# الأهمية الطبية الشرعية لبعض الواسمات الحيوية الكيميائية (الإسترات الإيتيلية للحموض الدسمة) لتحديد الكحولية (دراسة مقارنة في الحركية السمية للإيتانول والاستفادة من نفوذه إلى كرة العين (الخلط الزجاجي) وتطبيقاته في مجال الطب الشرعي)

**أمية حدة***

**الملخص**

**خلفية البحث وهدفه: لتركيز الكحول في الدم والبول أهمية كبيرة في الحوادث الجنائية لا سيَّما عند إجراء التحقيقات في الجرائم التي لها علاقة بتناول الكحول والعواقب الناتجةعن تأثيراته في المراكز العصبية. لهذا يعدُّ تحليل الكحول من أكثر التحاليل التي تطلب في مخابر السموم الشرعية. إلا أنَّ هناك خطورة من تشكل الكحول بعد الوفاة في العينات بفعل أنواع من الجراثيم أو الخمائر وبازدياد الزمن الفاصل بين الوفاة واجتزاء العينة. وهو أمر في مهم جداً لتفسير النتائج. إذ من الصعوبة بمكان التفريق بين الكحول المتكون بعد الوفاة والكحول الناتج عن تناوله قبل الوفاة.**

**أهمية البحث وأهدافه: - إلقاء الضوء على التقانات الحديثة في تحديد تركيز الكحول ومستقلباته كالإسترات الإيتيلية في السوائل الحيوية بالاعتماد على الحرائك الدوائية والسمية واختيار الطريقة التحليلية الفضلى لتتناسب مع الظروف الميدانية.**

**- إدخال مفهوم اختيار السائل الحيوي المناسب لتحديد الكحولية وتأكيد على أهمية استخدام الخلط الزجاجي للعين كعينة جيدة في حالة الوفاة للتحري عن الكحول.**

**مواد البحث وطرائقه: قمنا بإجراء تعديل على خلية الانتشار المستخدمة والمعروفة للتحري عن المركبات الطيارة، واستخدمت كطريقة عملية ميدانية في تحديد الكحولية في الدم وفي الخلط الزجاجي للعين.**

* أستاذة - قسم الطب الشرعي - كلية الطب - جامعة دمشق .

**النتائج : مقارنة بعينات الدم أو استخدام المستقلبات الإيتيليةالغلوكورونية والكبريتية أوالإسترات الإيتيلية للحموض الدسمة سواء في الدم أو الشعر إنَّ استخدام الخلط الزجاجي، للعين تعدُّ العينة المفضلة للتحري عن الكحول في حالة الوفاة، نظراً إلى أنَّ كرة العين عضو معزول تشريحياً، وأقل عرضة للتلوث الجرثومي والتفسخ من الأنسجة الأخرى، ولسهولة أخذ العينة وإلى أنَّ الماء يشكل 99% من تركيب االخلط الزجاجي للعين من جهة ونسبة الخلايا والبروتينات فيه ضئيلة من جهة أخرى مما يجنبنا عمليات الاستخلاص المعقدة التي نواجهها في السوائل الأخرى ويوافر علينا كثيراً من الجهد والوقت. كما أثبتت الطريقة التحليلية المعدلة بطريقتنا كفاءتها وفائدتها في قياس تركيز الكحول في الحالات الإسعافية وفي غرف التشريح مما يجعل من هذا البحث مساهمة علمية تطبيقية لخدمة الطبيب الشرعي والعدالة على حد سواء.**

**الاستنتاج: التأكيد على الأطباء الشرعيين ضرورة بزل الخلط الزجاجي بعد الوفاة كعينة ضرورية في تحديد الكحولية بشكل خاص والعديد من السموم كالمخدرات كبديل عن السوائل الحيوية التقليدية الأخرى كالدم والبول، لا سيَّما أن ذلك لا يسبب أي تشوه للجثة ويسهم-إلى حد كبير- في تسهيل إجراء التحليل ممَّا يسهم إلى حد كبير في توفيرالوقت والجهد والتكلفة ويشكل إسهاماً جديداً مهم جداً في مجال الطب الشرعي في بلادنا.**

**كلمات مفتاحية: التسمم بالكحول – الخلط الزجاجي –الأسترات الإيتيلية.**

# Forensic Medical Importance of Some Biomarkers (Faees) in Alcoholic Determination:A Comparative Study in Toxicokinetics of Ethanol and Its Penetration Into the Eye Ball and ItsApplication in Forensic Medicine

**Omaya Hiddeh***

## Abstract

**Background & Objective: The concentration of ethanol in blood and urine provides important evidence in criminal and civil litigation when alcohol- related crimes are investigated (e.g., drunk driving )Therefore. Ethanol analysis is the most frequently performed assay in forensic toxicology laboratories . .However, the risk for artifactual formation of ethanol, especially in postmortem specimens, always needs to be considered . It is often difficult to distinguish between postmortem ethanol production and antemortem alcohol ingestion .**

**Ethanol synthesis could be produced by many species of bacteria or yeasts ,which is also influenced as storage temperature, and the interval between death and autopsy increase .**

**Purpose of the study:To focus on a reliable method of analysis depending on the pharmacokinetcs of ethanol,and to choose the appropriate biological fluid for alcohol analysis .**

**Methods & Materials: The use of vitreous humour and the modifide microdifusion cell proved to be useful permitting the limitation of the interference in postmortem ethanol evaluation.**

**Results: An interesting modification in the microdifusion cell used for the detection of volatiles proved to be useful permitting measurements in emergency situations and decreasing the probability of postmortem ethanol synthesis produced by many species of bacteria or yeasts ,which is also influenced as storage temperature, and the interval between death and autopsy increase .**

**Conclusion: analysis of vitreous humour is useful to corroborate a postmortem blood alcohol and assist in distinguishing antemortem intoxication from post mortem alcohol production.**

**In most cases the specimen is easily obtained and can be sampled without a full autopsy . Vitreous humour is a clear ,serous fluid which is easy to work anatically .Its anatomically isolated protects it from bacterial putrefaction .**

**Key words : alcoholism –vitreous humour-FAEEs .**

* Prof. Departement of forensic medicine-Faculty of Medicine-Damascus University.

**مقدمة:**

يعدُّ تحليل الكحول وتحديد تركيزه في سوائل الجسم الحيوية المختلفة كالدم والبول والخلط الزجاجي للعين، من أكثر التحاليل التي ترد إلى مخابر السموم الشرعية والمخابرالمتخصصة في الكحولية. فتحديد تراكيز الكحول في الدم أو في البول، كثيراً ما يترتب عليها أمور قضائية لها علاقة بمدى إقحام الكحول ومدى عدِّه سبباً أو طرفاً في العديد من الحوادث الجنائية أوالاجتماعية (حوادث السير، الاعتداءت).

ونظراً إلى وجود علاقة بين تركيز الكحول في الدم ودرجة عدم التوافق impairment في الحركة والرؤية والإدراك والسلوك والمزاج [1,2] يجعل من ضرورة البحث عن طريقة سهلة وسريعة ذات مصداقية reliable أمراً مهم جداً، ولاسيَّما عندما يكون المريض فاقداً الوعي وتفوح منه رائحة الكحول.

فمن وجهة نظر طبية شرعية من المهم تحديد هل كانت حالة فقدان الوعي هذه ناتجة عن تسممات حادة بالكحول أو تعود إلى رضوض في الرأس أو ناتج عن كليهما[3].؟

**أهمية البحث وأهدافه:**

- تكمن أهمية البحث من عدم وجود دراسة سابقة مماثلة في جامعاتنا.

- إلقاء الضوء على التقانات الحديثة في تحديد تركيز الكحول ومستقلباته كالإسترات الإيتيلية في السوائل الحيوية بالاعتماد على الحرائك الدوائية والسمية واختيار الطريقة التحليلية الفضلى لتتناسب مع الظروف الميدانية.

- إدخال مفهوم اختيار السائل الحيوي المناسب لتحديد الكحولية وتأكيد أهمية استخدام الخلط الزجاجي للعين كعينة جيدة في حالة الوفاة للتحري عن الكحول بشكل خاص والعديد من السموم كالمخدرات كبديل عن السوائل الحيوية التقليدية الأخرى كالدم والبول، مما يشكل أسهاماً جديداً مهماً في مجال الطب الشرعي في بلادنا.

**الطرائق والتجهيزات:**

**طرائق تحديد الكحولية (الكحول أو مستقلباته كالإسترات الإيتيلية) في السوائل الحيوية المعروفة.**

1- طرائق الأكسدة الكيميائية حيث تجري المعايرة باستخدام مقياس الطيف الضوئي أو بطريقة كوردبار Cordebard.

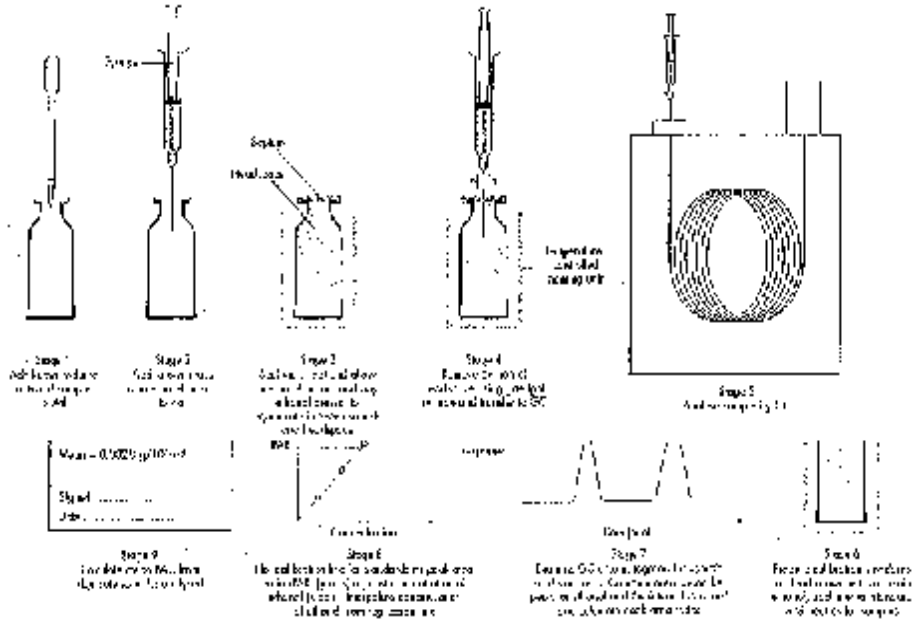
**2**- طريقة الانتشار الدقيق microdiffusion بواسطة خلية Conway.

3- طرائق أنزيمية تعتمد على أنزيم نازع الهيدروجين الكحولي ADH وعلى متمم الأنزيم **NAD Coenzyme**[4]

4- طرائق مناعية أنزيمية الـــ **(Enzyme multiplied immuno- assay** Emit المقايسة المتعددة المناعية الأنزيمية.

5- والـــ **REA (Radiative Energy Attenuation)** التي تعتمد على استخدام الطاقة الإشعاعية[2].

6- طرائق استشراب السائل **HPLC** والغازي GC، وأخيراً الاستشراب الغازي نمط **HEAD-SPACE GC** وهي الطريقة المفضلة والمعتمدة في مخابر الطب الشرعي نظراً لنوعيتها ودقتها[2]. التي يمكن توضيحها بالمخطط الآتي:



**الشكل (1): مخطط توضيحي لخطوات تحليل الكحول بطريقة الـ Headspace GC**

تعتمد تحديد الكحولية إما على تحديد تركيز الكحول مباشرة أو على الفحوص التي تعتمد على مستقلبات الكحول metabolites. لما كان من الصعوبة بمكان التفريق بين الكحول المتكون بعد الوفاة والكحول الناتج عن تناوله قبل الوفاة[5] ومخاطر تشكل الكحول بعد الوفاة في العينات المراد فحصها بفعل الجراثيم أو الفطور والخمائر التي تعدُّ قادرة على إنتاج الكحول انطلاقاً من ركائز عديدة ولاسيَّما السكاكر[5,6] . زد على ذلك أنَّ إنتاج الكحول يتأثر بدرجة الحرارة وبالزمن الفاصل بين الوفاة وزمن أخذ العينة[7]. فلا بدّ من أخذ ذلك في الحسبان عند تفسيرالنتائج. أمَّا تحديد الكحولية باللجوء إلى الفحوص التي تعتمد على مستقلبات الكحول metabolites مثل الإسترات الإيتيلية للحموض الدسمة[8,9].the (FAEEs) test fatty acid ethyl esters وكذلك الإسترات الإيتيلية الغلوكورونية والكبريتية ethyl sulfate، ethyl glucuronide فهي فحوص حساسة في حالة التناول الحديث للكحول إذْ إنَّ بالإمكان الكشف عن الـ (FAEEs) في الدم في التسممات الحادة حتى في حالة الاستقلاب الكامل للكحول، وكذلك الحال بالنسبة إلى الإسترات الإيتيلية الغلوكورونية والكبريتية في البول، إذ يمكن الاستفادة منها في التمييز بين الكحول المتكون قبل الوفاة وبعده نظراً إلى عدم إمكانية تشكلها بعد الوفاة[10,11,12,13].

كما أن الدراسات الحديثة تبيّن لنا أن هناك مستقلبات أو واسمات **(Biomarkers )** كثيرة و معروفة للكحول سواء في الدم أو في البول[14] على سبيل المثال لا الحصر مثل

- GGT gamma glutamyltransferase
- 5-hydroxytryptophol (5HTOL)
- phosphatidylethanol

إلا أنها تحتاج إلى الخضوع إلى عمليات استخلاص ومن ثم لا بدَّ من كشفها أو معايرتها باستخدام تقانات الـ HPLC أو GC، مما جعلنا نتوجه إلى تحديد الكحولية بالاعتماد على تركيز الكحول مباشرة في الخلط الزجاجي للعين، وكذلك السوائل الحيوية الأخرى كالدم عند توافر شروط العينة الجيدة للدم، وهذا تحدده ظروف الحادث[15]. كما اعتمدنا مبدأ طريقة الانتشار microdiffusion في بحثنا كطريقة للتحليل. من أجل ذلك قمنا بإجراء تعديل

على خلية الانتشارConway المستخدمة للتحري عن المركبات الطيارة[16].

**تصنيع الخلية**:

استخدمت قوارير Schott الألمانية أو ما يماثلها بسعة 100مل .ألصق بداخلها أنبوب زجاجي بطول 3سم يتسع لنحو 15 مل لتشكل الحجيرة الداخلية للخلية. هذه القوارير ذات نوعية زجاج جيد ، وغطاء من مادة التفلون teflon المقاوم للمواد الكيميائية وقابل للإغلاق المحكم كما في الشكل(1).

تحضيرالكواشف:

يوزن 4,2608 غراماً من ثاني كرومات البوتاسيوم يضاف إليها 200مل من الماء المقطر ثم 450مل من حمض الكبريت الكثيف يمزج جيداً حتى الدوبان، ثم يكمل الى 1000مل بالماء المقطر. في هذه الحالة فإن 1مل من المحلول تعبّر عن 1ملغ من الكحول في عينة الدم أو البول وتعطى النتيجة عادة بالملغ %أو بالملغ في الليتر من الدم أو البول.

استخدم الكحول المطلق في تحضير المحاليل العيارية ويؤخذ بالحسبان كثافة الكحول التي تبلغ 0.8 في حساباتنا جميعها.

الطريقة:

**العينات**:

عينات الدم :blood samples

- يؤخذ عادة 5-10 مل من الدم الوريدي للتمكن من إجراء عدة قياسات للكحول في الدم فضلاً عن تحاليل أخرى قد تكون ضرورية، مثل المواد المسببة للإدمان. يفضل في حالة التحليل السمي الشرعي أخذ أنبوبين من الدم، وفي حالة الوفاة يؤخذ الدم من وريد الفخذ. تستخدم أنابيب من نمط Vacutainer D المفرغة من الهواء المعالجة مسبقاً بفلور الصوديوم وحماضات البوتاسيوم التي نتعرف إليها بسدادتها ذات اللون الرمادي. وهي(مخصصة لتحليل فحص تحمل الغلوكوز والكحول). أو يعمد إلى أخذ العينة على مسحوق حماضات البوتاسيوم بمعدل 5ملغ /مل من الدم كمضاد تخثر وفلور الصوديوم بما يعادل 10ملغ لكل مل من الدم لتثبيط فعالية أنزيمات الدم والمتعضيات الدقيقة والخمائرالتي قد تلوث العينة .تسد الأنابيب بسدادة محكمة الإغلاق. يمزج الدم بتحريكه رأساً على عقب عدة مرات لتأمين التجانس.

_ تحضرالمحاليل الآتية:

1- الناصع للدم : 1مل دم لا يحوي كحولاً

2- العياري : 1مل من العياري +1مل من الدم لا يحوي كحولاً

3--عينة من العياري 1مل يعتمد كشاهد.

الخلط الزجاجي : vitreous humor

استخدم الخلط الزجاجي لعين الأرنب، وذلك لصعوبة الحصول عليها من عين إنسان متوفٍ.

1- الناصع للخلط الزجاجي : 1مل من خلط زجاجي لأرنب لا يحوي كحولاً

2- العياري : 1مل من خلط زجاجي لأرنب لا يحوي كحولاً + 1مل من العياري

3-عينة من العياري 1مل يعتمد كشاهد.

التحري عن الإسترات الإيتيلية في البول.

**المبدأ**:

تهيأ عدد من الخلايا بحيث يوضع في الحجيرة الداخلية لكل منها 1مل من كاشف ثاني كرومات أو الحجم المناسب بحسب التجربة المطلوبة لتتناسب مع تركيزالكحول. يوضع في الحجيرة الخارجية حجم معلوم (1مل) من العينة المراد فحصها سواء عينة الدم أو عينة العياري من الكحول أو عينة من الخلط الزجاجي.

هذا الحجم يدخل عند حساب نتائج تركيز الكحول. تغلق الخلية بإحكام وتترك بضع دقائق فيلاحظ تغير لون الكاشف رويداً رويداً من اللون البرتقالي إلى اللون الأخضر ثم الأخضر المزرق ثم الأزرق بسرعة تتناسب مع تركيز الكحول في العينة، ويعدُّ انتظار مدة 1ساعة كافياً في الحالات جميعها.

يؤخذ ما هو بداخل الحجيرة الداخلية إلى أنبوب اختبار سعة 10 مل يمدد الناتج إلى 10مل.

الناصع للكاشف blank reagent1مل من ثاني الكرومات تمدد إلى 10 مل. يقرأ التماص بطول موجة 600 نانومتر مقابل الناصع للكاشف.

تركيز المجهول $\frac{\text{تماص المجهول}}{\text{تماص العياري}} \times$ تركيز العياري

( تماص العياري – تماص الناصع للدم )

تشمل التجارب التي أجريت على:

1- حدد طول الموجة الاعظمي عند انتهاء التفاعل (قرابة 590 نانومتراً) بواسطة مقياس الطيف الضوئي من نمط UV-visible spectrophotometer Camspec M330.

2- تحضير سلسلة عيارية بدءاً من الكحول المطلق (يؤخذ بالحسبان كثافة الكحول 0.8غ/مل) بتراكيز متدرجة ومفاعلتها مع الكاشف مباشرة.

3-إجراء تجارب مكررة لكل تركيز على حدة (ست حجيرات لكل تركيز)، جهزت من دم أخذ من أشخاص لا يتعاطون الكحول، وكذلك من عينات من الخلط الزجاجي جمعت من عيون الأرانب. ثم أضيف إليها الكحول وفقاً للتركيز المطلوب، حددت دقة الطريقة وحسب الانحراف المعياري SD وكذلك معامل التغيّر CV% Coefficient of variation الذي يجب ألا يتجاوز 5% لتكون الطريقة مقبولة. وحسبت التراكيز بالإعتماد على قياس الكثافة الضوئية وقورنت بالسلسلة العيارية.

4- اختبار القياس بعد التسخين في حمام مائي بدرجة حرارة 60م لتسريع التفاعل وتحديد زمن انتهاء التفاعل. وتحديد تركيز الكحول ومقارنته بتركيز مماثل ترك لليوم التالي بدرجة حرارة المخبر.

**النتائج**:

تعتمد الطرائق التحليلية المتبعة في المخابرالطبية السمية -إلى حد كبير- على جاهزيتها وتطورها ولاسيَّما أنه قد طرأ تطور كبيرفي على التقانات المستخدمة في التحاليل، لما لذلك من أهمية عند تفسير النتائج التي كثيراً ما يترتب عليها أمور قضائية لها علاقة بمدى إقحام الكحول ومدى عدِّه سبباً أو طرفاً في العديد من الحوادث الجنائية أو الاجتماعية[2,3]. كما سبق وذكرنا.

**الشكل(2) : يظهر في الصورة زجاجة Schott العادية وإلى جانبها الخلية المعدلة وبداخلها الأنبوب الزجاجي وإلى جانبها يظهر اختلاف الألوان باختلاف تركيز الكحول .**

**الشكل (3): السلسلة اللونية العيارية حيث تظهر اختلاف الألوان وتدرجها باختلاف تركيز الكحول .**

لدى تحليل عينات من الدم لغايات طبية شرعية هناك طريقة منهجية لابدَّ من اتباعها، وهي أن تحديد النتيجة يجب أن يكون بإجراء تحليل مضاعف للعينة، لأنَّ النتائج المتقاربة أو المتشابهة تؤكد عدم وقوع أي خطأ، ولتجنب أي سوء حظ أوأي عثرة في أثناء التحليل الأول. يؤخذ في هذه الحالة متوسط النتيجة للعينتين، ومن ثَمَّ يمكن تحديد عدم الثقة uncertitude بطرح كل نتيجة من المتوسط ومن ثَمَّ تصل حدود الثقة بين 95% أو 99% أو 99.9% بحسب المتطلبات. ففي السويد مثلا تحدد النتيجة لثلاثة تحاليل من العينة. بينما في حالة التحاليل السريرية التي تجري في المشافي أو المخابر الطبية العادية يكفي إجراء التحليل مرة واحدة[2].

- تعطى النتيجة عادة بالملغ /100مل، ويجب تصحيح النتيجة بالنسبة إلى الطب الشرعي وعامل التصحيح هو1.22:1 وهي نسبة البلاسما للدم الكلي وفقاً لدراسة العالم Rainey [2].

ويعدُّ التركيز 30 ملغ% تركيزاً مسموحاً به من وجهة نظر طبية شرعية إلا أنه يعدُّ الحد الفاصل لتحديد مسؤولية الكحول في اليابان، والتراكيز 50ملغ% في استراليا ومعظم دول أوروبا مثل فرنسا وألمانيا، و80ملغ % في المملكة المتحدة ومعظم دول أمريكا الشمالية رغم أن بعض الولايات في الولايات الأمريكية تسمح بتركيز 100ملغ%. بصورة عامة يمكن عدَّ أن تجاوز التراكيز فوق 100ملغ % مؤكداً لمسؤولية الكحول من وجهة نظر طبية شرعية[1,2]، ولهذا وقع اختيارنا على تلك التراكيزفي دراستنا.

الجدول رقم (1) يظهر لنا النتائج التي حصلنا عليها:

**الجدول رقم(1): تحديد الكحول في عينات من الخلط الزجاجي لخمسة تراكيز مختلفة وفي ست عينات متماثلة من كل تركيز، وتظهر النتائج أن CV%أقل من 5%.**

| التركيز / العينة | 30 ملغ% | 50 ملغ% | 80 ملغ% | 120 ملغ% | 160 ملغ% |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 27 | 48 | 77 | 114 | 155 |
| 2 | 31 | 52 | 79 | 115 | 152 |
| 3 | 29 | 50 | 82 | 117 | 158 |
| 4 | 28 | 49 | 78 | 122 | 155 |
| 5 | 28 | 49 | 76 | 116 | 158 |
| 6 | 29 | 48 | 77 | 117 | 157 |
| المتوسط | 28.6 | 49.3 | 78.2 | 116.8 | 155.8 |
| SD | 1.27 | 1.37 | 1.95 | 2.54 | 2.12 |
| CV% | %4.43 | %2.78 | %2.49 | %2.17 | %1.36 |

**الجدول رقم(2): تحديد الكحول في عينات من الدم لخمسة تراكيز مختلفة وفي ست عينات متماثلة من كل تركيز، وتظهر النتائج أن CV%أقل من 5%.**

| التركيز / العينة | 30 ملغ% | 50 ملغ% | 80 ملغ% | 100 ملغ% | 150 ملغ% |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 28 | 49 | 76 | 95 | 145 |
| 2 | 26 | 47 | 79 | 94 | 142 |
| 3 | 28 | 52 | 81 | 103 | 148 |
| 4 | 31 | 49 | 78 | 102 | 145 |
| 5 | 27 | 51 | 79 | 98 | 148 |
| 6 | 30 | 48 | 77 | 97 | 147 |
| المتوسط | 28.6 | 49.3 | 78.3 | 98.2 | 145.8 |
| SD | 1.3 | 1.67 | 1.59 | 3.33 | 2.32 |
| CV% | %4.8 | %3.39 | %2.04 | %3.39 | %1.53 |

**المناقشة:**

يتعلق المحور المهم الذي يرتكز عليه هذا البحث بشكل أساسي بالتباين الكائن في طبيعة العمل وظروفه بين المخبر السريري العادي ومخبر السموم الطبية الشرعية[1,2]. فالعينات التي ترد إلى المخابر الطبية العامة تعود إلى أشخاص لا يزالون على قيد الحياة. فهي عينات لدم كامل غير منحل تمكن المحلل من فصل البلاسما أو المصل عن الكريات الحمراء بسهولة. في حين تعود العينات التي ترد إلى المخبر الطبي الشرعي إلى أشخاص لا يزالون على قيد الحياة، وكذلك إلى من هم قد فقدوا الحياةعلى حد سواء[5,6,15] . فغالباً ما يكون الدم في الحالة الأخيرة منحلاً، أو يحوي على خثرات دموية، ممّا يعيق المعايرة المباشرة للكحول بالطرائق المناعية أو الأنزيمية بسبب التداخلات الناتجة عن الدم المنحل، مما يجعل من عملية فصل الكحول عن العينة بالتقطير أمراً حتمياً كما هو الحال في طريقة Cordebard المعتمدة منذ أمد بعيد في مجال الطب الشرعي[3,4].

يتطلب عادة قياس تركيز الكحول في العينات البيولوجية (الدم الكامل، والمصل، والبلاسما، والبول واللعاب والخلط الزجاجي للعين) استخدام عمليات تحليلية سهلة نسبياً. فعملنا يتطلب الاخذ بالحسبان عاملين أساسيين: اختيار العينة الحيوية المناسبة في حال الوفاة، وانتقاء الطريقة التحليلية التي توافق العينة التي ستخضع للتحليل.

فعلى الرغم من أن طريقة الـ **Head- space GC**[1,2] هي الطريقة المعتمدة حالياً في المخابر المتطورة التي تمتلك إمكانيات كبيرة كما سبق وذكرنا، إلا أنها لا تصلح للتحاليل الميدانية. بينما تصلح استخدام الخلية المعدلة بطريقتنا للتحليل الميداني والتحاليل اللاحقة المتممة. علماً أنها مستنبطة من طريقة **Head--space GC** في الشق الأول من التحليل، في حين يكمن الاختلاف في الشق الثاني من التجربة الذي يعتمد إما على استخدام جهاز الاستشراب الغازي[1] أو على الكشف والمعايرة بطريقة الانتشار باستخدام الخلية المعدلة. ذلك أن عمق الحجيرة الداخلية (3سم) تمكن الطبيب الشرعي من نقل الخلية والتعامل معها بسهولة دون أن يؤدي ذلك إلى انسكاب المحلول الذي بداخلها وامتزاجه مع المحاليل والكواشف في الحجيرة الخارجية، وهذا ما يميّزها عن الخلية المتوافرة حالياً في بعض مخابرنا فإضافة فضلاً عن أنَّها مصنوعة من أنواع من اللدائن فهي قليلة العمق جداً لا يتجاوزعمق جدارها الداخلي الـ(0.5 سم)، وعمق جدارها الخارجي (1سم) في أفضل الأحوال. كما لا يتحقق الإغلاق المحكم مدة طويلة بسبب استخدام الفازلين

الذي يتأثر بتغيرات درجة الحرارة. زد على ذلك صعوبة غسلها للتمكن من استخدامها مجدداً.

الطريقة بسيطة وسريعة، يمكن أن تجرى في غرفة التشريح، وذلك بتهيئة الزجاجات مع الكواشف مسبقاً. إذْ إنَّ كاشف ثاني كرومات البوتاسيوم من الأملاح المعدنية **ثابت لا** يتخرب لأنَّه لا يحوي مركبات عضوية أو حموضاً ضعيفة. يكفي عندئذٍ وضع عينة السائل الحيوي في الحجيرة الخارجية وإغلاق الزجاجة جيداً، ومن ثم ملاحظة تغيّر لون الكاشف وسرعة تحوله من اللون البرتقالي إلى ألوان تتدرج بين الأخضر الزيتوني إلى اللون الأزرق بما يتناسب وتركيز الكحول. هذا بلا شك يجنبنا خطأ في النتيجة نتيجة تطاير المادة، أو نتيجة حدوث التخمرات بسبب صعوبة وصول العينة إلى المخبر وصعوبة إرسالها من محافظة إلى أخرى [5]. وتساعد إلى حد كبير الطبيب الشرعي الذي غالباً ما تنقصه المهارة أو الخبرة في التحاليل. أثبتت هذه الطريقة كفاءتها وفائدتها في قياس تركيز الكحول في الظروف الصعبة سواء في مكان الحادث أو في غرف التشريح، وتفادي -إلى حد كبير- هذا الزمن الفاصل، مما يجعل من هذا البحث إسهاماً علمياً تطبيقياً في مجال الطب الشرعي.

تركز بحثنا في بادئ الامر على إمكانية فصل هذه المستقلبات أو استخلاصها للتمكن من التحري عنها. بالطرائق التحليلية المعروفة. لم تكن عمليات الفصل بالأمر السهل بل كانت تتخللها العديد من العقبات للتوصل ألى النتيجة المرضية. وهنا جرى التوجه للمقارنة إلى استخدام الخلط الزجاجي للعين للتحري عن الكحولية بعد الوفاة [16,17,18] ولاسيَّما أن الماء يشكل 99% من تركيبه.

تعدُّ العين عضواً معزولاً من الناحية التشريحية، فإنه رغم الرضوض الشديدة للرأس فإن الخلط الزجاجي لا يتأثربها. كما أنه أقل عرضة للتلوث الجرثومي والتفسخ من الدم أو السائل الدماغي الشوكي. يمكن الحصول على 2 مل من السائل البلوري الرائق من كل عين. وفي الأحوال كلَّها فإن عيناً واحدةً تكفي لإجراء التحاليل الكهربائية والبولة والغلوكوز...ونحتفظ بالعين الأخرى لتحري مكونات أخرى سمية أو للتأكد من النتائج السابقة. وقد وجد أن نسبة الكحول هي أعلى بقليل من نسبتها في الدم ratio 1.19/1 فمن السهل بعد ذلك إجراء التصحيحات الموافقة [1,2].

لقد جرى في المدة الأخيرة التوجه لاستخدام الخلط الزجاجي للعين في حالة الوفيات لاسيّما تحديد تعاطي الكوكائين وأهم مستقلباته مثل benzoylecgonine (BEG) ، و ecgonine methyl (EME) في حالات التسمم المميت بالكوكائين[19].

للتحري عن الأفيونيات مثل المورفين والهيدروكودون hydrocodone والهيدرومورفون hydromorphone [20] لتحديد هل كانت سبباً لحدوث الوفاة؟

كذلك يعدُّ مفيداً لتحديد 6-MAM-6-مونو أستيل مورفين ومعرفة مصدر المورفين الموجود في الدم. أي للتمييز بين التعرض للمورفين أو الهيروئين نظراً إلى أنَّ الهيروئين يستقلب بسرعة في الدم مما يجعل من إمكانية كشفه أمراً صعباً.

كذلك الحال بالنسبة إلى-3,4 MDMA methylenedioxymethamphetamine الذي يعبّر تركيزه في الخلط الزجاجي عن تركيزه في الدم قبل الوفاة. ولا بّد أن نذكر بأن تحديد تركيز البوتاسيوم يعدُّ من العوامل المساعدة يمككننا من تحديد زمن الوفاة بدقة ولاسيَّما الخلط الزجاجي[21]. لا شك بأن التوجه إلى استخدام الخلط الزجاجي للعين قد فتح آفاقاً علمية مستقبلية في مجال الأدوية والسموم والطب الشرعي.

**الاستنتاج:**

أهم الاستنتاجات والتوصيات في هذا البحث هو إلقاء الضوء على طبيعة التحاليل السمية والإسهام في تطوير وتحسين أداء المخابرالتي تقوم بإجراء تلك التحاليل التي لا تزال تشكل مشكلة قائمة في بلادنا.

- اكتساب مهارة وخبرة في انتقاء العينة المناسبة للتحليل معتمدين اعتماداً أساسياً على علوم الحركية الدوائية أو السمية، ومن ثم اختيار الطريقة التحليلية الملائمة التي تحددها معطيات الحالة السمية لتتناسب مع طبيعة العينة والإمكانيات، فكل عينة حيوية لها ميزاتها الخاصة، ولها أهميتها في التوصل إلى نتيجة ذات مصداقية قد تبنى عليها قرارات قضائية وجنائية مهمة.

- التأكيد على الأطباء الشرعيين ضرورة بزل الخلط الزجاجي بعد الوفاة كعينة ضرورية لتحديد الكحولية وإرفاقها مع العينات الأخرى كالدم والبول، ولاسيّما أن ذلك لا يسبب أي تشوه للجثة ويسهم إلى حد كبير في تسهيل إجراء التحليل وفيه توفيرفي الوقت والجهد والتكلفة.

معظم البحوث في الوقت الحاضر تتجه بلا شك نحوالاهتمام بالفحوص الطبية السمية باستخدام التقانات الحديثة في التحليل التي سبق وأن أشرنا إليها. من البديهي أن يجري ذلك بشكل موازٍ مع إيجاد طرائق سريعة للكشف عن المواد الكيميائية والسموم ومعايرتها. هذا بدوره شجعنا على أخذ هذا المنحى الأخير ضمن اهتماماتنا. وبذلك يعدُّ هذا البحث إسهاماً في تعرف بعض هذه التقانات البسيطة غير المعقدة باستخدام أداة سهلة التصنيع محلياً، بتكاليف زهيدة، ونوعية جيدة، قابلة للاستخدام المتكرر وسنوات عديدة. فهي خير أداة للاستخدام من قبل الطلاب في مخابرالسموم في جامعاتنا بشكل عام، وتعدُّ وسيلة سريعة وسهلة في متناول الطبيب الشرعي لدى معاينة الجثة مباشرة في غرفة التشريح بشكل خاص..

**References**

1-Jickells S. ,Negrusy A.Clarke's analytical forensic toxicology .Pharmaceutical Press (2008) : 299-327

2 - Steven B. Karch,M.D. Editor-in-Chief ( 2000). Drug Abuse Handbook

3- Jatlow P. ( 1990) Acute toxicology of ethanol ingestion . Role of the clinical laboratory .Am J Clin Pathol N0v; 74 (5) : 721-4.

4-Lawyers &Judges Publishing Co., Tuson,( 1996). Dubowski,K. M.,and Caplan Y., Alcohol testing in the workplace. ,p439

5-O.Neal CL. , Polklis A . (1996). Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation : a critical review .Am J Forensic Med Pathol Mar ; 17 (1): 8-20.

6-Wilson J.F.,Barnett K.,( 1993).External quality assessment of techniques for assay of serum ethanol.Ann Clin Biochem 32, 540.

7-Winek T., Winek C. l., and Wahba W.W., (1996).The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration. Forens. Sci. Intern . 78,179 .

8- Pragst F.,Yegles M. Determination of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG ) in hair ; a promising way for retrospective detection of alcohol abuse during pregnancy The Drug Monit.2008 Apr ; 30(2):2 55-63

9-Wurst FM., Yegles M., Alling C., et als. Measurment of direct ethanol metabolites in a case of former driving under the influence (DUI) of alcohol offender, now claiming abstinence.Int J Legal Med. 2008 May;122(3) ;235-9.

10- Hoiseth G.,Bernard JP.,Stephanson N.,et als. A.Comparison between the urinary alcohol markers EtG, EtS, and GTOL/5-HIAAin a controlled drinking experiment.Alcohol Alcohol 2008 Mars –April ;43(2) ;187-91.

11- Halter CC.,Dresen S., Auwaerter V., et als. Kinetics in serum and urinary excretion of ethyl sulfate and ethyl glucuronide after medium dose ethanol intake . Int J Legal Med. 2008 Mars ;122(2) ;123-8.

12-H.Shloegl et al.,Stability of ethyl glucuronide in urine, post- mortem tissue and blood samples. Int.J.Legal Med.,2006 ,(120),88-83.

13- Hoiseth G., et als., A study of ethyl glucuronide in post- mortem blood as a marker of ante- mortem ingestion of alcohol. Forensic Sci .Int.,2007, (165) ,45-41.

14- Helander A., Jones AW., (2002) 5-HTOL- a new biochemical alcohol marker with forensic application .Lakartidningen Oct 3;99(40) ; 3950-4.
15-Riley D., Wigmore J.G., Yen B. (1996).Dilution of blood collected for medicolegal alcohol analysis by intravenous fluids. J. Analyt Tox 20, 330.
16- Laforge M., Buneaux F., et als. (1994). A rapid spectrophotometric blood cyanide determination applicable to emergency toxicology.J Anal Toxicol 1994 May- June ;18(3); 173-
17- Olsen T., Hearn WL. J.Anal. Stabiliy of ethanol in post mortem blood and vitreous humor in long- term refregerated storage. Toxicol.2003 Oct;27(7) 517-9.
18-Thierauf A., Musshoff F.,et als. Post-mortem biochemical investigations of vitreous humor. Forensic Sci int 2009 Sep 1.
19- Fernandez P., Aldonaza M., Bouzas A.,et als. GC-FID determination of cocaine and its metabolites inhuman bile and vitreous humor.J.Appl Toxicol.2006 May-Jun26(3) :253-7.
20- Chronister CW.,Grund AL., Goldberger BA., Rapid detection of opioids in vitreos humor by enzyme immunoassay .J.Anal. Toxicol.2008 Oct; 601-4
21-Wyman J., Bultman S. Postmortem distribution of heroin metabolites in femoral blood, liver, cerebrospinal fluid, and vitreous humor. J.Anal. Toxicol.2004 May –Jun; 28(4):260-3.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2011/6/23.
تاريخ قبوله للنشر 2011/10/2.