

streszczenia

W1

Aktualne i przyszłe kierunki rozwoju nauk sądowych

Dariusz Zuba¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Zmiany zachodzące we współczesnym świecie nie pozostają bez wpływu na nauki sądowe, w tym medycynę sądową, toksykologię sądową i genetykę sądową. Są to zmiany, które można określić jako jakościowe – odnoszące się do pojawienia się nowych obszarów aktywności, jak też ilościowe, mające wpływ na rosnące zapotrzebowanie na określony typ ekspertyz sądowych. W tym roku zatwierdzone zostały Konkluzje Rady Unii Europejskiej w sprawie planu działania na rzecz Europejskiego Obszaru Nauk Sądowych 2.0, w których wskazano główne obszary, które powinny być rozwijane w naukach sądowych w najbliższych latach. Są to:

1. Skuteczne i oparte na wiedzy naukowej wykorzystanie nowoczesnych technologii dla celów postępowań przygotowawczych i sądowych, tj. korzystanie z wielomodalnych danych biometrycznych, sztucznej inteligencji, cyfryzacji oraz nowych narzędzi badawczych w badaniu dowodów biologicznych i chemicznych (np. wykorzystanie badań „-omicznych” takich jak metabolomika czy nanotechnologie),
2. Poprawa wpływu wyników ekspertyz na decyzje podejmowane przez organy procesowe, poprzez m.in. szersze wykorzystywanie rozumowania probabilistycznego, w tym wykorzystania narzędzi do raportowania ewaluacyjnego, opracowanie jednolitego podejścia do raportowania na poziomie źródła i aktywności dla wszystkich obszarów nauk sądowych, szerokiego udostępniania danych kryminalistycznych celem poprawy efektywności baz danych, a także rozwój podejścia multidyscyplinarnego,
3. Wykazanie wiarygodności wyników badań kryminalistycznych, m.in. poprzez promowanie wiedzy dotyczącej rozpowszechnienia, transferu i trwałości różnych typów dowodów kryminalistycznych, ale też badanie wpływu czynnika ludzkiego na decyzje podejmowane przez techników, biegłych i inne osoby zaangażowane w postępowanie od miejsca zdarzenia po salę sądową, a także określenie wymogów dotyczących jakości laboratoriów oraz kompetencji osób.

Prezentacja będzie próbą omówienia powyższych zagadnień w odniesieniu do sytuacji w Polsce, ze wskazaniem głównych słabych i silnych stron, a przede wszystkim możliwości rozwoju.

Słowa kluczowe: nauki sądowe, rozwój, EFSA2.0, wiarygodność, nowoczesność

W2

Rola sztucznej inteligencji w ocenie pracy biegłego

Wojciech Lechowicz¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Mimo wielu lat stosowania algorytmów genetycznych, sieci neuronowych, czy algorytmów społecznościowych, czyli podstawowych narzędzi tzw. sztucznej inteligencji (SI) dopiero zastosowanie kolejnego narzędzia, czyli modeli językowych niezwykle silnie zadziałało na wyobraźnię naukowców i ekspertów. Pojawiły się kolejne wersje interfejsów dla tych modeli o ludzkich często nazwach Claude, Bard, Bing, i pierwszy wśród nich, czyli ChatGPT. Narzędzia te ze względu na prostotę użytkowania na pewno będą stosowane zarówno przez programistów (już stosują) jak i profesjonalnych śledczych i strony procesu sądowego. Okiełznanie tematu stosowania sztucznej inteligencji w naukach sądowych, wymaga wdrożenia ograniczeń, na które przyjdzie trochę poczekać. Póki co Parlament Europejski zakazał stosowania SI do celów profilowania zachowań przestępczych, typowania podejrzanych i wykrywania emocji. Oczywiście zanim stanie się to prawem musi wyrazić zgodę Rada Europy. Nad nowym prawem pracują już Stany Zjednoczone oraz Chiny.

Jak dotąd stosowanie SI było domeną badań chemometrycznych, intensywnie wykorzystujących przy tym metody statystyczne, jednak niezwykle interesująco jawi się użycie SI przez strony procesu w konfrontacji z biegłym. Z pewnością podniesie to jakość dyskusji, profesjonalizm argumentów, z którymi będzie musiał się zmierzyć biegły.

Metody: W przeprowadzonych badaniach poddano analizie odpowiedzi udzielone przez ChatGPT na zadanych kilkadziesiąt pytań dla weryfikacji opinii biegłego: Przyjmując rolę adwokata podejrzanego/oskarżonego sformułowano zapytania głównie w celu podważenia wyniku analiz prezentowanych przez niego w sądzie.

W rezultacie, oprócz argumentów spodziewanych, czyli dotyczących walidacji metody, SI generowała zapytania o kompetencje biegłego, doświadczenie, ale co ciekawe, przynależność do towarzystw naukowych oraz publikowanie prac. Bezpośredniego odwołania do takiego wymogu nie znajdziemy w normie 17025.

Modele językowe dają możliwość formułowania złożonych zapytań w języku ojczystym i choć w odpowiedziach zdarzają się pomyłki, są one sformułowane profesjonalnie i niedoświadczona osoba może ich nie zauważyć. Podpowiedzi ze strony SI mogą posłużyć formułowaniu pytań do biegłego przez strony procesu. Pytania te mogą okazać się bardziej wymagające niż można by się spodziewać po przeciętnie przygotowanych uczestnikach procesu.

Słowa kluczowe: sztuczna inteligencja, proces sądowy, badania

W3

Kluczowa rola tomografii komputerowej w pozytywnej identyfikacji nieznanymi szczątków ludzkich

Dorota Lorkiewicz – Muszyńska¹, Paweł Świdorski¹, Julia Sobol², Krzysztof Solnica³, Agnieszka Cugier⁴

1 Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

2 Zakład Medycyny Sądowej, Instytut Nauk Medycznych, Uniwersytet Zielonogórski

3 PP Diagnostyka, Poznań

4 Centrala Narodowego Funduszu Zdrowia, Departament ds. Służb Mundurowych, Warszawa

W antropologii sądowej pozytywna identyfikacja zwłok i szczątków ludzkich może przyczynić się do realizacji prawa człowieka do pochówku z własnym nazwiskiem, etycznej potrzeby identyfikacji zwłok przed pochowaniem, jak również mieć znaczenie w postępowaniu karnym i cywilnym. W wieloetapowym procesie identyfikacji każda część szkieletu może mieć znaczenie we względu na indywidualne cechy anatomiczne lub zmienność cech nabytą w wyniku urazu, operacji lub zmian chorobowych. Czaszka często jednak, z uwagi na liczne unikalne cechy morfometryczne, w tym cechy zamkniętych struktur anatomicznych wykazujących dużą zmienność międzyosobniczą, odgrywa szczególną rolę w identyfikacji.

W pracy przedstawiono przypadek identyfikacji nieznanymi szczątków ludzkich ujawnionych w kwietniu 2022 roku w stanie całkowitego zeszkieletowania. Stan zachowania szkieletu był bardzo dobry, stwierdzono nieliczne braki kości, w tym żuchwy i drobnych kości rąk i stóp. Badania antropologiczne wykazały, iż szczątki należały do mężczyzny w wieku około 40-50 lat, szacowanej wysokości ciała około 169-170 cm. W zakresie czaszki stwierdzono stan po kraniotomii. Ponadto stwierdzono liczne zaleczone zmiany pourazowe szczególnie w obrębie czaszki i żeber. Wytypowano mężczyznę, w wieku 48 lat i wzrostu 170 cm, którego zaginięcie zgłoszono cztery lata wcześniej, w marcu 2018 r. Dla celów identyfikacyjnych zgromadzono dostępne dane życiowe, w tym historię choroby z wykonanymi badaniami TK głowy w 2015 i 2017 roku. Jak wynikało z dokumentacji medycznej w dniu 29 marca 2015 roku wykonano kraniotomię.

Dokumentacja medyczna z dołączonymi badaniami z tomografii komputerowej stanowiły kluczowy materiał wykorzystany w identyfikacji szczątków ludzkich. Autorzy w pracy skupili się na wykorzystaniu życiowej i pośmiertnej tomografii komputerowej, ocenie morfologicznej zmian kostnych, wykonaniu trójwymiarowej rekonstrukcji czaszki oraz analizie morfometrycznej zatok przynosowych poprzez ich segmentację i 3D-3D superprojekcję, aby omówić rolę tych metod w wieloetapowym procesie pozytywnej identyfikacji osobniczej.

Słowa kluczowe: identyfikacja, patologie, tomografia komputerowa, zatoki przynosowe, segmentacja, 3D-3D superprojekcja

W4

Obrazowanie 3D w medycynie sądowej – wybrane przypadki

Krzysztof Maksymowicz¹, Wojciech Tunikowski²

1 Katedra Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

2 Wydział Architektury, Politechnika Wrocławska

Obrazowanie w środowisku 3D jest szczególnie cennym narzędziem w rękach medyka sądowego i kryminologa. Technologie skanowania, modelowania i animacji 3D są postrzegane głównie jako efektywne narzędzia dokumentacji, archiwizacji i demonstracji graficznego materiału dowodowego. Mniej znany i dostrzegany jest potencjał analityczny tych narzędzi.

W niniejszej pracy zaprezentowano wybrane przypadki, w których oprócz przestrzennej, pełnowartościowej multimedialnej i interaktywnej prezentacji materiału dowodowego za pomocą analizy i syntezy obrazu, uzyskano nowe, kluczowe informacje o sprawie.

Materiałem badawczym w każdym z prezentowanych przypadków była archiwalna, graficzna

dokumentacja dowodowa (zdjęcia, filmy), uzupełniana skanem 3D w miejscu zdarzenia oraz analizą pozostałych danych zgromadzonych w toku postępowania (opisy, zeznania etc.).

Słowa kluczowe: medycyna sądowa, kryminalistyka, skanowanie 3D, animacja 3D, rekonstrukcja 3D

W5

3D-3D superprojekcja w badaniach oceny anatomicznej zmienności zatok przynosowych poprzez segmentację na podstawie tomografii komputerowej

Dorota Lorkiewicz-Muszyńska¹, Julia Sobol², Filip Laskowski³, Wojciech Kociemba⁴, Agnieszka Cugier⁵

1 Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

2 Zakład Medycyny Sądowej, Instytut Nauk Medycznych, Uniwersytet Zielonogórski

3 Zakład Radiologii, SP ZOZ Wielospecjalistyczny Szpital w Nowej Soli

4 Pracownia TK i MR, Centrum Medyczne HCP w Poznaniu

5 Centrala Narodowego Funduszu Zdrowia, Departament ds. Służb Mundurowych, Warszawa

Zmienność międzyosobnicza i niepowtarzalność anatomiczna odgrywają istotną rolę w identyfikacji nieznanymi zwłok i szczątków ludzkich. W procesie tym każda część szkieletu może mieć kluczowe znaczenie ze względu na indywidualne cechy anatomiczne lub nabytą zmienność w wyniku przebytego urazu, operacji lub przewlekłych zmian chorobowych. Struktury anatomiczne czaszki, w tym zatoki przynosowe, wykazują szczególnie dużą zmienność osobniczą, co

może być podstawą do identyfikacji. Uwzględniając złożoność budowy zatok przynosowych, ich wielkość, kształt i relacje między nimi oraz sąsiednimi strukturami anatomicznymi, mogą one być wykorzystywane do identyfikacji człowieka poprzez szczegółowe analizy morfometryczne.

Celem badań było zastosowanie metod 3D do oceny anatomicznej zmienności zatok przynosowych.

Retrospektywne badania przeprowadzono na podstawie tomografii komputerowej 30 pacjentów w wieku 25 do 45 lat (15 kobiet i 15 mężczyzn) poddanych dwukrotnie badaniom KT głowy w odstępie czasu od 4 miesięcy do 5 lat. Dla każdego pacjenta wykonano segmentację trzech zatok: czołowej, szczękowej i klinowej. Otrzymane modele 3D zatok przynosowych należące do tego samego pacjenta zostały automatycznie nałożone na siebie metodą najmniejszej różnicy punktów (RMS root mean square) między dwiema powierzchniami modeli 3D. Uzyskano 30 badań 3D-3D superprojekcji kiedy analizowane modele należały do tej samej osoby oraz wykonano 300 nałożeń metodą superprojekcji 3D-3D, kiedy modele 3D zatok zostały wyodrębnione od różnych osób. Z wykorzystaniem testu nieparametrycznego U Manna-Whitneya badano statystycznie istotne różnice odległości wyznaczonych na modelach 3D punktów między grupami dopasowania i niedopasowania, a także możliwe różnice wg płci.

Średnia wartość RMS była około dziesięciokrotnie mniejsza w grupie dopasowania niż w grupie niedopasowania i uzyskano istotny statystycznie wynik ($p < 0,05$). Nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy kobietami i mężczyznami ($p > 0,05$).

Segmentacja i rekonstrukcja 3D zatok przynosowych na podstawie badań KT umożliwia badania każdej z nich z osobna, jak i zespołu zatok, co może dostarczyć danych i wskazówek do oceny ich zmienności morfometrycznej. Ponadto wykorzystanie technik komputerowych poszerza zakres przetwarzania i analizy modeli 3D, co ma często zastosowanie w identyfikacji osobniczej.

Słowa kluczowe: identyfikacja, zatoki przynosowe, KT, segmentacja, superprojekcja 3D

W6

Niezwykłe znaleziska w czasie sekcji zwłok

Tomasz Konopka¹

1 Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Praca prezentuje kilkadziesiąt ilustrowanych zdjęciami przypadków, niespodziewanych znalezisk ujawnionych w czasie sekcji zwłok – ciała obcych połączonych przed śmiercią lub które tę śmierć spowodowały, umieszczonych w odcybie lub drogach rodnych, wbitych w ciało w wyniku urazu, pozostawionych w zabiegu operacyjnym, zaaspirowanych do dróg oddechowych, a także nietypowych substancji które w celach samobójczych spożyto lub wprowadzono do organizmu inną drogą, niewyjaśnionych zmian o charakterze prawdopodobnie naturalnym, rysunków i napisów na

zwłokach, artefaktów archeologicznych towarzyszących wykopanym szkieletom. Wśród najdziwniejszych – żarówka znaleziona w jamie otrzewnej między pętlami jelit, krople rtęci wbudowanej w mięsień sercowy, metalowa figurka nagiej kobiety w żołądku, gumowy penis w odcybie osoby zmarłej w wyniku powieszenia.

Słowa kluczowe: sekcja zwłok, artefakt

W7

Tkanki chrzęstne w naukach sądowych – badania interdyscyplinarne

Marcin Tomsia¹, Elżbieta Chetmecka², Wojciech Branicki³, Ewelina Pośpiech⁴, Danuta Piniewska-Róg⁵, Aleksandra Pisarek⁴, Kornelia Drożdżiak¹, Joanna Nowicka¹, Małgorzata Głaz¹, Rafał Skowronek¹, Michał Szczepański¹, Przemysław Banaszek¹, Joanna Pilch-Kowalczyk⁶, Mariusz Kobek¹, Aleksandra Zorychta², Julia Cieśla⁷, Andrzej Grzywacz⁸, Krzysztof Szpila⁸, Kinga Walczak⁸, Szymon Matuszewski⁹, Gulnaz T Javan¹⁰, Artur Pałasz¹¹, Olga Pawełczyk¹², Krzysztof Solarz¹², Krystian Rygol¹, Christian Jabłoński¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

2 Zakład Statystyki, Katedra Analizy Instrumentalnej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląskie Uniwersytet Medyczny w Katowicach

3 Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński

4 Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

5 Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

6 Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

7 Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

8 Katedra Ekologii i Biogeografii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

9 Laboratorium Kryminalistyki, Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

10 Department of Physical Sciences and Forensic Science Programs, Alabama State University Montgomery AL United States

11 Zakład Histologii, Katedra Histologii i Embriologii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

12 Zakład Parazytologii, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

W latach 2019-2023 przeprowadzono interdyscyplinarne badania tkanek chrzęstnych. W badaniach z zakresu genetyki sądowej genotypowaniu poddano 23 loci STR autosomalnych i 16 loci Y-STR.

Badania metylacji DNA przeprowadzono poprzez zastosowanie konwersji wodorosiarczynem sodu i sekwencjonowania wybranych amplikonów metodą wysokoprzepustowego sekwencjonowania DNA i aparatu MiSeq Illumina.

W badaniach z zakresu toksykologii wykorzystano metodę chromatografii gazowej GC-FID do detekcji substancji lotnych oraz metodę Griessa do wykrycia jonów azotynowych.

Natomiast powierzchniowe i wewnątrztkankowe analizy entomologiczne i akarologiczne zostały przeprowadzone za pomocą zbiorów autorów, oraz molekularnych metod identyfikacji (DNA barcoding). Analizy genetyczne chrząstki żebrowej potwierdziły możliwość wykorzystania tej tkanki w sprawach identyfikacji osobniczej nawet w sytuacji zaawansowanych procesów rozkładu gnilnego. Genotypowanie z chrząstki krążka międzykręgowego przeprowadzono dla grupy zwęglonych szczątków ludzkich, co rozszerzyło jego wykorzystanie zaproponowane przez innych autorów. Wieloośrodkowe badania epigenomu pozwoliły na określenie wieku epigenetycznego chrząstki żebrowej i opracowanie modelu predykcji wieku z średnim błędem wynoszącym ± 4 lata (praca w przygotowaniu). Przeprowadzone analizy toksykologiczne pozwoliły na wykazanie możliwości detekcji jonów azotynowych oraz substancji lotnych takich jak etanol, metanol czy izo-propanol przy jednoczesnym wysokim wskaźniku korelacji do wyników uzyskanych z badania krwi i moczu. Analizy entomologiczne i akarologiczne wykazały, że chrząstka żebrowa zwłok ludzkich może być miejscem bytowania larw owadów nekrofilnych i roztoczy.

Słowa kluczowe: tkanki chrzęstne, genetyka sądowa, toksykologia sądowa, entomologia sądowa, akarologia sądowa

W8

Rozwój zespołu DVI w województwie łódzkim w latach 2019-2023

Anna Smędra¹, Katarzyna Wochna¹, Jarosław Berent¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

W 2019 roku na XVIII Zjeździe naszego towarzystwa w Lublinie w tym samym składzie zaprezentowaliśmy główne założenia zespołu DVI opierające się na standardach INTERPOL-u oraz nasze pierwsze doświadczenia związane z jego wdrażaniem w województwie łódzkim. Od czasu naszego poprzedniego wystąpienia przeprowadziliśmy we współpracy m.in. z Komendą Wojewódzką Policji w Łodzi szereg dalszych szkoleń zarówno teoretycznych, jak i praktycznych. Na nasz projekt z oczywistych względów negatywnie wpłynęła pandemia COVID-19, która uniemożliwiła pracę w takim zakresie, jakiego byśmy sobie życzyli, ale od razu po zredukowaniu obostrzeń ponownie zabraliśmy się do pracy. W omawianym okre-

sie przeprowadziliśmy 4 szkolenia teoretyczne on-line, 10 szkoleń praktycznych w naszym prosektorium oraz 7 szkoleń praktycznych w terenie. Jedno ze szkoleń praktycznych odbyło się w elektrociepłowni w Bełchatowie. W szkoleniu tym, poza pracownikami KIZMS w Łodzi, funkcjonariuszami Policji i prokuratorami, brały udział liczne służby, w tym antyterroryści. Mieliśmy też możliwość użyć najnowocześniejszego sprzętu jakim dysponuje Policja w Polsce, czyli dronów i skanerów 3D. Ponadto odbyły się spotkania mające na celu ocenę naszych działań na miejscu zdarzenia (feedback po szkoleniu), w trakcie których umawialiśmy co zostało zrobione prawidłowo, a co należy jeszcze zmienić i poprawić. Wzięliśmy także udział w 31. Konferencji DVI INTERPOL-u w Lyonie, podczas której zaprezentowaliśmy nasze dokonania kolegom i koleżankom z całego świata. W prezentacji przedstawiamy nasze doświadczenia i plany na przyszłość.

Słowa kluczowe: DVI, INTERPOL, szkolenia

W9

Czy opinia z ekspertyzy poligraficznej powinna być dowodem sądowym?

Piotr Herbowski¹

¹ SWPS Uniwersytet Humanistycznospołeczny

Pierwsze badania poligraficzne (wariograficzne) w polskim procesie karnym zostały wykonane 60 lat temu. To z pewnością wystarczający okres, aby możliwe stało się szersze podsumowanie wykorzystania tych badań w praktyce sądowej. Zakres tematyczny niniejszych rozważań dotyczy tylko postępowania sądowego, gdyż badania poligraficzne udowodniły już ponad wszelką wątpliwość swoją bardzo wysoką wartość, jako dowód odciążający na etapie postępowania przygotowawczego. Natomiast liczne problemy związane z jego sądową oceną wymagają odrębnej i pogłębionej analizy. Jest to tym bardziej istotne, że śledząc rozwój ekspertyz sądowych można dostrzec, że czas wprowadzania nowych naukowych metod badawczych do praktyki, w tym również sądowej, ulega znacznemu przyspieszeniu. Nie ma to jednak odzwierciedlenia w przypadku badań na poligrafie, które z ogromnym trudem już od kilkadziesiąt próbuje zdobyć należne im uznanie. Niestosownie są wciąż też utożsamiane z wykrywaniem kłamstwa. W swoim wystąpieniu będę starał się odpowiedzieć dlaczego tak się dzieje i czy opinia z ekspertyzy poligraficznej powinna być w ogóle dowodem sądowym? Jest to tym bardziej istotne, że za chwilę inne techniki pomiarów psychofizjologicznych, takie jak eye tracking czy metoda neuroobrazowania fMRI, wykorzystujące dorobek eksperymentalny badań poligraficznych, zaczną pukać do drzwi procesu karnego.

Słowa kluczowe: poligraf, badania poligraficzne, dowód sądowy, proces karny

W10

Wykrywanie leków w odciskach palców

**Piotr Adamowicz¹, Joanna Bigosińska², Dominika Gil¹,
Marta Suchan¹, Bogdan Tokarczyk¹**

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie
² Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Odciski palców służą do powiązania przestępstwa z osobą, która mogła przebywać na miejscu zdarzenia. Najpopularniejszą metodą identyfikacji linii papilarnych jest daktyloskopia. Ksenobiotyki obecne we krwi są wydalane z potem i sebum, co sprawia, że odciski palców mogą służyć jako materiał alternatywny w toksykologii sądowej. Wykazanie leków lub narkotyków w odciskach palców może świadczyć o przyjmowaniu środków przez osobę, która pozostawiła ślad na miejscu zdarzenia. Celem pracy było zbadanie przydatności odcisków palców w badaniach toksykologicznych.

Odciski palców były pobierane od osób stosujących bisoprolol, propranolol, amlodypinę, duloksetynę, sertralinę, hydroksyzynę i trazodon. Dodatkowo jedna osoba przyjmowała oddzielnie pseudoefedrynę, kodeinę, dekskrometorfan i lidokainę. Zebrane odciski palców służyły do przeprowadzenia szeregu eksperymentów. Do wykrywania leków zastosowano technikę LC-MS/MS.

Nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniach leków w odciskach palców deponowanych przez różny czas, ale stężenia wzrastały wraz z siłą nacisku. Po przyjęciu jednorazowych dawek leków wykrywano je do 36 h (pseudoefedryna), 24 h (kodeina) i poniżej 6 h (dekstremetorfan, lidokaina), a maksymalne stężenia obserwowano po 1-4 godzinach. Po zakończeniu terapii hydroksyzyną i sertralina leki te można było wykryć nawet po 20 dniach od ostatniego przyjęcia.

Odciski palców mogą być wykorzystane w badaniach toksykologicznych. Wykrycie metabolitów nie zawsze jest możliwe, a ich stężenia są niższe w porównaniu do związków macierzystych. Stężenia ksenobiotyków mogą się znacznie różnić i zależą od wielu czynników, przez co analiza ilościowa ma ograniczoną wartość. Okna detekcji są zależne od rodzaju leku i długości leczenia.

Słowa kluczowe: odciski palców, toksykologia, kryminalistyka, leki, LC-MS/MS

W11

Kto kogo zabił?

Dorota Samożytowicz¹, Aleksandra Borowska-Solonyńko¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Ustalenie przebiegu zdarzenia w przypadku ujawnienia w jednym miejscu dwóch lub większej liczby zwłok często stanowi wyzwanie dla organów ścigania. W takich przypadkach stwierdzenie przez medyka sądowego patomechanizmu i przyczyny zgonu oraz czasu lub przynajmniej kolejności zgonu poszczególnych osób, może mieć decydujące znaczenie w weryfikacji wstępnie przyjętych wersji zdarzenia.

W pracy przedstawiono przypadek zgonu dwóch osób (babci i jej wnuka), których zwłoki zostały znalezione w jednym mieszkaniu, leżące blisko siebie. Na obu ciałach ujawniono liczne rany – przeważnie klute. Przyjęta przez śledczych wstępna wersja zdarzenia zakładała, że najpierw mężczyzna zabił kobietę, a następnie popełnił samobójstwo. Mężczyzna leczył się psychiatrycznie, dodatkowo miesiąc przed zdarzeniem jego stan psychiczny pogorszył się. Zgłosił się wtedy do szpitala psychiatrycznego, ale odmówiono mu przyjęcia na oddział z uwagi na restrykcje spowodowane pandemią COVID-19. Oględziny na miejscu ujawnienia zwłok zostały przeprowadzone bez udziału biegłego lekarza. Wyniki sekcji obu zwłok spowodowały pojawienie się wątpliwości co do przyjętej początkowo wersji zdarzenia. Stwierdzono bowiem, że zwłoki mężczyzny objęte były zmianami gnilnymi o znacznie większym stopniu nasilenia niż zwłoki kobiety. U obu ofiar ujawniono obrażenia, które mogły odpowiadać tzw. obrażeniom obronnym. Dodatkowo obrażenia w postaci ran klutych na ciele mężczyzny zlokalizowane były między innymi w nietypowych (dla przypadków samobójstw) miejscach – w tym na karku. W konsekwencji konieczne było rozważenia innych wersji zdarzenia, tj. zabójstwa wnuczka przez babcię lub udziału w zdarzeniu kolejnej osoby. Jednak późniejsza analiza zebranego materiału dowodowego, w tym przede wszystkim protokołów oględzin miejsca i zwłok w miejscu ich ujawnienia (gdzie opisano między innymi brak zmian gnilnych na ciele mężczyzny), ostatecznie pozwoliła na uprawdopodobnienie pierwszej z zakładanych wersji zdarzenia.

Obrażenia widoczne na zwłokach w przypadkach tzw. rozszerzonych samobójstw mogą być nietypowe, a zmiany pośmiertne widoczne sekcyjnie mylące. W takich przypadkach analiza całości materiału dowodowego (uwzględniającego przede wszystkim dane z miejsca zdarzenia oraz informacje z przesłuchań świadków) oraz współpraca medyków sądowych z organami ścigania ma kluczowe znaczenie.

Słowa kluczowe: samobójstwo, miejsce zdarzenia

W12

Rana gałęzią zadana – nietypowy przypadek śmiertelnego samookaleczenia

Michał Kaliszan¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Podczas badań pośmiertnych medyk sądowy spotyka się z różnymi rodzajami obrażeń ciała, a jego zadaniem jest m.in. ustalenie czy powstały w wyniku działania ręki obcej, nieszczęśliwego wypadku, czy działania ręki własnej. Niekiedy jednoznaczne ustalenia są trudne, a wręcz niemożliwe.

W przedstawianej pracy opisano przypadek samobójstwa 21-letniego mężczyzny dokonanego poprzez wbicie sobie utamanej gałęzi w klatkę piersiową w miejscu niedawnej blizny po dokonanej kilka tygodni wcześniej podobnej próbie samobójczej z użyciem noża. Mniejszy opór skóry w miejscu blizny po niedawno powstałej ranie pozwolił na wbicie przez nią dość tępo zakończony gałęzi, która penetrowała przez powłoki skórne i worek osierdziowy do serca, przebijając je na wylot i powodując śmierć.

W opisanym przypadku mimo nietypowego narzędzia w postaci gałęzi drzewa, którą niewątpliwie jest bardzo trudno wbić sobie samemu w klatkę piersiową, za samobójstwem przemawiał wywiad w kierunku zaburzeń psychicznych i dokonanej kilka tygodni wcześniej podobnej próbie samookaleczenia. Dodatkowo z dokumentacji medycznej ze szpitala psychiatrycznego, w którym w/w był hospitalizowany przez 1,5 miesiąca po poprzedniej próbie wynikało, że cierpiał na urojenia, a ugodził się nożem ponieważ „*wydawało mu się, że tego chce od niego Bóg*”. Co ciekawe, jak podawał wówczas pacjent, w wieku 17 lat miał sam zdiagnozować u siebie ADHD, które samodzielnie leczył amfetaminą, ponieważ „*słyszał, że to pomaga*”. Jako przyczynę prób odebrania sobie życia podawał poczucie winy z powodu nadużywania substancji psychoaktywnych. Skutecznie dokonał samobójstwa 3 dni po opuszczeniu szpitala psychiatrycznego, w którym przebywał przez 1,5 miesiąca, przyjęty bezpośrednio po poprzedniej próbie samobójczej.

Przedstawiony przypadek wskazuje na determinację młodego mężczyzny z zaburzeniami psychicznymi mogącymi być skutkiem przyjmowania substancji psychoaktywnych, który skutecznie dokonał samobójstwa z użyciem nietypowego narzędzia po kilku uprzednich próbach bardziej powszechnymi metodami. Ponadto potwierdza wcześniejsze dane wskazujące, że w niektórych przypadkach, mimo podjętego specjalistycznego leczenia szpitalnego i wydawałoby się poprawy po zastosowanej terapii, choroba pacjenta jest na tyle ciężka i zaawansowana, że bezpośrednio po opuszczeniu szpitala psychiatrycznego pacjent podejmuje kolejną próbę samobójczą, nierzadką skuteczną.

Słowa kluczowe: medycyna sądowa, obrażenia ciała, samobójstwo, gałąź, zaburzenia psychiczne, substancje psychoaktywne

W13

Długa wędka, średnie napięcie i mało wyobraźni: śmiertelne porażenie prądem na skutek kontaktu wędki z liniami energetycznymi – seria przypadków

Szymon Rzepczyk¹, Paweł Świdorski¹, Damian Rusek¹, Beata Bożek¹, Czesław Żaba¹

¹ Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Rekreacyjne wędkowanie stanowi popularny sposób spędzania wolnego czasu. W Polsce amatorski połów ryb jest regulowany odpowiednimi przepisami, które jednak nie obejmują odległości łowiska od linii energetycznych. Ma to szczególne znaczenie ze względu na szerokie rozpowszechnienie wędek wykonanych z włókna węglowego, które przewodzi prąd elektryczny. Prezentowana jest seria trzech przypadków porażenia prądem na skutek kontaktu wędki z włókna węglowego z linią średniego napięcia, które miały miejsce w tym samym łowisku na przestrzeni 11 lat. Ofiarami w każdym przypadku byli mężczyźni, a do zdarzeń dochodziło w miesiącach letnich. W dwóch przypadkach stwierdzono zgon na miejscu, jednemu z mężczyzn na skutek działań ratunkowych udało się przywrócić funkcje życiowe, jednak do zgonu doszło następnego dnia w szpitalu. Podczas badania pośmiertnego stwierdzono w wszystkich ofiar zmiany skórne przypominające znamię prądu na dłoniach w miejscu uchwytu wędki, odpowiadające miejscu wnikięcia prądu przewodzonego przez materiał z którego została wykonana oraz w obrębie stóp. Dodatkowo w badaniu toksykologicznym stwierdzono, że każda z ofiar w momencie zdarzenia była pod wpływem alkoholu. Jako przyczynę we wszystkich przypadkach zgonu ustalono porażenie prądem elektrycznym. W literaturze opisywany jest wzrost liczby przypadków porażenia prądem w czasie wędkowania od czasu rozpowszechnienia wędek z włókna węglowego. Poszkodowanymi są zwykle mężczyźni, a do zdarzeń dochodzi podczas ciepłych miesięcy. Szanse przeżycia zależą głównie od parametrów prądu przewodzonego przez linię oraz długości narażenia. Opisywano oparzenia znacznej powierzchni ciała oraz niewydolność serca i nerek u osób które przeżyły. Niezbędne jest ścisłe uregulowanie połowów w miejscach przebiegu infrastruktury energetycznej.

Słowa kluczowe: porażenie prądem, znamię prądu, diagnostyka pośmiertna, włókno węglowe, wędkarstwo

W14

Sądowo-lekarska ocena okoliczności śmiertelnych upadków z wysokości

Tomasz Cywka¹, Jacek Baj¹, Grzegorz Teresiński¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Upadki z wysokości są drugą co do częstości (po wypadkach komunikacyjnych) przyczyną śmiertelnych wypadków oraz drugim co do częstości (po powieszeniu) sposobem popełnienia samobójstwa w Polsce. Jednym z podstawowych problemów w sądowo-lekarskiej ocenie upadków z wysokości jest ustalenie wysokości, z jakiej doszło do upadku oraz możliwości odtworzenia okoliczności zdarzenia. W tym celu Teh i wsp. porównali częstość występowania obrażeń struktur kostno-stawowych w grupie samobójstw oraz nieszczęśliwych wypadków, zaś Berghaus zaproponował skalę służącą do różnicowania przyczyny upadku. Natomiast Lau i wsp., Fialka oraz Casali i wsp. opracowali metody ustalania wysokości upadku na podstawie stopnia ciężkości obrażeń.

Celem niniejszej pracy była weryfikacja wymienionych doniesień w ocenie okoliczności śmiertelnych upadków z wysokości oraz poszukiwanie nowych metod pozwalających na weryfikację przyczyny upadku oraz ustalenie wysokości upadku.

Materiał stanowiły wyniki pośmiertnych badań 100 ofiar upadków z wysokości, przeprowadzonych w latach 1997-2015 w lubelskim Zakładzie Medycyny Sądowej. Uwzględniono swobodne upadki z wysokości co najmniej 2 m na twarde i płaskie podłoże. Każdy oceniany przypadek został przeanalizowany pod kątem doznanych obrażeń w poszczególnych regionach ciała oraz okoliczności zdarzenia na podstawie akt prowadzonego postępowania.

W badanej grupie średnia wysokość, z jakiej nastąpił upadek była istotnie wyższa wśród osób, które targnęły się na własne życie w porównaniu z tymi, które uległy wypadkowi. W oparciu o doznane obrażenia ciała wykazano większą częstość obrażeń czaszkowo-mózgowych i kręgosłupa szyjnego w grupie urazów przypadkowych oraz większą częstość obrażeń klatki piersiowej, miednicy i struktur kostno-stawowych kończyn dolnych w grupie samobójstw. Potwierdzono, że przy użyciu kryteriów metody Berghausa można z dużym prawdopodobieństwem wskazać, czy do upadku doszło w wyniku nieszczęśliwego zdarzenia czy też targnięcia się na własne życie.

Badania na własnym materiale wykazały ograniczoną przydatność metod szacowania wysokości upadku zaproponowanych przez Fialkę, Lau i wsp. oraz Casali i wsp. Opracowano nowy wzór szacowania wysokości upadku, za pomocą którego wyliczony przedział wysokości obejmował rzeczywistą wysokość upadku w 70% przypadków.

Słowa kluczowe: upadek z wysokości, samobójstwo, nieszczęśliwy wypadek, skala Berghausa, metoda Teh, metoda Lau, metoda Casali, metoda Fialki

W15

Obrażenia ciała powodowane przez wybuch głowicy kumulacyjnej PG-7VM

Anna Smędra¹, Tomasz Merda², Aleksander Wasilewski², Przemysław Sidelnik², Paweł Kosmatka¹, Jarosław Berent¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
² Wojskowy Instytut Techniczny Uzbrojenia, Zielonka k/Warszawy

Pociski z głowicami kumulacyjnymi jako broń przeciwpancerna weszły do użycia w latach 40-tych XX wieku. Były to amerykańskie kumulacyjne pociski raketowe stosowane w granatnikach przeciwpancernych Bazooka. W początkowych wersjach mogły one przebić stalowy pancerz o grubości do 75 mm. Obecnie pociski tego rodzaju mają kilkunastokrotnie większą przebijałość, co czyni je ekstremalnie groźnymi na współczesnym polu walki. Z uwagi na toczącą się wojnę w Ukrainie w mediach bardzo często widać pojazdy wojskowe obu stron trafione przy użyciu takiej broni. Ponieważ z piśmiennictwa wynika, że głównym zagrożeniem dla załóg trafionych pojazdów są wytworzone przez strumień kumulacyjny odłamki własnego pancerza oraz resztkowy strumień kumulacyjny postanowiliśmy przeprowadzić badania w tym zakresie.

Celem pracy było sprawdzenie skutków działania na ciało ludzkie odłamków pancerza wytworzonego przez strumień kumulacyjny oraz resztkowego strumienia kumulacyjnego po wybuchu pocisku kumulacyjnego.

Do badań wykorzystano popularne na świecie i stosowane od lat 60-tych XX wieku głowice kumulacyjne PG-7 w wersji PG-7VM do ręcznego granatnika przeciwpancernego RPG-7. Ich przebijałość wynosi około 300 mm stali pancerniej, a energia uformowanego strumienia kumulacyjnego wynosi około 500 kJ. Głowice takie detonowano kierując je na płyty ze stali pancerniej o różnej grubości, za którymi umieszczono modele ciała ludzkiego z mydła balistycznego, żelatyny balistycznej oraz modele kości.

W prezentacji przedstawimy materiał zdjęciowy i filmowy obrazujący przeprowadzone eksperymenty i ich skutki na ciało ludzkie.

Wniosek z badań jest taki, że przebicie pancerza pojazdu przez strumień kumulacyjny skutkuje ekstremalnie groźnymi obrażeniami załóg trafionego pojazdu.

Słowa kluczowe: pociski kumulacyjne, strumień kumulacyjny, modele ciała ludzkiego

W16

Interdyscyplinarna problematyka zatruc środkami zastępczymi oraz nowymi środkami psychoaktywnymi. Analiza przypadku z Zakładu Medycyny Sądowej UM w Poznaniu

Klaudia Dolińska-Kaczmarek¹, Bartosz Burchardt¹, Artur Tężyk¹, Czesław Żaba¹

¹ Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

W ostatnich latach w Polsce obserwuje się znaczący spadek liczby zatruc środkami zastępczymi (ZŚ) oraz nowymi środkami psychoaktywnymi (NSP). Zatrucia najczęściej dotyczą osób między 20 a 39 rż. Zgony w wyniku przedawkowania SZ i/lub NSP stanowią niewielki odsetek wszystkich zatruc. Jednym ze stosowanych środków zastępczych jest amfetamina zaliczana do grupy II P środków psychotropowych.

Opis przypadku: Do szpitala powiatowego w miejscowości G. zgłosił się 23-letni mężczyzna. Zgłaszał złe samopoczucie po zażyciu amfetaminy. Z relacji pacjenta było to jego pierwsze zażycie substancji psychotropowej. Pomimo udzielonej pomocy stan mężczyzny gwałtownie się pogorszył. Pacjent został przeniesiony na Oddział Intensywnej Terapii, gdzie zmarł. Sekcja zwłok nie wykazała udziału osób trzecich. W badaniach histopatologicznych zaobserwowano ostre niedokrwienie mięśnia sercowego, obrzęk płuc i mózgu. Jako przyczynę zgonu ustalono ostre zatrucie amfetaminą, której stężenie wyniosło 21,7 ug/l.

Za minimalną jednorazową dawkę śmiertelną przyjmuje się 200 mg amfetaminy, natomiast zgony po jej zażyciu obserwuje się już przy stężeniu 0,5 ug/l. Stężenie środka u pacjenta przekroczyło więc ponad 40 razy minimalne stężenie śmiertelne. Ostre zatrucie amfetaminą i jej pochodnymi oraz innymi środkami zastępczymi i nowymi środkami psychotropowymi stanowią stosunkowo rzadkie rozpoznania kliniczne, wymagają jednak szybkiego rozpoznania i wdrożenia leczenia. U każdego pacjenta, u którego doszło do zatrucia po jednorazowym zażyciu środków psychotropowych należy rozważyć motywy suicydalne.

Każdy przypadek ostrego zatrucia środkami psychotropowymi powinien być możliwie szybko rozpoznany i leczony, aby uniknąć zgonu pacjenta. Zatrucia śmiertelne ZŚ i NSP stanowią rzadki przypadek w praktyce zarówno klinicznej jak i sądowo-lekarskiej. Z klinicznego punktu widzenia istotne jest szybkie rozpoznawanie i leczenie zatruc środkami psychotropowymi, które stanowią zagrożenie życia i nieleczone prowadzą do zgonu.

Słowa kluczowe: zatrucie, środki zastępcze, nowe substancje psychoaktywne

W17

Diagnostyka pośmiertna malarii w przypadku zaawansowanego rozkładu gnilnego zwłok

Magdalena Kusior¹, Artur Moskała¹, Danuta Piniewska-Róg¹, Marek Sanak¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Malaria jest tropikalną chorobą pasożytniczą, wywoływaną przez pięć gatunków zarodźca malarii (*Plasmodium*). Diagnostyka malarii u osób zmarłych, poddawanych sekcji zwłok jest utrudniona, w szczególności w przypadkach zwłok objętych rozkładem. W przypadkach zgonów z powodu malarii zmiany makroskopowe są niespecyficzne i obejmują m.in. obrzęk mózgu, obrzęk płuc, hepatosplenomegalię, niekiedy również obecność wybroczyn. Dość typową ale również niespecyficzną obserwacją w badaniach histopatologicznych jest obecność mnogich, rozsianych zakrzepów w drobnych naczyniach krwionośnych, głównie w zakresie mózgu, wątroby, śledziony, płuc i mięśnia sercowego. Wśród badań dodatkowych dokonuje się również mikroskopowej oceny rozmazów krwi, aczkolwiek ze względu na postępującą hemolizę krwi, badanie to wraz z postępującym rozkładem gnilnym zwłok staje się niemożliwe. Ponadto procesy pośmiertne utrudniają lub wręcz uniemożliwiają zastosowanie szybkich testów opartych na metodach immunochromatograficznych. W przypadku zaawansowanego rozkładu, jedyną opcją rozpoznania zakażenia malarią staje się wykonanie reakcji real-time (RT – PCR), wykrywającej obecność materiału genetycznego zarodźca w wycinkach pobranych z poszczególnych narządów.

Niniejsza praca dotyczy przypadku rozpoznania śmiertelnej malarii mózgowej u 23-letniego mężczyzny rasy kaukaskiej, który tymczasowo przebywał w Afryce. W lokalnym szpitalu przeprowadzono sekcję zwłok, a następnie zwłoki zabalsamowano i przechowywano w chłodni przez 8,5 miesięcy. Następnie ciało zmarłego przetransportowano do Polski, gdzie ponownie wykonano sekcję zwłok.

Ze względu na uprzednio wykonaną sekcję zwłok oraz zaawansowanie rozkładu gnilnego, dalsza diagnostyka pośmiertna była znacznie utrudniona. Brak było możliwości dokonania pełnej oceny makroskopowej i mikroskopowej narządów, w zwłokach nie stwierdzono krwi, której próbka pozwoliłaby na zastosowanie klasycznych metod diagnostycznych. Wykonano badanie RT-PCR z materiału genetycznego uzyskanego z mózgu, serca, płuc, nerki, wątroby i śledziony. Stwierdzono obecność materiału genetycznego pasożyta w próbkach uzyskanych z mózgu, płuc, nerki, wątroby i śledziony, natomiast w mięśniu sercowym nie stwierdzono obecności poszukiwanego DNA. Uzyskane wyniki pozwoliły na jednoznaczne potwierdzenie ciężkiej postaci malarii mózgowej, która stała się przyczyną zgonu pokrzywdzonego.

Słowa kluczowe: malaria, pośmiertna mikrobiologiczna diagnostyka molekularna

W18

Czy nałożenie się urazu na istniejącą wcześniej zmianę chorobową miało wpływ na mechanizm zgonu? Opis przypadku naczyniaka jamistego wątroby

Kacper Szczepaniak¹, Wojciech Sadowski¹

¹ Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Naczyniak jamisty wątroby jest najczęstszym łagodnym nowotworem wątroby. W większości przypadków naczyniaki jamiste nie powodują dolegliwości i zazwyczaj są wykrywane przypadkowo w trakcie diagnostyki obrazowej z innych powodów. Mimo swojej częstotliwości naczyniaki jamiste wątroby w przeważającej większości nie wymagają żadnego leczenia, powikłania z nimi związane, do których należy między innymi pęknięcie naczyniaka, zarówno samoistne jak i na skutek urazu, są bardzo rzadkie. W niniejszej pracy przedstawiono przypadek 41 letniego mężczyzny znalezionej martwego w pokoju hotelowym. Oględziny zewnętrzne zwłok wykazały skąpe plamy opadowe oraz obecność kilku zasinień na powłokach głowy, tułowia i kończyn. Sekcja zwłok wykazała obecność 2700 ml płynnej krwi i skrzepów w jamie otrzewnej oraz obecność pękniętego naczyniaka jamistego wątroby, nie ujawniono złamań kości. W celu oceny czy stwierdzone obrażenia mogły mieć wpływ na mechanizm zgonu dokonano analizy opisów przypadków pęknięć naczyniaków jamistych wątroby w latach 1990 – 2023. Po dokonanej analizie uznano, że nie ma niepodważalnych dowodów na to, że stwierdzone obrażenia miały bezpośredni wpływ na mechanizm zgonu. Powyższy przypadek ilustruje, że w przypadku zmian chorobowych, których powikłania występują relatywnie rzadko, opinowanie jest niezwykle trudne i wymaga dokładnego zapoznania się z dostępną literaturą.

Słowa kluczowe: naczyniak jamisty, uraz, zgon

W19

Problematyka związana z czynnością stwierdzenia zgonu w oparciu o doświadczenia Zakładu Medycyny Sądowej w Poznaniu związane z prowadzeniem stałego dyżuru lekarskiego na terenie Wielkopolski

Bartosz Burchardt¹, Czesław Żaba¹

¹ Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

W ostatnich miesiącach doszło w Polsce do istotnej zmiany regulacji prawnych dotyczących czynności stwierdzenia zgonu. Zmiany obejmowały przede wszystkim nadanie uprawnień uprzednio będących wyłączną prerogatywą lekarza również kierownikowi ze-

społu podstawowego ratownictwa medycznego (ratownikowi medycznemu/pielęgniarczy). Zmiany związane z opisywaną powyżej zmianą znacząco wpłynęły na zapotrzebowanie na usługi lekarzy powoływanych przez powiaty tzw. "koronerów" jak i będących na dyżurze specjalistów/rezydentów medycyny sądowej.

Ze względu na ułomność posiadanych danych zdecydowano się oprzeć liczbę przeprowadzonych czynności w ramach dyżuru o dane księgowe obejmujące liczbę wystawionych faktur przyjmując założenie 1 faktura = 1 czynność dyżurna. W 2021 roku wystawiono dla płatników (komend policji oraz prokuratur okręgowych) 913 faktury, w 2022 – 859 faktury. Należy jednak pamiętać, że dane nie obejmują czynności podejmowanych w ramach umów podpisanych z innymi podmiotami co zostanie wyjaśnione w wystąpieniu na konferencji.

Obowiązujące w Polsce prawo dotyczące stwierdzania zgonów jak i regulujące udział medyka sądowego w tym procesie pochodzi sprzed kilkudziesięciu lat. Dodatkowo w ostatnim czasie wprowadzono do niej zmiany odstające od standardów znanych w innych krajach Unii Europejskiej w których to pozostałych krajach zgon jest stwierdzany wyłącznie przez lekarza. Należy zwrócić również uwagę, na problematykę braku dostępności specjalistów medycyny sądowej w trybie całodobowym na terenie całego kraju który to problem powoduje brak możliwości obywatelskiej jego obecności na każdym miejscu oględzin zwłok prowadzonych przez prokuratora. W związku z powyższym przybliżenie dyżurowej działalności Zakładu Medycyny Sądowej

W związku z powyższym przybliżenie dyżurowej działalności Zakładu Medycyny Sądowej spełnia swoją rolę wypełniając lukę systemową dodatkowo pogłębiają wprowadzonymi zmianami legislacyjnymi które weszły w życie w 2023 roku.

Słowa kluczowe: medycyna sądowa, stwierdzanie zgonów, koroner, ustawa o cmentarzach i chowaniu zmarłych

W20

Miażdżyca naczyń tętnicznych – skale oceny post mortem

Ewa Juźwik-Kopacz¹, Artur Moskała¹, Paweł Kopacz¹, Ewa Rzepecka-Woźniak¹, Krzysztof Woźniak¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Miażdżyca naczyń tętnicznych jest najczęstszą patologią tętnic spotykaną u coraz to młodszych przedstawicieli populacji. Prowadzi do szeregu powikłań, w tym najcięższych: przewlekłej niewydolności krążenia, zawałów serca oraz udarów mózgu będących przyczynami zgonu. Celem niniejszej pracy jest przegląd stworzonych dotychczas skal oceny miażdżycy w badaniach pośmiertnych: sekcji zwłok, pośmiertnych badaniach obrazowych i badaniach mikroskopowych z odniesieniem do skal klinicznych. Praca przedstawia również wstępne wyniki autorskiego badania prospektywnego mającego na celu stworzenie jednolitej skali opisu i oceny zmian miażdżycowych na użytek medycyny sądowej sekcji zwłok. Bada-

nie to składało się z dwóch etapów: I – retrospektywnego polegającego na ocenie opisów zmian miażdżycowych w 200 przypadkach, w których również przeprowadzono pośmiertne badanie tomografią komputerową (PMCT); oraz II – prospektywnego, gdzie ocena obejmie jednocześnie zmiany miażdżycowe widoczne w klasycznym sądowo-lekarskim badaniu sekcyjnym, obraz naczyni zarejestrowany w badaniu PMCT oraz obraz mikroskopowy celowanych wycinków wytypowanych lokalizacji naczyniowych. Drugi etap uwzględni podział na grupę badawczą – przypadki zgonów na tle sercowo-naczyniowym i grupę kontrolną a także podział na grupy wiekowe. Wstępne wyniki określają przydatność każdej z metod (sekcja zwłok, PMCT, histopatologia) do oceny zmian miażdżycowych post mortem, ich zalety i ograniczenia.

Słowa kluczowe: miażdżycyca, skala oceny, sekcja zwłok, PMCT, histopatologia

W21

Ortodontycznie indukowana resorpcja korzeni w trakcie leczenia stałym aparatem ortodontycznym – studium przypadku

Mariusz Glapiński¹, Mariusz Koliński²

1 Zakład Anatomii Prawidłowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

2 Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Ortodontycznie indukowana resorpcja korzeni (orthodontically induced root resorption – OIRR) jest częstym powikłaniem leczenia ortodontycznego. Proces ten polega na skróceniu i zaokrągleniu wierzchołków korzeni zębów, jednak rzadko dochodzi przy tym do wystąpienia objawów klinicznych. Zjawisko to nie jest w pełni wyjaśnione, a współcześnie przyjmuje się, że przy pewnych uwarunkowaniach genetycznych pacjenta siły wyzwalane przez aparat ortodontyczny aktywują działanie osteoklastów w okolicy okołowierzchołkowej doprowadzając do resorpcji tkanek twardych korzenia. Z uwagi na brak objawów klinicznych resorpcja wykrawana jest zazwyczaj w badaniu radiologicznym (na zdjęciach małoobrazkowych, pantomograficznych lub w tomografii CBCT) jako charakterystyczne obrazy skróconych i zaokrąglonych korzeni. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie i omówienie przypadku ortodontycznie indukowanej resorpcji korzeni (OIRR) w trakcie leczenia ortodontycznego na przykładzie materiału post mortem.

Słowa kluczowe: stomatologia, ortodontycja, resorpcja

W22

Opiniowanie sądowo-lekarskie w prawie ziemskim, miejskim, wiejskim i kanonicznym w Rzeczypospolitej Obojga Narodów (od XVI DO XVIII stulecia)

Malwina Dębicka¹

1 Katedra Historii Prawa, Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet Gdański

Celem niniejszego wystąpienia jest ukazanie dziejów opiniowania sądowo-lekarskiego w dawnym prawie obowiązującym na dawnych terenach Rzeczypospolitej od XVI do XVIII stulecia. W referacie ukazano działalność pierwszych biegłych (lekarzy, matron, felczerów, barberów, łaziebników i urzędników) zajmujących się sprawami z zakresu medycyny sądowej w kraju, a także najważniejsze regulacje prawne dotyczące orzecznictwa sądowo-lekarskiego. Dodatkowo w wystąpieniu opisano pionierskie sposoby wykonywania oględzin i sekcji zwłok, a także ukazano najstojniejsze procesy historyczne, gdzie wiedza ekspertów medycyny była nieodzowna.

Słowa kluczowe: felczer, fizyk, ministerialis, oględziny, obdukcje, autopsje, lekarze, matrony

W23

„Zapowietrzone serce” jako skutek obrażeń głowy

Aleksandra Borowska-Solonyńko¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Zatorowość gazowa serca (ZGS) jest zjawiskiem znanym. Jej stwierdzenie w czasie sekcji zwłok wymaga jednak wykonania celowanych prób, a zatem wykrycie ZGS jest warunkowane podejrzeniem przez obducenta istnienia takiego powikłania w danym przypadku. Dość często takie próby przeprowadzane są w u zmarłych z ranami szyi skutkującymi uszkodzeniem naczyń żylnych, ale rzadko u zmarłych z obrażeniami głowy. Zastosowanie pośmiertnej tomografii komputerowej (PTK) pozwala na łatwe wykrycie ZGS bez konieczności selekcji przypadków i dodatkowych działań. Wykonywanie PTK skutkuje zwiększoną wykrywalnością ZGS co narzuca konieczność ustalenia znaczenia ZGS w różnych rodzajach zgonów w tym w urazach głowy.

Celem niniejszej pracy jest próbą ustalenia w jakich rodzajach urazów głowy można spodziewać się ZGS i czy ma to ma znaczenie w kontekście opiniodawczym.

Analizie poddano 19 przypadków osób u których wykonano PTK, zmarłych w wyniku różnego rodzaju urazów skutkujących obrażeniami głowy, których zgon nastąpił na miejscu zdarzenia a zwłoki nie były objęte wyraźnymi zmianami gnilnymi.

Obecność gazu w sercu stwierdzono w 9 przypadkach, przy czym w 6 z nich gaz obecny był tylko w prawej komorze serca zaś w 3 zarówno w prawej jak i w lewej. Największą liczbę przypadków ZGS stwierdzono w grupie upadków z wysokości (UW) – gaz w prawej komorze serca występował w 4 na 5 przypadków UW co jest ciekawe w kontekście tego, że ZGS kojarzona jest z pozycją spionizowaną tj. taką w której uszkodzenie/obrażenie przez które powietrze jest zaciągane do naczyń krwionośnych a następnie do serca, znajduje się powyżej serca. W odniesieniu do dwóch postrzałów głowy – mimo, że oba zostały dokonane przez osoby w pozycji siedzącej – tylko w jednym z nich stwierdzono ZGS. Istotnym czynnikiem warunkującym obecność ZGS wydaje się być fakt rozerwania opony twardej – na 9 przypadków z rozerwaniem opony twardej w 6 stwierdzono ZGS, zaś na 10 przypadków, gdzie opona twarda nie była uszkodzona tylko w 3 z nich stwierdzono ZGS. Konieczne jest jeszcze dokonanie porównania struktur anatomicznym czaszki, które zostały uszkodzone oraz ustalenie samego znaczenia obecności gazu w sercu w kontekście przyczyn zgonu w poszczególnych przypadkach. Analiza taka zostanie przeprowadzona i zaprezentowana.

Słowa kluczowe: zatorowość gazowa serca, pośmiertna tomografia komputerowa, obrażenia głowy

W24

Różnicowanie zatoru gazowego serca z obecnością gazów gnilnych w jamach serca na podstawie pośmiertnego badania tomografią komputerową

Artur Moskała¹, Gabriela Szypuła², Gabriela Kanclerz², Krzysztof Woźniak¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

² Studenckie Koło Naukowe Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Zator gazowy serca jest jedną z trudniejszych do rozpoznania patologii w zakresie sądowno-lekarskiego badania pośmiertnego. Zjawisko to może wystąpić w szerokim spektrum przypadków objętych postępowaniem prokuratury, takich jak zmiany pourazowe (rany głowy, szyi, klatki piersiowej, kończyn), błędy medyczne, zgony ciężarnych. Są to sytuacje w których może dojść do gwałtownego zassania powietrza do układu naczyniowego (zator żylny).

Badaniem, które w znacznym zakresie zwiększa możliwości diagnostyki obecności gazu w jamach serca, zarówno w aspekcie liczby takich przypadków jak i objętości gazu, jest badanie pośmiertne tomografią komputerową (PMCT). Brak jest natomiast standardu, który pozwalał by różnicować żąźyciowe pochodzenie gazu w jamach serca ze skutkami zmian gnilnych.

Celem powyższej pracy jest próba określenia, na podstawie pośmiertnego badania tomografią komputerową i analizy statystycznej, w których lokalizacjach obecność gazu poza sercem będzie uprawdopodobniać pośmiertny charakter gazu stwierdzonego

w sercu, a w których będzie przemawiać za zaturem gazowym serca.

W pracy przeanalizowano pośmiertne badania tomografią komputerową przeprowadzone w Katedrze Medycyny Sądowej UJ CM w latach 2018-2019 i 2022. Przypadki oceniano w zakresie obecności gazu w jamach serca, głównych naczyniach tętnicznych i żylnych, jak również w zakresie spływu naczyń żylnych z głowy. Dane uzyskane z badania PMCT zestawiono z obserwacjami z klasycznego badania sekcyjnego w zakresie najistotniejszych obrażeń i zmian chorobowych samoistnych, przyczyny zgonu, czasu pomiędzy zgonem a badaniem pośmiertnym oraz możliwych dróg, którymi gaz mógł dostać się do układu naczyniowego w danym przypadku.

W celu weryfikacji czy obecność gazu w jamach serca ma charakter żąźyciowy, czy też wynika ze zmian gnilnych poddano ocenie obecność gazu w innych lokalizacjach, wytypowanych głównie w oparciu o RA-Index (jama czaszki, wątroba, nerki, krąg L3, aorta brzuszna). Ocena, które z lokalizacji korelują z obecnością gazu jako wynikiem późnych zmian pośmiertnych, a które w większym stopniu odpowiadają aspiracji powietrza i tym samym wskazują na zator gazowy serca, będzie przeprowadzona w oparciu o analizę statystyczną.

Słowa kluczowe: pośmiertne badania obrazowe, pośmiertna tomografia komputerowa, zator gazowy serca, późne przemiany pośmiertne

W25

Cienka granica między SIDS a uduszeniem gwałtownym – czy mamy kryteria różnicowania?

Aleksandra Borowska-Solonyńko¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

SIDS (z ang. sudden infant death syndrome) stanowi podgrupę nagłych niespodziewanych zgonów niemowląt (SUDI z ang. sudden unexpected death in infancy). Istotnym jest, że modyfikowalne czynniki ryzyka SIDS takie jak: spanie niemowlęcia na brzuchu, spanie z rodzicami (w szczególności z rodzicami pod wpływem alkoholu oraz narkotyków), spanie w miękkim łóżku lub w otoczeniu poduszek i innych miękkich przedmiotów mogących zatkać otwory ust i nosa, są jednocześnie czynnikami ryzyka uduszenia gwałtownego. SIDS często utożsamiany jest z zaburzeniami funkcjonalnymi/rozwojowymi ośrodka oddechowego w pniu mózgu lub samego układu oddechowego, które to prowadzą do zgonu niemowlęcia, gdy na niemowlę obciążone tymi zaburzeniami zadziałają wymienione powyżej czynniki ryzyka SIDS tzw. stresory.

Celem pracy jest rozważenie, czy SIDS należy traktować jako zgon naturalny czy gwałtowny? Czy są przypadki tzw. zgonów łóżeczkowych, w których w opinii należy jasno podać, że zgon był spowodowany uduszeniem gwałtownym? Czy i jak należy różnicować SIDS od uduszenia gwałtownego spowodowanego nieprawidłowym środowiskiem snu dziecka?

Jako podłoże do rozważań, przedstawione są dwa przypadki zgonów niemowląt. Pierwszy zgon dotyczy dwumiesięcznej dziewczynki drugi zaś trzymiesięcznego chłopca. W obu przypadkach do zgonu doszło podczas snu, przy czym niemowlęta te spały ze swoimi matkami w jednym łóżku, a matki te były pod wpływem alkoholu etylowego. W przypadku chłopca utrwalone plamy opadowe wskazywały ewidentnie na to, że spał on na brzuchu. W obu przypadkach w okolicy ust ujawniono bardzo niewielkie obrażenia o charakterze ubytków naskórka. Nie obserwowano wybroczyn krwawych w obrębie spojówek ani błon śluzowych jam ustnych. Natomiast obecne były liczne wybroczyny krwawe pod opłucną płucną a w przypadku chłopca także na powierzchni grasicy i pod nasierdziem. U dziewczynki sekcyjnie stwierdzono obecność patologicznej, śluzowo-ropnej treści w uchu środkowym. W obu przypadkach były odczynowo powiększone węzły chłonne krezki jelita cienkiego a w pęcherzu moczowym znajdował się tylko ślad moczu. Badania mikroskopowe nie wykazały cech zapalenia płuc – płuca były przekrwione i obrzęknięte. Poszerzona diagnostyka pośmiertna obejmująca także badanie pośmiertnej tomografii komputerowej nie wykazała zmian urazowych ani wad wrodzonych tłumaczących zgon.

Słowa kluczowe: SIDS, SUDI, uduszenie gwałtowne

W26

Zastosowanie odczynu immunohistochemicznego z wykorzystaniem przeciwciała przeciwko glikoforynie A w diagnostyce mikroskopowej wylewów krwawych w tkankach zautolizowanych

Ewa Rzepecka-Woźniak¹, Marta Konieczna – Waśkowska¹, Magdalena Czepiec¹, Klaudia Zębalska¹, Krzysztof Woźniak¹

¹ Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

W badaniu makroskopowym cechą zażyciowego powstania obrażeń ciała jest stwierdzenie podbiegnięć krwawych w tkankach miękkich. Procesy autolizy i rozkładu gnilnego mogą w znaczący sposób utrudnić ocenę obecności podbiegnięć krwawych. W takich przypadkach pomocne może być wykonanie badania histopatologicznego celem mikroskopowej weryfikacji wylewów krwawych.

Badania polegały na wykazaniu obecności erytrocytów w tkankach zautolizowanych przy zastosowaniu odczynu immunohistochemicznego z wykorzystaniem przeciwciała przeciwko glikoforynie A (białko powierzchniowe erytrocytów).

W pracy przedstawiono przykłady zastosowania odczynu immunohistochemicznego z uwzględnieniem zasad interpretacji wyniku w zależności od rodzaju badanej tkanki czy też stopnia nasilenia zmian pośmiertnych.

Podstawowym, rutynowym barwieniem w diagnostyce histologicznej jest barwienie z użyciem dwóch barwników hematoksyliny i eozyny. Ten sposób barwienia preparatów histologicznych umożliwia ocenę mikroskopową tkanek i komórek przede wszystkim w tkankach dobrze zachowanych, niewykazujących cech nasilonej autolizy czy też gnicia. Następnym ustaniem procesów życiowych na poziomie komórkowym jest proces niszczenia komórki przez jej własne enzymy, czyli tzw. autoliza. Z uwagi na różnicowanie komórek zmiany te nie zachodzą jednocześnie we wszystkich tkankach. W preparatach mikroskopowych tkanek zautolizowanych typowo stwierdza się zanik barwliwości jąder (wskutek rozpadu chromatyny jądrowej) i jednolicie eozynochłonną barwliwość pozostałych struktur.

W erytrocytach proces autolizy występuje dość wcześnie skutkując zwiększeniem przepuszczalności błony komórkowej i przechodzeniem hemoglobiny do osocza, efektem czego jest obraz hemolizy (makroskopowo widoczne jest brudnoróżowe lub brudnowiśniowe podbarwienie tkanek, co może być mylnie interpretowane jako wylew krwawy).

W preparatach mikroskopowych pochodzących z tkanek wykazujących znaczne zaawansowanie procesów autolizy, a barwionych rutynowo hematoksyliną i eozyną, erytrocyty mogą być prawie niewidoczne. Odczyn immunohistochemiczny z wykorzystaniem przeciwciała przeciwko glikoforynie A pozwala na identyfikację obecności erytrocytów.

Słowa kluczowe: badanie pośmiertne, podbiegnięcie krwawe, autoliza, immunohistochemia, glikoforyna A

W27

Rola medycyny sądowej w podnoszeniu bezpieczeństwa pacjenta i personelu medycznego na przykładzie procesu karnego z podejrzeniem błędu medycznego w położnictwie

Agnieszka Nowak¹, Agnieszka Droszdol-Cop², Elżbieta Chełmecka³

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

² Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³ Katedra Analizy Instrumentalnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

W pracy założono, że wnioski z analizy akt spraw karnych prowadzonych z podejrzeniem błędu medycznego w położnictwie, mogą być wykorzystane w celu podniesienia bezpieczeństwa pacjenta i personelu medycznego.

Analizie poddano 68 prawomocnie zakończonych spraw karnych, w których przedmiotem postępowania była ocena związku pomię-

dzy zachowaniem personelu medycznego podczas prowadzenia ciąży/porodu a zaistniałym skutkiem w postaci uszczerbku na zdrowiu/zgonem płodu/dziecka lub narażeniem na taki skutek. W pozyskanych aktach identyfikowano pacjentkę, zasadność zgłoszenia skargi, osobę uznaną winną popełnionego przestępstwa oraz czyn będący podstawą skazania.

Pacjentka, której płód/dziecko doświadczyło objętego postępowaniem zdarzenia niepożądanego jest osobą w wieku 29±6 lat, o wykształceniu średnim lub wyższym (73%), aktywną zawodowo (69%), rodzącą w pełnym terminie, której płód/dziecko w 84% przypadków doświadczyło ciężkiego uszczerbku na zdrowiu i/lub zgonu. 73% wniesionych skarg zakończyło się umorzeniem postępowania. Uznany przez sąd czyn zabroniony popełniony przez personel medyczny w 78% polegał na zaniechaniu śródporodowej oceny dobrostanu płodu. W 72% przypadków w ocenie sądu błąd diagnostyczny skutkowało błędem terapeutycznym (zaniechaniem albo opóźnieniem decyzji o cesarskim cięciu). W 82% błąd został popełniony przez lekarza, mężczyznę, specjalistę położnictwa i ginekologii, w wieku 49,5 (45,0–57,0) lat, zatrudnionego w jednostkach o I poziomie referencyjności.

Najczęstszą przyczyną uznania winy było nieostrożne zachowanie położnika w ocenie dobrostanu płodu w okresie opieki przed- i śródporodowej w ciąży w pełnym i późnym terminie. Poprawy wymaga ustawiczne szkolenie podyplomowe lekarzy specjalistów z zakresu położnictwa i ginekologii (szczególnie mężczyzn ok. 50. roku życia), głównie w zakresie opieki okołoporodowej. Zasadne jest dążenie do wypracowania narzędzi służących obniżeniu liczby skarg poprzez edukację pacjentów i zwiększenie ich świadomości w zakresie ryzyka zdarzeń niepożądanych. Pożądane jest stworzenie systemu gromadzenia informacji będących w posiadaniu Katedr Medycyny Sądowej o zaistniałych zachowaniach nieostrożnych dla poszczególnych specjalności medycznych. Celem powyższego miałyby być modyfikacja szkolenia podyplomowego personelu medycznego oraz algorytmów postępowania z chorym.

Słowa kluczowe: opinia medyczno-sądowa, biegły, prawo karne, błąd medyczny w położnictwie, wyrok, bezpieczeństwo pacjenta

W28

Zastosowanie Diamond™ Nucleic Acid Dye do analizy DNA w śladzie daktyloskopijnym

Martyna Czarnomska¹, Aneta Lewkowicz¹, Emilia Gruszczyńska¹, Zygmunt Gryczyński², Piotr Bojarski¹, Sławomir Steinborn³

1 Wydział Matematyki, Fizyki i Informatyki, Uniwersytet Gdański

2 Wydział Fizyki i Astronomii, Texas Christian University

3 Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet Gdański

Ślady daktyloskopijne zabezpieczone na miejscu zdarzenia dostarczają nam dwóch kluczowych informacji mogących posłużyć jako dowód w postępowaniu – układu linii papilarnych oraz DNA. Proces profilowania DNA jest powszechnie stosowaną metodą w laboratoriach kryminalistycznych na całym świecie, jednak

kluczowym problemem jest wizualizacja i lokalizacja materiału genetycznego. Źle dobrane metody wizualizacji bądź stosowanie toksycznych barwników mogą doprowadzić do zanieczyszczenia bądź zniszczenia materiału. Zastosowanie barwnika Diamond™ Nucleic Acid Dye (DD) umożliwia wizualizację DNA w liniach papilarnych, ale również oznaczenie śladowej ilości DNA zebranego z odbitek linii papilarnych. DD dzięki dużej niższej toksyczności w porównaniu do innych barwników fluorescencyjnych wiążących się z DNA jak na przykład bromek etydyny, jest proponowany jako konkurencyjny barwnik stosowany w wielu badaniach dotyczących detekcji DNA.

Nasze badania prezentują zastosowanie barwnika DD do wizualizacji DNA w śladach daktyloskopijnych (tzw. mapowanie DNA). W tym celu wykorzystano mikroskop stereoskopowy z fluorescencją, mikroskop odwrócony z fluorescencją oraz direct PCR i poziomą elektroforezę żelową.

Słowa kluczowe: ślady daktyloskopijne, DNA, Diamond™ Nucleic Acid Dye, spektroskopia, fluorescencja

W29

Ocena wieku zębowego w polskiej populacji dzieci oraz osób dorosłych

Katarzyna Wochna¹, Monika Łukomska-Szymańska¹, Monika Domarecka¹, Ewa Zmysłowska-Polakowska¹, Emilia Sobczak¹, Jarosław Berent¹, Anna Smędra¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Profilowanie biologiczne, w tym ocena wieku zębowego, stanowi ważny element identyfikacji osobniczej w sytuacji, gdy tożsamość osoby zmarłej nie jest znana. Jednocześnie coraz częściej pojawia się zapotrzebowanie na ocenę wieku zębowego także u osób żywych, wtedy, kiedy osoba żywa albo nie zna swojej daty urodzenia albo też celowo ją zmienia. Takie przypadki zdarzają się np. u nielegalnych imigrantów, uchodźców, ale również w świecie sportu (ang. age cheating), czy w przypadku osób z zaburzeniami neurodegeneracyjnymi, amnezją lub będących ofiarami handlu ludźmi. Konieczne jest jednak, aby badania te były zwalidowane dla danej populacji. Takie badania mają ogromny wymiar praktyczny dla organów powołanych do ścigania przestępstw i wymiaru sprawiedliwości.

Celem naszej pracy jest zwalidowanie powszechnie stosowanych na świecie metod oceny wieku zębowego dla populacji polskiej.

Do pierwszego etapu badań wykorzystano zanonimizowane archiwalne zdjęcia ortopantomograficzne (OPG) pacjentów Instytutu Stomatologii Centralnego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zostały one ocenione według metodologii opracowanej dla różnych metod oceny wieku zębowego pod względem zmian rozwojowych zachodzących w narządzie żucia (przede wszystkim stadia mineralizacji zawiązków zębów), ale również fizjologicznych zmian starzeniowych. Opracowanie statystyczne wyników pozwoliło skorelować je z wynikami dla innych populacji.

Słowa kluczowe: wiek zębowy, populacja polska

W30; G1

Fenotypowanie DNA w praktyce – czy możemy mówić już o rzetelnym świadku naocznym?

Marta Diepenbroek¹

1 Instytut Medycyny Sądowej, Uniwersytet Ludwika i Maksymiliana w Monachium

Pierwsze prace naukowe rozważające wprowadzenie w kryminalistyce genetycznych predykcji wyglądu, biopochodzenia oraz wieku biologicznego sprawcy opublikowano już ponad dekadę temu. Na przestrzeni lat nastąpiło wiele zmian, zarówno na poziomie technologicznym, jak i prawnym. Obecnie dostępnych jest wiele rozwiązań, od tych bazujących wciąż na technologii SNaPshot, po panele przeznaczone na platformy NGS, które oferują możliwość oznaczenia wszystkich wyżej opisanych cech w ramach pojedynczej reakcji PCR. Jeśli chodzi o aspekty prawne, w Europie, w wielu krajach fenotypowanie DNA ugruntowane zostało przepisami – zezwalającymi lub zakazującymi przeprowadzania predykcji. Istnieją też państwa, w których analizy te pozostają w tzw. „szarej strefie”, nie mając jednoznacznie określonej sytuacji prawnej. O ile kwestia predykcji potencjalnego wyglądu zewnętrznego i wieku biologicznego sprawcy czy ofiary przestępstwa budzą mniejsze kontrowersje, tak genetyczna analiza biopochodzenia spotyka się z większym oporem w środowisku etyków i polityków. Natomiast, z perspektywy praktyków, czyli specjalistów genetyki sądowej, wiadomo, że to właśnie najbardziej kompleksowe analizy i predykcje pozwalają na wyciągnięcie możliwie najlepszych wniosków.

Wstęp wykładu obejmować będzie omówienie na poziomie ogólnym dostępnych rozwiązań do predykcji wyglądu i biopochodzenia, natomiast główna część wystąpienia zostanie poświęcona przykładom i doświadczeniom własnym, zebranych w czasie 5 lat praktycznego stosowania fenotypowania DNA w laboratorium sądowym.

Słowa kluczowe: FDP, fenotypowanie DNA, biopochodzenie

W31; G2

Perspektywy wykorzystania markerów SNP w predykcji pochodzenia biogeograficznego w obrębie populacji europejskich

Karolina Hołub¹, Urszula Rogalla¹, Marcin Woźniak¹, Magdalena Spólnicka², Rafał Płoski³, Wojciech Branicki⁴, Tomasz Grzybowski¹

1 Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

2 Centrum Nauk Sądowych, Uniwersytet Warszawski

3 Zakład Genetyki, Warszawski Uniwersytet Medyczny

4 Instytut Ekspertyz Sądowych im Prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Określanie pochodzenia biogeograficznego ma istotną wartość w analizie próbek dowodowych, kiedy informacje o sprawcy czy ujawnionych szczątkach lub śladzie biologicznym są ograniczone. Wykorzystanie w tym celu markerów molekularnych, takich jak polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP), polimorfizmy insercyjno-delecyjne (In-Del), krótkie powtórzenia tandemowe (STR) a także markery haploidalne (NRY i mtDNA) staje się coraz powszechniejsze, jednak ich przydatność zależy w głównej mierze od odpowiedniego doboru wspomnianych markerów – w przeważającej większości informacje uzyskiwane z analiz pozwalają na przyporządkowanie próbek zaledwie do grup kontynentalnych, nie dając bardziej szczegółowych wskazówek co do pochodzenia. Z tego względu podjęto próbę wytypowania zestawu markerów SNP cechujących się szczególną wartością w przypadku klasyfikacji próbek pochodzenia środkowo- i wschodnioeuropejskiego. Przeprowadzono analizy obejmujące ocenę informatywności wytypowanego zestawu markerów stosując również algorytmy służące ocenie struktury populacji i klasyfikujące próbki. W badaniach uwzględniono materiał z repozytorium Katedry Medycyny Sądowej CM UMK pochodzący z populacji słowiańsko-języcznych, dane pochodzące z projektu „Nasze Genomy”, a także próbki z populacji niestowiańskich wyekstrahowane z bazy IGSR. Uzyskane wyniki pozwoliły wskazać 49 loci przydatnych w badaniach z zakresu ustalania pochodzenia biogeograficznego, a analizy struktury populacji i wyniki klasyfikacji próbek pochodzących z poszczególnych populacji wykazały, że wybrany zestaw markerów genetycznych odróżnia populacje słowiańskie od niestowiańskich populacji europejskich.

Słowa kluczowe: pochodzenie biogeograficzne, Europa, Słowianie, polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP)

W32; G3

Profilowanie epigenetyczne sprawcy przestępstwa – predykcja wieku i stylu życia dla potrzeb kryminalistycznych.

Wojciech Branicki^{1,2}, Rezvan Noroozi³, Joanna Rudnicka³, Aleksandra Pisarek², Aleksander Masny⁴, Michał Boroń⁴, Kamila Migacz-Gruszka⁵, Paulina Pruszkowska-Przybylska⁶, Magdalena Kobus⁶, Dagmara Lisman⁷, Małgorzata Michalczyk⁸, Piotr Kaczka⁸, Michał Krzysztofik⁸, Danuta Piniewska-Róg⁹, Bożena Wysocka⁴, Aneta Sitek⁶, Andrzej Ossowski⁷, Magdalena Spólnicka¹⁰, Ewelina Pośpiech^{3,7}

1 Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie

2 Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński

3 Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

4 Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji w Warszawie

5 Katedra i Klinika Dermatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

6 Zakład Antropologii, Uniwersytet Łódzki

7 Zakład Genetyki Sądowej, Pomorski Uniwersytet Medyczny

8 Akademia Wychowania Fizycznego im. Jerzego Kukuczki w Katowicach

9 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum,
Uniwersytet Jagielloński
10 Centrum Nauk Sądowych Uniwersytetu Warszawskiego

Dostępne zegary epigenetyczne umożliwiają dokładną predykcję wieku chronologicznego oraz szacowanie związanych z wiekiem parametrów ryzyka śmiertelności i tempa starzenia. Dodatkowo, analiza wzoru metylacji DNA daje coraz szersze możliwości uzupełnienia profilu sprawcy przestępstwa o informacje na temat jego stylu życia. Praktyczne zastosowanie narzędzi epigenetycznych w kryminalistyce wiąże się z koniecznością przeprowadzenia odpowiednich analiz walidacyjnych dostępnych metod analizy metylacji DNA oraz modeli predykcyjnych. Zegary epigenetyczne różnią się liczbą i składem analizowanych markerów metylacji, a także interpretacją wyznaczanych parametrów. Projekt EPIGENOM umożliwił zebranie danych epigenetycznych w zakresie mikromacierzy EPIC dla 741 próbek krwi i 221 wymazów z jamy ustnej pobranych od osób poddanych szczegółowej analizie fenotypowej.

Wygenerowane dane poddano analizie z zastosowaniem alternatywnych metod kontroli jakości i normalizacji, a następnie oceniono dokładność przewidywania wieku chronologicznego przy użyciu zegarów pierwszej i drugiej generacji. Najwyższą precyzję oszacowania wieku kalendarzowego uzyskano z zastosowaniem algorytmu predykcyjnego Skin & Blood (MAE = 2,47 lat i 3,86 lat, odpowiednio dla krwi i wymazów z jamy ustnej). Analizowane zegary epigenetyczne wykazały silny związek z czynnikami stylu życia. Badania wykazały korelację pomiędzy długością snu a zmniejszonym ryzykiem śmiertelności. Zmniejszone tempo starzenia odnotowano wśród osób praktykujących jogę, podczas gdy BMI, palenie papierosów i ogólny brak aktywności fizycznej zostały powiązane z podniesioną wartością parametrów PhenoAge, GrimAge, FitAge, i DunedinPACE. Spowolnione tempo starzenia się stwierdzono wśród osób o wyższym wykształceniu i wyższym statusie socjoekonomicznym. Projekt umożliwił identyfikację nowych epigenetycznych markerów starzenia i stylu życia.

Projekt nr DOB-BIO10/06/01/2019 finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach konkursu nr 10/2019 na wykonanie i finansowanie projektów w zakresie badań naukowych lub prac rozwojowych na rzecz obronności i bezpieczeństwa państwa.

Słowa kluczowe: genetyka sądowa, epigenom, predykcja wieku, predykcja stylu życia

W33; G4

Ewaluacja epigenetycznych predyktorów wieku w nasieniu

Aleksandra Pisarek¹, Joanna Rudnicka², Rezvan Noroozi², Bożena Wysocka³, Aleksander Masny³, Michał Boron³, Aneta Macur⁴, Jarosław Janeczko⁴, Marta Sikora-Polaczek⁵, Gabriela Kania⁵, Aneta Sitek⁶, Andrzej Ossowski⁷, Magdalena Spólnicka⁸, Wojciech Branicki¹, Ewelina Pośpiech^{2,7}

1 Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński
2 Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński
3 Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji w Warszawie
4 Centrum Leczenia Niepłodności PARENS w Krakowie
5 TFP Fertility Macierzyństwo
6 Katedra Antropologii, Uniwersytet Łódzki
7 Zakład Genetyki Sądowej, Pomorski Uniwersytet Medyczny
8 Centrum Nauk Sądowych, Uniwersytet Warszawski

Predykcja wieku epigenetycznego na podstawie analizy metylacji DNA jest dobrze ugruntowana dla wielu somatycznych komórek i tkanek, jednakże nadal istnieje pole do poprawy w zakresie estymacji wieku w plemnikach. Kalkulatory do estymacji wieku w komórkach somatycznych, nie znajdują zastosowania do badań wieku w nasieniu ze względu na specyficzny tkankowo wzór metylacji plemników. W niniejszym badaniu oceniliśmy dokładność predykcji wieku dla dwóch dostępnych w literaturze kalkulatorów wieku w nasieniu oraz wyselekcjonowaliśmy optymalny zestaw 8 markerów wieku dla plemników.

Próbki nasienia zebrano od ponad 200 mężczyzn z populacji polskiej. Poziom metylacji DNA wyznaczano z zastosowaniem technologii mikromacierzy EPIC oraz metody minisekwencjonowania. Analizę predykcyjną wieku przeprowadzono przy użyciu dostępnego kodu ComprehensiveGLACode.R w środowisku programu R [1] oraz modelu opisanego w pracy Lee i in. [2]. Analizy statystyczne, w tym modelowanie predykcyjne, przeprowadzono za pomocą programu IBM SPSS Statistics 28.

Wyższą dokładność predykcji ze średnim błędem bezwzględnym (MAE) wynoszącym 2,8 lat uzyskano dla kalkulatora GLA. W wyniku przeprowadzonej metaanalizy wybrano 8 najbardziej informatywnych miejsc CpG. Zaproponowany model 8-CpG, opracowany z wykorzystaniem metody regresji liniowej wyjaśnia 73,4% zmienności wieku obserwowanej w polskiej populacji oraz pozwala przewidywać wiek epigenetyczny z błędem MAE wynoszącym $3,2 \pm 2,3$ lat.

Model 8-CpG oferuje wysoką dokładność predykcji wieku w nasieniu przy zastosowaniu analizy stosunkowo niewielkiej liczby markerów, co czyni go użytecznym w badaniach kryminalistycznych. Dodatkowo, w celu pogłębionej analizy nowo opracowanego modelu, przeprowadzono testy wpływu różnych czynników stylu życia, np. aktywności fizycznej, stanu zdrowia na dokładność działania modelu.

Projekt nr DOB-BIO10/06/01/2019 finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach konkursu nr 10/2019 na wykonanie i finansowanie projektów w zakresie badań naukowych lub prac rozwojowych na rzecz obronności i bezpieczeństwa państwa.

Słowa kluczowe: wiek epigenetyczny, kalkulatory wieku, nasienie, metylacja DNA

Piśmiennictwo

[1] Jenkins TG, Aston KI, Cairns B, Smith A, Carrell DT. Paternal germ line aging: DNA methylation age prediction from human sperm. *BMC Genomics*. 2018;19(1):763.

[2] Lee JW, Choung CM, Jung JY, Lee HY, Lim SK. A validation study of DNA methylation-based age prediction using semen in forensic casework samples. *Leg Med (Tokyo)*. 2018;31:74-77.

W34; G5

Analiza poziomu metylacji promotora genu receptora GABA-A w korze przedczołowej mózgu samobójców

Gracjana Stachewicz¹, Marta Krzyżanowska,
Tomasz Gos, Michał Kaliszan, Krzysztof Rębała

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Samobójstwo to poważny problem społeczny, który dotyczy coraz większej i młodszej części populacji. Według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) każdego roku w wyniku samobójstwa umiera około 800 000 osób. Rosnąca liczba doniesień literaturowych podkreśla mechanizmy epigenetyczne jako ważny czynnik w regulacji poziomu ekspresji genów, który potencjalnie może sprzyjać zaburzeniom psychicznym. Trudne dzieciństwo, trauma i przewlekły stres mogą powodować zmiany w poziomie metylacji DNA, tym samym prowadząc do zmian w ekspresji genów. Dotychczasowe badania wykazują hipermetylację regionów promotorowych genów zaangażowanych w funkcje poznawcze. Zwiększony poziom metylacji w promotorze genu *GABRA1*, kodującego receptor A kwasu γ -aminomasłowego (receptor GABA_A), może wskazywać na związek tych mechanizmów ze zwiększoną skłonnością do zachowań samobójczych. Celem pracy jest ocena poziomu metylacji jako potencjalnego markera epigenetycznego u osób, które zmarły w wyniku samobójstwa.

W ramach badań realizowanych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej GUMed dotyczących wyżej wymienionych zagadnień, w każdym włączonym do badania przypadku zabezpieczono osiem różnych regionów kory przedczołowej (30 przypadków z grupy badanej, 30 z grupy kontrolnej), niezależnie z prawej i lewej półkuli mózgu: kory przedczołowej grzbietowo-bocznej (DLPFC), zakrętu oczodołowego kory oczodołowo-czołowej (OFC) oraz kory przedniej części zakrętu obręczy z uwzględnieniem podziału na część podspoidłową (ACv) i nadspoidłową (ACd). Ze wszystkich zebranych próbek ($n = 480$) wyizolowano DNA oraz przeprowadzono konwersję wodorosiarczynem sodu. Do oceny stopnia metylacji wykorzystano ilościową reakcję PCR w czasie rzeczywistym oraz sondy TaqMan. Wyniki poddano analizie pod kątem specyficzności hipermetylacji promotora genu *GABRA1* dla zachowań samobójczych, wyjaśnienia patomechanizmów molekularnych tych zaburzeń oraz przydatności w diagnostyce różnicowej zgonów samobójczych i niesamobójczych w trudnych przypadkach sądowo-lekarskich.

Słowa kluczowe: metylacja, epigenetyka, samobójstwo, receptor GABA-A, kora przedczołowa

W35; G6

Poszukiwanie genetycznych markerów kształtu nosa u człowieka

Maria Wróbel^{1,2,3}, Tomasz Kupiec¹, Magdalena Marcińska¹, Agnieszka Parys-Proszek¹, Agata Ulfik³, Anna Hermanowska³, Bożena Wysocka⁴, Aneta Sitek⁵, Andrzej Ossowski⁶, Magdalena Spólnicka⁷, Ewelina Pośpiech^{6,8}, Iwona Wronka³, Wojciech Branicki^{1,3}

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

² Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jagielloński

³ Zakład Antropologii, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński

⁴ Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji, Warszawa

⁵ Katedra Antropologii, Instytut Ekologii i Ochrony Środowiska, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

⁶ Zakład Genetyki Sądowej, Pomorski Uniwersytet Medyczny

⁷ Centrum Nauk Sądowych, Uniwersytet Warszawski

⁸ Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Opracowanie metod umożliwiających odtworzenie wyglądu człowieka jest jednym z istotnych kierunków rozwoju genetyki sądowej. Portret odtworzony z danych genetycznych może dać organom śledczym dostęp do istotnych informacji umożliwiających szybsze wytypowanie sprawcy, czy też identyfikacji ofiary. Obecnie znane są już metody pozwalające na wiarygodne określenie m.in. koloru oczu, włosów, skóry oraz wieku osoby poprzez analizę DNA. Szerokie badania prowadzone są w kierunku rekonstrukcji twarzy osoby na podstawie jej profilu genetycznego. Cechy wyglądu fizycznego człowieka, w szczególności cechy twarzy są wysoce dziedziczne. Trudność badań związana jest z zaangażowaniem dużej liczby genów w determinację cech wyglądu twarzy, a ich działanie komplikuje epistaza i heterogeniczność alleliczna. Ostateczny fenotyp kształtowany jest też przez środowisko i procesy starzenia.

W ramach projektu mającego na celu selekcję markerów genetycznych współodpowiedzialnych za kształt nosa, a w konsekwencji, poprawę dokładności odtwarzanego przyżyciowego wyglądu twarzy w badaniach identyfikacyjnych przeanalizowano skany 3D twarzy 700 osób w zakresie pomiarów antropometrycznych nosa wraz z danymi genetycznymi uzyskanymi z analiz mikromacierzowych (GSA, Illumina). Pomiaru wykonano z wykorzystaniem punktów antropometrycznych opisanych w literaturze. Zweryfikowano istniejące dane literaturowe dotyczące markerów typu SNP, wykazujących asocjacje z wyglądem nosa. W matematycznej analizie danych zastosowano środowisko R i dedykowane pakiety do analizy danych pełnogenomowych oraz w zakresie analizy obrazu 3D.

Badania pozwoliły na niezależną replikację markerów znanych z literatury oraz pozwoliły na utworzenie bazy referencyjnej w zakresie populacji polskiej. Otrzymane rezultaty stanowią badania wstępne do dalszych analiz cech skorelowanych z kształtem nosa u człowieka. Uzyskanie poziomu dokładności predykcji zapewnia-

jącego użyteczność dla badań kryminalistycznych w przypadku tak złożonych fenotypów o zmienności liniowej jak wygląd twarzy jest niełatwe. Z dotychczasowych danych wynika jednak, że znaczący postęp w tym zakresie osiągnąć będzie można poprzez zastosowanie rozwiązań genomicznych.

Słowa kluczowe: kryminalistyka, genetyka sądowa, predykcja genetyczna, fenotypowanie

W36; G7

Elementy walidacji platformy iSeq100 (Illumina) w zakresie sekwencjonowania pełnych genomów mitochondrialnych człowieka

Katarzyna Skonieczna¹, Tomasz Grzybowski¹

¹ Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Platforma iSeq100, charakteryzująca się najmniejszą przepustowością spośród dostępnych technologii sekwencjonowania wielkoskalowego (MPS, ang. massively parallel sequencing) oferowanych przez firmę Illumina, zdaje się być szczególnie obiecująca w rutynowym zastosowaniu do sekwencjonowania mitochondrialnego DNA (mtDNA) w laboratoriach genetyczno-sądowych.

W ramach koniecznej walidacji, zweryfikowano przydatność iSeq100 do sekwencjonowania pełnych genomów mitochondrialnych. W tym celu próbki, które wykazywały heteroplazmię sekwencji i były poprzednio zsekwenconowane za pomocą starannie zwalidowanej wczesnej platformy MPS 454 [1,2] oraz tradycyjnej metody Sanger, zostały zbadane w zakresie pełnego mtDNA z wykorzystaniem metody konstrukcji bibliotek *Nextera™ DNA Flex Library Preparation Kit* oraz sekwencjonowania na platformie iSeq100. Stwierdzono pełną zgodność haplotypów uzyskanych wszystkimi metodami w zakresie sekwencji nie wykazujących heteroplazmii. Wykazano również, że platforma iSeq 100 nadaje się do wykrywania heteroplazmii sekwencji z wariantem mniejszościowym na poziomie $\geq 2\%$, przy zachowaniu pokrycia co najmniej 2000x.

Uzyskane wyniki potwierdzają przydatność platformy iSeq100 do sekwencjonowania pełnych genomów mitochondrialnych człowieka na małą i średnią skalę, w tym do uzyskiwania wysokiej jakości danych populacyjnych.

Słowa kluczowe: genom mitochondrialny, sekwencjonowanie wielkoskalowe, heteroplazmia

Piśmiennictwo

[1] Skonieczna K, Malyarchuk B, Jawień A, Marszałek A, Banaszkiwicz Z, Jarmocik P, Borcz M, Bała P, Grzybowski T. Heteroplasmic substitutions in the entire mitochondrial genomes of human colon cells detected by ultra-deep 454 sequencing. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;15:16-20.

[2] Skonieczna K, Malyarchuk B, Jawień A, Marszałek A, Banaszkiwicz Z, Jarmocik P, Grzybowski T. Mitogenomic differences between the normal and tumor cells of colorectal cancer patients. *Hum Mutat.* 2018;39(5):691-701.

W37; G8

Nowe zagrożenia w badaniach identyfikacyjnych dla celów sądowych

Katarzyna Linkowska¹

¹ Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Wykorzystanie komórek rozrodczych pochodzących od dawcy stało się powszechne w medycynie reprodukcyjnej i technologii wspomaganego rozrodu. Zarówno komórki jajowe jak i nasienie dawcy mogą być stosowane w zapłodnieniu in vitro. Nasienie od dawcy stosowane jest również w innych metodach leczenia bezpłodności np. w inseminacji domacicznej. W konsekwencji następuje przyrost w populacji ogólnej liczby osób, które nie są biologicznie spokrewnione z jednym ze swoich rodziców. Taka sytuacja stwarza potencjalne ryzyko popełnienia błędu w badaniach identyfikacyjnych osób o nieustalonej tożsamości w oparciu o analizę materiału pobranego od bezpośrednich krewnych.

Analizie poddano raporty opublikowane przez Europejskie Konsorcjum Monitorujące IVF (EIM) dla Europejskiego Towarzystwa Rozrodu Człowieka i Embriologii (ESHRE) od 1997 roku. Stały wzrost liczby dzieci urodzonych z zastosowaniem technologii wspomaganego rozrodu rodzi potencjalne ryzyko błędu w sprawach identyfikacyjnych. Dlatego wskazane jest monitorowanie tych danych przez genetyków sądowych.

Słowa kluczowe: Identyfikacja, in vitro

W38; G9

Identyfikacja genetyczna szczątków ofiar wojen i totalitaryzmów z wykorzystaniem bazy danych CODIS

Krzysztof Rębała^{1,2}, Magdalena Krajewska²

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Gdański Uniwersytet Medyczny
² Biuro Poszukiwań i Identyfikacji, Instytut Pamięci Narodowej – Komisja Ścigania Zbrodni przeciwko Narodowi Polskiemu

Za początek systemu CODIS (ang. *Combined DNA Index System*) uznaje się rok 1990, kiedy to wdrożono pilotażowy program Federalnego Biura Śledczego (FBI) w USA, mający na celu stworzenie

bazy danych profili DNA pod kątem identyfikacji genetycznej sprawców przestępstw oraz osób, zwłok i szczątków ludzkich o nieustalonej tożsamości. Z systemu CODIS korzysta obecnie około 90 instytucji zlokalizowanych w 50 krajach na całym świecie. W bazach danych CODIS, zarządzanych przez poszczególne instytucje, gromadzone są profile DNA osób skazanych za przestępstwa, profile DNA ujawnione na miejscach przestępstw i profile DNA osób N.N. W Polsce licencję CODIS posiadają dwie instytucje: Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji oraz Instytut Pamięci Narodowej – Komisja Ścigania Zbrodni przeciwko Narodowi Polskiemu. Od 2021 r. system CODIS wykorzystywany jest do identyfikacji genetycznej szczątków kostnych ofiar wojen i totalitaryzmów i wydawania opinii identyfikacyjnych przez Biuro Poszukiwań i Identyfikacji Instytutu Pamięci Narodowej (BPII IPN). Do chwili obecnej w bazie danych CODIS BPII IPN zdeponowano prawie 1700 profili DNA, w tym ponad 700 profili szczątków kostnych i prawie 1000 profili materiału porównawczego pobranego od krewnych ofiar. Celem prezentacji jest przedstawienie doświadczenia BPII IPN w identyfikacji ofiar wojen i totalitaryzmów z użyciem oprogramowania CODIS. Zwrócona zostanie uwaga na znaczenie odpowiedniego doboru krewnych i zakresu badań genetycznych, a także danych historycznych i informacji dotyczących okoliczności odnalezienia szczątków kostnych w analizie wyników badań genetycznych i przygotowaniu opinii identyfikacyjnych.

Słowa kluczowe: CODIS, bazy danych, genetyczna identyfikacja osobnicza

W39; G10

Analiza wydajności automatycznej izolacji DNA z materiału kostnego za pomocą urządzenia EZ2 firmy Qiagen

Grażyna Ba¹, Andrzej Doniec¹, Miłosz Januła¹, Marek Kowalczyk¹, Tomasz Kupiec¹, Andrzej Sekuła¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Badanie genetyczne szczątków kostnych stanowi jedno z najtrudniejszych wyzwań dla laboratoriów sądowych. Z powodu degradacji materiału kostnego, obecności inhibitorów reakcji PCR oraz zróżnicowanych warunków środowiskowych, w których znajdował się materiał kostny, opracowanie uniwersalnej metody umożliwiającej uzyskanie wystarczającej ilości materiału genetycznego jest niezwykle trudne. Według danych literaturowych, najczęściej rekomendowaną metodą izolacji DNA ze szczątków kostnych jest metoda organiczna (tzw. fenolowa). Jej wadą jest niezwykle czasochłonność, która w porównaniu ze zautomatyzowanymi systemami cechuje podatność na kontaminację ze względu na liczbę etapów wykonywanych manualnie.

Celem pracy było sprawdzenie efektywności izolacji DNA z użyciem automatycznej stacji roboczej EZ2 na materiale kostnym. Do badań wytypowano 45 próbek kostnych. Materiał pochodził z trzech różnych pochówków, które odbyły się około 80 lat temu. Każde

miejsce charakteryzowała próba 15 fragmentów kostnych reprezentujących osobne szkielety (5 fragmentów kości udowych, 5 fragmentów kości skalistych oraz 5 zębów trzonowych).

Proces walidacji metody składał się z określenia optymalnej masy proszku kostnego oraz optymalnego czasu lizy wstępnej. Ustalone parametry metody zastosowano do badanej grupy kości. Izolację wykonano z użyciem zestawu EZ1&2 Investigator kit i urządzenia EZ2. Uzyskany materiał genetyczny poddano pomiarowi stężenia DNA (Quantifiler Trio z użyciem ABI7500 real time PCR system). Próbkę DNA poddano amplifikacji (GlobalFiler) a następnie rozdziałowi z użyciem analizatora genetycznego ABI3500xL. Uzyskane wyniki analizy w postaci stężenia DNA, indeksu degradacji oraz ilości pozytywnie przeanalizowanych układów STR (LOQ) porównano do tych samych próbek wyizolowanych za pomocą metody organicznej.

Otrzymane wyniki w postaci stężenia DNA, indeksu degradacji oraz liczby oznaczonych układów STR wskazują jednoznacznie, że metoda umożliwia uzyskanie DNA o odpowiedniej czystości, pozbawionego lub o pomijalnej ilości inhibitorów, które łatwo ulega amplifikacji generując dobrze zbalansowane, proporcjonalne profile genetyczne. Porównanie z metodą organiczną pomimo, niższej ilości odzyskiwanego DNA, wypadła na korzyść metody automatycznej umożliwiającej szybkie uzyskanie DNA z 24 próbek DNA w krótkim czasie z niskim ryzykiem kontaminacji poprzez minimalizację etapów manualnych.

Słowa kluczowe: EZ2, kości, izolacja DNA

W40; G11

Analiza przydatności układów Y-STR dostępnych w panelu ForenSeq(TM)

Marcin Woźniak¹, Michał Boroń², Anna Woźniak³, Magdalena Jabłońska⁴, Rafał Płoski⁵, Grażyna Kostrzewa⁵, Magdalena Konarzewska⁵, Anna Kłoska¹, Tomasz Grzybowski¹, Magdalena Spólnicka⁶

¹ Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

² Analityk Genetyka, Warszawa

³ KCR Clinical Development, Warszawa

⁴ Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji w Warszawie

⁵ Zakład Genetyki Medycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁶ Centrum Nauk Sądowych, Uniwersytet Warszawski

Techniki masowego sekwencjonowania równoległego (MPS) znajdują coraz szersze zastosowanie w genetyce sądowej. Zestaw ForenSeq DNA Signature Prep (Illumina) jest jednym z pierwszych dostępnych na rynku zestawów wykorzystujących zalety nowoczesnych technik sekwencjonowania. Pozwala on na analizę ok. 200 markerów genetycznych, w tym 24 układów Y-STR. W prezentacji zostaną omówione wstępne wyniki analiz zestawu układów Y-STR zawartego w zestawie ForenSeq pod kątem ich potencjalnego zastosowania w rutynowej pracy kryminalistycznej.

Badanie przeprowadzono na 114 próbkach krwi od niespokrewnionych osób z populacji polskiej. Dodatkowo pozyskano 33 próbki od braci uczestników badania. Ekstrakty DNA przygotowano do sekwencjonowania i zsekwencjonowano przy użyciu protokołu A ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit (Illumina).

Dane uzyskane podczas sekwencjonowania analizowano przy użyciu dedykowanego zestawu oprogramowania. Oceniono kluczowe parametry uzyskanych danych, takie jak pokrycie poszczególnych loci, efektywność amplifikacji, częstość mutacji w parach braci i zróżnicowanie haplotypów. Skonstruowano sieć haplotypów i przypisano haplotypy poszczególnym haplogrupom za pomocą algorytmu NEVGEN (nevgen.org).

W trakcie prezentacji zostaną przedstawione wnioski z analiz danych uzyskanych w toku przeprowadzonych eksperymentów.

Słowa kluczowe: Y-STR ForenSeq NGS

W41; G12

Rekomendacje, zalecenia, akredytacje a przydatność wyników: odwieczny bój teorii z praktyką

Marcin Woźniak¹

¹ Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Kwestia wiarygodności i przydatności wyników uzyskiwanych w laboratoriach kryminalistycznych od lat stanowi jedno z kluczowych zagadnień kształtujących pracę laboratoriów. Kolejne, coraz bardziej precyzyjne zalecenia i rekomendacje towarzystw naukowych, w połączeniu z implementacją systemów normalizacji jakości w standardzie ISO powinny w teorii prowadzić do stałego wzrostu jakości i wiarygodności wyników prezentowanych w opiniach czy sprawozdaniach z badań. Czy tak jest rzeczywiście? Jakie wnioski można wysnuć z obserwacji pojedynczych przypadków i analizy trendów wynikających z dostępnych danych? Jakie potencjalne zagrożenia płyną ze stosowania najnowszych technologii badawczych? Niniejsza prezentacja ma na celu podjęcie próby zdefiniowania problemów związanych ze wskazanymi wyżej zagadnieniami i zainicjowanie dyskusji nad ich rozwiązaniem.

Słowa kluczowe: ISO17025, akredytacja, rekomendacje, jakość badań

W42; T1

Samobójcze zatrucie utwardzaczem do żywic zawierającym pochodną aniliny

Dorota Klimaszuk¹, Karina Sommerfeld-Klatta²

¹ Oddział Toksykologiczny im. Wandy Błęńskiej, Szpital Miejski im. Franciszka Raszei w Poznaniu

² Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Anilina i pochodne aniliny stosowane są w przemyśle chemicznym i przetwórczym jako produkt pośredni i rozpuszczalnik w produkcji barwników. Opisywane są pojedyncze przypadki zatruc pochodnymi aniliny. Anilina, podobnie jak inne pochodne nitrowe i aminowe związków aromatycznych indukuje methemoglobinemię. Korelacja między ciężkością zatrucia a poziomem methemoglobiny jest umiarkowanie dobra. Nieliczne dane literaturowe wskazują na przydatność oznaczania acetaminofenu w moczu jako wskaźnika eliminacji aniliny.

Celem pracy jest prezentacja przypadku zatrucia substancją methemoglobinotwórczą, którego skuteczność leczenia była monitorowana z użyciem poziomu methemoglobiny w krwi i acetaminofenu jako wskaźnika wydalania aniliny w moczu. Analizie poddano pacjenta przyjętego na Oddział Toksykologiczny w Poznaniu po samobójczym spożyciu utwardzacza do żywic w nieznannej dawce.

We wstępnym badaniu toksykologicznym stwierdzono poziom methemoglobiny wynoszący 25,3%, co zdecydowało o podjęciu leczenia specyficznego (podanie witaminy C i błękitu metylenowego we wlewach dożylnych). Krew pacjenta do monitorowania poziomu methemoglobiny pobierano ponad 20-krotnie w ciągu kolejnych 9 dni hospitalizacji. Dodatkowo zdecydowano o oznaczeniu poziomu acetaminofenu jako wskaźnika wydalania aniliny w moczu, który zmierzono 7-krotnie w ciągu 4 dni od narażenia.

Po 10 h od przyjęcia pacjenta stwierdzono wzrost methemoglobiny do 60,2%, a następnie po 24 h – 66,3%. Ponownie włączono leczenie dożylne błękitem metylenowym: w pierwszej dobie łącznie 400 mg, w drugiej – 200 mg i zastosowano tlenoterapię 100% tlenem przez maskę z rezerwuarem. W trakcie hospitalizacji wystąpiła hemoliza. Pierwsze oznaczenie acetaminofenu w moczu wyniosło 80 µg/ml, po 4 h odnotowano spadek o 56%. Eliminacja metabolitu aniliny utrzymywała się na poziomie 35 µg/ml przez kolejne 24 h od przyjęcia. Istotne obniżenie odnotowano w drugiej dobie leczenia osiągając stężenie 17 µg/ml. Ostatni pomiar wykluczający obecność acetaminofenu w moczu uzyskano w 4 dobie leczenia.

Doświadczenia toksykologów klinicznych dotyczące szczegółowo relacjonowanych przypadków ostrych zatruc mogą być przydatne dla praktyki medyków sądowych, którzy w swoich opiniach mogą spotkać się z podobnymi wynikami, które mogą świadczyć o przyzynie zgonu.

Słowa kluczowe: ostre zatrucie, pochodne aniliny, methemoglobinemia, acetaminofen

W43; T2

Zatrucie przestępcze terbufosem – analiza przypadku

Dominik Bakalarz¹, Bogumiła Byrska¹

1 Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Terbufos jest pestycydem fosforoorganicznym stosowanym do zwalczania owadów oraz nicieni w uprawach. Terbufos nie jest dopuszczony do użytku w Unii Europejskiej, a Światowa Organizacja Zdrowia klasyfikuje go jako związek klasy Ia, czyli wyjątkowo niebezpieczny i wysoce toksyczny. Mechanizm działania toksycznego u ludzi, polega na nieodwracalnej inaktywacji acetylocholinoesterazy, prowadząc do ostrego zespołu cholinergicznego. Terbufos w organizmie ulega intensywnej biotransformacji do szeregu metabolitów, które są wydalane głównie z moczem, ale mogą również ulegać interkalacji w wytworach naskórka, takich jak włosy i paznokcie.

Celem pracy było określenie składu zabezpieczonych preparatów i oznaczenie metabolitów terbufosu we krwi, włosach i paznokciach oraz interpretacja uzyskanych wyników.

Przedmiotem badań niniejszej pracy były preparaty w formie proszku oraz krew, włosy spod pach i końcówki paznokci. Substancje w formie proszku rozpuszczono w metanolu, natomiast włosy i paznokcie poddano dekontaminacji serią rozpuszczalników, a następnie zhomogenizowano i ekstrahowano acetonitrylem w temperaturze 37°C przez 18 godzin. Krew odbiałczono acetonitrylem oraz ekstrahowano eterem dietylowym. Ekstrakty oczyszczono poprzez przefiltrowanie ich na kolumnienkach ISOLUTE PLD+. Analizy przeprowadzono przy zastosowaniu metod HPLC-MS/MS, HPLC/Q-TOF, GC-MS i UPLC-DAD.

W wyniku przeprowadzonych badań, w preparatach w formie proszków wykryto terbufos. W biologicznym materiale dowodowym oznaczono terbuokson i sulfon terbufosu w stężeniach odpowiednio: 50 pg/mg i 78 pg/mg (włosy) oraz 272 pg/mg i 35 pg/mg (paznokcie). Zarówno we włosach, jak i paznokciach, stężenia sulfotlenku terbufosu wykroczyły poza zakres metody analitycznej (>1,6 ng/mg). We krwi nie wykazano ww. związków, co można tłumaczyć szybką biotransformacją terbufosu i eliminacją powstałych metabolitów.

Wykrycie terbufosu w zabezpieczonych preparatach pozwoliło ukierunkować tok analizy materiału biologicznego. Wykazane stężenia metabolitów świadczą o narażeniu na terbufos w przeszłości, jednak nie jest możliwe ustalenie w jakim czasie, gdyż włosy spod pach oraz końcówki paznokci nie umożliwiają korelacji obecności wykazanych ksenobiotyków z czasem.

Słowa kluczowe: terbufos, metabolity, pestycydy fosforoorganiczne, zatrucie, analiza włosów i paznokci

W44; T3

Samobójcze zatrucie arsenikiem – analiza przypadku

Agnieszka Skulska-Birgieł¹, Dominik Bakalarz¹, Marek Wiśniewski²

1 Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie

2 Gdański Uniwersytet Medyczny

Arsen uznawany jest za jedną z najpopularniejszych trucizn stosowanych od stuleci, najczęściej w postaci pozbawionego smaku i zapachu tlenku arsenu (III) (arseniku określanego mianem „króla trucizn”). Obecnie zatrucia związkami arsenu zdarzają się stosunkowo rzadko i najczęściej są one powiązane z próbami samobójczymi. Sprawa dotyczyła zatrucia mężczyzny, który spożył około 20 g arsenu zakupionego w sklepie internetowym. Przebieg intoksykacji był gwałtowny i pomimo hospitalizacji, mężczyzna po paru godzinach zmarł. W trakcie sekcji zwłok pobrano do badań toksykologicznych krew, płyn z gałki ocznej i wycinki narządów wewnętrznych.

Celem pracy było oznaczenie arsenu w materiale biologicznym oraz interpretacja uzyskanych wyników.

Przedmiotem badań była krew i wycinki narządów wewnętrznych. Materiały poddawano mineralizacji mikrofalowej przy użyciu mieszaniny stężonego kwasu azotowego i perhydrolu. Mineralizaty badano metodą przesiewową na obecność toksycznych pierwiastków ze szczególnym uwzględnieniem arsenu przy użyciu techniki atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-OES). Do oznaczenia arsenu we krwi opracowano innowacyjną metodę polegającą na redukcji kwasów arsenowych (metabolitów arsenu), wodorem *in statu nascendi*, do arsenowodoru, który następnie oznaczano metodą chromatografii gazowej z analizą fazy nadpowierzchniowej (*headspace*) połączonej ze spektrometrią mas (HS-GC/MS). Do fiolek zawierających pył cynkowy dodawano krew, a następnie wzorec wewnętrzny – podfosforyn sodu. Próbkę zadawano 20% roztworem kwasu siarkowego i inkubowano przez godzinę w temperaturze 40°C. Po zakończeniu reakcji, próbki odwirowano i analizowano fazę nadpowierzchniową metodą HS-GC/MS z zastosowaniem aparatu Focus GC i DSQ II z analizatorem w postaci kwadrupola.

W wyniku przeprowadzonych badań, we krwi oraz w wycinkach narządów wewnętrznych tj. wątroby, nerki, mózgu i żołądka wykazano arsen w stężeniach wynoszących odpowiednio: 5,9 µg/ml (metoda HS-GC-MS) oraz 134 µg/g, 36 µg/g, 0,68 µg/g, 2105 µg/g (metoda ICP-OES).

Wykryte stężenia arsenu we krwi oraz wycinkach narządów wewnętrznych korelowały z zakresami stężeń, raportowanymi w przypadkach zatruć śmiertelnych związkami arsenu.

Słowa kluczowe: arsen, arsenowódór, ICP-OES, HS-GC/MS, zatrucie

W45; T4

Sukcynylocholina – analiza przypadku podejrzenia otrucia psa

Marta Suchan¹, Bogdan Tokarczyk¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Sukcynylocholina (chlorek suksometonium, SUC) jest depolaryzującym lekiem zwiotczającym mięśnie szkieletowe o bardzo krótkim czasie działania (3 – 5 min.). Jest stosowana w celu umożliwienia intubacji tchawicy, a także w weterynarii do eutanazji. Bardzo szybko ulega rozkładowi (biologiczny okres półtrwania 0,7 min.) przez pseudocholinesterazę do sukcylomonocholiny (SUMC), która następnie ulega hydrolizie do choliny, a w efekcie końcowym do kwasu bursztynowego – endogennego produktu pośredniego cyklu Krebsa. Szybki rozkład związku macierzystego oraz metabolizm prowadzący do wytworzenia substancji endogennych znacznie utrudniają analizę oraz interpretację wyników w przypadku podejrzenia zatrucia SUC.

W opisywanym przypadku 5-letni pies został przez pomyłkę poddany eutanazji poprzez podanie nieznannej substancji w postaci zastrzyku w kark. Krótko po otrzymaniu zastrzyku zwierzę padło.

Celem badań było stwierdzenie, czy w materiale sekcyjnym pobranym od psa znajdują się substancje toksyczne, a w szczególności SUC lub jej metabolity.

Ociekliny (po precypitacji acetonitrylem): serca, wątroby i nerki oraz macerat wycinka skóry badano metodami LC-MS/MS oraz LC/Q-TOF na obecność ksenobiotyków, w tym SUC oraz jej metabolitów.

W ocieklinach narządów psa stwierdzono obecność kwasu bursztynowego w stężeniach: serce 3320 µg/ml, wątroba 1638 µg/ml, nerki > 10000 µg/ml. Obecność kwasu bursztynowego potwierdzono także w wycinku skóry. Nie stwierdzono obecności innych ksenobiotyków, w tym SUC oraz SUMC. Analiza materiału porównawczego, pobranego podczas sekcji zwłok innego psa, pozwoliła na stwierdzenie, że stężenia uzyskane w badanym przypadku są kilkakrotnie wyższe niż w przypadku zgonu niezwiązanego z podaniem SUC.

Słowa kluczowe: sukcynylocholina, kwas bursztynowy, eutanazja psa

W46; T5

Zatrucie syntetycznym kannabinoidem ADB-BUTINACA jako możliwa przyczyna zgonu psa policyjnego

Bogdan Tokarczyk¹, Marta Suchan¹, Piotr Adamowicz¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Syntetyczne kannabinoidy (SC) w dalszym ciągu stanowią największą grupę nowych substancji psychoaktywnych (NPS) obecnie monitorowanych w Europie przez Europejskie Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (EMCCDA). Popularność SC sprawia, że policyjne psy tropiące są narażone na przypadkowe wprowadzenie tych związków do organizmu. Wiadomo, że powinowactwo SC do receptorów kannabinoidowych może być nawet kilkaset razy większe niż w przypadku THC, dlatego też przyjęcie niewielkiej dawki (nawet poniżej 1 mg) pociąga za sobą wysokie ryzyko poważnych zatruc, a nawet śmierci.

Prezentowany przypadek dotyczy psa policyjnego, który w trakcie akcji przeszukania pomieszczenia, w którym mogły znajdować się narkotyki, uległ śmiertelnemu zatruciu wskutek przypadkowej inhalacji syntetycznego kannabinoidu N-[[1S]-1-(aminokarbonylo)-2,2-dimetylopropylo]-1-butylo-1H-indazolo-3-karboksamidu (ADB-BUTINACA).

Prezentacja przedstawia wyniki analiz materiału sekcyjnego (krew, płuco, żołądek, wątroba i nerka) pobranych w trakcie sekcji zwłok psa policyjnego, w kierunku składników dopalaczy, w szczególności ADB-BUTINACA.

Krew (po precypitacji acetonitrylem), a także homogenaty wątroby, żołądka, płuc i nerki oraz krew (po ekstrakcji ze środowiska alkalicznego o pH 9) badano metodami LC/Q-TOF i LC-MS/MS na obecność składników tzw. dopalaczy, a w szczególności ADB-BUTINACA oraz jego metabolitów.

W badanych materiałach wykazano obecność ADB-BUTINACA w następujących stężeniach: krew – 8,1 ng/ml, płuco – 6,4 ng/g, żołądek – 1,5 ng/g, wątroba – 1,8 ng/g i nerka – 0,4 ng/g. Ponadto we wszystkich analizowanych materiałach stwierdzono metabolity w postaci mono i dihydroksy pochodnych, a we krwi i wątrobie zidentyfikowano dodatkowo produkt N-debutylacji.

Słowa kluczowe: ADB-BUTINACA, LC/Q-TOF, zgon psa

W47; T6

ChemSex w teorii i praktyce

Rafał Skowronek¹, Ewelina Pieprzycza¹,
Christian Jabłoński¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Terminem „ChemSex” określa się rekreacyjne przyjmowanie substancji psychoaktywnych, takich jak: pochodne konopi, MDMA, sildenafil, tadalafil czy też GHB/GBL przed lub w trakcie stosunku seksualnego. Celem pracy jest aktualna charakterystyka tego zjawiska z uwzględnieniem polskich danych, oraz prezentacja przypadku z własnej praktyki medyczno-sądowej.

Zwłoki mężczyzny i kobiety zostały znalezione w wannie w pokoju hotelowym. Pierwotnie podejrzewano rażenie prądem elektrycz-

nym. W pokoju ujawniono butelki po alkoholu oraz Viagrę. Sekcja zwłok mężczyzny ujawniła m.in. ograniczone oparzenia drugiego stopnia na ciele, a także cechy śmierci nagłej. Nie stwierdzono obrażeń charakterystycznych dla rażenia prądem elektrycznym. Badanie toksykologiczne krwi mężczyzny wykazało: MDMA w stężeniu śmiertelnym i sildenafil w stężeniu przekraczającym terapeutyczne. Przyczyną zgonu mężczyzny było więc złożone zatrucie MDMA i sildenafiliem („sexstasy”). Obraz sekcyjny kobiety był podobny. Badanie toksykologiczne krwi wykazało u niej MDMA w stężeniu śmiertelnym. Przyjęto więc zatrucie tą substancją.

Zażywanie środków psychoaktywnych w celu modyfikacji doznań seksualnych stanowi realne zagrożenie toksykologiczne. Dotyczy to zwłaszcza sytuacji łączenia kilku substancji psychoaktywnych, które mogą wchodzić ze sobą w złożone interakcje. Przykładem może być łączenie MDMA i sildenafilu określane terminem „sexstasy”. Celem stosowania takiej mieszaniny jest znoszenie skutków ubocznych jednego specyfiku przez drugi – niwelowanie negatywnego wpływu MDMA na erekcję mężczyzny przez sildenafil i potęgowanie wrażeń zmysłowych z jednoczesnym znoszeniem uczucia zmęczenia przez MDMA.

Słowa kluczowe: ChemSex, substancje psychoaktywne, zatrucie, toksykologia sądowa, opiniowanie sądowo-lekarskie

W48; T7

Metylofenidat – substancja o kilku obliczach – studium przypadków

Karolina Mrochem¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Zgodnie z danymi KGP, aż o 68% wzrosła liczba prób samobójczych w latach 2016-2023. Powód samobójstwa najczęściej pozostaje nieustalony, jednak wśród znanych przyczyn przeważnie wskazuje się chorobę psychiczną i zaburzenia psychiczne. Patrząc na ubiegłoroczne statystyki, dostrzec można, że najczęstszym sposobem popełnienia zamachu samobójczego było powieszenie się i skok z wysokości, ale również zażycie leków, w tym leków psychotropowych.

W praktyce KiZMS w Katowicach, w przypadkach zamachów samobójczych najczęściej wykazywanymi lekami są: benzodiazepiny, opioidy, leki przeciwdepresyjne i przeciwpsychotyczne, a ostatnio wśród młodych osób popełniających czyn samobójczy, coraz częściej wykazuje się obecność leku z grupy środków stymulujących tj. metylofenidatu.

Metylofenidat jest pochodną piperydiny, strukturalnie zbliżoną do amfetaminy. Warto podkreślić, że zgodnie z raportem, dotyczącym 2019 r., opublikowanym przez INCB, spośród leków stymulujących zawartych w wykazie II Konwencji o substancjach psychotropowych – tylko metylofenidat jest nadal produkowany, rozprowadzany i stosowany na światową skalę.

Przedstawienie problemu przyjmowania preparatów zawierających metylofenidat przez młode osoby, w szczególności w celach niemedycznych oraz w celach samobójczych, na podstawie wyników uzyskanych w rutynowej pracy eksperckiej KiZMS na przykładzie 4 przypadków z lat 2020-2023.

Materiał biologiczny pochodził od 4 osób w wieku 13-26 lat, które przyjmowały metylofenidat. Analizy materiału biologicznego zostały przeprowadzone metodą immunoenzymatyczną oraz techniką LC-MS. Badania w kierunku obecności metylofenidatu przeprowadzono w trybie MRM.

W wyniku przeprowadzonych analiz metylofenidat oznaczono w próbkach krwi w zakresie 25-590 ng/ml, a w moczu w zakresie 390-2990 ng/ml. W analizowanych przypadkach dodatkowo wykazano m.in. obecność diazepam, olanzapiny, amfetaminy, 4-chlorometkatynonu.

Leki psychoaktywne odgrywają znaczącą rolę w samobójstwach, zarówno gdy są stosowane w celu przedawkowania, lub gdy odurzenie prowadzi do odhamowania i zmian w osądzie, a tym samym czyniąc samobójstwo bardziej prawdopodobnym. Wzrost ilości samobójstw, w których wykazywany jest metylofenidat przemawia za koniecznością zwiększenia kontroli dystrybucji metylofenidatu, jak i opieki medycznej nad osobami stosującymi go.

Słowa kluczowe: metylofenidat, czyn samobójczy, materiał biologiczny, LC-MS/MS

W49; T8

Szacowanie czasu zgonu na podstawie oznaczania stężenia jonów potasu w ciele szklistym oka przy użyciu potencjometrycznej elektrody jonoselektywnej i plazmy indukowanej mikrofalami połączonej z optyczną spektrometrią emisyjną

Sonia Zięba¹, Marek Wiergowski¹, Bartłomiej Michał Cieślik², Jacek Sein Anand^{3,4}, Marta Krzyżanowska¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

2 Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

3 Zakład Toksykologii Klinicznej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Gdański Uniwersytet Medyczny

4 Pomorskie Centrum Toksykologii

Pośmiertne oznaczenie stężenia jonów potasu w ciele szklistym oka daje możliwość oszacowania czasu zgonu w czasie do 120 godzin od chwili zgonu. Nie jest to metoda stosowana rutynowo, gdyż istnieje wiele czynników analitycznych i nieanalitycznych wpływających na pośmiertne stężenie jonów potasu w ciele szklistym oka. W trakcie sekcji zwłok w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2021-2023 pobrano

próbki płynu z gałki ocznej od 103 denatów. Próbkę przechowywano w temperaturze -20°C . Pomiarów dokonano przy użyciu potencjometrycznej elektrody jonoselektywnej (*ion-selective electrode*, ISE) oraz optycznej spektrometrii emisyjnej sprzężonej z plazmą indukowaną mikrofalowo (*microwave-induced plasma – optical emission spectrometry*, MIP-OES). Oszacowane wartości niepewności rozszerzonej wyznaczone metodą eksperymentalną typu A wskazują na mniejszą niepewność oznaczenia stężenia jonów potasu w przypadku MIP-OES niż w przypadku ISE. Dla stężeń jonów potasu 2, 10 i 25 mg/L rozszerzone niepewności MIP-OES wyniosły odpowiednio 1,2%, 2,2% i 2,5%, a niepewności ISE odpowiednio 12,2%, 6,1% i 3,1%. Podobnie w przypadku szacowania niepewności typu B metoda MIP-OES w porównaniu z ISE charakteryzowała się prawie dwukrotnie niższą niepewnością rozszerzoną (MIP-OES – 2,53%, ISE – 4,75%). Na pomiar mogą wpływać czynniki nieanalityczne (m.in. przyczyna zgonu i temperatura otoczenia) oraz analityczne (m.in. lepkość próbki, konieczność rozcieńczenia i dodatkowego pipetowania). Przy określaniu stężenia jonów potasu w ciele szklistym oka bardzo duże znaczenie może również mieć stabilność składu próbek wynikająca z wydłużonego przechowywania i rozmrażania materiału biologicznego w celu ich analizy oraz różnicowanej dokładności metod ISE oraz MIP-OES.

Słowa kluczowe: czas zgonu, stężenie jonów potasu, płyn z gałki ocznej, elektroda jonoselektywna, plazma indukowana mikrofalami połączona z optyczną spektrometrią emisyjną

W50; T9

Czy stężenie pośmiertne THC w materiale biologicznym może być skutkiem transferu z tkanek pod wpływem uderzenia?

Joanna Gieroń¹, Wojciech Lechowicz¹, Dominika Gil¹,
Marta Suchan¹, Bogdan Tokarczyk¹, Piotr Adamowicz¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

W piśmiennictwie brak jednoznacznego wyjaśnienia hipotezy, aby THC zakumulowane w tkankach otaczających naczynia krwionośne mogło przeniknąć do krwi pod wpływem uderzenia. Wyjaśnienie tego zjawiska ma znaczenie interpretacyjne. W przypadku wypadków komunikacyjnych oraz upadków z wysokości możliwość uzyskania pozytywnych wyników oznaczenia THC ma duże znaczenie, ponieważ może świadczyć o oddziaływaniu THC na sprawność psychomotoryczną w chwili zdarzenia.

Celem badań była weryfikacja hipotezy o transferze THC oraz jego metabolitów ze ścian naczyń i/lub sąsiednich tkanek w wyniku silnego uderzenia ciała wskutek upadku z wysokości.

W badaniach wykorzystano roztwory surowicy o określonych stężeniach THC, 11-OH-THC i THCCOOH, bazując na dostępnych w literaturze krzywych eliminacji w przypadku kontrolowanego palenia przetworów konopi (3,55% THC). Roztwory wprowadzono do naczyń krwionośnych udźca wieprzowego za pomocą pompy strzykawkowej ze stałą prędkością. Do badań pobierano surowicę z odprepa-

rowanego fragmentu żył, oraz tkankę mięśniową po upadku z wysokości 7,5m. Oznaczanie ww. kannabinoidów w surowicy prowadzono metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS/MS).

Wyniki uzyskane w surowicy wskazują, że THC i jego metabolity ulegają „redystrybucji” wskutek uderzenia. Niska zawartość THC i metabolitów w surowicy z nogi wskazuje, że tam, gdzie nie ma dużej ilości tkanek miękkich, które mogłyby zaabsorbować THC zawartość ta po upadku nie ulega istotnej zmianie. Zawartość THC-COOH natomiast różni się znacznie, ale trudno to jednoznacznie wytłumaczyć.

Wyniki badań wskazują, że nawet w przypadku jednorazowego przyjęcia przetworów konopi zawartość THC we krwi sekcyjnej pobranej z żyły po upadku może być wyższa od zawartości w tej krwi sprzed zdarzenia. W przypadku opiniowania o stanie kierującego przed wypadkiem należy więc wziąć pod uwagę możliwość transferu z tkanek miękkich oraz badanie krwi sekcyjnej pobranej z innych okolic ciała (np. krew z serca).

Słowa kluczowe: THC, transfer, LC-MS/MS

W51; T10

Analiza najpopularniejszych dostępnych w sieci „kalkulatorów trzeźwości”

Dominika Jama¹, Karolina Sekuła¹, Dariusz Zuba¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie

W celu sprawdzenia swojego stanu trzeźwości po spożyciu alkoholu kierowcy mogą skorzystać z dostępnych w sieci aplikacji, wykonujących obliczenia prospektywne, zwanych „alkomatami online” czy „kalkulatorami trzeźwości”.

Celem pracy była analiza sposobu wykonywania obliczeń przez dostępne w Internecie „kalkulatory trzeźwości” i ocena ich rzetelności.

Analizie poddano pięć najpopularniejszych „kalkulatorów” w wyszukiwarce Google. Do aplikacji wprowadzono dane dotyczące 10 przypadków konsumpcji alkoholu przez osoby, które poddano badaniom na zawartość alkoholu w powietrzu wydychanym analizatorem Alcotest 7510 i wykreślono dla nich krzywe alkoholowe. Następnie porównano m.in. rzeczywiste stężenia etanolu oraz czas całkowitej eliminacji etanolu z wartościami obliczonymi przez aplikacje.

Analizowane „kalkulatory” opierają swoje obliczenia na różnych zasadach. Zarówno maksymalne stężenia alkoholu, jak i czas ich wystąpienia były różne dla poszczególnych aplikacji, natomiast wydaje się, że wszystkie wykorzystują współczynnik rozmieszczenia alkoholu ustalony przez Widmarka. Zaobserwowano również stosowanie indywidualnych współczynników eliminacji w zakresach od 0,12 do nawet 0,3‰/h. Czas całkowitej eliminacji alkoholu wskazany przez aplikacje był w większości przypadków dłuższy niż rzeczywisty.

Aplikacje internetowe typu „kalkulator trzeźwości” dostępne dla polskiego użytkownika mogą być pomocnymi narzędziami do określenia czasu zakończenia eliminacji alkoholu z organizmu. Większość aplikacji zakłada bowiem czas całkowitej eliminacji alkoholu z organizmu znacznie większy niż rzeczywisty obserwowany w analizowanych przypadkach.

Słowa kluczowe: alkohol, kalkulator trzeźwości, alkomat online

W52; T11

Tendencje na rynku konopi indyjskich w ostatniej dekadzie w Polsce

Karolina Masier¹, Karolina Sekuła¹, Bogumiła Byrska¹, Roman Stanaszek¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Konopie indyjskie od wielu lat pozostają najczęściej stosowanym środkiem odurzającym w Europie. Według danych zebranych przez UNODC, a także z raportów EMCDDA wynika, że w Europie istnieje wyraźna, długotrwała tendencja wzrostowa zawartości Δ^9 -THC w produktach z konopi indyjskich.

Celem pracy jest ocena potencjalnych zmian i tendencji na rynku konopi indyjskich w Polsce w latach 2012–2022 na podstawie ekspertyz dotyczących materiału dowodowego stanowiącego ziele konopi innych niż włókniste przekazane w tym okresie do Instytutu Ekspertyz Sądowych, który badany był pod kątem sumarycznej zawartości Δ^9 -THC i Δ^9 -THCA-A.

Z analizy statystycznej wynika, że w 2022 roku średnie sumaryczne stężenie Δ^9 -THC i Δ^9 -THCA-A w zabezpieczonym materiale było ponad dwukrotnie większe niż w roku 2012 i wynosiło 12%. Biorąc pod uwagę stężenie substancji psychoaktywnej, można zauważyć, że w kolejnych latach wzrasta liczba zabezpieczonego materiału o wysokiej zawartości Δ^9 -THC i Δ^9 -THCA-A. Dla przykładu w 2012 roku materiał dowodowy o stężeniu tych związków w zakresie 0,2–1,0%

i powyżej 15,0% stanowił odpowiednio: około 25% i 0,9% wszystkich dowodów w postaci suszu roślinnego, natomiast w 2022 roku, już tylko około 7% takich dowodów stanowiło ziele konopi innych niż włókniste na poziomie stężeń 0,2–1,0%, i aż 30% dowodów to susz o stężeniu Δ^9 -THC i Δ^9 -THCA-A powyżej 15%.

Dzięki przeprowadzonej analizie statystycznej można zauważyć, że produkty konopi indyjskich są najczęściej stosowanym środkiem odurzającym w Polsce, podobnie jak w innych krajach europejskich. Na rynku polskim utrzymuje się opisywana w raportach EMCDDA i UNODC tendencja wzrostowa zawartości Δ^9 -THC w ziele konopi innych niż włókniste. W ciągu dekady średnia sumaryczna zawartość Δ^9 -THC i Δ^9 -THCA-A wzrosła ponad dwukrotnie.

Słowa kluczowe: konopie indyjskie, Δ^9 -THC, Δ^9 -THCA-A

W53; T12

Heksahydrokannabinol w produktach z konopi

Karolina Sekuła¹, Roman Stanaszek¹, Karolina Masier¹, Bogumiła Byrska¹, Paulina Pytka¹, Dariusz Zuba¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie

W ostatnich latach bardzo popularne stały się produkty z konopi o niskiej zawartości delta-9-tetrahydrokannabinolu (Δ^9 -THC), sprzedawane na legalnym rynku komercyjnym. Ponadto w 2022 roku w Europie pojawiły się doniesienia o produktach z konopi zawierających heksahydrokannabinol (HHC) lub jego pochodną w postaci octanu (HHC-O). HHC jest półsyntetycznym kannabinoidem o budowie chemicznej zbliżonej do Δ^9 -THC. Występuje również naturalnie w śladowych ilościach w roślinach konopi. Z kolei HHC-O jest estrem otrzymywanym na drodze syntetycznej poprzez acylację HHC. Z doniesień użytkowników tych związków wynika, że działanie HHC-O jest silniejsze i dłuższe od HHC.

W związku z narastającą popularnością produktów zawierających HHC i HHC-O konieczne było opracowanie metody badawczej w celu identyfikacji i oznaczania tych związków w produktach z konopi.

Zakupione wzorce HHC i HHC-O poddawane były badaniom z zastosowaniem metod: GC-MS, LC-QTOFMS oraz UHPLC-DAD. Analizy prowadzono w celu uzyskania jak najlepszej selektywności dla badanych związków. Analizowano także rzeczywiste próbki w postaci zabezpieczonego suszu roślinnego, czy produktów „haszyszopodobnych”. Ekstrakcję kannabinoidów przeprowadzano z użyciem metanolu oraz acetonitrylu.

Wykorzystane metody analityczne pozwalają na identyfikację HHC oraz HHC-O w produktach z konopi. Badania zabezpieczonych dowodów wykazały, że w niektórych produktach nie potwierdzono deklarowanej obecności HHC-O, natomiast stwierdzono kannabigerol (CBG) i kwas kannabigerolowy (CBGA). HHC był natomiast obecny w suszu roślinnym, w którym stwierdzono również stosunkowo wysoką zawartość Δ^9 -THC i kwasu delta-9-THC-2-karboksylowego (Δ^9 -THCA-A) – na poziomie około 10%, a także w produktach żywiczych w kształcie kulek.

W związku z rosnącą popularnością półsyntetycznego kannabinoidu o akronimie HHC oraz jego pochodnej w postaci octanu (HHC-O), konieczne jest objęcie tych związków procedurą badawczą stosowaną do identyfikacji kannabinoidów w produktach z konopi. W tym celu przeprowadzono analizy wzorców HHC i HHC-O różnymi metodami analitycznymi, aby uzyskać jak najlepszy ich rozdział z innymi kannabinoidami występującymi w roślinach konopi. Próbkę dowodową dostarczane do Instytutu są także badane pod kątem ewentualnej obecności tych dwóch związków.

Słowa kluczowe: HHC, HHC-O, konopie, identyfikacja

W54; T13

Syntetyczne kannabinoidy przemycane w postaci niewidocznie impregnowanych arkuszy papieru

Bogumiła Byrska¹, Karolina Masier¹, Roman Stanaszek¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Syntetyczne kannabinoidy (kannabinomimetyki) od wielu lat należą do najbardziej rozpowszechnionych nowych substancji psychoaktywnych. Ze względu na niewykrywalność większości z nich za pomocą dostępnych na rynku szybkich testów skriningowych, są one bardzo rozpowszechnione wśród osób regularnie poddawanych badaniom pod kątem abstynencji od narkotyków jak również przez osadzonych w więzieniach. Często syntetyczne kannabinoidy są przemycane do więzień w postaci nasączonych nimi arkuszy papieru (np. listów lub zdjęć).

Celem pracy było oznaczenie syntetycznych kannabinoidów przemycanych do więzienia w formie impregnowanego nimi papieru.

Materiał do badań stanowiły czasopisma, krzyżówki, koperty oraz list zabezpieczony przez służby więzienne i nadesłany do badań w Instytucie. Materiał po wcześniejszej ekstrakcji metanolem analizowano techniką chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (GC-MS) oraz chromatografią cieczową ze spektrometrem mas z połączeniem hybrydowym kwadrupola i analizatora czasu przelotu (LC-QTOF/MS). Analizę ilościową zabezpieczonych substancji prowadzono przy zastosowaniu ultrasprawnego chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem szeregu diod (UPLC-PDA).

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że papier pochodzący z zabezpieczonych czasopism, krzyżówek i kopert nie zawierał środków odurzających, substancji psychotropowych i nowych substancji psychoaktywnych. Na powierzchni papieru z odręcznie napisanym listem stwierdzono obecność syntetycznego kannabinoidu o akronimie ADB-BUTINACA w ilościach 58-397 mg na 1 cm². Dawki tej substancji przyjmowane przez użytkowników w celach odurzających mieszczą się w szerokim zakresie. Użytkownicy tej substancji raportowali wystąpienie efektów odurzających po przyjęciu ADB-BUTINACA w formie roztworu o stężeniu 500 µg/ml poprzez wapowanie, 1 mg poprzez palenie i 75 µg po podjęzycznym przyjęciu tej substancji. Czas trwania efektów działania tej substancji wahał się od 30 min do 3 h.

Szeroki zakres zawartości ADB-BUTINACA na powierzchni listu wiąże się z ryzykiem przyjmowania tej substancji w wysokich dawkach (w zależności od drogi przyjęcia). Należy zwrócić uwagę na ten nietypowy sposób przemytu narkotyków. Papier na którym wykryto syntetyczny kannabinoid był bezwonny z ledwo widocznymi plamami.

Słowa kluczowe: syntetyczne kannabinoidy, przemyt, impregnowany papier

W55; T14

Kratom – rzadki lecz wzbudzający zainteresowanie roślinny narkotyk

Roman Stanaszek¹, Piotr Adamowicz¹, Bogumiła Byrska¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Kratom jest kolokwialnym określeniem zarówno rośliny *Mitragyna speciosa*, jak i środków odurzających z niej otrzymanych, w których głównymi składnikami psychoaktywnymi są mitragynina and 7-hydroksymitragynina. Można je zakupić w formie liści, kapsulek, tabletek, sproszkowanych substancji czy ekstraktów. W Polsce zarówno mitragynina jak i rośliny żywe lub susz, nasiona, wyciągi oraz ekstrakty *Mitragyna Speciosa* są kontrolowane i zaliczane do środków odurzających z grupy I-N.

Celem pracy była ocena potencjalnych zmian i tendencji w stosowaniu w celach odurzających produktów otrzymanych z kratomu.

Produkty otrzymane z kratomu były poddane analizie w ramach czterech ekspertyz zabezpieczonych środków w latach 2009, 2014 i 2019. Identyfikacji składników badanych próbek dokonano z użyciem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS), a analizę ilościową wykrytych substancji przeprowadzono stosując metodę ultra-wysokosprawnego chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym w postaci szeregu diod (UPLC-PDA).

W wyniku analiz badanych dowodów we wszystkich materiałach wykazano obecność mitragyniny. Ponadto w suszu roślinnym z opakowania z opisem „Spearmint P.E.P. Spice Original” zabezpieczonym w 2019 roku wykazano również obecność syntetycznych kannabinoidów JWH-018, homologu C8 związku CP-47,497 oraz jego trans izomeru. Zawartość procentowa mitragyniny w sproszkowanej substancji zabezpieczonej w 2019 roku wynosiła 1,1–1,3%. W tym samym materiale wykazano również obecność pajnanteiny i speciogyniny.

W analizowanych w Instytucie Ekspertyz Sądowych w ubiegłych latach sprawach kilkakrotnie wykazywano obecność mitragyniny w materiale dowodowym, potwierdzając, że pochodził z *M. Speciosa*. Zawartość procentowa tego alkaloidu była typowa dla tego typu materiałów. Pomimo, iż przyjmowanie samego kratomu może wydawać się stosunkowo bezpieczne, to jego mieszanie wraz z innymi środkami stanowią duże zagrożenie dla zdrowia i życia użytkowników. Warto również zwrócić uwagę na potencjał uzależniającego tego środka.

Słowa kluczowe: kratom, *Mitragyna speciosa*, mitragynina

W56; T15

LGD-4033, substancja niezarejestrowana a powszechna na czarnym rynku

Mariola Wicka¹, Aleksandra Drapała¹, Krzysztof Grucza¹, Patryk Konarski¹, Paweł Kaliszewski¹, Dorota Kwiatkowska^{1,2}

¹ Polskie Laboratorium Antydopingowe

² Uniwersytet Warszawski

Selektywne modulatory receptora androgenowego (SARM) to klasa substancji anabolicznych, które są zabronione w sporcie przez Światową Agencję Antydopingową (WADA). Takim związkem jest Ligandrol, znany również pod nazwami LGD-4033, VK-5211. W ostatnich latach wiele przypadków pozytywnych wyników z SARMs w testach antydopingowych można przypisać zanieczyszczonym suplementom diety. Wielu badaczy zajęło się metabolizmem LGD-4033 i podjęło próby badania wydzielania tego związku z moczem oraz detekcji metabolitów obecnych w moczu.

Celem pracy było opracowanie metody pozwalającej na rozróżnienie między nieumyślnym dopingiem poprzez spożywanie zanieczyszczonych suplementów a nadużywaniem SARMs poprzez poszerzenie wiedzy na temat wydalania LGD-4033 i jego metabolitów z zastosowaniem układu wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (UPLC-MS/MS).

Materiał do badań stanowiły rzeczywiste próbki moczu, pobrane od sportowców w trakcie rutynowej kontroli antydopingowej jak również dostarczone do laboratorium opakowania suplementów diety. Mocz referencyjny z uwagi na brak certyfikowanych materiałów odniesienia został pozyskany od ochotnika, który przyjął dawkę 50 µg LGD-4033, rozpuszczoną w 120 ml jogurtu pitnego.

Metodę sprawdzono pod kątem liniowości, granicy wykrywalności (LOD) oraz granicy oznaczalności (LOQ). Oznaczono również wydajność ekstrakcji. Określono selektywność, przeniesienie analitu, kontrolę odporności oraz precyzję i dokładność wewnątrz badania. Wszystkie te parametry mogły być sprawdzone tylko dla Ligandrolu, natomiast w przypadku pozostałych metabolitów identyfikacji dokonano na podstawie materiału referencyjnego. We wszystkich próbkach oszacowano stężenie LGD-4033, natomiast obecność metabolitów była różna, a ich ilość kształtowała się w zależności od badanego moczu. Otrzymane wyniki pokazały, że metabolit M5-b jest substancją, która występowała w największym stężeniu we wszystkich próbkach, w których potwierdzono obecność LGD-4033. Kolejnymi metabolitami były M4-b oraz M5-a. Można więc stwierdzić, że metabolitami do monitorowania są M4 -b, M5-a oraz M5-b. W badanym suplemencie potwierdzono obecność LGD-4033. Zaprezentowana metoda pozwala na rozdzielenie i monitorowanie ligandrolu i jego metabolitów.

Słowa kluczowe: Androgeny, SARMs, Ligandrol, LGD-4033, metabolity

W57; T16

Zastosowanie niektórych rozwiązań z zakresu diagnostyki medycznej w badaniach na potrzeby toksykologii sądowej

Jakub Czarny¹

¹ Instytut Genetyki Sądowej Sp. z o.o.

Dla interpretacji wyników badań uzyskanych opracowaną metodą kluczowym jest potwierdzenie stanu krwi. Wśród pytań obrony niezmiennie przewijają się: „Czy objętość krwi była właściwa?“, „Czy stan krwi był właściwy dla przeprowadzenia badań?“. O ile objętość krwi w próbówce jest stosunkowo łatwo oszacować o tyle odpowiedź na drugie pytanie może być problematyczna. Laboratorium nie posiada danych nt. warunków pobrania, przechowywania krwi przed badaniami i jej transportu. Stwierdzenie obecności dużych skrzepów krwi oraz zaawansowanej hemolizy odbywa się zwykle w oparciu o kryteria organoleptyczne. Z uwagi na pojawiające się rozbieżności w ocenie hemolizy podjęto badania nad wykorzystaniem analizy parametrów morfologicznych krwi na potrzeby oceny jej stanu. Analizy na analizatorze Mindray BC-6200 w zakresie 29 parametrów poddano próbki krwi w różnym czasie od ich pobrania, zabezpieczone na antykoagulanty: EDTA, 9NC, heparynę litową, cytrynian sodu i fluorek sodu. We wszystkich przypadkach wyniki badań odbiegały od zakresów referencyjnych. Z upływem czasu i postępującą hemolizą obserwowano stwierdzono zmiany następujących parametrów: RBC, HGB i HTC, dla których na podstawie wyników przeprowadzonych analiz zaproponowano wartości graniczne dla stwierdzenia hemolizy.

Interpretacja wyników oznaczeń stężenia alkoholu we krwi *post mortem* wymaga uwzględnienia obecności tzw. „alkoholu endogennego” powstającego w wyniku procesów metabolicznych mikroorganizmów. W literaturze wskazywano, że stwierdzenie w badanej krwi obecności mikroorganizmów mogło być obiektywną przesłanką do przyjęcia obecności alkoholu endogennego na wyższym poziomie, wynikającym z procesów *post mortem*. Na potrzeby oceny sterylności materiału biologicznego opracowano metodę real-time PCR wykorzystującą sondy molekularne komplementarne do konserwatywnych ewolucyjnie regionów genu 16S RNA bakterii i 18S RNA grzybów. Dla poszczególnych amplikonów przygotowano znormalizowane kontrole pozytywne, pozwalające na przygotowanie krzywej wzorcowej na potrzeby badań ilościowych. Pierwsze analizy walidacyjne wykazały wysoki sygnał dla kontroli negatywnej i punktów krzywej o niskim stężeniu DNA bakterii, czego przyczynę zidentyfikowano w zanieczyszczeniach poprodukcyjnych polimerazy DNA. Przy zastosowaniu polimerazy DNA wolnej od DNA LOD metody oznaczono na poziomie 5 kopii natomiast LOQ na poziomie 10 kopii.

Słowa kluczowe: hemoliza, alkohol endogeny

W58; T17

Opracowanie metody LC-MS/MS oznaczania środków odurzających i substancji psychotropowych w suchej kropli krwi (DBS) dla celów analizy toksykologicznej

Renata Halak¹, Zofia Mierzyńska¹, Konrad Kowalski¹,
Tomasz Bieńkowski¹, Przemysław Sendys¹

1 Masdiag Sp. z o.o., Warszawa

Wzrost popularności zażywania środków odurzających i substancji psychotropowych prowadzi do pojawienia się problemów związanych z uzależnieniem i zatruciami, dotyczącymi także dzieci i młodzieży, oraz stwarza zagrożenie dla uczestników ruchu drogowego. Z uwagi na rosnący problem społeczny istnieje potrzeba rozwoju nowoczesnych metod diagnostycznych.

Celem przeprowadzonych badań było opracowanie i walidacja metody oznaczania środków odurzających i substancji psychotropowych w DBS z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) do celów analizy toksykologicznej. Sucha kropla krwi (DBS) na bibule jest stabilna i łatwa w transporcie. Atutem jest niewielka ilość materiału potrzebnego do badania oraz możliwość jego pozyskania niezależnie od dostępności punktu pobrání. Należy jednak mieć na uwadze, iż jakość pobrania próbki ma bezpośredni wpływ na wyniki.

Opracowano czułą metodę rozcieńczeń izotopowych LC-MS/MS do jednoczesnego oznaczenia 25 związków i metabolitów w DBS (amfetamina, metamfetamina, MDA, MDMA, MDEA, kokaina, BEC, MMC, morfina, kodeina, 6-AM, fentanyl, metadon, tramadol, alprazolam, diazepam, oksazepam, nordiazepam, klonazepam, 7-aminoklonazepam, flunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam, lorazepam, hydroksyzyna, zolpidem). Aby zapewnić dobrą powtarzalność (RSD < 15%), ekstrakcję z DBS przeprowadzono z użyciem mieszaniny wzorców znakowanych izotopowo w metanolu. Osiągnięto limity wykrywalności (LOD) ponad 10-krotnie niższe niż przyjęte stężenia odpowiadające za stan po użyciu poszczególnych substancji psychoaktywnych. Górny zakres dynamiczny metody wynosił od kilkunastu do kilku tysięcy ng/ml.

Uzyskano zadowalające parametry walidacyjne metody związane z DBS: efekt hematokrytu (RSD < 15% dla wartości w standardowym przedziale Ht 0,4-0,55), efekt wulkanu (różnica w rozmieszczeniu analitów w obrębie DBS < 15%) oraz objętości kropli krwi (RSD do 25% dla kropli niestandardowych poza zakresem 40-60ul). Z badań stabilności wynika, że anality nie ulegają znacznej degradacji w trakcie transportu i długoterminowego przechowywania (do 1 miesiąca). Precyzja pośrednia oznaczeń wynosi poniżej 20%, a dla substancji z grupy amfetaminy poniżej 10%.

Metoda analizy LC-MS/MS może posłużyć do oznaczania środków odurzających i substancji psychotropowych z DBS dla celów analizy toksykologicznej.

Słowa kluczowe: DBS, sucha kropla krwi, LC-MS/MS, narkotyki, środki odurzające, substancje psychotropowe

W59; T18

Problemy analityczne i interpretacyjne wynikające z obecności izomerów chlorometkatynonu w sekcyjnym materiale biologicznym

Karol Kula¹, Sebastian Rojek¹, Martyna Maciów-Głąb¹,
Agnieszka Romańczuk¹, Kamil Synowiec¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum,
Uniwersytet Jagielloński

Syntetyczne katynony pozostają w dalszym ciągu popularne na nielegalnym rynku nowych substancji psychoaktywnych (NSP) ze względu na swoje działanie psychostymulujące i halucynogenne, naśladujące efekty działania kokainy, MDMA i amfetaminy. Chlorometkatynon (CMC), który jest chlorowaną pochodną metkatynonu, występuje w postaci 3 izomerów konstytucyjnych. 2-CMC praktycznie nie występuje na rynku NSP. Najczęściej spotykane są 3-CMC i 4-CMC. Monitorowanie izomerów wymaga zastosowania odpowiednich metod identyfikacji, a ich mała stabilność w materiale biologicznym powoduje wiele problemów związanych z interpretacją uzyskanych wyników analiz w aspekcie ewentualnej, toksykologicznej przyczyny zgonu.

Celem pracy była ocena stężeń izomerów chlorometkatynonu w próbkach krwi, pochodzących z 27 przypadków zgonów.

Oznaczanie izomerów CMC w sekcyjnych próbkach krwi przeprowadzono metodą SPE/LC-ESI-MS-MS. Metodę SPE/GC-EI-MS zastosowano do identyfikacji izomerów dihydro-CMC po przekształceniu analitów w pochodne trimetylosililowe.

Oznaczenie substancji macierzystej w sekcyjnych próbkach krwi było możliwe jedynie w 12 przypadkach. Metabolity 3- i 4-dihydro-CMC wykryto we wszystkich analizowanych próbkach krwi, co pozwoliło potwierdzić przyjęcie substancji macierzystej aż w 15 przypadkach, przy jednoczesnej nieobecności 3- lub 4-CMC. W żadnym przypadku analiza badanego materiału nie potwierdziła obecności 2-CMC lub 2-dihydro-CMC. W większości omawianych przypadków (n=22) izomery CMC przyjmowane są w połączeniu z innymi substancjami, w tym „klasycznymi narkotykami”, środkami farmakologicznymi, NPS, a w 2 przypadkach ze względu na okoliczności potwierdzono obecność COHb.

W 20 przypadkach opinia sądowo-lekarska zakładała toksykologiczną przyczynę zgonu, najczęściej w przebiegu politoksykomanii.

Monitorowanie biomarkerów 3- i 4-dihydro-CMC gwarantuje pełen sukces analityczny, potwierdzając przyjęcie substancji macierzystej we wszystkich analizowanych przypadkach. Ocena stężeń 3- i 4-CMC wydaje się mało wiarygodna, jeśli nie zapewni się odpowiednich warunków przechowywania materiału biologicznego, bezpośrednio po pobraniu. Raportowane stężenia nie odzwierciedlają zwykle rzeczywistych stężeń izomerów CMC w chwili zgonu. W związku z tym interpretacja uzyskanych wyników w zakresie oceny ich toksyczności i ewentualnej przyczyny zgonu jest trudna.

Słowa kluczowe: chlorometkatynon, stabilność, biomarker, LC-ESI-MS-MS, zatrucie

W60; T19**Ocena wyników badań na obecność środków psychoaktywnych w ślinie testerem Aquilascan****Artur Teżyk¹, Karina Sommerfeld-Klatta², Jarosław Tobolski¹, Czesław Żaba¹**¹ Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu² Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Obecnie na rynku diagnostycznym pojawia się coraz więcej urządzeń i zestawów testowych przeznaczonych do potwierdzania obecności środków psychoaktywnych w ślinie, stanowiących fazę przedlaboratoryjną i narzędzie oferowane do kontroli trzeźwości kierowców dla policji. Coraz częściej z przesyłanych postanowień do ZMS w Poznaniu mających na celu badanie krwi kierowców wynika, że urządzenie AquilaScan jest stosowane jako narzędzie do przesiewowych badań na obecność narkotyków w ślinie w trakcie kontroli drogowej.

Celem niniejszego badania była analiza porównawcza wyników otrzymanych w ślinie testem AquilaScan z weryfikacją wyników we krwi pobranej od kierujących w chwili zatrzymania metodą referencyjną LC-MS/MS.

Do badania zakwalifikowano 50 kierowców, od wszystkich pobrano krew po wcześniejszym przebadaniu śliny testerem AquilaScan.

Odsetek wyników fałszywie dodatnich uzyskanych za pomocą urządzenia AquilaScan w porównaniu do wyników badań krwi wynosił dla konopi indyjskich 38%, amfetaminy 16%, metamfetaminy 22%, kokainy 12%, opiatów 20% i benzodiazepin 22%. Odsetek wyników fałszywie ujemnych wynosił dla konopi 6%, amfetaminy 16%, metamfetaminy 10%, kokainy 0%, opiatów 0% i benzodiazepin 0%.

Urządzenia stosowane do testowania na obecność środków psychoaktywnych są ważnymi narzędziami dla policji w sprawach, w których podejrzewa się, że kierowca prowadził pojazd pod wpływem środków psychoaktywnych. Po dokonanej analizie porównawczej wykazano, że urządzenie AquilaScan nie w pełni poprawnie identyfikował kierowców podejrzanych o prowadzenie pod wpływem środków psychoaktywnych ze względu na znaczny odsetek wyników fałszywie dodatnich zwłaszcza w zakresie potwierdzenia zażycia przetworów konopi indyjskich, metamfetaminy, opiatów i benzodiazepin jak i fałszywie ujemnych dla wyników amfetaminy i metamfetaminy w porównaniu ze stężeniami narkotyków we krwi.

Słowa kluczowe: ślina, krew, weryfikacja, LC/MS-MS, kontrola

W61; T20**Wykorzystanie źródła jonów do ekstrakcji termicznej i spektrometru mas typu potrójny kwadrupol w analizie jakościowej nowych substancji psychoaktywnych****Bartłomiej Feigel¹, Piotr Adamowicz¹, Sławomir Wybraniec²**¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie² Katedra C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki

Stale rozwijający się rynek nowych substancji psychoaktywnych (NPS) wciąż stwarza wiele problemów analitycznych. Ze względu na duże ilości NPS pojawiających się na rynku narkotykowym każdego roku, konieczne wydają się opracowanie metod badawczych umożliwiających szybką i selektywną analizę tych związków. Najbardziej popularną techniką stosowaną w badaniach NPS jest chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS). Umożliwia ona analizę szerokiego spektrum związków, wymaga jednak często skomplikowanej metody przygotowania próbki, a czas analizy trwa zwykle około kilkadziesiąt minut. Problemy te można rozwiązać stosując źródło jonów do ekstrakcji termicznej (TEIS). Pozwala ono na szybką i selektywną analizę badanego materiału, z pominięciem lub znacznym uproszczeniem etapu przygotowania próbki.

Do opracowania jakościowej metody analizy NPS zastosowano źródło jonów do ekstrakcji termicznej sprzężone ze spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol (TEIS-TQMS). Przeprowadzono optymalizację parametrów pracy spektrometru mas dla 10 składników „dopalaczy” oraz wyznaczono parametry walidacyjne dla opracowanej metody badawczej. Wykonano analizę próbek rzeczywistych z wykorzystaniem techniki TEIS-TQMS i LC-MS/MS oraz porównano otrzymane wyniki badań.

Opracowana metoda badawcza spełnia postawione jej wymagania i może być wykorzystana we wstępnej analizie przesiewowej nowych substancji psychoaktywnych.

Słowa kluczowe: dopalacze, nowe substancje psychoaktywne, NPS, LC-MS/MS, TEIS-TQMS

W62; T21

Analityka LC-MS/MS w toksykologii – czy wysoka rozdzielczość ma znaczenie?

Rafał Szewczyk¹, Julia Mironenka¹, Anna Lenartowicz¹,
Adrian Soboń¹, Katarzyna Krupczyńska-Stopa¹,
Maciej Stopa², Andrzej Kwaśnica³

1 LabExperts sp z o.o.

2 Bioanalytic sp z o.o.

3 Lab4Tox sp z o.o.

Tandemowa spektrometria mas w połączeniu z separacją chromatograficzną (LC-MS/MS) stała się obecnie jedną z najbardziej popularnych metod instrumentalnych wykorzystywanych w wielu dziedzinach nauk, zarówno na etapie prac badawczych, rozwojowych jak i rutynowych analiz. Technika LC-MS/MS pozwala na wykonanie celowanych analiz ilościowych i jakościowych lub analiz niecelowanych pozwalając na wielopoziomą charakterystykę badanej próbki pod kątem obecności od setek do tysięcy substancji w jednej analizie. Złotym standardem w analizach celowanych są niskorozdzielcze spektrometry typu potrójny kwadrupol (QqQ) gdzie typowo stosuje się skanowanie MRM charakteryzujące się przede wszystkim wysoką czułością, specyficznością i szerokim zakresem dynamicznym. Pomimo wysokiej specyficzności skanowanie MRM w niektórych przypadkach jest niewystarczające do jednoznacznego potwierdzenia obecności substancji ze względu na różnorodne efekty matrycowe m.in.: fałszywie dodatnie sygnały, podwyższone tło lub zmiany we wzajemnym stosunku mierzonych par MRM, pogłębiające się szczególnie w niskich stężeniach badanych substancji w próbce. Rozwiązaniem problemu jest wykorzystanie do identyfikacji lub potwierdzenia obecności substancji systemów wysokiej rozdzielczości HR-MS/MS. Nowoczesne tandemowe spektrometry HR-MS/MS oparte o konstrukcje kwadrupolowe oraz analizatory czasu przelotu (QqTOF) charakteryzują się bardzo wysoką szybkością skanowania oraz liniowością tożsamą z urządzeniami QqQ.

Przewagi HR-MS/MS zostaną zilustrowane przykładami wyników celowanych analiz ilościowych (skanowanie MRMhr) substancji stosowanych w dopingu oraz psychoaktywnych z jednoczesnym wielopoziomowym potwierdzeniem obecności tych substancji na podstawie defektu masy mierzonego w systemie HR-MS/MS na poziomie przeszukiwania i dopasowania widm MS/MS (bazy danych), wybranego jonu prekursorowego i fragmentacyjnego oraz rozkładu izotopowego substancji. W przypadku analiz jakościowych przedstawione zostaną wybrane przykłady wykorzystania danych HR-MS/MS (metodyka DDA i DIA) do określenia składu nieznannej substancji lub niecelowanego przeszukiwania prób biologicznych pod kątem identyfikacji substancji psychoaktywnych, leków lub innych substancji toksycznych w analizach bieżących i retrospektywnych.

Słowa kluczowe: analiza ilościowa, analiza jakościowa, identyfikacja substancji, LC-MS/MS, HR-MS/MS

W63; T22

Badanie zdolności do inkorporacji w strukturę włosów wybranych związków z grupy nowych substancji psychoaktywnych i ich metabolitów

Dominika Przygodzka¹, Grzegorz Buszewicz¹, Grzegorz Teresiński¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Głównym celem niniejszej pracy była ocena zdolności do inkorporacji w strukturę włosów nowych substancji psychoaktywnych z grupy syntetycznych kannabinoidów oraz katynonów, a także ich metabolitów. Dodatkowym celem było opracowanie specyficznej bazy jonów fragmentacyjnych związków należących do powyższych grup.

W celu zbadania zdolności do inkorporacji ksenobiotyków w strukturę włosów, przebadano próbki zabezpieczone z okolicy potylicznej głowy od 129 denatów. Dokonano podziału materiału ze względu na stopień pigmentacji z uwzględnieniem włosów siwych, blond, brąz, czarnych oraz szarych, które stanowiły mieszanek włosów siwych i ciemnych. Pukle, zgodnie z wytycznymi SoHT, poddawano płukaniu analizując na bieżąco stopień zanieczyszczenia popłuczyn. Następnie próbki segmentowano, rozdrabniano i ekstrahowano metanolem. Ekstrakty analizowano za pomocą wysokosprawnego chromatografu cieczowego sprzężonego ze spektrometrem mas typu kwadrupol z analizatorem czasu przelotu. Próbkę badano pod kątem obecności syntetycznych kannabinoidów i katynonów oraz ich metabolitów wykrywanych do tej pory jedynie w moczu i krwi.

Bazę jonów fragmentacyjnych przygotowano na podstawie analizy 23 syntetycznych kannabinoidów i 20 katynonów. Zbadano i opisało ich mechanizmy fragmentacji uzyskując informację o charakterystycznych jonach pozwalających na identyfikację związków należących do tych grup.

Stwierdzono, że syntetyczne kannabinoidy oraz katynony występowały we włosach w stężeniach zbliżonych do stężeń oznaczanych we krwi osób żyjących (po przeliczeniu jednostek). Oprócz związków macierzystych w badanych próbkach włosów wykryto także ich metabolity. W przypadkach, w których podejrzewano chroniczne zażywanie substancji odurzających, stosunek udziału metabolitów do związków podstawowych wzrastał. Związki podstawowe jak i ich metabolity były wykrywane w popłuczynach. Podkreśla to konieczność bieżącej kontroli pozostałości po oczyszczaniu włosów, w celu dostatecznego usunięcia ksenobiotyków z ich powierzchni.

Opracowano bazę jonów fragmentacyjnych, która z powodzeniem może być stosowana jako uzupełnienie rutynowej analizy toksykologicznej w kierunku NSP.

Słowa kluczowe: NSP, włosy, LC-MS, HRMS

P1

Pokąsanie przez człowieka jako rzekome żerowanie zwierząt

Paweł Kopacz¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Przypadek dotyczący zwłok kobiety lat 59, skierowanych jako zgon o nieustalonej przyczynie i podejrzenie żerowania zwierząt. Podczas oględzin i sekcji zwłok ujawniono bardzo liczne (kilkadziesiąt) obrażenia kątane o morfologii odpowiadającej obrażeniom kąsanym zadanych przez człowieka, którym towarzyszyły obrażenia powłok w lokalizacjach typowo spotykanych w następstwie pobicia. W czasie po wykonaniu badania pośmiertnego napłynęły informacje, z których wynikało, że pobicia i pokąsania dokonał niepełnosprawny syn, który przez rodzinę miał dodatkowo być określany jako niewidomy. Ponadto u kobiety stwierdzono objawy spotykane jak w dławieniu, względnie zadzierzgnięciu, oznaczono alkohol etylowy we krwi w stężeniu spotykanym w zatruciach śmiertelnych.

Słowa kluczowe: rany kątane, dławienie, pobicie

P2

Ustalenie zażyłości powstania obrażeń oraz identyfikacja genetyczna ofiary w przypadku śmiertelnego pogryzienia przez psa

Anna Milaszkiewicz¹, Piotr Listos², Kinga Panasiuk-Flak², Rafał Kaliszek¹, Grzegorz Teresiński¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

² Katedra Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Liczba ofiar śmiertelnych ataków psów w krajach europejskich na przestrzeni kilku lat wzrasta w tempie kilku procent rocznie. W latach 1995-2016 w Polsce zarejestrowano 49 ofiar. Mimo jednak tendencji wzrostowej, ataki powodujące u człowieka poważne obrażenia lub śmierć, występują stosunkowo rzadko. Zgon w takich przypadkach jest najczęściej spowodowany uduszeniem, wyrwaniem oraz następstwami urazów głowy. W praktyce sądowo-lekarskiej podstawowym zadaniem jest ustalenie, czy obrażenia były zażyłowe i jednocześnie doprowadziły do zgonu, czy wyłącznie pośmiertne.

Opis przypadku: Rowerzysta został zaatakowany przez psa, co doprowadziło do jego śmierci. Na jego ciele podczas sekcji zwłok stwierdzono bardzo liczne ślady działania psich zębów i pazurów z rozerwaniami i ubytkami tkanek miękkich okolic pachowej i pa-

chwinowej, a także zaawansowane zmiany gnilne, utrudniające diagnostykę. Przyczyną zgonu był krwotok zewnętrzny spowodowany rozerwaniem dużych naczyń krwionośnych kończyn, a badanie histopatologiczne potwierdziło cechy przyżyciowego powstania obrażeń. Pies został ustrzelony jeszcze tego samego dnia i poddany sekcji zwłok, w trakcie której w żołądku odnaleziono płaty skórne. Poddano je badaniom genetycznym, które potwierdziły ich pochodzenie od zmarłego mężczyzny.

Ustalenie zażyłości powstania obrażeń spowodowanych przez zwierzęta może być utrudnione, gdy zwłoki ofiary zostały objęte zmianami gnilnymi. Wtedy rozstrzygające może okazać się m. in. badanie histopatologiczne oraz analiza protokołu oględzin zwłok na miejscu ich znalezienia, w tym fotografii zwłok.

W omawianym przypadku, celem pociągnięcia do odpowiedzialności właściciela psa, niezbędna była identyfikacja ofiary przy pomocy badań genetycznych płatów skórnych, znajdujących się w przewodzie pokarmowym psa.

Słowa kluczowe: zagryzienie przez psa, śmiertelny atak psa, ślady ugryzienia

P3

Zgon 1,5-letniego dziecka na skutek niedrożności jelita w mechanizmie zadzierzgnięcia po połknięciu baterii guzikowych i magnesów

Anna Milaszkiewicz¹, Grzegorz Teresiński¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Baterie guzikowe i magnesy stanowią szczególnie, niebezpieczny rodzaj ciał obcych, ze względu na wysoki poziom ryzyka wystąpienia poważnych powikłań (ze śmiercią łącznie) po ich połknięciu, zwłaszcza, gdy znajdą się w przewodzie pokarmowym jednocześnie. Ich oddziaływanie na przewód pokarmowy może mieć charakter zarówno mechaniczny, jak i chemiczny. Przypadki połknięcia tego typu ciał obcych przez dzieci mogą pojawiać się coraz częściej, z powodu rozpowszechnienia bardziej zaawansowanych technologicznie zabawek.

W pracy przedstawiono przypadek zgonu 1,5-letniego chłopca, który został przyjęty do szpitala z powodu wielokrotnych wymiotów i napadowego bólu brzucha. Chłopiec w krótkim czasie zmarł, a przyczyną jego zgonu okazało się stwierdzone sekcyjnie masywne zadzierzgnięcie jelita cienkiego z martwicą, które wystąpiły jako powikłania po połknięciu dwóch baterii guzikowych połączonych ze sobą dwoma magnesami, odnalezionych podczas sekcji zwłok w świetle przewodu pokarmowego. Wzajemne przyciągnięcie się ciał obcych przez ściany sąsiadujących ze sobą pętli jelita cienkiego i kątnicy doprowadziło do rozmiękania ich ścian w miejscu przylegania baterii i magnesów, a następnie do perforacji.

Po połknięciu baterii i magnesów niesie za sobą wysokie ryzyko zchorowalności i śmiertelności w różnych grupach wiekowych.

Może ono jednak zostać istotnie zredukowane przez wczesne rozpoznanie problemu (dzięki uzyskaniu danych z wywiadu klinicznego i świadomości istniejącego ryzyka tego rodzaju zdarzeń) oraz wdrożenie odpowiedniej diagnostyki i leczenia.

Słowa kluczowe: baterie guzikowe, połknięcie, ciało obce

P4

Weryfikacja charakteru, mechanizmu powstania i kwalifikacji karnej obrażeń ciała w oparciu o badania obrazowe w opiniowaniu sądowo-lekarskim w wypadkach drogowych – opis przypadków

Dorota Pieśniak¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wykorzystanie badań radiologicznych, dokumentujących obrażenia ciała dla potrzeb postępowań kryminalistycznych w sprawie uszkodzeń ciała datuje się na ponad sto lat, a od ponad dwudziestu lat techniki radiologiczne wykorzystuje się do diagnostyki pośmiertnej. Dokumentacja medyczna, stanowiąca podstawę do opiniowania o skutkach uszkodzeń ciała, zazwyczaj zawiera wyniki badań obrazowych. W niektórych przypadkach analiza okoliczności zdarzenia może budzić wątpliwości co do rozpoznania postawionych w opisach badań radiologicznych. Często ponowna ocena badań radiologicznych umożliwiła specjalistom medycyny sądowej wyciągnięcie właściwych wniosków odnośnie do charakteru, jak też mechanizmu powstania obrażeń ciała, przydatnych w rekonstrukcji zdarzenia [1].

W pracy zaprezentowano dwa przypadki opinii sądowo-lekarskich, w których opiniowano o kwalifikacji karnej i mechanizmie powstania uszkodzeń ciała w wypadkach drogowych, wykorzystując wnioski z ponownej oceny radiologicznej badań obrazowych. W pierwszym przypadku ponowna ocena radiologiczna rtg i TK kręgosłupa pozwoliła na weryfikację błędnego rozpoznania jego urazowego uszkodzenia zamiast przewlekłych zmian chorobowych, a tym samym zmianę kwalifikacji karnej i kwalifikacji zdarzenia jako wypadku drogowego. W drugim z przypadków ocena charakteru uszkodzeń obu podudzi w badaniu TK, wraz z projekcją 3D pozwoliła na wskazanie mechanizmu ich powstania (najechnanie) oraz wykluczenie potrącenia przez samochód i zgniecenia kończyn po krzywdzonego drzwiami samochodu.

Ponowna ocena wykonanych badań radiologicznych wskazała na konieczność weryfikacji wniosków wcześniej sporządzonych opinii: 1. właściwa kwalifikacja karna uszkodzeń ciała i zakwalifikowanie zdarzenia drogowego jako kolizji, 2. powstanie uszkodzeń ciała wskutek najechnania, co umożliwiło pełną rekonstrukcję wypadku drogowego.

Słowa kluczowe: tomografia komputerowa, obrażenia ciała, medycyna sądowa

Piśmiennictwo

[1] Borowska-Solonyńko A, Solonyńko B. The use of 3D computed tomography reconstruction in medico-legal testimony regarding injuries in living victims – Risks and benefits. *J Forensic Leg Med.* 2015;30:9-13.

P5

Nietypowe obrażenia poresuscytacyjne w materiale Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Justyna Krupińska¹, Katarzyna Wochna¹, Anna Smędra¹, Jarosław Berent¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Do najczęstszych powikłań poresuscytacyjnych obserwowanych podczas badań pośmiertnych należą podbiegnięcia krwawe tkanek miękkich, złamania mostka i żeber w przednio-bocznych liniach ciała, odma opłucnowa, krwiaki jam opłucnowych oraz pęknięcia wątroby i śledziony. Prawdopodobieństwo takich powikłań rośnie w przypadku długotrwałego prowadzenia czynności. Jest też większe w przypadku mechanicznego masażu serca. Powikłania takie niekiedy mogą być trudne do odróżnienia od zmian urazowych doznanych wcześniej.

W pracy przedstawimy dwa przypadki nietypowych powikłań związanych z długotrwałą resuscytacją.

Pierwszy przypadek dotyczył 39-letniego mężczyzny, u którego prowadzono długotrwałą (ok. 90 minut) resuscytację z użyciem urządzenia do mechanicznego masażu pośredniego serca (LUCAS®). Sekcyjnie stwierdzono poprzeczne złamania mostka i obustronne złamania licznych żeber w przednio-bocznych liniach ciała, a także rozległe rozerwanie torebki i mięszu wątroby oraz śledziony z krwiakiem jamy otrzewnej (1950 ml krwi). Powyższym obrażeniom towarzyszyły obfite podbiegnięcia krwawe w okolicznych tkankach miękkich, w tym w obrębie głowy trzustki.

Drugi przypadek dotyczył 67-letniej kobiety, u której prowadzono długotrwałą resuscytację (ok. 60 minut), przy czym masaż pośredni serca był prowadzony ręcznie. Sekcyjnie stwierdzono poprzeczne złamania mostka oraz obustronne złamania licznych żeber w przednio-bocznych liniach ciała z rozerwaniami opłucnych i obustronną odmą opłucnową, a także pęknięcie przedniej ściany serca głębokości 1-2 mm z towarzyszącym rozerwaniem prawej tętnicy wieńcowej i tamponadą worka osierdziowego (200 ml krwi).

Słowa kluczowe: powikłania poresuscytacyjne, manualny i mechaniczny masaż pośredni serca

P6

Charakterystyka uszkodzeń zwłok spowodowanych przez kietże

Magda Wojarska¹, Ewa Rzepecka-Woźniak², Lidia Ziobro¹, Oliwia Boruta¹, Wiktoria Wojturska¹, Kateryna Shtohryn¹, Tomasz Konopka²

¹ Studenckie Koło Naukowe Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

² Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Od kilku lat w Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie na ciałach wydobywanych z wody stwierdza się nietypowe obrażenia. W niektórych przypadkach towarzyszy im obecność małych skorupiaków na zwłokach, które zostały zidentyfikowane jako *Dikerogammarus haemobaphes*, gatunek kietży.

Celem pracy było zbadanie, w jakich rzekach i obiektach wodnych występuje to zjawisko, czy ma ono związek z czasem przebywania ciała w wodzie i zdefiniowanie wspólnych cech uszkodzeń spowodowanych przez kietże. Ponadto oceniono częstość występowania tego zjawiska, biorąc pod uwagę temperaturę powietrza oraz porę roku.

Metody: Przeanalizowano protokoły sekcji zwłok z Zakładu Medycyny Sądowej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w latach 2015-2022. Wybrano 203 przypadki ofiar utonięć. Zweryfikowano występowanie obrażeń i ich rodzaj na podstawie dokumentacji oraz zdjęć sekcyjnych. W Zakładzie Medycyny Sądowej wykonano badania potwierdzające obecność białek ludzkich w układzie pokarmowym skorupiaków.

Wspólną cechą wszystkich przypadków było punktowe przerwanie ciągłości naskórka. W 5 z 203 przypadków stwierdzono obecność małych skorupiaków, a także ubytki naskórka na odstąpnionych częściach ciała. Podobne uszkodzenia, lecz bez występowania kietży były obecne na 10 ciałach.

Nie stwierdzono typowych dla *Dikerogammarus haemobaphes* uszkodzeń na zwłokach w stanie zaawansowanego rozkładu. Zjawisko żerowania kietży na zwłokach obserwowane było wyłącznie przy dodatniej temperaturze powietrza, z nasileniem w okresie wiosenno-letnim.

Wnioski: Charakterystyczne punktowe ubytki naskórka na zwłokach wydobytych z wody są wynikiem żerowania kietży, w tym *Dikerogammarus haemobaphes*. Takie uszkodzenia występowały tylko wtedy, gdy czas od śmierci ofiary utonięcia do jej wydobywania z wody był krótki.

Słowa kluczowe: kietże, uszkodzenia pośmiertne, utonięcie

P7

Lateralizacja aktywności syntazy cytrynianowej w przedniej części kory zakrętu obręczy u samobójców

Karol Karnecki¹, Aleksandra Chamier-Gliszczyńska¹, Julian Świerczyński², Johann Steiner³, Marta Krzyżanowska¹, Michał Kaliszan¹, Tomasz Gos¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Gdański Uniwersytet Medyczny

² Katedra i Zakład Biochemii, Gdański Uniwersytet Medyczny

³ Department of Psychiatry, Otto von Guericke University, Magdeburg, Germany

Według Światowej Organizacji Zdrowia w 2012 r. na świecie śmiercią samobójczą zmarło ponad 800 000 osób. Samobójstwo jest jedną z głównych przyczyn umieralności, stanowiąc około 1,5% wszystkich zgonów. Z neuropatologicznego punktu widzenia, u osób z zachowaniami samobójczymi często stwierdza się nieprawidłowości w brzuszno-przyśrodkowej korze przedczołowej (vmPFC). Nieprawidłowości te w dużej mierze korelują z deficytami neurochemicznymi, które odnotowano w tej grupie. Przednia część kory zakrętu obręczy (ACC) jako część brzuszno-przyśrodkowej kory przedczołowej odgrywa kluczową rolę w regulacji zachowań zależnych od emocji, które wykazują głębokie zaburzenia w samobójstwie. Syntaza cytrynianowa (CS) jest kluczowym enzymem cyklu kwasów trójkarboksylowych o fundamentalnym znaczeniu zarówno dla zaopatrzenia mózgu w energię (tj. w biosyntezie ATP), jak i biosyntezy neuroprzekazników i lipidów. Wymienione procesy są zaburzone w zachowaniach samobójczych. Cytrynian uwalniany w dużych ilościach z astrocytów może także działać jako chelator zewnątrzkomórkowych kationów dwuwartościowych, a tym samym modulować funkcję receptorów. W szczególności aktywność glutaminergicznych receptorów N-metylo-D-asparaginowych (NMDAR) może być stymulowana (*up-regulation*) przez chelatujące działanie kationów magnezu (Mg²⁺), a zwiększona aktywność przedczołowych NMDAR została stwierdzona u ofiar samobójstw w depresji.

Ocenę aktywności CS przeprowadzono w próbkach pobranych z przedniej części kory zakrętu obręczy obu półkul mózgu 24 samobójców (21 mężczyzn i 3 kobiety) z nieznaną diagnozą psychiatryczną i 24 przypadków kontrolnych (20 mężczyzn i 4 kobiety). W porównaniu z grupą kontrolną, u ofiar samobójstw stwierdzono zmniejszoną aktywność CS w prawej ACC, a dalsze analizy statystyczne wykazały lewostronną lateralizację aktywności CS w ACC u samobójców płci męskiej w porównaniu z mężczyznami z grupy kontrolnej ($p = 0,0003$). Na wyniki przeprowadzonych badań nie miały wpływu czas po śmierci, stężenie alkoholu we krwi, wiek czy masa mózgu. Nasze badania sugerują, że zaburzona aktywność CS w ACC odgrywa rolę w patogenezie samobójstw, co jest zgodne z wynikami naszych wcześniejszych badań morfologicznych i molekularnych regionów przedczołowych w samobójstwach.

Słowa kluczowe: samobójstwo, syntaza cytrynianowa, przednia kory zakrętu obręczy, sekcja zwłok

P8

Zmiany ziarniniakowe w płucach w przebiegu wieloletniego uzależnienia od opiatów – materiał dwójtomny w histopatologii sądowo-lekarskiej

Ewa Rzepecka-Woźniak¹, Marta Konieczna-Waškowska¹, Magdalena Czepiec¹, Klaudia Zębalska¹, Agnieszka Romańczuk¹, Sebastian Rojek¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Codzienna praktyka diagnostyki tanatologicznej pokazuje, że zleceńodawcy badań pośmiertnych rzadko zdają sobie sprawę ze znaczenia badania histopatologicznego.

Materiałem do badań były wycinki narządów wewnętrznych pobranych podczas sekcji zwłok 30 – letniej kobiety, skierowanych w związku z podejrzeniem przedawkowania opiatów u osoby z wywiadem wieloletniego uzależnienia. Rodzina zmarłej podała, że córka chorowała „na serce, płuca”, leczyła się z powodu depresji, spożywała alkohol. Do zgonu doszło w obecności świadków, którzy zeznali, że zmarła podała sobie zastrzyk z różnych substancji psychoaktywnych.

Przeprowadzono konwencjonalną sekcję zwłok. Podczas oględzin zewnętrznych ujawniono bliznowate zmiany o typie przetok w okolicach pachwin. W badaniu wewnętrznym poza przekrwieniem narządów wewnętrznych, obrzękiem płuc i cechami zapalenia płuc, cechami ujawniono kamienie kałowe w jelicie grubym. Pobrano materiał do badań toksykologicznych. Wielokierunkowe badanie toksykologiczne wykazało obecność morfiny oraz jej dwóch głównych metabolitów: aktywnego farmakologicznie 6-glukuronidu morfiny (M6G) i nieaktywnego 3-glukuronidu morfiny (M3G) w stężeniach spotykanych w zatruciach ze skutkiem śmiertelnym, a ponadto aripiprazolu oraz metylofenidatu w stężeniach toksycznych. Wykazano także inne leki i substancje będące ich metabolitami w stężeniach odpowiadających poziomom terapeutycznym. Wykonano badanie histopatologiczne (barwienie HE), w płucach zmarłej wykazując obraz zmian o charakterze ziarniniakowego zapalenia z obecnością materiału dwójtomnego, spotykanego w przypadkach przewlekłego, często wieloletniego dożylnego przyjmowania narkotyków.

W związku z przyjmowaniem przez osoby uzależnione substancji nieoczyszczonych, przygotowanych „domowym” sposobem, w przeszłości w badaniu pośmiertnym niejednokrotnie był spotykany obraz zmian o typie ziarniniakowego zapalenia płuc. Obecnie należy do rzadko występujących zmian, o których jednak należy pamiętać.

W pracy zaprezentowane zostaną obrazy stanowiące wyniki badania histopatologicznego płuc zmarłej, a także inne przypadki obecności materiału dwójtomnego w pośmiertnej diagnostyce histopatologicznej.

Słowa kluczowe: sekcja zwłok, diagnostyka histopatologiczna, materiał dwójtomny, zatrucie opiatami, politoksykomania

P9

Tanatos i tanatologia

Jarosław Berent¹, Anna Smędra¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

W mitologii greckiej Tanatos był uosobieniem śmierci, pomniejszą postacią, którą często wspominano, ale która sama rzadko się pojawiała. Hezjod w swoim poemacie Teogonia podał, że został on zrodzony partenogenicznie przez boginię Nyx, uosobienie ciemności nieba, która to powstała wprost z Chaosu. Choć Hezjod wymienia Tanatosa, to w mitologii nie ma on własnego mitu, a jedynie w dwóch pojawia się jako postać drugoplanowa (mit o Alkestis i mit o Syzyfie).

Od imienia mitycznego Tanatosa pochodzi pojęcie tanatologii, które jest stosowane na świecie dla określenia badań śmierci i umierania w różnych ujęciach, np. historycznym, filozoficznym, psychologicznym, socjologicznym, czy nawet teologicznym. W Polsce funkcjonuje dodatkowo pojęcie tanatologii sądowo-lekarskiej jako działu medycyny sądowej związanego z badaniem faktów dotyczących śmierci, czyli zjawisk prowadzących do niej i zachodzących w jej wyniku w organizmie.

W dziełach sztuki Tanatos pojawia się jako piękny chłopiec lub młodzieniec, czasem ze skrzydłami, czasem bez, a często ze swoim bratem Hypnosem. Zwykle śpi i trzyma opuszczoną albo odwróconą i zgaszoną pochodnię.

W Polsce jednak Tanatos kojarzy się głównie z obrazami Jacka Malczewskiego, na których pojawia się wielokrotnie pod postacią młodej kobiety.

Celem pracy było przypomnienie postaci Tanatosa i jego udziału w kulturze. Czy warto to było robić? Naszym zdaniem tak – w pięćdziesiątą rocznicę codziennego zwolniliśmy nieco i poszukaliśmy źródeł pojęć, których używamy w naszych podręcznikach.

Słowa kluczowe: Tanatos, tanatologia, mitologia, Jacek Malczewski, Alkestis, Syzyf

P10

Wpływ przepisów prawa karnego państw zaborczych na unormowania dotyczące uszczerbków na zdrowiu w Kodeksie Makarewicza

Jarosław Berent¹, Malwina Dębicka², Anna Smędra¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
² Katedra Historii Prawa, Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet Gdański

Polska po odzyskaniu niepodległości w roku 1918 po ponad 100-letnim okresie zaborów nie posiadała własnych kodyfikacji

karnych. Pierwszy własny kodeks karny został opublikowany dopiero w dniu 11 lipca 1932 r. jako rozporządzenie Prezydenta Rzeczypospolitej i wszedł w życie 1 września 1932 r. Kodeks ten od nazwiska jego twórcy zwany jest Kodeksem Makarewicza. Wcześniej na terenach polskich nadal obowiązywały przepisy dawnego prawa karnego państw zaborczych. Były to: a) austriacki Kodeks karny z dnia 27 maja 1852 r. (Strafgesetz über Verbrechen, Vergehen und Uebertretungen), b) Kodeks karny Rzeszy Niemieckiej z dnia 15 maja 1871 r. (Strafgesetzbuch für das Deutsche Reich) i c) rosyjski Kodeks karny z dnia 22 marca 1903 r. (Уголовное уложение 1903 года).

W pracy przedstawimy unormowania wskazanych kodeksów państw zaborczych dotyczące uszczerbków na zdrowiu oraz porównamy je z analogicznymi unormowaniami, które znalazły się w Kodeksie Makarewicza.

Słowa kluczowe: kodeksy karne państw zaborczych, Kodeks Makarewicza, uszczerbki na zdrowiu

P11

Radiologiczne metody sądowego szacowania wieku u osób dorosłych – przegląd systematyczny

Przemysław Banaszek¹, Marcin Tomsia¹, Joanna Pilch-Kowalczyk², Elżbieta Chetmecka³

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

² Zakład Radiodiagnostyki i Radiologii Zabiegowej, Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³ Zakład Statystyki, Katedra Analizy Instrumentalnej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Metody radiologiczne są z powodzeniem wykorzystywane do szacowania wieku i są dobrze zbadane do oceny wieku dziecięcego lub progu pełnoletniości (do około 25 roku życia). Znacznie mniej metod dotyczy oceny wieku osób dorosłych. Celem niniejszej pracy było dokonanie przeglądu systematycznego publikacji naukowych dotyczących zastosowania radiologicznych metod sądowego szacowania wieku u osób dorosłych w bazie danych Pubmed. Zastosowane zapytanie wygenerowało 1244 wyniki. Wstępnie przeanalizowano tytuły i streszczenia, dzięki czemu do analizy pełnej treści zakwalifikowano 128 artykułów. Po ich analizie, do przeglądu systematycznego włączono 50 artykułów. Analiza artykułów naukowych pozwoliła stwierdzić, iż obserwuje się coraz większą popularność metod pośmiertnej diagnostyki obrazowej w sądowym szacowaniu wieku. Dotyczyły one oceny szwów czaszkowych, gęstości kostnej, zębów i zębodołów, kości gnykowej, chrząstki tarczowatej, szkieletu klatki piersiowej i obojczyków, miednicy (w tym szczególnie spojenia łonowego i panewki stawu biodrowego) oraz kręgołupa. Ocena zmian morfologicznych widocznych w badaniach obrazowych, szczególnie w badaniach TK, jest przydatna

w sądowym szacowaniu wieku, szczególnie przy łączonym korzystaniu z kilku metod. Taka metodologia postępowania ma potencjalne zastosowania w badaniach identyfikacyjnych, zwłaszcza tych prowadzonych pod presją czasu jak np. identyfikacja ofiar katastrof. Należy jednak zauważyć, że korelacja zmian morfologicznych z wiekiem osobniczym powinna być walidowana dla poszczególnych populacji.

Słowa kluczowe: radiologia, wiek, dorośli, TK, RTG, identyfikacja

P12

Zabójczy odkurzacz, niebezpieczne schody – opis nietypowego przypadku zgonu we własnym mieszkaniu

Jędrzej Siuta¹, Agnieszka Nowak¹, Magdalena Czuba¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Prezentowany przypadek dotyczy zgonu 39-letniego mężczyzny znalezionej na klatce schodowej domu. Zwłoki ujawniono w pozycji półwisiącej, zaklinowane pomiędzy dolną częścią balustrady schodów a podłogą piętra w taki sposób, że głowa leżała na podłodze, górna część klatki piersiowej wraz szyją znajdowały się pomiędzy balustradą a podłogą piętra, kończyny dolne denata wraz z większą częścią łukowato wygiętego tułowia zwiisały zaś w kierunku niższej partii schodów, częściowo opierając się o nie. Lewa ręka denata oparta była o fragment balustrady, prawa zwiisała wzdłuż ciała. Wokół prawego podudzia denata owinięta była rura od odkurzacza, połączona z leżącym na piętze odkurzaczem. Ze względu na nietypową pozycję i umiejscowienie zwłok Prokuratura podejrzewała udział osób trzecich, choć miał on cierpieć na alkoholizm i epilepsję. Podczas sekcji zwłok przeprowadzonej w ZMS we Wrocławiu nie ujawniono obrażeń ciała mogących stanowić przyczynę zgonu ani typowych dla walki i obrony. Ułożenie płam opadowych wskazywało na długotrwałe znajdowanie się zwłok w pozycji spionizowanej. Wykazano typowe dla przyżyciowego rozciągania ciała wylewy krwawe w przyczepach mięśni MOS oraz dodatni objaw Simona. Pozostałe obrażenia ciała mogły powstać od upadku na twarde podłoże oraz podczas przesuwania się ciała pomiędzy balustradą schodów a podłogą piętra. Badania toksykologiczne nie wykazały obecności alkoholu ani innych substancji odurzających w organizmie denata. Uznano, że przyczyną śmierci denata było uduszenie pozycyjne. Przeprowadzona na podstawie analizy całości materiału dowodowego próba rekonstrukcji zdarzenia wykazała, że denat prawdopodobnie usiłując wyciągnąć odkurzacz z wnęki obok balustrady schodów niechcący owinął sobie rurę od odkurzacza wokół podudzia, w następstwie czego – być może podczas próby „uwolnienia” podudzia – stracił równowagę i przewrócił się na plecy w taki sposób, że osuwając się po ścianie wsunął się nogami do przodu między balustradę schodów i podłogę – z której to pozycji nie był w stanie się oswobodzić. Zdarzenie mimo swojej nietypowości miało zatem charakter nieszczęśliwego wypadku i jako takie po raz kolejny wskazuje na konieczność prze-

strzegania prawidłowej konstrukcji elementów ochronnych typu balustrady – gdyż w przeciwnym wypadku nie tylko nie spełniają one swojego ochronnego zadania, ale same mogą zamienić się w śmiertelną pułapkę.

Słowa kluczowe: tajemniczy zgon, uduszenie pozycyjne, nieszczęśliwy wypadek

P13

Kardiotoksyczność chlorometkatynonów (CMC) w badaniach pośmiertnych

Filip Bolechała¹, Martyna Maciów-Głąb¹,
Ewa Rzepecka-Woźniak¹

¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Syntetyczne katynony, do których należą izomery chlorometkatynonu, stanowią ponad 50% potwierdzonych analitycznie przypadków przyjęcia nowych substancji psychoaktywnych (NSP), wykrytych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej UJ CM. Zwraca uwagę, że w ostatnich latach izomery chlorometkatynonu (3- lub 4-CMC) są najczęściej wykrywanymi NSP w badaniach tutejszej Pracowni Toksykologii.

CMC jako inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny i dopaminy oddziałują na układ krążenia mogą powodować uszkodzenia serca o charakterze ostrym lub przewlekłym w pośmiertnym badaniu mikroskopowym.

Celem niniejszej pracy była ocena możliwości działania kardiotoksycznego CMC poprzez ocenę histopatologiczną wycinków serca w przypadkach związanych z przyjęciem tych substancji.

Grupę badawczą stanowiło 20 osób w wieku 16-44 lata, u których potwierdzono analitycznie obecność jednego z izomerów CMC oraz 1-3 cechy uszkodzenia serca w badaniu histopatologicznym. Ocena toksykologiczna obejmowała analizę metodą LC-ESI-MS-MS próbek krwi, moczu i wątroby. Badania histopatologiczne przeprowadzone były na wycinkach serca utrwalonych w formalinie wybarwionych standardowo eozyną i hematoksyliną oraz dodatkowo poddanych barwieniu immunohistochemicznemu.

W opisywanych przypadkach ujawniono cechy uszkodzenia serca o charakterze ostrym: mieszanokomórkowe nacieki z przewagą granulocytów obojętnochłonnych w kontakcie ze zmienionymi włóknami (2 przypadki), ogniskowy naciek z granulocytów obojętnochłonnych (1 przypadek), martwica pojedynczych włókien (2 przypadki), martwica z węzłami skurczu (6 przypadków). Wykazano również zmiany świadczące o ich przewlekłym charakterze: ognisko świeżego włóknienia zastępczego (1 przypadek), ognisko włóknienia zastępczego (3 przypadki), pomnożenie komórek podścieliska/obrzęk podścieliska (6 przypadków), kardiomiopatia z przerostem włókien (1 przypadek).

We wszystkich przypadkach stwierdzono obecność CMC i/lub jego metabolitu. W 4 przypadkach – izomeru 4-CMC wraz z jego metabolitem dihydro-4-CMC, w 8 przypadkach jedynie metabolit 4-CMC,

w 3 przypadkach wykazano izomer 3-CMC wraz z jego metabolitem dihydro-3-CMC, a w 5 przypadkach jedynie metabolit 3-CMC.

Wstępne badania wykazały trend potwierdzający możliwość działania kardiotoksycznego u użytkowników izomerów chlorometkatynonu.

Słowa kluczowe: syntetyczne katynony, kardiotoksyczność, chlorometkatynony (CMC)

P14; G13

Ślady o niskich stężeniach DNA w kryminalistycznych badaniach genetycznych

Agnieszka Parys-Proszek¹, Magdalena Marcińska¹,
Maria Wróbel¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

W ciągu ostatnich lat nastąpił znaczny wzrost ilości wykonywanych ekspertyz dla potrzeb wymiaru sprawiedliwości, które zawierają wyniki identyfikacji genetycznej śladów kontaktowych. Stało się to możliwe dzięki stosowaniu w kryminalistycznych badaniach bardziej czułych i odpornych na inhibicję zestawów odczynników przeznaczonych do oznaczeń markerów typu STR, wykorzystaniu pewnych modyfikacji metodologicznych i zastosowaniu nowych podejść w procesie interpretacji wyników. Najczęściej ślady kontaktowe, to ślady typu LT DNA (low template DNA), zawierające stężenia materiału genetycznego poniżej 100 pg. Ta niewielka ilość matrycy DNA znacznie utrudnia oznaczenie profilu genetycznych i stanowi duże wyzwanie na etapie interpretacji danych dla ekspertów. W próbkach LT DNA zwiększone jest prawdopodobieństwo pojawienia efektów stochastycznych reakcji amplifikacji, które utrudniają wnioskowanie na temat otrzymywanych wyników badań. Zgodnie z zaleceniami międzynarodowych towarzystw genetycznych, możliwa jest poprawa jakości uzyskiwanych wyników dla tego typu próbek dzięki zastosowaniu metod LCN (low copy number). Pomocnym rozwiązaniem jest także wykonanie przynajmniej trzykrotnych, niezależnych reakcji amplifikacji tego samego izolatu DNA i podjęcie próby utworzenia profilu wirtualnego (tzw. consensus lub composite pool profile) lub wspólnego profilu rzeczywistego (tzw. real pool profile). Zastosowanie replikacji reakcji PCR wydłuża czas analizy próbek i podnosi koszt badania, jednak w wielu przypadkach minimalizuje niekorzystne efekty stochastyczne i zwiększa możliwość uzyskania wiarygodnych wyników badań genetycznych. Celem badań było opracowanie optymalnego sposobu badania i interpretacji wyników śladów kontaktowych w laboratoriach kryminalistycznych.

Słowa kluczowe: LT-DNA; metody LCN; profil consensus/composite, profil rzeczywisty

P15; G14**Wstępna ocena przydatności systemu Illumina Human mtDNA Genome w praktyce genetyczno-sądowej****Eliza Michalak¹, Monica Abreu-Głowacka¹, Czesław Żaba¹**¹ Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Postęp technologiczny w ostatnich latach doprowadził do rozwoju metod sekwencjonowania nowej generacji (NGS), znane również jako masowe sekwencjonowanie równoległe (z ang. massive parallel sequencing – MPS). Metody masowego sekwencjonowania umożliwiają obecnie uzyskanie milionów sekwencji DNA z niepotykaną dotąd prędkością i przy coraz niższych kosztach. Na bazie technologii NGS możliwe jest generowanie m.in. całych sekwencji genomu mitochondrialnego DNA (mitogenomu), jednocześnie dostarczając dodatkowych informacji genetycznych przydatnych w praktyce genetyczno-sądowej. W przedmiotowej pracy poddano analizie materiał biologiczny w postaci wymazów z jamy ustnej, wymazów z krwi oraz materiał kostny, celem oceny przydatności zastosowanego systemu Illumina[®] Human mtDNA Genome oraz MiSeq[™] Instrument firmy Illumina[®] oraz platformę biostatystyczną Inteliseq do analizy wyników. Jako kontrolę pozytywną, użyto standard 2800M firmy Promega. Wyniki potwierdziły, że zastosowany system Illumina[®] Human mtDNA Genome dostarcza pełnych sekwencji mtDNA, również z badanego materiału kostnego i tym samym staje się przydatny w badaniach genetyczno-sądowych.

Słowa kluczowe: MiSeq, Mitochondrialny DNA, Inteliseq**P16; G15****Walidacja systemu ForenSeq DNA Signature Prep (Verogen) dla potrzeb genetyki sądowej****Magdalena Marcińska¹, Agnieszka Parys-Proszek¹, Maria Wróbel¹**¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Sekwencjonowanie wielkoskalowe (ang. Massive Parallel Sequencing – MPS) jest obecnie najbardziej innowacyjną metodą odczytywania sekwencji DNA, która zrewolucjonizowała świat biologii molekularnej i znajduje coraz szersze zastosowanie w genetyce sądowej. Jednym z pierwszych komercyjnie opracowanych zestawów wykorzystujących wysokoprzepustowe sekwencjonowanie DNA w badaniach kryminalistycznych jest zestaw ForenSeq DNA Signature Prep kit (Verogen). Pozwala on na analizę 153 markerów identyfikacji osobniczej obejmujących 27 aSTR, 7 X-STR, 24 Y-STR, 94 iSNP oraz 56 markerów SNP umożliwiających określenie pochodzenia biogeograficznego i 22 SNP dedykowanych analizie predyk-

cyjnej koloru oczu i włosów. Implementacja technologii MPS do standardowej praktyki laboratoryjnej wymaga przeprowadzenia wewnętrznej walidacji, co daje szansę na uzyskiwanie wiarygodnych i powtarzalnych wyników badań. Celem projektu była analiza następujących parametrów walidacyjnych: powtarzalność, odtwarzalność, czułość, określenie poziomu progów analitycznych i stochastycznych, poziomu stutterów. Została również przeprowadzona analiza śladów kryminalistycznych, w tym „trudnych” próbek DNA o znacznym stopniu degradacji/inhibicji czy niewielkiej zawartości DNA. Wyniki uzyskane w oparciu o nowoczesną technologię zostały porównane ze standardowymi metodami analizy DNA, wykorzystującymi technikę elektroforezy kapilarnej (CE). Przeprowadzone badania walidacyjne wykazały, że technologia MPS stanowi niewątpliwie obiecujące narzędzie w analizie kryminalistycznej, niemniej jednak posiada ona również pewne ograniczenia. Wydaje się, że dzięki zwiększeniu informatywności badanego materiału biologicznego, technologia ta może być wykorzystywana zwłaszcza w przypadku spraw skomplikowanych, w których standardowa analiza PCR-CE daje nierozstrzygujące wyniki.

Słowa kluczowe: MPS, walidacja, ślady kryminalistyczne**P17; G16****Ustalenie ojcostwa bez udziału domniemanego ojca – opis przypadku****Katarzyna Picińska¹, Maciej Jędrzejczyk¹, Adam Prośniak²**¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
² Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Praca opisuje jedną ze spraw z zakresu ustalania spornego ojcostwa, której wykonanie zlecono Zakładowi Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, jednak zgodnie z postanowieniem Prokuratury, badanie miało zostać przeprowadzone wyłącznie o profile genetyczne najbliższej rodziny zmarłego pozwanego tj. jego brata, siostry oraz jego ojca. Dodatkowo w sprawie, dostane zostały bloczki parafinowe wykonane z wycinków narządów zabezpieczonych podczas sekcji zwłok zmarłego pozwanego o ojcostwo mężczyzny.

Materiał do badań stanowiły wymazy z jamy ustnej zabezpieczone protokolarnie od żyjących krewnych zmarłego mężczyzny w ZMS UM w Łodzi oraz bloczki parafinowe wykonane z wycinków narządów zabezpieczonych podczas sekcji zwłok, dostarczone do ZMS UM w Łodzi na zlecenie Prokuratury.

Na podstawie uzyskanych profili genetycznych badanych osób (siostry i brata zmarłego pozwanego mężczyzny) i sformułowanych na ich podstawie pierwotnie przyjętych hipotez – zgodnych z postanowieniem Prokuratury, wykluczono możliwość by zmarły mężczyzna mógł być ojcem badanego dziecka, zarówno na podstawie badania markerów autosomalnych jak i analizy markerów Y-STR. Za zgodą Prokuratury rozszerzono zakres badań o materiał biologiczny zabezpieczony od domniemanego ojca zmarłego pozwane-

go oraz materiał w postaci wycinków zabezpieczonych podczas sekcji zwłok pozwanego. Z uwagi na częściową degradację materiału genetycznego zmarłego pozwanego, z bloczków parafinowych uzyskano tylko częściowy profil genetyczny, obejmujący 15 z 23 markerów autosomalnych. Uzyskane z wykorzystaniem meglapleksowego zestawu polimorficznych markerów DNA wyniki, pozwoliły na nieoczekiwane wykluczenie ojcostwa domniemanego ojca zmarłego pozwanego wobec niego, jednocześnie pozwalając na stwierdzenie z prawdopodobieństwem graniczącym z pewnością, iż zmarły mężczyzna był biologicznym ojcem badanego w sprawie chłopca. Wyniki uzyskane wyłącznie na podstawie badania rodzinnego (bez udziału profilu genetycznego zmarłego mężczyzny) przedstawiały niewielką wartość dowodową, nie pozwalając na wydanie rozstrzygającej opinii w sprawie. Uzyskany, nawet częściowy, profil genetyczny zmarłego mężczyzny okazał się niezwykle cenny dla przeprowadzonej analizy ojcostwa, pozwalając na sformułowanie kategoriycznych wniosków w wydanej dla Prokuratury opinii.

Słowa kluczowe: ustalanie spornego ojcostwa, STR, bloczki parafinowe

P18; G17

Wykorzystanie technik wysokoprzepustowego sekwencjonowania do pomiaru ilościowego metylacji DNA i oceny tempa starzenia epigenetycznego

Kinga Herda¹, Aleksandra Pisarek², Joanna Rudnicka¹, Rezvan Noroozi¹, Michał Boroń³, Aleksander Masny³, Bożena Wysocka³, Aneta Sitek⁴, Andrzej Ossowski⁵, Magdalena Spólnicka⁶, Wojciech Branicki⁷, Ewelina Pośpiech¹

- 1 Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński
- 2 Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński
- 3 Centralne Laboratorium Kryminalistyczne Policji w Warszawie
- 4 Katedra Antropologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki
- 5 Zakład Genetyki Sądowej, Pomorski Uniwersytet Medyczny
- 6 Centrum Nauk Sądowych, Uniwersytet Warszawski
- 7 Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Epigenetyczna ocena wieku osoby może znacząco poszerzyć zestaw informacji przydatnych na etapie prowadzonych czynności śledczych, jednakże praktyczne zastosowanie opisanych w literaturze modeli estymacji wieku musi wiązać się z dostępem do odpowiednich metod laboratoryjnych oznaczania metylacji DNA. Ze względu na charakter ilościowy metylacji DNA i konieczność zastosowania konwersji wodorosiarczynem sodu, analiza metylacji DNA jest wymagająca, a multipleksowanie markerów trudne.

Celem niniejszego badania było opracowanie i porównanie wybranych metod wysokoprzepustowego sekwencjonowania, dostosowanych do celowanej analizy metylacji DNA. Analizie poddano

oparty na hybrydyzacji sond RNA protokół SureSelect^{XT} Methyl-Seq (MiSeq Illumina) i oparty na multipleksowej reakcji PCR protokół Ion AmpliSeqTM (Ion Torrent S5). Protokoły opracowano umożliwiając celowaną analizę predefiniowanego zestawu 161 markerów CpG, umożliwiającego ocenę wybranych parametrów starzenia epigenetycznego w zakresie czterech modeli predykcyjnych. Ocenie poddano czułość i powtarzalność metody, a oznaczone poziomy metylacji porównano z wartościami metylacji uzyskanymi przy wykorzystaniu technologii mikromacierzy.

Zastosowane metody wykazały wysoką dokładność oznaczania metylacji DNA i wysoki poziom korelacji wyników między protokołami ($r^30.9$). Wykazano, że metody oparte na hybrydyzacji sond mają większe możliwości multipleksowania, jednakże wyższe parametry czułości (25 ng) i dokładności metody (średni błąd oznaczania metylacji na poziomie 5,4%) uzyskano dla technologii opartej na amplikonach. Zastosowanie transformacji danych umożliwiło korektę obserwowanej różnicy technologicznej pomiaru metylacji i uzyskanie wysokiej dokładności predykcji wieku chronologicznego, z średnim błędem poniżej 5 lat.

Podsumowując, proponujemy przyjazny użytkownikowi protokół laboratoryjny zapewniający wysoką czułość i dokładność analizy metylacji DNA w zakresie szerokiej listy markerów, umożliwiającą uzyskanie informacji na temat wybranych parametrów starzenia epigenetycznego, o potencjalnym wykorzystaniu w genetyce sądowej i badaniach klinicznych.

Projekt nr DOB-BIO10/06/01/2019 finansowany przez NCBiR w ramach konkursu nr 10/2019 na wykonanie i finansowanie projektów w zakresie badań naukowych lub prac rozwojowych na rzecz obronności i bezpieczeństwa państwa.

Słowa kluczowe: metylacja DNA, epigenetyczna estymacja wieku, wysokoprzepustowe sekwencjonowanie DNA

P19; G18

Badania genetyczne obiektu muzealnego – bluzy więźniarskiej/obozowej (pasiaka) z Obozu Koncentracyjnego Auschwitz

Anna Fiedorowicz¹, Magdalena Konarzewska¹, Krzysztof Żak¹, Joanna Sielska-Melchiori, Ireneusz Sottyszewski¹

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Przedmiotem badań była bluzowa obozowa (pasiak) pochodząca ze zbiorów Muzeum Pamięci Mieszkańców Ziemi Oświęcimskiej. Pasiak od czasu II wojny światowej był przechowywany w prywatnym domu na terenie Oświęcimia. Podstawowym założeniem konserwacji było pozyskanie jak najwięcej informacji o historii z samego obiektu poprzez wykonanie analizy stanu zachowania oraz szeregu badań specjalistycznych. Przed przeprowadzeniem prac konserwatorskich i restauratorskich wykonano badania obejmują-

ce analizę genetyczną, mikrobiologiczną oraz fizykochemiczną. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań genetycznych materiału biologicznego znajdującego się na powierzchni tkaniny, których celem było ustalenie profilu DNA osoby mogącej nosić pasiak. Próbkę do badań zostały pobrane z powierzchni obiektu w sposób nieinwazyjny ze względu na jego historyczną wartość. Izolację DNA wykonano metodami magnetyczną i organiczną. Amplifikację DNA przeprowadzono z użyciem zestawów: PowerPlex® Fusion 6C, GlobalFiler™ oraz PowerPlex® Y23. W zakresie układów Y-STR uzyskano niepełny haplotyp, natomiast w zakresie autosomalnych układów STR uzyskano uprawdopodobniony profil DNA, który można poddać dalszej analizie np. porównawczej.

Słowa kluczowe: obiekt muzealny, badanie genetyczne, metody nieinwazyjne, ślady kontaktowe, historyczne DNA

P20; T23

Zatrucie ksylometazoliną jako przyczyna krwotocznego udaru mózgu

Barbara Potocka-Banaś¹, Katarzyna Brzeźniakiewicz-Janus², Sławomir Majdanik¹, Mirosław Parafiniuk³, Sylwester Łuźny¹, Agnieszka Stachowicz¹, Tomasz Janus¹

1 Pomorski Uniwersytet Medyczny

2 Uniwersytet w Zielonej Górze

3 Pomorski Uniwersytet Medyczny

W ostatnich latach obserwuje się wzrost stosowania leków, które dostępne są bez recepty. Do tej grupy należy min. ksylometazolina, która jest stosowana w alergicznym nieżycie nosa czy infekcjach górnych dróg oddechowych. W pracy przedstawiono przypadek zgonu 40-letniej kobiety, gdzie za bezpośrednią przyczynę śmierci uznano rozległy udar krwotoczny mózgu, do którego doszło w wyniku zatrucia ksylometazoliną. Przeprowadzone badanie toksykologiczne metodą (LC-MS/MS) w materiale zabezpieczonym w trakcie sekcji zwłok (krew, mocz) wykazało ksylometazolinę w stężeniu: krew: 18,6 ng/ml i w moczu w stężeniu 498,9 ng/ml. Opisany przypadek wskazuje, że podczas stosowania ksylometazoliny, z uwagi na jej mechanizm działania, jak również efekty, które mogą wystąpić w wyniku przedawkowania podczas stosowania tego leku, należy restrykcyjnie przestrzegać zaleceń dotyczących czasu, jak również dawkowania farmaceutyki.

Słowa kluczowe: zatrucie, ksylometazolina, udar

P21; T24

Zastosowanie techniki GC-MS/MS do oznaczania związków z grupy benzodiazepin i z-leków w próbkach krwi

Mateusz Kacper Woźniak¹, Laura Banaszkiewicz², Michał Kaliszan¹, Agata Kot-Wasik²

1 Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

2 Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

Benzodiazepiny (BZD) oraz z-leki (zolpidem, zopiklon, zaleplon) są obecnie jednymi z najczęściej stosowanych środków psychotropowych w leczeniu wielu zaburzeń psychicznych. Jednakże, długotrwałe stosowanie takich związków powoduje wzrost tolerancji, a w konsekwencji prowadzi do uzależnień i przedawkowań. Część nowych BZD (zsyntezowanych w ostatnich kilku latach) trafiła na rynek narkotykowy jako „projektowane benzodiazepiny” (DBZD), a efektem ich działania pożądanym przez biorców jest stan odurzenia. Dlatego też, związki te są często oznaczane na potrzeby toksykologii klinicznej i sądowej.

Celem badań było opracowanie procedury analitycznej umożliwiającej oznaczanie związków z grupy benzodiazepin oraz z-leków w próbkach krwi z zastosowaniem chromatografii gazowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (GC-MS/MS).

Podczas prowadzonych badań dobrano odpowiednie parametry pracy chromatografu oraz tandemowego spektrometru mas, tj. reakcje fragmentacji (MRM) oraz energie kolizji (CE). Opracowano szybką i prostą procedurę ekstrakcji ciecz-ciecz wykorzystując 500 µl krwi oraz 1 ml octanu etylu. Co najważniejsze, opracowana procedura nie wymagała przeprowadzenia procesu derywatyzacji, co jest stosowane dla większości metodyk opartych na technice GC. Uzyskano zadowalające parametry walidacyjne, tj.: odzysk (83.8%-111.2%), dokładność (85.2%-111%) i precyzję (2.0-14.5%) oraz niskie granice wykrywalności (0.09-0.66 ng/ml) i oznaczalności (1-10 ng/ml).

Opracowano procedurę analityczną umożliwiającą jednoczesne oznaczenie 28 BZD oraz 3 z-leków w próbkach krwi z zastosowaniem techniki GC-MS/MS. Prezentowane badania to pierwsze podejście zastosowania techniki GC-MS/MS do oznaczania tak wielu związków z grupy benzodiazepin i z-leków w jednym cyklu analitycznym. Zakresy krzywych kalibracyjnych obejmowały stężenia subterapeutyczne i terapeutyczne, co wskazuje, że metodyka ta może być z powodzeniem stosowana w rutynowych analizach toksykologicznych.

Słowa kluczowe: benzodiazepiny, GC-MS/MS, krew, z-leki

P22; T25

Muchomor czerwony – enteogen polskich lasów

Dominik Bakalarz¹

¹ Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie

Muchomor czerwony (*Amanita muscaria*) jest pospolitym i najbardziej rozpoznawalnym gatunkiem muchomora na świecie. Ze względu na zawartość alkaloidów izooksazolowych o działaniu psychoaktywnym: muscymolu i kwasu ibotenowego, był szeroko stosowany przez wiele rdzennych ludów na świecie. Ostatnimi czasy, także zdobywa popularność i bywa spożywany w celu wprowadzenia się w stan odurzenia. Mechanizm działania zawartych w muchomorze czerwonym alkaloidów polega na aktywacji receptora GABA-A (muscymol) i receptora NMDA (kwas ibotenowy), co prowadzi do efektów takich jak m.in. euforia naprzemiennie z fazami depresyjnymi, zaburzenia percepcji i sennosc.

Celem pracy było oznaczenie muscymolu i kwasu ibotenowego w krwi oraz interpretacja uzyskanych wyników.

Przedmiotem badań była krew pobrana od kierowcy, który spowodował wypadek drogowy. W trakcie zatrzymania z mężczyzną nie było logicznego kontaktu, zeznał natomiast że spożył muchomora czerwonego. Pobraną krew odbińczono acetonitrylem z dodatkiem kwasu mrówkowego, a następnie poddano derywatywacji chlorkiem dansylu w środowisku alkalicznym. Po zakończeniu reakcji próbki zobojętniono roztworem kwasu solnego i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Analizy przeprowadzono przy zastosowaniu metody LC-MS/MS.

We krwi oznaczono muscymol w stężeniu 14 ng/ml, nie wykazano natomiast kwasu ibotenowego, co może wynikać z faktu, że przed spożyciem owocniki muchomora są suszone, w celu przekształcenia kwasu ibotenowego do muscymolu. Muscymol nie jest substancją kontrolowaną, zgodnie z Ustawą o przeciwdziałaniu narkomanii z dnia 29 lipca 2005 r. Jednakże, w myśl zapisów Uchwały Sądu Najwyższego z dnia 27 lutego 2007 r., odnoszących się do definicji środka odurzającego, środkiem takim jest każda substancja pochodzenia naturalnego lub syntetycznego działająca na OUN, której użycie powoduje obniżenie sprawności w zakresie kierowania pojazdem.

Bezpośrednia analiza muscymolu i kwasu ibotenowego w materiale biologicznym jest trudna, ze względu na obecność wielu interferujących związków w matrycy, dlatego zastosowano derywatyzację chlorkiem dansylu. Rutynowe badania toksykologiczne (zwłaszcza kierowców) nie obejmują analizy w kierunku psychoaktywnych alkaloidów zawartych w grzybach, dlatego też istotne są informacje dotyczące danego przypadku.

Słowa kluczowe: Muchomor czerwony, *Amanita muscaria*, muscymol, kwas ibotenowy, LC-MS/MS

P23; T26

Metakwalon i jego analogi – historyczne leki czy aktualny problem na rynku nowych substancji psychoaktywnych?

Kaja Tusiewicz¹, Marcin Zawadzki¹, Paweł Szpot¹

¹ Katedra Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Metakwalon został wprowadzony na rynek w latach 1960' jako lek sedatywno-hipnotyczny, mający stanowić alternatywę dla związków z grupy barbituranów. Ze względu na występujące efekty uboczne, a także na zwiększające się rekreacyjne użycie, metakwalon i jego analogi, syntezowane w celach medycznych, zostały wycofane z rynku lub nigdy nie pojawiły się na nim jako produkty farmaceutyczne [1].

Celem wystąpienia jest przedstawienie przeglądu literatury dotyczącej tematu nowych substancji psychoaktywnych z grupy metakwalonów oraz związanych z nimi zagrożeń.

Biorąc pod uwagę aktualną sytuację na rynku nowych substancji psychoaktywnych, metakwalon i jego pochodne wydają się być stosunkowo mało istotną kwestią, jednak wysokie zainteresowanie tymi substancjami na dedykowanych forach internetowych sugeruje znaczne ryzyko, że ich nadużywanie może stać się bardziej powszechne w nadchodzących latach. Zgodnie z raportem Biura Narodów Zjednoczonych ds. Narkotyków i Przemocności, wśród środków uspokajających i nasennych skonfiskowanych w 2019 roku znalazły się m.in. związki z grupy metakwalonów [2].

Konsekwencje i zagrożenia związane ze stosowaniem substancji psychoaktywnych z grupy metakwalonów w porównaniu do samego metakwalonu są słabo poznane z powodu braku danych farmakologicznych i toksykologicznych. Doświadczenia użytkowników tych substancji, opisywane na forach internetowych, wskazują na obecność na nielegalnym rynku narkotykowym takich związków jak: SL-164, nitrometakwalon, metylometakwalon, aflokwalon, mebrokwalon czy etakwalon. To sugeruje, że w przyszłości mogą pojawić się całkowicie nowe, wcześniej nieznanne związki, dla których nie ma obecnie badań nad właściwościami farmakologicznymi i toksykologicznymi. Stwarza to istotny problem z punktu widzenia analitycznego, a także interpretacji i opiniowania toksykologiczno-sądowego [3].

Słowa kluczowe: metakwalon, nowe substancje psychoaktywne, związki sedatywno-hipnotyczne

Piśmiennictwo

[1] Inger JA, Mihan ER, Kollu JU, Lindsley CW, Bender AM. DARK Classics in Chemical Neuroscience: Methaqualone. ACS Chem Neurosci. 2023;14(3):340-350.

[2] World Drug Report 2021 (United Nations publication, Sales No. E.21.XI.8)

[3] Kuropka P, Zawadzki M, Szpot P. Emerging trends in methaqualone and analogues abuse: insights from online forums. Forensic Toxicol. 2023;41(2):329-331.

P24; T27**Selektywna, czuła i wiarygodna analiza ilościowa sterydów anabolicznych w moczu dzięki połączeniu spektrometrii mas wysokiej rozdzielczości (HR-MS/MS) z metodami fragmentacji EAD i CID****Anna Lenartowicz¹, Adrian Soboń^{1,2}, Julia Mironenka¹, Rafał Szewczyk^{1,2}, Katarzyna Krupczyńska-Stopa^{1,2}, Maciej Stopa², Andrzej Kwaśnica⁴**

1 Labexperts Sp. z o.o., Gdańsk

2 Bioanalytic sp. z o.o., Gdańsk

3 Lab4Tox sp. z o.o., Wrocław

Sterydy anaboliczno-androgenne (SAA), potocznie nazywane anabolikami, to grupa naturalnych i syntetycznych związków, które naśladują działanie endogennego testosteronu. Pobudzają receptory androgenowe, przyczyniając się z jednej strony do wzrostu masy i siły mięśniowej, a z drugiej do redukcji tkanki tłuszczowej. Chociaż stosowanie SAA w sporcie jest zakazane, nadal są one najbardziej nadużywaną klasą środków dopingujących. Obecnie skanowanie MRM stanowi złoty standard w analizach ilościowych przeprowadzanych techniką LC-MS/MS. Niestety, efekty matrycowe prowadzić mogą do zafałszowania wyników. W celu przezwyciężenia problemów wynikających z niewystarczającej specyficzności analiz na urządzeniach niskiej rozdzielczości, wykorzystano spektrometr mas wysokiej rozdzielczości do opracowania czułej i selektywnej metody ilościowego oznaczania 28 SAA w moczu. Spektrometria mas wysokiej rozdzielczości (HRMS) oferuje laboratorium analitycznym potężne narzędzie do wykrywania substancji anabolicznych oraz ich identyfikacji przy użyciu danych opartych na defekcie masy jonów prekursorowych i fragmentacyjnych, rozkładu izotopowego, wraz z równoległym dopasowaniem do biblioteki widm fragmentacyjnych. Procedura przygotowania próbki moczu obejmowała ekstrakcję do fazy stałej (SPE) poprzedzoną hydrolizą enzymatyczną. Substancje anaboliczne analizowano z wykorzystaniem spektrometru mas ZenoTOF 7600 (Sciex) sprzężonego z chromatografem cieczowym ExionAC (Sciex). Skanowanie prowadzono w trybie sMRM^{HR} w celu uzyskania wysokiej czułości z zastosowaniem dwóch trybów fragmentacji: CID (Collision-Induced Dissociation) oraz EAD (Electron Activated Dissociation). Technologia EAD jest alternatywnym do CID sposobem fragmentacji związków, który umożliwia uzyskanie bogatszego widma fragmentacyjnego, a tym samym dostarcza unikalnych jonów fragmentacyjnych, które później mogą być pomocne w analizie. Dodatkowo, wykorzystanie innowacyjnej pułapki jonów "Zeno" przed analizatorem czasu przelotu prowadzi do uzyskania widm fragmentacyjnych o lepszej jakości i intensywności sygnałów. Opracowana metoda LC-MS/MS charakteryzuje się nie tylko wysoką czułością, ale poprzez zastosowanie urządzenia HRMS oferuje dodatkowe czynniki potwierdzające obecność związku, takie jak defekt masy dla jonów prekursorowych i fragmentacyjnych, rozkład izotopowy czy porównanie z biblioteką.

Słowa kluczowe: SAA, mocz, HRMS, ZenoTOF 7600, analiza jakościowa**P25; T28****Zastosowanie spektrometrii mas wysokiej rozdzielczości (HR-MS/MS) do analizy ilościowej 27 związków z listy DRUID w krwi żyłnej oraz krwi włośniczkowej pobranej za pomocą VAMS****Anna Lenartowicz¹, Julia Mironenka¹, Adrian Soboń^{1,2}, Rafał Szewczyk^{1,2}, Katarzyna Krupczyńska-Stopa^{1,2}, Maciej Stopa², Andrzej Kwaśnica³**

1 Labexperts Sp. z o.o., Gdańsk

2 Bioanalytic sp. z o.o., Gdańsk

3 Lab4Tox sp. z o.o., Wrocław

Selektywne potwierdzenie obecności związku stanowi jeden z kluczowych aspektów analizy ilościowej. Ze względu na dokładność wyznaczenia stosunku masy do ładunku, szeroki zakres liniowości oraz szybkość skanowania zastosowanie techniki HR-MS/MS może stać się głównym narzędziem do tego rodzaju analiz.

Opracowana metoda HR-MS/MS obejmuje 27 związków oznaczanych we krwi żyłnej lub włośniczkowej pobranej na sorbent (VAMS). Metoda obejmuje analizę tramadolu, morfiny, fentanylu, metadonu, kodeiny, alprazolamu, diazepam, flunitrazepamu, lorazepamu, oxazepam, zolpiclonu, klonazepamu, nordiazepamu, zolpidemu, hydroksyzyny, amfetaminy, metamfetaminy, MDA, MDMA, MDEA, THC, kokainy, 6- acetylmorfiny, 7-aminoflunitrazepamu, 7-aminoclonazepamu, benzoiloeogoniny oraz THC-COOH.

Próby przygotowano stosując ekstrakcję ciecz:ciecz potężoną z wytrąceniem białka, odparowaniem w strumieniu azotu i rozpuszczeniem suchej pozostałości w startowej fazie ruchomej układu HPLC. Metoda LC-MS/MS obejmowała chromatografię w odwróconym układzie faz na chromatografie cieczowym ExionAC LC (SCIEX) sprzężonym ze spektrometrem ZenoTOF 7600 (SCIEX). Metoda celowana obejmowała skanowanie TOF MS i MRM^{hr} (pełne widmo MS/MS) w jonizacji dodatniej. Spełniono następujące kryteria walidacyjne: liniowość ($R \geq 0,995$), zakres roboczy (0,5–50 ng/ml), powtarzalność (%CV $\leq 15\%$), dokładność (80–120%) i odzysk (%CV $\leq 15\%$).

Dane opracowano w oprogramowaniu SCIEX OS. W metodzie obróbki danych wykorzystano wielopoziomowe potwierdzenie obejmujące 5 kryteriów o różnych wagach decyzyjnych: potwierdzenie widma ze zoptymalizowaną biblioteką MS/MS; defekt masy jonu prekursorowego; defekt masy jonu fragmentacyjnego; rozkład izotopowy jonu prekursorowego oraz czas retencji. Każde z kryteriów wpływa na łączny wynik (combined score) i ma swój własny zakres 3-poziomowej akceptacji odpowiednio w ppm, % lub sekundach. Granicę akceptacji dla parametru „combined score”, która pozwala na potwierdzenie tożsamości związków w raportowanych wynikach, ustalono na 60%.

Opracowana metoda wykazuje wysoką czułość oraz selektywność, która pozwala na wykluczenie fałszywie dodatnich wyników (poprzez wielopoziomowe potwierdzenie tożsamości analitu) oraz ilościową analizę 27 związków psychoaktywnych we krwi żyłnej i krwi pobranej za pomocą VAMS.

Słowa kluczowe: DRUID, krew, VAMS, HR-MS/MS, metoda ilościowa

P26; T29

Zastosowanie metody LC-MS/MS do analizy kannabinoidów i ich metabolitów w suchej kropli krwi jako potencjalnego narzędzia monitorowania terapii leku dla pacjentów stosujących preparaty na bazie konopi

Zofia Mierzyńska¹, Renata Halak¹, Inga Cytrych¹,
Przemysław Sendys¹, Ewelina Kowalska¹,
Konrad Kowalski¹, Tomasz Bieńkowski¹

¹ Masdiag Sp. z o.o.

Nowe właściwości terapeutyczne substancji zawartych w konopiach są ciągle odkrywane przez naukowców i lekarzy na całym świecie. Kannabinoidy znalazły zastosowanie m.in. w leczeniu zaburzeń neurologicznych, takich jak padaczka, stwardnienie rozsiane i choroba Parkinsona. Ustalenie właściwej dawki nadal stanowi wyzwanie ze względu na złożoną farmakokinetykę i prawdopodobieństwo wystąpienia interakcji lek-lek. Celem badań było stworzenie czułej metody oznaczania kannabinoidów w suchej kropli krwi (DBS) jako narzędzia do monitorowania terapii lekami na bazie konopi.

Opracowano dokładną i powtarzalną metodę rozcieńczeń izotopowych LC-MS/MS do analizy ilościowej kannabidiolu (CBD) i Δ^9 -tetrahydrokannabidiolu (Δ^9 -THC) oraz ich metabolitów (7-OH-CBD, 7-COOH-CBD, THC-OH, THC-COOH). Ekstrakcja metanolem z wyciętych krążków z DBS na bibule dała odzysk powyżej 90% dla wszystkich analitów. Dzięki selektywnej derywatacji z użyciem soli diazoniowej osiągnięto niższe granice oznaczalności (0,5 ng/ml dla THC i CBD oraz 2 ng/ml dla metabolitów) z zakresem dynamicznym metody do 400 ng/ml.

Metoda została zwalidowana pod względem parametrów analitycznych (powtarzalność, RSD < 10%) i związanych z DBS (hematokryt, RSD < 20% dla wartości Ht 0,4-0,55; objętość kropli – RSD < 20% dla kropli krwi 20-60uL; efekt wulkanu – nieobecny). Badania wpływu czasu i warunków przechowywania materiału wykazały wysoką stabilność kannabinoidów w warunkach transportu (powyżej 14 dni).

Przydatność opracowanej metody do określania stężenia kannabinoidów we krwi oceniono poprzez przebadanie prawie 1000 próbek DBS samodzielnie pobranych przez użytkowników preparatów z konopi, którzy poza przestaniem do laboratorium zanonimizowanych próbek mieli możliwość przekazać dobrowolnie informacje dotyczące ich terapii. Analiza retrospektywna uzyskanych wyników i przekazanych informacji wykazała korelację między stężeniem kannabinoidów w DBS, a żądanymi dawkami i czasem stosowania preparatów konopnych. Jednocześnie podkreśliła ryzyko kontaminacji DBS w przypadku niestosowania reżimu czystości.

Opracowana metoda może posłużyć jako cenne narzędzie do monitorowania terapii preparatami na bazie konopi. Pozyskanie próbki DBS nie wymaga punktu pobrania i stanowi przydatne rozwiązanie dla pacjentów z ograniczonym dostępem do opieki zdrowotnej.

Prezentowane wyniki uzyskano w ramach realizacji projektu POIR.01.01.01-00-1097/17

Słowa kluczowe: kannabinoidy, THC, CBD, LC-MS/MS, monitorowanie terapii lekiem, DBS, sucha kropla krwi

P27; T30

Oznaczanie etanolu we krwi za pomocą systemu NMR

Zofia Mierzyńska¹, Marcin Mrowiński¹, Katarzyna Pawlak², Konrad Kowalski¹, Tomasz Bieńkowski¹

¹ Masdiag Sp. z o.o.

² Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska

Alkohol etylowy jest powszechną substancją psychoaktywną, szeroko stosowaną w całym społeczeństwie. Standardową metodą detekcji jest chromatografia gazowa z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID) oraz elektronowo-jonizacyjny spektrometr masowy (GC-MS) z metodą wprowadzania próbki do fazy nadpowierzchniowej. Celem badań było stworzenie alternatywnej metody oznaczania zawartości etanolu w próbkach krwi osób podejrzanych o kierowanie pojazdami pod wpływem alkoholu.

Spinsolve 60 Ultra SPA 1880 H-NMR to ekonomiczny przyrząd pomiarowy do analizy etanolu w różnych typach rozpuszczalników, jednak jego czułość i selektywność w porównaniu z GC-MS może być niezadowalająca. Zgodnie z typowymi normami krajowymi w Europie, prowadzenie pojazdu po użyciu alkoholu jest zabronione, gdy stężenie etanolu we krwi wynosi 0,2 g/l lub więcej. Aby osiągnąć wymaganą granicę oznaczalności i zapewnić dobrą powtarzalność (RSD < 3%), ekstrakcja ciecz-ciecz (LLE) etanolu z krwi do rozpuszczalnika organicznego (niedeuterowanego) została zoptymalizowana przy użyciu wewnętrznego wzorca w postaci heksametylocyklotrisiloksanu (HMCS). Uzyskano szeroki zakres krzywej kalibracji od 0,1 g/l do 5,0 g/l, co umożliwia oznaczenie we krwi w każdym możliwym przypadku nadużycia etanolu.

Metoda została zwalidowana poprzez porównanie stężeń etanolu ustalonych metodą H-NMR w certyfikowanych materiałach referencyjnych (próbki krwi zawierające sześć poziomów etanolu) oraz w różnych próbkach krwi analizowanych metodą GC-FID. Różnice pomiędzy stężeniami na podstawie obydwu podejść ($|C_{NMR} - C_{CRM}| / GC-FID$) nie przekraczały 0,05 g/l.

Metoda LLE-H-NMR umożliwia powtarzalne, szybkie i ekonomiczne analizy etanolu we krwi. Prosta i niezawodna technika może być łatwo zautomatyzowana, co stanowi idealne rozwiązanie dla laboratorium kryminalistycznego.

Prezentowane wyniki uzyskano w ramach realizacji projektu POIR.01.01.01-00-0059/18 finansowanego przez NCBiR.

Słowa kluczowe: etanol, H-NMR, GC-FID

P28; T31**Oznaczanie ołowiu we włosach za pomocą fluorescencyjnej spektroskopii rentgenowskiej z dyspersją energii****Zofia Mierzyńska¹, Maria Niemirska², Tomasz Bieńkowski¹, Katarzyna Pawlak²**¹ Masdiag Sp. z o.o.² Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska

Ołów jako miękki, łatwo kowalny i odporny na korozję metal stosowany był w największych ilościach w Cesarstwie Rzymskim. Służył do otrzymywania stopów wykorzystywanych w produkcji broni, zbroi, rur hydraulicznych, uszczelniania ceramiki. Co ciekawe, dopiero w XIX wieku potwierdzono jego niebezpieczne dla zdrowia ludzkiego właściwości. W przypadku zatruc przewlekłych, zwłaszcza oparami (jako pierwiastek podobny do Ca, Cu i Fe), ołów akumuluje się w tkankach miękkich i kościach, prowadzi do dny moczanowej oraz uszkadza system nerwowy. W ciągu ostatnich 20 lat światowa eksploatacja ołowiu jednak znacząco rośnie (z czego 60% odzyskiwane jest ze złomu), z powodu produkcji akumulatorów kwasowo-ołowiowych i przekroczyła poziom 10M ton rocznie. Do grup zawodowych w największym stopniu narażonych na działanie tego szkodliwego pierwiastka należą górnicy, hutnicy, pracownicy punktów segregacji/utylizacji złomu i elektrośmieci, pracownicy resortu budowlanego oraz nałogowi palacze papierosów.

W celu potwierdzenia ekspozycji wykonuje się oznaczenie ołowiu we krwi (zatrucia ostre) lub we włosach (zatrucia przewlekłe) za pomocą absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w kucie grafitowej (GF-ASA) lub za pomocą spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS). Obie techniki umożliwiają oznaczanie ołowiu na poziomie ppb, ale po przeprowadzeniu mineralizacji próbki z użyciem kwasów nieorganicznych wspomaganą mikrofalowo. Możliwe jest jednak zastosowanie rentgenowskiej spektroskopii fluorescencyjnej z dyspersją energii (EDX) bez konieczności prowadzenia czasochłonnej i energochłonnej mineralizacji.

Próbki przeprowadzano do roztworu poprzez ich rozpuszczanie w mocnej zasadzie (TMAH) i formowanie pastylek z kwasem borowym jako lepiszczem. Aparat kalibrowano z użyciem zmielonych włosów o certyfikowanych zawartościach ołowiu. Opracowana metoda umożliwia oznaczanie ołowiu w 70 mg włosów w zakresie 0,4–6,8 ppm, a wykrywanie ołowiu dla zawartości $\geq 0,14$ ppm. Metoda została zwalidowana przez porównanie wyznaczonych zawartości ołowiu w próbkach z ilościami uzyskanymi za pomocą ICP-MS/MS dla różnych ludzkich próbek włosów, dla których uzyskano medianę zawartości 0,5 ppm.

Metoda EDX może posłużyć w przesiewowym badaniu przewlekłych zatruc ołowiem.

Prezentowane wyniki uzyskano w ramach realizacji projektu POIR.01.01-00-0120/18 finansowanego przez NCBiR.

Słowa kluczowe: ołów, Pb, zatrucia metalami, EDX, ICP-MS

P29; T32**Ostre zatrucie pentylonem ze skutkiem śmiertelnym****Marzena Sykutera¹, Aleksandra Milewicz-Lissewska¹, Aleksandra Haenel¹**¹ Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Pentylon (bk-MBDP) jest substancją psychoaktywną z grupy pochodnych katynonu. Pomimo tego, że substancja ta pojawiła się na rynku europejskim już w 2011 roku, to tylko w kilku pracach opisano przypadki zgonów, w których potwierdzono obecność tego związku we krwi, jednak bez oznaczenia jego stężenia.

W niniejszej pracy przedstawiono przypadek śmiertelnego zatrucia pentylonem 33-letniego mężczyzny, który został znaleziony w pokoju hotelowym. Ciało leżało w łóżku, z widocznymi śladami krwi w okolicy nosa. Oględziny i sekcja zwłok nie wykazały żadnych zmian urazowych tłumaczących przyczynę zgonu. Z wywiadu wynikało, że mężczyzna mógł przyjmować bliżej nieokreślone „narkotyki”. Do badań toksykologicznych pobrano krew, mocz, płyn z gałki ocznej, wycinki narządów wewnętrznych oraz włosy. Pobrano również wycinki do badań histopatologicznych.

Badania toksykologiczne przeprowadzono metodą chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas z komorą do jonizacji przez rozpylanie w polu elektrycznym. Do ekstrakcji ciecz-ciecz w środowisku zasadowym użyto dichlorometanu. We krwi stwierdzono obecność pentylonu w stężeniu 494 ng/ml oraz fentanylu w stężeniu 0,7 ng/ml, olanzapiny w stężeniu 27 ng/ml i pregabaliny w stężeniu 951 ng/ml. Stwierdzone we krwi stężenia fentanylu, pregabaliny oraz olanzapiny nie przekraczały wartości stężeń terapeutycznych. Obecność tych związków stwierdzono również w pozostałym zabezpieczonym materiale biologicznym.

W badaniach mikroskopowych stwierdzono m. in.: w płucach – masywny obrzęk i przekrwienie; w wycinkach serca – znacznego stopnia fragmentacja i falistość włókien, przerost włókien mięśniowych, rozplem tkanki łącznej okołonaczyniowej i tłuszczowej, włóknienie, pogrubienie ścian naczyń, kardiocytomioliza z utratą poprzecznego prążkowania, w wycinkach wątroby – nacieki zapalne w przestrzeniach wrotnych, w wycinkach nerki – zwyrodnienie wodniczki cewek.

Rozpatrując analizowany przypadek stwierdzić należy, że działanie pentylonu przyczyniło się do zgonu mężczyzny, czy to wskutek bezpośredniego zatrucia ostrego, w możliwej interakcji z fentanylem, olanzapiną i pregabaliną czy też wskutek następstw zatrucia ostrego, przy współistniejącej sercopochodnej niewydolności krążenia.

Słowa kluczowe: pentylon, zatrucie, katynony

P30; T33

Ostre zatrucie moklobemidem powikłane użyciem fluoksetyny

Wiktorija Jiers¹, Karina Sommerfeld-Klatta¹, Magdalena Łukasik-Głębocka², Artur Teżyk³, Czesław Żaba³, Barbara Zielińska-Psuja¹

¹ Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

² Zakład Ratownictwa Medycznego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

³ Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Moklobemid (MKB) należy do selektywnych i odwracalnych inhibitorów monoaminoooksydazy typu A (IMAO) i zaliczany jest do leków przeciwdepresyjnych. Cechuje go stosunkowo niewielka toksyczność, nawet po przyjęciu wysokich dawek. Jednak ryzyko ciężkiego zatrucia wzrasta istotnie przy jednoczesnym zastosowaniu moklobemidu i selektywnego inhibitora wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI), np. fluoksetyny (FLU).

Celem pracy było omówienie interakcji między przedstawicielami IMAO i SSRI na przykładzie ostrego zatrucia moklobemidem powikłanego użyciem fluoksetyny u pacjentki hospitalizowanej z powodu próby samobójczej w Oddziale Toksykologicznym (OT) Szpitala Miejskiego im. Franciszka Raszei w Poznaniu. U chorej rozpoznano adaptacyjne zaburzenia nastroju. Przy przyjęciu do OT kobieta była nieprzytomna, nie reagująca na bodźce bólowe (GCS 3), niewydolna oddechowo (płytki, charczący oddech o częstotliwości 30/min, SpO₂ 60%), z ciśnieniem tętniczym wynoszącym 152/73 mmHg. Źrenice były szerokie, symetryczne i nie reagujące na światło. Obserwowano nasiloną sztywność mięśni, zwłaszcza w obrębie kończyn dolnych, oczopląs poziomy, ślinotok i wzmożoną potliwość. Pacjentka wymagała zaintubowania i zastosowania wentylacji mechanicznej, wdrożono płynoterapię oraz analgesodację. Czas hospitalizacji wyniósł 11 dni.

Przeprowadzone badania laboratoryjne ujawniły kwasicę (pH 7,156; pCO₂ 69,3 mmHg, HCO₃⁻ 19,3 mmol/l, BE -4,2 mmol/l) i hiperglikemię (179 mg/dl). Badania toksykologiczne ujawniły obecność etanolu we krwi w stężeniu 0,59 g/l. Zatrucie lekami potwierdzone zostało poprzez oznaczenie moklobemidu i fluoksetyny we krwi oraz moczu pacjentki.

Stężenie MKB i FLU przy przyjęciu wynosiły odpowiednio 72 µg/ml oraz 450 ng/ml w krwi. Do oznaczenia wykorzystano metodę chromatografii cieczowej z detekcją DAD po uprzednim przeprowadzeniu ekstrakcji ciecz-ciecz. Stwierdzone stężenie MKB znacznie przewyższało zakresy terapeutyczne (1–3 µg/ml), a fluoksetyny mieściło się w zakresie bezpiecznego stosowania leku (47–469 ng/ml).

Mimo, że zatrucia moklobemidem nie stanowią dużego zagrożenia dla zdrowia i życia pacjenta, lek ten wymaga szczególnej uwagi w przypadku jego łącznego spożycia z fluoksetyną. Zatrucia mieszane mogą prowadzić do wystąpienia zespołu serotoninowego, który wymaga szybkiego rozpoznania i wdrożenia leczenia.

Słowa kluczowe: moklobemid, fluoksetyna, HPLC-DAD, ostre zatrucie

P31; T34

Ocena degradacji leków w systemie hydrofitowej oczyszczalni ścieków pochodzących z terenów rekreacyjnych

Krzysztof Tutaj¹, Paulina Osowska¹, Krzysztof Józwiakowski², Katarzyna Ognik¹

¹ Katedra Biochemii i Toksykologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

² Katedra Inżynierii Środowiska i Geodezji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Celem badań była wstępna ocena występowania leków oraz efektywność ich usuwania w systemie hybrydowej hydrofitowej oczyszczalni ścieków.

Próby ścieków do badań pobierano z oczyszczalni zlokalizowanych na terenie Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego przy Ośrodku Dydaktyczno-Muzealnym Poleskiego Parku Narodowego w Starym Załuczu oraz w miejscowości Białka nad jeziorem Białskim. Obiekty te służą do oczyszczania ścieków bytowych od lokalnych mieszkańców oraz turystów odwiedzających te tereny. Próby pobierano z części I oczyszczalni: z przepompowni po mechanicznym oczyszczeniu w osadniku gnilnym [próba A], z części II oczyszczalni: po oczyszczeniu metodą biologiczną w złożu gruntowo-roślinnym z pionowym przepływem ścieków (typu VF) obsadzonym miskan-tem [próba B], po czterech złożach z poziomym przepływem ścieków (typu HF) obsadzonych trzciną pospolitą [próba C], z części III oczyszczalni: po chemicznym oczyszczeniu w P-filtrze wypełnionym skatą węglanowo-krzemionkową (materiał Rockfos®) [próba D]. Badania obejmowały oznaczenia wybranych związków m.in. z grupy leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych, antybiotyków, leków przeciwalergicznych, przeciwpadaczkowych, przeciwdepresyjnych, alkaloidów, beta-blokerów oraz inhibitorów fosfodiesterazy typu 5. Badane próbki były poddawane ekstrakcji typu ciecz-ciecz lub analizowane bez uprzedniej ekstrakcji przy użyciu chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (Sciex QTRAP 6500+). Badania przeprowadzono w trzykrotnym powtórzeniu.

Wstępne badania pozwalają stwierdzić, że hybrydowe hydrofitowe oczyszczalnie ścieków zmniejszają zawartość leków o ok. 90%, jednak nie wszystkie farmaceutyki są w pełni usuwane.

Słowa kluczowe: leki, ścieki bytowe, hybrydowy system hydrofitowy

P32

Wielokierunkowa ocena pośmiertnych obrażeń postrzałowych w aspekcie weterynaryjno-sądowym przy wykorzystaniu technik klasycznych, nowoczesnych metod obrazowania oraz technik analitycznych

Kinga Panasiuk-Flak¹, Piotr Listos¹, Wojciech Chagowski², Grzegorz Buszewicz², Michał Tracz², Anna Milaszewicz², Grzegorz Teresiński²

1 Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

2 Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wielopłaszczyznowy charakter weterynaryjnej ochrony zwierząt w Polsce znajduje swoje odzwierciedlenie w dorobku naukowym jednej z dyscyplin nauk weterynaryjnych – medycynie weterynaryjno-sądowej. Weterynaria sądowa, jako nauka stosowana zajmuje się między innymi mechanizmem działania różnego rodzaju urazów na ciało zwierzęcia (w tym obrażeń postrzałowych), wyjaśnianiem skutków działania tych urazów oraz ustalaniem okoliczności, w jakich mogły one powstać.

Użycie broni palnej zawsze wiąże się z pozostawieniem licznych śladów, które dają ogromne możliwości poszukiwawcze, dowodowe, a co najważniejsze – wykrywcze. Odpowiednie zabezpieczenie miejsca rany wlotowej, określenie toru lotu pocisku w tkankach, zbadanie rany wylotowej oraz wyizolowanie pocisku i wszystkich jego fragmentów, są czynnościami niezwykle istotnymi dla dalszych analiz. Biorąc pod uwagę fakt, że zwłoki zwierząt są często jednym z głównych dowodów w sprawach związanych z postrzałem z broni palnej, rzetelnie przeprowadzone badania stanowią istotny element opinii weterynaryjno-sądowych.

Celem niniejszej pracy było określenie przydatności analizy pośmiertnych obrażeń postrzałowych w aspekcie opiniowania weterynaryjno-sądowego.

Przeprowadzono doświadczenie polegające na ostrzeliwaniu materiału badawczego (29 zwłok psa domowego) przy wykorzystaniu amunicji kilku kalibru (.12, 9x19, .22, .308), ponadto w każdej grupie wybrano dodatkowe typy pocisków, w celu otrzymania różnego rodzaju obrażeń postrzałowych. Odległości od końca lufy do ostrzeliwanego obiektu wynosiły: 0 m (przyłożenie), 1,2 m, 10 m i 100 m. Realizacja projektu badawczego podzielona została na następujące po sobie etapy obejmujące przygotowanie materiału; strzelanie oraz przeprowadzenie analiz – chemiczny test kontaktowy, polegający na miejscowym działaniu odczynników; technikę rentgenowską; pośmiertną tomografię komputerową; pośmiertną angiografię; ocenę histopatologiczną skóry okolicy rany wlotowej oraz sekcję zwłok.

Zaproponowany dobór odpowiednich metod badawczych wydaje się być najbardziej obiektywny, a zarazem rzetelny w swoim charakterze, ponadto pozwala na uzyskanie informacji, związanych z działaniem na ciało zwierzęcia (psa) użytego kalibru pocisku, odległości i kierunku z jakiego padł strzał, pozycji strzelca i, co najważniejsze, okoliczności przebiegu badanego postrzału doświadczalnego.

Słowa kluczowe: ochrona zwierząt, weterynaria sądowa, pośmiertne obrażenia postrzałowe, test kontaktowy, RTG, TK, angiografia, histopatologia, sekcja zwłok