

## Streszczenie

**Wstęp:** Ustalenie przyczyny i okoliczności zgonu opiera się nie tylko na wynikach sekcji zwłok, ale również na wykonaniu szeregu badań laboratoryjnych, w tym badań histopatologicznych, biochemicznych, mikrobiologicznych i toksykologicznych. Jedną z największych trudności dotyczących badań post-mortem jest jakość materiału biologicznego. Z uwagi na różny stan przemian pośmiertnych, możliwą fragmentację ciała czy też jego zeszkielecenie pobranie próbek do badań laboratoryjnych może okazać się trudne. Ocena tego czy zmarły w chwili śmierci znajdował się pod wpływem ksenobiotyku, a jeśli tak to czy mógł on stanowić przyczynę jego zgonu lub wpływać na okoliczności śmierci jest jednym z celów dochodzenia medyczno-sądowego. W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się poszukiwaniu alternatywnych materiałów biologicznych i ocenie ich przydatności toksykologii sądowej i opiniowaniu sądowo-lekarskim. Szpik kostny z uwagi na: dużą dostępność, lokalizację zapewniającą ochronę przed działaniem czynników zewnętrznych i odmienny model przemian pośmiertnych oraz bogate unaczynienie, nawet w przypadku zwłok niezachowanych w dobrym stanie, może stanowić materiał alternatywny o dużej potencjale dla toksykologii sądowej. Cel pracy: Ocena przydatności szpiku kostnego w toksykologii sądowej i opiniowaniu sądowo-lekarskim. Weryfikacja korelacji pomiędzy wynikami krwi versus szpik kostny. Ustalenie wartości dowodowej badań toksykologicznych szpiku kostnego. Ocena możliwości wykorzystania wyników w formułowaniu opinii sądowo-lekarskich dotyczących okoliczności i przyczyny zgonu.

**Materiał i metody:** Grupa badana obejmowała 120 pacjentów, u których w Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przeprowadzono sądowo-lekarską sekcję zwłok. Kryterium włączenia do badania było uzasadnione podejrzenie zatrucia ksenobiotykiem oraz możliwość pobrania aspiratu szpiku kostnego i przynajmniej jednego rutynowego materiału biologicznego, co umożliwiało porównanie otrzymanych wyników. Do badań toksykologicznych w miarę możliwości pobrano krew z nakłucia żyły udowej, ciało szkliste oka, mocz poprzez nakłucie pęcherza moczowego oraz szpik kostny przez aspirację lub wyłżeczkowanie z talerza kości biodrowej. W przypadku części pacjentów nie było możliwe pobranie wszystkich wymienionych materiałów biologicznych. Stężenie etanolu w materiale biologicznym oznaczono przy użyciu chromatografii gazowej sprzężonej z detektorem FID i techniką analizy fazy nadpowierzchniowej headspace. W przypadku oznaczania wszystkich leków i narkotyków wykonano badanie dwuetapowe. W pierwszym etapie dokonano analizy jakościowej a w drugim etapie analizy ilościowej. Do oznaczeń używano certyfikowanych wzorców wewnętrznych w stężeniu 1000 ng/ml a analizę przeprowadzono przy użyciu ultra wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem mas (UHPLC-QqQ-MS/MS). Na podstawie uzyskanych wyników za pomocą współczynników korelacji Pearsona określono zależność pomiędzy szpikiem kostnym a pozostałymi materiałami biologicznymi.

**Wyniki:** Średnie stężenie alkoholu etylowego w badanych próbkach wynosiło 0,68 mg/g (krew), 1,09 mg/g (mocz), 1,06 mg/g (ciało szkliste oka) i było wyższe w porównaniu do średniego stężenia etanolu w szpiku, które wynosiło 0,59 mg/g. Uzyskano silne, liniowe zależności pomiędzy zawartością alkoholu w szpiku kostnym a stężeniem etanolu w pozostałych materiałach biologicznych ( $R=0,97$  krew versus szpik kostny,  $R=0,95$  mocz versus szpik kostny oraz  $R=0,8$  ciało szkliste oka versus szpik kostny). Współczynniki korelacji nie były zależne od wieku i płci badanych. Różniły się natomiast w zależności od stężenia etanolu w analizowanym materiale ( $R=0,6$  dla etanolu w stężeniu 0,1‰-2,0‰ i  $R=0,92$  dla etanolu w stężeniu powyżej 2,0‰). Dzięki znacznemu zróżnicowaniu analizowanych przypadków w szpiku kostnym oznaczono oprócz etanolu 46 innych ksenobiotyków. Tam gdzie było to możliwe określono współczynniki korelacji, które dla większości związków wskazywały na silne, liniowe zależności. Szczególną uwagę

poświęcono benzodiazepinom. Obecność diazepamu odnotowano w 6 przypadkach, a uzyskany współczynnik korelacji wyników krwi versus szpik kostny wynosił  $R=0,29$ . Wynikało to najprawdopodobniej z uzyskania dwóch bardzo rozbieżnych par wyników, w których stężenia diazepam w poszczególnych materiałach znacznie różniły się od siebie. Zauważono również, że stężenie między innymi metadonu, perazyny, karwedilolu i citalopramu było wyższe w szpiku kostnym w porównaniu do pozostałych materiałów biologicznych. Odwrotną sytuację odnotowano w przypadku atropiny oraz fentanylu, stężenie tych związków było niższe w szpiku kostnym.

**Wnioski:** Szpik kostny, może stanowić wartościowy materiał biologiczny do oznaczania nie tylko alkoholu etylowego, ale również szeregu leków i narkotyków. Konieczne są dalsze badania nad procesami farmakokinetycznymi i interpretacją uzyskanych wyników. W codziennej praktyce włączenie szpiku kostnego do panelu analizowanych materiałów może pomóc w wyjaśnieniu przyczyny zgonu i ułatwić wydanie rzetelnej opinii sądowo-lekarskiej w sytuacji braku innych ośrodków, które mogą być poddane analizie.

## Abstract

**Introduction:** Determining the cause and circumstances of death is based not only on the results of autopsy, but also on the performance of a number of laboratory tests, including histopathological, biochemical, microbiological and toxicological tests. One of the greatest difficulties with post-mortem research is the quality of the biological material. Due to the different state of post-mortem changes, possible fragmentation of the body or its skeletonization, collecting samples for laboratory tests may turn out to be difficult. The assessment of whether the deceased was under the influence of a xenobiotic at the time of death, and if so, whether it could have been the cause of his death or influenced the circumstances of his death, is one of the goals of a medico-forensic investigation. In recent years, much attention has been paid to the search for alternative biological materials and the assessment of their usefulness in forensic toxicology and forensic medical opinions. Bonemarrow, due to its high availability, location ensuring protection against external factors and a different model of post-mortem changes, and rich vascularization, even in the case of a carcass that is not in good condition, may be an alternative material with great potential for forensic toxicology.

**Aim of the study:** Assessment of the usefulness of bone marrow in forensic toxicology and forensic medical opinions. Verification of the correlation between the blood versus bone marrow results. Establish the value of evidence from bone marrow toxicology studies. Assessment of the possibility of using the results in formulating forensic-medical opinions regarding the circumstances and cause of death.

**Material and methods:** The study group consisted of 120 patients who underwent forensic post-mortem examinations at the Forensic Medicine Department of the Medical University in Wrocław. The inclusion criterion for the study was a reasonable suspicion of xenobiotic poisoning and the possibility of collecting a bone marrow aspirate and at least one routine biological material, which made it possible to compare the obtained results. For toxicological studies, blood was collected from a puncture of the femoral vein, the vitreous humour of the eye, urine by puncture of the bladder and bone marrow by aspiration or curettage from the iliac plate, if possible. For some of the patients, it was not possible to collect all of the biological materials mentioned. Ethanol concentration in biological material was determined using gas chromatography coupled with FID detector and headspace surface phase analysis. In the case of determination of all drugs and drugs, a two-stage study was performed. In the first stage, a qualitative analysis was performed and in the second stage - a quantitative analysis. For determinations, certified internal standards at a concentration of 1000 ng / ml were used and the analysis was carried out using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with a mass detector (UHPLC-QqQ-MS / MS). On the basis of the obtained results, the relationship between the bone marrow and other biological materials was determined using Pearson's correlation coefficients.

**Results:** The mean concentration of ethyl alcohol in the tested samples was 0.68 mg / g (blood), 1.09 mg / g (urine), 1.06 mg / g (vitreous humour) and was higher compared to the mean concentration of ethanol in bone marrow was 0.59 mg / g. Strong, linear relationships were obtained between the alcohol content in the bone marrow and the concentration of ethanol in other biological materials ( $R = 0.97$  blood versus bone marrow,  $R = 0.95$  urine versus bone marrow and  $R = 0.8$  vitreous humour versus bone marrow). Correlation coefficients were not dependent on the age and sex of the respondents. However, they differed depending on the concentration of ethanol in the analyzed material ( $R = 0.6$  for ethanol at a concentration of 0.1 ‰ - 2.0 ‰ and  $R = 0.92$  for ethanol at a concentration above 2.0 ‰). Due to the significant differentiation of the analyzed cases, in the bone marrow, apart from ethanol, 46 other xenobiotics were determined. Where it was possible, correlation coefficients were determined which for most of the compounds

indicated strong, linear relationships. Particular attention was paid to benzodiazepines. The presence of diazepam was noted in 6 cases, and the obtained blood versus bone marrow correlation coefficient was  $R = 0.29$ . This was most likely due to the two very divergent pairs of results, in which the concentrations of diazepam in individual materials differed significantly from each other. It was also noticed that the concentration of methadone, perazine, carvedilol and citalopram was higher in the bone marrow compared to other biological materials. The opposite situation was noted in the case of atropine and fentanyl, the concentration of these compounds was lower in the bone marrow.

**Conclusions:** Bone marrow can be a valuable biological material for the determination of not only ethyl alcohol, but also a number of drugs and drugs. Further studies on pharmacokinetic processes and interpretation of the obtained results are necessary. In everyday practice, including bone marrow in the panel of analyzed materials may help in explaining the cause of death and facilitate the issuance of a reliable forensic-

m  
e  
d  
i  
c  
a  
l

o  
p  
i  
n  
i  
o  
n

i  
n

t  
h  
e

a  
b  
s  
e  
n  
c  
e

o  
f

o  
t  
h  
e  
r

c  
e  
n  
t