



## **ANALYTICAL ISSUES IN FORENSIC TOXICOKINETICS**

Helen KASTRISSIOS, Robert E. GAENSSLEN, Adam NEGRUSZ

*Department of Biopharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, University of Illinois,  
Chicago (United States of America)*

### **Abstract**

The two major aspects of forensic toxicology are: forensic drug and alcohol screening and interpretation, and post-mortem investigations. The important issues in forensic drug screening are accessibility of biological samples and the availability of sensitive and specific analytical methods for accurate detection, identification and quantification of specific chemical compounds. Although blood is the most common biological sample collected in clinical settings, its use in forensic drug screening is limited. Commonly, urine is preferred because higher drug concentrations are detectable in urine. A limitation of urine collection is that the sample may not be directly observed to be collected from a particular individual. Forensic drug screening has been performed using a variety of tissues, including hair, nails, sweat, saliva and breath and meconium. The primary goal of drug screening is to identify biological samples that contain specific drugs under investigation and to rapidly screen out samples that do not contain the drug. Sensitivity of the analytical technique is an important issue since chemicals may be present in trace amounts in biological specimens. Improvements in the sensitivity and specificity of analytical techniques have been achieved by combining chromatographic methods, in order to effect separations of compounds of interest from biological matrices, with microplate enzyme immunoassays or mass spectrometry. Confirmation (verification) analysis is a critical phase of the screening process. It provides an increased level of assurance that a false positive result has not been obtained in the initial screening phase. GC-MS is a commonly used confirmatory technique as it is specific for particular compounds and is quantitatively accurate and precise at low concentrations. The knowledge of xenobiotic's route of administration, metabolism, tissue distribution, biological half live, biological markers of exposure, play an important role in selection of the most appropriate specimen for analysis and the choice of the most sensitive and specific analytical method. Stability of drugs in biological specimens is extremely important in forensic toxicology and should be always seriously considered when forensic samples are being collected. *Post-mortem* forensic investigations are performed on suspicion of drug overdose with either illicit or prescription drugs, and in cases of suicide or homicide due to poisoning with a variety of toxic substances. Drug and/or alcohol levels in death cases can be a major factor in helping determine cause and the culpabilities of participants in both criminal and civil legal proceedings. The timing of specimen collection is an important, although often unknown, factor because it is a determinant of drug stability, the extent of tissue decomposition, and the extent of drug redistribution. *Post-mortem* blood drug concentrations may not reflect *ante-mortem* drug concentrations due to the phenomenon of drug redistribution. Moreover, unabsorbed drug in the gastrointestinal tract and drug-rich tissues, particularly the liver and lungs, constitute reservoirs from which drugs may be released *post-mortem*. The other problems connected with the analysis of post-mortem samples are drug stability and selection of the appropriate sample for analysis.

### **Key words**

Toxicology; Drug screening; *Post-mortem*.

*Received 1 August 2006; accepted 21 August 2006*

## 1. Introduction

Forensic toxicology is the area of forensic science that deals with the medico-legal implications of the use and abuse of chemicals, including drugs and poisons. Chemical analysis is the cornerstone of forensic toxicology. It involves the detection, identification and quantification of specific chemicals in biological matrices, analysis verification, and interpretation of the data in the context of the case history and any other forensic evidence. In addition, the forensic toxicologist may be required to act as an expert witness and testify on the findings in legal proceedings. Forensic toxicology differs from the simpler area of forensic drug identification in that the toxicologist must, in addition to separating the drug or chemical from the biological matrix and quantitatively analysing it, be able to interpret the significance of the findings in the context of the case. This requires knowledge of the pharmacology and pharmacokinetics of drugs and chemicals in the human body in addition to the analytical procedures. The purpose of this review is to highlight considerations specific to the analysis of chemicals in biological specimens in forensic toxicology.

The two major aspects of forensic toxicology are: forensic drug and alcohol screening and interpretation and *post-mortem* investigations.

## 2. Forensic drug and alcohol screening

### 2.1. Legal considerations

Drug screening is performed to detect unlawful or prohibited drug use in various settings. It could include employment-related drug testing, doping control in sports both human and animal, testing persons who are incarcerated or under other correctional supervision (parole, probation), detection of individuals driving under the influence of alcohol (or drugs), in utero exposure to drugs, and corroboration of drug-facilitated sexual assault. Societies have generally tried to find a balance between an individual's legal rights and the need to regulate driving or other activities involving public safety. Likewise, private employers must respect employee privacy and rights in their drug screening policies and practices. There is little room for error on the part of the laboratory or toxicologist, as a false positive result in a drug screen may result in wrongful accusation of drug use of an innocent individual, while a false negative may wrongfully vindicate a guilty individual.

Therefore, two important issues in forensic drug screening are accessibility of biological samples and the availability of sensitive and specific analytical methods for accurate detection, identification and sometimes quantitation of specific chemical compounds. There are both legal and scientific considerations surrounding the choice of tissue specimen for drug or alcohol testing, and in some instances these are interrelated. It is likewise obvious that the legal considerations are to some extent a function of the legal legacy and environment in different societies and countries. Generally, at least in Western Europe and the U.S., the degree of intrusiveness or invasiveness required to obtain a specimen has been a concern. And in the U.S. with its written constitution, the issues of "self incrimination" and of defining the bases for requiring a person to submit to testing have been widely litigated for criminal cases [23].

In the case of alcohol (ethanol), lawmakers in the U.S. and parts of Europe have statutorily defined "impairment" for purposes of driving a motor vehicle in terms of a weight per unit of volume (w/v) concentration in blood. However, blood can be one of the more difficult specimens to obtain. Measurement of alcohol in another matrix (such as breath) requires that there be a definite, established correlation with blood level so as to comply with the definitions of the law [30]. Similarly, alcohol is occasionally measured in plasma, and an expert must then try to convert the observed level to a whole-blood basis. It also happens that specimens are not collected immediately after some event but at a later time. Experts are then often required to try to extrapolate the measured level back in time to estimate what it would have been at the time of the incident in question (such as a motor vehicle accident, or a sexual assault). These extrapolations rely on understanding the kinetics of ethanol metabolism and clearance from blood [30].

There is substantial evidence that both prohibited as well as ethical drugs, even at therapeutic doses, can significantly impair motor vehicle drivers [3, 17, 18, 19, 21, 36, 37, 46]. However, the legal implications are not so well defined, in part because it has been difficult for experts to agree on concentrations for various drugs that cause "impairment". For alcohol, as with other psychoactive drugs, these concentration-response (impairment) relationships may be complicated by factors that influence the pharmacokinetics of the drug, such as the influence of one or more drugs, non-linear elimination processes, as well as the pharmacology of the drug, such as delays in drug effects and the development of tolerance [12].

## 2.2. Sampling tissues

Although blood is the most common biological sample collected for quantitative analysis of drugs in clinical settings, its use is limited in forensic drug screening because its collection is invasive, costly, and requires personnel trained in blood collection and sample handling techniques in order to minimise the risk of sample contamination. Commonly, urine is preferred over blood for toxicological analysis because higher drug concentrations are detectable in urine as a result of the concentrating functions of the kidney. Consequently, for some drugs there is a longer window of detection. A limitation of urine collection for drug screening is that the sample may not be directly observed to be collected from a particular individual.

Ethanol is the most widely used drug in the world today and ethanol concentrations in blood, breath and urine have been used to provide evidence against individuals suspected of driving under the influence of alcohol [20]. Whereas urine alcohol concentrations tend to be higher than blood alcohol concentrations, there is good agreement between venous blood alcohol concentrations and breath alcohol concentrations in expired air [2]. Saliva and sweat samples have also been collected for quantification of alcohol concentrations. However, reduced saliva flow in alcohol intoxicated individuals and variable correlations between sweat and blood alcohol concentrations limit the practical usage of these matrices for routine screening [2, 14].

Generally, simple, non-invasive techniques are preferable for mass screening (Table I). Forensic drug screening has been performed using a variety of tissues including hair [26, 27, 28, 41] nails [5, 7, 32], sweat [22, 23], saliva [14, 33, 40], and breath [30]. Urine and meconium [24, 25] collected from neonates have been used to detect fetal exposure to illegal drugs during pregnancy.

## 2.3. Analytical techniques

The primary goal of drug screening is to identify biological samples that contain specific drugs under investigation and to rapidly screen out samples that do not contain the drug. Hence, in the initial screening phase, emphasis is placed on detection and identification of drugs in biological specimens and analytical techniques must be sufficiently specific in order to accurately detect compounds of interest [6].

Sensitivity of the analytical technique is also an important issue since chemicals may be present in trace amounts in biological specimens depending on the dose and the duration of use of an illegal substance.

Commonly, the dose and time of exposure are factors outside of the control of the forensic toxicologist and, at best, can only be approximated based on forensic evidence. Delays in specimen collection relative to drug exposure are not uncommon. In cases of drug-facilitated sexual assault, for example, it may take several days before a victim reports the incident to authorities because of emotional distress and/or the amnesic effects produced by the drug.

Improvements in the sensitivity and specificity of analytical techniques have been achieved by combining chromatographic methods, in order to effect separations of compounds of interest from biological matrices, with microplate enzyme immunoassays or mass spectrometry. In one study, urine samples obtained following single doses of flunitrazepam (Rohypnol), a drug that has been used by criminals as a "date-rape" drug, were prepared using enzymatic hydrolysis followed by solid-phase extraction prior to detection by microplate enzyme immunoassay. Flunitrazepam and its metabolites were detected for up to 21 days in these subjects [29]. In addition, Negrusz et al. demonstrated the superiority of negative chemical ionisation gas chromatography – mass spectrometry (NCI-GC-MS) over electron ionisation GC-MS for the quantitation of two benzodiazepines (and their metabolites) associated with drug-facilitated sexual assault [27, 28]. With this method, the limits of quantitation for 7-aminoflunitrazepam and flunitrazepam in urine were 10 pg/ml and 100 pg/ml, respectively, allowing in some cases detection and quantification of these compounds up to 28 days after ingestion of a single 2 mg dose of Rohypnol [29].

Confirmation (verification) analysis is a critical phase of the screening process. It provides an increased level of assurance that a false positive result has not been obtained in the initial screening phase. GC-MS is a commonly used confirmatory technique as it is specific for particular compounds and is quantitatively accurate and precise at low concentrations [6].

The evaluation of low-level chemical or toxic exposures is a very important part of occupational and forensic toxicology. It is essential to find out whether the source of the toxin is overdose (suicidal or homicidal), accidental ingestion, or occupational or environmental exposure. In all cases the laboratory, including forensic toxicology laboratory, can play a major role in the diagnosis and treatment of the patient or helping the pathologist in determining a cause of death. The knowledge of xenobiotic's route of administration, metabolism, tissue distribution, biological half life, biological markers of exposure, play an important role in selection of the most appropriate

specimen for analysis and the choice of the most sensitive and specific analytical method. All issues associated with laboratory evaluation of low-level chemical or toxic exposures including laboratory certification, specimen collection and handling, the assessment of toxic agents, analytical approaches and analytical methods, were broadly discussed elsewhere by Williams and Negrusz [43].

#### 2.4. Drug stability

Stability of drugs in biological specimens is extremely important in forensic toxicology and should be always seriously considered when forensic samples are being collected. Dugan et al. [4] reported the stability of tetrahydrocannabinol metabolite (THC-COOH), amphetamine, methamphetamine, morphine, codeine, cocaine, benzoylecgonine, and phencyclidine (PCP) in 236 physiological frozen urine samples for the period of 12 months. Under these conditions all drugs appeared to be stable except for cocaine (−37% change in concentration). In another study with frozen urine samples, significant decrease of THC-COOH (25%) and benzoylecgonine (19%) concentration was observed [39]. In urine samples stored at room temperature, THC-COOH deteriorated much faster than if samples were refrigerated [8]. In another study, blood samples stored at refrigeration and room temperatures were analysed for THC-COOH, cocaine, and benzoylecgonine. Cocaine was found not to be stable in blood especially at room temperature [22].

### 3. *Post-mortem* investigations

#### 3.1. Introduction

*Post-mortem* forensic investigations are performed on suspicion of drug overdose with either illicit or prescription drugs, and in cases of suicide or homicide due to poisoning with a variety of toxic substances including cyanide, strychnine, arsenic, heavy metals such as thallium, gaseous substances like carbon monoxide, and fatal ingestion of insecticides, industrial solvents and petroleum products. All suspicious or questioned death cases handled by a medical examiner's office are typically subjected to a drug screen. The legal obligation of the medical examiner or coroner is generally to rule on cause and manner of death. Forensic toxicologists assist in these determinations by conducting tests for drugs and/or alcohol and interpreting the extent to which they may have been causal. It has long been clear that alcohol impairment is a ma-

major factor in vehicle accident deaths. In 1999 in the U.S., for example, alcohol was a major factor in over 23% of all vehicle accidents, and in over 34% of the vehicle accident fatalities [42]. Over 27% of individuals in the vehicle accident fatalities had blood alcohol levels exceeding 0.1%. Drug and/or alcohol were factors in 52% of fatalities involving motor vehicles in Washington State in a recent study [21]. The problem is not even limited to automobiles and trucks on roadways. In a five-year retrospective survey in Canada, almost 73% of those fatally injured in 31 snowmobile accidents were legally intoxicated [44]. Drug and/or alcohol levels in death cases can be a major factor in helping determine cause and the culpabilities of participants in both criminal and civil legal proceedings.

In general, analytical sensitivity is not as important an issue as other factors since many *post-mortem* investigations involve the presence of high tissue drug or chemical concentrations. On the other hand, the timing of specimen collection is an important, although often unknown, factor because it is a determinant of drug stability, the extent of tissue decomposition (and therefore the availability of tissue specimens for autopsy sampling), and the extent of drug redistribution. Consequently, *post-mortem* drug concentrations in biological specimens are both tissue-dependent and time-dependent. In the unusual case of delayed recovery of human remains in which ethanol testing is an issue (a pilot of an airplane that crashed in a remote area, for example), the possibility of *post-mortem* ethanol formation by fermentation has to be considered [1].

#### 3.2. Redistribution

*Post-mortem* blood drug concentrations may not reflect ante-mortem drug concentrations due to the phenomenon of drug redistribution. *Post-mortem* drug redistribution results in large differences in blood drug concentrations drawn from different sampling sites. The major mechanism postulated to account for this observation is passive diffusion of drugs down a concentration gradient [31]. In addition, *post-mortem* blood flux due to gravity, development of rigor mortis and putrefaction, and acid-base changes in the body after death may also contribute to the phenomenon.

Unabsorbed drug in the gastrointestinal tract and drug-rich tissues, particularly the liver and lungs, constitute reservoirs from which drugs may be released *post-mortem* [31, 35]. Changes in tissue integrity due to cell death and putrefaction facilitate the release of drugs from solid organs. In addition, the large surface area and high vascularity of the lung may contribute to rapid drug release from this organ. The greatest changes

TABLE I. ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF VARIOUS BIOLOGICAL SPECIMENS USED FOR DETECTION OF DRUGS IN FORENSIC DRUG SCREENING [11, 14, 25, 32]

Biological matrix	Advantages	Disadvantages
Blood/plasma/serum	Allows detection of recent drug usage Can be correlated with impairment of motor and/or CNS functions Sample volume is usually not limited, allowing multiple analyses to be performed, if needed	May not detect acute usage of drugs with very short half-lives Invasive Storage conditions need to be identified to ensure drug and matrix stability
Urine	Non-invasive Window of drug detection often longer than in blood	Sample collection not directly observable May be impractical For some drugs, concentration can be altered by excessive fluid consumption No correlation with impairment Storage conditions need to be identified to ensure drug and matrix stability
Exhaled air	Non-invasive Correlates with impairment	Concentration of alcohol in air may be influenced by temperature, depth of respiration and alcohol concentration
Keratinic tissues – hair, finger and toe nails	Non-invasive Samples are stable over long periods of time Accumulation of drug over time; axial distribution temporal pattern of drug usage Can be used to test for neonatal drug exposure	May not differentiate drug use from environmental exposure No correlation with impairment
Sweat	Non-invasive (sweat obtained by skin-wipes) Window of drug detection similar to blood	Small volume available No correlation with impairment May be contaminated by environmental exposure

in concentrations occur in the central circulation. Drugs may be concentrated in blood sampled from the heart, aorta and pulmonary vessels, particularly the thinner-walled pulmonary veins, due to drug release from the lung, while drug in gastric fluid is absorbed into the liver and the inferior vena cava [16, 35].

Weakly basic drugs characterised by a “large” volume of distribution ( $V_d > 3$  l/kg) are likely to accumulate in one or more tissues and consequently show the greatest extent of *post-mortem* tissue redistribution (Table II) [9]. Acidic and neutral drugs with low volumes of distribution ( $V_d < 2$  l/kg) have a low potential for *post-mortem* tissue redistribution, although changes in fluid balance and pH decreases influence distribu-

tion in surrounding tissues, resulting in changes in tissue concentrations [10, 34, 38].

### 3.3. Drug stability

Although drug redistribution is a common phenomenon in the early *post-mortem* period, after approximately 24 hours tissue concentrations of drugs such as flunitrazepam and tranylcypamine have been found to decrease and may become undetectable [34, 38]. This phenomenon has been attributed to bacterial drug degradation and occurs once tissue decomposition and putrefaction predominates.

TABLE II. RELATIONSHIP BETWEEN VOLUME OF DISTRIBUTION AND THE EXTENT OF *POST-MORTEM* DRUG REDISTRIBUTION IN RATS [9]

Drug	$V_d$ (l/kg)	Median <i>post-mortem</i> : <i>ante-mortem</i> Heart blood concentrations
Phenobarbital	0.6	0.9
Paracetamol	1.0	1.1
Carbamazepine	1.1	1.2
Amphetamine	4.1	2.0
Codeine	5.1	2.1
Mianserin	8.6	2.5
Chloroquine	200*	5.5

\* In man.

### 3.4. Sampling tissues

Whereas drug redistribution may cause large elevations in central blood drug concentrations after death, changes in peripheral blood are less dramatic and consequently peripheral (venous femoral) blood is considered to more accurately reflect ante-mortem blood drug concentrations [9]. However, in one study, the median (range) *post-mortem* to *ante-mortem* serum drug concentration ratio for various tricyclic antidepressants was 3.3 (1.1–6.0) [45]. Clearly, interpretation of the significance of any *post-mortem* blood drug concentration for medico-legal purposes must be undertaken cautiously.

Commonly, an autopsy protocol requires collection and analysis of a number of biological specimens and matrices, including peripheral and heart blood and tissue samples, and liver and lung samples, in order to provide evidence of a drug overdose. Other matrices may also be collected. For victims of solvent abuse, gas content of lung tissue may be analysed in addition to analysis of the tissue. In suspected heavy metal poisoning cases, keratinic tissues may be collected for analysis of deposited antimony, arsenic or thallium.

## 4. Concluding remarks

Pharmacokinetic processes of absorption, distribution and elimination are equally applicable to potentially toxic substances as for therapeutic compounds. However, study of the biological fate of compounds in forensic toxicology differs from that in clinical scenarios due to both intrinsic and extrinsic factors. For example, in addition to ethical and practical constraints,

legal considerations also influence the acquisition of biological specimens for chemical analysis. Conversely, an important contribution of forensic toxicology to pharmacokinetics has been the development of techniques to accurately, specifically and reproducibly detect trace concentrations of chemicals in biological specimens.

## References

1. Avis S. P., Snowmobile fatalities, *Journal of Forensic Sciences* 1996, 457–464.
2. Bendtsen P., Hultberg J., Carlsson M. [et al.], Monitoring ethanol exposure in a clinical setting by analysis of blood, breath, saliva and urine, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 1999, 23, 1446–1451.
3. Cary P. L., Johnson C. A., Foltz R. L. [et al.], Driving under the influence of phenobarbital, *Journal of Forensic Sciences* 1983, 28, 502–504.
4. Dugan S., Bogema S., Schwartz R. W. [et al.], Stability of drugs of abuse in urine samples stored at –20 degrees, *Clinical Journal of Analytical Toxicology* 1994, 18, 391–396.
5. Engelhart D. A., Lavins E. S., Sutheimer C. A., Detection of drugs of abuse in nails, *Journal of Analytical Toxicology* 1998, 4, 314–318.
6. Ferrara D., Tedeschi L., Frison G. [et al.], Quality control in toxicological analysis, *Journal of Chromatography B* 1998, 713, 227–243.
7. Garside D., Roper-Miller J. D., Goldberger B. A. [et al.], Identification of cocaine analytes in fingernails and toenails specimens, *Journal of Forensic Sciences* 1998, 43, 974–979.
8. Golding Fraga S., Diaz-Flores Estevez J., Diaz Romero C., Stability of cannabinoids in urine in three storage temperatures, *Annals of Clinical Laboratory Science* 1998, 28, 160–162.

9. Hilberg T., Bugge A., Beylich K. M. [et al.], An animal model of post-mortem amitriptyline redistribution, *Journal of Forensic Sciences* 1993, 38, 81–90.
10. Hilberg T., Ripel A., Slørdal L. [et al.], The extent of post-mortem drug redistribution in a rat model, *Journal of Forensic Sciences* 1999, 956–962.
11. Hilberg T., Rogde S., Mørland J., Post-mortem drug redistribution – human cases related to results in experimental animals, *Journal of Forensic Sciences* 1999, 44, 3–9.
12. Holford N. H., Complex PK/PD models – an alcoholic experience, *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1997, 35, 465–468.
13. Jones A., Norberg A., Hahn R., Concentration-time profiles of ethanol in arterial and venous blood and end-expired breath during and after intravenous infusion, *Journal of Forensic Sciences* 1997, 42, 1088–1094.
14. Kidwell D., Holland J., Athanaselis S., Testing for drugs of abuse in saliva and sweat, *Journal of Chromatography B* 1998, 713, 111–135.
15. Kintz P., Tracqui A., Mangin P. [et al.], Sweat testing in opioid users with a sweat patch, *Journal of Analytical Toxicology* 1996, 20, 393–397.
16. Langford A., Pounder D., Possible markers for postmortem drug redistribution, *Journal of Forensic Sciences* 1997, 42, 88–92.
17. Logan B. K., Methamphetamine and driving impairment, *Journal of Forensic Sciences* 1996, 41, 457–464.
18. Logan B. K., Case G. A., Gordon A. M., Carisoprodol, meprobamate, and driving impairment, *Journal of Forensic Sciences* 2000, 45, 619–623.
19. Logan B. K., Couper F. J., Zolpidem and driving impairment, *Journal of Forensic Sciences* 2001, 46, 106–110.
20. Logan B. K., Jones A., Endogenous ethanol “auto-brewery syndrome” as a drunk-driving defence challenge, *Medicine Science and the Law* 2000, 40, 206–215.
21. Logan B. K., Schwilke E. W., Drug and alcohol use in fatally injured drivers in Washington State, *Journal of Forensic Sciences* 1996, 41, 505–510.
22. McCurdy H. H., Callahan L. S., Williams R. D., Studies on the stability and detection of cocaine, benzoylecgonine, and 11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in whole blood using Abuscreen radioimmunoassay, *Journal of Forensic Sciences* 1989, 34, 858–870.
23. Moenssens A., Starrs J. E., Henderson C. E. [et al.], Scientific evidence in criminal cases, The Foundation Press Inc., Westbury 1995.
24. Moore C., Negrusz A., Drugs of abuse in meconium, *Forensic Science Revue* 1995, 7, 103–118.
25. Moore C., Negrusz A., Lewis D., Determination of drugs of abuse in meconium, *Journal of Chromatography B* 1998, 713, 137–146.
26. Negrusz A., Moore C. M., Deitermann D. [et al.], Highly sensitive micro-plate enzyme immunoassay screening and NCI-GC-MS confirmation of flunitrazepam and its major metabolite 7-aminoflunitrazepam in hair, *Journal of Analytical Toxicology* 1999, 23, 429–435.
27. Negrusz A., Moore C. M., Hinkel K. B. [et al.], Deposition of 7-aminoflunitrazepam and flunitrazepam in hair after a single dose of Rohypnol, *Journal of Forensic Sciences* 2001, 46, 1–9.
28. Negrusz A., Moore C. M., Kern J. L. [et al.], Quantitation of clonazepam and its major metabolite 7-aminoclonazepam in hair, *Journal of Analytical Toxicology* 2000, 24, 614–620.
29. Negrusz A., Moore C. M., Stockham T. [et al.], Elimination of 7-aminoflunitrazepam and flunitrazepam in urine after a single dose of Rohypnol, *Journal of Forensic Sciences* 2000, 45, 1031–1040.
30. Norberg A., Gabriellson J., Jones A. W., [et al.], Within- and between-subject variations in pharmacokinetic parameters of ethanol by analysis of breath, venous blood and urine, *British Journal of Clinical Pharmacology* 2000, 49, 399–408.
31. O’Neal C. L., Poklis A., Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation: a critical review, *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 1996, 17, 8–20.
32. Palmeri A., Pichini S., Pacifici R. [et al.], Drugs in nails. Physiology, pharmacokinetics, forensic toxicology, *Clinical Pharmacokinetics* 2000, 38, 95–110.
33. Peel H. W., Perrigo B. J., Mikhael N. Z., Detection of drugs in saliva of impaired drivers, *Journal of Forensic Sciences* 1984, 29, 158–159.
34. Pounder D., Davies J., Zopiclone poisoning: tissue distribution and potential for post-mortem diffusion, *Forensic Science International* 1994, 65, 177–183.
35. Pounder D., Jones G., Post-mortem drug redistribution – a toxicological nightmare, *Forensic Science International* 1990, 45, 253–263.
36. Raymon L. P., Steele B. W., Walls H. C., Benzodiazepines in Miami-Dade County, Florida Driving Under the Influence (DUI) cases (1995–1998) with emphasis on Rohypnol: GC-MS confirmation, patterns of use, psychomotor impairment, and results of Florida legislation, *Journal of Analytical Toxicology* 1999, 23, 490–499.
37. Risser D., Klupp N., Schneider B. [et al.], Drugs and driving in Vienna, Austria, *Journal of Forensic Sciences* 1998, 43, 817–820.
38. Robertson M., Drummer O., Post-mortem distribution and redistribution of nitrobenzodiazepines in man, *Journal of Forensic Sciences* 1998, 43, 9–13.
39. Romberg R. W., Past M. R., Reanalysis of forensic urine specimens containing benzoylecgonine and THC-COOH, *Journal of Forensic Sciences* 1994, 39, 479–485.
40. Samyn N., van Haeren C., On-site testing of saliva and sweat with Drugwipe and determination of concentrations of drugs of abuse in saliva, plasma and urine of suspected users, *International Journal of Legal Medicine* 2000, 113, 150–154.
41. Slawson M. H., Wilkins D. G., Rollins D. E., The incorporation of drugs into hair: relationship of hair color and melanin concentration to phencyclidine incorporation, *Journal of Analytical Toxicology* 1998, 22, 406–413.
42. U.S. Dept. of Transportation, NHTSA, Fatality Analysis Reporting System (FARS), 2001.

43. Williams R. H., Negrusz A., Laboratory evaluation of low-level chemical or toxic exposures, *Mosby's Disease-a-Month* 2000, 46, 617–645.
44. [www-fars.nhtsa.dot.gov/www/wizard.html](http://www-fars.nhtsa.dot.gov/www/wizard.html).
45. Yonemitsu K., Pounder D., Postmortem changes in blood tranylcypromine concentration: competing redistribution and degradation effects, *Forensic Science International* 1993, 59, 177–184.
46. Zimmerman E. G., Yeager E. P., Soares J. R. [et al.], Measurement of delta 9-tetrahydrocannabinol (THC) in whole blood samples from impaired motorists, *Journal of Forensic Sciences* 1983, 28, 957–962.

---

**Corresponding author**

Adam Negrusz  
College of Pharmacy  
University of Illinois  
Chicago, IL60612  
e-mail: [anegrusz@uic.edu](mailto:anegrusz@uic.edu)

---



## ANALITYCZNE ASPEKTY TOKSYKOKINETYKI SĄDOWEJ

### 1. Wstęp

Toksykologia sądowa jest działem nauk sądowych, który zajmuje się medyczno-prawnymi konsekwencjami stosowania i nadużywania substancji chemicznych, w szczególności substancji psychoaktywnych i trucizn. Analiza chemiczna jest kamieniem węgielnym toksykologii sądowej. Obejmuje ona wykrywanie, identyfikację i analizę ilościową określonych substancji chemicznych w matrycach biologicznych, weryfikację wyników analizy i interpretację uzyskanych danych w kontekście historii przypadku oraz pozostałego materiału dowodowego. Ponadto toksykolog sądowy może zostać powołany do stawienia się przed sądem jako biegły w celu złożenia zeznań na temat uzyskanych wyników badań. Toksykologia sądowa różni się od prostszej dziedziny nauk sądowych zajmującej się identyfikacją substancji psychoaktywnych, ponieważ toksykolog – oprócz oddzielania badanej substancji od matrycy biologicznej i wykonania analizy ilościowej – musi być w stanie zinterpretować uzyskany wynik w kontekście określonego przypadku. Wymaga to więc znajomości procedur analitycznych oraz wiedzy z zakresu farmakologii i farmakokinetyki substancji psychoaktywnych w organizmie. Celem tej pracy jest wypuklenie specyficznych aspektów analizy substancji chemicznych w próbkach biologicznych stosowanej w toksykologii sądowej.

Dwoma głównymi aspektami toksykologii sądowej są: analiza przesiewowa w kierunku obecności alkoholu i innych substancji psychoaktywnych oraz interpretacja uzyskanych wyników, jak również badanie materiału sekcyjnego.

### 2. Analiza przesiewowa dla celów sądowych w kierunku obecności alkoholu i innych substancji psychoaktywnych

#### 2.1. Aspekty prawne

Analiza przesiewowa w kierunku obecności substancji psychoaktywnych jest wykonywana w celu wykrycia niewłaściwego albo zabronionego prawnie ich stosowania w różnych sytuacjach. Może ona obejmować badanie związane z zatrudnieniem osoby, kontrolę dopingową w sporcie zarówno ludzi, jak i zwierząt, badanie więźniów lub osób będących pod innym nadzorem prawnym (zawieszenie kary, nadzór sądu), wykrywanie osób kierujących pojazdem pod wpływem alkoholu (lub innych substancji psychoaktywnych), narażenie *in utero*

(płodowe) na działanie leków i narkotyków, jak również potwierdzenie zastosowania substancji psychoaktywnych w celu ułatwienia wykorzystania seksualnego. Można stwierdzić, że różne kraje próbują znaleźć równowagę pomiędzy prawami obywatelskimi a potrzebą wprowadzenia regulacji dotyczących bezpieczeństwa publicznego, w tym m.in. kierowania pojazdami. Podobnie, prywatni pracodawcy w planowaniu i sposobie przeprowadzania badań przesiewowych w kierunku obecności substancji psychoaktywnych muszą szanować prywatność pracownika i jego prawa. Możliwość popełnienia błędu przez toksykologa musi być minimalna, ponieważ fałszywie dodatni wynik analizy przesiewowej na obecność substancji psychoaktywnych może doprowadzić do błędnego oskarżenia niewinnej osoby o użycie tej substancji, podczas gdy fałszywe ujemny wynik może oczyścić z zarzutów osobę winną.

Z tego względu dwoma ważnymi aspektami badań przesiewowych w kierunku obecności substancji psychoaktywnych dla celów sądowych jest dostępność próbek biologicznych oraz dostępność czułych i specyficznych metod analitycznych w celu dokładnego wykrywania, identyfikacji i niekiedy oznaczenia określonych substancji chemicznych. Wybór odpowiedniego materiału do badań na obecność alkoholu czy innych substancji psychoaktywnych zależy od uwarunkowań prawnych i naukowych, które w wielu przypadkach są ze sobą ściśle powiązane. Podobnie oczywiste jest to, że regulacje prawne są w pewnym stopniu funkcją stanu prawnego i uwarunkowań środowiskowych obowiązujących w różnych społeczeństwach i krajach. Możliwość użycia siły w celu otrzymania próbki materiału do badań, jak również jej zakres i stopień inwazyjności, były przedmiotem dyskusji przynajmniej w Europie Zachodniej i Stanach Zjednoczonych. Ponadto w Stanach Zjednoczonych problem „samooskarżania” i określenia podstaw wymaganych, by osoba poddała się badaniu, były kwestionowane w wielu procesach sądowych [23].

W przypadku alkoholu (etanolu), ustawodawcy w Stanach Zjednoczonych i niektórych krajach europejskich prawnie zdefiniowali „stan nietrzeźwości” w odniesieniu do kierowania pojazdem mechanicznym poprzez określenie granicznego stężenia alkoholu we krwi, tj. masy tego związku w przeliczeniu na jednostkę objętości (w/v). Jednak obecnie bardzo często trudno jest uzyskać krew do badań. Pomiar alkoholu w innej matrycy (takiej jak powietrze wydychane) wymaga, by istniała określona, ściśle ustalona współzależność z poziomem tego związku we krwi, dzięki czemu można odnieść się do definicji prawnych [30]. Podobnie stężenie

alkoholu jest czasami wyznaczane poprzez pomiar jego zawartości w osoczu i biegły musi wówczas przeliczyć zmierzony poziom na stężenie w krwi pełnej. Zdarza się również, że próbki nie są pobrane natychmiast po zdarzeniu, ale w późniejszym czasie. Biegli wówczas są często powoływani w celu ekstrapolacji poziomu zmierzonego w próbce pobranej po pewnym czasie do chwili zdarzenia kluczowego dla sprawy (takim jak wypadek pojazdu mechanicznego czy też napad na tle seksualnym). Te ekstrapolacje polegają na znajomości kinetyki procesu metabolizmu etanolu i jego usuwania z krwi [30].

Istnieją poważne dowody, że zarówno narkotyki, jak i wiele leków, nawet w terapeutycznych dawkach, może znacząco osłabić zdolność kierowcy do prowadzenia pojazdu mechanicznego [3, 17, 18, 19, 21, 36, 37, 46]. Jednak konsekwencje prawne w tym przypadku nie są tak dobrze zdefiniowane, choćby ze względu na to, że trudno jest ustalić różnym ekspertom, przy jakich stężeniach różnych substancji psychoaktywnych dochodzi do „osłabienia” zdolności prowadzenia pojazdu. Dla alkoholu, podobnie jak w przypadku innych substancji psychoaktywnych, relacje stężenie – odpowiedź (upośledzenie) mogą stać się bardziej złożone przy uwzględnieniu czynników mających wpływ na farmakokinetykę tej substancji (alkoholu, leku, narkotyku), takich jak wpływ jednego lub większej ilości leków lub substancji psychoaktywnych, nieliniowe procesy wydalania, jak również farmakologia określonej substancji psychoaktywnej, np. opóźnienia w jej działaniu czy rozwój tolerancji [12].

## 2.2. Pobieranie próbek materiału biologicznego

Chociaż krew jest najpowszechniej pobieranym materiałem biologicznym do celów analizy ilościowej substancji psychoaktywnych w badaniach klinicznych, jej zastosowanie w badaniach przesiewowych do celów sądowych jest ograniczone, ponieważ pobranie krwi przebiega w sposób inwazyjny, jest kosztowne, jak również wymaga przeszkolonego personelu w zakresie pobierania i późniejszego właściwego obchodzenia się z tego typu materiałem, po to, by zmniejszyć ryzyko zanieczyszczenia próbki. Zwykle do przeprowadzenia analizy toksykologicznej zamiast krwi pobierany jest mocz, ponieważ w wyniku koncentrujących funkcji nerki w moczu wykrywane są wyższe stężenia substancji psychoaktywnych. Z tego względu dla niektórych substancji psychoaktywnych okno detekcji jest dłuższe (przez dłuższy czas substancja może zostać wykryta). Ograniczeniem pobierania moczu w celu wykonania analizy przesiewowej na obecność substancji psychoaktywnych jest fakt, że nie ma możliwości bezpośredniego nadzoru nad osobą podczas dostarczania przez nią materiału do badań.

Etanol jest obecnie najszerzej używaną na świecie substancją psychoaktywną i jego stężenia w krwi, wy-

dychanym powietrzu i moczu, mogą stanowić dowód przeciwko osobom podejrzewanym o prowadzenie pojazdów pod wpływem alkoholu [20]. Stężenia tego związku w moczu są często wyższe niż stężenia we krwi, natomiast istnieje dobra zgodność między stężeniami alkoholu w krwi żyłnej i w wydychanym powietrzu [2]. W celu wyznaczenia stężenia alkoholu pobierane były również próbki śliny i potu. Jednakże zmniejszone wydzielanie śliny u osób pod wpływem alkoholu oraz zmienne zależności między jego stężeniami w pocie i krwi ograniczają praktyczne użycie tych materiałów w rutynowej analizie przesiewowej [2, 14].

Ogólnie można stwierdzić, że w celu wykonania analizy przesiewowej bardziej preferowane są techniki proste i nieinwazyjne (tabela I). Badania przesiewowe do celów sądowych na obecność substancji psychoaktywnych były wykonywane z zastosowaniem różnych materiałów biologicznych, w tym włosów [26, 27, 28, 41], paznokci [5, 7, 32], potu [15, 40], śliny [14, 33, 40] i wydychanego powietrza [30]. Mocz i smółka [24, 25] pobrane od noworodków zostały użyte w celu wykrycia narażenia płodu na działanie substancji psychoaktywnych podczas ciąży.

## 2.3. Techniki analityczne

Najważniejszym celem badań przesiewowych w kierunku obecności substancji psychoaktywnych jest identyfikacja tych próbek biologicznych, które zawierają określone substancje kontrolowane oraz oddzielenie próbek, które tych substancji nie zawierają. Z tego względu, w początkowym etapie analizy przesiewowej, nacisk nałożony jest na wykrywanie i identyfikację substancji psychoaktywnych w próbkach biologicznych i techniki analityczne muszą być wystarczająco specyficzne aby wykryć właściwe związki [6].

Ważnym aspektem jest również czułość techniki analitycznej, ponieważ substancje chemiczne mogą być obecne w próbkach biologicznych w śladowych ilościach, w zależności od przyjętej dawki i czasu stosowania nielegalnej substancji. Zwykle dawka i czas narażenia są czynnikami będącymi poza kontrolą toksykologa sądowego i w najlepszym wypadku mogą zostać aproksymowane na podstawie pozostałego materiału dowodowego. Opóźnienia w pobraniu próbki w stosunku do czasu narażenia na działanie substancji psychoaktywnych nie są sytuacją rzadką. Dla przykładu, w przypadku substancji ułatwiających wykorzystanie seksualne czas, po jakim ofiara informuje odpowiednie służby na temat zdarzenia, może wynosić kilka dni, co wynika ze stanu emocjonalnego i (lub) skutków amnezji powodowanych przez określone substancje.

Wzrost czułości i specyficzności technik analitycznych został osiągnięty poprzez połączenie metod chromatograficznych stosowanych w celu oddzielenia badanych związków od matrycy biologicznych z metodami im-

munoenzymatycznymi lub spektrometrią mas. W jednym z badań, próbki moczu pobrane po przyjęciu pojedynczych dawek flunitrazepamu (Rohypnol<sup>®</sup>), leku używanego przez przestępców w celu wykorzystania seksualnego, zostały przygotowane do badań przy zastosowaniu hydrolizy enzymatycznej, następnie przeprowadzono ekstrakcję do fazy stałej, po czym wykonano analizę metodą immunoenzymatyczną. Flunitrazepam i jego metabolity zostały wykryte u tych osób aż do 21 dni po przyjęciu [29]. Ponadto Negrusz i in. wykazali wyższość chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas z negatywną jonizacją chemiczną (NCI-GC-MS) nad chromatografią gazową sprzężoną ze spektrometrią mas z jonizacją elektronową (EI-GC-MS) do oznaczania dwóch benzodiazepin (i ich metabolitów) w sprawach związanych z użyciem leku w celu ułatwienia wykorzystania seksualnego [27, 28]. Przy zastosowaniu tej metody granice oznaczalności dla 7-aminoflunitrazepamu i flunitrazepamu w moczu wynosiły odpowiednio 10 pg/ml i 100 pg/ml, umożliwiając w niektórych przypadkach wykrycie i oznaczenie tych substancji aż do 28 dni po przyjęciu pojedynczej 2 mg dawki Rohypnolu [29].

Potwierdzenie (weryfikacja) wyników analizy jest kluczową fazą procesu analizy przesiewowej. Zwiększa ona pewność, że we wstępnej fazie analizy przesiewowej nie został uzyskany fałszywie pozytywny wynik. Powszecnie używaną techniką potwierdzającą jest GC-MS, ponieważ jest ona specyficzna dla poszczególnych substancji oraz zapewnia uzyskanie dokładnych i precyzyjnych wyników ilościowych przy niskich stężeniach [6].

Ocena narażenia na działanie niskich stężeń substancji chemicznych lub toksycznych jest bardzo ważną częścią toksykologii zawodowej i sądowej. W tym przypadku konieczne jest ustalenie, czy przyczyną obecności toksyny jest przedawkowanie (w celach samobójczych albo przestępczych), przypadkowe spożycie, czy też narażenie zawodowe lub środowiskowe. We wszystkich takich wypadkach, laboratorium, w tym również sądowe laboratorium toksykologiczne, może odegrać kluczową rolę w postawieniu diagnozy i leczeniu pacjenta lub też pomóc patologowi w określeniu przyczyny zgonu. Wiedza na temat przemian ksenobiotyku po jego przyjęciu, metabolizmu, dystrybucji w tkankach, czasu połowicznego rozpadu czy biologicznych markerów narażenia, odgrywa ważną rolę w wyborze najbardziej odpowiedniego materiału do analizy i wyborze najlepszej i najbardziej specyficznej metody analitycznej. Wszystkie aspekty związane z oceną narażenia na niskie poziomy substancji chemicznych lub toksyn, obejmujące certyfikację laboratorium, pobieranie próbek i obchodzenie się z nimi, ocenę środków toksycznych, podejścia analityczne i metody analityczne, zostały szeroko omówione w innej pracy Williamsa i Negrusza [43].

## 2.4. Stabilność substancji psychoaktywnych

Stabilność substancji psychoaktywnych w próbkach biologicznych jest szczególnie ważna w toksykologii sądowej i powinna być zawsze brana pod uwagę, gdy próbki są pobierane dla celów sądowych. Dugan i in. [4] w swojej pracy omówili stabilność metabolitu tetrahydrocannabinolu (THC-COOH), amfetaminy, metamfetaminy, morfiny, kodeiny, kokainy, benzoilekgoniny i fenicyclidyny (PCP) w 236 próbkach moczu zamrożonych przez okres 12 miesięcy. W tych warunkach wszystkie wymienione substancje były stabilne, z wyjątkiem kokainy (zmiana stężenia o 37%). W innych badaniach z zamrożonymi próbkami moczu obserwowano znaczący spadek stężenia THC-COOH (25%) i benzoilekgoniny (19%) [39]. W próbkach moczu przechowywanych w temperaturze pokojowej THC-COOH rozpadał się znacznie szybciej niż w przypadku, gdy próbki były przechowywane w lodówce [8]. W innych badaniach próbki krwi trzymane w lodówce i w temperaturze pokojowej były analizowane pod kątem zawartości THC-COOH, kokainy i benzoilekgoniny. Stwierdzono, że poziomy kokainy we krwi nie są stałe, szczególnie w temperaturze pokojowej [22].

## 3. Badanie materiału sekcyjnego

### 3.1. Uwagi wstępne

Badania materiału sekcyjnego do celów sądowych są wykonywane w przypadku podejrzenia o przedawkowanie zarówno narkotyków, jak i leków oraz w razie samobójstwa lub zabójstwa poprzez zatrucie różnymi substancjami toksycznymi, między innymi cyjankiem, strychniną, arsenem, ciężkimi metalami jak tal, lotnymi substancjami jak tlenek węgla, czy też poprzez spożycie ze skutkiem śmiertelnym środków owadobójczych, rozpuszczalników przemysłowych i produktów ropopochodnych. Analiza przesiewowa w kierunku obecności substancji psychoaktywnych jest zwykle przeprowadzana przy wszystkich podejrzanych lub wątpliwych przypadkach zgonu. Osoba wykonująca sekcję zwłok jest prawnie zobowiązana, by wypowiedziała się o przyczynie i rodzaju zgonu. Toksykolog sądowi udzielają w tym zakresie pomocy poprzez przeprowadzanie testów na obecność alkoholu i (lub) innych substancji psychoaktywnych oraz interpretując, w jakim zakresie mogły się one przyczynić do zgonu. Od dawna jest wiadome, że obniżenie sprawności spowodowane użyciem alkoholu jest główną przyczyną wypadków drogowych ze skutkiem śmiertelnym. Dla przykładu, alkohol był główną przyczyną ponad 23% wszystkich wypadków drogowych i ponad 34% wypadków drogowych ze skutkiem śmiertelnym, które miały miejsce w Stanach Zjednoczonych

w 1999 roku [42]. Ponad 27% osób uczestniczących w wypadkach drogowych ze skutkiem śmiertelnym miało poziom alkoholu we krwi wyższy niż 0,1% (1‰). W ostatnich badaniach wykazano, że alkohol i (lub) inne substancje psychoaktywne były przyczyną 52% wypadków drogowych ze skutkiem śmiertelnym z udziałem pojazdów mechanicznych w stanie Waszyngton [21]. Problem ten nie dotyczy tylko samochodów i ciężarówek – w okresie pięciu lat w Kanadzie prawie 73% osób śmiertelnie rannych w 31 wypadkach skuterów śnieżnych znajdowało się w rozumieniu przepisów prawnych w stanie nietrzeźwości [44].

Poziom alkoholu i (lub) innych substancji psychoaktywnych w przypadkach zgonów mogą być głównym czynnikiem w ustalaniu przyczyny i winy uczestników, zarówno w karnych, jak i cywilnych postępowaniach sądowych.

Zasadniczo czułość analityczna nie jest tak istotna jak inne czynniki, ponieważ w przypadku badania materiału sekcyjnego często stwierdzane są wysokie stężenia alkoholu, leków, narkotyków czy innych substancji chemicznych. Z drugiej strony, czas, jaki upłynął od przyjęcia do pobrania próbki, jest ważnym, chociaż często nieznanym biegłemu czynnikiem, ponieważ jest on wyznacznikiem stabilności leku, rozmiaru rozkładu materiału biologicznego (i dlatego również dostępności próbek materiału biologicznego do pobrania podczas sekcji zwłok) oraz zakresu redystrybucji leku. W konsekwencji, stężenia leku w próbkach materiału sekcyjnego są zależne zarówno od rodzaju badanego materiału, jak i czasu. W nietypowym przypadku opóźnionego otrzymania szczątków ludzkich do badań, gdy celem badań jest określenie stężenia etanolu (na przykład pilot samolotu, który rozbił się w niedostępnym terenie), musi być brana pod uwagę możliwość pośmiertnego tworzenia etanolu poprzez fermentację [1].

### 3.2. Redystrybucja

Pośmiertne stężenie substancji psychoaktywnych może nie odzwierciedlać ich stężenia w chwili zgonu z powodu zjawiska redystrybucji. Pośmiertna redystrybucja substancji psychoaktywnych powoduje duże różnice w ich stężeniach w próbkach krwi pobranych z różnych miejsc ciała. Głównym postulowanym mechanizmem wyjaśniającym to zjawisko jest bierna dyfuzja substancji w kierunku zmniejszającego się gradientu stężenia [31]. Dodatkowo do powstania tego zjawiska mogą również przyczyniać się takie procesy, jak pośmiertny wpływ krwi z powodu grawitacji, powstanie *rigor mortis* (zesztywnienia pośmiertnego), zmiany gnilne oraz zmiany kwasowo-zasadowe w organizmie po zgonie.

Układ trawienny (żołądkowo-jelitowy) zawierający niewchłonięte substancje psychoaktywne oraz tkanki zawierające ich duże ilości, szczególnie wątroba i płuca,

tworzą zbiorniki, z których mogą być one uwalniane po zgonie [31, 35]. Zmiany w integralności tkanek z powodu śmierci komórek oraz procesów gnilnych ułatwiają uwalnianie substancji psychoaktywnych z narządów mięsnych. Dodatkowo duża powierzchnia i bogate unaczynienie płuc mogą przyczynić się do szybkiego uwalniania substancji psychoaktywnych z tego organu. Największe zmiany stężenia występują w krążeniu centralnym. Substancje psychoaktywne mogą zostać zateżone w krwi pobranej z serca, aorty i naczyń płucnych, szczególnie cienkościennych naczyń włosowatych, ze względu na uwalnianie substancji psychoaktywnych z płuc, podczas gdy substancje te są wchłaniane wraz z płynem żołądkowym do wątroby i żyły głównej [16, 35].

Substancje psychoaktywne o słabo zasadowym odchylnie charakteryzujące się dużą objętością dystrybucji ( $V_d > 3$  l/kg). Prawdopodobnie gromadzą się one w jednej lub wielu tkankach i w konsekwencji wykazują największy zakres pośmiertnej redystrybucji do tkanek (tabela II) [9]. Kwasowe i obojętne substancje psychoaktywne o małej objętości dystrybucji ( $V_d < 2$  l/kg) mają niewielką zdolność do pośmiertnej redystrybucji do tkanek, chociaż zmiany w równowadze płynowej ustroju i zmniejszenie pH wpływają na dystrybucję do otaczających tkanek, powodując zmiany stężeń w tkance [10, 34, 38].

### 3.3. Stabilność leku

Mimo że redystrybucja substancji psychoaktywnych jest powszechnym zjawiskiem we wczesnej fazie pośmiertnej, wykazano, że po około 24 godzinach stężenia leków takich, jak flunitrazepam i tranilcypramina w tkankach, spadały i nie zostały one wykryte [34, 38]. To zjawisko przypisano bakteryjnemu rozkładowi substancji psychoaktywnych, który występuje, gdy dominujące są procesy rozkładowe i gnilne.

### 3.4. Pobieranie materiału do badań

Mimo że redystrybucja substancji psychoaktywnych może powodować znaczny pośmiertny wzrost ich stężenia w krwi układu centralnego, zmiany w krwi układu obwodowego są mniej gwałtowne i w konsekwencji krew obwodowa (z żyły udowej) jest najczęściej brana pod uwagę, gdy badanie ma na celu bardziej dokładne określenie stężenia substancji psychoaktywnej w chwili zgonu [9]. W jednym z badań ustalono jednak, że mediana (zakres) stosunku stężeń pośmiertnych do stężeń w chwili zgonu w osoczu dla różnych trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych wynosiła 3,3 (1,1–6,0) [45]. Z tego względu jest oczywiste, że interpretacja znaczenia każdego pośmiertnego stężenia substancji psychoaktywnych we krwi do celów medyczo-sądowych musi być bardzo ostrożna.

Protokół sekcji zwłok w celu dostarczenia dowodu na przedawkowania leku wymaga zwykle pobrania i analizy pewnej liczby próbek biologicznych, w tym krwi obwodowej i krwi z serca oraz próbek tkanek, w tym z wątroby i płuc. Pobrane może zostać również inny materiał. U ofiar odurzania się chemikaliami może być analizowana zawartość gazu w tkance płuc w połączeniu z analizą samej tkanki. W przypadku podejrzenia zatrucia ciężkimi metalami, do analizy pod kątem stwierdzenia obecności antymonu, arsenu albo talu, mogą zostać pobrane tkanki zrogowaciałe.

#### 4. Wnioski

Znajomość procesów farmakokinetycznych absorpcji, rozmieszczenia i eliminacji jest jednakowo przydatna do opisu substancji potencjalnie toksycznych, jak i substancji terapeutycznych. Jednak badanie ich przemian biologicznych w toksykologii sądowej różni się od badań stosowanych w celach klinicznych, zarówno ze względu na wewnętrzne, jak i zewnętrzne czynniki. Na przykład na pobieranie próbek materiału biologicznego do analizy na obecność substancji chemicznej – oprócz czynników etycznych i praktycznych – wpływają także uwarunkowania prawne. Ważnym wkładem toksykologii sądowej do farmakokinetyki było opracowanie technik do dokładnego, specyficznego i odtwarzalnego wykrywania śladowych stężeń substancji chemicznych w próbkach biologicznych.