



## CYANIDE INTOXICATION – AN OLD ISSUE, NEW CHALLENGES

Zbigniew KOŁACIŃSKI<sup>1,2</sup>, Konrad ŚLIWKIEWICZ<sup>1</sup>, Renata WINNICKA<sup>1</sup>, Jarosław BERENT<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Department of Acute Intoxications, Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland*

<sup>2</sup> *Department of Forensic Medicine, Medical University, Łódź, Poland*

### Abstract

Cyanides, released during the pyrolysis of plastics, pose a lethal threat to fire victims. The dramatic clinical course of intoxication has led to a tendency throughout the world to equip medical emergency teams and even firemen with antidotes used previously only in hospital settings. Thus, the process of treatment begins at the prehospital stage. This procedure does not always save lives and, moreover, it may be an important factor in changing the kinetics of cyanides and interfering with the reliability of toxicological analysis. The presence of the antidotes themselves may significantly change the results of tests. There is an additional problem related to the direct toxicity of antidotes, which may be important when evaluating medical errors. A factor which diminishes the reliability of expert opinions is the paucity of data concerning the influence of conditions of collection and preservation of samples on the process of releasing cyanides from erythrocytes due to autolytic processes. A lack of standards in this area may lead to improper interpretation of results and imprecise or even incorrect medico-legal opinions. For reasons mentioned above, alternative methods of blood testing should be considered to assess the severity of cyanides intoxication.

### Key words

Fire smoke; Cyanides; Pre-hospital treatment; Laboratory findings; Interfering factors; Medico-legal opinion.

*Received 29 June 2009; accepted 13 October 2009*

### 1. Introduction

Hydrogen cyanide is the one of the most violently acting chemically asphyxiating gases. The mechanism of action consists in the blocking of the trivalent iron of mitochondrial cytochrome oxidase by cyanide ions. This causes intracellular hypoxia and rapid immobilisation of all vital functions of the cell related to oxygen conversion. Acute intoxication can also be caused by consumption of the potassium or sodium salt of hydrocyanic acid [8, 10].

Cyanides are essential components of the diet, because they participate in many metabolic processes and syntheses, e.g. cyanocobalamin – vitamin B<sub>12</sub>. The growth of the chemical industry, especially in the area of plastics, herbicides and solvents – has resulted in numerous new sources of cyanide ions emission [1, 2].

Artificial materials in most cases are harmless for humans. The danger of intoxication occurs when, as a result of pyrolysis of these compounds, hydrogen cyanide or cyanide ions are released in an uncontrolled way [1, 2, 7, 12]. In the Unites States of America, 5 to 10 thousand people die each year as a result of fire smoke exposure. On the basis of toxicological analysis, concurrent intoxication by carbon monoxide and cyanides was recognised as the main cause of death [20, 27].

The aim of this paper is to point out potential problems or even mistakes which may occur in medico-legal evaluation due to the effects of lifesaving activities. The application of specific methods of medical treatment can significantly influence the results of toxicological analysis. Thus, verification of currently applied methods or development of new analytical

methods and standardization of preservation and storage procedures of biological materials are needed.

## 2. Main biomarkers of fire smoke intoxication

Fire smoke is a mixture of irritant and chemically and physically asphyxiating gases. The toxic agent which is claimed to be the most common cause of death is carbon monoxide. However, as a result of the prevalence of plastics, this opinion should be verified and new standards of lifesaving procedures of persons poisoned by fire smoke should be put into practice [4, 5, 7, 9, 12, 17, 18, 23, 28].

Analysis for the presence of cyanides in the blood of persons who have died in fires is rarely performed. Well-documented cases concern incidents involving high fatality rates or where analyses have been requested by insurance companies. Analysis of the blood of passengers of a plane which burned at Manchester International Airport in 1985 showed that hydrogen cyanide was the main toxic agent. In the group of 54 victims, cyanides concentration exceeding 1 mg/l (median 2.2 mg/l) was determined in 87% [22]. This value is considered to be potentially lethal [8, 10, 21, 22]. A lethal concentration of carboxyhaemoglobin (COHb) – that is, exceeding 50% – was determined in only 21% of victims [22]. A similar situation took place during a fire in a hotel in Puerto Rico. The hydrogen cyanide concentration exceeded 1 mg/l in over 48% of victims, while lethal carbon monoxide concentration was found in only 5% of victims [19].

Meta-analysis of 2002 fires showed that in groups of people from the same place of exposure, the hydrogen cyanide concentration in blood slightly exceeded 1 mg/l in the case of 33% to 98% of victims, and in 5% to 48% of victims the concentration was acknowledged to be lethal. Analysis of COHb concentration also showed significant differences between investigated groups, ranging from 5% to 98% [1]. The authors point out that the presence of cyanides in smoke can be predicted on the basis of knowledge of the type of object that burned. High amounts of cyanides are emitted in places where the basic fittings are made from plastics (offices, hotels, cars, planes). Carbon monoxide prevails in accommodations.

Each of the gases – carbon monoxide or hydrogen cyanide – can be a cause of death separately, but many publications have pointed out the lethal effects of total mean concentrations [1, 4, 16, 29]. Baud and co-workers found that the concentrations of COHb and cyanides in many casualties amongst a population of

109 victims poisoned by fire smoke were significantly lower than lethal [4].

## 3. Specific methods of treatment

The intensity of the toxic activity of cyanides and the coexistence of other gases, mainly carbon monoxide, in fire smoke, which make the prognosis worse, are the reasons for the necessity for immediate medical action before transport to a hospital [4, 5, 7, 9, 12]. In many countries usage of anti-cyanide antidotes by medical emergency teams or even firemen has become a standard procedure [4, 5, 7, 12, 18, 23, 28]. This situation has caused a new problem for medico-legal analysis and opinioning, because new factors have appeared which affect cyanide kinetics. The presence of the antidote itself in blood and tissues can be a potential interference factor in subsequent analysis.

Specific treatment of cyanide intoxication is based on application of three basic kinds of antidotes: methaemoglobin inducing compounds (the methaemoglobin binds cyanide ions); compounds directly combining with cyanides; and donors of sulphur, which, after reaction with cyanides, make nontoxic thiocyanides [8, 10].

## 4. Antidotes as potential factors that interfere with the results of toxicological analysis and medico-legal opinioning

Research on the influence of methaemoglobinemia (MtHb), as well as the time and the conditions of storage of biological material on results of analysis for evidential purposes, was presented by Moriya and co-workers [26]. Observations of intoxication consequences in victims of fire were the inspiration for the research. Analysis of blood performed using headspace gas chromatography showed significant differences in cyanide concentrations, even though the samples were collected from victims who died in the same place of exposure. An experiment was carried out using rabbits, which received an intramuscular injection of a lethal dose of potassium cyanide. The investigated population was administered 3% sodium nitrate (antidote) before injection of the poison, while a control group received physiological salt. The hearts of animals, filled with blood, were stored at 460°C for 1 hour to simulate overheating. Next, they were kept for 23 hours at 20–25°C, and for 48 hours at 4°C. Cyanide concentrations were determined after 23 and 48 hours. The MtHb caused by the sodium nitrate injection

reached a concentration of 6.9%. In the investigated population, the cyanide concentration decreased after 23 hours by 85% in comparison with the concentration at the moment of the animals' death. However, after a subsequent 48 hours of storage at 4°C, the concentration increased to 37% of the initial value.

Some of the hearts from the control group were not cooled to 4°C. In these cases, the concentration of cyanides was indeterminable after the end of the experiment. This phenomenon is difficult to explain. It was probably caused by cyanide release from blood cells in autolytic processes and their deposition in cells of heart muscle. A similar process can occur in victims of fire poisoned by cyanides. Administration of antidotes that have the ability to induce methaemoglobin causes not only a redistribution of the cyanides from receptor tissues to blood, but also a decrease in their population in blood cells [32]. Cyanides can also be released from erythrocytes as a result of autolytic processes. Thus, establishing a standard procedure relating to time of sampling and toxicological analysis seems to be extremely important as it may reduce interference factors.

In the experiment described above, the fact that the mean concentration of cyanides in the control material (without sodium nitrate) at the moment of the animals' death was over ten times lower (47.4 vs 3.56 mg/l) was surprising and also difficult to explain. It is possible that it was caused by a very dynamic distribution of cyanides in tissues. The decrease in cyanides concentration in blood also occurred in a different way. In 23 hours it decreased by 46%, and after 48 hours 10% of the initial amount remained. It seems that the influence of storage conditions of samples on cyanide kinetics is another factor which has to be taken into account in medico-legal opinioning.

In the case of mixed exposure to carbon monoxide and hydrogen cyanide, part of the haemoglobin transforms to carboxyhaemoglobin. This reduces the ability to transport oxygen into tissues. Simultaneously, cyanide ions block the possibility of utilizing oxygen in the cells, as a consequence of inactivation of cytochrome oxidase functions [8, 10]. The mentioned mechanisms lead to a summation of tissue anoxia. This especially concerns organs that are critical in the intoxication process – the brain and heart. From the moment of administration of an antidote which is able to induce methaemoglobin, a new factor which impairs oxygen transport has appeared. In the experimental conditions described above, the antidote was given before the poison injection, obtaining a small concentration of MtHb. To balance a potentially lethal dose of cyanides, a minimum concentration of 15% MtHb is

needed [8]. During lifesaving procedures, which are carried out in stressful conditions, it is possible to overdose the antidote. In such a case, the MtHb concentration can reach values of over 50% [8, 10, 14].

Improperly implemented therapy can become an additional factor making the prognosis worse [7, 15]. Studies on mice, which, after receiving a sub-lethal dose of potassium cyanide, were placed in a CO atmosphere for several minutes, showed that mortality increased after the application of an antidote (sodium nitrate) by 25% in comparison with an untreated control group. In a group which received amyl nitrate as an antidote, mortality increased by 43%, and, when the dose was doubled, by as much as 59% [24]. A high concentration of MtHb, caused by improper therapy, can lead to life-threatening generalised anoxia or multi-organ damage [15].

The above-mentioned aspects of antidote usage, particularly the possibility of a threat to life caused by improper diagnosis or therapy, create a real danger of medical errors. Because of the circumstances of intoxication and kind of toxic agent, this situation can become the subject of expert opinions by toxicologists and forensic medical doctors. This is an additional argument for drawing up standard toxicological analytical procedures. It seems to be advisable to additionally determine the MtHb concentration in all fatal cases of fire smoke poisoning where specific treatment has been applied. There is no such necessity if methaemoglobin inducing drugs were not administered during the therapeutic process.

During the therapy, sodium dithionite should be administered directly after dosage of methaemoglobin inducing drugs. This leads to production of thiocyanides, which are removed by the kidneys. The presence of this drug can, however, lead to overestimation of cyanide concentration when using micro-diffusion analytical methods [25, 31].

A new generation of antidotes to cyanide intoxication has been available commercially for several years. Hydroxocobalamin (HCB) is an antidote which does not compete with cyanides and carbon monoxide in oxygen transport and utilization in cells [5, 7, 23, 28]. It is a precursor of vitamin B<sub>12</sub> – cyanocobalamin. Vitamin B<sub>12</sub> is produced as a result of combining with cyanide ions. Cyanocobalamin is removed by the kidneys in 2–3 days. A study by Aster and Baud, performed with fibroblast culture using labelled HCB, showed that it penetrates into cells, i.e. detoxification takes place at receptor sites [3]. Up till now, no clinical life-threatening side-effects have been demonstrated [5, 7, 9]. In 1996, HCB was released onto the pharmaceutical market in France and has become a standard

component of medical kits of medical emergency teams for the routine treatment of victims of fire [9, 28].

HKB at an effective lifesaving dosage (5 g) leads to pinkish colour of the mucous and urine and can be a cause of elevated results of biochemical analysis based on colorimetric methods [11]. Therefore, when preparing medico-legal expert opinions concerning cause of death, the reliability of toxicological analysis using methodology based on colorimetry should be evaluated with great care.

Te-I and co-workers described a case of nearly two-fold increase of cyanide concentration in patient plasma an hour after HCB administration. The authors suggest that, in the analytical process during incubation with acid, cyanocobalamin releases previously attached cyanide ions, thus giving a falsely elevated result. The incubation process is the methodological foundation of the applied colorimetric micro-diffusion method [32].

The presented literature data indicate that medico-legal expert opinions concerning victims of fire should not be limited only to circumstances of death and determination of COHb in blood. Lack of concurrent determination of cyanides can lead to incorrect conclusions about the cause of death, particularly in the presence of low concentrations of COHb. Administration of MtHb-inducing antidotes by medical emergency teams necessitates additional determination of this haemoglobin derivative in blood, in order to rule out its influence on the course of intoxication. The high risk of analytical mistakes, resulting from administration of antidotes and autolytic processes and also a lack of standard procedures for collecting and storing biological material lead to doubts as to whether blood is the best medium for estimation of risk of cyanide exposure. Lindsay and co-workers consider that all currently utilised analytical methods are unsuitable and time-consuming and the results are non-comparable and unreliable [21]. Therefore the question arises as to whether researches aimed at improving methods of blood analysis are heading in the right direction(s).

In 2001, Ikegaya and co-workers published the results of a study on the activity of cytochrome oxidase in various organs of laboratory animals that had been lethally poisoned by cyanides [13]. Tissues of brain, heart, lungs and liver were homogenised, and next, after mitochondria extraction, the activity of cytochrome oxidase was determined, using the cytochrome c extracted from the heart of an ox as a substrate. The cyanides were determined in tissue homogenates and whole blood using the fluorometric method [30]. The activity of the cytochrome oxidase was lowest in the brain, which did not correlate with the cyanide concen-

tration in this organ. Higher concentrations were determined in all remaining homogenates and in blood. The level of cytochrome oxidase activity was stable for 48 hours in all tissue homogenates, excluding kidneys. The concentration of cyanides determined in blood and homogenates was unstable and decreased gradually; there were significant differences between concentrations depending on the investigated organ. The authors state that this can be explained by rapid brain death and circulatory arrest before the process of cyanide distribution in organs has finished.

Determination of mitochondrial rhodanase activity or thiocyanides concentration in critical organs (brain, heart) seems to be an equally interesting research direction.

## 5. Conclusions

1. The presence of hydrogen cyanide in fire smoke necessitates its consideration in toxicological analysis and medico-legal opinionioning.
2. A lack of standards concerning analytical methods, collecting and preservation of biological material can be the cause of opinionioning mistakes.
3. Application of specific methods of treatment changes the cyanide kinetics and introduces new factors that interfere in toxicological analysis.
4. It would seem to be advisable to continue with the current research directions or plan new ones aimed at developing and applying indirect methods of quantifying cyanide exposure.

## References

1. Alaire Y., Toxicity of fire smoke, *Critical Reviews in Toxicology* 2002, 32, 259–289.
2. Alarie Y., The toxicity of smoke from polymeric materials during thermal decomposition, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1985, 25, 325–347.
3. Aster A., Baud F. J., Simultaneous determination of hydroxocobalamin and its cyanide complex cyanocobalamin in human plasma by high-performance liquid chromatography. Application to pharmacokinetic studies after a high-dose hydroxocobalamin as an antidote for severe cyanide poisoning, *Journal of Chromatography, Biomedical Sciences and Applications* 1995, 667, 129–135.
4. Baud F., Barriot P., Toffis V. [et al.], Elevated blood cyanide concentration in victims of smoke inhalation, *New England Journal of Medicine* 1991, 325, 1761–1766.
5. Baud F. J., Cyanide: critical issues in diagnosis and treatment, *Human & Experimental Toxicology* 2007, 26, 191–201.

6. Borron S., Mgéarbane B., Baud F. J., Hydroxocobalamin is an effective antidote in severe acute cyanide poisoning in man, *International Journal of Toxicology* 2004, 23, 399–400.
7. Ekstein M., Focus of smoke inhalation – the most common cause of acute cyanide poisoning, *Prehospital and Disaster Medicine* 2006, 21, 49–55.
8. Ellenhorn M., Medical toxicology. Diagnosis and treatment of human poisoning, Williams and Wilkins. Baltimore 1997.
9. Fortin J. L., Giocanti J. P., Ruttomann M., Prehospital administration of hydroxocobalamin for smoke inhalation-associated cyanide poisoning: 8 years of experience in the Paris Fire Brigade, *Clinical Toxicology* 2006, 44, 37–44.
10. Gossel T. A., Bricker J. D., Principles of clinical toxicology, Raven Press, New York 1994.
11. Gourlain H., Caliez C., Laforge M. [et al.], Study of the mechanisms involved in hydroxocobalamin interference with determination of some biochemical parameters, *Annales de Biologie Clinique* 1994, 52, 121–124.
12. Guidotti T., Acute cyanide poisoning in prehospital care: new challenges, new tools for intervention, *Prehospital and Disaster Medicine* 2006, 21, 40–47.
13. Ikegaya H., Iwase H., Hatanaka K. [et al.], Diagnosis of cyanide intoxication by measurement of cytochrome c oxidase activity, *Toxicology Letters* 2001, 119, 117–123.
14. Jacobs K., Report on experience with the administration of 4-DMAP in severe prussic acid poisoning. Consequences for medical practice, *Zentralblatt für Arbeitsmedizin* 1984, 34, 274.
15. Kerger H., Dodidou P., Passani-Krupa D. [et al.], Excessive methaemoglobinemia and multiorgan failure following 4-DMAP antidote therapy, *Resuscitation* 2005, 66, 231–235.
16. Koschel M. J., Where there is smoke, there may be cyanide, *American Journal of Nursing* 2002, 102, 39–42.
17. Krivoy A., Finkelstein A., Rotman E. [et al.], Cyanides – treatment beneath the shade of terror, *Harefauh* 2002, 146, 228–234.
18. Kulig K., Cyanide antidotes and fire toxicology, *New England Journal of Medicine* 1991, 325, 181–202.
19. Levin B. C., Rechani P. R., Gurman J. L. [et al.], Analysis of carboxyhemoglobin and cyanide in blood from victims of the Dupont Plaza Hotel fire in Puerto Rico, *Journal of Forensic Sciences* 1990, 35, 151–168.
20. Leybell I., Borron S. W., Hoffman R. S., Toxicity, cyanide, [www.emedicine.com/emerg/topic118.htm](http://www.emedicine.com/emerg/topic118.htm) [December 2008].
21. Lindsay A. E., Greenbaum A. R., O'Hare D., Analytical techniques for cyanide in blood and published blood cyanide concentrations from healthy subjects and fire victims, *Analityca Chimica Acta* 2004, 511, 185–195.
22. Mayes R. W., The toxicological examination of the victims of the British Air Tours Boeing 737 accident at Manchester in 1985, *Journal of Forensic Sciences* 1991, 36, 179–176.
23. Mgéarbane B., Delahaye A., Goldgran-Toledano D. [et al.], Antidotal treatment of cyanide poisoning. *Journal of Chinese Medical Association* 2003, 66, 193–203.
24. Moore S. J., Norris J. C., Walsh D. A. [et al.], Antidotal use of methemoglobin forming cyanide antagonists in concurrent carbon monoxide/cyanide intoxication, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy* 1987, 242, 70–73.
25. Morgan R. L., Isom G. E., Way J. L.: Resolution of thiosulfate interference in cyanide determination, *Toxicology and Applied Pharmacology* 1979, 50, 323–328.
26. Moriya F., Hashimoto Y., Potential for error when assessing blood cyanide concentrations in fire victims, *Journal of Forensic Sciences* 2001, 46, 1421–1425.
27. National Safety Council. Report on injuries in America 2001, [www.nsc.org/library/rept2000.htm](http://www.nsc.org/library/rept2000.htm) [February 2003].
28. Sauer S. W., Keim M. E., Hydroxocobalamin: improved public health readiness for cyanide disasters, *Annals of Emergency Medicine* 2001, 37, 635–641.
29. Silverman S. H., Purdue G. F., Hunt J. L. [et al.], Cyanide toxicity in burned patients, *Journal of Trauma* 1988, 28, 171–176.
30. Suzuki O. [et al.], Direct fluorometric determination of cyanide in human materials, *Forensic Science International* 1982, 19, 189–195.
31. Sylvester D. M., Holmes R. K., Sander C. [et al.], Interference of thiosulfate with potentiometric analysis of cyanide in blood and its elimination, *Toxicology and Applied Pharmacology* 1982, 65, 116–121.
32. Te-I W., Cheng-Chung F., Shu-Meng L., [et al.], Elevated plasma cyanide level after hydroxocobalamin infusion for cyanide poisoning, *American Journal of Emergency Medicine* 2004, 22, 492–493.

---

**Corresponding author**

Zbigniew Kołaciński  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
ul. Śędziowska 18a  
91-314 Łódź  
e-mail: zbigniew.kolacinski@umed.lodz.pl

---

## ZATRUCIA CYJANKAMI – STARY PROBLEM, NOWE WYZWANIA

### 1. Wstęp

Cyjanowodor jest jednym z najbardziej gwałtownie działających gazów duszących chemiczne. Mechanizm działania polega na blokowaniu przez jony cyjanowe trójwartościowego żelaza oksydazy cytochromowej w mitochondriach. W efekcie dochodzi do hipoksji wewnątrzkomórkowej i gwałtownego unieruchomienia wszelkich procesów życiowych komórki związanych z przemianą tlenową. Toksyczność ostra związana może być również ze spożyciem soli potasowej lub sodowej kwasu cyjanowodorowego [8, 10].

Cyjaniki stanowią niezbędny składnik diety, ponieważ biorą udział w wielu procesach metabolicznych i syntezach, m.in. cyjanokobalaminy – witaminy B<sub>12</sub> [8, 10]. Rozwój przemysłu chemicznego, a szczególnie jego części związanej z produkcją tworzyw sztucznych, związków ochrony roślin i rozpuszczalników spowodował, że pojawiły się nowe, liczne źródła emisji jonów cyjanowych [1, 2]. Wyroby przetworzone w większości przypadków nie stanowią zagrożenia dla ludzi. Niebezpieczeństwo zatrucić pojawia się w chwili, gdy w procesie pyrolizy tych związków dochodzi do niekontrolowanego uwalniania kwasu cyjanowodorowego lub jonów cyjanowych [1, 2, 7, 12]. W Stanach Zjednoczonych AP w okresie roku ginie z powodu narażenia na dymy pożarowe 5 do 10 tysięcy osób. Na podstawie badań toksykologicznych krwi jako główną przyczynę rozpoznano współistniejące zatrucie tlenkiem węgla i cyjankami [20, 27].

Celem pracy jest zwrócenie uwagi na potencjalne możliwości powstania problemów, a nawet błędów w opiniowaniu sądowo-lekarskim, wynikających z przedszpitalnych działań ratowniczo-medycznych. Zastosowanie specyficznych metod leczenia może w istotny sposób wpływać na wynik analizy toksykologicznej. Taka sytuacja wymaga podjęcia działań zmierzających do weryfikacji obecnie stosowanych lub opracowania nowych metod analitycznych oraz standardów zabezpieczania i przechowywania materiału biologicznego.

### 2. Podstawowe biomarkery zatrucia dymami pożarowymi

Dymy pożarowe są mieszaniną gazów o działaniu duszącym chemicznie, fizycznie i drażniącym. Czynnikiem toksycznych, najczęściej kojarzonym ze śmiertelnym skutkiem działania dymów, jest tlenek węgla. Ze względu jednak na powszechne zastosowanie tworzyw sztucznych, od kilku lat pojawiają się opinie o konieczności weryfikacji tego poglądu i wprowadzenia nowych

standardów postępowania ratunkowego w stosunku do osób zatrutych dymami pożarowymi [4, 5, 7, 9, 12, 17, 18, 23, 28].

Badania krwi na obecność cyjanów u osób zmarłych w wyniku pożarów są wykonywane rzadko. Dobrze udokumentowane przypadki dotyczą wydarzeń związanych ze znaczącą liczbą ofiar lub wykonywane są na zlecenie firm ubezpieczeniowych. Analizy krwi pasażerów samolotu, który spłonął na międzynarodowym lotnisku w Manchesterze w 1985 roku wykazały, że głównym czynnikiem toksycznym był cyjanowodor. W grupie 54 ofiar aż 87% miało stężenie cyjanów przekraczające 1 mg/l (mediana 2,2 mg/l) [22]. Wartość ta uznawana jest za potencjalnie śmiertelną [8, 10, 21, 22]. Tylko 21% ofiar miało we krwi śmiertelne stężenie karboksyhemoglobiny (COHb) przekraczające 50% [22]. Podobna sytuacja miała miejsce podczas pożaru hotelu w Puerto Rico. U ponad 48% osób stężenia cyjanów przekraczały 1 mg/l, a tylko u 5% wykryto potencjalnie śmiertelne stężenie COHb [19].

Wykonana metaanaliza 2002 pożarów wykazała, że w grupach ofiar z tego samego miejsca narażenia od 33% do 98% osób miało stężenie cyjanów we krwi nieznacznie powyżej 1 mg/l, a od 5% do 48% stężenia uznane za śmiertelne. Badania COHb również ujawniły istotne różnice między analizowanymi grupami wynoszące od 5% do 98% [1]. Autorzy zwracają uwagę, że obecność cyjanów w dymach można przewidzieć na podstawie wiedzy o tym, jakiego typu obiekt płonie. Szczególnie duża ilość jonów cyjanowych jest emitowana w pomieszczeniach, w których podstawowe wyposażenie jest wykonane z tworzyw sztucznych (biura, hotele, samochody, samoloty). Tlenek węgla dominuje w pomieszczeniach mieszkalnych.

Każdy z gazów oddzielnie, tlenek węgla lub cyjanowodor, może być przyczyną zgonu, ale w wielu publikacjach zwraca się uwagę na potencjalnie śmiertelne działanie sumaryczne stężeń średnich [1, 4, 16, 29]. Baud i in. stwierdzili, że wiele ofiar śmiertelnych w badanej przez nich populacji 109 osób zatrutych dymami pożarowymi miało stężenia COHb i cyjanów zdecydowanie niższe od uznawanych za śmiertelne [4].

### 3. Specyficzne metody leczenia

Gwałtowność działania toksycznego cyjanów oraz pogarszająca rokowanie współobecność w dymach pożarowych innych gazów, w tym głównie tlenku węgla, stanowi czynnik obligujący do natychmiastowego działania leczniczego w okresie przed transportem do szpitala [4, 5, 9, 7, 12]. W wielu krajach standardem stało się ru-

tynowe stosowanie antidotów przeciwcyjankowych przez zespoły ratownictwa medycznego, a nawet strażaków [4, 5, 7, 12, 18, 23, 28]. Sytuacja ta spowodowała powstanie nowego problemu dla analityki i orzekania toksykologiczno-sądowego, ponieważ pojawiły się dodatkowe czynniki ingerujące w kinetykę cyjanków. Potencjalnym czynnikiem zakłócającym badania analityczne może stać się również sama obecność odtrutki we krwi i tkankach.

Leczenie specyficzne zatruc cyjankami oparte jest na stosowaniu trzech podstawowych rodzajów odtrutek: związków tworzących methemoglobinę, która następnie wiąże jony cyjanowe; związków bezpośrednio łączących się z cyjankami; donorów siarki, która w połączeniu z nimi tworzy nietoksyczne tiocyjanki [8, 10].

#### 4. Odtrutki jako potencjalne czynniki zakłócające wynik analizy toksykologicznej i opiniowanie sądowo-lekarskie

Badania wpływu methemoglobinemii (MtHb) oraz czasu i warunków przechowywania materiału badawczego na wynik analizy dowodowej przedstawił Moriya i in. [26]. Inspiracją do badań były obserwacje dokonane u ofiar pożarów. Analizy krwi wykonane metodą chromatografii gazowej z zastosowaniem do izolacji techniki analizy fazy nadpowierzchniowej (*headspace*) wykazały znaczące różnice stężeń cyjanków, mimo że materiał pobrany był od ofiar zmarłych w tych samym miejscu narażenia. Eksperyment badawczy wykonany został na królikach, którym podano domięśniowo śmiertelną dawkę cyjanku potasu. Grupa badana otrzymała przed podaniem trucizny 3% azotyn sodu w iniekcji (antidotum), a grupa kontrolna – sól fizjologiczną. Serca zwierząt wypełnione krwią przechowywano przez 1 godzinę w temperaturze 460°C, co symulowało przegrzanie, następnie przez 23 godziny w temperaturze 20–25°C, a przez kolejne 48 godzin w temperaturze 4°C. Cyjanki oznaczano po 23 i 48 godzinach. MtHb spowodowana podaniem azotynu sodu osiągnęła wartość 6,9%. W grupie badanej po 23 godzinach zaobserwowano spadek stężenia cyjanków o 85% w relacji do wartości w chwili śmierci zwierząt, ale po dalszych 48 godzinach przechowywania w temperaturze 4°C stężenie wzrosło do 37% wartości wyjściowej.

Część serc zwierząt z grupy kontrolnej nie była poddana schłodzeniu do 4°C i stężenie cyjanków było w tych przypadkach nieoznaczalne po zakończeniu eksperymentu. Wyjaśnienie tego zjawiska jest trudne. Możliwe, że spowodowane zostało uwalnianiem się cyjanków z krwinek w wyniku procesów autolitycznych, a następnie deponowaniem ich w komórkach mięśnia serca. Podobny proces może występować u zatrutych cyjankami ofiar pożarów. Podanie antidotum o działaniu methemoglobinotwórczym nie tylko powoduje redystrybucję cyjanków z tkanek receptorowych do krwi, ale także zmniejsza pulę

zdeponowaną w krwinkach [32]. Cyjanki mogą uwalniać się z erytrocytów także w wyniku procesów autolitycznych. W związku z tym wydaje się niezmiernie istotne ustalenie standardu czasowego dla pobierania materiału oraz wykonania analizy toksykologicznej, ponieważ może to ograniczyć wpływ czynników zakłócających.

W opisanym wyżej eksperymencie zaskakujący i również trudny do wyjaśnienia jest fakt, że w chwili śmierci zwierząt średnie stężenie cyjanków w materiale kontrolnym (bez azotynu sodu) było ponad dziesięciokrotnie niższe (47,4 vs 3,56 mg/l). Możliwe, że było to spowodowane bardzo dynamicznym rozmieszczaniem cyjanków w tkankach. Spadek stężenia cyjanków we krwi także przebiegał odmiennie. Po 23 godzinach doszło do obniżenia go o 46%, a po 48 pozostało 10% wartości wyjściowej. Wydaje się, że wpływ warunków przechowywania materiału na kinetykę cyjanków jest kolejnym czynnikiem, który musi być uwzględniany w opiniowaniu sądowo-lekarskim.

W przypadku mieszanej ekspozycji na tlenek węgla i cyjanowodorów część hemoglobiny ulega przemianie w karboksyhemoglobinę. Obniża to zdolność transportu tlenu do tkanek. Jednocześnie jony cyjanowe blokują możliwość wykorzystania tlenu w komórkach wskutek wyłączenia funkcji oksydazy cytochromowej [8, 10]. Wymienione mechanizmy powodują efekt sumowania anoksji tkanek. W sposób szczególny dotyczy to narządów krytycznych dla zatrucia – mózgu i serca. Z chwilą podania antidotum o działaniu methemoglobinotwórczym pojawia się kolejny czynnik upośledzający transport tlenu. W warunkach opisanego wyżej eksperymentu antidotum podano przed iniekcją trucizny, uzyskując niewielkie stężenie MtHb. Dla zrównoważenia potencjalnie śmiertelnej dawki cyjanków niezbędne jest osiągnięcie stężenia minimum 15% MtHb [8]. W warunkach stresu podczas działań ratowniczych może dojść do przedawkowania antidotum. Stężenia MtHb mogą osiągnąć wówczas wartości wyższe niż 50% [8, 10, 14].

Niewłaściwie wdrożona terapia może stać się dodatkowym czynnikiem pogarszającym rokowanie [7, 15]. Badania na myszach, którym podano subletalną dawkę cyjanku potasu i następnie umieszczono je na kilka minut w atmosferze CO wykazały, że po zastosowaniu odtrutki w postaci azotynu sodu śmiertelność wzrosła o 25% w stosunku do nieleczonych tym lekiem grupy kontrolnej. W grupie, która otrzymała jako odtrutkę azotyn amylu, śmiertelność wzrosła o 43%, a po dwukrotnym zwiększeniu dawki aż o 59% [24]. Wysokie stężenie MtHb spowodowane niewłaściwą terapią może spowodować zagrożającą życiu uogólnioną anoksję lub uszkodzenia wielonarządowe [15].

Wymienione aspekty stosowania odtrutek, a w szczególności możliwość zagrożenia życia wynikająca z niewłaściwej diagnozy lub terapii, stwarzają realną możliwość popełnienia błędu lekarskiego. Ze względu na oko-

liczności zatrucia i rodzaj czynnika toksycznego sytuacja ta może stać się przedmiotem opiniowania dla toksykologów i lekarzy sądowych. Jest to kolejny argument za opracowaniem standardów toksykologicznego postępowania analitycznego. Wydaje się, że we wszystkich przypadkach zatruc dymami pożarowymi, w których wdrożono leczenie specyficzne, a które zakończyły się zgonem, należy dodatkowo oznaczać stężenie MtHb. Nie ma takiej konieczności, jeżeli w procesie terapeutycznym nie zostały podane leki methemoglobinotwórcze.

Terapia lekami methemoglobinotwórczymi wymaga podania tiosiarczanu sodu bezpośrednio po ich zastosowaniu. Powstające wówczas tiocyjanki są wydalane przez nerki. Obecność tego leku powoduje jednak fałszywie wysokie wyniki stężenia cyjanków oznaczanych za pomocą mikrodyfuzyjnych metod analitycznych [25, 31].

Od kilku lat na rynku farmaceutycznym istnieje nowa generacja antidotum do stosowania u osób zatrutych cyjankami. Hydroksykobalamina (HKB) jest odtrutką niekonkurującą z cyjankami i tlenkiem węgla w procesie transportu i utylizacji komórkowej tlenu [5, 7, 23, 28]. Jest prekursorem witaminy B<sub>12</sub> – cyjanokobalaminy. Witamina ta powstaje w wyniku przyłączenia jonów cyjanowych. Cyjanokobalamina jest wydalana z organizmu przez nerki w czasie 2–3 dni. Badania wykonane na hodowlach fibroblastów z wykorzystaniem znakowanej promieniotwórczo HKB wykazały, że penetruje ona do wnętrza komórek, czyli działanie odtruające odbywa się w miejscach receptorowych [3]. Dotychczas nie wykazano żadnych klinicznych objawów ubocznych zagrażających życiu po jej zastosowaniu [5, 7, 9]. Od 1996 roku HKB została zaakceptowana do obrotu farmaceutycznego we Francji i weszła do użycia jako element wyposażenia zespołów ratownictwa medycznego do rutynowego podawania jej ofiarom pożarów [9, 28].

HKB podawana w dawce skutecznie ratującej życie (5 g) powoduje różowe zabarwienie śluzówek i moczu oraz może być przyczyną uzyskiwania zawyżonych wyników badań biochemicznych opartych na metodach kolorymetrycznych [11]. Wydaje się więc, że z tego powodu w opiniowaniu sądowo-lekarskim o przyczynie zgonu z dużą ostrożnością należałoby oceniać wiarygodność badań toksykologicznych, których metodologia oparta jest na kolorymetrii.

Te-I i in. opisali przypadek blisko dwukrotnego wzrostu stężenia cyjanków w osoczu pacjenta po godzinie od podania HKB. Autorzy sugerują, że cyjanokobalamina w procesie analitycznym podczas inkubacji z kwasem uwalnia przyłączone uprzednio jony cyjanowe, dając fałszywie zawyżony wynik. Proces inkubacji jest podstawą metodologiczną zastosowanej kolorymetrycznej metody mikrodyfuzyjnej [32].

Przedstawione dane zaczerpnięte z literatury przedmiotu wskazują, że opiniowanie sądowo-lekarskie u ofiar pożarów oparte wyłącznie na analizie okoliczności zgonu

i badaniu krwi w kierunku obecności COHb nie powinno mieć miejsca. Brak równoczesnego oznaczenia cyjanków może spowodować wyciągnięcie mylnych wniosków co do przyczyny zgonu, szczególnie w przypadkach niskich stężeń COHb. Zastosowanie przez zespoły ratunkowe antidotów powodujących powstanie MtHb wymaga dodatkowo oznaczenia zawartości tej postaci hemoglobiny we krwi w celu wykluczenia jej wpływu na przebieg zatrucia. Duża możliwość popełnienia błędów analitycznych wynikająca z zastosowania antidotów, progresji procesów autolitycznych oraz braku standardów pobierania i przechowywania materiału biologicznego rodzi wątpliwości, czy krew jest właściwym medium do oceny narażenia na cyjanki. Lindsay i in. prezentują pogląd, że wszystkie stosowane obecnie metody analityczne są niewłaściwe i pracochłonne, a uzyskane wyniki nieporównywalne i o małej wiarygodności [21]. Należy więc zadać pytanie, czy w związku z tym kierunki badawcze zmierzające do usprawnienia analitycznych metod badania krwi są właściwe?

W 2001 roku Ikegaya i in. opublikowali wyniki badań nad aktywnością oksydazy cytochromowej w różnych narządach zwierząt laboratoryjnych zatrutych śmiertelnie cyjankami [13]. Tkanki mózgu, serca, płuc i nerki były homogenizowane, a następnie po wyizolowaniu mitochondriów mierzono aktywność oksydazy cytochromowej, wykorzystując jako substrat cytochrom c wyizolowany z serca wołu. Cyjanki oznaczano w homogenatach tkanek i krwi pełniej metodą fluorometryczną [30]. Aktywność oksydazy cytochromowej była najniższa w mózgu, co nie korelowało ze stężeniem cyjanków w tym narządzie. Wyższe stężenia występowały we wszystkich pozostałych homogenatach i we krwi. Z wyjątkiem nerek we wszystkich homogenatach tkankowych poziom aktywności oksydazy cytochromowej był stabilny przez 2 doby. Stężenie cyjanków mierzone we krwi i homogenatach było niestabilne i stopniowo się obniżało; występowały znaczące różnice stężeń w zależności od badanego narządu. Autorzy tłumaczą to szybką śmiercią mózgu i zatrzymaniem krążenia przed zakończeniem procesu narządowej dystrybucji cyjanków.

Możliwe, że równie interesującym kierunkiem badawczym byłoby oznaczanie aktywności rodanazy mitochondrialnej lub stężenia tiocyjanków w narządach krytycznych (mózg, serce).

## 5. Wnioski

1. Obecność cyjanowodoru w dymach pożarowych wymaga uwzględnienia tego czynnika w analizach toksykologicznych i w opiniowaniu sądowo-lekarskim.
2. Brak standardów dotyczących metod analitycznych oraz pobierania i zabezpieczenia materiału biolo-



gicznego powoduje możliwość mylnego opiniowania.

3. Stosowanie specyficznych metod leczenia zmienia kinetykę cyjanków i wprowadza dodatkowe czynniki zakłócające analizy toksykologiczne.
4. Niezbędne wydaje się wytyczenie lub kontynuacja kierunków badawczych zmierzających do opracowania i wdrożenia pośrednich metod kwantyfikujących narażenie na cyjanki.