramalu: retention time – tramal standard 2. czas retencji – Ez. wątroba; retention time – liver alkaline extract 3. czas retencji – Ez krew; retention time – blood alkaline extract 4. czas retencji – Ez nerki; retention time – kidney alkaline extract 2. *krzywa absorpcji (UV scanning) – Ez wątroba: absorption curve (UV scanning) – liver alkaline extract 3. *krzywa absorpcji (UV scanning) – Ez krew; absorption curve (UV scanning) – blood alkaline extract 4. *krzywa absorpcji (UV scanning) – Ez nerki; absorption curve (UV scanning) – kidney alkaline extract 2. **zestawienie widma tramalu z Ez wątroby z widmem wzorca leku; absorption curve for tramal with liver alkaline extract and absorption curve for tramal alkaline extract 2. **zestawienie widma tramalu z Ez krwi z widmem wzorca leku; absorption curve for tramal with blood alkaline extract and absorption curve for tramal standard 4. **zestawienie widma tramalu z Ez nerki z widmem wzorca leku; absorption curve for tramal with kidney alkaline extract and absorption curve for tramal standard

Ocenę ilościową tramalu przeprowadzono metodą spektrofotometrii w nadfioletu w połączeniu z chromatografią cienkowarstwową. Oznaczona zawartość formy niezmienionej leku w połączeniu w poszczególnych badanych tkankach w przeliczeniu na 100 g materiału przedstawiono w tabeli III.

Tabela III. Wyniki badań ilościowych tramalu uzyskane metodą spektrofotometrii w świetle ultrafioletowym zastosowaną do eluatów ze strefy chromatogramu cienkowarstwowego – eluent 0,1 n HCl

Table III. Results of the tramal quantitative examinations obtained by the UV spectrophotometry for eluates from a thin layer chromatogram – eluent: 0,1n HCl

Materiał badany Material examined	Stężenie tramalu w mg% Concentration in mg%
Wątroba Liver	1,9
Nerka Kidney	2,1
Krew Blood	2,9

DYSKUSJA

Długotrwałe stosowanie lub nadużywanie leków będących agonistami receptora opioidowego pociąga za sobą wytworzenie zależności psychofizycznej i tolerancji na te leki. Niebezpieczeństwo wystąpienia takiej zależności w odniesieniu do tramalu nie jest duże stąd w naszym kraju lek ten nie jest zaliczany do środków odurzających.

Ustalenie w toku analizy chemiczno–toksykologicznej materiału pobranego ze zwłok poziomu tramalu z uwagi na jego przemianę metaboliczną w organizmie żywym i rozpad w zwłokach nie jest łatwe. Metabolizm leku przebiega głównie w kierunku utlenienia i N–demetylacji. Powstałe produkty przemiany, szczególnie oxy–monodesmetylotramadol wykazują wyższą aktywność farmakologiczną aniżeli lek wyjściowy. (1, 2). Tak więc po pewnym czasie od przyjęcia tramalu efekt farmakologicznego działania jest sumą działania wszystkich obecnych form leku.

Nasze możliwości analityczne ograniczone są do oznaczeń ilościowych jego formy niezmienionej. Określone jej stężenie we krwi wynosiło 2,9 mg%.

Wykrycie w organizmie denata diazepamu wskazuje, że ostry efekt toksyczny był następstwem wzajemnego oddziaływania obu leków. Oznaczone we krwi stężenie diazepam 0,57 mg% mieści się w granicach poziomu przyjmowanego w piśmiennictwie za toksyczny (5).

Obserwowana w wątrobie, moczu, płynie z gałki ocznej i płynie mózgowo–rdzeniowym obecność pochodnych kwasu barbiturowego (cyklobarbitalu) wskazuje na wcześniejsze zażywanie tego leku.

Na podstawie uzyskanych wyników badań analitycznych przyjęto jako przyczynę zgonu J.K. działanie tramalu i pochodnych 1,4–benzodwiazepiny w synergizmie addycyjnym przy pewnym współdziałaniu wcześniej spożytych barbituranów.

PIŚMIENICTWO

1. Borowiak K., Jarmołowicz Z., Wolski S.: *Kompleksowa analiza toksykologiczna Trodonu*. Arch. Med. Sąd. Krym.; 193, 43, 4, 277–282. – 2. *Clarkes isolation and identification of drugs pharmaceuticals, body fluids, and post – mortem materials*, 2nd ed., A.C.Moffat, Ed., The Pharmautical Press. London, England, 1986, 1033–1034. – 3. *Pharmidex – Kompendium*, pod red. K.Piwowarczyk, Warszawa, 1995. – 4. Podlewski J.K., Chwalibowska–Podlewska A.: *Leki współczesnej terapii*, Warszawa, 1994, 1. 870–871. – 5. Winek Ch.L.: *Drug, chemical blood – level*, Duquense University Pittsburgh, Pensylvania, 1994.

Adres autorów:

Katedra Medycyny Sądowej ŚAM

ul. Medyków 18

40–752 Katowice

Nadesłano do Redakcji: 27.01.1997

Zakwalifikowano do druku: 1.03.1997