© by the Institute
of Forensic Research

ISSN 1230-7483
e-ISSN 2720-5983

Problems of Forensic Sciences 2025, vol. 142, 143, 207–214

DOI: 10.4467/12307483PFS.25.010.22917

USE OF PSYCHOACTIVE SUBSTANCES AMONG HARD COAL MINERS DURING WORK – A CASE REPORT OF FATAL α-PIHP AND TRAMADOL POISONING

Rafał SKOWRONEK[1,2], Paulina WACHHOLZ[3,4], Beata BUJAK-GIŻYCKA[4,5], Rafał CELIŃSKI[4], Natalia PAWLAS[3]

[1] *Department of Forensic Medicine and Forensic Toxicology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia in Katowice, Poland*
[2] *Department of Histopathology, Silesian Centre for Heart Diseases in Zabrze, Poland*
[3] *Department of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice, Poland*
[4] *Toxicology Laboratory ToxLab, 6 Kossutha Street, Katowice, Poland*
[5] *Department of Clinical Pharmacology, Jagiellonian University Medical College, Kraków, Poland*

Abstract

Working in an underground coal mine is undoubtedly associated with a lot of stress. This promotes the abuse of psychoactive substances – ethyl alcohol, but also medicines and narcotics. Drug tests are not routinely performed in mines.

A 40-year-old hard coal miner suddenly fell while working and lost consciousness, followed by a seizure. Sudden cardiac arrest occurred, which could not be restored by cardiopulmonary resuscitation. The forensic autopsy did not determine the cause of death. However, it allowed to exclude traumatic death and revealed only minor pathological changes. Toxicological analyses of blood and urine performed using liquid chromatography coupled with mass spectrometry showed, among others: the presence of α-PiHP (α-pyrrolidinoisohexanophenone) at a concentration of 0.062 µg/mL and 0.163 µg/mL, respectively, the metabolite of α-PiHP (OH-α-PiHP, 4-hydroxy-α-pyrrolidinoisohexanophenone) at a concentration of 0.080 µg/mL and 1.50 µg/mL, and tramadol at concentrations of 1.60 µg/mL and 15.9 µg/mL (toxic concentration in blood).

In cases of death among hard coal miners, it is always justified to collect biological material for toxicological tests and to order analyses for the presence not only of ethyl alcohol, but also of medicines and narcotics. This may be crucial to determining the cause of death and for post-accident investigation in the workplace.

Keywords

Hard coal mining; Drugs of abuse; Medicines; Poisoning.

Received 30 June 2025; accepted 3 November 2025

Introduction

Working in an underground coal mine is undoubtedly associated with a lot of stress. This promotes the abuse of psychoactive substances – ethyl alcohol, but also medicines and narcotics [1]. Drug tests are not routinely performed in mines. When a miner dies while working in a mine, the purpose of the prosecutor's proceedings with the participation of a forensic medical examiner is to determine the cause and mechanism of death [2].

Depending on the country, the labor sectors, and the professions, statistics suggest high percentages of workers suffer from, or are at risk of becoming dependent on, ethanol [3, 4]. Regarding the consumption of other psychoactive substances in the workplace,

the information is scarcer, with *Cannabis* being more prevalent among younger workers, whereas cocaine is more prevalent among highly skilled workers, such as managers [5].

Case report

A 40-year-old hard coal miner suddenly fell while working and lost consciousness, followed by a seizure. Sudden cardiac arrest occurred, which could not be reversed by cardiopulmonary resuscitation. There was no information that the man suffered from any medical conditions or had a history of drug and/or medication abuse. The forensic autopsy excluded a traumatic cause of death. It revealed superficial and anatomically limited, non-specific injuries to the skin, including traces of cardiopulmonary resuscitation, oedema and congestion of the brain and lungs, pneumoconiotic changes, mild atherosclerosis, enlargement and fatty degeneration of the liver, fluidity and stasis of blood. Toxicological analysis was ordered by the prosecutor.

Materials and methods

Blood and urine sampling

Peripheral blood was collected from the femoral vein. Urine was collected directly from the bladder. Both matrices were transferred into sterile, fluoride-containing tubes, sealed, and stored at 4°C until analysis.

Chemicals

Certified reference materials were obtained from various sources: Cerilliant (Round Rock, Texas, United States), Chiron (Trondheim, Norway), LGC Standards GmbH (Wesel, Germany), Lipomed AG (Arlesheim, Switzerland), and Sigma-Aldrich (Dorset, United Kingdom). All chemicals and reagents used for the analyses were of the highest commercially available purity. Acetonitrile, 35% ammonium formate, t-butanol, ethyl acetate, formic acid, methanol, 2-amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol hydrochloride (TRIS), and water Chromasolv were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, United States). The immunoenzymatic ELISA Forensic Drug Test Kits were purchased from Neogen (Lexington, Kentucky, USA).

Ethyl alcohol analysis

After removal from the refrigerator, the blood and urine tubes were rotated several times to ensure homogeneity before collection. Sample preparation for ethanol testing involved collecting 100 µL of the test sample and 400 µL of the internal standard (t-butanol, 1.5 g/L), which were then added to 20-mL disposable glass vials. Once the sample and internal standard were added, the vials were immediately crimped with aluminium caps containing rubber septa. Each sample was analyzed twice via headspace gas chromatography with flame ionization detection (HS-GC-FID) using two columns of different polarity (column A: Restek Rtx-BAC PLUS 1, 0.32 mm × 30 m × 1.8 µm; column B: Restek Rtx-BAC PLUS 2, 0.32 mm × 30 m × 0.6 µm), ensuring different retention times for ethanol and the internal standard on each column. The samples were analyzed using a Thermo Scientific TRACE GC with a TriPlus 300 autosampler connected via a transfer line under isothermal conditions. The oven and transfer line temperatures in the headspace autosampler were 85°C and 100°C, respectively. The injector temperature was 200°C. The split ratio was 10:1. The column temperature was 40°C, and helium (12 mL/min) was used as the carrier gas. Chrom-Card software was used for data processing. A result was considered positive when the ethanol concentration was equal to or greater than the limit of detection. The limit of detection (LOD) for this method was 0.05 g/L, while the limit of quantification (LOQ) was 0.10 g/L.

Preliminary drug screening

The preliminary screening of blood and urine was conducted using the immunoenzymatic ELISA technique to detect the presence of drugs such as amphetamines, tricyclic antidepressants, Δ9-tetrahydrocannabinol, opioids, and benzodiazepines. The analysis was performed following the manufacturer's procedures from Neogen Corporation.

Preparation of biological specimens

The liquid-liquid extraction procedure was used to prepare the biological samples. To 0.2 mL of each body fluid containing Mephedrone-d3, Cocaine-d3, Phenobarbital-d5, and Diazepam-d5 as internal standards (IS), 0.5 mL of acetonitrile, 0.2 mL TRIS buffer (pH = 9), and 1.0 mL of ethyl acetate were added. The samples were shaken for 1 hour and then centrifuged for 5 minutes. The supernatant was collected and evaporated to dryness under a stream of nitrogen at

room temperature. The dry residues were dissolved in 50 µL of the mobile phase, and the samples were transferred to glass inserts in the vials for analysis by Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS).

Analytical methods

Extracts were analyzed on two independent chromatographic-mass spectrometric platforms:

HPLC-MS Analysis

Instrument: HPLC ACCELA system coupled to a Finnigan LTQ linear ion trap mass spectrometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Column: Hypersil GOLD C18 (100 × 4.6 mm, 3 µm; Thermo Scientific). Mobile phase: solvent A: 0.02 M aqueous formic acid + 0.05 M ammonium formate; solvent B: 10% solvent A and 90% acetonitrile. Gradient program: 5% B (0–2 min) → 60% B (2–32 min) → → 2 min isocratic; re-equilibration for 6 min. Flow rate: 0.5 mL/min, injection volume: 10 µL. Ionization: positive electrospray ionization (ESI+), capillary voltage 4.5 kV, source temperature 300°C, sheath gas 30 a.u., auxiliary gas 10 a.u. Acquisition mode: full scan (m/z 50–650) and MS/MS product ion scans for confirmation.

UHPLC-MS/MS Analysis

Instrument: Dionex UltiMate 3000 UHPLC system coupled to a TSQ Endura triple quadrupole mass spectrometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Column: Accucore RP-MS (100 × 2.1 mm; Thermo Scientific). Mobile phase: solvent A: 0.02 M aqueous formic acid + 0.05 M ammonium formate; solvent B: 10% solvent A and 90% acetonitrile. Gradient program: 10% B (0–0.5 min) → 95% B (0.5–7 min) → → 1 min isocratic; re-equilibration for 6 min. Flow rate: 0.5 mL/min, injection volume: 10 µL. Ionization: ESI+, spray voltage 3.5 kV, capillary temperature 320°C, sheath gas 35 a.u., auxiliary gas 10 a.u. Acquisition mode: multiple reaction monitoring (MRM) with transitions optimized for target xenobiotics (synthetic cathinones, opioids, amphetamines, benzodiazepines, cannabinoids).

Thus, the two techniques were complementary: the full-scan method provided broad, non-targeted confirmation and the ability to detect unexpected compounds, while the MRM-based method ensured high sensitivity and specificity for quantitative determination of the identified analytes.

The chromatographic methods are routinely applied in our laboratory and have been validated according to SWGTOX guidelines. They cover several hundred substances, including narcotics, psychotropic drugs, new psychoactive substances (NPS), as well as a wide range of pharmaceuticals – notably opioids, analgesics, antidepressants, and antipsychotics. Thus, they are not limited to the analytes identified in this particular case, but are part of a comprehensive framework for postmortem toxicological diagnostics.

Results were processed using the Xcalibur v. 4.0 software.

Table 1
Limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) for selected drugs

Drug	LOD [µg/mL]	LOQ [µg/mL]
Nicotine, α-PiHP, OH-α-PiHP	0.003	0.01
Tramadol, N-desmethyltramadol, O-desmethyltramadol, didesmethyltramadol	0.005	0.015

Results

No ethyl alcohol was detected in the analyzed blood and urine samples. The results of the ELISA screening tests were negative for the investigated drug classes (amphetamines, tricyclic antidepressants, THC, opioids, benzodiazepines). However, all analyzed blood and urine samples revealed the presence of substances listed in Table 2.

Table 2
Results of toxicological analysis

Drug	Concentration	
	Blood [µg/mL]	Urine [µg/mL]
α-PiHP	0.062	0.163
OH-α-PiHP (α-PiHP metabolite)	0.080	1.50
Tramadol	1.60	15.9
N-desmethyltramadol	0.35	3.66
O-desmethyltramadol	0.19	2.94
Didesmethyltramadol	0.080	1.94
Nicotine	–	0.425

Discussion and conclusions

In the presented case, the potential phenomenon of postmortem redistribution (PMR) of xenobiotics should be carefully considered. Although the autopsy was performed the day after death, PMR may still influence the concentration of lipophilic compounds with a high volume of distribution. Therefore, the obtained concentrations should be interpreted cautiously. The preferred sample for minimizing PMR effects is peripheral blood (e.g., from the femoral vein), which should be noted in postmortem toxicology reports. The detected concentration of α-PiHP –0.062 μg/mL is similar to other reported in the literature: 0.005–2.377 μg/mL [6–8]. It has been noted that the lethal dose of tramadol for cases, where it is concurrently ingested with other substances, can be notably low, ranging from 150 to 39000 μg/mL (in our case it was 1.60 μg/mL) [9]. Thus, the values found in this case are below typical lethal concentrations, which suggests that the mechanism of death was not simple overdose but rather a synergistic interaction between the two substances.

In Poland α-PiHP (α-pyrrolidinoisohexanophenone) is a psychotropic substance of group II-P in accordance with the Regulation of the Minister of Health of 17 April 2023 amending the regulation on the list of psychotropic substances, narcotic drugs and new psychoactive substances. It is organic chemical compound, derivative of cathinone. As a synthetic cathinone it will exhibit amphetamine-like stimulating and empathogenic effects [6].

Whereas tramadol is an opioid analgesic with dual serotonergic and noradrenergic reuptake inhibition properties used in premedication, analgesia, also in obstetrics, for moderate and severe postoperative, post-accident or cancer pain. It intensifies the depressant effect on the CNS of opioids, ethanol, sedatives, hypnotics and psychotropic drugs. Tramadol is not on the list of substances prohibited by the Act on Counteracting Drug Addiction. It is increasingly being abused for recreational purposes [10].

When combined, these two agents may cause severe cardiac rhythm disturbances, seizures, and respiratory depression. This mixed pharmacodynamic interaction provides a plausible mechanism for the sudden cardiorespiratory failure observed in this case.

Finally, based on the toxicological and pathological evidence, the forensic medical examiner concluded that the man's sudden death resulted from acute cardiorespiratory failure developing due to combined poisoning with tramadol and α-PiHP. This case demonstrates that even low concentrations of psychoactive substances can be fatal when acting synergistically. Therefore, postmortem toxicological investigations in occupational deaths should always include broad-spectrum screening for both medicines and narcotics.

A solution that could be implemented in Poland is random and unannounced testing of miners using drug tests, similar to sobriety tests. According to our knowledge, other countries didn't apply a different systemic approach to studying miners as a high-risk group.

The presented case proves that in every case of hard coal miner's death, it is always justified to collect biological material for toxicological tests and to order analyses for the presence not only of ethyl alcohol, but also of medicines and narcotics. This may be crucial to determining the cause of death and for post-accident investigation in the workplace.

References

1. Woźniak-Holecka J, Staroń I. Assessment of occupational stress in hard coal mine workers. Annales Academiae Medicae Silesiensis 2007;61(5):385-91.
2. Skowronek R, Chowaniec C. The role, objectives and usefulness of medico-legal determinations in post-accidental procedures in traumatic deaths in hard coal-mining industry. Archive of Forensic Medicine and Criminology 2009 Apr-Jun;59(2):101-11. PMID: 20073259
3. Dinis-Oliveira RJ, Magalhães T. Abuse of licit and illicit psychoactive substances in the workplace: medical, toxicological, and forensic aspects. Journal of Clinical Medicine. 12 Mar 2020;9(3):770. doi: 10.3390/jcm9030770. PMID: 32178358
4. Global status report on alcohol and health. Geneva: World Health Organization; 2018.
5. Corral A, Durán J, Isusi I. Use of alcohol and drugs at the workplace. Dublin: European Foundation for the Improvement of Living and Working Conditions; 2012.
6. Wachholz P, Celiński R, Bujak-Giżycka B, Skowronek R, Pawlas N. A fatal case of poisoning with a cathinone derivative: α-PiHP and its postmortem distribution in body fluids and organ tissues. Journal of Analytical Toxicology 22 Jul 2023;47(6):547-51. doi: 10.1093/jat/bkad026. PMID: 37130049
7. Adamowicz P, Jurczyk A, Gil D, Szustowski S. A case of intoxication with a new cathinone derivative α-PiHP – A presentation of concentrations in biological specimens. Legal Medicine (Tokyo). 2020 Feb;42:101626. doi: 10.1016/j.legalmed.2019.101626. PMID: 31751796
8. Zawadzki M, Wachełko O, Tusiewicz K, Szpot P. Severe poisoning after smoking a mixture of 4-fluoroisobutyryl fentanyl (4-FiBF) and alpha-pyrolidinoisohexaphenone (α-PiHP). Journal of Forensic and Legal Medicine. 2022 Jan;85:102287. doi: 10.1016/j.jflm.2021.102287. PMID: 34798437

9. Nakhaee S, Mehrpour O. Tramadol poisoning-associated mortality. Journal of Affective Disorders. 1 Aug 2019;255:S0165-0327(19)30454-9. doi: 10.1016/j.jad.2019.04.069. PMID: 30987745
10. Roussin A, Soeiro T, Fouque C, Jouanjus E, Frauger E, Fouilhé N, et al. Increase of high-risk tramadol use and harmful consequences in France from 2013 to 2018: Evidence from the triangulation of addictovigilance data. British Journal of Clinical Pharmacology 2022 Aug;88(8):3789-3802. doi: 10.1111/bcp.15323. PMID: 35318713

ORCID
Rafał Skowronek 0000-0002-1445-3807
Paulina Wachholz 0000-0003-1487-7367
Beata Bujak-Giżycka 0000-0002-8960-514X
Rafał Celiński 0000-0002-6188-4853
Natalia Pawlas 0000-0002-7551-9371

Corresponding author
Assoc. Prof. Rafał Skowronek
Department of Forensic Medicine and Forensic Toxicology
Faculty of Medical Sciences in Katowice
Medical University of Silesia in Katowice
ul. Medyków 18
PL 40-752 Katowice
e-mail: rafal-skowronek@wp.pl

STOSOWANIE SUBSTANCJI PSYCHOAKTYWNYCH PRZEZ GÓRNIKÓW WYDOBYWAJĄCYCH WĘGIEL KAMIENNY PODCZAS PRACY – OPIS PRZYPADKU ŚMIERTELNEGO ZATRUCIA α-PIHP I TRAMADOLEM

Wprowadzenie

Praca pod ziemią w kopalni węgla niewątpliwie wiąże się z dużym stresem, co skłania górników do sięgania po substancje psychoaktywne: nie tylko alkohol etylowy, ale także leki i narkotyki [1]. W kopalniach nie przeprowadza się rutynowo testów na obecność narkotyków. W przypadku śmierci górnika w trakcie pracy w kopalni prokurator we współpracy z lekarzem medycyny sądowej przeprowadza postępowanie w celu ustalenia przyczyny i mechanizmu zgonu [2].

Dane statystyczne wskazują na uzależnienie lub ryzyko uzależnienia od etanolu występujące wśród znacznego odsetka pracowników w zależności od kraju, sektora zatrudnienia i zawodu [3, 4]. Mniej powszechne są informacje na temat stosowania innych substancji psychoaktywnych w miejscu pracy. Młodsi robotnicy sięgają częściej po konopie indyjskie, a wysoko wykwalifikowani, np. kierownicy, po kokainę [5].

Opis przypadku

Czterdziestoletni górnik w trakcie pracy w kopalni węgla kamiennego nagle przewrócił się i stracił przytomność, po czym dostał ataku. Nastąpiło nagłe zatrzymanie akcji serca, której nie udało się przywrócić resuscytacją krążeniowo-oddechową. Nie było informacji, że mężczyzna cierpiał na jakiekolwiek schorzenia, ani że w przeszłości nadużywał leków lub narkotyków. Sekcja zwłok wykluczyła zgon z powodu urazu. Ujawniła natomiast powierzchowne, niespecyficzne rany skóry o niewielkim zasięgu anatomicznym, w tym ślady po resuscytacji krążeniowo-oddechowej, obrzęk i przekrwienie mózgu i płuc, zmiany pyliczne, łagodną miażdżycę, powiększenie i stłuszczenie wątroby oraz płynność i zastój krwi. Oskarżyciel zlecił analizę toksykologiczną.

Materiały i metody

Pobór próbek krwi i moczu

Krew obwodową pobrano z żyły udowej. Mocz pobrano bezpośrednio z pęcherza. Obie matryce przeniesiono do sterylnych probówek z fluorem, zamknięto i przechowywano w temperaturze 4°C przed analizą.

Zastosowane związki

Certyfikowane materiały referencyjne uzyskano z różnych źródeł: Cerilliant (Round Rock, Teksas, USA), Chiron (Trondheim, Norwegia), LGC Standards GmbH (Wesel, Niemcy), Lipomed AG (Arlesheim, Szwajcaria) i Sigma-Aldrich (Dorset, Wielka Brytania). Wszystkie użyte do analizy związki i reagenty cechowały się największą komercyjnie dostępną czystością. Acetonitryl, 35% mrówczan amonu, t-butanol, octan etylu, kwas mrówkowy, metanol, chlorowodorek 2-amino-2-(hydroksymetylo)propan-1,3-diolu (TRIS) i wodę Chromasolv zakupiono od firmy Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, USA). Immunoenzymatyczne zestawy ELISA do badań kryminalistycznych zakupiono od firmy Neogen (Lexington, Kentucky, USA).

Analiza pod kątem obecności alkoholu etylowego

Po wyjęciu z chłodziarki próbki krwi i moczu obrócono kilka razy w celu zapewnienia homogeniczności przed pobraniem. Próbki przygotowano do testu na obecność etanolu, pobierając 100 µl próbki testowej oraz 400 µl wzorca wewnętrznego (t-butanol, 1,5 g/l), które następnie dodano do jednorazowych szklanych fiolek o pojemności 20 ml. Po dodaniu próbki i wzorca wewnętrznego fiolki natychmiast zamknięto aluminiowymi nakrętkami z gumowymi septami. Poszczególne próbki analizowano dwukrotnie metodą chromatografii gazowej Headspace z detekcją jonizacji płomieniowej (HS-GC-FID) na dwóch kolumnach o różnej polarności (kolumna A: Restek Rtx-BAC PLUS 1, 0,32 mm × 30 m × 1,8 µm; kolumna B: Restek Rtx-BAC PLUS 2, 0,32 mm × 30 m × 0,6 µm), dzięki czemu czasy retencji na każdej kolumnie były różne dla etanolu i wzorca wewnętrznego. Próbki analizowano za pomocą chromatografu gazowego Thermo Scientific TRACE z autosamplerem TriPlus 300 połączonego linią transferową w warunkach izotermicznych. Temperatura pieca i linii transferowej w autosamplerze typu headspace wynosiła odpowiednio 85°C i 100°C. Temperatura iniektora wynosiła 200°C, a stosunek podziału 10:1. Temperatura kolumny wynosiła 40°C. Gazem nośnym był hel (12 ml/min). Dane przetwarzano w oprogramowaniu Chrom-Card. Wynik uznawano za pozytywny, jeśli stężenie etanolu było równe bądź większe od granicy wykrywalności. Granica wykrywalności

(LOD) dla tej metody wynosiła 0,05 g/l, a granica oznaczalności (LOQ) wynosiła 0,10 g/l.

Wstępny test na obecność narkotyków

Wstępne badania krwi i moczu przeprowadzono immunoenzymatyczną techniką ELISA w celu wykrycia obecności narkotyków, takich jak amfetaminy, trójpierścieniowe środki przeciwdepresyjne, Δ9-tetrahydrokannabinol, opioidy czy benzodiazepiny. Analizę przeprowadzono zgodnie z zaleceniami producenta, Neogen Corporation.

Przygotowanie próbek biologicznych

Próbki biologiczne przygotowano za pomocą procedury ekstrakcji ciecz-ciecz. Do 0,2 ml każdego płynu ustrojowego zawierającego mefedron-d3, kokainę-d3, fenobarbital-d5 i diazepam-d5 jako wzorce wewnętrzne (*internal standards*, IS) dodano 0,5 ml acetonitrylu, 0,2 ml buforu TRIS (pH = 9) i 1,0 ml octanu etylu. Próbki wytrząsano przez 1 godzinę, a następnie odwirowywano przez 5 minut. Nadsącz zebrano i odparowano do sucha w strumieniu azotu w temperaturze pokojowej. Suche osady rozpuszczono w 50 µl fazy ruchomej. Próbki przeniesiono do szklanych wkładek w fiolkach w celu analizy metodą chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią masową (LC-MS).

Metody analityczne

Ekstrakty analizowano za pomocą dwóch odrębnych platform do chromatografii ze spektrometrią masową:

Analiza HPLC-MS

Narzędzie: System HPLC ACCELA połączony ze spektrometrem masowym z liniową pułapką jonową Finnigan LTQ (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Kolumna: Hypersil GOLD C18 (100 × 4.6 mm, 3 µm; Thermo Scientific). Faza mobilna: rozpuszczalnik A: 0,02 M wodny roztwór kwasu mrówkowego + 0,05 M mrówczan amonu; rozpuszczalnik B: 10% rozpuszczalnika A i 90% acetonitrylu. Program gradientowy: 5% B (0–2 min) → 60% B (2–32 min) → 2 min izokratycznie; powtórne wyrównanie przez 6 min. Szybkość przepływu: 0,5 ml/min, objętość iniekcji: 10 µl. Jonizacja: jonizacja elektrosprejem dodatnim (ESI+), napięcie kapilarne 4,5 kV, temperatura źródła 300°C, gaz rozpraszający 30 a.u., gaz pomocniczy 10 a.u. Tryb akwizycji: pełny skan (m/z 50–650), potwierdzany skanami jonów produktowych MS/MS.

Analiza UHPLC-MS/MS

Narzędzie: System UHPLC Dionex UltiMate 3000 połączony z potrójnym kwadrupolowym spektrometrem masowym TSQ Endura (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Kolumna: Accucore RP-MS (100 × 2.1 mm; Thermo Scientific). Faza mobilna: rozpuszczalnik A: 0,02 M wodny roztwór kwasu mrówkowego + 0,05 M mrówczan amonu; rozpuszczalnik B: 10% rozpuszczalnika A i 90% acetonitrylu. Program gradientowy: 10% B (0–0,5 min) → 95% B (0,5–7 min) → 1 min izokratycznie; powtórne wyrównanie przez 6 min. Szybkość przepływu: 0,5 ml/min, objętość iniekcji: 10 µl. Jonizacja: ESI+, napięcie sprejowe 3.5 kV, temperatura kapilarna 320°C, gaz rozpraszający 35 a.u., gaz pomocniczy 10 a.u. Tryb akwizycji: monitorowanie wielu reakcji (*multiple reaction monitoring*, MRM) z przejściami zoptymalizowanymi dla docelowych ksenobiotyków (syntetycznych katynonów, opioidów, amfetamin, benzodiazepin, kannabinoidów).

Jak widać, powyższe dwie techniki uzupełniały się nawzajem: metoda pełnego skanowania potwierdziła wyniki w sposób ogólny i nieukierunkowany oraz pozwoliła wykryć nieoczekiwane związki chemiczne, zaś metoda MRM cechowała się dużą czułością i specyficznością kwantyfikacji zidentyfikowanych analitów.

W naszym laboratorium metody chromatograficzne stosuje się na co dzień; zostały one zwalidowane zgodnie z wytycznymi SWGTOX. Wytyczne te obejmują kilkaset substancji, w tym środki odurzające, narkotyki, środki psychotropowe, nowe substancje psychoaktywne (*new psychoactive substances*, NPS), a także wiele leków, w szczególności opioidy oraz środki przeciwbólowe, przeciwdepresyjne i przeciwpsychotyczne. Tym samym nie ograniczają się do analitów zidentyfikowanych w opisywanej tu sprawie, ale są częścią szerszych ram toksykologicznej diagnostyki pośmiertnej.

Wyniki przetwarzano w programie Xcalibur v. 4.0.

Wyniki

W analizowanych próbkach krwi i moczu nie wykryto alkoholu etylowego. Wyniki testu ELISA były negatywne w odniesieniu do badanych klas narkotyków (amfetamin, trójpierścieniowych leków przeciwdepresyjnych, THC, opioidów, benzodiazepin). We wszystkich analizowanych próbkach stwierdzono natomiast obecność substancji wymienionych w Tabeli 2.

Dyskusja i wnioski

W przedstawionej w niniejszym artykule sprawie należy starannie rozważyć możliwość wystąpienia zjawiska

pośmiertnej redystrybucji (*postmortem redistribution*, PMR) ksenobiotyków. Mimo że sekcji dokonano następnego dnia po śmierci, PMR wciąż mogło wpływać na stężenie związków lipofilowych o dużej objętości dystrybucji. Dlatego do interpretacji otrzymanych stężeń należy podchodzić ostrożnie. Wpływ PMR najlepiej minimalizuje się, analizując próbki krwi obwodowej (np. z żyły udowej), co należy uwzględniać w raportach toksykologicznych z sekcji zwłok. Wykryte stężenie alfa-pirolidynoizoheksanofenonu (α-PiHP, 0,062 μg/ml) było zbliżone do wartości publikowanych w innych pracach (0,005–2,377 μg/ml) [6–8]. Badania wykazały, że dawka śmiertelna tramadolu w przypadkach, gdy jest on przyjmowany jednocześnie z innymi substancjami, może być bardzo niska: od 150 do 39000 μg/ml; w niniejszej pracy było to 1,60 μg/ml [9]. Tym samym wartości stwierdzone w niniejszej pracy są mniejsze od dawki śmiertelnej, co sugeruje, że zgon nastąpił nie w wyniku zwykłego przedawkowania, ale współdziałania pomiędzy dwiema substancjami.

W Polsce α-PiHP jest substancją psychotropową zaliczaną do grupy II-P, zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 17 kwietnia 2023 r. zmieniającym rozporządzenie w sprawie wykazu substancji psychotropowych, środków odurzających oraz nowych substancji psychoaktywnych. Jest związkiem organicznym, pochodną katynonu. Jako syntetyczny katynon wykazuje właściwości pobudzające i empatogenne zbliżone do amfetaminy [6].

Natomiast tramadol jest opioidowym lekiem przeciwbólowym o podwójnym działaniu polegającym na hamowaniu wychwytu zwrotnego serotoniny i noradrenaliny, stosowanym w premedykacji, analgezji oraz położnictwie do leczenia umiarkowanego i silnego bólu pooperacyjnego, pourazowego lub nowotworowego. Tramadol wzmacnia depresję ośrodkowego układu nerwowego wywołaną opioidami, etanolem oraz środkami uspokajającymi, nasennymi i psychotropowymi. Związek ten nie znajduje się na liście substancji zakazanych zawartej w Ustawie o przeciwdziałaniu narkomanii. Zyskuje on coraz większą popularność jako narkotyk zażywany okazjonalnie [10].

Powyższe dwa związki przyjmowane razem mogą doprowadzać do poważnych zaburzeń rytmu serca, drgawek i depresji oddechowej. To współdziałanie farmakologiczne stanowi prawdopodobny mechanizm nagłej niewydolności sercowo-oddechowej obserwowanej w opisywanym tu przypadku.

Co więcej, na podstawie dowodów toksykologicznych i patologicznych lekarz sądowy stwierdził, że nagły zgon górnika był wynikiem ostrej niewydolności sercowo-oddechowej spowodowanej jednoczesnym zatruciem tramadolem i α-PiHP. Przypadek ten pokazuje, że nawet niewielkie stężenia substancji psychoaktywnych mogą być śmiertelne, kiedy działają synergistycznie. Dlatego w ramach pośmiertnych badań toksykologicznych przypadków zgonów w miejscu pracy zawsze powinno się przeprowadzać szerokie testy zarówno pod kątem leków, jak i narkotyków.

Rozwiązaniem, które można by wprowadzić w Polsce, są przypadkowe i niezapowiedziane testy na narkotyki wśród górników, podobnie do testów na alkohol. Zgodnie z wiedzą autorów niniejszego artykułu inne kraje nie stosowały innego podejścia systemowego do badania górników jako grupy wysokiego ryzyka.

Prezentowany tu przypadek dowodzi, że kiedy dochodzi do zgonu górnika, zawsze warto pobrać materiał biologiczny do testów toksykologicznych i testów na obecność nie tylko alkoholu etylowego, lecz także leków i narkotyków. Testy takie mogą okazać się kluczowe do ustalenia przyczyny śmierci i w badaniach powypadkowych prowadzonych w miejscu pracy.