

Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Virchow Klinikum
Institut für Rechtsmedizin
Abteilung Forensische Toxikologie

**Nachweis von psychoaktiven Wirkstoffen (Alkohol,
Betäubungsmittel, Neue psychoaktive Substanzen) in Haaren
mittels Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie-
Kopplung (LC-MS/MS)**

Publikationsbasierte Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

André Niebel
geboren in Berlin

Dezember 2021

Die praktischen Arbeiten zur Erstellung der vorliegenden kumulativen Dissertation wurden in dem Zeitraum von 2016 bis 2021 am Institut für Rechtsmedizin der Charité unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Michael Tsokos angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Michael Tsokos
2. Gutachterin: Prof. Dr. rer. nat. Maria Kristina Parr

Datum der Disputation: 15.03.2022

Danksagung

Während der Promotionszeit erhielt ich von vielen Menschen Unterstützung und Ermutigung, bei denen ich mich recht herzlich bedanken möchte.

Ich danke meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. Michael Tsokos für die Bereitstellung dieses interessanten und aktuellen Themas, den großzügigen Freiraum in der Gestaltung dieser Arbeit sowie für die finanzielle Unterstützung bei Fortbildungen. Seitens der Freien Universität Berlin danke ich Frau Prof. Dr. Maria Kristina Parr für die freundliche Aufnahme in ihren Arbeitskreis und das Interesse an meiner Arbeit. Ihre fachliche Unterstützung sowie die konstruktiven Ratschläge habe ich immer sehr geschätzt.

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Rechtsmedizin. Ein großer Dank geht dabei an meine jetzigen und auch ehemaligen Kolleginnen und Kollegen aus der Abteilung Forensische Toxikologie: Prof. Dr. Fritz Pragst, PD Dr. Sven Hartwig, Lena Westendorf, Dr. Franziska Krumbiegel, Denise Thurmann, Monique Dullin, Susann Eichberg, Dr. Florian Meyer, Dr. Maximilian Methling, Frederike Mörlein, Carmen Hoffmann, Isabell Mroske, Sibylle Menzel, Dagmar Simmert, Denise Sonntag, Aurica Weiß, Andrea Handt, Sabine Borzekowski und Sarah-Jane Aydin-Scharff. Den Praktikantinnen und Praktikanten Elisabeth Wolff, Annika Bartosch, Charlott Gustloff und Valentin Wegmann sei ebenfalls für ihren Einsatz bei Teilprojekten dieser Arbeit gedankt.

Vor allem möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Fritz Pragst für sein Engagement und seine fachliche Unterstützung besonders bei der letzten Studie bedanken. Weiterhin danke ich PD Dr. Sven Hartwig, Dr. Franziska Krumbiegel und Dr. Maximilian Methling, dass sie mir bei den wissenschaftlichen Studien und Präsentationen stets mit Rat zur Seite standen. Zudem bin ich Herrn PD Dr. Sven Hartwig für die zeitlichen Freiräume sehr dankbar, die er mir für die Fertigstellung dieser Arbeit verschaffte.

Meinen Büromitbewohnerinnen Carmen und Lena danke ich besonders für die vielen schönen Momente, die ich mit ihnen erleben durfte. All die Arbeit, die nun hinter mir liegt, wäre ohne eure tatkräftige Unterstützung nur halb so schnell und gut machbar gewesen.

Ganz herzlich möchte ich mich vor allem bei Michi, meiner Familie und meinen Freunden bedanken. Danke für die Ablenkungen und Aufmunterungen, eurer Verständnis sowie eure immerwährende Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	I
Inhaltsverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Konsum von legalen und illegalen Rauschmitteln in Deutschland	1
1.1.1 Neue psychoaktive Substanzen (NPS)	2
1.1.2 Rechtsgrundlagen in Deutschland	5
1.2 Bedeutung und Anwendung der Haaranalytik	6
1.3 Zielstellung der Arbeit	8
2 Theoretische Hintergründe	10
2.1 Haare als retrospektive Konsummarker	10
2.1.1 Struktureller Aufbau der Haarmatrix.....	10
2.1.2 Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit	11
2.1.3 Substanzeinlagerung ins Haar und Kontamination.....	13
2.1.4 Einfluss von Haarkosmetik.....	14
2.2 Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS)	15
2.3 Methodvalidierung nach den Richtlinien der GTFCh	16
3 Ergebnisse	19
3.1 Manuskript I	19
3.1.1 Zusammenfassung	19
3.1.2 Publikation	21
3.2 Manuskript II	33
3.2.1 Zusammenfassung	33
3.2.2 Publikation	35
3.3 Manuskript III	51
3.3.1 Zusammenfassung	51
3.3.2 Publikation	53
3.4 Manuskript IV	64
3.4.1 Zusammenfassung	64
3.4.2 Publikation	66
3.5 Manuskript V	77
3.5.1 Zusammenfassung	77
3.5.2 Publikation	79
4 Abgrenzung der Eigenleistung	94
5 Diskussion	95
5.1 Bedeutung der Ergebnisse und Einschränkungen	95
5.2 Ausblick und zukünftige Fragestellungen	106

6	Zusammenfassung	108
7	Summary	112
8	Literaturverzeichnis	115
9	Publikationsverzeichnis	121
9.1	Publikationen in internationalen Fachzeitschriften mit Peer-Review-Verfahren	121
9.2	Vorträge und Poster.....	122
10	Selbstständigkeitserklärung	125
11	Anhang	126
11.1	Abbildungsverzeichnis	126
11.2	Tabellenverzeichnis	126

Abkürzungsverzeichnis

AMG	Arzneimittelgesetz
BtM	Betäubungsmittel
BtMG	Betäubungsmittelgesetz
BZgA	Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung
2C-C	2,5-Dimethoxy-4-chlorphenethylamin
DIN	Deutsches Institut für Normung
3,4-DMMC	3,4-Dimethylmethcathinon
EBDD	Europäische Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht
ESI	Elektrospray Ionisation
EtG	Ethylglucuronid
EtPa	Ethylpalmitat
4-FMC	4-Fluormethcathinon (Flephedron)
GTFCh	Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie
LC	liquid chromatography (Flüssigchromatographie)
LC-MS/MS	Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie
LOD	limit of detection (Nachweisgrenze)
LLOQ	lower limit of quantification (Bestimmungsgrenze)
2-MAPB	2-(2-Methylaminopropyl)benzofuran
MDMA	3,4-Methylendioxy-N-methylamphetamin
MDPV	Methylendioxypropylvaleron
mg	Milligramm
mL	Milliliter
mm	Millimeter
3-MMC / 4-MMC	3-Methylmethcathinon / 4-Methylmethcathinon (Mephedron)
MOPPP	4'-Methoxy- α -pyrrolidinopropiophenon
MPU	Medizinisch-Psychologische Untersuchung
(d)MRM	(dynamic) multiple reaction monitoring
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
n	Stichprobengröße
ng/mg	Nanogramm pro Milligramm
NPS	Neue psychoaktive Substanzen
NpSG	Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetz
2-Oxo-PCE	N-Ethyl-deschloro- α -methylamphetamin
pg/mg	Pikogramm pro Milligramm

α -PVP	α -Pyrrolidinovalerophenon
Q1/2/3	Quadrupol 1/2/3
QC	Qualitätskontrollprobe
RSD	relative standard deviation (relative Standardabweichung)
SoHT	Society of Hair Testing
THC	Δ^9 -trans-Tetrahydrocannabinol
UN	United Nations (Vereinte Nationen)

1 Einleitung

1.1 Konsum von legalen und illegalen Rauschmitteln in Deutschland

Der Konsum von Rauschmitteln umfasst in Deutschland eine Vielzahl an unterschiedlichen Substanzen. Alkohol, als legales und gesellschaftlich akzeptiertes Rauschmittel, ist hierbei das häufigste konsumierte Suchtmittel in Deutschland [1]. Im internationalen Vergleich ist Deutschland mit einer durchschnittlichen jährlichen Konsummenge von 10,9 L reinem Ethanol pro Kopf eines der Länder, welches einen sehr hohen Alkoholkonsum aufweist [2]. Dieser Trend spiegelt sich auch in der jüngsten Drogenaffinitätsstudie der Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung (BZgA) von 2019 wider. Laut dieser repräsentativen Querschnittsbefragung haben 94,9 % der jungen Erwachsenen im Alter von 18 bis 25 Jahren mindestens einmal in ihrem Leben Alkohol konsumiert. Davon trinkt in Deutschland ungefähr ein Drittel (32,3 %) regelmäßig Alkohol. Auch unter den 12- bis 17-jährigen Jugendlichen gab die Mehrheit (63,4 %) an, bereits schon einmal Alkohol getrunken zu haben [3].

Betrachtet man die illegalen Rauschmittel, ist Cannabis (psychoaktiver Wirkstoff: Δ^9 -trans-Tetrahydrocannabinol; THC) das europaweit am häufigsten missbrauchte Betäubungsmittel [4]. Der Konsum von illegalen Cannabisprodukten ist ebenfalls in Deutschland sowohl unter Jugendlichen als auch Erwachsenen am weitesten verbreitet [5]. Andere Betäubungsmittel besitzen eine geringere Konsumprävalenz, wobei Kokain und Amphetamin besonders unter den illegalen Stimulanzien dominieren [6]. Schätzungen zufolge haben im Jahr 2018 ungefähr 15,2 Millionen deutsche Erwachsene (29,5 %) im Alter von 18-64 Jahren mindestens einmal im Leben ein illegales Betäubungsmittel konsumiert [6]. Die Lebenszeitprävalenz unter jungen Menschen unterscheidet sich dagegen stark zwischen etwa jedem zehnten 12- bis 17-jährigen Jugendlichen (10,6 %) und fast jedem zweiten jungen Erwachsenen im Alter von 18 bis 25 Jahren (47,2 %) [3]. Sowohl in Bezug auf den Alkohol als auch bei Betäubungsmitteln zeigt sich in mehreren Studien bei Männern nicht nur ein weiter verbreiteter, sondern auch ein höherer Konsum im Vergleich zu Frauen [3, 4, 7].

Seit einigen Jahren wird neben den „klassischen“ Betäubungsmitteln vor allem ein Anstieg in der Verfügbarkeit von sogenannten Neuen psychoaktiven Substanzen (NPS) auf unterschiedlichen Märkten beobachtet. Generell werden als NPS synthetisch hergestellte Wirkstoffe zusammengefasst, die in der Struktur und/oder in ihrer Wirkung bekannten Betäubungsmitteln (z.B. Cannabis, Kokain, Amphetaminen/Ecstasy) ähneln [8]. Der veraltete und meist als Synonym verwendete Begriff „legal highs“ soll dabei eine vermeintliche Legalität solcher Substanzen suggerieren. Laut dem Epidemiologischen Suchtsurvey von 2019 haben

2,6 % der Erwachsenen in Deutschland schon einmal NPS konsumiert [6]. Da die Analytik von NPS einen Hauptbestandteil dieser Dissertation darstellt, erfolgt eine detailliertere Begriffsdefinition im folgenden Kapitel (1.1.1).

Die zuvor genannten epidemiologischen Daten basieren meist nur auf der Grundlage wiederholter nationaler Befragungen von ausgewählten Bevölkerungsgruppen oder Prävalenzabschätzungen anhand von sichergestellten Substanzen, jedoch nur sehr selten auf der Untersuchung von biologischen Proben möglicher Konsumenten. Die Gefahr der Unterschätzung eines vorhandenen Rauschmittelkonsums, insbesondere von oft unbewusst konsumierten neuen psychoaktiven Substanzen, ist somit stets gegeben und stellt ein großes Problem dar. Die Untersuchung von biologischen Matrices (z.B. Blut, Urin oder Haare) ist daher von besonderem forensischen Interesse, da dadurch objektivere Abschätzungen zu einer Konsumhäufigkeit möglich sind.

1.1.1 Neue psychoaktive Substanzen (NPS)

Neue psychoaktive Substanzen spielen seit etwas mehr als 15 Jahren eine immer größere Rolle in der forensischen Toxikologie. Das Wort „neu“ muss allerdings nicht bedeuten, dass diese Substanzen neu entdeckt wurden, sondern kann auch auf ihre erst kürzlich bzw. erneute Verfügbarkeit hindeuten [9]. NPS werden laut den Vereinten Nationen (UN) allgemein als Substanzen definiert, die, in Zubereitung oder als Reinform, weder dem UN-Einheitsabkommen über Betäubungsmittel von 1961 noch der Konvention über psychotrope Substanzen von 1971 unterstehen, aber dennoch eine Gefahr für die Gesundheit der Konsumenten darstellen können [10]. NPS werden besonders im Internet als „legale“ Alternativen („legal highs“) zu herkömmlichen Betäubungsmitteln beworben [9]. Corazza et al. stellen jedoch klar, dass der Begriff „legal high“ rechtlich missverständlich und irreführend ist, da die legale Einstufung nur ein zeitlich und regional variierendes Merkmal ist. Weiterhin kann die „legale“ Verfügbarkeit mit einer Harmlosigkeit solcher Substanzen verwechselt werden [11].

In den vergangenen Jahren ist eine ständig zunehmende Anzahl derartiger Substanzen verzeichnet worden. Die Europäische Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht (EBDD) hat im Rahmen des europäischen Frühwarnsystems bis zum Jahresende 2020 über 830 neue psychoaktive Substanzen ermittelt. Allein im Jahr 2020 wurden 46 neue Substanzen erstmalig in Europa gemeldet. Im Vergleich zu den Jahren 2014 und 2015 mit jeweils 101 und 98 neu erschienenen Substanzen [12, 13], zeigt sich seit 2016 ein abnehmender Trend (siehe Abbildung 1). Dennoch stellt auch die aktuelle Anzahl an neuen Substanzen forensische

Laboratorien vor große analytische Herausforderungen. Seit 2015 werden jedes Jahr ungefähr 400 der bereits bekannten NPS im Rahmen von Sicherstellungen nachgewiesen [4], was als Hinweis für die hohe Nachfrage gewertet werden kann.

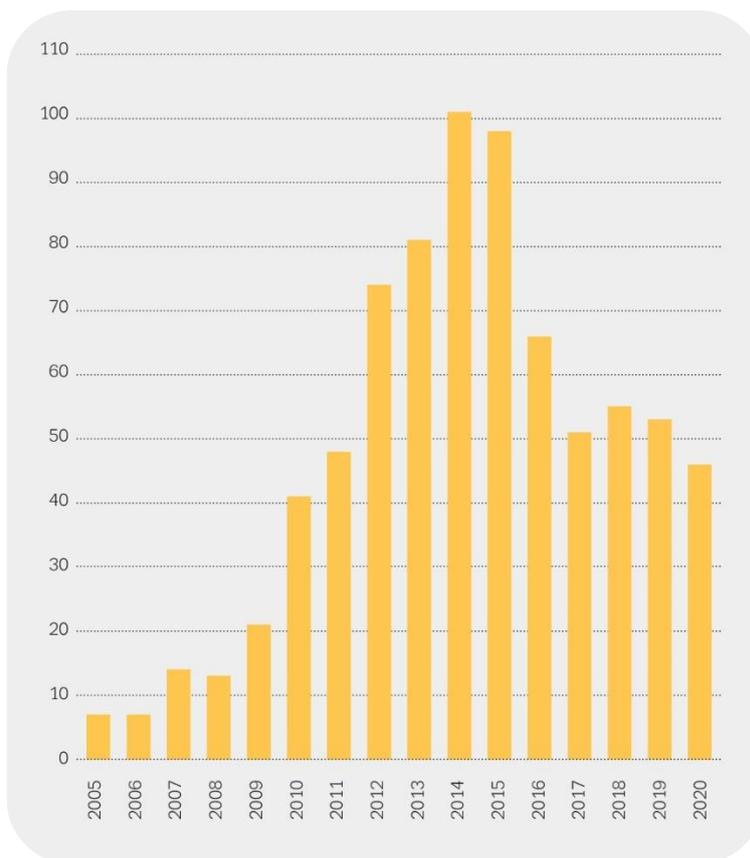


Abbildung 1: Anzahl an erstmals gemeldeten NPS im Zeitraum 2008-2020 [4]

Neue psychoaktive Substanzen können nach ihrer chemischen Struktur in verschiedene Substanzklassen unterteilt werden (z.B. synthetische Cannabinoid-Rezeptoragonisten, synthetische Cathinone, Phenethylamine, Opioide, Tryptamine, Arylalkylamine, Benzodiazepine, Arylcyclohexylamine, Piperazine, Piperidine, Pyrrolidine und Aminoindane) [4]. Die in dieser Arbeit hauptsächlich untersuchten synthetischen Cathinone stellen, nach den synthetischen Cannabinoiden, die zweitgrößte Substanzgruppe von NPS dar [4]. Zudem wurden in den folgenden Studien (siehe Kapitel 3.2 und 3.5) weitere Vertreter der Designerstimulanzien (u.a. Phenethylamine und Piperazine) untersucht. Aufgrund der besonders in den letzten Jahren zunehmenden Vielfalt an neuen Opioiden, Benzodiazepinen und Halluzinogenen wurden diese Stoffgruppen im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls analysiert.

Die meist synthetisch hergestellten NPS ähneln entweder strukturell bekannten Betäubungsmitteln oder enthalten neuartige Strukturen. Folglich besitzen sie auch ein ähnliches Wirkungsspektrum wie zum Beispiel Kokain, Amphetamin oder 3,4-Methylenedioxy-

N-methylamphetamin (MDMA). Synthetische Cathinone sind beispielsweise Derivate von Cathinon, einer in der Khat-Pflanze (*Catha edulis*) vorkommenden psychoaktiven Verbindung [14]. Aus struktureller Sicht sind Cathinonderivate das β -Keto-Analogon eines entsprechenden Phenethylamins [15]. Diese Wirkstoffe erzeugen stimulierende Effekte, indem sie die Wiederaufnahme von Katecholaminen (z.B. Dopamin, Serotonin und Noradrenalin) in die Nervenzellen blockieren [16] oder deren Konzentrationen im synaptischen Spalt erhöhen [17, 18]. Zu den von den Konsumenten gewünschten stimulierenden Effekten zählen u.a. Euphorie, Redseligkeit, Stimmungsaufhellung, Aufmerksamkeitssteigerung sowie gesteigerte Energie und Libido [19-21]. Unerwünschte Wirkungen äußern sich in kardiovaskulären (z.B. Hypertonie, Herzrhythmusstörungen) vegetativen (Hyperthermie) oder psychischen bzw. neurologischen Symptomen (z.B. starke Unruhe, Aggressivität, Depressionen, Wahnvorstellungen, Krämpfe) [19, 22-24].



Abbildung 2: Verpackungen von „Badesalzen“ (links) und „Forschungschemikalien“ (rechts) [25]

Vor allem Online-Shops und das „Darknet“ bieten eine anonyme Plattform für den Verkauf und Erwerb von neuen psychoaktiven Substanzen. Zudem ermöglichen soziale Medien und Internetforen den Erfahrungsaustausch zwischen den Konsumenten [13, 26]. Neben dem Internet werden die meist bunt verpackten NPS auch in sogenannten „Head Shops“ in Form von „Kräutermischungen“, „Badesalzen“, „Pflanzendüngern“ oder „Forschungschemikalien“ vertrieben (siehe Abbildung 2). Die verschiedenen Synonyme beziehen sich auf bestimmte Stoffgruppen von NPS. Mit „Badesalzen“ sind beispielsweise hauptsächlich pulverförmige kristalline Substanzen (meist Cathinone) gemeint, welche unter verschiedenen Handelsnamen (u.a. „Charge+“, „Angel Dust“, „Meow“, „Molly“, „Ivory Wave“) bekannt sind und neben einem einzigen Wirkstoff auch oftmals ein Wirkstoffgemisch enthalten [27, 28]. Im Gegensatz dazu liegen „Forschungschemikalien“ in hoher Reinheit vor und sind in der Regel mit der Strukturformel sowie dem systematisch chemischen Stoffnamen gekennzeichnet [25]. NPS kommen in unterschiedlichen Darreichungsformen (u.a. Pulver, Kapseln, Tabletten) auf den

Markt und werden oral, nasal, inhalativ oder intravenös appliziert. Zur Tarnung und Vermeidung von behördlichen Kontrollen werden diese Produkte oftmals als „nicht für den menschlichen Verzehr geeignet“ deklariert [9, 29].

Neben den teilweise unbekanntem Inhaltsstoffen und Inhomogenitäten der Wirkstoffgehalte, kann sich auch die Wirkpotenz zwischen den verschiedenen NPS stark unterscheiden. Aufgrund von fehlenden pharmakologischen Daten gerät die Wahl der geeigneten Dosierung zur gefährlichen Spekulation [27]. Konsumenten von NPS setzen sich unkalkulierbaren Risiken aus, welche mit gravierenden gesundheitlichen Folgeschäden verbunden sein können [8, 27]. Dieses Gesundheitsrisiko wird auch durch die hohe Anzahl an NPS-assoziierten Todesfällen deutlich. So waren NPS in den Jahren 2016 und 2017 europaweit in 2307 drogenbedingten Todesfällen (14,0 %) involviert [30].

Trotz des hohen Gefährdungspotenzials scheinen die einfache und diskrete Beschaffung sowie der zeitlich begrenzte legale Status einen Konsum von NPS besonders interessant zu machen. Der geringe Preis, die Neugier nach neuen Erfahrungen, die schwierige analytische Nachweisbarkeit und der Glaube an ihre vermeintliche Harmlosigkeit zählen ebenfalls zu den Konsummotiven [31-33]. Darüber hinaus haben NPS in einer Zeit an Bedeutung gewonnen, in der die Reinheit und Verfügbarkeit klassischer Betäubungsmittel (z.B. Kokain oder Heroin) abnahm [12, 32].

1.1.2 Rechtsgrundlagen in Deutschland

Lange Zeit gab es keine eigenständige Gesetzesgrundlage für den Umgang mit NPS. Um trotzdem gegen entsprechende Händler und Hersteller solcher Produkte strafrechtlich vorgehen zu können, wurden vereinzelte NPS in die Anlagen I-III des Betäubungsmittelgesetzes (BtMG) aufgenommen. Damit dies erfolgen konnte, mussten die neuen Substanzen zuerst analysiert, dann entsprechend gemeldet und schließlich vom Gesetzgeber verboten werden. Zwischenzeitlich erschienen jedoch bereits wieder neue, strukturell leicht modifizierte Substanzen, welche dem BtMG noch nicht unterstellt waren. Ein weiterer Versuch, NPS dem Arzneimittelgesetz (AMG) zu unterstellen, scheiterte im Jahr 2014 [34].

Um dieser Schnelligkeit des NPS-Marktes besser entgegenzuwirken, trat in Deutschland am 26. November 2016 das Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetz (NpSG) in Kraft. Das NpSG verbietet das Handeltreiben, das Inverkehrbringen, die Herstellung, die Ein-, Aus- und Durchfuhr, den Erwerb, den Besitz und das Verabreichen von neuen psychoaktiven Substanzen [35]. Im Gegensatz zum einzelstofflichen Ansatz des BtMGs werden im NpSG alle

Substanzen mit einem bestimmten Strukturmerkmal verboten (z.B. synthetische Cannabimimetika und von 2-Phenethylamin abgeleitete Verbindungen) [35]. Mit dieser neuartigen Stoffgruppenregelung konnte eine Vielzahl der bis dahin bekannten NPS inklusive deren Isomeren und strukturell ähnlichen Verbindungen erfasst werden.

Dennoch gelang es Herstellern und Händlern, die verschärfte Gesetzeslage zu umgehen. So wurden die Substanzen oftmals direkt an der Grundstruktur modifiziert bzw. traten immer mehr neue Substanzgruppen (Benzodiazepine, Opioide und Tryptamine) in Erscheinung. Eine entsprechende Gesetzesanpassung erfolgte im Juli 2019 [36]. Die fortgesetzte Überprüfung des NPS-Marktes machte allerdings kurze Zeit später eine weitere Aufnahme von Arylcyclohexylamin und Benzimidazol abgeleiteten Verbindungen in die Anlage des NpSG erforderlich [37].

1.2 Bedeutung und Anwendung der Haaranalytik

Zur Ermittlung der Todesursache und/oder Todesumstände werden für systematische-toxikologische Analysen die bei der Obduktion asservierten biologischen Probenmatrices, wie Körperflüssigkeiten (z.B. Blut, Urin, Mageninhalt), Gewebeproben (z.B. von Leber und Muskel) und Haare, herangezogen und unter anderem auf missbräuchlich konsumierte Betäubungsmittel, Medikamentenwirkstoffe und Alkoholmarker untersucht [38]. Die verschiedenen Asservate liefern dabei unterschiedliche Informationen über das Zeitfenster einer Substanzaufnahme. Die Nachweiszeiten in den unterschiedlichen Matrices werden dabei stark von der Konzentration des Analyten, der Dauer der Einnahme (einmalig oder wiederholt), der Applikationsart, dem Analyten selbst und dessen Metabolismus, sowie der Messempfindlichkeit der verwendeten Analysenmethode beeinflusst [39].

Die Untersuchung von Blutproben ermöglicht eine Einschätzung zur akuten Beeinflussung einer Person durch Substanzen zum Zeitpunkt des Todeseintritts, da Wirkstoffe im Blut nur wenige Stunden nach einer Aufnahme detektiert werden können. Die Matrix Urin besitzt ein etwas längeres Nachweisfenster von Stunden bis zu einigen Tagen, wodurch Aussagen zur subakuten Substanzaufnahme abgeleitet werden können [38]. Anhand der im Blut gemessenen Substanzkonzentrationen kann nach Vergleich mit Literaturdaten eine todesursächliche Vergiftung bestätigt oder ausgeschlossen werden. Dabei sollte eine mögliche Toleranzentwicklung der betreffenden Person (z.B. für Alkohol oder Opiate/Opioide) stets berücksichtigt werden. Bei an eine Substanz gewöhnten Personen können höhere Blutkonzentrationen ermittelt und überlebt werden, welche bei nicht-gewöhnten Personen

bereits todesursächlich sein können. Die Beurteilung einer Toleranzentwicklung erfolgt in der Postmortem-Toxikologie überwiegend durch die Analyse von Haaren.

Generell gelten Haare in der forensischen Toxikologie als das bevorzugte Asservat, wenn ein länger zurückliegender oder chronischer Konsum von Substanzen über Monate bis Jahre hinweg untersucht werden soll. Unter gewissen Einschränkungen kann sogar mittels einer segmentweisen Haaranalyse der zeitliche Verlauf eines Konsums und der ungefähre Zeitpunkt einer Exposition nachvollzogen werden [40]. Das große Nachweiszeitfenster der Haare kann damit erklärt werden, dass aufgenommene Substanzen in die Haarmatrix eingelagert, dort gespeichert und nicht weiter metabolisiert werden. Im Vergleich zu den Matrices Blut und Urin kann mittels der Haaranalyse zwar keine Aussage zu einer zum Todeseintritt zeitnahen Aufnahme getroffen werden, jedoch ist, je nach untersuchter Haarlänge, anhand der ermittelten Substanzkonzentration im Haar eine retrospektive Einschätzung der Konsumhäufigkeit (selten, gelegentlich oder regelmäßig) über Monate bis zu Jahren möglich [40]. Die Haarkonzentration korreliert damit also nicht direkt mit der aufgenommenen Dosis, sondern spiegelt aufgrund der individuellen Variation der Haarinkorporation vielmehr die Größenordnung des vorangegangenen Konsums wider [40].

Die Haaranalyse dient allerdings nicht nur der retrospektiven Einschätzung einer länger zurückliegenden Substanzaufnahme, Gewöhnung oder Konsum- bzw. Umgangshäufigkeit. Aufgrund der einfachen und nicht invasiven Art der Probenahme wird die Haaranalyse besonders auch bei lebenden Personen zur Überprüfung von Abstinenzbehauptungen eingesetzt. Solche Abstinenznachweise sind beispielsweise im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik zur Führerscheinerlangung nötig [41, 42] oder dienen der Arbeitsplatzüberwachung [43]. Sie können ebenfalls für strafrechtliche oder familienrechtliche Sachverhalte von großer Bedeutung sein [44]. Besonders hilfreich hat sich die Haaranalyse zur Einschätzung einer etwaigen Kindeswohlgefährdung erwiesen [45]. Dabei werden meist nicht nur die Haare der Eltern, sondern auch von deren Kindern auf illegale Betäubungsmittel, Medikamentenwirkstoffe oder Alkoholkonsummarker untersucht, um eine mögliche Aufnahme oder einen Umgang mit diesen Substanzen aufzudecken. Klinische Fragestellungen der Haaranalytik fokussieren hingegen eher auf ein retrospektives therapeutisches Drug Monitoring bzw. eine Compliance-Kontrolle [46]. Im Rahmen der Transplantationsmedizin ist eine Betäubungsmittel- und/oder Alkoholabstinenz des Organempfängers relevant, welche neben mehreren Urinkontrollen auch mittels einer Haaranalyse belegt werden kann [47].

1.3 Zielstellung der Arbeit

Als „legaler“ Ersatz oder in Ergänzung zu klassischen Betäubungsmitteln spielen neue psychoaktive Substanzen weltweit eine immer größere Rolle. Besonders die Vielfalt und große Menge an neu auftretenden NPS stellen eine Herausforderung für forensische Laboratorien, Strafverfolgungsbehörden und Gesetzgeber dar. Da die NPS eine deutlich höhere Potenz als die „klassischen“ Rauschmittel aufweisen können, werden für deren Detektion sehr empfindliche Nachweismethoden benötigt. Zur objektiven Ermittlung der Prävalenz und möglicher Trends des NPS-Konsums müssen weiterhin bestenfalls Untersuchungen von biologischen Proben möglicher Konsumenten erfolgen. Aktuelle Prävalenzstudien beruhen größtenteils lediglich auf Befragungen ausgewählter Populationen oder Sicherstellungen entsprechender Substanzen und stehen weltweit nur für wenige Regionen/Länder zur Verfügung.

Für den Nachweis einer zeitlich länger zurückliegenden Substanzaufnahme haben sich Haare in der forensischen Toxikologie bereits für verschiedene Fragestellungen als geeignet erwiesen. Diese sollten somit auch zur Klärung der tatsächlichen Konsumhäufigkeit von NPS im Einzugsgebiet des Instituts für Rechtsmedizin der Charité in Berlin herangezogen werden. Da zu Beginn der Promotion noch keine Nachweismethoden vorhanden waren, bestand ein Ziel der vorliegenden Arbeit darin, zunächst eine Methode zum Nachweis und zur Quantifizierung von neuen Stimulanzien (v.a. synthetische Cathinone und Piperazine) im Haar zu entwickeln und im Institut zu etablieren. Die hochempfindliche Bestimmung von NPS wurde mittels der Flüssigchromatographie in Kopplung mit Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) realisiert. Für den Einsatz dieser Messmethode in der forensisch-toxikologischen Routinearbeit erfolgte weiterhin eine vollständige Methodvalidierung nach den Vorgaben der Gesellschaft für Forensische und Toxikologische Chemie (GTFCh) sowie eine Überprüfung der Anwendbarkeit anhand von einigen forensisch unterschiedlichen Fällen.

Aufgrund von fehlenden Vergleichsdaten ist eine Einschätzung der Expositionshäufigkeit anhand der im Haar ermittelten NPS-Konzentrationen schwierig. Im Rahmen dieser Arbeit stand daher eine umfassende Erweiterung der wissenschaftlichen Datengrundlage im Vordergrund. Die Untersuchung von Haarproben aus kontrollierten Dosis-Studien wäre für diesen Zweck am aussagekräftigsten, allerdings sind solche Studien aus ethischer Sicht schwierig zu begründen. Daher erfolgte dies auf indirektem Wege mit für die Forschung zur Verfügung stehenden postmortalen Haarproben. Ein weiteres Ziel der Arbeit bestand somit darin, eine große Anzahl ($n > 1000$) an postmortalen Haarproben von etwaigen NPS-Konsumenten zu analysieren. Da der Markt für NPS über die Jahre zunehmend komplexer geworden ist, war zwischenzeitlich eine zusätzliche Aktualisierung der verwendeten Multianalytmethode mit weiteren Vertretern aus unterschiedlichen Stoffgruppen (u.a.

Phenethylamine, Benzodiazepine, Opioide) sowie eine erneute Validierung erforderlich. Abgesehen von der Ermittlung der Prävalenz, sollte eine fundierte Interpretation von NPS-Haarkonzentrationen durch die gewonnenen Ergebnisse ermöglicht werden.

Neben der Postmortem-Analytik kann die Haaranalyse als ein wertvolles Instrument zur Abschätzung einer Kindeswohlgefährdung dienen. Seit 2011 werden im Institut für Rechtsmedizin der Charité Berlin in Kooperation mit den Sozialämtern der Hansestadt Bremen und Bremerhaven Haarproben von Familien mit minderjährigen Kindern in regelmäßigen Abständen auf Alkoholkonsummarker, gängige Betäubungsmittel und ausgewählte Medikamentenwirkstoffe untersucht. Die Durchführung, der rechtliche Hintergrund und erste Ergebnisse dieses Projektes wurden bereits publiziert [45, 48]. In diesem Zusammenhang ist auch das Vorkommen neuer psychoaktiver Substanzen für eine realistische Einschätzung der jeweiligen Familiensituation von Bedeutung. Die Erkenntnisse aus der Postmortem-Studie sollten jedoch niemals unkritisch auf neue Fragestellungen übertragen werden. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit lag daher darin, die zuvor entwickelte und validierte Analysenmethode ebenfalls auf Haarprobenextrakte von Eltern und Kindern aus Familien mit einem vermuteten oder bekannten Konsum gängiger Rauschmittel anzuwenden. Ziel der Studie war, die Prävalenz von NPS in dieser speziellen Population zu klären sowie Zusammenhänge zwischen dem Konsum von „klassischen“ Betäubungsmitteln und NPS sowie zwischen den Haarbefunden der Familienmitglieder zu untersuchen. Damit ein Vergleich zwischen dem Konsum von Betäubungsmitteln und NPS erfolgen konnte, wurde zuvor ein Beitrag zu einer realistischen Interpretation der Haarbefunde von Kindern geleistet. Dafür wurden die Haarbefunde für Betäubungsmittel hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen den Eltern und Kindern in Abhängigkeit von der Art des Betäubungsmittels, dem Alter und Geschlecht der Kinder sowie der elterlichen Substanzkonzentration im Haar ausgewertet.

Ferner war es Ziel dieser Arbeit, auch die Alkoholkonsummarkerbefunde von Kindern aus Familien mit Suchtproblemen mit den Haarbefunden der entsprechenden Eltern zu vergleichen. Dabei wurden mögliche Erklärungsansätze für die teilweise sehr hohen Konzentrationen der Alkoholkonsummarker im Kinderhaar diskutiert.

2 Theoretische Hintergründe

2.1 Haare als retrospektive Konsummarker

2.1.1 Struktureller Aufbau der Haarmatrix

Mit nur wenigen Ausnahmen (u.a. Hand- und Fußinnenseiten oder den Lippen) ist der gesamte menschliche Körper behaart. Haare dienen dabei nicht nur zur Temperaturkontrolle, sondern besitzen vor allem auch eine Schutzfunktion [49]. Morphologisch betrachtet besteht das menschliche Haar aus dem aus der Epidermis herausragenden Keratin-haltigen Haarschaft und der ca. 3-4 mm tief in der Lederhaut verankerten Haarwurzel (Haarfollikel) [49]. Der Haarfollikel weitet sich am unteren Ende zum Bulbus, in dem die Haarpapille sitzt. Diese ist von zahlreichen Kapillarblutgefäßen umgeben und somit für die Versorgung des wachsenden Haares mit Stoffwechselprodukten verantwortlich. Die an die Papille angrenzende Basalmembran enthält die Matrixzellen des späteren Haarschaftes. Dieser ist wiederum mit der Cuticula, dem Cortex und der Medulla in drei Schichten untergliedert. Die äußerste Schicht (Cuticula) dient der chemischen und physikalischen Beständigkeit des Haares und besteht aus mehreren Schichten flacher, sich überdeckender schuppenartiger Zellen [40]. Der darunterliegende Haarfaserstamm (Cortex) bildet den Hauptbestandteil des Haarschaftes. Dieser ist aus parallel zur Längsachse der Haarfaser ausgerichteten spindelförmigen keratinisierten Zellen aufgebaut und sorgt für die Elastizität der Haare. Aufgrund des Einschlusses von Melaningranula in dieser Schicht ist der Cortex für die natürliche Haarfarbe verantwortlich. Die innerste Schicht bildet das Mark (Medulla), welches aus unregelmäßig angeordneten Matrixzellen besteht sowie, je nach Durchmesser der Haarfaser, auch vollkommen fehlen kann [50]. Weiterhin ist jedes Haar zusätzlich mit einer Talgdrüse und einem Haarbalgmuskel verbunden. Schweißdrüsen befinden sich in unmittelbarer Nähe zum Haarschaft, haben aber zu diesem im Gegensatz zu den Talgdrüsen keine direkte Verbindung.

Die physiologischen Abläufe während des Haarwachstums sind in Abbildung 3 dargestellt. Aufgrund der hohen Mitoserate der Matrixzellen im Bulbus kommt es zu einer Wanderung der darüberliegenden Zellen in Richtung Hautoberfläche und somit letztlich zum Längenwachstum des Haares. Neben der Zellproliferation findet hier auch eine Zelldifferenzierung statt. Während die Zellen der Cuticula eine schuppenartige Struktur annehmen, verwandeln sich die noch eher runden Cortexzellen in spindelförmige Zellen. In dieser Zone sind ebenfalls Melanozyten und Keratinozyten angeordnet, wobei in den Melanozyten enthaltenen Melanosomen das Farbpigment Melanin katalysiert und durch Phagozytose in die

Keratinozyten aufgenommen sowie somit letztlich ins wachsende Haar eingetragen wird [40]. Die Art und Anzahl an Melaningranula bestimmt die natürliche Haarfarbe, wobei der Melaningehalt von blond nach schwarz zunimmt [49, 50].

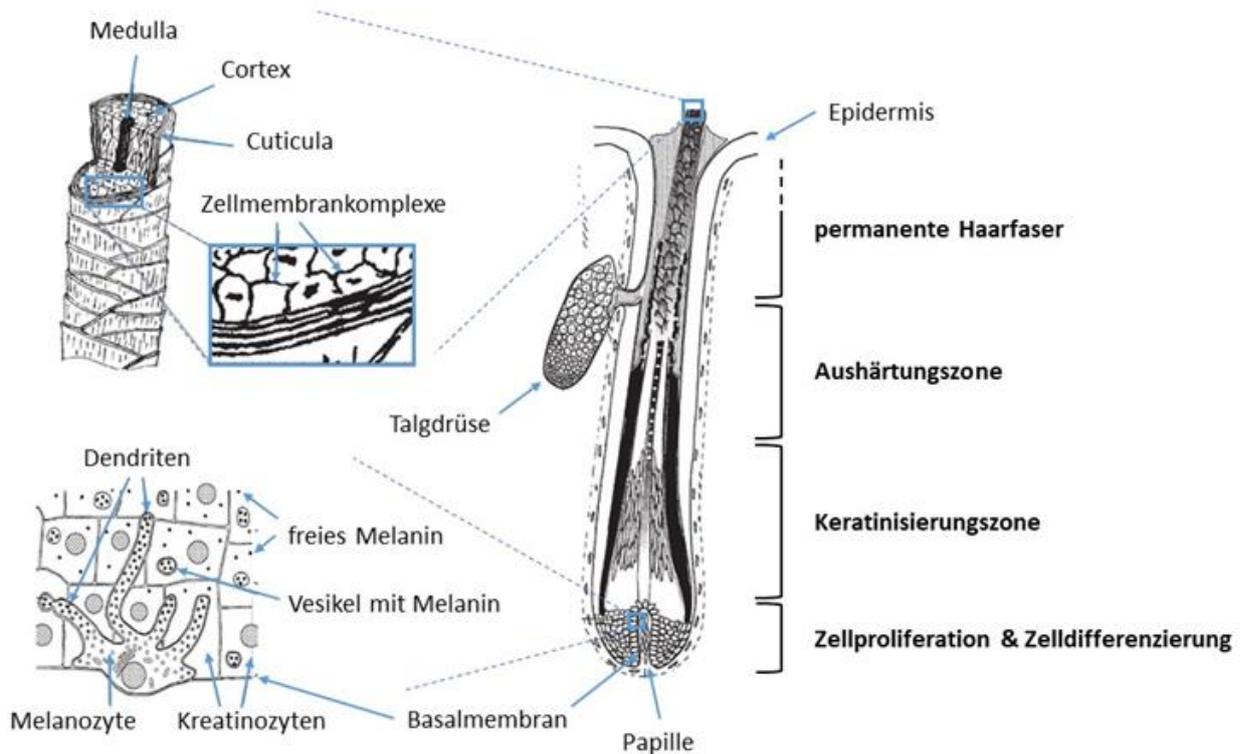


Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Haarmatrix (modifiziert nach [40])

In der Keratinisierungszone erfolgt hauptsächlich die Genexpression für die Bildung des wasserunlöslichen Proteins Keratin. In der darüber liegenden Aushärtungszone werden alle zytoplasmatischen Organellen eliminiert. Durch Dehydratation und Bildung von Disulfidbrücken kommt es zur kompakteren Zusammenlagerung der Zellen, bis schließlich lediglich Zellmembrankomplexe aus Proteinen und Lipiden zurückbleiben. Die nun stabile Haarfaser wird vor dem Austritt aus der Epidermis mit einem lipidhaltigen Flüssigkeitsgemisch (Sebum) aus der Talgdrüse benetzt [50].

2.1.2 Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit

Haare wachsen nicht kontinuierlich, sondern unterliegen einem zyklischen Wachstum. Dabei lassen sich drei Wachstumsphasen unterscheiden. In der anagenen Phase wird das Haar aktiv im Haarfollikel gebildet. Diese Wachstumsphase ist nicht nur durch einen intensiven

Stoffaustausch zwischen Haarfollikel und benachbarten Blutgefäßen charakterisiert, hier erfolgt auch hauptsächlich die Keratinisierung der Haare. Die Dauer dieser Phase variiert je nach Körperregion, so dass es zu verschiedenen Haarlängen kommt. Wimpern wachsen beispielsweise 100 bis 150 Tage, während bei Kopfharen die Wachstumsphase zwei bis sechs Jahre andauern kann [38]. In einer zwei bis dreiwöchigen Übergangsphase (katagene Phase) wird die Zellteilung eingestellt und der Haarfollikel degeneriert. Anschließend verweilt das Haar bis zu sechs Monate in der telogenen Phase und fällt somit nicht direkt aus. In dieser Ruhephase erfolgt kein Haarwachstum mehr [51]. Unter dem telogenen Haar wird stattdessen ein neuer Haarfollikel ausgebildet, welcher sich erneut in der anagenen Phase befindet und durch dessen Wachstum das telogene Haar spätestens aus der Haut ausfällt (siehe Abbildung 4).

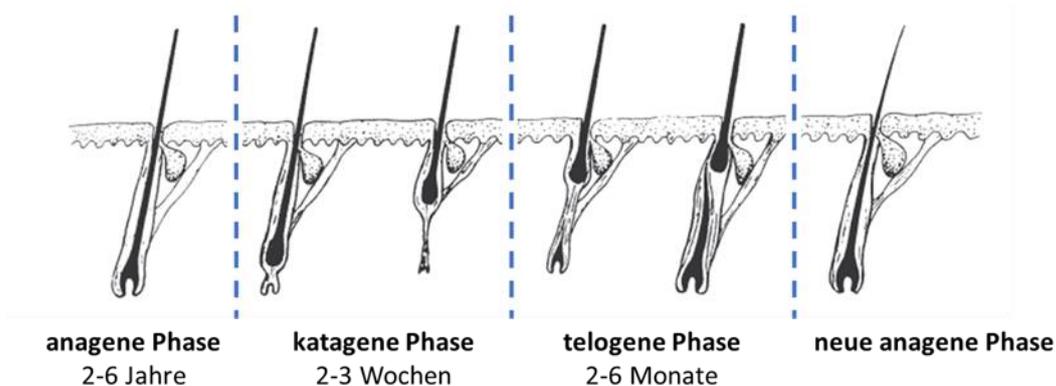


Abbildung 4: Wachstumsphasen eines Kopfhaares (modifiziert nach [52])

Betrachtet man Kopfhaare aus der Hinterhauptregion eines Erwachsenen, so befinden sich ungefähr 85-90 % der Haare in der anagenen Phase, 1-3 % in der katagenen Phase und die restlichen ca. 15 % in der telogenen Phase [38, 51]. Für die meisten Fragestellungen eignet sich neben dem Kopfhaar auch die Scham- oder Körperbehaarung zur Haaranalyse. Hierbei muss allerdings beachtet werden, dass sich diese Haare, im Vergleich zu den Kopfhaaren, mit einem bis zu 50 % telogenem Anteil vermehrt in der Ruhephase befinden [52]. Die Achsel- und Schambehaarung sollte jedoch nicht für die Bestimmung des Alkoholkonsummarkers Ethylglucuronid (EtG) herangezogen werden, da eine mögliche Kontamination der Schamhaare durch EtG-haltigen Urin oder Auswascheffekte durch das feuchte Milieu im Achselbereich nicht sicher ausgeschlossen werden können [53, 54].

Neben der Dauer der Wachstumsphase und dem Verhältnis von anagenen/telogenen Haaren, kann, je nach Körperregion, auch die Wachstumsgeschwindigkeit der Haare stark variieren. Diese wird zudem durch weitere Faktoren (z.B. Alter, Geschlecht, allgemeiner Gesundheitszustand, ethnische Herkunft einer Person) beeinflusst [51]. Kopfhaare von

Erwachsenen wachsen hierbei mit einer Geschwindigkeit von 0,6 - 1,4 cm pro Monat bzw. von durchschnittlich etwa 1 cm pro Monat [40, 49]. Körperhaare haben hingegen eine deutlich langsamere Wachstumsrate (z.B. Beinhaare mit 0,6 cm pro Monat) [55]. Die zuvor genannten Unterschiede müssen daher unbedingt bei der Interpretation von Haarbefunden berücksichtigt werden.

Die Analyse einer 6 cm langen Kopfhhaarprobe ermöglicht eine retrospektive Betrachtung des Konsumverhaltens von mindestens einem halben Jahr. Da die entnommene Haarsträhne allerdings anteilig auch Haare aus der katagenen und telogenen Phase enthält, welche einen anderen Zeitraum repräsentieren als die Haare aus der anagenen Phase, erlaubt die Untersuchung einer Haarlänge von 6 cm eine retrospektive Aussage für einen Zeitraum von maximal 12 Monaten vor der Probenahme. Dieser Effekt kann durch eine Rasur der Haare nach dem letzten Substanzkonsum und der anschließenden Untersuchung von nachgewachsenen, sich in der anagenen Phase befindlichen Haaren weitestgehend eliminiert werden [40, 53]. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass das Haar erst nach ungefähr 7-10 Tagen Wachstum die Hautoberfläche erreicht. Das proximale Ende einer entnommenen Haarsträhne repräsentiert also nicht den jüngsten Wachstumszeitraum [49].

2.1.3 Substanzeinlagerung ins Haar und Kontamination

Trotz intensiver Forschung sind die genauen Inkorporationswege von Substanzen in das Haar bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt [40, 49]. Inzwischen geht man jedoch von mehreren Mechanismen aus, welche einzeln oder gemeinsam zur Substanzeinlagerung ins Haar führen können [56]. So können Fremdsubstanzen nach ihrer Aufnahme (z.B. durch Ingestion, Inhalation oder Injektion) und anschließenden Verteilung im Körper während der anagenen Wachstumsphase per passiver Diffusion aus den Blutkapillargefäßen in den Haarfollikel gelangen [40, 56]. Die Adsorption von Substanzen aus der äußeren Umgebung stellt ein weiteres Inkorporationsmodell dar. Besonders die direkte Aufnahme in den Haarschaft durch Schweiß und Sebum oder über den Kontakt mit Aerosolen, Rauch und Stäuben aus der externen Umgebung ist hierbei zu berücksichtigen [38, 40, 49, 51]. Eine zusätzlich diskutierte Inkorporationsmöglichkeit besteht darin, dass stark lipophile Substanzen aus den Blutkapillaren in tiefere Gewebeschichten gelangen, dort akkumulieren und mit einer zeitlichen Verzögerung während der Bildung des Haarschaftes eingelagert werden können [40, 56]. Welcher der zuvor genannten Mechanismen die größte Rolle bei der Inkorporation spielt, hängt stark von der Substanz selbst und deren physikochemischen Eigenschaften ab [49, 57].

Insbesondere die Melaninaffinität, Lipophilie und Basizität eines Wirkstoffes haben einen großen Einfluss auf die Inkorporation. Zellmembranen besitzen eine gute Durchlässigkeit für

nicht proteingebundene, ungeladene, basische und lipophile Substanzen. Aber auch die Größe und räumliche Anordnung eines Moleküls, bestimmte funktionelle Gruppen und das Vorhandensein von pH- und Konzentrationsgradienten haben einen wesentlichen Einfluss auf die Diffusion durch Zellmembranen [38, 51]. Gegenüber sauren und neutralen Wirkstoffen begünstigt der pH-Gradient vom Blutplasma (pH 7,3) zu den saureren Bedingungen in den Melanozyten und Keratinozyten (pH 3-6) vor allem die Inkorporation von basischen Substanzen ins Haar [49]. Zusätzlich können in den Melanozyten aufgenommene basische Substanzen protoniert werden und somit nicht wieder zurück diffundieren. Der Melaningehalt bestimmt demnach wesentlich die im Haar eingelagerte Substanzmenge. Da dunkle Haare mehr Melanin enthalten als hellere Haare, können infolgedessen auch höhere Substanzkonzentrationen von basischen Wirkstoffen in pigmentierten Haaren nachgewiesen werden [58, 59]. Die Substanzmenge im Haar ist wiederum abhängig von der im Blut vorhandenen Konzentration, welche von der aufgenommenen Dosis abhängt [49, 56]. Eine zeitabhängige Begutachtung im Rahmen einer segmentierten Haaranalyse ist somit, unter Annahme einer punktuellen Einlagerung der zu analysierenden Wirkstoffe durch die Haarwurzel, für viele Analyten möglich.

Durch den Metabolismus einer Substanz wird für die Ausscheidung die Hydrophilie und damit die Polarität der Stoffwechselprodukte erhöht. Ethylglucuronid (EtG) ist beispielsweise ein eher saurer und hydrophiler Metabolit der Ethanol-Verstoffwechslung und wird hauptsächlich über Schweiß ins Haar eingelagert [60, 61]. Eine Einlagerung ins Haar aus dem Blutkreislauf findet aufgrund der Hydrophilie nur in geringem Maße statt [62]. Da sich Schweiß über den Haarschaft verteilt, ist eine enge zeitaufgelöste Betrachtung für solche Analyten erschwert. Auch eine externe Kontamination der Haare beeinträchtigt die Haaranalyse. Die Gefahr der passiven Aufnahme besteht allein durch einen Aufenthalt in Räumlichkeiten bzw. den Kontakt zu Personen, die die Betäubungsmittel rauchen (z.B. Cannabis oder Crack) sowie mit diesen umgehen und anschließend sich oder anderen in die Haare fassen. Aber auch eine Kontamination durch Schweiß einer konsumierenden Person ist möglich. Insbesondere für Kleinkinder, die in Haushalten leben, in denen Betäubungsmittelmissbrauch betrieben wird, besteht ein hohes Expositionsrisiko [63]. Die Interpretation von Kinderhaarbefunden muss daher stets mit Vorsicht erfolgen.

2.1.4 Einfluss von Haarkosmetik

Als äußere Schutzschicht stellt die Cuticula des Haares eine Barriere gegen den Substanzverlust dar. Die Elimination von im Haar eingelagerten Substanzen ist somit bei normaler Haarpflege als gering einzuschätzen. Die Anwendung von chemisch aggressiven

Haarkosmetika (z.B. Bleichung, Färbung, Glättung oder Dauerwellenbehandlung) kann jedoch zu irreversiblen chemischen und morphologischen Veränderungen des Haares führen [64]. Dies kann folglich mit einer Konzentrationserniedrigung von bis zu 90 % im Vergleich zur ursprünglich eingelagerten Substanzkonzentration einhergehen [40, 51]. Oft wird für solche haarkosmetische Behandlungen Wasserstoffperoxid eingesetzt, was nicht nur die Melaninstruktur verändert, sondern auch, durch Schäden an der Cuticula, zu einer erhöhten Porosität des Haarschaftes und verstärkten Auswascheffekten führt [65, 66]. Die chemische Struktur von Betäubungsmittel selbst (z.B. von Kokain, Amphetaminen oder Opiaten) kann aber auch verändert werden [66]. Haarkosmetika haben ebenfalls einen großen Einfluss auf die Nachweisbarkeit von Alkoholkonsummarkern im Haar. Abgesehen von der durch Bleichung oder Färbung bedingten Konzentrationserniedrigung, sollten aufgrund der hydrophilen Eigenschaften des Ethylglucuronides auch Auswascheffekte (z.B. durch eine sehr häufige Haarwäsche) bedacht werden. Da Ethylglucuronid in der Leber gebildet wird, führt die Verwendung von ethanolhaltigen Haarpflegeprodukten hingegen nicht zu falsch-positiven Werten [67]. Andererseits wurde in der Literatur jedoch beschrieben, dass Ethylglucuronid aus bestimmten pflanzlichen Haarwässern in das Haar übergehen kann, ohne dass Ethanol konsumiert wurde [67-69]. Entsprechende Fachgesellschaften fordern aus diesen Gründen in ihren Richtlinien eine detaillierte Protokollierung der vor der Haarentnahme verwendeten Kosmetikprodukte und Pflegegewohnheiten [70, 71].

Weiterhin konnten Skopp et al. in einer Studie zeigen, dass auch langanhaltende witterungsbedingte Einflüsse zur Elimination von Substanzen aus dem Haar führen [72]. Starke Sonneneinstrahlung, Regen und Wind sind mit einer Schädigung des Haarschaftes verbunden. Neben Auswascheffekten und einem hydrolytischen oder oxidativen Abbau der inkorporierten Substanzen wird auch die Schädigung von Melanin durch UV-Strahlung und einer daraus resultierenden erleichterten Zugänglichkeit und Extraktion eingelagerter Substanzen angenommen [72].

2.2 Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS)

Zur Bestimmung der neuen psychoaktiven Substanzen, Betäubungsmittel und Alkoholmarker im Haar wurde in dieser Arbeit die Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS/MS) angewendet. Diese Messtechnik überzeugt durch einen relativ großen linearen Arbeitsbereich für die Quantifizierung und eine hohe Sensitivität [73]. Die aus der zu untersuchenden Probe extrahierten Analyten werden zunächst mittels der Flüssigchromatographie unter Verwendung einer stationären und mobilen Phase unter hohem

Druck aufgetrennt. Für eine effiziente chromatographische Trennung kann ein Laufmittelgradient verwendet werden.

Anschließend werden die aufgetrennten und noch in Lösung befindlichen Analyten mittels der Elektrospray-Ionisation (ESI) in der beheizten Ionenquelle durch Verdampfung des Lösungsmittels in Molekülionen überführt [74]. Durch ein elektrisches Feld gelangen die Ionen über Linsensysteme und eine Transferkapillare in das Massenspektrometer, wo sie im Vakuum nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) getrennt werden. In der Tandem-Massenspektrometrie ergeben sich durch die Anordnung von drei hintereinandergeschalteten Quadrupolen verschiedene Scan-Modi [74]. Im Rahmen einer Methodenentwicklung kommen oft der sogenannte Full-Scan-Modus und/oder der Produkt-Ion-Scan zum Einsatz. Aufgrund der hohen Messempfindlichkeit wurde zur Bestimmung der NPS in den folgenden Studien hauptsächlich der „multiple reaction monitoring“ (MRM) Modus verwendet. Bei diesem Messmodus werden im ersten Quadrupol (Q1) nur Ionen mit einem bestimmten m/z -Verhältnis (Vorläufer-Ionen) in den zweiten Quadrupol (Q2) durchgelassen. Hier fragmentieren die Vorläufer-Ionen durch den Zusammenstoß mit einem inerten Gas (meistens Stickstoff). Der dritte Quadrupol (Q3) selektiert erneut bestimmte Ionen (Produkt-Ionen) aus den entstandenen Fragment-Ionen heraus. Der erste und dritte Quadrupol fungiert somit als Massenfilter, während der zweite Quadrupol eine Kollisionszelle darstellt. Der selektive Nachweis eines Analyten wird durch die zuvor genannte Analyse von bestimmten Vorläufer-Ionen und deren Produkt-Ionen erbracht [74]. Dieses bekannte Fragmentierungsmuster vom Vorläufer-Ion zum Produkt-Ion wird auch als Massenübergang bezeichnet. Da nur gewünschte Massenübergänge betrachtet werden, wird im MRM-Modus durch die weitgehende Abtrennung von Matrixbestandteilen das Signal-Rausch-Verhältnis deutlich verbessert [73, 74]. Die Messempfindlichkeit kann allerdings bei einer zu großen Anzahl an parallel zu messenden Analyten bzw. Massenübergängen wieder sinken.

Für die Quantifizierung eines Analyten wird normalerweise der Massenübergang mit der höchsten Intensität verwendet, während die Massenübergänge mit der zweit- oder dritthöchsten Intensität („Qualifier-Ions“) zur Identifizierung verwendet werden. Um einen Analyten eindeutig nachzuweisen, müssen alle analytspezifischen Massenübergänge zu einer bekannten Retentionszeit und in einem zuvor festgelegten Verhältnis zueinander auftreten.

2.3 Methodvalidierung nach den Richtlinien der GTFCh

Allgemein soll mit der Validierung einer analytischen Methode belegt werden, dass diese unabhängig von der ausführenden Person und zu jedem Zeitpunkt reproduzierbare und

zuverlässige Ergebnisse erzielt. Analysenbefunde, die mit einer validierten Methode erhalten werden, lassen daher besonders bei juristischen Fragestellungen verlässliche Interpretationen zu. Die Methodvalidierungen erfolgten im Rahmen dieser Arbeit nach den Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) und umfassten das Prüfen von verschiedenen Testparametern. Zu diesen Validierungsparametern zählen die Selektivität der Methode, die Linearität der Kalibration, die Richtigkeit und Präzision der Ergebnisse, die Ermittlung der analytspezifischen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, die Stabilität der zu untersuchenden Analyten sowie die Bestimmung der Wiederfindung und möglicher Matrixeffekte [75].

Zur Überprüfung der Selektivität werden mindestens sechs verschiedene Leermatrixproben ohne die Zugabe von internen Standards sowie mindestens zwei Leermatrixproben mit einer entsprechenden Zugabe (Nullproben) aufgearbeitet und vermessen. Darüber hinaus sollten Matrixproben, die neben den zu untersuchenden Analyten auch andere in authentischen Proben zu erwartende und möglicherweise störende Substanzen (z.B. Betäubungsmittel, Medikamentenwirkstoffe, Metaboliten) enthalten, analysiert werden. Um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden, dürfen bei keiner der gemessenen Proben Interferenzen im Retentionszeitbereich der zu untersuchenden Analyten auftreten. Die Kalibration erfolgt durch Aufstockung von Leermatrix (mit den Zielanalyten und internen Standards) in mindestens fünf von Null verschiedenen Konzentrationen sowie eine sechsfache Wiederholbestimmung jedes einzelnen Kalibrators. Die Ermittlung von möglichen Ausreißern erfolgt mittels Grubbs-Test bei einem Signifikanzniveau von 95 %. Die Homogenität der Varianzen wird mit dem Cochran-Test über alle Konzentrationen oder mittels F-Test zwischen der höchsten und niedrigsten Konzentration (Signifikanz: 99 %) bestimmt. Eine einfache lineare Regression kann bei gegebener Varianzhomogenität und nach der Überprüfung mittels Linearitätstest nach Mandel (Signifikanz: 99 %) verwendet werden. Für gewöhnlich ist aber für Kalibrationsbereiche, die eine Zehnerpotenz überschreiten, die Varianzhomogenität nicht gegeben. Um die Heteroskedastizität zu kompensieren, kann alternativ der Kalibrationsbereich bis zur Varianzhomogenität eingeschränkt oder ein gewichtetes Kalibrationsmodell (mit Wichtungsfaktoren $1/x$ oder $1/x^2$) verwendet werden. Durch die Herstellung von mindestens zwei homologen Pools (niedrige und hohe Konzentration) sowie deren jeweils zweifacher Messung an acht verschiedenen Tagen wird die Genauigkeit der Methode ermittelt. Hierbei wird auf systematische (Bias) und zufällige Fehler (Präzision) getestet. Als akzeptabel gelten Bias-Werte innerhalb eines Intervalls von $\pm 15\%$ bzw. $\pm 20\%$ nahe der Bestimmungsgrenze. Für die Wiederhol- und tagesverschiedene Laborpräzision muss die relative Standardabweichung (RSD) bei $\leq 15\%$ bzw. $\leq 20\%$ an der Bestimmungsgrenze liegen. Zusätzlich wird die Genauigkeit in Form des 95 % β -Toleranzintervalls, als eine Kombination aus Bias und Präzision, überprüft (Akzeptanzintervall: $\pm 30\%$ bzw. $\pm 40\%$ nahe der

Bestimmungsgrenze). Für die Stabilitätsprüfung werden sechs Qualitätskontrollen (QC) bei einer niedrigen und hohen Konzentration für die Dauer einer regulären Probenbearbeitung analysiert. Anschließend werden die absoluten Peakflächen mittels linearer Regression betrachtet. Bei der Verwendung von deuterierten Standards darf die maximale Abnahme 25 % und in anderen Fällen 15 % bzw. 20 % an der Bestimmungsgrenze betragen. Die analytischen Grenzen werden nach DIN 32645 [76] mit mindestens fünf verschiedenen Kalibratoren, welche im Bereich der erwarteten Nachweisgrenze liegen, ermittelt. Die Bestimmungsgrenze sollte dabei mit einem akzeptablen Bias von $\pm 20\%$ und einer $RSD \leq 20\%$ bestimmt werden können. Zur Feststellung der Wiederfindungsrate und möglicher Matrixeffekte werden, in Anlehnung an Matuszewski et al. [77], fünf Reinsubstanzlösungen, fünf aufgestockte verschiedene Leermatrixproben sowie deren fünf aufgestockte Extrakte bei einer niedrigen und einer hohen Konzentration gemessen und entsprechende Peakflächenverhältnisse (Matrix/Extrakt oder Extrakt/Reinsubstanz) gebildet. Der Mittelwert des Matrixeffektes darf zwischen 75-125 % ($RSD \leq 25\%$ bei Verwendung deuterierter Standards) liegen. Weiterhin sollte eine Wiederfindungsrate von über 50 % erreicht werden.

Nur wenn alle Testparameter untersucht sowie die jeweiligen Akzeptanzkriterien und statistischen Tests für alle zu untersuchenden Analyten bestanden werden, zählt eine Methode als vollständig validiert.

3 Ergebnisse

3.1 Manuskript I

Detection and quantification of synthetic cathinones and selected piperazines in hair by LC-MS/MS.

3.1.1 Zusammenfassung

Synthetische Cathinone und Piperazine gehören zur Gruppe der neuen psychoaktiven Substanzen (NPS) und sind dazu bestimmt, die Wirkungen traditioneller illegaler Drogen, wie z.B. Kokain, Ecstasy und Amphetamine, zu replizieren. Es ist bekannt, dass diese Substanzen potenziell viel wirksamer als ihre Analoga sein können. In der Vergangenheit gab es daher zahlreiche Vergiftungen und Todesfälle im Zusammenhang mit dem Konsum von NPS. Aus diesem Grund haben die Identifizierung und Quantifizierung dieser Substanzen in der forensischen Toxikologie an Bedeutung gewonnen.

Das Ziel dieser Studie bestand daher darin, zunächst eine LC-MS/MS-Messmethode zum Nachweis und zur Quantifizierung von 35 verschiedenen synthetischen Cathinonen und Piperazinen in Haaren zu entwickeln und im Institut für Rechtsmedizin der Charité Berlin zu etablieren. Dazu sollte die Messmethode nach den aktuellen Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) validiert werden, damit diese anschließend in der Routineanalytik eingesetzt werden kann. Die im Anschluss an die Validierung zur Überprüfung der Anwendbarkeit der Methode untersuchten 40 Haarproben stammten aus verschiedenen Anwendungsbereichen, wie der Postmortem-Analytik, der Fahreignungsbegutachtung oder von familiengerichtlichen Fällen, in denen z.B. Umgangs- und/oder Sorgerechtsfragen zu klären waren.

Nach der Ermittlung der geeigneten Massenübergänge sowie der optimalen Ionisierungs- und Quellenparameter wurden für die chromatographische Trennung der Analyten zwei Säulen (Kinetex Biphenyl Core-Shell-Säule und Kinetex C18-Säule) getestet. Während beide Säulen eine gute Peak-Symmetrie und chromatographische Trennung innerhalb einer relativ kurzen Analysezeit ergaben, wurde die Kinetex C18-Säule aufgrund ihrer allgemeinen Verwendung im Laboratorium ausgewählt. Mittels eines Laufmittelgradienten wurden die Chromatographie und Laufzeit optimiert.

Die entwickelte Analysenmethode erwies sich für alle getesteten Analyten als selektiv, da keine koelutierenden oder störenden Substanzen in den Extrakten der verschiedenen Haarproben beobachtet wurden. Für die Kalibrierung wurden jeweils 50 mg analytfreies Haar

mit den Zielanalyten zu folgenden Konzentrationen aufgestockt: 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1 und 3 ng/mg. Für jedes Level erfolgte eine Sechsfachbestimmung. Linearität, Varianzenhomogenität und die Abwesenheit von Ausreißern wurden für den analytspezifisch gewählten Arbeitsbereich (maximal 0,01 bis 3 ng/mg) mittels statistischer Tests (Grubb´s-Test, Cochran-Test und Mandel F-Test) bestätigt. Die Korrelationskoeffizienten lagen zwischen 0,996 und 0,999. Die Genauigkeit wurde als 95 %-Toleranzintervall berechnet und lag im Rahmen der Vorgaben der GTFCh. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen lagen zwischen 0,006 und 0,052 ng/mg bzw. zwischen 0,008 und 0,095 ng/mg. Weiterhin wurde gezeigt, dass die Analyten mindestens 72 Stunden im 7 °C gekühlten Autosampler stabil sind und keine störenden Matrixeffekte auftreten. Die Wiederfindungsrate lag für alle Analyten stets über den von der GTFCh geforderten 50 %.

Anschließend wurden zur Prüfung der Anwendbarkeit der Methode 40 Haarproben von lebenden Probanden und Verstorbenen aus den Jahren 2015 bis 2019 mit einer drogenassoziierten Vorgeschichte oder unbekanntem Todesursache untersucht. Die Altersspanne dieser Probandengruppe lag zwischen 18-56 Jahren. Es wurden 12 der insgesamt 40 untersuchten Haarproben positiv auf synthetische Cathinone getestet. In zwei Drittel der positiv getesteten Proben wurden sogar zwei oder mehrere synthetische Cathinone nachgewiesen. Insgesamt wurden 11 unterschiedliche synthetische Cathinonderivate ermittelt. In den positiven Haarproben wurde Mephedron am häufigsten detektiert, gefolgt von Cathinon, Methylenedioxypropylammonium (MDPV), Bazedron sowie Bupropion. Die ermittelten Konzentrationen lagen dabei überwiegend im niedrigen Nanogrammbereich. Bei drei Todesfällen konnten ebenfalls synthetische Cathinone im Venenblut und Urin der Verstorbenen nachgewiesen werden. Dies weist darauf hin, dass die Personen diese Substanzen kurz vor dem Versterben sowie bereits in der Vergangenheit aufgenommen hatten.

Alle 40 Haarproben wurden ebenfalls zuvor im Rahmen der Routineanalytik positiv auf andere Betäubungsmittel getestet, wobei Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, Kokain und Ketamin am häufigsten nachgewiesen wurden. Ein polyvalentes Konsumverhalten konnte bei dieser Probandengruppe somit belegt werden.

In dieser Studie wurde gezeigt, dass die entwickelte LC-MS/MS-Methode eine relativ schnelle Detektion und Quantifizierung von 35 verschiedenen synthetischen Cathinonen und Piperazinen in Haarproben ermöglicht. Die Methode wurde erfolgreich validiert und auf authentische Haarproben unterschiedlicher forensischer Fälle angewandt. Von den untersuchten Fällen wurden 30 % (n = 12) auf mindestens ein synthetisches Cathinon positiv getestet, was nochmals die Notwendigkeit einer solchen Analysenmethode hervorhebt. Die

vorliegende Studie konnte das Vorhandensein von synthetischen Cathinonen insbesondere bei polyvalenten Drogenkonsumenten bestätigen. Eine Untersuchung auf Badesalzdrogen gerade bei bekanntem Betäubungsmittelabusus erscheint damit sinnvoll. Weiterhin wurde bestätigt, dass die Haaranalyse ein geeignetes Instrument zur Untersuchung einer NPS-bezogenen Konsumvergangenheit ist. Für eine genauere Interpretation der gemessenen Konzentrationen im Haar sind jedoch weitere Studien erforderlich.

3.1.2 Publikation

Niebel A, Krumbiegel F, Hartwig S, Parr MK, Tsokos M

Detection and quantification of synthetic cathinones and selected piperazines in hair by LC-MS/MS. Forensic Sci Med Pathol. 2020;16(1):32-42. Epub 2019 Dec 18.

<https://doi.org/10.1007/s12024-019-00209-z>

Nachdruck mit Genehmigung von Forensic Science, Medicine and Pathology, Copyright (2019), Springer Nature

3.2 Manuskript II

Prevalence and concentrations of new designer stimulants, synthetic opioids, benzodiazepines and hallucinogens in postmortem hair samples: a 13-year retrospective study.

3.2.1 Zusammenfassung

Neben den zuvor betrachteten „Badesalzdrogen“ gibt es eine Vielzahl an weiteren Wirkstoffen, die der Gruppe „Neue psychoaktive Substanzen“ zugeordnet werden können und als vermeintlich „legale“ Alternative zu herkömmlichen Rauschmitteln Verwendung finden. In der vorliegenden Studie wurde die zuvor nach den Vorgaben der GTFCh validierte LC-MS/MS Methode zur Bestimmung von synthetischen Cathinonen und Piperazinen im Haar mit weiteren NPS aus verschiedenen Stoffklassen (z.B. 2C-X-Substanzen, Amphetamine, Halluzinogene, Opioide und Benzodiazepine) erweitert und vollständig validiert. Anschließend wurde mittels der aktualisierten Methode ein drogenassoziiertes Probandenkollektiv untersucht. Dabei wurde vordergründig die Prävalenz im Einzugsgebiet von Berlin und die im Haar zu erwartenden Konzentrationen ermittelt.

Nach der Optimierung der Massenübergänge und des Elutionsgradienten, welcher eine Trennung aller zu untersuchenden Analyten erlaubt, erfolgte zunächst eine vollständige Validierung der Methode nach den GTFCh-Richtlinien. Die zuvor beschriebenen Testparameter (siehe Kapitel 2.3) wurden für 58 Analyten erfüllt. Insgesamt enthält die Methode 67 Analyten. Da es sich bei den zusätzlichen neun Analyten (Clonazolam, Delorazepam, Diclazepam, Flubromazepam, p-Fluorfantanyl, 2-MAPB, Metizolam, Ocfentanil, Phenazepam) um am Sterbeort aufgefundene BtM-suspekte Substanzen (Kapseln, Pulver, Tabletten) von Todesfällen und somit um nicht zertifizierte Referenzstandards handelt, wurden diese Analyten lediglich zum qualitativen Nachweis herangezogen. Der lineare Kalibrationsbereich lag für die meisten Analyten zwischen 0,01 und 3 ng/mg. Die sehr niedrigen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (0,003-0,014 ng/mg bzw. 0,005-0,024 ng/mg) ermöglichten eine Detektion dieser Substanzen im Spurenbereich.

Aus dem Zeitraum von 2008 bis 2020 wurden anschließend insgesamt 1203 postmortale Haarproben reanalysiert. Die Auswahl der Proben erfolgte aufgrund des Alters (Verstorbene bis 60 Jahre) und der Fallgeschichte, d.h. eines vermuteten oder nachgewiesenen Konsums gängiger Betäubungsmittel. Damit berücksichtigt diese Studie die bis dahin größte untersuchte Fallzahl und einen deutlich längeren Zeitraum als die zuvor publizierten Untersuchungen. In 381 Fällen (31,6 %) wurden neue psychoaktive Substanzen nachgewiesen. Für die

Bestimmung der Prävalenz wurden die Ergebnisse jeglicher Haarfarben (blond bis schwarz), Körperpartien (Brust- und Schamhaar) und von kosmetisch behandelten Haarproben einbezogen. Die Altersspanne betrug für die untersuchten Fälle 14-60 Jahre (Mittelwert 35,1 Jahre; Median 34,5 Jahre). In 14 Fällen war das Alter unbekannt. Unter den Verstorbenen waren 77 % (930 Fälle) männlich und 273 Fälle waren weiblich (23 %). Positive Proben waren nicht gleichmäßig zwischen Männern ($n = 299$; 78 %) und Frauen ($n = 82$; 22 %) verteilt. Die höchste Anzahl an positiven Fällen ($n = 73$, 19 %) wurde in der Altersgruppe von 31 bis 35 Jahren beobachtet.

Unter allen NPS-positiven Fällen waren 107 Haarproben in der gleichen Zeitspanne positiv für zwei bis zu zehn NPS. Während des 13-jährigen Beobachtungszeitraums wurden 48 verschiedene Zielanalyten in den positiven Haarproben identifiziert. Die in dieser Studie am häufigsten nachgewiesenen NPS waren N-Ethylamphetamin, α -Pyrrolidinovalerophenon, Mephedron, Bazedron, Metamfepramon und 4-Fluoramphetamin. Weiterhin ist anhand der Ergebnisse ersichtlich, dass viele Substanzen im gesamten Untersuchungszeitraum nur sporadisch ($n \leq 5$) nachgewiesen wurden (u.a. 2C-C, 2-MAPB, 2-Oxo-PCE, 3,4-DMMC, 4-FMC). Ein deutlicher Trend bezüglich einer Zu- oder Abnahme bestimmter NPS vor und nach Einführung des NpSG war nicht erkennbar. Allerdings wurden 68 neue psychoaktive Substanzen allein im Jahr 2020 detektiert, was einen Anstieg an nachgewiesenen Analyten im Vergleich zu 2008 ($n = 20$) darstellt.

Die gemessenen Haarkonzentrationen lagen überwiegend im unteren Bereich von Nanogramm pro Milligramm Haar. Einige Analyten zeigten jedoch mit relativ hohen ermittelten Haarkonzentrationen (z.B. 4-Fluoramphetamin mit 113 ng/mg) eine große Variation. Zur besseren Vergleichbarkeit und Interpretation von positiven Fällen in der Routinearbeit wurden die gemessenen Konzentrationen einiger NPS daher als Perzentile dargestellt. Für die selten nachgewiesenen NPS ($n < 5$) wurden die detektierten Konzentrationen angegeben.

In dieser Studie wurde eine hohe Prävalenz dieser Substanzen in postmortalen Haarproben festgestellt und erstmals für die Region Berlin publiziert. Die Ergebnisse zeigen einen zunehmenden Konsum vieler verschiedener NPS durch hauptsächlich drogenkonsumierende junge Erwachsene. Folglich sollten NPS-Screeningverfahren in diesem Kontext eingesetzt werden. Weiterhin ist dies eine der wenigen Studien, welche die ermittelten Haarkonzentrationen in Perzentilen darstellt und für einige Analyten sogar erstmals beschreibt. Die vorgestellten quantitativen Daten können bei der Einschätzung von NPS-Haarkonzentrationen unterstützend herangezogen werden, dennoch sollten immer die jeweiligen Fallumstände berücksichtigt werden. Da einige Analyten allerdings nur selten nachgewiesen wurden, ist die Aussagekraft der jeweils gemessenen NPS-Konzentrationen im Haar begrenzt. Für deren zuverlässige Beurteilung sind weitere Untersuchungen erforderlich.

3.2.2 Publikation

Niebel A, Westendorf L, Krumbiegel F, Hartwig S, Parr MK, Tsokos M

Prevalence and concentrations of new designer stimulants, synthetic opioids, benzodiazepines and hallucinogens in postmortem hair samples: a 13-year retrospective study. Drug Test Anal. 2021; 1-12. Epub ahead of print.

<https://doi.org/10.1002/dta.3150>

Nachdruck mit Genehmigung von Drug Testing and Analysis (Open Access, Creative Commons Attribution Non-Commercial No Derivatives License CC BY-NC-ND), Copyright (2021), The Authors. John Wiley & Sons Ltd.

3.3 Manuskript III

Hair analysis of more than 140 families with drug consuming parents. Comparison between hair results from adults and their children.

3.3.1 Zusammenfassung

Haarproben von Kindern werden häufig analysiert, um deren Gefährdung in einem drogenkonsumierenden Umfeld zu charakterisieren. Aufgrund von fehlenden Vergleichsdaten bleibt die Interpretation der Haarbefunde jedoch schwierig. Das Ziel der vorliegenden Studie bestand daher darin, einen Beitrag zu einer realistischen Interpretation der Haaranalysenergebnisse von Kindern durch Vergleich mit den Ergebnissen ihrer drogenkonsumierenden Eltern zu leisten. Die Haarbefunde wurden dazu hinsichtlich einer Beziehung zwischen den Befunden der Eltern und der Kinder in Abhängigkeit von der Art des Betäubungsmittels, dem Alter und Geschlecht der Kinder sowie der Betäubungsmittelkonzentration im Haar der Mütter oder Väter ausgewertet.

Diese Studie ist Teil eines größeren Projekts, welches in enger Kooperation mit den Sozialämtern der Hansestadt Bremen seit 2011 durchgeführt wird. Im Rahmen dieses sozialen Unterstützungsprojektes für Familien mit minderjährigen Kindern und drogenkonsumierenden Eltern wurden im Institut für Rechtsmedizin der Charité Berlin Haarproben auf gängige Betäubungsmittel und ausgewählte Medikamentenwirkstoffe (Amphetamine, Cannabinoide, Ecstasy, Kokain, Opiate und Opioide, Benzodiazepine und Z-Drugs, Ketamin sowie Diphenhydramin) untersucht. Diese Haaranalysen werden in regelmäßigen Abständen bei den Eltern und deren Kindern zur Ersteinschätzung der Konsumsituation in der Familie und zur Verlaufskontrolle von Unterstützungsmaßnahmen durchgeführt. In dem Zeitraum von 2011 bis 2018 wurden insgesamt 2288 Haarproben (Erst- und Kontrolluntersuchungen) von 547 Kindern und Jugendlichen sowie 915 Erwachsenen analysiert. Aus diesem Datenpool wurden 141 Familien (100 Familien mit Ergebnissen für einen oder beide Elternteile sowie ein bis fünf Kinder, 30 Familien mit Ergebnissen nur für beide Elternteile und 11 Familien mit Ergebnissen nur für 2-4 Kinder) für die vorliegende Studie ausgewählt. Knapp 80 % (n = 110) dieser Familien wurden wiederholt getestet (insgesamt 251 Familientests).

Alle Haarproben wurden mittels LC-MS/MS analysiert, wobei lediglich Konzentrationen oberhalb der analytischen Bestimmungsgrenze (3-10 pg/mg) angegeben wurden. Insgesamt wurden in 95,7 % (n = 135) der Erstuntersuchungen ein bis fünf Betäubungsmittel (durchschnittlich 2,3 Betäubungsmittel pro Familientest) in den Haaren von einem bis allen

Familienmitgliedern nachgewiesen. Ein ähnliches Verhältnis positiver Ergebnisse ($n = 104$, 94,5 %) wurde bei den 110 Kontrolluntersuchungen mit einem Mittelwert von 2,0 Betäubungsmittel pro Familie beobachtet. Kokain (79,5 %) und THC (50,2 %) wurden am häufigsten nachgewiesen, gefolgt von Methadon, Heroin, Amphetamin und Ecstasy. Synthetische Opioide (außer Methadon), Benzodiazepine und Diphenhydramin wurden seltener detektiert. Keine Betäubungsmittel wurden in 4,3 % bzw. 5,5 % (Erst- bzw. Kontrolluntersuchung) der Familientests nachgewiesen. In den meisten Tests wurden ein bis drei Substanzen ermittelt.

Durch einen Vergleich der ermittelten Substanzkonzentrationen im Haar wurde versucht, den drogenkonsumierenden Elternteil in den Familien zu bestimmen. Entsprechend den gemessenen Haarkonzentrationen waren die wahrscheinlichsten Drogenkonsumenten die Mutter (25 %), der Vater (24 %), beide Elternteile (16 %), waren unbekannt oder wurden nicht getestet (30 %). Innerhalb der Familien lag die Übereinstimmung der nachgewiesenen Betäubungsmittel zwischen Eltern und Kindern bei 47,8 %, zwischen beiden Elternteilen bei 36,1 % und zwischen Geschwistern bei 42,3 %. Die Kongruenz zwischen Eltern und Kindern nahm deutlich zu, wenn nur Eltern mit Haarkonzentrationen im typischen Bereich des regelmäßigen Drogenkonsums betrachtet wurden. Die prozentuale Übereinstimmung war bei jüngeren Kindern bzw. Geschwistern nochmals höher. Um ebenfalls einen ungefähren quantitativen Eindruck über die Beziehung zwischen den positiven Haarbefunden der Kinder und ihrer Eltern zu bekommen, wurden für die unterschiedlichen Betäubungsmittel die Konzentrationsverhältnisse (Kind/Eltern) ermittelt. Trotz einer starken Streuung der Daten wurden klare Tendenzen festgestellt. Das Konzentrationsverhältnis zwischen Kind und Eltern nahm mit zunehmendem Alter der Kinder ab und war bei Jungen höher als bei Mädchen.

In dieser Studie wurde gezeigt, dass es eine erhebliche Verbreitung illegaler Betäubungsmittel in den getesteten Familien gibt. Das Ausmaß dieser Verteilung variiert allerdings stark und hängt neben der Konsumintensität auch von der Substanz selbst, dem Alter und Geschlecht der Kinder sowie von der jeweiligen Familiensituation ab. Die Haarkonzentration erlaubt nur eine grobe Einschätzung der tatsächlichen Gefährdung des Kindes, sodass weitere Aufklärungsmaßnahmen notwendig sind. Der Vergleich der Haaranalysenergebnisse innerhalb der Familie gibt jedoch einen tieferen Einblick in die Familiensituation und ermöglicht oft auch die Identifizierung des Konsumenten. Die Haaranalyse ist daher besonders hilfreich für soziale und rechtliche Entscheidungen, die zur Verbesserung der Lebensumstände der Kinder beitragen sollen.

3.3.2 Publikation

Pragst F, Krumbiegel F, Thurmann D, Westendorf L, Methling M, **Niebel A**, Hartwig S
Hair analysis of more than 140 families with drug consuming parents. Comparison between hair results from adults and their children. Forensic Sci Int. 2019;297:161-170.
Epub 2019 Feb 6.

<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.01.039>

Nachdruck mit Genehmigung von Forensic Science International, Copyright (2019), Elsevier B.V.

3.4 Manuskript IV

Positive findings of ethyl glucuronide in hair of young children from families with addiction background.

3.4.1 Zusammenfassung

Alkohol- und Drogenmissbrauch im Elternhaus können in vielerlei Hinsicht die positive Entwicklung und Sicherheit von Kindern gefährden. Daher werden häufig in Sorgerechtsverfahren oder zur Einschätzung einer etwaigen Kindeswohlgefährdung Haaranalysen auf einen mutmaßlichen Betäubungsmittel- und/oder Alkoholkonsum durchgeführt. Mit der Bestimmung der Alkoholkonsummarker Ethylglucuronid (EtG) und Ethylpalmitat (EtPa) erfolgen solche Untersuchungen auch im Rahmen des zuvor beschriebenen Kooperationsprojektes mit der Hansestadt Bremen. In dieser Studie wurden die EtG-Befunde von 126 Kindern aus Familien mit Suchtproblemen vorgestellt und im Vergleich zu den Haarbefunden der Eltern diskutiert.

Die Analyse von Ethylglucuronid im Haar zur Abstinenzkontrolle hat sich in den letzten Jahren in der forensischen Toxikologie etabliert. Nach dem aktuellen Konsens der Society of Hair Testing (SoHT) von 2019 spricht eine EtG-Konzentration von < 5 pg/mg nicht gegen eine selbst angegebene Abstinenz einer erwachsenen Person in dem entsprechenden Zeitraum vor der Probenahme [78]. Selbst in den Haaren von strikten Abstinenzlern kann eine geringe basale EtG-Konzentration (0,3-2,1 pg/mg) gemessen werden [79]. Um falsch-negative und falsch-positive Ergebnisse möglichst zu vermeiden, wurde in der vorliegenden Studie für Kinderhaare ein Cut-off-Wert von 3 pg/mg verwendet.

Zwischen 2011 und Juni 2019 wurde Ethylglucuronid in 953 Haarproben von 511 Erwachsenen, 34 Jugendlichen und 126 Kindern (51 Mädchen und 75 Jungen im Alter von 1-14 Jahren) mittels einer validierten LC-MS/MS-Methode bestimmt. Einige der 126 Kinder wurden wiederholt getestet, wodurch insgesamt 161 Haarproben analysiert wurden. Zum Vergleich wurden, sofern diese untersucht wurden, zusätzlich die Ergebnisse des weiteren Alkoholkonsummarkers Ethylpalmitat (EtPa) sowie von Cocaethylen, einem nur bei Mischkonsum von Kokain und Alkohol entstehenden Metaboliten, einbezogen.

In 25 von 161 Haarproben (15,5 %) wurde eine erhöhte EtG-Konzentration von ≥ 3 pg/mg ermittelt. Vier der untersuchten Kinder wurden sogar zweimal in Folge positiv getestet. Unter den positiv getesteten Haarproben waren 88,0 % ($n = 22$) der Kinder im Alter von 1 bis 5 Jahren, während die restlichen drei Haarproben von 9- bis 11-jährigen Kindern stammten. Die

EtG-Konzentrationen lagen zwischen 3,0 und 42,6 pg/mg (Mittelwert 9,55 pg/mg, Median 6,40 pg/mg), wobei sich acht Proben im üblichen Normaltrinkerbereich (7-30 pg/mg) und zwei Proben sogar über dem Grenzwert von 30 pg/mg für erhöhten Alkoholkonsum befanden. Trotz oft nicht in ausreichender Menge vorhandenem Probenmaterial wurde für EtPa in sechs Proben ein erhöhter Wert (0,15-0,46 ng/mg) ermittelt. Cocaethylen (0,02-0,07 ng/mg) wurde zusammen mit einem hohen Kokainbefund in fünf Proben nachgewiesen.

Die Verwandtschaftsbeziehung war nicht in allen Fällen bekannt und oft wurden nur die Eltern untersucht, sodass trotz der relativ großen Anzahl an untersuchten Haarproben ein Vergleich der EtG-Befunde von Kindern und deren Eltern nur für eine begrenzte Familienanzahl möglich war. Von den 161 Kinderhaarproben lagen in 86 Fällen auch die Testergebnisse eines oder beider Elternteile vor. Es konnte ein Zusammenhang zwischen dem Alkoholmissbrauch der Eltern und dem positiven EtG-Nachweis bei ihren Kindern festgestellt werden. In 85,7 % der Fälle mit mindestens einem positiven Elternteil wurden auch EtG-Konzentrationen von ≥ 3 pg/mg in den Haaren ihrer Kinder nachgewiesen.

Anhand der detaillierten Vorstellung von Beispielfällen wurden mögliche Erklärungsansätze für positive Kinderhaarproben umfassend diskutiert. Demnach können positive EtG-Befunde nur durch eine Aufnahme von Ethanol oder durch eine mögliche Kontamination der Haare erklärt werden. Um die in den Kinderhaaren gefundenen EtG-Werte zu erklären, reicht die einmalige Aufnahme einer geringen Menge an Ethanol (z.B. durch versehentliches Kosten vom Glas der Eltern) nicht aus. Hierfür müsste über einen längeren Zeitraum eine größere Menge an Ethanol wiederholt aufgenommen werden. Es erscheint jedoch unwahrscheinlich, dass alkoholische Getränke in dieser Größenordnung häufig von kleinen Kindern ohne das Wissen der Eltern versehentlich eingenommen werden. Eine Kontamination der Haare durch die Anwendung von ethanolhaltigen Pflege- oder Stylingprodukten wurde bereits wissenschaftlich widerlegt [68]. Demnach kann eine Kontamination nur durch Ethylglucuronid selbst erfolgen. Mögliche Kontaminationsquellen stellen EtG enthaltende Kosmetika, Rot- bzw. Weißweine sowie Schweiß oder Urin der konsumierenden Eltern dar. Systematische Kontaminationsversuche wurden bisher allerdings noch nicht durchgeführt und sind momentan Teil einer laufenden Studie am Institut für Rechtsmedizin der Charité.

Zusammenfassend wurde in dieser Studie gezeigt, dass erhöhte EtG-Konzentrationen besonders in Haaren von 1-5-jährigen Kleinkindern aus Familien mit Suchtproblemen keine Seltenheit sind. Die eindeutige Interpretation eines EtG-Befundes von ≥ 3 pg/mg ist momentan nicht möglich. Obwohl eine wiederholte Alkoholaufnahme nicht ausgeschlossen werden kann, erscheint eine äußere Kontamination der Kinderhaare durch EtG-haltige Alkoholika, Schweiß oder Urin der alkoholkonsumierenden Eltern am wahrscheinlichsten.

3.4.2 Publikation

Pragst F, Krumbiegel F, Thurmann D, Westendorf L, Methling M, **Niebel A**, Hartwig S
Positive findings of ethyl glucuronide in hair of young children from families with addiction background. Int J Legal Med. 2020;134(2):523-532. Epub 2020 Jan 21.

<https://doi.org/10.1007/s00414-019-02236-5>

Nachdruck mit Genehmigung von International Journal of Legal Medicine, Copyright (2020), Springer Nature

3.5 Manuskript V

Prevalence of cathinones and other new psychoactive substances in hair of parents and children of families with known or suspected parental abuse of conventional illegal drugs.

3.5.1 Zusammenfassung

Die Anwendbarkeit der Haaranalyse zur Einschätzung einer etwaigen Kindeswohlgefährdung wurde bereits in den zwei vorherigen Studien gezeigt. Neben erhöhten EtG-Konzentrationen in den Kinderhaaren konnte auch eine erhebliche Verbreitung illegaler Betäubungsmittel (v.a. Kokain, Cannabis, Amphetamine/Ecstasy und Heroin) in den getesteten Familien festgestellt werden. Für eine realistische Einschätzung einer möglichen Kindeswohlgefährdung wird jedoch auch in diesem Kontext ein Überblick über die Konsumhäufigkeit von neuen psychoaktiven Substanzen benötigt. Das Ziel dieser Studie bestand somit darin, die Prävalenz von NPS in dieser speziellen Population zu bestimmen. Weiterhin wurden die Haarbefunde der Familienmitglieder verglichen und mögliche Zusammenhänge zwischen dem Konsum von Betäubungsmittel und NPS untersucht.

Für die Untersuchung auf NPS konnte die zuvor entwickelte und validierte Analysenmethode nun auch auf Haarprobenextrakte der Familien mit vermutetem oder bekanntem Konsum gängiger Rauschmittel (Betäubungsmittel und Alkohol) angewendet werden. Bis zur Nachmessung auf NPS wurden die aus den vorherigen Untersuchungen zurückgebliebenen Haarextrakte bis zu fünf Jahre in gefrorenem Zustand bei -20°C aufbewahrt.

In die vorliegende Studie wurden 1537 Haarprobenextrakte eingeschlossen. Diese stammten von zum Teil wiederholt getesteten 318 Kindern (1-14 Jahre, 57,7 % Jungen), 44 Jugendlichen (15-17 Jahre, 56,8 % Jungen) sowie 611 Erwachsenen (18-70 Jahre, 43,4 % Männer) und repräsentieren den Zeitraum von Juni 2016 bis April 2021. Von den getesteten Kindern waren 161 in einem Alter zwischen 1-5 Jahren. Das Durchschnittsalter der Erwachsenen lag bei 33,3 Jahren. Insgesamt wurde in 227 Fällen (14,8 %) mindestens eine neue psychoaktive Substanz nachgewiesen, wobei bei den gleichen Personen in 19 Fällen auch die im Abstand von ca. 6 Monaten durchgeführte Wiederholtestung positiv für NPS war. Die relative Häufigkeit an positiven Fällen nahm von 2016 bis 2021 ab. Weiterhin handelte es sich bei der Mehrzahl der positiven Ergebnisse lediglich um eindeutig identifizierte Spuren (Signal-Rausch-Verhältnis von deutlich über 3). Die quantitative Bestimmung der Substanzkonzentrationen war nur bei 34 Fällen für 15 verschiedene NPS möglich. Da die Ergebnisse dieser Studie auf

Haarextrakten beruhen, die mehrere Monate bis zu Jahren bei -20°C gelagert wurden, konnte ein teilweiser Abbau der NPS während dieser langen Zeit nicht ausgeschlossen werden. Um einen ungefähren Eindruck über die Langzeitstabilität der NPS zu erhalten, wurden daher weitere 27 Haar-Rückstellproben von Fällen, die nach der ersten Analyse noch zur Verfügung standen und unter trockenen Bedingungen bei Raumtemperatur und vor Licht geschützt gelagert wurden, extrahiert und analysiert. Im Vergleich zeigte sich, dass die Mehrheit der zuvor positiv getesteten NPS auch in den neu aufbereiteten Extrakten nachweisbar war. In sechs Proben konnten die Spurenbefunde (z.B. für 3,4-DMMC oder MOPPP) nicht bestätigt werden. Der Schwerpunkt dieser Studie sollte daher auf der Auswertung der qualitativen Daten liegen.

Unter den insgesamt 42 verschiedenen nachgewiesenen NPS waren Bazedron ($n = 62$), α -Pyrrolidinovalerophenon ($n = 41$), N-Ethylamphetamin ($n = 29$), Dimethyltryptamin ($n = 13$) und Pyrovaleron ($n = 11$) die am häufigsten detektierten Analyten. Durch die im Vorfeld durchgeführte Untersuchung auf Betäubungsmittel konnte in dieser Studie ein Vergleich bezüglich der nachgewiesenen BtM und NPS erfolgen. Keine Betäubungsmittel wurden zu ungefähr gleichen Anteilen (23,8 % vs. 21,6 %) unter den NPS-negativen Proben und den NPS-positiven Proben ermittelt. Kokain und THC waren die häufigsten Betäubungsmittel in beiden Gruppen, wobei die relative Häufigkeit in den 227 NPS-positiven Proben gegenüber den 1310 NPS-negativen Proben für Kokain (69,6 % vs. 56,0 %), Heroin (8,8 % vs. 4,9 %), Amphetamin (16,3 % vs. 7,7 %) und MDMA (16,3 % vs. 7,0 %) höher war. Bei THC (38,3 % vs. 36,3 %) und Benzodiazepinen (1,8 % vs. 1,7 %) wurde eine ähnliche Häufigkeit beobachtet. Auffällig war hingegen, dass in 86,2 % der positiven Fälle für N-Ethylamphetamin auch Amphetamin nachgewiesen wurde. Daher wurden im Rahmen dieser Studie ebenfalls mögliche Erklärungsansätze für die Herkunft von N-Ethylamphetamin diskutiert. Neben der Verwendung als NPS erscheint dessen Bildung als Nebenprodukt bei der illegalen Amphetamin-Synthese am wahrscheinlichsten.

Ein Vergleich der positiven NPS-Befunde zwischen Eltern und deren Kindern gestaltete sich aufgrund der sehr niedrigen Konzentrationen schwierig. Zudem wurden nicht immer alle Familienmitglieder getestet und die Verwandtschaftsbeziehung war in einigen Fällen unbekannt. Aus den 227 positiven Fällen wurden 17 Familien, bei denen die Probenahme für alle Familienmitglieder zur gleichen Zeit stattfand, identifiziert und im Detail vorgestellt. Die in den Haarextrakten der Kinder nachgewiesenen NPS stimmten immer mit den Befunden eines oder beider Elternteile überein, während die gleichen NPS nur in etwa der Hälfte der Fälle bei beiden Elternteilen vorkamen.

Trotz der eingeschränkten quantitativen Auswertung wurde in dieser Studie zusammenfassend gezeigt, dass eine erneute Untersuchung von gefroren gelagerten Haarextrakten auf NPS noch nach Jahren möglich ist. Weiterhin scheint ein Umgang mit NPS auch bei Eltern mit bekanntem Konsum gängiger Rauschmittel durchaus eine Rolle zu spielen. Neue psychoaktive Substanzen wurden in dieser Studie erstmals auch in den Haaren der Kinder nachgewiesen. Neben der Untersuchung auf Alkoholmarker und herkömmliche Betäubungsmittel kann die Analyse auf neue psychoaktive Substanzen besonders bei unklaren Fällen von Kindeswohlgefährdung hilfreich sein.

3.5.2 Publikation

Niebel A, Pragst F, Krumbiegel F, Hartwig S

Prevalence of cathinones and other new psychoactive substances in hair of parents and children of families with known or suspected parental abuse of conventional illegal drugs. Forensic Sci Int. 2021;331:111148. Epub ahead of print.

<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111148>

Nachdruck mit Genehmigung von Forensic Science International, Copyright (2021), Elsevier B.V.

4 Abgrenzung der Eigenleistung

Die Grundlage dieser kumulativen Dissertation stellen fünf Publikationen dar. Die Eigenleistungen des Autors an den einzelnen Publikationen werden in der nachfolgenden Tabelle im Detail aufgeführt.

Tabelle 1: Anteil der Eigenleistung an den in dieser kumulativen Arbeit zusammengefassten Manuskripten.

Manuskript	Eigenleistungsanteil in [%]			
	Konzeption	Durchführung	Auswertung	Manuskripterstellung
I	80	80	90	90
II	90	60	90	90
III	10	30	40	10
IV	10	40	50	10
V	70	90	80	50

5 Diskussion

5.1 Bedeutung der Ergebnisse und Einschränkungen

In den letzten Jahren hat sich der illegale Betäubungsmittelmarkt stark verändert. Neben den klassischen Betäubungsmitteln (u.a. Amphetamin, Kokain, Heroin, Cannabis) ist der Markt durch das rasche Aufkommen neuer psychoaktiver Substanzen geprägt, welche als vermeintlich „legale“ Alternativen zu illegalen Betäubungsmitteln verkauft werden. Konsumenten von NPS scheinen bereit zu sein, die in Internetforen beworbenen Substanzen auszuprobieren, obwohl es nur sehr wenige oder gar keine wissenschaftlichen Daten zu deren pharmakologischen Wirkungen und über mögliche Folgeschäden gibt, die diese verursachen können. Dies ist ein weltweit wachsendes Problem und stellt Toxikologen und Strafverfolgungsbehörden, die mit möglichen NPS-Konsumenten zu tun haben können, vor neue Herausforderungen. Besonders die Unwissenheit über die richtige Dosierung sowie die deutlich höhere Potenz von einigen NPS führten bereits zu mehreren Vergiftungsfällen und auch zu der in der Literatur beschriebenen hohen Anzahl an NPS-bedingten Todesfällen [19, 30, 80]. Eine Schwierigkeit beim Nachweis von NPS besteht darin, dass sie in der Regel nicht durch routinemäßig genutzte Screening-Verfahren nachgewiesen werden können, da diese Substanzen beispielsweise nicht mit den üblichen Immunoassays interagieren [81]. Weiterhin gestalten sich der Nachweis und die Identifizierung von NPS schwierig, da die chemischen, chromatographischen und massenspektrometrischen Eigenschaften vieler Substanzen sehr ähnlich sind [82]. Darüber hinaus gehören NPS häufig nicht zum Portfolio der analysierenden Laboratorien, da entsprechende Referenzstandards nicht verfügbar sind [83]. Zudem erschweren die Komplexität der zu untersuchenden Probenmatrix selbst und die oftmals geringe Konzentration von NPS in biologischen Proben den Nachweis dieser Verbindungen [84]. Eine große Dunkelziffer kann demnach angenommen werden.

Neben der Postmortem-Analytik spielen NPS auch in straf- und familienrechtlichen Angelegenheiten, im Straßenverkehr [85] sowie im Rahmen der Medizinisch-Psychologischen-Untersuchungen (MPU) eine zunehmende Rolle, denn von vielen Konsumenten wird berichtet, dass man für einen Abstinenznachweis einfach auf die „legalen“ und meist nicht getesteten NPS umsteigen kann, ohne einen Konsum von Rauschmitteln einstellen zu müssen. Der Sinn einer Abstinenzprüfung (z.B. für eine MPU) unter Ausschluss des Gebrauchs „klassischer“ Betäubungsmittel ist damit fraglich, so dass Analysenlabore dieser Herausforderung bestmöglich mit geeigneten Nachweismethoden begegnen müssen.

Zur Überprüfung einer Abstinenzbehauptung werden in der forensischen Toxikologie bevorzugt Haare untersucht. Die Haarmatrix bewährt sich aber auch für andere retrospektive

Fragestellungen (z.B. Substanzbeibringung, Beurteilung der Substanzgewöhnung, Compliance-Kontrolle), da mit ihr ein Nachweis über eine länger zurückliegende bzw. chronische Substanzaufnahme möglich ist. Damit für solche Fragestellungen eine Untersuchung auf NPS am Institut für Rechtsmedizin der Charité Berlin möglich ist, war es zunächst Ziel dieser Arbeit, eine Analysenmethode zum Nachweis und zur Quantifizierung von neuen Stimulanzien (v.a. synthetische Cathinone und Piperazine) im Haar zu entwickeln und zu etablieren. Die Flüssigchromatographie in Kopplung mit der Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) wurde für die hochempfindliche Bestimmung der NPS herangezogen.

Allgemein können Substanzen aus der Haarmatrix durch verschiedene Methoden (z.B. mittels enzymatischer oder chemischer Lyse [86], wässrige/organische Lösungsmittel [40, 87, 88], oder Puffer [88]) extrahiert werden. In der Regel ist nach einer Lyse der Haarmatrix allerdings noch ein anschließender Aufreinigungsschritt (z.B. Flüssig-Flüssig- oder Festphasenextraktion [88]) notwendig. Dieser zusätzliche Arbeitsaufwand entfällt bei der in dieser Arbeit angewandten Extraktionsmethode mittels Puffer. Dieses Verfahren wurde bereits zuvor für eine Vielzahl an chemisch unterschiedlichen Analyten publiziert [89] und eignet sich auch für die Extraktion von NPS aus Haaren. Eine weitere Probenaufreinigung bzw. Analytanreicherung war aufgrund der sehr niedrigen ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sowie der geringen Matrixeffekte nicht nötig. Neben der Probenvorbereitung sollten auch die Methodenparameter möglichst an die Bedingungen der bereits in der Laborroutine etablierten Methoden angepasst werden, um die neue Analysenmethode nach Abschluss der Validierung möglichst einfach in die Routineabläufe zu implementieren. Dies wurde durch die Verwendung der ebenfalls in der Routine eingesetzten chromatographischen Trennsäule, Laufmittel und deuterierten Standards realisiert.

Zur Erhöhung der Sensitivität der Analysenmethode wurden die zuvor ermittelten Massenübergänge jedes einzelnen Analyten in eine „dynamic“ MRM-Methode integriert. Diese Methodeneinstellung hat den Vorteil, dass die analytspezifischen Massenübergänge nur in einem bestimmten Zeitfenster um eine festgelegte Retentionszeit betrachtet werden, wodurch die Anzahl der gemessenen Massenübergänge pro Zeiteinheit reduziert und die Empfindlichkeit der Methode erhöht wird. Durch die Verwendung eines Laufmittelgradienten wurden weiterhin die chromatographische Trennung der Analyten und die Laufzeit der Methode optimiert. Im Rahmen der anschließenden Methodvalidierung wurden die Selektivität, Linearität, Richtigkeit und Präzision der Ergebnisse, analytische Grenzen, Stabilität der Analyte sowie Wiederfindung und mögliche Matrixeffekte untersucht. Es zeigten sich keine störenden Interferenzen. Durch die Verwendung der Wichtungsfaktoren $1/x$ und $1/x^2$ wurde für alle 35 Analyten eine Linearität der Kalibration mittels Mandel-Test (Signifikanz 99 %) bestätigt. Die ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen lagen im Bereich von

Pikogramm pro Milligramm Haar. Die Kontrollproben für die Bestimmung der Genauigkeit, Stabilität, Wiederfindung und Matrixeffekte erfüllten ebenfalls alle von der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie geforderten Kriterien. Im Vergleich zu vorherigen Studien [81, 83, 90] konnte in dieser Arbeit eine größere Anzahl an Analyten eingeschlossen werden.

Trotz der erfolgreichen Methodenentwicklung und -validierung müssen auch einige Einschränkungen der Analysenmethode diskutiert werden. Um die NPS in authentischen Haarproben quantifizieren zu können, wurde für die Kalibrierung eine negative Haarmatrix mit bekannten Mengen an Analyten dotiert. Diese Vorgehensweise kann jedoch den Haarextrakt einer authentischen, NPS-positiven Haarprobe nicht vollumfänglich nachbilden. Das Einweichen von negativen Haaren in einer Analytenlösung führt ebenfalls nicht zu realistischen Extrakten [91]. Eine weitere von Cuypers et al. beschriebene Möglichkeit, die Homogenisierung von dekontaminierten authentischen Haarproben, birgt die Gefahr von Verlusten bei der Dekontamination dieser Haare und damit auch veränderten Haarkonzentrationen. Weiterhin ist die Menge solcher Haare begrenzt und die absolute Konzentration der Analyten in der Haarprobe unbekannt [91]. Der in dieser Arbeit verfolgte Ansatz kann jedoch durch die Messung von externen Kontrollproben gerechtfertigt werden. Externe Kontrollproben, wie z.B. Ringversuche nur für NPS, existieren allerdings bisher noch nicht und die Kontrollproben, die verfügbar sind, enthalten lediglich nur eine geringe Anzahl an NPS. Dass die entwickelte Analysenmethode die Anforderung eines solchen Ringversuchs zufriedenstellend erfüllt, zeigt beispielsweise die Auswertung des Ringversuchs „Drogenscreening in Haar 1/21“ von Arvecon (Sollkonzentration von MDPV: 0,21 ng/mg; ermittelte Konzentration: 0,19 ng/mg). Die genannten Einschränkungen sollten allerdings nicht nur in dieser Arbeit, sondern allgemein bei der Haaranalytik stets berücksichtigt werden.

Eine weitere Limitation der Methode ist auf die gewählten Bedingungen (z.B. Trennsäule) zurückzuführen. So ist es nicht möglich, Stellungsisomere, wie beispielsweise 3-MMC und 4-MMC (Mephedron), chromatographisch zu trennen. Aufgrund der gleichen Summenformel und ähnlichen Struktur besitzen diese ein vergleichbares Fragmentierungsverhalten mit nahezu gleichen Ionenverhältnissen. Eine massenspektrometrische Unterscheidung gelingt daher nicht oder nur unzureichend. Dennoch kann diese Methode nützliche Informationen liefern, insbesondere in Situationen, in denen die Aussagen der Probanden mit Vorsicht interpretiert werden sollten (z.B. MPU oder familienrechtliche Fälle) sowie bei postmortalen Untersuchungen, bei denen Hintergrundinformationen zum Fall nicht immer verfügbar sind. Im Rahmen von Abstinenznachweisen spielt die Isomerentrennung ohnehin eine untergeordnete Rolle.

Zusätzlich sollten durch diese Arbeit weitere Erkenntnisse zur allgemeinen Nachweisbarkeit von NPS in Haaren erhalten werden. Zur Überprüfung der Anwendbarkeit der Methode wurden daher 40 Haarproben aus unterschiedlichen Anwendungsbereichen, wie der Postmortem-Analytik, der Fahreignungsbegutachtung oder von familiengerichtlichen Fällen, untersucht. Neben klassischen Betäubungsmitteln wurden insgesamt 11 verschiedene synthetische Cathinonderivate in 30 % (n = 12) der untersuchten Haarproben nachgewiesen. In dieser Studie konnte somit gezeigt werden, dass die Analyse von Haaren mittels der entwickelten Methode geeignet ist, um eine NPS-bezogene Konsumvergangenheit aufzudecken. Insbesondere bei bekanntem Betäubungsmittelabusus ist eine Untersuchung auf Designerstimulanzien sinnvoll. Aufgrund von unzureichenden Vergleichsdaten sind für die Einordnung der gemessenen Substanzkonzentrationen jedoch weitere Studien erforderlich. Dies wird nochmals anhand eines Bupropion-positiven Falles deutlich. Bei diesem Fall wurden 3,47 ng/mg Bupropion im Haar eines Verstorbenen sowie 3,49 ng/ml im Venenblut nachgewiesen. Die Einschätzung einer möglichen Toleranzentwicklung und der daraus resultierenden akuten Beeinflussung zum Todeseintritt war durch fehlende Vergleichsfälle erschwert.

Eine umfassende Erweiterung der wissenschaftlichen Datengrundlage stand daher im Fokus dieser Arbeit. Dabei sollten nicht nur neue Erkenntnisse zu den in Haaren zu erwartenden NPS-Konzentrationen, der Prävalenz und möglicher Trends des NPS-Konsums erhalten werden; es sollte anhand der Ergebnisse auch eine fundierte Interpretation ermöglicht werden. Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten stammen nicht aus für diesen Zweck bevorzugten kontrollierten Dosis-Studien, sondern wurden auf indirektem Weg durch die Analyse von postmortalen Haarproben ermittelt und beinhalten entsprechende Unsicherheiten (z.B. unbekannte Konsumhäufigkeit und Haarkosmetik). Dennoch können die in retrospektiven Studien ermittelten Daten zur Klärung dieser Fragen beitragen. Weiterhin zeigen auch die meisten kontrollierten Dosis-Studien keinen linearen Zusammenhang zwischen eingenommener Wirkstoffmenge und im Haar ermittelter Substanzkonzentration [92, 93]. Dies lässt sich hauptsächlich auf die interindividuellen Variationen, wie beispielsweise die Haarfarbe, zurückführen [49].

Auch wenn für die Bestimmung der Prävalenz negative Befunde genauso wertvoll sind wie positive Befunde, wurde zugunsten möglicher quantifizierbarer, NPS-positiver Haarproben eine Selektion des zu untersuchenden Kollektivs durchgeführt. Die grobe Eingrenzung bezog sich auf das Alter der Verstorbenen (bis 60 Jahre) und die Fallgeschichte. Aus der ersten Studie war bereits bekannt, dass ein NPS-Konsum unter polyvalenten Drogenkonsumenten wahrscheinlich ist. Daher wurden vor allem Verstorbene mit einem bekannten oder vermuteten Betäubungsmittelabusus in die retrospektive Studie eingeschlossen. Die Tatsache, dass

zwischenzeitlich immer mehr und verschiedene NPS auftauchten, erforderte zunächst eine Ergänzung der verwendeten Nachweismethode mit Vertretern aus unterschiedlichen Substanzgruppen (u.a. Phenethylamine, Cathinone, Benzodiazepine, Opiode, Halluzinogene). Während dieser Erweiterung auf 67 NPS wurden ebenfalls minimale Änderungen der Quellenparameter vorgenommen. Die deutlich erweiterte Analysenmethode wurde anschließend erfolgreich revalidiert. Mit den sehr niedrigen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (3-14 pg/mg bzw. 5-24 pg/mg) konnte eine Detektion dieser Substanzen im Spurenbereich erreicht werden.

In der retrospektiven Studie wurden 1203 postmortale Haarproben aus den Jahren 2008 bis 2020 analysiert. Damit berücksichtigte diese Studie die größte Fallzahl sowie einen deutlich längeren Zeitraum als die zuvor publizierten Untersuchungen. Insgesamt wurden 48 verschiedene NPS in 381 Fällen (31,6 %, davon 77 % Männer) nachgewiesen, wobei die meisten positiven Fälle (19 %, n = 73) unter den 31- bis 35-jährigen Verstorbenen auftraten. Die Geschlechts- und Altersverteilung ist mit anderen Studien vergleichbar [94-96]. N-Ethylamphetamin wurde in dieser Studie am häufigsten nachgewiesen, gefolgt von α -Pyrrolidinovalerophenon, Mephedron, Bazedron, Metamfepramon und 4-Fluor-amphetamin. Viele der nachgewiesenen Substanzen wurden im gesamten Untersuchungszeitraum jedoch nur vereinzelt detektiert, sodass eine Zu- oder Abnahme von bestimmten NPS vor und nach Einführung des NpSG nicht bestimmbar war. Es konnte lediglich ein Anstieg an positiven Fallzahlen von 2008 bis 2020 festgestellt werden. Weiter hervorzuheben ist, dass ungefähr ein Drittel der Haarproben positiv für mehrere NPS war. Dies wäre mit einem Konsum von unterschiedlichen NPS vereinbar. Andererseits kann dies auch dadurch erklärt werden, dass namensgleiche Produkte unterschiedliche NPS enthalten oder verschiedene NPS gleichzeitig in einem Produkt vorkommen können [9].

Verschiedene Studien deuten auf einen Konsum von NPS vor allem unter Jugendlichen hin [97, 98]. Die ermittelte Prävalenz unter den Jugendlichen (bis 20 Jahre) lag in dieser Arbeit bei 3,6 %. Im Vergleich zur Lebenszeitprävalenz von 3,8 %, welche im Rahmen der aktuellen europäischen Schülerbefragung zum Alkohol- und Drogenkonsum für Deutschland ermittelt wurde, stimmen unsere Daten sehr gut überein [98]. Deutlich höhere Konsumprävalenzen wurden dagegen unter Hochrisikogruppen (z.B. polyvalente Betäubungsmittelkonsumenten) sowie Orten mit einer größeren Bevölkerungsdichte festgestellt [99, 100]. Einer Befragung von Personen aus der Berliner Partyszene nach, gaben beispielsweise nach dem am häufigsten genannten Alkoholkonsum auch 15,9 % der Befragten einen Konsum von synthetischen Cathinonen an [101]. Bretteville-Jensen et al. berichten hingegen in einer Übersichtsarbeit zur Vermarktung und Prävalenz von synthetischen Cannabinoiden und Cathinonen von einer sehr heterogenen Konsumhäufigkeitsverteilung. Die Prävalenz schwankt dabei zwischen 2-20 %

unter Studenten und 4-63 % unter Personen mit einem hohen Betäubungsmittelkonsum [18]. Aktuellere Untersuchungen zur Konsumhäufigkeit von NPS mittels Haaranalyse beschreiben eine Prävalenz von 0,3-37 % [81, 83,102-105]. Die in dieser Studie ermittelte Prävalenz von 31,6 % liegt ebenfalls in diesem Größenordnungsbereich und ist vergleichbar mit gemessenen Konsumhäufigkeiten in Paris (29 %) und New York (32,5 %) [102, 103]. Trotz dieser guten Übereinstimmung ist ein Vergleich der Studien nur bedingt möglich. Neben der bereits zuvor genannten Unwissenheit über die Inhaltsstoffe von NPS-Produkten können diese Substanzen auch als Zusatz- oder Ersatzstoffe in herkömmlichen Betäubungsmitteln enthalten sein [106, 107]. Folglich wird ein Substanzkonsum bei Umfrageerhebungen in der Regel unterschätzt [108]. Im Vergleich zu Befragungen liefern die Analysen von biologischen Proben unbeeinträchtigte Ergebnisse, die eine objektive Einschätzung der Konsumsituation ermöglichen. Allerdings sind auch diese Untersuchungen, z.B. durch die Art und Anzahl an untersuchten Analyten oder die Wahl der Untersuchungsmatrix und Studienpopulation, eingeschränkt. Insbesondere die meist positiv verzerrte Auswahl an Untersuchungsfällen muss dabei benannt werden. Zusätzlich repräsentieren die in dieser Arbeit untersuchten Haarproben, bedingt durch zwei rechtsmedizinische Einrichtungen, nicht alle möglichen NPS-Fälle aus Berlin. Alle genannten Studien sind eher als Momentaufnahmen der Konsumhäufigkeit in unterschiedlichen Zeiträumen sowie in verschiedenen Ländern und Teilgruppen der Allgemeinbevölkerung zu verstehen und dementsprechend zu interpretieren. Eine Übertragung dieser Ergebnisse auf die allgemeine Bevölkerung ist somit nicht möglich. Dennoch wurde mit dieser Arbeit ein guter Überblick für die forensisch-toxikologische Fallarbeit geschaffen.

Die im Haar gemessenen Substanzkonzentrationen an NPS sind mit den wenig vorhandenen Literaturdaten vergleichbar [83, 87, 90, 102, 103, 109, 110]. Während überwiegend sehr niedrige Haarkonzentrationen ($< 0,5$ ng/mg) ermittelt wurden, konnten in einigen Fällen sehr hohe Haarkonzentrationen (> 100 ng/mg) nachgewiesen werden. Larabi et al. beschreiben ähnliche Konzentrationsbereiche in Haaren und unterscheiden aufgrund des niedrigen Medians der Haarkonzentrationen zwei Populationen. Die Autoren nehmen an, dass Haarkonzentrationen im Bereich von Pikogramm pro Milligramm Haar auf einen gelegentlichen NPS-Konsum und Konzentrationen im Bereich von Nanogramm pro Milligramm Haar auf einen regelmäßigen Konsum hindeuten [102]. Andere Studien erklären die niedrigen Haarkonzentrationen durch eine gelegentliche Exposition oder geringe Inkorporation der Substanzen in die Haarmatrix [105]. Zur Kompensation der großen Streuung der Daten sowie zur besseren Vergleichbarkeit und Interpretation von positiven Haarbefunden wurden die gemessenen Konzentrationen einiger NPS in dieser Arbeit in Perzentile unterteilt. Dieser Ansatz hat sich in der forensischen Haaranalytik bereits auch in anderen Studien als geeignet erwiesen, um Substanzkonzentrationen im Haar besser beurteilen zu können [87, 111-113].

Dabei wird angenommen, dass der untere Bereich (minimaler Wert bis 25. Perzentil) mit einem seltenen bis mäßigen Substanzkonsum, der mittlere Bereich (25. bis 75. Perzentil) mit einem gelegentlichen Konsum und der obere Bereich ($\geq 75.$ Perzentil) mit einem häufigen Konsum sowie einer möglichen Toleranzentwicklung assoziiert ist [40, 87]. Inwieweit diese Einteilung auch auf NPS zutrifft, kann angesichts nur weniger Vergleichsstudien durch diese Arbeit nicht geklärt werden. Im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Einzelkonzentrationen mit unbekannter Aufnahmemenge und -häufigkeit, stellt die perzentile Darstellung der Haarkonzentrationen jedoch eine bedeutende Grundlage für eine fundierte Interpretation dar. Musshoff et al. publizierten in einer Studie zu einer perzentilen Konzentrationsverteilung von mehr als 100 Betäubungsmitteln und ihren Metaboliten ebenfalls Haarkonzentrationen für Mephedron und MDPV [87]. Trotz einer geringeren Stichprobengröße in dieser Arbeit konnten ähnliche Perzentile für diese zwei synthetischen Cathinone ermittelt werden. Der geringe Konzentrationsunterschied ist wahrscheinlich auf die untersuchten Kollektive mit unterschiedlichem Konsumverhalten (Betäubungsmittelkonsumenten vs. straf- und familienrechtliche Fälle) sowie die verschiedene Probenaufarbeitung (u.a. Extraktion mittels Puffer vs. Methanol) zurückzuführen.

Im Hinblick auf die wenigen Prävalenzstudien und die selten publizierten Haarkonzentrationen hat diese Arbeit einen bedeutenden Beitrag zur Erweiterung der Daten über neue psychoaktive Substanzen in Haaren geleistet. Für einige der untersuchten NPS wurden die berechneten Perzentile zum ersten Mal veröffentlicht. Auch für selten publizierte Substanzen konnten quantitative Daten vorgestellt werden. Betrachtet man beispielsweise den Bupropion-positiven Fall aus der ersten Studie mit den aus dieser Studie gewonnenen Erkenntnissen, so können folgende Aussagen abgeleitet werden. Die ermittelte Konzentration von 3,47 ng/mg liegt im oberen Bereich der Werte (75. Perzentil ab 1,06 ng/mg), welche allgemein im Haar festgestellt werden und ist mit einem häufigen Konsum vereinbar. Eine Toleranzentwicklung bzgl. Bupropion kann demnach vorgelegen haben. Neben der Verwendung als Rauschmittel wird Bupropion unter anderem auch zur Behandlung von depressiven Störungen eingesetzt [114]. Im vorliegenden Fall wird die Annahme eines Missbrauchs von Bupropion allerdings durch zwei weitere Studien gestützt. Ramírez Fernández et al. wiesen Konzentrationen zwischen 0,05-0,6 ng/mg in Haaren von Patienten mit bekannter Medikamentenanamnese nach [115]. Methling et al. stellten Bupropion-Konzentrationen in Perzentilen (Mittelwert: 0,0701 ng/mg; Median: 0,0164 ng/mg) von Verstorbenen mit bekannter Einnahme von Antidepressiva vor [113]. Die in dieser Arbeit ermittelte Konzentration (3,47 ng/mg) liegt somit deutlich über dem Bereich, welcher nach einer therapeutischen Einnahme zu erwarten ist. Die Befundinterpretation sollte jedoch noch mit Vorsicht und unter der Berücksichtigung der jeweiligen Fallumstände erfolgen, da die statistische Aussagekraft, aufgrund der teilweise noch geringen Anzahl an positiven Fällen, für einige Analyten begrenzt ist. Weitere Studien,

einschließlich einer größeren Anzahl positiver Fälle, sind für eine zuverlässige Bewertung erforderlich. Dennoch können die quantitativen Daten aus dieser Studie bereits jetzt die Einschätzung von NPS-Haarkonzentrationen unterstützen.

Die gute Übereinstimmung der postmortalen Haarkonzentrationen mit Literaturdaten und anderen perzentilen Statistiken zu lebenden Personen lassen, unter Vorbehalt der genannten Einschränkungen und weiterer Forschungsarbeiten, eine Übertragbarkeit der Erkenntnisse möglich erscheinen. Nichtsdestotrotz sollte dies nicht ohne eine kritische Überprüfung erfolgen. Das betrifft besonders solche Fragestellungen, bei denen positive Befunde zu schwerwiegenden Konsequenzen für die Testperson führen sowie falsch negative Befunde unter Umständen zu einer fortgesetzten Gefährdung Dritter beitragen können. Eine solche Fragestellung stellt die Haaranalyse zur Einschätzung einer Kindeswohlgefährdung dar. Generell lassen sich Substanzkonzentrationen in Kinderhaaren bisher nur schwer beurteilen, da Vergleichsstudien kaum existieren oder nur vereinzelte Fälle beschrieben sind [45, 116-118]. Weiterhin unterscheiden sich Kinderhaare von denen Erwachsener nicht nur durch das Wachstumsverhalten (z.B. Verhältnis von anagenen/telogenen Haaren, unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeit), sondern auch durch ihre dünnere und porösere Struktur [49]. Diese eignet sich besonders für eine externe Substanzeinlagerung durch den eigenen oder elterlichen Schweiß, Sebum, Rauch oder aus einer kontaminierten Umgebung [117]. Diese strukturellen und wachstumsbedingten Unterschiede können allerdings für Kinder ab 3 Jahren vernachlässigt werden, da ab diesem Alter die Haarmatrix vergleichbar zu jener der Erwachsenen ist [118, 119].

Durch drei weitere Studien in dieser Arbeit wurden der Kenntnisstand und die Interpretation solcher Kinderhaarbefunde verbessert. In dem zuvor beschriebenen Unterstützungsprojekt werden seit 2011 Haarproben von Eltern und deren Kindern aus Familien mit einem vermuteten oder bekannten Suchtproblem untersucht. Zur Ermittlung des möglichen Betäubungsmittelkonsumenten und einer Beziehung zwischen den Befunden der Eltern und der Kinder wurden 251 Haarbefunde, welche von 141 wiederholt getesteten Familien stammten, betrachtet. Sowohl bei den Erstuntersuchungen als auch bei den Kontrolluntersuchungen wurde in über 90 % der Fälle mindestens ein Betäubungsmittel nachgewiesen. Die hohe Anzahl an positiven Kontrolluntersuchungen kann jedoch nicht als Hinweis auf erfolglose Bemühungen der Kinder- und Jugendfürsorge gewertet werden, sondern ist hauptsächlich auf die bevorzugte Kontrolle von kritischen Fällen zurückzuführen. Zudem sind die Haarkonzentrationen in den Folgeanalysen sehr oft deutlich niedriger. Anstatt eines pauschalen Vergleichs sollte die Analyse der Entwicklung durch eine separate Auswertung der Ergebnisse für jede getestete Person erfolgen [48]. Eine Übereinstimmung der nachgewiesenen Betäubungsmittel zwischen Kindern und Eltern lag in ungefähr der Hälfte

der Fälle vor (47,8 %) und nahm nochmals deutlich zu, wenn ein regelmäßiger Betäubungsmittelkonsum der Eltern belegt wurde oder jüngere Kinder untersucht wurden. Anhand der ermittelten Haarkonzentrationen konnten die Mutter (25 %), der Vater (24 %) oder beide Elternteile (16 %) als die wahrscheinlichsten Konsumenten identifiziert werden. Weiterhin wiesen Jungen für fast alle Betäubungsmittel ein größeres Konzentrationsverhältnis (Kind/Eltern) auf, wobei die ermittelten Substanzkonzentrationen in den Haaren der Kinder allgemein deutlich niedriger waren als bei den Eltern. Neben einer möglichen Konzentrationserniedrigung durch aggressive haarkosmetische Behandlungen (z.B. Färbung oder Bleichung), welche bei Kleinkindern eher vernachlässigbar sind, können sehr niedrige Haarkonzentrationen auch durch eine externe Kontamination erklärt werden. Besonders jüngere Kinder verbringen in der Regel mehr Zeit in einer kontaminierten Umgebung (z.B. Wohnung der konsumierenden Eltern), nehmen kontaminierte Gegenstände möglicherweise in den Mund und haben einen engeren Körperkontakt zu ihren Eltern. Zudem kann die höhere Atemfrequenz von Kleinkindern [120] zu einer höheren inhalierten Dosis von gerauchten Betäubungsmitteln (z.B. Cannabis) führen sowie die zuvor beschriebene dünnere und porösere Haarstruktur die Substanzeinlagerung aus externen Quellen begünstigen. Die Möglichkeit der externen Kontamination sollte stets bei allen Anwendungen der Haaranalyse berücksichtigt werden. Um einen Konsum von einer Kontamination zu unterscheiden werden in der Literatur verschiedene Verfahren beschrieben. Die kontrovers diskutierte Analyse der während der Probenvorbereitung im Rahmen der Dekontamination erhaltenen Waschlösung stellt eine Möglichkeit dar [121, 122]. Dabei spricht eine größere Substanzkonzentration in der Waschlösung im Vergleich zum Haarextrakt für eine kürzlich stattgefundenen Kontamination der Haare. Eine länger zurückliegende Kontamination ist dadurch jedoch nicht mehr bestimmbar [40]. Die systematische Aufnahme einer Substanz kann hingegen nur durch den Nachweis eines nicht-hydrolytischen Metaboliten belegt werden [40]. Metaboliten können allerdings beispielsweise auch in postmortalen Haaren nach einer Kontamination mit Fäulnisflüssigkeit [123] oder in Kinderhaaren durch eine Übertragung des Schweißes der konsumierenden Eltern nachgewiesen werden [45, 116]. Während die Bestimmung von Konzentrationsverhältnissen (Metabolit/Muttersubstanz) bei postmortalen Fällen weiterhelfen kann, ist eine tatsächliche Substanzaufnahme mittels Haaranalyse bei Kindern nach wie vor schwer zu belegen. Alvarez et al. zeigten, dass selbst eine segmentierte Haaranalyse bei Kleinkindern nicht zu einer Unterscheidung beitragen kann [118].

Für eine realistische Betrachtung der Konsumsituation in diesen Familien wurden in einer weiteren Studie 1537 Haarprobenextrakte (darunter 318 wiederholt getestete Kinder, 44 Jugendliche und 611 Erwachsene) mit der zuvor entwickelten Analysenmethode auf NPS nachuntersucht. Mindestens eine neue psychoaktive Substanz wurde in 14,8 % der Proben (n = 227) detektiert, wobei Bazedron, α -Pyrrolidinovalerophenon (α -PVP), N-Ethyl-

amphetamin, Dimethyltryptamin und Pyrovaleron die häufigsten Substanzen waren. Während die in den Haaren der Kinder gefundenen NPS immer auch in den Haaren eines oder beider Elternteile nachgewiesen wurden, stimmten die detektierten NPS nur in etwa der Hälfte der Fälle zwischen beiden Elternteilen überein. Als mögliche Erklärung für den positiven Nachweis in Kinderhaaren kommt, wie auch bei den Betäubungsmitteln, eine Inkorporation aus externen Quellen in Betracht. Somit kann lediglich ein Umgang mit NPS in deren Umgebung belegt werden, welcher allerdings schon einen bedeutenden Einblick in die Familiensituation gibt und als Ansatzpunkt für weitere Maßnahmen dienen kann. Da die Prävalenz für diese spezielle Population erstmals in dieser Studie bestimmt wurde, konnte ein Literaturvergleich bisher nicht erfolgen. Zwar wurden ähnliche Analyten wie in den postmortalen Haarproben nachgewiesen, dennoch ist nur ein grober Vergleich von NPS-Studien möglich. Die verschiedenen Analyten und deren Anzahl sowie die unterschiedlich betrachteten Zeiträume erschweren deren Vergleichbarkeit. Weiterhin haben auch die schnelle Ersetzbarkeit und regionale Unterschiede in der Verfügbarkeit solcher Substanzen einen Einfluss auf die Ergebnisse [83, 94]. Durch den Vergleich der NPS zu den zuvor nachgewiesenen Betäubungsmitteln wurde eine höhere relative Häufigkeit in den NPS-positiven Proben gegenüber den NPS-negativen Haarproben für fast alle Betäubungsmittel festgestellt. Wie in der ersten Studie bereits angenommen wurde, bestätigt dieses Ergebnis einen wahrscheinlicheren Konsum von NPS unter polyvalenten Betäubungsmittelkonsumenten.

Für die Mehrheit der positiven Proben wurden eindeutige Mengen unterhalb der Bestimmungsgrenze identifiziert. Eine quantitative Auswertung war nur in 34 Fällen möglich. Da es sich in dieser Studie um bis zu fünf Jahre eingefrorene Haarextrakte handelte, können die niedrigen Konzentrationen sehr wahrscheinlich auf einen teilweisen Substanzabbau während dieser Lagerung zurückgeführt werden. Andererseits sind NPS bereits in sehr geringen Dosen wirksam, was die nachweisbaren Konzentrationen im Haar reduziert [83]. Dies betrifft insbesondere auch deren größtenteils unbekannte und nicht kommerziell verfügbare Metaboliten. Da es bisher keine Studien zur Langzeitstabilität (> 12 Monate) solcher Substanzen in Haaren bzw. Haarextrakten gibt, wurden für eine ungefähre Beurteilung weitere Haar-Rückstellproben erneut extrahiert. In knapp 80 % der Fälle wurden die zuvor positiv getesteten NPS auch in den neu aufbereiteten Extrakten nachgewiesen. Die nicht bestätigten Fälle könnten durch die inhomogene Verteilung im Haar bzw. eine andere Entnahmestelle der Rückstellprobe erklärt werden oder wahrscheinlicher auf eine mögliche Instabilität der Analyten hindeuten. Ciallella et al. demonstrierten beispielsweise eine begrenzte Stabilität (mindestens 30 Tage) für Mephedron, Naphyron, MDPV und α -PVP in Blut, Urin und Lösungsmitteln bei unterschiedlichen Temperaturen. Am stabilsten erwiesen sich α -PVP sowie in Acetonitril gelöste und bei -20°C gelagerte Analyten [124]. In einer anderen Studie konnte nach einer 11-monatigen gefrorenen Lagerung eine Konzentrationsabnahme in

Haarextrakten zwischen 4-24 % festgestellt werden. Die Autoren werteten dies als eine akzeptable Abnahme für qualitative Studien [81]. Andererseits können Haaranalysen aufgrund der robusten Beschaffenheit der Haarmatrix noch Jahrhunderte nach dem Wachstum durchgeführt werden [40, 51]. Angesichts dieser Einschränkung konnten aus den niedrigen Konzentrationen in dieser Studie keine Rückschlüsse auf eine geringe Konsumhäufigkeit oder auf einen lediglich experimentellen Gebrauch der NPS gezogen werden. Im Gegenteil: der wiederholte Nachweis der gleichen bzw. anderer NPS in Folgeanalysen derselben Person lässt eher auf einen wiederholten Konsum schließen.

In einer weiteren Studie wurde ferner gezeigt, dass auch sehr hohe Konzentrationen von Alkoholkonsummarkern in Kinderhaaren vorkommen können. Gemäß aktuellen Richtlinien ist eine EtG-Konzentration von < 7 pg/mg mit einer Alkoholabstinenz und > 30 pg/mg mit einer erhöhten Alkoholaufnahme zu vereinbaren [125]. Crunelle et al. konnten jedoch zeigen, dass ein geringer Alkoholkonsum bei Anwendung des 7 pg/mg-Grenzwertes häufig nicht erfasst wird [126]. Angesichts der häufigen falsch-negativen Ergebnisse empfiehlt die Society of Hair Testing (SoHT) eine Absenkung dieses Grenzwertes auf 5 pg/mg [78]. Andererseits wird auch in Haaren von strikten Abstinenzlern eine geringe basale EtG-Konzentration (0,3-2,1 pg/mg) [79] gemessen, welche durch endogenes Ethanol oder den geringen Ethanolgehalt in Nahrungsmitteln erklärt werden kann. Auf der Grundlage dieser Daten wurde in der vorliegenden Studie für Kinderhaare ein Cut-off-Wert von 3,0 pg/mg verwendet. Von den 161 untersuchten Kinderhaaren wurde in insgesamt 15,5 % ($n = 25$) der Fälle eine erhöhte EtG-Konzentration (3,0 - 42,6 pg/mg) nachgewiesen. In 85,7 % der Fälle wurde auch mindestens ein Elternteil positiv getestet. Da eine einmalige Aufnahme von Ethanol für die gemessenen EtG-Konzentrationen nicht ausreichend sowie eine durch die Eltern unbemerkte wiederholte Aufnahme unwahrscheinlich ist, kommt eine Kontamination aus externen Quellen (z.B. EtG-enthaltende Kosmetika, Rot- bzw. Weißweine, Schweiß oder Urin der konsumierenden Eltern) in Frage. Entsprechende Kontaminationsversuche, insbesondere zum Ausschluss einer wiederholten Alkoholaufnahme, stehen allerdings noch aus. Eine Kontamination durch die Verwendung von ethanolhaltigen Pflege- oder Stylingprodukten konnte allerdings bereits wissenschaftlich widerlegt werden [68, 69].

Eine Einschränkung, die alle drei letztgenannten Studien (Manuskript III-V) betrifft, besteht darin, dass nicht immer bei allen Familienmitgliedern eine Haaranalyse durchgeführt werden konnte. Oft wurden nur die Mütter untersucht. Dies liegt vor allem an den komplizierten Familienstrukturen mit getrenntlebenden Vätern oder neuen Lebenspartnern, welche eine Untersuchung teilweise verweigerten. Die fehlenden Informationen über den sozialen Hintergrund, mögliche Selbstangaben zum Konsumverhalten der Eltern oder über getroffene Maßnahmen der Sozialämter zwischen Erst- und Folgeanalyse erschwerten die umfassendere

Interpretation der Ergebnisse, waren aber aus Gründen der Vertraulichkeit notwendig. Dennoch konnte in diesen Studien durch die weitaus größere Anzahl an untersuchten Haarproben eine umfassendere Auswertung der Zusammenhänge zwischen den Befunden der Kinder und deren Eltern sowie verschiedenen illegalen und „legalen“ Rauschmitteln erfolgen.

5.2 Ausblick und zukünftige Fragestellungen

Aus den in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnissen resultieren mehrere Konsequenzen und zukünftige Aufgabenstellungen. Die entwickelte und erfolgreich validierte Analysenmethode zur Bestimmung von NPS in Haaren kann besonders im Rahmen von Abstinenzkontrollen sehr wertvolle Informationen liefern. Aufgrund der sehr niedrigen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Analysenmethode und der durch die Haarmatrix langen Nachweisdauer der NPS, können diese Substanzen retrospektiv über ein sehr großes Zeitfenster bestimmt werden. Die ermittelten Haarkonzentrationen zeigen allerdings deutlich, dass für die Bestimmung der NPS sensitive Analysenverfahren zur Anwendung kommen müssen, um diese in authentischen Haarproben sicher identifizieren zu können. Angesichts der ständig zunehmenden Anzahl an NPS ist der Einschluss von weiteren Substanzen, einschließlich deren Metaboliten, in die entwickelte Analysenmethode unerlässlich. Durch die notwendige regelmäßige Aktualisierung wird die in dieser Arbeit angewandte zielgerichtete MRM-Methode jedoch an ihre Grenzen stoßen. Die stetig wachsende Anzahl an Massenübergängen wird langfristig mit einem Verlust an Messempfindlichkeit einhergehen. Mit diesem Messverfahren ist eine nachträgliche Auswertung der Daten bezüglich neuer, zuvor noch nicht in der Methode eingeschlossener NPS ebenfalls unmöglich. Der Einsatz von hochauflösender Massenspektrometrie könnte diese Problematik lösen, andererseits ist diese Messtechnik oftmals weniger sensitiv. Die kombinierte Anwendung von einem zunächst ungerichteten Screening und, bei Bedarf, anschließender gezielter Quantifizierung ist somit zukünftig zu überlegen.

Obwohl in dieser Arbeit sehr große Probandenkollektive untersucht wurden, sind weitere Studien insbesondere zur Bestätigung und Vergleichbarkeit der quantitativen Ergebnisse notwendig. Da verschiedene Laboratorien unterschiedliche Verfahren zur Probenaufarbeitung (z.B. Dekontamination oder Extraktion), Messtechniken und Lagerbedingungen nutzen, bleibt ein Vergleich der Analytik schwierig. Einheitlich geregelte Verfahrensanweisungen oder die Etablierung von externen Eignungsprüfungen, wie beispielsweise Ringversuche für die Analyse von NPS in Haaren, könnten die Vergleichbarkeit der Ergebnisse deutlich verbessern.

In diesem Zusammenhang müssen zudem weitere Studien zur Langzeitstabilität dieser Substanzen durchgeführt werden.

Für eine differenziertere toxikologische Bewertung sind weitere pharmakologische Studien zum Metabolismus von NPS und vor allem zur Ermittlung von sicheren Konsummarkern notwendig. Insbesondere bei der Einschätzung einer Kindeswohlgefährdung durch Rauschmittel muss unterschieden werden können, ob das Kind selbst in Kontakt mit Betäubungsmitteln, Alkohol, respektive NPS kommt oder der Substanznachweis durch eine Kontamination der Haare entstanden ist. Untersuchungen zu möglichen Wegen der Substanzübertragung, wie z.B. über den elterlichen Schweiß, sollten somit im Fokus weiterer Forschungsarbeiten stehen. Die Untersuchung der Prävalenz von NPS in bestimmten Populationen kann in diesem Kontext allerdings schon jetzt einen Ansatz für die Risikobewertung dieser Substanzen sowie für gezielte Präventionsmaßnahmen darstellen.

Die Kooperationsanfrage einer Arbeitsgruppe, welche sich mit der Entstehung von chronischen Lebererkrankungen sowie Totgeburten durch Khat-Konsum in Äthiopien beschäftigt, zeigt ein mögliches zusätzliches Anwendungsgebiet der entwickelten Analysenmethode. Die Haaranalyse könnte beispielsweise zur Bestimmung der Langzeitexposition gegenüber Cathinon genutzt und die gemessenen Haarkonzentrationen mit klinischen Befunden korreliert werden.

6 Zusammenfassung

Der Konsum von legalen und illegalen Rauschmitteln schließt weltweit eine Vielzahl an unterschiedlichen Substanzen ein. Neben Alkohol und den „klassischen“ Betäubungsmitteln treten seit mehreren Jahren Neue psychoaktive Substanzen (NPS) immer mehr in den Vordergrund. Die teilweise kaum erforschten Substanzen besitzen nicht nur ein Gesundheitsrisiko für die Konsumenten selbst, sondern können unter Umständen auch zu einer Gefährdung weiterer Personen (z.B. die eigenen Kinder) beitragen. Insbesondere die rasant zunehmende Anzahl an NPS sowie deren höhere Potenz und dadurch bedingte hohe Toxizität bei niedrigen Konzentrationen in biologischen Matrices stellen Herausforderungen für forensisch-toxikologische Analysenlabore dar, welchen nur mit geeigneten und stets aktuell gehaltenen Nachweismethoden begegnet werden kann. Weiterhin ist die Konsumhäufigkeit solcher Substanzen in der Allgemeinbevölkerung bisher nur wenig erforscht. Eine entsprechende Untersuchung kann mittels der Analyse von Haaren möglicher Konsumenten erfolgen. Neben der Überprüfung der allgemeinen Nachweisbarkeit von NPS in Haaren sowie der Bestimmung der Prävalenz, bestand die Hauptaufgabe dieser Arbeit darin, die bisher wenig vorhandenen Literaturdaten deutlich zu erweitern, um eine fundierte Interpretation von NPS-positiven Haarproben in der forensischen Fallarbeit vornehmen zu können. Weiterhin wurde ein wesentlicher Beitrag zur Befundinterpretation von positiven Kinderhaarproben geleistet.

Für die hochempfindliche Bestimmung von verschiedenen Designerstimulanzien (synthetische Cathinone und Piperazine) in Haaren wurde zunächst mittels Flüssigchromatographie in Kopplung mit der Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) eine zielgerichtete Analysenmethode entwickelt. Die Eignung und Zuverlässigkeit der Analysenmethode wurden im Rahmen einer vollständigen Methodvalidierung nach den Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) überprüft. Dabei zeigten sich keine störenden Interferenzen durch die Haarmatrix. Die Linearität der analytischen Kalibrationsbereiche (max. 10 – 3000 pg/mg) war durch die Verwendung von Wichtungsfaktoren gegeben. Es wurden sehr niedrigen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (3 – 14 pg/mg bzw. 5 – 24 pg/mg) ermittelt. Die Validierungsparameter Genauigkeit, Stabilität, Wiederfindung und Matrixeffekte erfüllten ebenfalls alle Vorgaben der GTFCh. Die Anwendbarkeit der Methode wurde an 40 authentischen Haarproben aus unterschiedlichen forensischen Anwendungsbereichen gezeigt. Neben verschiedenen Betäubungsmitteln wurden in 30 % der untersuchten Haarproben mindestens ein synthetisches Cathinonderivat nachgewiesen. In dieser Studie wurde gezeigt, dass Haaranalysen zur Klärung einer NPS-bezogenen Konsumvergangenheit beitragen können und ein Konsum von synthetischen Cathinonen insbesondere bei bekanntem Betäubungsmittelabusus wahrscheinlich ist.

Aufgrund weniger Vergleichsdaten war eine genaue Interpretation der ermittelten Substanzkonzentrationen nicht möglich. Eine deutliche Erweiterung der wissenschaftlichen Datengrundlage stand daher im Fokus der nächsten Studie. Zusätzlich sollte die Prävalenz unter drogenkonsumierenden Verstorbenen bestimmt werden. Angesichts der steten Zunahme an verfügbaren NPS erfolgte zunächst eine Erweiterung der entwickelten Analysenmethode auf 67 Analyten aus unterschiedlichen Substanzgruppen (u.a. Phenethylamine, Cathinone, Benzodiazepine, Opioide, Halluzinogene) sowie eine erneute Validierung der Methode. Mit der anschließenden Analyse von 1203 postmortalen Haarproben aus dem Zeitraum von 2008 bis 2020 berücksichtigte diese Studie das bis dahin größte untersuchte Kollektiv und einen deutlich längeren Untersuchungszeitraum als die zuvor publizierten Studien. Mindestens eine neue psychoaktive Substanz wurde in 31,6 % der Haarproben nachgewiesen, wobei ca. ein Drittel der Haarproben ($n = 107$) positiv für zwei bis zu zehn verschiedene NPS waren. Unter den insgesamt 48 verschiedenen Substanzen waren N-Ethylamphetamin, α -Pyrrolidinovalerophenon, Mephedron, Bazedron, Metamfepramon sowie 4-Fluoramphetamin die am häufigsten detektierten NPS. Innerhalb des untersuchten Zeitraums von 13 Jahren wurde ein Anstieg an positiven Fällen festgestellt. Eine Zu- oder Abnahme von bestimmten NPS vor und nach Einführung des NpSG zeichnete sich jedoch aufgrund der oft nur seltenen Nachweise ($n \leq 5$) nicht ab. Während größtenteils niedrige Substanzkonzentrationen nachgewiesen wurden, lagen in einigen Fällen sehr hohe Haarkonzentrationen (z.B. 113 ng/mg 4-Fluoramphetamin) vor. Um die große Streuung der Konzentrationen und die durch den postmortalen Charakter der Haarproben bedingten möglichen Einschränkungen auszugleichen, wurde für einige Analyten für die statistische Auswertung eine perzentile Darstellung gewählt. Unter Beachtung der in der Arbeit diskutierten Einschränkungen hat diese Studie wesentlich zur Erweiterung der wissenschaftlichen Daten für neue psychoaktive Substanzen in Haaren beigetragen. Durch den bereits in der forensischen Haaranalytik etablierten Ansatz der perzentilen Auswertung konnte in dieser Studie weiterhin eine bedeutende Grundlage für die genauere Interpretation von NPS-positiven Haarproben geschaffen werden. Für einige Substanzen wurden erstmals quantitative Daten vorgestellt.

In drei weiteren Studien wurde gezeigt, dass ein Umgang mit Rauschmitteln im Umfeld von minderjährigen Kindern durch eine entsprechende Haaranalyse erkannt werden kann. Diese Studien wurden im Rahmen eines Kooperationsprojektes mit den Sozialämtern der Hansestadt Bremen und Bremerhaven durchgeführt, bei dem Haarproben von Kindern und deren Eltern aus Familien mit einem vermuteten oder bekannten Suchtproblem in regelmäßigen Abständen untersucht werden. Zur Ersteinschätzung der Familiensituation bezüglich eines Konsums von Betäubungsmitteln und zur Verlaufskontrolle von Unterstützungsmaßnahmen wurden Haarproben von 141 wiederholt getesteten Familien

(insgesamt 251 Haarbefunde) ausgewertet. In 4,3 % bzw. 5,5 % (Erst- bzw. Kontrolluntersuchung) der Fälle wurden keine Betäubungsmittel in den Haarproben nachgewiesen. Die überwiegende Mehrheit enthielt hingegen durchschnittlich zwei Betäubungsmittel in den Haarproben aller Familienmitglieder, wobei die Haarkonzentrationen in den Folgeanalysen deutlich niedriger waren. Die Betäubungsmittel Kokain und THC wurden am häufigsten nachgewiesen, gefolgt von Methadon, Heroin, Amphetamin und Ecstasy. In 25 % der Fälle waren die Mutter, in 24 % der Vater oder beide Elternteile (16 %) die wahrscheinlichsten Konsumenten der Betäubungsmittel. Eine ähnliche Analytenverteilung im Haar der Kinder zu deren Eltern konnte in 47,8 % festgestellt werden. Die Übereinstimmung nahm bei einem regelmäßigen Betäubungsmittelkonsum der Eltern sowie jüngeren Kindern deutlich zu. Die Substanzkonzentrationen in den Haaren der Kinder waren allgemein niedriger als bei deren Bezugspersonen, wobei Jungen im Vergleich zu Mädchen ein tendenziell größeres Konzentrationsverhältnis (Kind/Eltern) aufwiesen.

Für eine umfassendere Evaluation des Rauschmittelkonsums in diesen Familien wurden mit der in dieser Arbeit entwickelten Analysenmethode weitere 1537 Haarprobenextrakte (von u.a. 318 wiederholt getesteten Kinder unter 14 Jahren) auf NPS reanalysiert. In 227 Proben (14,8 %) wurde mindestens eine neue psychoaktive Substanz nachgewiesen. Bazedron, α -Pyrrolidinovalerophenon, N-Ethylamphetamin, Dimethyltryptamin und Pyrovaleron waren unter den insgesamt 42 verschiedenen identifizierten NPS die häufigsten Substanzen. Die in dieser Studie erstmals auch in den Haarextrakten der Kinder nachgewiesenen NPS stimmten stets mit den Haarbefunden eines oder beider Elternteile überein. Im Vergleich zu den zuvor untersuchten Betäubungsmitteln wurde, mit Ausnahme für THC und Benzodiazepine, eine höhere relative Konsumhäufigkeit für fast alle Betäubungsmittel unter den NPS-positiven Proben gegenüber den NPS-negativen Proben festgestellt (z.B. Kokain 69,6 % vs. 56,0 % oder Amphetamin 16,3 % vs. 7,7 %). Bei den NPS-positiven Befunden handelte es sich hauptsächlich um eindeutig unterhalb der Bestimmungsgrenze identifizierte Spuren. Die niedrigen Substanzkonzentrationen sind mit einem Substanzabbau während der bis zu 5 Jahre währenden eingefrorenen Lagerung der Haarextrakte vereinbar. Die Langzeitstabilität (> 12 Monate) von NPS in Haaren bzw. Haarextrakten wurde bisher noch nicht untersucht, sodass für eine annähernde Bewertung weitere Haar-Rückstellproben erneut extrahiert wurden. Die zuvor in den Extrakten positiv getesteten NPS wurden ebenfalls in ca. 80 % der Rückstellproben nachgewiesen.

Ferner wurden die Haarproben von zum Teil wiederholt getesteten 126 Kinder auf den Alkoholkonsummarker Ethylglucuronid untersucht (insgesamt 161 Haarproben). In 15,5 % der Fälle wurde eine erhöhte EtG-Konzentration (3,0 – 42,6 pg/mg; Median 6,4 pg/mg) festgestellt, wobei überwiegend Kleinkinder im Alter von 1 bis 5 Jahren betroffen waren. Bei

mindestens einem Elternteil der positiven Kinder wurde in 85,7 % der Fälle ebenfalls Ethylglucuronid nachgewiesen. Obwohl eine systemische Aufnahme nicht komplett ausgeschlossen werden kann, ist eine Substanzeinlagerung in die Haare der Kinder durch eine externe Kontamination eher anzunehmen. Während bei Betäubungsmitteln und NPS eine Übertragung durch Stäube, Rauch oder Schweiß der konsumierenden Eltern in Betracht kommt, lassen sich die positiven EtG-Befunde nicht durch eine Kontamination mit Ethanol erklären. Eine Kontamination kann in diesem Fall nur durch Ethylglucuronid selbst erfolgen (z.B. durch Rot- und Weißweine, Schweiß oder Urin von Konsumenten). Trotz dieser Einschränkung konnte in diesen Studien aufgrund der großen untersuchten Fallzahlen eine umfassendere Interpretation der Zusammenhänge zwischen den Haarbefunden der Kinder und deren Eltern erfolgen.

Zusammenfassend wurden in dieser Arbeit neue Erkenntnisse über die Konsumhäufigkeit von NPS in unterschiedlichen Populationen gewonnen. Zudem wurde die Datengrundlage für neue psychoaktive Substanzen in Haaren bedeutend erweitert. Die Arbeit hat dadurch wesentlich zu einer fundierten Interpretation von NPS-positiven Haarproben beigetragen. Weiterhin wurde gezeigt, dass neben einer Verbreitung von Betäubungsmitteln auch erhöhte Konzentrationen von Alkoholkonsummarkern und der Nachweis von NPS in Haaren von Kindern aus Familien mit Suchtproblemen keine Seltenheit darstellen.

7 Summary

The worldwide use of legal and illegal drugs includes a large number of different substances. In addition to alcohol and conventional drugs, new psychoactive substances (NPS) have increasingly come into focus in recent years. These rarely researched substances not only pose a health risk to the users themselves, but may also endanger third parties (e.g., their own children). In particular, the increasing number of NPS as well as their high potency and toxicity at low concentrations in biological matrices are a challenge for forensic laboratories, which can only be met with suitable and always up-to-date analytical methods. Furthermore, insufficient research has been conducted on the prevalence of use in the general population. The investigation can be done by analyzing hairs of possible users. Besides investigating the general detectability of NPS in hair and determining their prevalence, the main aim of this work was to substantially expand the literature data in order to make a more profound interpretation of NPS-positive hair samples in forensic casework. Furthermore, a significant contribution to the interpretation of positive findings of child hair samples was made.

For the detection and quantification of different designer stimulants (synthetic cathinones and piperazines) in hair, a liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) method was first developed. The suitability and reliability of the method were verified by a complete method validation according to the guidelines of the Society for Toxicological and Forensic Chemistry (GTFCh). No interfering signals by the hair matrix or other coeluting substances were found. The linearity of the analyte-specific calibration ranges (max. 10 – 3000 pg/mg) was achieved by using weighting factors. The very low limits of detection and quantitation (3 – 14 pg/mg and 5 – 24 pg/mg) were determined. The validation parameters accuracy, stability, recovery and matrix effects fulfilled all GTFCh requirements as well. The applicability of the method was demonstrated by testing 40 authentic hair samples from different forensic settings. In addition to illegal drugs, at least one synthetic cathinone was detected in 30 % of the investigated hair samples. In this study, it was shown that hair analysis can help to clarify past use of NPS. Furthermore, synthetic cathinone use is particularly likely in the presence of well-known drug abuse.

Due to a lack of available data, an accurate interpretation of the substance concentrations in hair was not possible. Therefore, a significant expansion of the scientific data was the focus of the next study. In addition, the prevalence among deceased drug users was determined. Because of the increasing number of NPS, the analytical method was extended to 67 analytes from different substance groups (e.g., phenethylamines, cathinones, benzodiazepines, opioids, hallucinogens) and revalidated. Subsequently, the analysis of 1203 postmortem hair samples from 2008 to 2020 was performed. Thus, this represents the largest number of investigated hair samples from postmortem cases and the longest investigated time period at

the time of writing. One new psychoactive substance was detected in 31.6 % of hair samples, with approximately one-third of hair samples ($n = 107$) positive for two to ten different NPS. Among 48 different substances, N-ethylamphetamine, α -pyrrolidinovalerophenone, mephedrone, benzedrone, metamfepramone, and 4-fluoroamphetamine were the most frequently detected NPSs. Within the 13-year period, an increase in positive case numbers was observed. However, due to the often rare findings ($n \leq 5$), no increase or decrease of specific NPS was detected before and after their ban. While mostly low substance concentrations were determined, in some cases very high hair concentrations were detected (e.g., 113 ng/mg of 4-fluoroamphetamine) were present in some cases. To compensate the large scatter of concentrations and the limitations due to the postmortem nature of the hair samples, a percentile evaluation was chosen for some analytes. Regarding the limitations discussed in the thesis, this study has significantly contributed to the expansion of scientific data for new psychoactive substances in hair samples. Using the percentile assessment, which is already established in forensic hair analysis, this study provided an important basis for more precise interpretation of NPS-positive hair samples. For some substances, quantitative data were presented for the first time.

In three additional studies, it was shown that dealing with drugs in the environment of underage children can be detected by hair analysis. These studies were conducted as part of a cooperation with the social services of the Hanseatic City of Bremen and the Institute of Forensic Medicine in Berlin. In this project, hair samples from children and their parents from families with a suspected or known addiction problem were analyzed at regular intervals. For initial assessment of the family situation and follow-up of support measures, hair samples from 141 repeatedly tested families (a total of 251 hair tests) were evaluated with regard to drug use. In 4.3 % and 5.5 % (initial and control test) of the cases, no drugs were detected in the hair samples. In contrast, the vast majority contained an average of two drugs in the hair samples of all family members, with significantly lower hair concentrations in follow-up analyses. The illegal substances cocaine and THC were detected most frequently, followed by methadone, heroin, amphetamine and ecstasy. In 25 % of cases, the mother, in 24 % the father, or both parents (16 %) were the most probable drug users. A similar analyte distribution in hair of the children and their parents was found in 47.8 %. The agreement increased significantly in case of regular drug use by parents and younger children. Substance concentrations in children's hair were generally lower than in their caregivers, although the concentration ratio (child/parent) tended to be higher in boys than in girls.

For a more comprehensive evaluation of these families, additional 1537 hair extracts (from 318 repeatedly tested children under 14 years of age) were reanalyzed for NPS using the analytical method developed in this work. At least one new psychoactive substance was detected in 227

cases (14.8 %). Bazedrone, α -pyrrolidinovalerophenone, N-ethylamphetamine, dimethyl-tryptamine and pyrovalerone were the most frequent substances out of 42 different identified NPS. New psychoactive substances were detected in children's hair in this study for the first time. The NPS detected in the hair extracts of the children always agreed with the hair findings of one or both parents. Compared to previously studied drugs, with the exception of THC and benzodiazepines, NPS-positive cases were found to have a higher relative consumption frequency for almost all drugs compared to NPS-negative cases (e.g., cocaine 69.6 % vs. 56.0 % or amphetamine 16.3 % vs. 7,7 %). Most of the NPS-positive findings were clearly identified traces below the limit of quantification. The low substance concentrations are compatible with substance degradation during frozen storage of the hair extracts for up to 5 years. The long-term stability (> 12 months) of NPS in hair or hair extracts has not been investigated so far. For comparison and to confirm the stability of NPS in the extracts, residues from 27 hair samples, which were still available after the first analysis, were re-extracted and also tested for NPS. The NPS previously tested positive in the extracts was also detected in approx. 80 % of the reference samples.

Additionally, hair samples from 126 repeatedly tested children were analyzed for the alcohol marker ethyl glucuronide (161 hair samples in total). In 15.5 % of the cases, an increased EtG concentration (3.0 - 42.6 pg/mg; median 6.4 pg/mg) was detected, with predominantly young children between 1 and 5 years of age being involved. Ethyl glucuronide was also detected in at least one parent of the positive children in 85.7 % of the cases. Even if a systematic uptake cannot be completely excluded, it is more likely that the substances enter the children's hair through external contamination. Whereas in the case of drugs and NPSs, a transfer via dust, smoke or sweat of the consuming parents can be considered, positive EtG findings cannot be explained by a contamination with ethanol. In this case, contamination can only occur through ethyl glucuronide itself (e.g., by red and white wines, sweat or urine of consumers). Despite this limitation, the large number of studied cases allowed these studies to provide a more comprehensive interpretation of the relationships between the hair findings of the children and their parents.

In summary, this work provided new insights into the frequency of use of NPS in different populations. In addition, the database for new psychoactive substances in hair was significantly expanded. Thus, the work has contributed essentially to a more profound interpretation of NPS-positive hair samples. Furthermore, it was shown that, in addition to a widespread use of drugs, increased alcohol marker findings and the presence of NPS in children's hair from families with addiction background are not uncommon.

8 Literaturverzeichnis

1. Gomes de Matos E, Atzendorf J, Kraus L, Piontek D. Substanzkonsum in der Allgemeinbevölkerung in Deutschland. Ergebnisse des Epidemiologischen Suchtsurveys 2015. Suchttherapie. 2016;62(5):271-81.
2. Kraus L, Loy JK, Wilms N, Starker A. Altersspezifische Trends des risikoreichen Alkoholkonsums in Deutschland: Parallele oder unterschiedliche Verläufe? Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz. 2021;64(6):652-9.
3. Orth B, Merkel C. Die Drogenaffinität Jugendlicher in der Bundesrepublik Deutschland 2019. Rauchen, Alkoholkonsum und Konsum illegaler Drogen: aktuelle Verbreitung und Trends. BZgA-Forschungsbericht. Köln: Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung. 2020.
4. Europäische Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht. Europäischer Drogenbericht 2021: Trends und Entwicklungen. Amt für Veröffentlichungen der Europäischen Union, Luxemburg. 2021.
5. Seitz N-N, Rauschert C., Orth B., Kraus L. Illegale Drogen – Zahlen und Fakten zum Konsum. In: *Jahrbuch Sucht 2020*. Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen eV (Hrsg.). Lengerich: Pabst Science Publishers. 2020. 121-128.
6. Schneider F, Karachaliou K, Seitz N-N, Pfeiffer-Gerschel T, Friedrich M, Tönsmeise C et al. Bericht 2020 des nationalen REITOX-Knotenpunkts an die EMCDDA (Datenjahr 2019/2020). Kurzbericht. Situation illegaler Drogen in Deutschland. München: Deutsche Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht. 2020.
7. Atzendorf J, Rauschert C, Seitz N-N, Lochbühler K, Kraus L. Gebrauch von Alkohol, Tabak, illegalen Drogen und Medikamenten. Dtsch Arztebl International. 2019;116(35-36):577-84.
8. Die Drogenbeauftragte der Bundesregierung. Drogen und Suchtbericht 2019. Berlin: Bundesministerium für Gesundheit. 2019.
9. Smith JP, Sutcliffe OB, Banks CE. An overview of recent developments in the analytical detection of new psychoactive substances (NPSs). The Analyst. 2015;140(15):4932-48.
10. United Nations Office on Drugs and Crime. The Challenge of new psychoactive substances. A Report from the Global SMART Programme. United Nations Publication, Austria. 2013.
11. Corazza O, Demetrovics Z, van den Brink W, Schifano F. 'Legal highs' an inappropriate term for 'Novel Psychoactive Drugs' in drug prevention and scientific debate. Int J Drug Policy. 2013;24(1):82-3.
12. Europäische Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht. Europäischer Drogenbericht 2015: Trends und Entwicklungen. Amt für Veröffentlichungen der Europäischen Union, Luxemburg. 2015.
13. Europäische Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht. Europäischer Drogenbericht 2016: Trends und Entwicklungen. Amt für Veröffentlichungen der Europäischen Union, Luxemburg. 2016.
14. Valente MJ, Guedes de Pinho P, de Lourdes Bastos M, Carvalho F, Carvalho M. Khat and synthetic cathinones: a review. Arch Toxicol. 2014;88(1):15-45.
15. Gautam L, Shanmuganathan A, Cole MD. Forensic Analysis of Cathinones. Forensic Sci Rev. 2013;25(1-2):47-64.
16. Cozzi NV, Sievert MK, Shulgin AT, Jacob P, Ruoho AE. Inhibition of plasma membrane monoamine transporters by beta-ketoamphetamines. Eur J Pharmacol. 1999;381(1):63-9.
17. Kehr J, Ichinose F, Yoshitake S, Goiny M, Sievertsson T, Nyberg F et al. Mephedrone, compared with MDMA (ecstasy) and amphetamine, rapidly increases both dopamine and 5-HT levels in nucleus accumbens of awake rats. Br J Pharmacol. 2011;164(8):1949-58.
18. Bretteville-Jensen AL, Tuv SS, Bilgrei OR, Fjeld B, Bachs L. Synthetic Cannabinoids and Cathinones: Prevalence and Markets. Forensic Sci Rev. 2013;25(1-2):7-26.

19. Prosser JM, Nelson LS. The toxicology of bath salts: a review of synthetic cathinones. *J Med Toxicol.* 2012;8(1):33-42.
20. Stoica MV, Felthous AR. Acute psychosis induced by bath salts: a case report with clinical and forensic implications. *J Forensic Sci.* 2013;58(2):530-3.
21. Kelly JP. Cathinone derivatives: a review of their chemistry, pharmacology and toxicology. *Drug Test Anal.* 2011;3(7-8):439-53.
22. Pourmand A, Mazer-Amirshahi M, Chistov S, Li A, Park M. Designer drugs: Review and implications for emergency management. *Hum Exp Toxicol.* 2018;37(1):94-101.
23. Spiller HA, Ryan ML, Weston RG, Jansen J. Clinical experience with and analytical confirmation of "bath salts" and "legal highs" (synthetic cathinones) in the United States. *Clin Toxicol (Phila).* 2011;49(6):499-505.
24. James D, Adams RD, Spears R, Cooper G, Lupton DJ, Thompson JP et al. Clinical characteristics of mephedrone toxicity reported to the U.K. National Poisons Information Service. *Emerg Med J.* 2011;28(8):686-9.
25. Schäper J, Kreuzer B. "Legal Highs" - Wenn vermeintliche "Badesalze", "Pflanzendünger" oder "Kräutermischungen" berauschend wirken. *DAZ.* 2012;13:48-50.
26. Burns L, Roxburgh A, Bruno R, Van Buskirk J. Monitoring drug markets in the Internet age and the evolution of drug monitoring systems in Australia. *Drug Test Anal.* 2014;6(7-8):840-5.
27. Móró L. Harm reduction of novel psychoactive substance use. In: *Change and Continuity: researching evolving drug landscapes in Europe.* Potter GR, Wouters M, Fountain J (Eds.). Lengerich: Pabst Science Publishers, 2014. 36-50.
28. Davies S, Wood DM, Smith G, Button J, Ramsey J, Archer R, Holt DW, Dargan PI. Purchasing 'legal highs' on the Internet--is there consistency in what you get? *QJM.* 2010;103(7):489-93.
29. Miliano C, Margiani G, Fattore L, De Luca MA. Sales and Advertising Channels of New Psychoactive Substances (NPS): Internet, Social Networks, and Smartphone Apps. *Brain Sci.* 2018;8(7):123.
30. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Drug-related deaths and mortality in Europe: update from the EMCDDA expert network. Technical report. Publications Office of the European Union, Luxembourg. 2021.
31. van Amsterdam JG, Nabben T, Keiman D, Haanschoten G, Korf D. Exploring the Attractiveness of New Psychoactive Substances (NPS) among Experienced Drug Users. *J Psychoactive Drugs.* 2015;47(3):177-81.
32. Benschop A, Urbán R, Kapitány-Fövény M, Van Hout MC, Dąbrowska K, Felvinczi K, Hearne E, Henriques S, Kaló Z, Kamphausen G, Silva JP, Wieczorek Ł, Wersé B, Bujalski M, Korf D, Demetrovics Z. Why do people use new psychoactive substances? Development of a new measurement tool in six European countries. *J Psychopharmacol.* 2020;34(6):600-11.
33. Simonis S, Canfyn M, Van Dijck A, Van Havere T, Deconinck E, Blanckaert P, Gremeaux L. Awareness of users and motivational factors for using new psychoactive substances in Belgium. *Harm Reduction Journal.* 2020;17(1):52.
34. Krämer M, Maas A, Madea B. Neue psychoaktive Substanzen im Kontext der Post-mortem-Toxikologie. *Rechtsmedizin.* 2019;29(1):51-63.
35. Bundesgesetzblatt. Gesetz zur Bekämpfung der Verbreitung neuer psychoaktiver Stoffe. Jahrgang 2016 Teil I Nr. 55. 25. November 2016. [letzter Zugriff: 09.10.2021]
36. Bundesgesetzblatt. Verordnung zur Änderung der Anlage des Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetzes und von Anlagen des Betäubungsmittelgesetzes. Jahrgang 2019 Teil I Nr. 27. 12. Juli 2019. [letzter Zugriff: 09.10.2021]
37. Bundesgesetzblatt. Zweite Verordnung zur Änderung der Anlage des Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetzes. Jahrgang 2021 Teil I Nr. 38. 28. Juni 2021. [letzter Zugriff: 09.10.2021]
38. Madea B, Mußhoff F. *Haaranalytik Technik und Interpretation in Medizin und Recht.* Köln: Deutscher Ärzte-Verlag. 2004.
39. Verstraete AG. Detection times of drugs of abuse in blood, urine, and oral fluid. *Ther Drug Monit.* 2004;26(2):200-5.

40. Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta*. 2006;370(1-2):17-49.
41. Polla M, Stramesi C, Pichini S, Palmi I, Vignali C, Dall'Olio G. Hair testing is superior to urine to disclose cocaine consumption in driver's licence regranting. *Forensic Sci Int*. 2009;189(1-3):e41-3.
42. Kronstrand R, Nyström I, Forsman M, Käll K. Hair analysis for drugs in driver's license regranting. A Swedish pilot study. *Forensic Sci Int*. 2010;196(1-3):55-8.
43. Cone EJ. Legal, workplace, and treatment drug testing with alternate biological matrices on a global scale. *Forensic Sci Int*. 2001;121(1-2):7-15.
44. Klein J, Karaskov T, Koren G. Clinical applications of hair testing for drugs of abuse--the Canadian experience. *Forensic Sci Int*. 2000;107(1-3):281-8.
45. Pragst F, Broecker S, Hastedt M, Herre S, Andresen-Streichert H, Sachs H, Tsokos M. Methadone and illegal drugs in hair from children with parents in maintenance treatment or suspected for drug abuse in a German community. *Ther Drug Monit*. 2013;35(6):737-52.
46. Mußhoff F, Madea B. Haaranalytik: Zunehmende Bedeutung in Medizin und Recht. *Dtsch Arztebl*. 2004;101(25):A 1789-1790.
47. Bundesärztekammer. Richtlinie gemäß § 16 Abs. 1 S. 1 Nrn. 2 u. 5 TPG für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur Lebertransplantation. *Dtsch Arztebl*. 2015:A 1-17.
48. Pragst F, Hastedt M, Krumbiegel F. Hair Analysis as a Diagnostic and Forensic Tool in a Social Support System for Families with Underage Children and Drug Abusing Parents : Four Year Experience. *Arab J Forensic Sci Forensic Med*. 2015;1(2):180-93.
49. Kintz P, Salomone A, Vincenti M. *Hair Analysis in Clinical and Forensic Toxicology*. Boston: Academic Press. 2015.
50. Harkey MR. Anatomy and physiology of hair. *Forensic Sci Int*. 1993;63(1-3):9-18.
51. Kintz P. Value of hair analysis in postmortem toxicology. *Forensic Sci Int*. 2004;142(2-3):127-34.
52. Pragst F. Pitfalls in hair analysis. *Toxichem Krimtech*. 2004;71(2):69-83.
53. Pianta A, Liniger B, Baumgartner MR. Ethyl glucuronide in scalp and non-head hair: an intra-individual comparison. *Alcohol Alcohol*. 2013;48(3):295-302.
54. Kintz P, Villain M, Vallet E, Etter M, Salquebre G, Cirimele V. Ethyl glucuronide: unusual distribution between head hair and pubic hair. *Forensic Sci Int*. 2008;176(1):87-90.
55. Vogt A, McElwee KJ, Blume-Peytavi U. Biology of the hair follicle. In: *Hair growth and disorders*. Blume-Peytavi U, Tosti A, Whiting DA, Trüeb RM (Eds.). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. 12-15.
56. Henderson GL. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Forensic Sci Int*. 1993;63(1-3):19-29.
57. Kronstrand R, Scott K. Drug Incorporation into hair. In: *Analytical and practical aspects of drugs testing in hair*. Kintz P (editor). Boca Raton, FL: CRC Press, 2007. 1-23.
58. Rothe M, Pragst F, Thor S, Hunger J. Effect of pigmentation on the drug deposition in hair of grey-haired subjects. *Forensic Sci Int*. 1997;84(1):53-60.
59. Uematsu T, Sato R, Fujimori O, Nakashima M. Human scalp hair as evidence of individual dosage history of haloperidol: a possible linkage of haloperidol excretion into hair with hair pigment. *Arch Dermatol Res*. 1990;282(2):120-5.
60. Pragst F, Rothe M, Moench B, Hastedt M, Herre S, Simmert D. Combined use of fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide in hair for diagnosis of alcohol abuse: interpretation and advantages. *Forensic Sci Int*. 2010;196(1-3):101-10.
61. Agius R, Ferreira LM, Yegles M. Can ethyl glucuronide in hair be determined only in 3 cm hair strands? *Forensic Sci Int*. 2012;218(1-3):3-9.
62. Schröder J, Rothe M, Pragst F. Ethyl glucuronide concentrations in beard hair after a single alcohol dose: evidence for incorporation in hair root. *Int J Legal Med*. 2012;126(5):791-9.
63. Garcia-Bournissen F, Nesterenko M, Karaskov T, Koren G. Passive environmental exposure to cocaine in Canadian children. *Paediatr Drugs*. 2009;11(1):30-2.

64. Jurado C, Kintz P, Menéndez M, Repetto M. Influence of the cosmetic treatment of hair on drug testing. *Int J Legal Med.* 1997;110(3):159-63.
65. Hill V, Loni E, Cairns T, Sommer J, Schaffer M. Identification and analysis of damaged or porous hair. *Drug Test Anal.* 2014;6 Suppl 1:42-54.
66. Yegles M. Pitfalls in hair analysis: Cosmetic treatment. *Ann Toxicol Anal.* 2005;17(4): 275-8
67. Martins Ferreira L, Binz T, Yegles M. The influence of ethanol containing cosmetics on ethyl glucuronide concentration in hair. *Forensic Sci Int.* 2012;218(1-3):123-5.
68. Arndt T, Schröfel S, Stemmerich K. Ethyl glucuronide identified in commercial hair tonics. *Forensic Sci Int.* 2013;231(1-3):195-8.
69. Sporkert F, Kharbouche H, Augsburg MP, Klemm C, Baumgartner MR. Positive EtG findings in hair as a result of a cosmetic treatment. *Forensic Sci Int.* 2012;218(1-3):97-100.
70. Kintz P. Consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption 2011. *Forensic Sci Int.* 2012;218(1-3):2.
71. Agius R, Kintz P. Guidelines for European workplace drug and alcohol testing in hair. *Drug Test Anal.* 2010;2(8):367-76.
72. Skopp G, Pötsch L, Möller MR. Zum Suchtmittelnachweis in Haaren V. Auswirkung von Sonne, Regen und Wind auf den Drogengehalt in Kopfharen von Drogenkonsumenten – ein Pilotprojekt. *Rechtsmedizin.* 1997;7(6):176-9.
73. Agilent Technologies. Agilent 6400 Series Triple Quadrupole LC/MS System, Concept Guide, The Big Picture. 2017;G3335-90235.
74. De Hoffmann E., Stroobant V. Mass Spectrometry. Principles and Applications, 3rd ed, Chichester: John Wiley. & Sons, Ltd. 2007. 43-195.
75. Peters FT, Hartung M, Herbold M, Schmitt G, Daldrup T, Mußhoff F. Anforderungen an die Validierung von Analysemethoden; Anhang B zur Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. *Toxichem Krimtech.* 2009;76(3):185-208.
76. DIN 32645. Chemical analysis-decision limit and determination limit under repeatability conditions-terms methods, evaluation. Berlin: Beuth. 2008.
77. Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal Chem.* 2003;75(13):3019-30.
78. Society of Hair Testing. Consensus for the use of alcohol markers in hair for supporting the assessment of abstinence and chronic alcohol consumption. 2019. Online unter URL: https://www.sohr.org/images/pdf/Revision_2019_Alcoholmarkers.pdf [letzter Zugriff: 06.11.2021]
79. Pirro V, Di Corcia D, Seganti F, Salomone A, Vincenti M. Determination of ethyl glucuronide levels in hair for the assessment of alcohol abstinence. *Forensic Sci Int.* 2013;232(1-3):229-36.
80. Margasińska-Olejak J, Celiński R, Fischer A, Stojko J. A fatal case of poisoning of a 19-year-old after taking 3-MMC. *Forensic Sci Int.* 2019;300:e34-e7.
81. Rust KY, Baumgartner MR, Dally AM, Kraemer T. Prevalence of new psychoactive substances: A retrospective study in hair. *Drug Test Anal.* 2012;4(6):402-8.
82. Zuba D, Byrska B. Prevalence and co-existence of active components of 'legal highs'. *Drug Test Anal.* 2013;5(6):420-9.
83. Salomone A, Gazzilli G, Di Corcia D, Gerace E, Vincenti M. Determination of cathinones and other stimulant, psychedelic, and dissociative designer drugs in real hair samples. *Anal Bioanal Chem.* 2016;408(8):2035-42.
84. Majchrzak M, Celiński R, Kuś P, Kowalska T, Sajewicz M. The newest cathinone derivatives as designer drugs: an analytical and toxicological review. *Forensic Toxicol.* 2018;36(1):33-50.
85. Maas A, Wippich C, Madea B, Hess C. Driving under the influence of synthetic phenethylamines: a case series. *Int J Legal Med.* 2015;129(5):997-1003.
86. Cirimele V, Kintz P, Mangin P. Comparison of different extraction procedures for drugs in hair of drug addicts. *Biomed Chromatogr.* 1996;10(4):179-82.

87. Musshoff F, Schwarz G, Sachs H, Skopp G, Franz T. Concentration distribution of more than 100 drugs and metabolites in forensic hair samples. *Int J Legal Med.* 2020;134(3):989-95.
88. Florou D, Boumba VA. Hair analysis for New Psychoactive Substances (NPS): Still far from becoming the tool to study NPS spread in the community? *Toxicol Rep.* 2021;8:1699-720.
89. Broecker S, Herre S, Pragst F. General unknown screening in hair by liquid chromatography-hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS). *Forensic Sci Int.* 2012;218(1-3):68-81.
90. Freni F, Bianco S, Vignali C, Groppi A, Moretti M, Osculati AMM, Morini L. A multi-analyte LC-MS/MS method for screening and quantification of 16 synthetic cathinones in hair: Application to postmortem cases. *Forensic Sci Int.* 2019;298:115-20.
91. Cuypers E, Flanagan RJ. The interpretation of hair analysis for drugs and drug metabolites. *Clin Toxicol (Phila).* 2018;56(2):90-100.
92. Ditton J, Cooper GA, Scott KS, Allen DL, Oliver JS, Smith ID. Hair testing for "ecstasy" (MDMA) in volunteer Scottish drug users. *Addict Biol.* 2000;5(2):207-13.
93. Paterson S, Cordero R, McPhillips M, Carman S. Interindividual dose/concentration relationship for methadone in hair. *J Anal Toxicol.* 2003;27(1):20-3.
94. Romanek K, Stenzel J, Schmoll S, Schrettl V, Geith S, Eyer F, Rabe C. Synthetic cathinones in Southern Germany - characteristics of users, substance-patterns, co-ingestions, and complications. *Clin Toxicol (Phila).* 2017;55(6):573-8.
95. Tang M, Hung LY, Lai CK, Ching CK, Mak T. 9-year review of new psychoactive substance use in Hong Kong: A clinical laboratory perspective. *Hong Kong J Emerg Med.* 2019;26(3):179-185.
96. Fagiola M, Hahn T, Avella J. Screening of Novel Psychoactive Substances in Postmortem Matrices by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS-MS). *J Anal Toxicol.* 2018;42(8):562-9.
97. Ayllón S, Ferreira-Batista NN. Unemployment, drugs and attitudes among European youth. *J Health Econ.* 2018;57:236-48.
98. ESPAD Group. ESPAD Report 2019: Results from the European School Survey Project on Alcohol and Other Drugs. EMCDDA Joint Publications. Publications Office of the European Union, Luxembourg. 2020.
99. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. High-risk drug use and new psychoactive substances. EMCDDA Rapid Communication. Publications Office of the European Union, Luxembourg. 2017.
100. Seely KA, Patton AL, Moran CL, Womack ML, Prather PL, Fantegrossi WE et al. Forensic investigation of K2, Spice, and "bath salt" commercial preparations: a three-year study of new designer drug products containing synthetic cannabinoid, stimulant, and hallucinogenic compounds. *Forensic Sci Int.* 2013;233(1-3):416-22.
101. Betzler F, Ernst F, Helbig J, Viohl L, Roediger L, Meister S et al. Substance Use and Prevention Programs in Berlin's Party Scene: Results of the SuPrA-Study. *Eur Addict Res.* 2019;25(6):283-92.
102. Larabi IA, Fabresse N, Etting I, Nadour L, Pfau G, Raphalen JH et al. Prevalence of New Psychoactive Substances (NPS) and conventional drugs of abuse (DOA) in high risk populations from Paris (France) and its suburbs A cross sectional study by hair testing (2012-2017). *Drug Alcohol Depend.* 2019;204:107508.
103. Salomone A, Palamar JJ, Gerace E, Di Corcia D, Vincenti M. Hair Testing for Drugs of Abuse and New Psychoactive Substances in a High-Risk Population. *J Anal Toxicol.* 2017;41(5):376-81.
104. Tang M, Ching CK, Tse ML, Ng C, Lee C, Chong YK et al. Surveillance of emerging drugs of abuse in Hong Kong: validation of an analytical tool. *Hong Kong Med J.* 2015;21(2):114-23.
105. Alvarez JC, Fabresse N, Larabi IA. Prevalence and Surveillance of Synthetic Cathinones Use by Hair Analysis: An Update Review. *Curr Pharm Des.* 2017;23(36):5487-95.
106. Giné CV, Espinosa IF, Vilamala MV. New psychoactive substances as adulterants of controlled drugs. A worrying phenomenon? *Drug Test Anal.* 2014;6(7-8):819-24.

107. Palamar JJ, Salomone A, Vincenti M, Cleland CM. Detection of "bath salts" and other novel psychoactive substances in hair samples of ecstasy/MDMA/"Molly" users. *Drug Alcohol Depend.* 2016;161:200-5.
108. Miller P, Curtis A, Jenkinson R, Droste N, Bowe SJ, Pennay A. Drug use in Australian nightlife settings: estimation of prevalence and validity of self-report. *Addiction.* 2015;110(11):1803-10.
109. Kintz P. Evidence of 2 Populations of Mephedrone Abusers by Hair Testing. Application to 4 Forensic Expertises. *Curr Neuropharmacol.* 2017;15(5):658-62.
110. Alvarez JC, Etting I, Abe E, Villa A, Fabresse N. Identification and quantification of 4-methylethcathinone (4-MEC) and 3,4-methylenedioxypropylone (MDPV) in hair by LC-MS/MS after chronic administration. *Forensic Sci Int.* 2017;270:39-45.
111. Agius R. Utility of coloured hair for the detection of drugs and alcohol. *Drug Test Anal.* 2014;6 Suppl 1:110-9.
112. Tsanaclis L, Wicks JF. Patterns in drug use in the United Kingdom as revealed through analysis of hair in a large population sample. *Forensic Sci Int.* 2007;170(2-3):121-8.
113. Methling M, Krumbiegel F, Alameri A, Hartwig S, Parr M, Tsokos M. Concentrations of Antidepressants, Antipsychotics, and Benzodiazepines in Hair Samples from Postmortem Cases. *SN Compr. Clin. Med.* 2020;2(1-2):284-300.
114. Evans EA, Sullivan MA. Abuse and misuse of antidepressants. *Subst Abuse Rehabil.* 2014;5:107-20.
115. Ramírez Fernández MD, Wille SM, Hill V, Samyn N. Determination of Antidepressants in Hair via UHPLC-MS/MS as a Complementary Informative Tool for Clinical and Forensic Toxicological Assessments. *Ther Drug Monit.* 2016;38(6):751-60.
116. Wang X, Drummer OH. Review: Interpretation of drug presence in the hair of children. *Forensic Sci Int.* 2015;257:458-72.
117. Kintz P, Farrugia A, Ameline A, Eibel A, Raul JS. High risk of misinterpreting hair analysis results for children tested for methadone. *Forensic Sci Int.* 2017;280:176-80.
118. Alvarez JC, Lasne L, Etting I, Chéron G, Abadie V, Fabresse N et al. Hair analysis does not allow to discriminate between acute and chronic administrations of a drug in young children. *Int J Legal Med.* 2018;132(1):165-72.
119. Millar SE, Willert K, Salinas PC, Roelink H, Nusse R, Sussman DJ et al. WNT signaling in the control of hair growth and structure. *Dev Biol.* 1999;207(1):133-49.
120. Marks MK, South M, Carlin JB. Reference ranges for respiratory rate measured by thermistry (12-84 months). *Arch Dis Child.* 1993;69(5):569-72.
121. Cairns T, Hill V, Schaffer M, Thistle W. Removing and identifying drug contamination in the analysis of human hair. *Forensic Sci Int.* 2004;145(2-3):97-108.
122. Blank DL, Kidwell DA. Decontamination procedures for drugs of abuse in hair: are they sufficient? *Forensic Sci Int.* 1995;70(1-3):13-38.
123. Kintz P. Segmental hair analysis can demonstrate external contamination in postmortem cases. *Forensic Sci Int.* 2012;215(1-3):73-6.
124. Ciallella HL, Rutter LR, Nisbet LA, Scott KS. Extended Stability Evaluation of Selected Cathinones. *Front Chem.* 2020;8:597726.
125. Schubert W, Dittmann V, Brenner-Hartmann J. *Urteilsbildung in der Fahreignungsbegutachtung - Beurteilungskriterien.* 3. Auflage. Bonn: Kirschbaum Verlag. 2009. 272-273.
126. Crunelle CL, Cappelle D, Yegles M, De Doncker M, Michielsen P, Dom G et al. Ethyl glucuronide concentrations in hair: a controlled alcohol-dosing study in healthy volunteers. *Anal Bioanal Chem.* 2016;408(8):2019-25.

9 Publikationsverzeichnis

9.1 Publikationen in internationalen Fachzeitschriften mit Peer-Review-Verfahren

Krumbiegel F, Hastedt M, Westendorf L, Methling M, **Niebel A**, Parr MK, Tsokos M
The use of nails as an alternative matrix for the long-term detection of previous drug intake: validation of sensitive UHPLC-MS/MS methods for the quantification of 76 substances and comparison of analytical results for drugs in nail and hair samples. Forensic Sci Med Pathol. 2016;12(4):416-434. doi: 10.1007/s12024-016-9801-1. Epub 2016 Aug 11.

Pragst F, Krumbiegel F, Thurmann D, Westendorf L, Methling M, **Niebel A**, Hartwig S
Hair analysis of more than 140 families with drug consuming parents. Comparison between hair results from adults and their children. Forensic Sci Int. 2019;297:161-170. doi: 10.1016/j.forsciint.2019.01.039. Epub 2019 Feb 6.

Niebel A, Krumbiegel F, Hartwig S, Parr MK, Tsokos M
Detection and quantification of synthetic cathinones and selected piperazines in hair by LC-MS/MS. Forensic Sci Med Pathol. 2020;16(1):32-42. doi: 10.1007/s12024-019-00209-z. Epub 2019 Dec 18.

Pragst F, Krumbiegel F, Thurmann D, Westendorf L, Methling M, **Niebel A**, Hartwig S
Positive findings of ethyl glucuronide in hair of young children from families with addiction background. Int J Legal Med. 2020;134(2):523-532. doi: 10.1007/s00414-019-02236-5. Epub 2020 Jan 21.

Niebel A, Westendorf L, Krumbiegel F, Hartwig S, Parr MK, Tsokos M
Prevalence and concentrations of new designer stimulants, synthetic opioids, benzodiazepines and hallucinogens in postmortem hair samples: a 13-year retrospective study. Drug Test Anal. 2021;1-12. doi: 10.1002/dta.3150. Epub ahead of print.

Niebel A, Pragst F, Krumbiegel F, Hartwig S

Prevalence of cathinones and other new psychoactive substances in hair of parents and children of families with known or suspected parental abuse of conventional illegal drugs. Forensic Sci Int. 2021;331:111148. doi: 10.1016/j.forsciint.2021.111148. Epub ahead of print.

9.2 Vorträge und Poster

Niebel A, Hastedt M, Krumbiegel F, Westendorf L, Tsokos M.

Vergleich von verschiedenen Betäubungsmitteln und toxikologisch relevanten Wirkstoffen in Nägeln und Haaren mittels UHPLC-MS/MS. 25. Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Rostock, Mai 2016

Niebel A, Westendorf L.

The role of toxicological investigations - Working at the Institute of Legal Medicine and Forensic Sciences – Charité. London School of Economics, Berlin, Juni 2016

Niebel A.

Abstinenzkontrollprogramm mittels Urinalysen - Worauf ist zu achten?. Treffen der Toxikologen Berlin-Brandenburg, Berlin, Juni 2016

Niebel A, Methling M.

Toxicology in living and deceased individuals. Konferenz des Zayed Military Hospital, Abu Dhabi, Februar 2017

Krumbiegel F, Thurmann D, Methling M, **Niebel A**, Pragst F.

Heroin und dessen Abbauprodukte in Kinderhaaren. Systemische Aufnahme oder externe Kontamination der Haare?. 26. Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Hamburg, Mai 2017

Niebel A.

Legal Highs - Development and validation of an UHPLC-MS/MS method for the detection and quantification of synthetic cathinones and selected piperazines in different sample matrices.

Austauschprojekt zum Thema „Rechtsmedizin“ zwischen Marokko und Deutschland, Projektförderung durch das Auswärtige Amt, Berlin, September und November 2017

Niebel A, Methling M.

Nachweis und Quantifizierung von Betäubungsmitteln in Haaren mittels LC-QTOF-MS und LC-MS/MS. 12. GTFCh-Fortbildungsveranstaltung für technische Angestellte, Berlin, April 2018

Niebel A und Krumbiegel F, Methling M, Westendorf L, Thurmann D, Hartwig S, Pragst F.

Prävalenz und Konzentrationen von Betäubungsmitteln in Haaren von Kindern und Erwachsenen. Posterbeitrag, 27. Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Kiel, Mai 2018

Niebel A, Methling M.

Use of LC-QQQ-MS and LC-QTOF-MS methods in forensic toxicological analysis. Seminar der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Parr, FU Berlin, Juni 2018

Niebel A.

Vergiftungen mit Kohlenstoffmonoxid. Deutsche Stiftung für internationale rechtliche Zusammenarbeit e.V. - Seminar zum Thema „Einführung in die Toxikologie“, Agadir, November 2018

Niebel A.

Systematische toxikologische Untersuchungen bei ausgewählten Sterbefällen. Deutsche Stiftung für internationale rechtliche Zusammenarbeit e.V. - Seminar zum Thema „Einführung in die Toxikologie“, Agadir, November 2018; Marrakesch, Februar 2019

Niebel A, Methling M.

Fallbeispiele von ausgewählten Sterbefällen. Deutsche Stiftung für internationale rechtliche Zusammenarbeit e.V. - Seminar zum Thema „Einführung in die Toxikologie“, Agadir, November 2018; Marrakesch, Februar 2019

Niebel A, Westendorf L.

Vor- und Nachteile der Haaranalyse. Deutsche Stiftung für internationale rechtliche Zusammenarbeit e.V. - Seminar zum Thema „Einführung in die Toxikologie“, Marrakesch, Februar 2019

Niebel A, Methling M.

Verkehrsmedizinische Begutachtung – Qualifizierung gemäß Fahrerlaubnisverordnung, Modul V - Chemisch-toxikologische Analytik, CTU-Kriterien, Probenahme. Fortbildung der Ärztekammer Berlin, Berlin, Februar 2019

Pragst F, Krumbiegel F, Thurmann D, Westendorf L, Methling M, **Niebel A**, Hartwig S.

Positive findings of ethyl glucuronide in hair of young children from families with addiction background: intake of alcohol or contamination of hair?. XXI. Symposium der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie, Mosbach, April 2019

Niebel A, Krumbiegel F, Hartwig S, Tsokos M.

Bestimmung von synthetischen Cathinonen und Piperazinen in Haaren. 98. Internationale Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Hamburg, September 2019

Hartwig S, Gurt S, Krumbiegel F, Thurmann D, Westendorf L, Mörlein F, Methling M, **Niebel A**, Pragst F.

Auswirkungen einer Grenzwertverschiebung für EtG im Haar als Abstinenzbeleg. 98. Internationale Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Hamburg, September 2019

Niebel A.

NPS findings in forensic toxicology. Seminar der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Parr, FU Berlin, Februar 2020

Niebel A, Westendorf L, Hartwig S, Tsokos M.

Prävalenz und Konzentrationen von neuen psychoaktiven Substanzen (NPS) in postmortalen Haarproben. Frühjahrstagung Digital der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Berlin, April 2021

Niebel A.

Haare im Dienst der Rechtspflege. Treffen der Staatsanwaltschaft und Kriminalpolizei Görlitz, Berlin, September 2021

10 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende kumulative Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt zu haben. Bei der Verfassung der Dissertation wurden keine anderen als die im Text aufgeführten Hilfsmittel verwendet.

Ein Promotionsverfahren wurde zu keinem früheren Zeitpunkt an einer anderen Hochschule oder bei einem anderen Fachbereich beantragt.

Berlin, 31.12.2021

André Niebel

11 Anhang

11.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl an erstmals gemeldeten NPS im Zeitraum 2008-2020 [4].....	3
Abbildung 2: Verpackungen von „Badesalzen“ (links) und „Forschungschemikalien“ (rechts) [25].....	4
Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Haarmatrix (modifiziert nach [40]).....	11
Abbildung 4: Wachstumsphasen eines Kopfhaares (modifiziert nach [52]).....	12

11.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anteil der Eigenleistung an den in dieser kumulativen Arbeit zusammen- gefassten Manuskripten.....	94
--	----