

مقاله پژوهشی

بررسی رابطه طول گذشت زمان بر مقادیر سیانید در برخی از نمونه‌های بافت اخذشده پس از مرگ

سعید غلامزاده^۱، مریم اخگری^۱، محمد زارع نژاد^{۱*}، جابر قره داغی^۱، محمود منتظری^۱، علیرضا درودچی^۱، بهاره کاظمی^۲

۱- مرکز تحقیقات سازمان پزشکی قانونی، تهران، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۵/۱۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۲۵

چکیده

مقدمه: مسمومیت حاد با سیانید به صورت عمدی به قصد خودکشی و یا با مصرف سهوی اتفاق می‌افتد. تفسیر نتایج حاصل از آنالیز سیانید در نمونه‌های زیستی پس از مرگ از جنبه قضایی- قانونی بسیار اهمیت دارد.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه مورد - شاهدی بافت کبد از ۱۰۰ مورد جسد غیر فاسد در طول ۲۴ ماه جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به سه قسمت تقسیم شدند. یک قسمت از بافت کبد و ریه در روز اول ارجاع نمونه، از نظر وجود سیانید به روش آبی پروس مورد بررسی کیفی و کمی اندازه‌گیری سیانید به روش سلول کانوی قرار گرفت. قسمت دوم و سوم نمونه به ترتیب به مدت یک ماه و دو ماه در دمای ۴C^o قرار گرفتند. نمونه‌های مثبت کبد و ریه از نظر میزان سیانید به روش سلول کانوی آنالیز گردیدند.

نتایج: نتایج آنالیز سیانید نشان دادند که تنها در ۶ نمونه در کلیه مقاطع زمانی (بدو ورود، یک ماه و دو ماه پس از ارجاع) مثبت بود و باقی ۹۴ نمونه در کلیه مقاطع زمانی از نظر وجود سیانید منفی بودند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه تولید سیانید در نمونه‌های کبد دیده نشد؛ بنابراین در تحقیق حاضر مدت‌زمان نگهداری تأثیری بر تولید سیانید در نمونه بافت کبد و ریه نداشت. تغییرات میزان سیانید در بافت‌های مذکور از نظر آماری معنی‌دار نبود. نتایج حاصل از تحقیق حاضر به صورت کمی بر روی تعداد بیشتری نمونه ارزش خود را بیشتر از پیش نشان خواهد داد.

کلمات کلیدی: سیانید، سم‌شناسی، کبد، ریه

مقدمه

در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد دیده شد. ایشان تولید سیانید را در نمونه‌های خون استریل (فاقد باکتری) به اثبات رساندند و دریافتند که این پروسه با افزودن سدیم فلوراید به نمونه مهار خواهد شد (۵).

Chikasue و همکاران، تولید سیانید را در نمونه خون افراد مسموم با سیانید گزارش کردند. در این مطالعه، شرایط نگهداری نمونه جهت انجام آزمایش دمای ۴C^o، ۲۰C^o - و به مدت سه هفته بوده است. محتوای سیانید محتویات معده پس از سپری شدن سه هفته در دمای ۴C^o سانتی‌گراد کاهش یافت اما در دمای ۲۰C^o - درجه سانتی‌گراد این میزان ثابت ماند (۳). Lindsay و همکاران در سال ۲۰۰۴ به تغییر غلظت سیانید در نمونه‌های زیستی پس از نگهداری نمونه‌ها اشاره کردند (۶). افزایش غلظت یون سیانید در نمونه‌های زیستی پس از یک روز و یک هفته توسط مطالعات Ballantine و همکاران به اثبات

سیانور ماده‌ای شدیداً کشنده است که املاح آن بیشتر در مصارف صنعتی خصوصاً استخراج طلا، نقره، آبکاری و عکاسی به کار می‌رود (۱، ۲). در طبقه‌بندی‌های موجود سیانید به عنوان یکی از سمومی محسوب می‌شود که از جنبه قانونی و قضایی اهمیت خاصی دارد. بررسی وجود یا عدم وجود سیانید در نمونه‌های اخذشده از اجساد باید بلافاصله و بدون فوت وقت صورت گیرد. از آنجایی که سیانید سم فراری است، از دست رفتن آن از ماتریکس بیولوژیک در شرایط دماهای بالا محتمل است (۳، ۴). از سوی دیگر، افزایش غلظت سیانید در نمونه‌های بیولوژیک در اثر پروسه فساد دیده شده است (۳). همچنین در مطالعه Curry و همکاران، تولید سیانید به میزان حدود ۱۰ برابر مقدار اولیه در نمونه‌ی خون پس از سپری شدن سه ماه

* نویسنده‌ی مسئول: محمد زارع نژاد، مرکز تحقیقات سازمان پزشکی قانونی، تهران، ایران
Email: zarenezhad@hotmail.com

پس از مشخص نمودن موارد مثبت اجساد از نظر وجود سیانید، در حین فوت از ریه‌های آن اجساد نیز جهت تعیین مقادیر سیانید نمونه‌برداری گردید. غلظت سیانید در بافت همگن با استفاده از روش میکرودیفیوژن با استفاده از سلول کانوی (۱۱) اندازه‌گیری شد. میزان ۱۰ گرم از بافت همگن در بافر فسفات ۰/۳ مولار سرد آماده شد. به حفره بیرونی سلول کانوی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافت همگن اضافه و بلافاصله ۱ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۳۰٪ به آن اضافه گردید. درحالی‌که به حفره مرکزی ۰/۷۵ میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال اضافه گردید، بلافاصله حفرات سلول کانوی با استفاده از شیشه پوشانده شده و کاملاً مهر و موم گردید و به مدت ۴ ساعت در دور ۴۵۰ rpm در روتاری تاریک قرار داده شدند. پس از آن سود را از محلول جدا کرده و به‌منظور اندازه‌گیری میزان سیانید از عامل پیریدین-پیرازولون استفاده گردید. میزان سیانید موجود در بافت‌ها را با استفاده از منحنی به‌دست‌آمده و بر اساس واحد $\mu\text{g/g}$ اعلام گردید. حد تشخیص میزان سیانید (LOD) در کبد میزان ۰/۰۵۶ میکروگرم در گرم است.

کلیه مراحل در این مطالعه بر اساس اصول اخلاق مطالعاتی هلسینکی تدوین و اجرا گردید.

در نهایت پرسشنامه اطلاعات مربوط به متوفی از طریق مصاحبه با بستگان متوفی و بر اساس مشاهدات حین کالبدگشائی تکمیل و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 18 این داده‌ها ثبت و جهت بیان نتایج توصیفی در قالب جداول و نمودارها از نرم‌افزار Excel و جهت تحلیل آماری داده‌ها از آزمون آماری T-test در فضای نرم‌افزاری SPSS استفاده گردید. مقادیر معنی‌دار در حد $P < 0.05$ مشخص گردیدند.

نتایج

پس از جمع‌آوری و اخذ ۱۰۰ نمونه از بافت کبد اجساد، هرکدام از نمونه‌ها به‌صورت تصادفی ساده، به سه قسمت مساوی تقسیم گردیدند و بر روی نمونه اول و در بدو پذیرش آزمایش تشخیص سیانید به روش آبی پروس انجام پذیرفت که پس از انجام تست سیانید، ۹۴ مورد منفی و ۶ مورد مثبت گزارش گردید (نمودار ۱).

یک ماه پس از اخذ، نمونه‌های نگهداری شده در سردخانه (دمای ۴- درجه سانتی‌گراد) مجدداً و با همان روش آبی پروس مورد آنالیز قرار گرفتند. ۹۴ مورد نمونه‌ها دارای تست

رسید (۷). Lundquist و همکاران در سال ۱۹۸۵ و Stamfill و Calafat در سال ۲۰۰۴ گزارشی مبنی بر کاهش غلظت سیانید در نمونه‌های زیستی در اثر نگهداری ارائه کردند (۸، ۹). همچنین مطابق برخی مطالعات انجام‌شده، تغییر غلظت سیانید در نمونه‌های زیستی به غلظت اولیه آنالیت در نمونه بستگی ندارد (۹، ۱۰).

درنهایت با توجه به اهمیت موضوع و عدم وجود مطالعات مشابه در منطقه و همچنین عدم وجود مطالعه‌ای مبنی بر بررسی رابطه طول گذشت زمان بر مقادیر سیانید در برخی از نمونه‌های بافت اخذشده پس از مرگ، مطالعه حاضر به بررسی اثر مدت‌زمان نگهداری نمونه‌های بافت ارجاعی به آزمایشگاه سم‌شناسی بر نتیجه تست سیانور در اجساد ارجاعی به تالار تشریح پزشکی قانونی شیراز در طی سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۱ پرداخته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت مورد-شاهدی و جهت تعیین اثر مدت‌زمان نگهداری نمونه‌های زیستی بر نتیجه بررسی کیفی یون سیانید در طی سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۱ انجام شد. جامعه پژوهش شامل کلیه اجساد ارجاع شده به تالار تشریح پزشکی قانونی شیراز بود و پس از انجام کالبدگشایی جسد در جمعیت هدف، نمونه کبد برداشت‌شده و در ظروف مناسب به آزمایشگاه سم‌شناسی ارسال گردید. معیارهای ورود به مطالعه شامل عدم فساد جسد و گذشتن کمتر از ۲۴ ساعت از زمان فوت شخص بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل فساد جسد و گذشت بیش از ۲۴ ساعت از زمان فوت است.

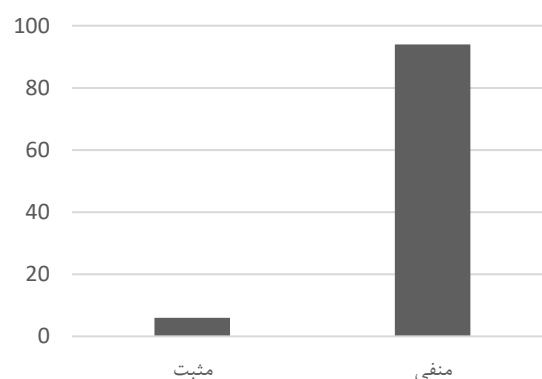
کلیه نمونه‌های بافت کبد اخذشده در بدو پذیرش در بخش سم‌شناسی، به سه قسمت تقسیم و هر قسمت در زمان معین هموژن گردید و سپس در سه مرحله زمانی صفر، یک ماه و دو ماه بعد آزمایش آبی پروس به روی نمونه انجام شد. نتایج روش آبی پروس به‌صورت مثبت و یا منفی گزارش می‌گردد. در این روش، پس از تقطیر نمونه معرف شیمیایی به نمونه اضافه می‌گردد، رنگ آبی ظاهر می‌شود و نتیجه تست مثبت تلقی می‌گردد. دو قسمت باقیمانده نمونه‌ها جهت انجام آزمایش در فواصل یک و دو ماه در سردخانه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. نمونه‌های نگهداری شده پس از زمان سپری‌شده، به روش آبی پروس مورد آنالیز قرار گرفتند.

دو ماه پس از نگهداری در شرایط دمایی ۴-۰ درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها مجدداً به روش آبی پروس مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج آنالیز نمونه‌ها دو ماه پس از پذیرش در نمودار ۲ آورده شده است. بدین ترتیب که ۹۴ مورد منفی و ۶ مورد مثبت بود که دو مورد اخیر مثبت همان ۴ نمونه مثبت در تست‌های مرحله پذیرش و یک ماه بعد از پذیرش بود (نمودار ۲). بر اساس محاسبات آماری، بین نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌ها در زمان‌های مختلف تفاوت معناداری مشاهده نگردید ($p>0.05$).

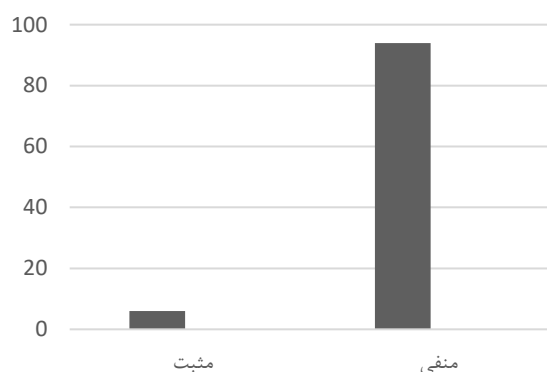
جدول ۱ نشان‌دهنده مقادیر کمی سیانید اندازه‌گیری‌شده در موارد مثبت سیانید در نمونه‌های مثبت کبد در حین فوت، یک ماه و دو ماه پس از فوت است. مطابق این نتایج، میزان سیانید در نمونه‌های کبد اگرچه در طول زمان دچار تغییراتی گردیده‌اند، این تغییرات تفاوت معنی‌داری از نظر آماری نداشتند ($P>0.05$). در جدول ۲ میزان سیانید اندازه‌گیری‌شده در ریه‌های نمونه‌های مثبت در حین فوت، یک ماه و دو ماه پس از فوت است. مطابق این نتایج نیز میزان سیانید در نمونه‌های ریه اگرچه در طول زمان دچار تغییراتی گردیده‌اند، این تغییرات تفاوت معنی‌داری از نظر آماری نداشتند ($P>0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

همان‌طور که ذکر گردید سیانور ماده‌ای شدیداً کشنده است و در طبقه‌بندی‌های موجود سیانید به‌عنوان یکی از سمومی محسوب می‌شود که از جنبه قانونی و قضایی دارای اهمیت خاصی است. یکی از روش‌های تشخیص سیانید در بافت‌های اجساد، استفاده از روش آبی پروس است (۱۱). بر اساس منابع



نمودار ۱- فراوانی نتایج تست سیانید بر روی نمونه‌ها در بدو پذیرش



نمودار ۲- فراوانی نتایج تست سیانید بر روی نمونه‌ها پس از دو ماه

سیانید منفی و ۶ مورد دارای تست سیانید مثبت بودند که نتایج دو نمونه مثبت همان ۴ مورد مثبت در آزمایش در بدو پذیرش بود.

جدول ۱- سطوح سیانید ($\mu\text{g/g}$) در کبد موارد مثبت در حین فوت، یک ماه و دو ماه پس از فوت

نمونه‌ها	حین فوت	یک ماه پس از فوت	دو ماه پس از فوت
نمونه شماره ۱ کبد	۲/۱۲	۲/۵۱	۲/۲۳
نمونه شماره ۲ کبد	۲/۵۳	۲/۵۸	۲/۴۷
نمونه شماره ۳ کبد	۱/۸۹	۱/۹۵	۱/۹۰
نمونه شماره ۴ کبد	۱/۹۵	۱/۸۳	۱/۹۱
نمونه شماره ۵ کبد	۱/۳۷	۱/۵۰	۱/۵۲
نمونه شماره ۶ کبد	۲/۳۰	۲/۳۸	۲/۲۳
میانگین $\pm$ انحراف معیار	۲/۰۲۲ $\pm$ ۰/۳۹	۲/۱۲۲ $\pm$ ۰/۴۳	۲/۰۹۲ $\pm$ ۰/۳۸
	$P=0.2$	$P=0.41$	

جدول ۲- سطوح سیانید ($\mu\text{g/g}$) در ریه موارد مثبت در حین فوت، یک ماه و دو ماه پس از فوت

نمونه‌ها	حین فوت	یک ماه پس از فوت	دو ماه پس از فوت
نمونه شماره ۱ ریه	۱/۲۱	۱/۴۱	۱/۵۳
نمونه شماره ۲ ریه	۱/۸۹	۱/۹۰	۱/۸۷
نمونه شماره ۳ ریه	۲/۶۵	۲/۵۳	۲/۶۳
نمونه شماره ۴ ریه	۲/۲۱	۲/۰۱	۲/۱۲
نمونه شماره ۵ ریه	۲/۳۲	۲/۴۵	۲/۳۳
نمونه شماره ۶ ریه	۲/۹۰	۲/۶۷	۲/۴۳
میانگین $\pm$ انحراف معیار	۲/۱۹۵ $\pm$ ۰/۵۹	۲/۱۶۵ $\pm$ ۰/۴۷	۲/۱۵۵ $\pm$ ۰/۴۰
	$P = 0.64$	$P = 0.84$	

Askelandt و همکاران (۱۴) تولید سیانید را توسط باکتری‌های سیانوژن در محیط‌های آبی به اثبات رساندند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد در محیط کشت حاوی اسیدآمینه گلايسين و در شرایط دمایی مناسب دو باکتری *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas fluorescence* قادر به تولید سیانید هستند. تولید سیانید توسط باکتری‌های گونه سودومونا (*Pseudomona Species*) و *Chromobacterium Violaceum* صورت می‌گیرد (۱۴-۱۶). از آنجایی که گونه‌های باکتری سودومونا در همه‌جا یافت نمی‌شوند و تنها در برخی از مناطق خاک و آب وجود دارند، به دست آوردن نتایج مخالف در تحقیق حاضر دور از انتظار نیست. در مطالعه‌ای *in vitro* و بر روی محیط کشت، نشان داده شده که افزودن اسیدآمینه گلايسين به محیط کشت باکتری‌ها تولید سیانید را افزایش می‌دهد. گلايسين به‌عنوان پیش ساز تولید عمل کرده و در اثر واکنش دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو سیانید و دی‌اکسید کربن تولید می‌کند (۱۵).

Chikasue و همکاران (۳) تأثیر شرایط نگهداری نمونه‌های بافتی را بر غلظت سیانید موردبررسی قراردادند. نتایج حاصل از بررسی آن‌ها نشان داد که پس از نگهداری نمونه‌های بافت کبد، کلیه و مغز در شرایط دمایی 4°C و یا 20°C به مدت یک روز تا سه هفته غلظت اولیه سیانید در نمونه افزایش و یا کاهش را از خود نشان داد.

Rhee و همکاران (۱۷) در سال ۲۰۱۱ پایداری یون سیانید در اجساد و نمونه‌های اخذ شده پس از مرگ را بررسی کردند.

مختلف، جهت بررسی وجود یا عدم وجود سیانید در نمونه‌های اخذ شده از اجساد و با توجه به فرار بودن سم سیانید و احتمال از دست رفتن آن از ماتریکس بیولوژیک در شرایط دمایی بالا، انجام تست باید بلافاصله و بدون فوت وقت صورت پذیرد (۳، ۴).

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه اخیر و اینکه در بررسی نتایج تست سیانید به روش آبی پروس در زمان‌های بدو پذیرش، یک ماه پس از پذیرش و دو ماه بعد از پذیرش، نتایج مشابه حاصل گردید و در هر سه مرحله ۹۴٪ موارد مشابه منفی و ۶٪ موارد مشابه مثبت گزارش شد و میان زمان انجام تست سیانید در هر سه مرحله تفاوت معناداری محاسبه نگردید، می‌توان عنوان نمود که نتایج حاصله با نتایج مطالعه Curry و همکاران (۵) که تولید سیانید به میزان حدود ۱۰ برابر مقدار اولیه در نمونه خون پس از سپری شدن سه ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد دیده شده بود و یا مطالعات Lundquist و همکاران (۸) و Stamfill و Calafat در سال ۲۰۰۲ (۹) مبنی بر کاهش غلظت سیانید در نمونه‌های زیستی در اثر نگهداری ارائه کردند، همخوانی ندارد.

در یک مطالعه دیگر بر روی موش‌ها مشخص گردید که مدت زمان اندازه‌گیری سیانید در نمونه‌های بافتی در دمای اتاق، ۲۴ ساعت بود (۱۲).

Rao و همکاران نیز اذعان کردند که پروفایل زمانی و تولید سیانید بستگی به مهار فعالیت آنزیم سیتوکروم اکسیداز و غلظت تیوسانات ادرار دارد (۱۳).

افزایش می‌دهد. این افزایش به‌خصوص در هفته‌های پنجم و ششم نگهداری نمونه‌های خون بیشتر به چشم می‌خورد.

در مطالعه‌ای توسط Singh و همکاران (۱۲) مشخص گردید که میزان سیانید موجود در بافت‌های مختلف به خاطر دما، شرایط نگهداری و طول مدت نگهداری تغییر می‌یابد. در این مطالعه در طول زمان میزان سیانید موجود در کبد دچار تغییراتی گردید اما این تغییرات معنی‌دار نبود که یکی از دلایل احتمالی آن می‌تواند شرایط یکسان نگهداری نمونه‌ها باشد. مقادیر سیانید در نمونه‌های بافتی و خون در اثر عواملی چون دما، طول مدت نگهداری نمونه‌ها و همچنین استفاده از مواد نگهدارنده بافت دچار تغییر می‌گردند (۱۸، ۲۲). در این مطالعه، نمونه‌ها سریعاً پس از اخذ و انجام آزمایش‌های اولیه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند؛ لذا تأثیر دما بر روی میزان سیانید موجود در بافت‌های کبد یکسان بوده است. همچنین از هیچ‌گونه ماده نگهدارنده‌ای جهت نگهداری بافت‌های کبد استفاده نگردید. در ریه‌های نمونه‌برداری شده نیز تغییراتی در میزان سیانید اندازه‌گیری شده مشاهده گردید اما این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبودند. در مطالعه‌ای که توسط Seto و همکاران انجام شد، کاهش قابل‌توجهی در میزان سیانید موجود در بافت‌ها و خون خرگوش در دمای اتاق مشاهده گردید که به نظر می‌رسد به دلیل فعالیت باکتری‌های متابولیزه‌کننده سیانید در نمونه‌ها باشد (۲۳).

به‌طور کلی می‌توان گفت که غلظت یون سیانید در اجساد پس از گذشت زمان، به غلظت اولیه سیانید، مدت زمان، نحوه نگهداری (دما و شرایط محیطی) جسد و همچنین اضافه نمودن نگهدارنده‌هایی همچون فلورید سدیم دارد (۱۸).

از نقاط قوت این مطالعه می‌توان به بررسی وجود یا عدم وجود سیانید در بافت‌های مهم و حیاتی بدن و همچنین بررسی کمی آن در بازه‌های زمانی مختلف پرداخت. نقطه‌ضعف این مطالعه را می‌توان عدم بررسی در انواع بیشتری از بافت‌ها عنوان کرد.

برخی مطالعات نیز مارکرهای جدید جهت تشخیص سیانید در بافت‌ها و خون معرفی کرده‌اند که از این نمونه می‌توان به 2-amino-4-thiazoline-carboxylic acid (ATCA) اشاره کرد (۲۴). در کل و با توجه به بدیع بودن نتایج مطالعه حاضر نسبت به نتایج مطالعات مشابه و همچنین کم‌هزینه بودن روش آبی

نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که یون سیانید ذاتاً ماهیت فرار داشته و در نمونه‌های اخذشده پس از مرگ به‌صورت غیر پایدار عمل می‌کند. همچنین نتایج حاصل از تحقیق آن‌ها نشان داد که سرعت تبدیل سیانید به سایر مواد در نمونه‌های بافتی و خون به غلظت اولیه سیانید در این نمونه‌ها، مدت زمان سپری‌شده از مرگ تا نمونه‌برداری، مدت زمان نگهداری نمونه‌ها تا آنالیز و استفاده از ماده محافظ و شرایط نگهداری نمونه (دما) وابسته است. از آنجایی که در تحقیق حاضر بررسی کمی سیانید در نمونه‌های زیستی امکان‌پذیر نبوده است، در نتیجه کاهش یا افزایش غلظت سیانید قابل‌بررسی نیست. به‌رحال در تحقیق حاضر پس از سپری شدن یک و دو ماه از نمونه‌برداری، سیانید همچنان در نمونه‌های بافت کبد قابل‌شناسایی بود. مطالعه دیگری توسط McAllister و همکاران (۱۸) پیرامون پایداری یون سیانید در اجساد و نمونه‌های اخذشده پس از مرگ انجام شد. بر اساس یافته‌های این مطالعه، سدیم فلوراید ۲٪ اضافه‌شده به نمونه خون به‌دست‌آمده از قربانیان آتش‌سوزی باعث کاهش بی‌ثباتی سیانید به دلیل فعالیت باکتریایی می‌شود.

طبق مطالعه Blumer تولید سیانید توسط گونه‌های متفاوتی از باکتری‌ها گزارش شده است و بیان شده که تولید سیانید توسط باکتری‌ها به غلظت اولیه سیانید در نمونه ارتباطی ندارد و به تولید سیانید از اسید آمینه گلیسین توسط آنزیم‌های اکسیدان اشاره شده است (۱۹). در مطالعه Kala و Chudzikiewicz (۲۰) به مدت ۴۰ سال بر روی تغییرات بافتی ایجادشده در نمونه‌های اخذشده پس از مرگ و تأثیر آن بر تفسیر نتایج حاصل از آنالیزهای سم‌شناسی بحث شده است. در مطالعه آن‌ها از یون سیانید به‌عنوان یک محصول ناشی از فساد نمونه یاد شده است. تولید سیانید در اثر رشد روند فساد در مطالعه Seto نیز گزارش شده است (۲).

Ballantyne و همکاران علت احتمالی کاهش میزان سیانید در بافت‌ها را تبدیل سیانید به یون تیوسیانات ابراز کردند (۴). تولید سیانید در نمونه‌های خون در فواصل زمانی متفاوت در شرایط دمایی ۴°C نیز در مطالعه Grabowska (۲۱) مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از بررسی آن‌ها بر تولید سیانید اندوژن در نمونه‌های خون نشان داد که نگهداری نمونه‌های خون به مدت ۳-۴ هفته در دمای ۴°C غلظت سیانید را

پرسنل زحمتکش سالن تشریح پزشکی قانونی شیراز و همچنین کلیه پرسنل محترم اداره کل پزشکی قانونی استان فارس که به هر نحو ما را یاری نمودند، ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

پروس در تشخیص سیانید در نمونه‌های بافتی به نظر می‌رسد تست سیانید به روش آبی پروس بر روی بافت‌های مرده می‌تواند در آزمایشگاه‌های سم‌شناسی قانونی به‌عنوان یکی از روش‌های مهم تشخیص سیانید حتی تا دو ماه بعد از اخذ نمونه به‌کاربرده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مطالعه حاضر کمال سپاس و تشکر خود را از

References

1. Cipollone R, Ascenzi P, Tomao P, Imperi F, Visca P. Enzymatic detoxification of cyanide: clues from *Pseudomonas aeruginosa* Rhodanese. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*. 2008;15(2-3):199-211.
2. Seto Y. Peer reviewed: false cyanide detection. *Analytical chemistry*. 2002;74(5):134.
3. Chikasue F, Yashiki M, Kojima T, Miyazaki T, Okamoto I, Ohtani M, et al. Cyanide distribution in five fatal cyanide poisonings and the effect of storage conditions on cyanide concentration in tissue. *Forensic science international*. 1988;38(3):173-83.
4. Ballantyne B, Bright J, Williams P. An experimental assessment of decreases in measurable cyanide levels in biological fluids. *Journal of the Forensic Science Society*. 1973;13(2):111-7.
5. Curry A, Price D, Rutter E. The production of cyanide in post mortem material. *Acta pharmacologica et toxicologica*. 1967;25(3):339-44.
6. Lindsay AE, Greenbaum AR, O'Hare D. Analytical techniques for cyanide in blood and published blood cyanide concentrations from healthy subjects and fire victims. *Analytica Chimica Acta*. 2004;511(2):185-95.
7. Ballantyne B. In vitro production of cyanide in normal human blood and the influence of thiocyanate and storage temperature. *Clinical toxicology*. 1977;11(2):173-93.
8. Lundquist P, Rosling H, Sörbo B. Determination of cyanide in whole blood, erythrocytes, and plasma. *Clinical chemistry*. 1985;31(4):591-5.
9. Calafat AM, Stanfill SB. Rapid quantitation of cyanide in whole blood by automated headspace gas chromatography. *Journal of chromatography B*. 2002;772(1):131-7.
10. Frison G, Zancanaro F, Favretto D, Ferrara SD. An improved method for cyanide determination in blood using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*. 2006;20(19):2932-8.
11. Logue BA, Kirschten NP, Petrikovics I, Moser MA, Rockwood GA, Baskin SI. Determination of the cyanide metabolite 2-aminothiazoline-4-carboxylic acid in urine and plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2005;819(2):237-44.
12. Singh P, Rao P, Yadav SK, Gujar NL, Satpute RM, Bhattacharya R. Time-and Temperature-Dependent Changes in Cytochrome c Oxidase Activity and Cyanide Concentration in Excised Mice Organs and Mice Cadavers. *Journal of forensic sciences*. 2015;60(Suppl 1):S162-70.
13. Rao P, Singh P, Yadav SK, Gujar NL, Bhattacharya R. Acute toxicity of some synthetic cyanogens in rats: Time-dependent cyanide generation and cytochrome oxidase inhibition in soft tissues after sub-lethal oral intoxication. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;59(6):595-609.
14. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, Watts J. Clarke's analysis of drugs and poisons. 4th ed. USA, Pharmaceutical Press; 2011.p:3712.
15. Gilchrist FJ, Alcock A, Belcher J, Brady M, Jones A, Smith D, et al. Variation in hydrogen cyanide production between different strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *European Respiratory Journal*. 2011;38(2):409-14.
16. Williams HD, Zlosnik JE, Ryall B. Oxygen, cyanide and energy generation in the cystic fibrosis pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Advances in microbial physiology*. 2006;52:1-71.
17. Rhee J, Jung J, Yeom H, Lee H, Lee S, Park Y, et al. Distribution of cyanide in heart blood, peripheral blood and gastric contents in 21 cyanide related fatalities. *Forensic science international*. 2011;210(1):e12-e5.
18. McAllister J, Roby R, Levine B, Purser D. Stability of cyanide in cadavers and in postmortem stored tissue



specimens: a review. *Journal of analytical toxicology*. 2008;32(8):612-20.

19. Blumer C, Haas D. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Archives of Microbiology*. 2000;173(3):170-7.

20. Kała M, Chudzikiewicz E. The influence of post-mortem changes in biological material on interpretation of toxicological analysis results. *Probl Forensic Sci*. 2003;54:32-59.

21. Grabowska T, Skowronek R, Nowicka J, Sybirska H. Prevalence of hydrogen cyanide and carboxyhaemoglobin in victims of smoke inhalation during enclosed-space fires: a combined toxicological risk. *Clinical toxicology*. 2012;50(8):759-63.

22. Baud F. Cyanide: critical issues in diagnosis and treatment. *Human & experimental toxicology*. 2007;26(3):191-201.

23. Seto Y. Oxidative conversion of thiocyanate to cyanide by oxyhemoglobin during acid denaturation. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1995;321(1):245-54.

24. Bhattacharya R, Singh P, Palit M, Waghmare C, Singh AK, Gopalan N, et al. Time-dependent comparative evaluation of some important biomarkers of acute cyanide poisoning in rats: an aid in diagnosis. *Biomarkers*. 2014;19(3):241-51.



Original Article

The Effect of Longtime Storage on Cyanide Production in Postmortem Stored Tissues

Gholamzadeh S¹, Akhgari M¹, Zarenezhad M^{1*}, Gharehdaghi J¹, Doroudchi A¹, Montazeri M¹, Kazemi B²

1- Legal Medicines Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran

2- Islamic Azad University, Kazeroon Branch, Kazeroon, Iran

Received: 14 Feb 2016

Accepted: 09 Aug 2016

Abstract

Background & Objective: Acute cyanide poisoning happens intentionally as suicide attempt or in accidental use. Interpretation of cyanide analysis results in postmortem samples is important in forensic medicine.

Material & Methods: In this case-control study, the liver and the lung of 100 autopsy cases were collected during six months in Shiraz Forensic Medicine Department. Samples were divided into three parts and were examined as follow: one part of the liver and the lung was analyzed qualitatively to detect cyanide with Prussian blue test at first day of admission, the second and the third parts of the samples were stored at 0-4°C for one and two months, respectively. Then, liver and lung samples were analyzed to measure the amount of cyanide.

Results: Cyanide was detected in only six cases in all three parts of the liver samples. Screening results for cyanide were negative for the remaining 94 liver samples.

Conclusion: Endogenous cyanide production was not detected in liver and lung samples in this study. Therefore, cyanide detection was not affected by the time of the storage of the samples. The cyanide level changes in mentioned tissues were not significant. More importantly, our results would be more advantageous if we studied quantitatively on more samples to pave the way for future studies.

Keywords: Cyanide, forensic toxicology, liver, lung

*Corresponding author: Mohammad Zarenezhad, Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran
Email: zarenezhad@hotmail.com