

ASIAN ARCHIVES OF PATHOLOGY

THE OFFICIAL JOURNAL OF THE ROYAL COLLEGE OF PATHOLOGISTS OF THAILAND



Volume 6
Number 2
April – June 2024

INDEX  COPERNICUS
INTERNATIONAL

Print ISSN: 1905-9183
Online ISSN: 2673-0499

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

MD, FRCPath (Thailand), MSc, PhD

Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

Associate Editors

- Associate Professor Dr Mongkol Kunakorn
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Associate Professor Dr Theerapong Krajaejun
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Assistant Professor Dr Thirayost Nimmanon
MD, FRCPath (Thailand), MRes, PhD
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand
- Assistant Professor Dr Wisarn Worasuwanarak
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Dr Anirut Worawat
MD, FRCPath (Thailand)
Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- Dr Panuwat Chutivongse
MD, FRCPath (Thailand)
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Editorial Consultant

Professor Dr Vorachai Sirikulchayanonta

MD, FRCPath (Thailand)

Rangsit University, Pathumtani, Thailand

ABOUT THE JOURNAL

Aims and Scope

Asian Archives of Pathology (AAP) is an open access, peer-reviewed journal. The journal was first published in 2002 under the Thai name “วารสารราชวิทยาลัยพยาธิแห่งประเทศไทย” and English name “Journal of the Royal College of Pathologists of Thailand”. The journal is a publication for workers in all disciplines of pathology and forensic medicine. In the first 3 years (volumes), the journal was published every 4 months. Until 2005, the journal has changed its name to be “Asian Archives of Pathology: The Official Journal of the Royal College of Pathologists of Thailand”, published quarterly to expand the collaboration among people in the fields of pathology and forensic medicine in the Asia-Pacific regions and the Western countries.

The full articles of the journal are appeared in either Thai or English. However, the abstracts of all Thai articles are published in both Thai and English languages. The journal features letters to the editor, original articles, review articles, case reports, case illustrations, and technical notes. Diagnostic and research areas covered consist of (1) **Anatomical Pathology** (including cellular pathology, cytopathology, haematopathology, histopathology, immunopathology, and surgical pathology); (2) **Clinical Pathology (Laboratory Medicine)** [including blood banking and transfusion medicine, clinical chemistry (chemical pathology or clinical biochemistry), clinical immunology, clinical microbiology, clinical toxicology, cytogenetics, parasitology, and point-of-care testing]; (3) **Forensic Medicine (Legal Medicine or Medical Jurisprudence)** (including forensic science and forensic pathology); (4) **Molecular Medicine** (including molecular genetics, molecular oncology, and molecular pathology); (5) **Pathobiology**; and (6) **Pathophysiology**.

All issues of our journal have been printed in hard copy since the beginning. Around the late 2014, we developed our website (www.asianarchpath.com) in order to increase our visibility. We would like to acknowledge that our journal has been sponsored by the Royal College of Pathologists of Thailand. We have the policy to disseminate the verified scientific knowledge to the public on a non-profit basis. Hence, we have not charged the authors whose manuscripts have been submitted or accepted for publication in our journal.

On the other hand, if any authors request a printed copy of the journal issue containing the articles, each of the copied journals costs 450 bahts for Thai authors and 30 United States dollars (USD) for international authors.

Publication Frequency

Four issues per year

Disclaimer

The Royal College of Pathologists of Thailand and Editorial Board cannot be held responsible for errors or any consequences arising from the use of information contained in Asian Archives of Pathology. It should also be noted that the views and opinions expressed in this journal do not necessarily reflect those of The Royal College of Pathologists of Thailand and Editorial Board.

MANUSCRIPT REVIEWERS

- **Professor Dr Aileen Wee**
MBBS, FRCPath, FRCPA
National University Hospital, Singapore
- **Professor Dr Eiichi Morii**
MD, PhD
Osaka University Hospital, Osaka, Japan
- **Professor Dr Jasvir Khurana**
MBBS, FCAP
Temple University, Lewis Katz School of Medicine, Pennsylvania, The United States of America
- **Professor Dr Paisit Paueksakon**
MD, FRCPath (Thailand), FCAP
Vanderbilt University School of Medicine, Tennessee, The United States of America
- **Professor Dr Nidhi Chongchitnant**
MD, FRCPath (Thailand)
Bangkok Hospital, Bangkok, Thailand
- **Professor Dr Vorachai Sirikulchayanonta**
MD, FRCPath (Thailand)
Rangsit University, Pathumtani, Thailand
- **Professor Dr Oytip Na-thalang**
PhD
Thammasat University Rangsit Campus, Pathumtani, Thailand
- **Associate Professor Dr Phaibul Punyarit**
MD, FCAP, FRCPath (Thailand)
Bumrungrad International Hospital, Bangkok, Thailand
- **Associate Professor Dr Mongkon Charoenpitakchai**
MD, FRCPath (Thailand)
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

- **Assistant Professor Dr Yingluck Visessiri**
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- **Assistant Professor Dr Pasra Arnutti**
PhD
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

- **Dr Jutatip Kintarak**
MD, FRCPath (Thailand)
Thammasat University Rangsit Campus, Pathumtani, Thailand
- **Dr Kantang Satayasontorn**
MD, FRCPath (Thailand)
Army Institute of Pathology, Bangkok, Thailand
- **Dr Sivinee Charoenthammaraksa**
MD, FRCPath (Thailand)
Bumrungrad International Hospital, Bangkok, Thailand
- **Dr Sorranart Muangsomboon**
MD, FRCPath (Thailand)
Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

CONTENTS

About the journal	i
Aims and scope	i
Publication frequency	ii
Disclaimer	ii
Manuscript reviewers	iii
Original Article	1
■ Simple Modified QuEChERS Extraction of Blood and Vitreous Fluid in.....	1
Determination of 56 common Forensic Drugs and Narcotics by LC-MS/MS	
Nat Tansrisawad, Parat Thirati and Apinya Tuptim	
■ Sex and Ancestry Estimation from Mandible in a Thai Population.....	19
using the (hu)MANid Programme	
Wantana Takaeng, M.D., Sittiporn Ruengdit, Ph.D. and	
Chaturong Kanchai, M.D., Asso. Prof.	
Case Report	31
■ Primary leiomyosarcoma of pulmonary artery causing sudden death.....	31
in a young female: An autopsy case report	
Dr. Bhavya P. Mohan MD, DNB, Associate Professor, Dr. Sheeju P. A MD, Associate	
Professor, Dr. Jini L Valooran MD, Associate Professor	
and Dr. Sreelakshmi P K MD, Registrar	
Appendix 1: Information for authors	37
Categories of manuscripts	37
Organisation of manuscripts	40
Proofreading	46
Revised manuscripts	46
Appendix 2: Benefits of publishing with Asian Archives of Pathology	47
Appendix 3: Submission of the manuscripts	48
Appendix 4: Contact the journal	49
Appendix 5: Support the journal	50

ORIGINAL ARTICLE

Simple Modified QuEChERS Extraction of Blood and Vitreous Fluid in Determination of 56 common Forensic Drugs and Narcotics by LC-MS/MS

Nat Tansrisawad^{1*}, Parat Thirati¹ and Apinya Tuptim²

1 *Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand*

2 *Department of Forensic Medicine, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand*

* Correspondence to: Dr.Nat Tansrisawad, Department of Forensic Medicine, Forensic Medicine Building, 1873 King Chulalongkorn Memorial Hospital, Rama IV Road, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand. Telephone: +66 (0) 2 256 4269, Email: tssnat@hotmail.com

Conflict of interest: The authors declare they have no conflicts of interest with the content of this article.

Submitted: 30 April 2024

Accepted: 22 January 2024

Published: 1 June 2024

Abstract

Background: Whole blood is the specimen of choice and vitreous fluid is an alternative sample in forensic toxicologic investigations. Sample preparation is an essential step of forensic toxicological analysis. Conventional liquid-liquid extraction or solid phase extraction procedures require significant time and effort. QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe) extraction technique was introduced for sample preparation in pesticide analysis. Modified QuEChERS extraction has been introduced for forensic toxicological analysis of amphetamine, antidepressant, cocaine and opiates in whole blood. This study extends the modified QuEChERS method to incorporate vitreous samples and additional commonly encountered drugs and narcotics in Thailand, including ketamine, mitragynine, sibutramine, and sildenafil.

Objective: To develop and validate the modified QuEChERS extraction technique for whole blood and vitreous fluid preparation for liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) analysis of common drugs and narcotics.

Materials and Methods: Whole blood and vitreous fluid were spiked with 56 drugs and narcotics. The extraction of samples via the modified QuEChERS method and subsequent

analysis using LC-MS/MS were validated according to the established protocol. The method was then applied to forensic cases from autopsies and compared with the routine solid-phase extraction technique.

Results: Extraction of each sample was completed within a 15-minute timeframe. The analytes were detectable by LC-MS/MS with a lower limit of detection of 1 ng/mL. Calibration curves ranged from 1 to 100 ng/mL, exhibiting linear regression with an r^2 greater than 0.99. Accuracy and precision fell within acceptable criteria. Application to forensic cases yielded consistent results compared to routine analysis.

Conclusion: The modified QuEChERS extraction method has demonstrated effectiveness in preparing whole blood and vitreous fluid samples for LC-MS/MS analysis of common drugs and narcotics. Using the same extraction technique for whole blood and vitreous fluid, characterized by its affordability, simplicity, and ease of use, has the potential to enhance the efficiency of forensic toxicology laboratories.

Keywords: Sample preparation; drugs; narcotics; QuEChERS; LC-MS/MS

Introduction

Whole blood is the specimen of choice in forensic autopsy for the determination of drugs and narcotics. However, whole blood may not be available at the autopsy or be deteriorated by decomposition and postmortem redistribution. For this reason, vitreous fluid is a good alternative matrix for forensic toxicologic investigation since it is protected in the eyeball, which delays decomposition and redistribution compared to the whole blood, and the substance concentration in vitreous fluid is quite related to the concentration in the blood^(1,2).

Sample preparation is an essential step in the analysis of substances in forensic toxicology investigations⁽³⁾. Different drugs and matrices require different sample preparation

methods. Common and routine sample preparation methods are liquid-liquid extraction (LLE) and solid phase extraction (SPE). LLE and SPE methods consume a processing time and chemicals. QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe) was introduced as a simple preparation to determine pesticides. It reduces chemical usage and processing time using in LLE and SPE. Numerous researchers have employed the original and modified QuEChERS techniques in forensic toxicological analysis⁽⁴⁻⁶⁾. In this study, we propose a simple preparation method using the modified QuEChERS technique for whole blood and vitreous fluid to determine common drugs and narcotics analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Notably, this study includes the analysis of certain substances not previously examined, such as mitragynine from Kratom, ketamine, sibutramine, and sildenafil, which are prevalent in Thailand.

Materials and Methods

Materials and chemicals

High-performance liquid chromatography grade methanol and acetonitrile were purchased from Merck (Sulpeco) Germany. Ammonium formate solution and formic acid (LC-MS grade) were obtained from Sigma and Fischer Chemical US, respectively.

QuEChERS (4000 mg Mg₂SO₄/1000 mg NaCl/ 500 mg Na₂Cit/ 1000 g Na₃Cit) was from UCT Pennsylvania, US.

Alprazolam, cocaine, diazepam, estazolam, fentanyl, imipramine, lorazepam, lysergic acid diethylamide (LSD), methylenedioxy ethyl amphetamine (MDEA), methcathinone, nalorphine, nitrazepam, nordiazepam, norpseudoephedrine, phencyclidine, prazepam, pseudoephedrine, tramadol, triazolam, trimipramine, sibutramine, sildenafil, zolpidem, cocaethylene-D₃, cocaine-D₃, codeine-D₃, diazepam-D₅, estazolam-D₅, heroin-D₉, MDA-D₅, MDEA-D₅, nordiazepam-D₅, imipramine-D₃, oxazepam-D₅ were bought from LGC Germany.

Amitriptyline, amphetamine, benzoylecgonine, cathinone, clobazam, clonazepam, cocaethylene, codeine, desipramine, dextromethorphan, ecgonine methyl ester, heroin, ketamine, methylenedioxy amphetamine (MDA), methylenedioxy methamphetamine (MDMA), mephedrone, methadone, methamphetamine, methylphenidate, mitragynine, morphine, naloxone, naltrexone, nimetazepam, nortriptyline, oxazepam, oxycodone, pentazocine, temazepam, zaleplon, zopiclone, 3,4-methylenedioxypyrovalerone, 6-acetyl morphine were purchased from Cerilliant (Sigma Aldrich) US.

Syringe filter nylon membrane (13 mm with 0.22 µm pore size), 2 mL short tread vial (amber 9 mm tread, 11.6 x 32 mm), bonded natural PTFE/white silicone septa, 9 mm blue screw cap (6 mm center hole), and 250 µL clear insert with no spring vial were purchased from Onepuresci China.

Type I water (18.2 M Ω .cm at 25 °C) was from MicroPure Water Purification system Thermo Scientific, US.

Whole blood was from the Thai Red Cross Society, Thailand. Vitreous fluid was from the Forensic Investigation Center, Chulalongkorn University, Thailand. Both samples were tested for drugs and narcotics by LC-MS/MS and demonstrated no drugs or narcotics.

Instrumentation

A Shimadzu Liquid Chromatography Nexera X2 LC-30AD with triple quadrupole mass spectrometer LC-MS 8060 was from Kyoto, Japan. Shimadzu LabSolutions software version 5.97 was used. The parameter settings of the LC-MS/MS were presented in Table 1.

Preparation of the standard solutions

The mixed standard stock solutions were prepared by mixing standards of drugs and narcotics in methanol to achieve stock solution concentrations of 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, and 2.0 μ g/mL.

The internal standard of drugs and narcotics were combined with methanol to yield a mixed standard stock solution with a concentration of 200 ng/mL.

Method validation

The validation method was conducted according to the set of acceptance criteria. Calibration curves were done at concentrations of 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 50.0, 100.0, and 200.0 ng/mL, with accepted linearity set at $r^2 > 0.9$.

Accuracy and precision were assessed through repeated analyses of samples five times over five days, with accepted criteria being %accuracy and %CV less than 20%.

The lower limit of detection (LLOD) was calculated from the point that the signal to noise ratio (S/N) of the sample peak was greater than 3, while the lower limit of quantitation (LLOQ) was calculated as LLOD with S/N greater than 10.

Selectivity was performed with blank samples and common prescribed drugs (caffeine, acetaminophen, chlorpheniramine, and lidocaine) at a concentration of 200 ng/mL.

Recovery was determined by comparing the extraction product to standard determination.

Sample processing

The method was based on the extraction technique by Dulaurent S, et al⁽⁴⁾. Initially, 100 μ L of both whole blood and vitreous fluid, along with 10 μ L internal standard, were introduced into 1.5 mL microtubes. Mixed standard stock solution was added to get

concentrations of 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 50.0, 100.0, and 200.0 ng/mL. Mix the solution by vortexing for 30 seconds. 200 μ L of acetonitrile at -20°C was added and mixed by vortexing for 30 seconds. 40 mg of QuEChERS powder was added to the microtube and centrifuged at 12,000 rpm for 10 minutes. The 200 μ L of supernatant was filtered by a nylon syringe filter, and the filtered supernatant was mixed with 150 mL of mobile phase A to prepare the sample for LC-MS/MS analysis.

Analysis of drugs and narcotics from forensic cases

Ten samples from autopsies conducted at the Department of Forensic Medicine, Chulalongkorn University, were subjected to testing using both routine screening methods and the proposed technique for comparison.

Table 1. Parameter, LC condition and MS/MS condition

<u>Parameter</u>	
Column	Shim- pax Volex SP-C18, 1.8 μm , 2.1 \times 100 mm column (Shimadzu, Kyoto, Japan).
Mobile Phase	10 mM Ammonium formate in water with 0.1% formic acid (mobile phase A) 10 mM Ammonium formate in methanol with 0.1% formic acid (mobile phase B).
LC Condition	
The flow rate	0.3 mL/min
Gradient of the mobile phase B	0.00–2.00 min: 15%, 2.00–10.00 min: 50%, 10.00–12.00 min: 95%, 12.00–20.00 min: 95%, 20.00–21.00 min: 5%, 21.00–26.00 min: 5%.
LC Stop Time	26 min
Column Oven	40 $^{\circ}\text{C}$

<u>Parameter</u>	
MS/MS condition	
Mode	positive electrospray ionization (ESI) mode
Interface voltage	4 kV
Nebulizing gas (N ₂) flow	3 L/min
Heating gas (N ₂) flow	10 L/ min

Interface temperature	300 °C
Desolvation temperature	250 °C
Heat block temperature	400 °C
Drying gas (N ₂) flow	10 L/min
Argon	270 kPa

Results

Sample preparation

A clear supernatant was obtained following the extraction process. The entirety of this method's preparation process was accomplished within a span of 15 minutes.

Chromatogram

All analytes were effectively separated under the specified LC conditions and provided ion spectra in the multiple reaction monitoring (MRM) mode of ESI-MS analysis. Furthermore, elution of all analytes occurred within a timeframe of less than 30 minutes. Interested drugs and narcotics were eluted from the column and identified by comparing the retention time and specific m/z as depicted in Figure 1, Table 2 and 3.

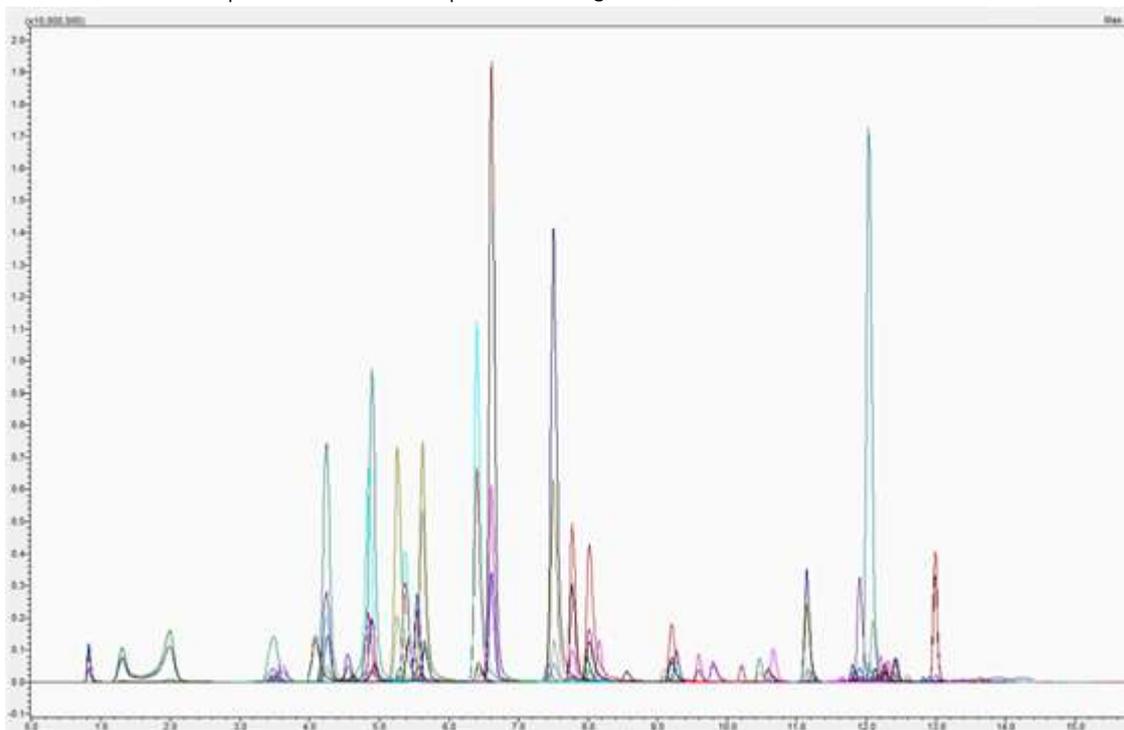


Figure 1. Ion chromatogram of the drugs, narcotics and internal standards (100 ng/mL)

Table 2. Retention time and m/z of drugs and narcotics

No.	Compound	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Retention Time	Collision energies (V)	ISTD Group	ISTD
1	3,4-Methylenedioxypropylamphetamine	276.15	126.2 175.1	9.087	-24 -21	14	MDMA-D5
2	6-Acetyl Morphine	328	165 152	5.888	-37 -55	1	6-Acetyl Morphine-D3
3	Alprazolam	309.1	281.1 205.1	13.156	-26 -40	9	Diazepam-D5
4	Amitriptyline	278.1	233 117.15	12.993	-16 -22 -21	11	Imipramine-D3
5	Amphetamine	136.1	91.1 119.15	5.524	-22 -14	2	Amphetamine-D5
6	Benzoylcegonine	290.15	168.15 77	7.609	-18 -54	3	Benzoylcegonine-D3
7	Cathinone	150.1	117.15 105.15	4.326	-23 -21	14	MDMA-D5
8	Clobazam	301.05	259.05 224.1	12.909	-20 -32	7	Diazepam-D5
9	Clonazepam	316.05	270.05 214.05	12.601	-25 -36	4	Clonazepam-D4
10	Cocaethylene	318.15	196.15 82.05	9.925	-19 -32	5	Cocaethylene-D3
11	Cocaine	304.15	182.15 82.05	8.511	-19 -28	6	Cocaine-D3
12	Codeine	300.15	152.1 215.15	5.044	-63 -24	17	Codeine-D3
13	Desipramine	267.2	72.1 208.1	12.907	-15 -21	11	Imipramine-D3
14	Dextromethorphan	272.2	215.15 171.1	11.656	-23 -37	7	Diazepam-D5
15	Diazepam	285.1	193.05 154	13.452	-31 -26	7	Diazepam-D5
16	Ecgonine Methyl Ester	200.1	182.1	0.955	-18	8	EME-D3

			82.1		-25		
17	Estazolam	295.05	267.05 205.05	12.979	-24 -39	9	Estazolam-D5
18	Fentanyl	337.25	188.15 105.1 317	11.285	-23 -38 -20	14	MDMA-D5
19	Heroin	370.15	165.05 268.1	8.535	-47 -29	10	Heroin-D9
20	Imipramine	281.2	86.1 58.05	12.847	-17 -36	11	Imipramine-D3

No.	Compound	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Retention Time	Collision energies (V)	ISTD Group	ISTD
21	Ketamine	238.1	125 179.05	7.901	-24 -17	14	MDMA-D5
22	LSD	324.2	223.15 207.15	9.936	-24 -42	14	MDMA-D5
23	Lorazepam	321	275 229.1	12.945	-21 -30	7	Diazepam-D5
24	MDA	180.1	163.15 105.15	5.936	-14 -21	12	MDA-D5
25	MDEA	208.15	163.1 105.1	6.912	-13 -24	13	MDEA-D5
26	MDMA	194.1	163.1 105.1	6.172	-13 -23	14	MDMA-D5
27	Mephedrone	178.1	145.15 144.15 165.1	7.002	-20 -29 -23	14	MDMA-D5
28	Methadone	310.2	265.15 105.05	12.966	-15 -26	15	Methadone- D3
29	Methamphetamine	150.15	91.1 119.15	5.858	-22 -15	16	Methamphetamine- D5
30	Methcathinone	164.1	131.1 130.1	4.666	-22 -29	14	MDMA-D5
31	Methylphenidate	234.15	84.1 56.05 223.1	8.736	-24 -47 -36	7	Diazepam-D5
32	Mitragynine	399.05	173.95 159	11.698	-32 -47	18	Mitragynine-D3
33	Morphine	286.15	152.1 201.1	2.578	-59 -26	19	Morphine-D3
34	Nalorphine	312.1	201 181 270	4.781	-26 -36 -23	20	Nordiazepam-D5
35	Naloxone	328.15	212.1 268.2	4.953	-38 -26	20	Nordiazepam-D5

36	Naltrexone	342.15	270.15 267.15	5.622	-27 -29	20	Nordiazepam-D5
37	Nimetazepam	296.05	250.2 221.1	12.843	-28 -39	20	Nordiazepam-D5
38	Nitrazepam	282.1	236.1 180.1	12.538	-23 -32	20	Nordiazepam-D5
39	Nordiazepam	271.05	140.05 208.1	13.309	-27 -27	20	Nordiazepam-D5
40	Norpseudoephedrine	151.95	134.05 115.05 117.15	4.212	-13 -26 -21	21	Norpseudoephedrine-D3
No.	Compound	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Retention Time	Collision energies (V)	ISTD Group	ISTD
41	Nortriptyline	264.15	233.15 105.1	12.984	-14 -22	22	Nortriptyline-D3
42	Oxazepam	287.05	241 104.05	12.928	-23 -35	23	Oxazepam-D5
43	Oxycodone	316.15	241.15 256.15	5.4	-29 -26	24	Oxycodone-D3
44	Pentazocine	286.2	218.2 69.1	10.377	-21 -28	20	Nordiazepam-D5
45	Phencyclidine	244.2	91.05 86.1	10.68	-29 -12	20	Nordiazepam-D5
46	Prazepam	325.1	271.05 140.05	13.813	-23 -36	23	Oxazepam-D5
47	Pseudoephedrine	166	148 133 115.1	4.813	-14 -22 -26	25	Pseudoephedrine-D3
48	Sibutramine	280.2	125.1 139.1	13.081	-25 -16	14	MDMA-D5
49	Sildenafil	475.2	58.05 100.05	12.68	-42 -29	23	Oxazepam-D5
50	Temazepam	301.05	255.1 283.15	13.186	-25 -13	23	Oxazepam-D5
51	Tramadol	264.2	58.05 42.1	8.439	-24 -65	7	Diazepam-D5
52	Triazolam	343.05	308.2 315	13.098	-24 -27	23	Oxazepam-D5
53	Trimipramine	295.2	100.15 58.1	13.026	-17 -34	11	Imipramine-D3
54	Zolpidem	308.2	235.15 263.1	9.769	-35 -26	26	Zaleplon-D4
55	Zopiclone	389.1	244.95 217	8.165	-17 -31	27	Zopiclone-D4
56	Zaleplon	306	236 264	12.225	-26 -21	26	Zaleplon-D4

Table 3. Retention time and m/z of internal Standard Data

No.	Name	Precursor ion	Product ion	RT	Collision energies (V)	ISTD Group
1	6-Acethyl Morphine-D3	331.15	165.15 211.1	5.888	-43 -27	1
2	Amphetamine-D5	141.15	93.1 124.15	5.524	-18 -14	2
3	Benzoylcegonine-D3	293.15	171.2 77.05	7.609	-20 -56	3
4	Clonazepam-D4	320.05	274.2 218.15	12.601	-26 -39	4
5	Cocaethylene-D3	321.2	199.25 85.2	9.925	-21 -32	5
6	Cocaine-D3	307.15	185.15 85.25	8.511	-19 -31	6
7	Diazepam-D5	290.1	198.15 154.05	13.452	-31 -26	7
8	EME-D3	204	186 86	0.955	-17 -25	8
9	Estazolam-D5	301.95	273.9	12.979	-24	9
10	Heroin-D9	379.05	212	8.03	-32	10
11	Imipramine-D3	285.2	89.2	12.847	-17	11
12	MDA-D5	185.15	168.15 110.15	5.936	-13 -22	12
13	MDEA-D5	213.15	163.15 105.2	6.912	-14 -28	13
14	MDMA-D5	199.15	165.15 107.15	6.172	-15 -25	14
15	Methadone- D3	313.15	268.1	12.966	-15	15
16	Methamphetamine-D5	155.15	92.2 121.1	5.859	-20 -15	16
17	Codeine-D3	303.2	215.25 181.2	4.95	-26 -37	17
18	Mitragynine-D3	402.1	177 238.1	11.698	-24 177.0/-32	18
19	Morphine-D3	289.15	152.1 201.15	2.578	-59 -26	19
20	Nordiazepam-D5	278	141.9	13.309	-27	20
21	Norpseudoephedrine-D3	155	137 117.1	4.212	-13 -14	21
22	Nortriptyline-D3	267.05	232.95 105.2 117.15	12.984	-15 -21 -21	22
23	Oxazepam-D5	292.1	245.9 109	12.928	-22 -36	23

24	Oxycodone-D3	319.15	301.1 259.1	5.4	-19 -26	24
No.	Name	Precursor ion	Product ion	RT	Collision energies (V)	ISTD Group
25	Pseudoephedrine-D3	169	151 115.05 91.15	4.813	-14 -26 -33	25
26	Zaleplon-D4	310	239.95 268	12.225	-28 -22	26
27	Zopiclone-D4	393	244.85 216.95 349	8.165	-16 -33 -10	27

Method validation

No interferences from endogenous matrix and external drugs were observed.

With the exception of nitrazepam (5 ng/mL), all drugs and narcotics exhibited a LLOD of 1 ng/mL or lower. The LLOQ of all tested substances was 10 ng/mL or lower.

Linear regression analysis of the calibration curve was performed for each target analyte, with all demonstrating an r^2 value greater than 0.99.

The intra-day precision ranged from 0.5% to 12%, while the inter-day precision ranged from 1.6% to 16%. The accuracies for both blood and vitreous fluid extraction were within the range of less than 20%.

The recovery of the analytes ranged between 80 and 120 %.

The validated data of blood and vitreous fluid have been presented in Table 4 and 5, respectively.

Table 4. Validate data of drugs and narcotics from whole blood

NO	Name	Range (ng/mL)	Linearity (R ²)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Intra Day (Accuracy)						Inter Day (Precision)						Matrix Effect (%)			%Recovery		
						Low		Medium		High		Low		Medium		High		Low	Medium	High	Low	Medium	High
						%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias
1	3,4-Methylene dioxypyrovalerone	1-100	0.998	0.1	1	3.47	14.6	3.42	6.44	1.52	19.86	5.27	11.04	5.94	1.73	3.33	15.55	86.61	83.36	80.87	106.6	98.65	117.72
2	6-Acetyl Morphine	2.5-250	0.995	0.25	25	8.22	17.48	9.14	9.46	2.24	18.49	7.61	10.88	12.1	1.56	6.68	12.71	87.69	83.69	88.82	100.51	116.5	118.09
3	Alprazolam	5-500	0.999	0.5	5	12.78	-17.6	4.36	12.04	10.59	7.73	10.4	-5.77	11.42	2.82	7.98	-2.86	119.02	88.26	84.9	103.51	83.17	87.62
4	Amitriptyline	1-100	0.999	0.1	1	10.61	-0.7	3.16	6.24	7.89	8.76	8.43	4.44	9.11	0.95	6.27	6.62	80.22	86.47	87.34	94.73	112.99	117.23
5	Amphetamine	5-500	0.999	0.5	5	3.47	-3.14	1.13	-9.35	2.54	2.34	6.44	-4.61	6.33	11.18	5.79	8.52	95.11	90.47	90.33	98.21	80.91	101.06
6	Benzylecgonine	2.5-250	0.998	0.25	2.5	1.25	18.78	2.99	-4.6	1.34	8.75	9.93	12.67	4.79	-5.77	5.08	11.47	114.13	96.28	87.06	94.79	98.73	119.44
7	Cathinone	5-500	0.995	0.5	5	4.31	3.68	4.29	2.02	3.85	6.6	6.33	-1.63	5.36	1.62	3.23	-8.01	105.49	102.65	114.85	101.58	93.96	86.75
8	Clobazam	2.5-250	0.998	0.25	2.5	13.56	10.27	8.64	3.45	5.59	7.59	11.14	1.01	3.79	-1.61	2.55	7.95	84.75	86.65	88.39	84.28	94.97	110.53
9	Clonazepam	5-250	0.995	1	5	12.86	2.85	7.24	0.57	6.5	19.55	14.92	0.99	5.32	-5.09	5.8	12.9	87.18	88.47	86.48	85.91	98.1	118.88
10	Cocaine	0.5-50	0.999	0.05	0.5	2.97	-0.32	2.49	6.07	2.27	-3.1	8.69	-2.17	2.87	3.68	4.56	-0.89	82.97	81.03	80.28	82.88	106.53	106.7
11	Cocaine	5-500	0.999	0.5	5	2.17	1.73	0.73	1.18	3.75	-12.86	6.53	1.07	8.54	3.95	14.1	-16.62	83.41	85.2	93.39	110.62	81.59	95.67
12	Codone	1-100	0.998	0.1	1	10.71	-0.25	4.88	-4.97	3.13	3.31	8.74	-4.12	5.78	-2.91	5.3	5.54	92.52	99.86	97.29	82.17	105.27	115.27
13	Desipramine	1-100	0.997	0.1	1	9.75	0.6	7.96	0.95	7.28	9.9	9.42	2.2	10.98	6.44	6.28	9.02	82.73	80.77	81.74	95.35	107.99	115.81
14	Dextromethorphan	1-100	0.998	0.1	1	11.94	-8.52	7.6	15.26	3.42	11.3	10.3	3.17	8.6	1.38	4.49	10.91	93.71	85.44	80.95	100.14	104.18	116.35
15	Diazepam	1-100	0.997	0.1	1	12.78	-3.57	8.22	6.88	9.48	13.98	11.56	1.75	9.96	-6.68	5.22	8.03	83.07	86.46	88.74	105	99.14	113.58
16	EME	5-500	0.999	0.5	5	3.39	3.18	2.09	-6.51	2.25	10.99	8.93	-7.9	5.9	-4.04	5.28	5.92	112.84	118.94	110.49	81.6	105.17	100.57
17	Estazolam	1-100	0.998	0.1	1	12.98	7.11	4.77	-0.09	4.41	11.32	11.83	-8.03	4.11	-2.72	2.9	11.59	82.83	93.04	84.43	83.24	101.27	114.82
18	Fentanyl	0.5-50	0.999	0.05	0.5	5.88	9.47	3.48	8.07	4.04	15.54	8.41	0.3	3.35	5.93	5.76	8.57	88.41	88.12	85.98	86.67	109.98	113.03
19	Heroin	5-500	0.998	0.5	5	5.18	-16.63	6.92	-4.61	4.04	17.84	11.42	-6.84	6.88	-4.18	7.41	-11.58	84	92.23	86.83	105.72	88.05	80.62
20	Imipramine	0.5-50	0.999	0.05	0.5	10.51	0.98	4.01	8.87	4.41	11.35	7.43	-1.73	4.85	3.06	3.33	6.03	80.33	87.06	83.4	86.32	106.95	104.81
21	Ketamine	1-100	0.999	0.1	1	5.25	4.28	3.79	-4.6	2.62	13.58	9.14	-2.79	6.1	-2.43	4.62	11.93	103.21	84.35	86.83	81.73	106.23	115.29
22	LSO	1-100	0.998	0.1	1	5.02	17.11	3.04	-9.22	4.96	12.13	13.13	5.24	5.69	-7.64	2	11.64	93.35	81.33	86.58	81.53	100.6	114.56
23	Lorazepam	5-500	0.999	0.5	5	12.32	-5.99	8.46	15.87	2.02	15.59	12.75	-2.31	11.86	-1.39	3.26	11.04	95.6	98.87	97.94	114.69	89.51	106.43
24	MDA	10-500	1	1	10	3.6	3.76	2.44	-4.33	3.29	-1.76	3.49	3.12	7.9	-7.29	4.77	1.77	97.83	92.77	89.26	101.11	82.78	94.99
25	MDA	1-100	0.996	0.1	1	3.36	12.3	3.23	7.03	3.42	17.12	6.28	12.12	4.89	0.26	1.91	13.93	85.86	84.26	82.13	117.92	98.15	111.08
26	MDMA	2.5-250	0.996	0.25	2.5	3.61	3.32	2.1	-3.32	9.67	16.43	6.54	-4.79	5.09	-1.83	1.67	15.24	89.9	103.05	99.45	96.73	93.12	116.86
27	Mephedrone	2-100	0.995	0.1	2	3.68	-0.97	3.23	8.32	4.37	13.01	11.66	-2.47	10.3	-1.24	1.32	12.52	96.15	88.08	84.35	91.56	100.78	114.4
28	Mephedrone	0.5-50	0.998	0.05	0.5	15.5	7.57	8.96	13.67	3.1	16.87	12.3	-2.22	2.91	12.69	5.01	10	88.96	89.86	86.15	82.13	110.56	110.99
29	Methamphetamine	1-100	0.997	0.1	1	3.44	10.71	2.94	8.02	3.05	16.52	7.27	9.92	5.79	2.36	0.45	16.79	87.44	86.96	88.61	96.93	100.11	117.28
30	Methcathinone	5-500	1	0.5	5	2.69	3.12	1.85	5.1	3.02	14.81	8.47	3.47	5.26	-4.49	3.51	11.08	103.47	106.91	99.01	112.82	89.16	104.45

NO	Name	Range (ng/mL)	Linearity (R ²)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Intra Day (Accuracy)									Inter Day (Precision)									Matrix Effect (%)			%Recovery		
						Low			Medium			High			Low			Medium			High			Low	Medium	High			
						%CV	%Bias	%Bias	%CV	%Bias	%Bias	%CV	%Bias	%Bias	%CV	%Bias	%Bias	%CV	%Bias	%Bias	%CV	%Bias	%Bias	%CV	%Bias	%Bias	%CV		
31	Methyphenidate	1-100	0.999	0.1	1	6.99	5.84	7.31	2.33	3.77	9.38	7.51	7.32	6.64	4.78	3.22	10.34	89.56	88.37	86.33	100.32	101.75	114.89						
32	Mirtazapine	1-100	0.998	0.1	1	3.86	12.4	5.01	-14.58	5.34	4.35	10.1	-0.84	8.16	-7.33	7.5	11.17	96	94.83	88.21	86.95	102.35	115.26						
33	Morphine	5-500	0.999	0.5	5	3.89	13.03	1.09	0.04	2.27	-2.03	3.52	-12.49	4.98	-4.1	4.86	6.55	95.43	107.77	82.04	86.3	87.66	100.83						
34	Naloxone	2.5-250	0.997	0.25	2.5	11.48	-2.58	9.92	10.87	13.05	13.45	8.9	-2.47	5.87	10.1	9.75	17.78	106.77	107.95	95.46	100.47	115.55	117.46						
35	Naloxone	2.5-250	0.997	0.25	2.5	16.47	16.3	10.05	8.66	3.37	17.81	13.39	-3.47	5.23	8.51	5.77	12.7	88.9	93.6	91.55	105.09	107.5	119.09						
36	Naltrexone	2.5-250	0.997	0.25	2.5	13.1	-6.04	8.68	0.51	2.38	18.04	13.05	-2.36	8.02	4.63	5.26	13.58	94.59	82.95	82.52	96.72	105.9	119.3						
37	Nimetazepam	2.5-250	0.999	0.25	2.5	17.69	-1.62	9.34	2.87	16.83	8.92	12.46	2.01	8.46	8.94	2.86	12.81	87.66	93.85	85.26	105.79	96.37	114.6						
38	Nitrazepam	10-500	0.998	5	10	15.15	-5.38	10.72	3.95	8.81	-12.4	3.01	-7.89	7.89	-5.51	8.5	7.48	85.86	92.17	87.23	91.49	91.09	98.53						
39	Nordiazepam	2.5-250	0.998	0.25	2.5	5.63	4.39	13.25	10.48	4.24	5.22	8.16	-7.5	9.39	4.54	7.26	5.87	83.4	87.62	83.37	92.8	91.65	117.99						
40	Nor pseudophecladine	5-500	0.999	0.5	5	6.07	-1.82	1.08	0.35	2.18	-2.66	7.39	-3.66	5.64	-2.28	4.87	-0.74	119.32	111.22	107.19	102.41	89.18	92.31						
41	Nortriptyline	1-100	0.998	0.1	1	9.89	3.91	6.26	3.22	3.19	10.24	7.98	7.81	6.9	0.77	3.2	9.66	85.35	93.37	94.15	99.08	108.9	112.33						
42	Oxazepam	5-500	0.999	1	5	16.31	11.27	7.48	1.97	2.02	13.3	8.83	-8.07	5.52	-3.7	2.13	11.55	-83.7	102.67	96.04	89.88	87.55	107.76						
43	Oxycodone	5-500	0.999	0.5	5	4.52	14.35	1.74	1	2.13	14.61	3	-13.82	6.77	-3.41	7.53	8.76	91.89	93.97	91.84	89.42	85.47	106.55						
44	Pentazocine	1-100	0.998	0.1	1	8.54	4.85	9.84	9.75	4.6	11.42	15.35	3.07	4.29	11.08	2.9	11.66	91.24	80.48	87.64	81.26	112.36	112.37						
45	Phencyclidine	1-100	0.995	0.1	1	9.9	1.95	9.69	6.52	8.92	5.9	13.24	-1.82	5.47	5.8	4.23	11.78	83.47	84.59	83.26	82.82	110.51	118.17						
46	Pravastatin	1-50	0.998	0.25	1	11.11	4.74	3.51	15.08	3.27	15.26	12.53	1.53	11.47	-0.28	5.45	9.47	86.36	106.42	105.41	86.36	106.42	105.41						
47	R-Pseudophecladine	5-500	1	0.5	5	1.62	3.13	1.06	-3.74	2.78	3.79	5.31	4.04	5.77	-8.7	6.1	4.99	93.76	96.22	97.29	106.44	82.54	95.92						
48	Silutramine	1-100	0.998	0.1	1	5.72	16.94	8.79	-10.56	8.1	6.23	19.15	-1.57	11.06	2.03	5.25	10.19	92.46	84.39	80.44	98.06	117.94	113.11						
49	Sildenafil	5-250	0.997	0.25	5	9.64	16.73	7.66	-6.48	3.93	14.53	10.45	5.89	8.24	0.59	1.27	15.01	85.04	87.61	86.71	90.57	92.31	116.47						
50	Tenazepam	1-100	0.996	0.1	1	15.75	-0.71	5.73	4.51	4.77	13.18	5.05	-2.22	5.64	-1.89	9.1	11.03	101.96	87.02	80.88	92	103.61	126.24						
51	Tramadol	1-100	0.997	0.1	1	8.36	-3.85	6.75	5.53	7.47	3.27	10.2	5.44	8.02	-0.8	7.94	5.91	88.11	87.26	84.22	109.82	109.92	119.96						
52	Triazolam	2.5-250	0.998	0.25	2.5	16.61	-16.93	5.26	2.83	2.89	7.86	10.27	-10.18	4.22	-1.66	3.51	6.72	86.86	86.72	81.6	81.68	92.67	108.66						
53	Trimipramine	0.5-50	0.999	0.05	0.5	8.19	7.42	9.65	0.41	4.77	-7.76	3.41	4.2	4.87	5.99	7.3	-0.5	85.66	82.29	69.69	107.27	109.33	111.43						
54	Zospitem	0.5-50	0.999	0.05	0.5	3.86	-1.57	3.13	10.52	3.49	-0.84	6.75	-1.62	3.77	7.82	5.46	0.11	83.85	86.7	89.77	89.06	109.23	106.16						
55	Zopiclone	2-100	0.997	0.1	2	4.53	2.38	1.53	5.51	1.37	12.97	6.21	-0.31	8.83	-0.65	3.83	16.43	90.06	84.16	81.5	98.19	93.92	113.94						
56	Zoloplon	2.5-250	0.999	0.25	2.5	7.41	9.66	1.92	1.89	2.93	5.56	9.97	-1.34	2.73	-1.11	4.71	5.73	88.18	84.36	80.21	84.51	100.57	112.25						

Table 5. Validate data of drugs and narcotics from vitreous fluid

No.	Name	Linearity range (ng/mL)	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Intra Day (Accuracy)						Inter Day (Precision)						% Recovery		
						Low		Medium		High		Low		Medium		High		L	M	H
						%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV			
1	3,4 Methylene dioxypyrovalerone	1-100	0.999	0.1	1	15.29	1.29	12.4	0.65	11.95	3.26	9.91	13.88	13.61	1.68	12.67	4.75	115.29	112.4	111.95
2	6-Acetyl Morphine	2.5-250	0.998	0.25	2.5	3.67	4.11	5.5	1.54	-2.88	4.22	-0.33	12.92	7.25	7.01	5.45	7.77	96.33	94.5	97.12
3	Alprazolam	5-100	0.999	0.5	5	-13.09	4.32	-13.83	3.13	-3.61	3.87	-13.23	6.19	5.68	11.77	2.11	4.9	86.91	86.17	96.39
4	Amitriptyline	2-100	1	0.1	2	-0.45	14.83	-0.85	13.53	11.77	13.05	4.35	11.79	8.17	7.2	11.8	4.22	96.98	99.15	111.77
5	Amphetamine	5-500	0.999	0.5	5	-16.37	1.85	-0.92	1.98	8.06	3.15	-12.99	3.56	4.02	6.67	10.5	7.56	83.63	99.08	108.06
6	Benzylcycgonine	2.5-250	0.999	0.25	2.5	0.03	6.6	11.96	2.59	7.9	2.73	0.41	13.37	11.65	5.53	8.41	4.23	100.03	111.96	107.9
7	Cathinone	5-500	0.997	0.5	5	6.47	5.55	-8.96	4.07	-8.27	5.59	-10.79	5.65	1.58	15.38	-1.83	9.08	93.53	91.04	91.73
8	Clobazam	2.5-250	1	0.25	2.5	6.94	10.48	11.85	5.36	0.79	10.39	2.27	7.92	8	4.11	7.9	5.23	93.06	111.85	100.79
9	Clonazepam	2.5-250	0.997	0.25	2.5	8.39	6.51	7.32	8.32	3.69	11.26	5.38	12.18	7.91	6.72	9.22	4.46	108.39	107.32	103.69
10	Cocacethylene	0.5-50	0.999	0.05	0.5	4.26	7.92	2.94	2.6	4.89	2.36	-3.12	9.01	-0.17	9.2	5.21	7.36	95.74	102.54	104.89
11	Cocaine	5-500	0.998	0.5	5	8.34	3.57	-14.53	1.3	-13.09	3.78	-11.33	7.68	-5.06	10.94	-5.3	7.26	91.66	85.47	86.91
12	Codlone	2-100	0.996	0.25	2	6.43	7.95	-7.27	3.39	-0.01	3.94	-1.9	4.86	-0.2	7.08	5.91	8.12	93.57	92.73	99.99
13	Disipramine	2-100	0.999	0.25	2	2.59	10.46	6.56	9.73	8.84	9.24	1.24	5.26	12.51	4.78	13.72	2.78	97.41	106.56	108.84
14	Dextromethorphan	2-100	0.999	0.25	2	-11.23	2.63	-6.4	7.25	-2.18	8.91	3.68	13.56	5.16	9.01	10.26	6.57	88.77	93.6	97.82
15	Diazepam	2-100	0.999	0.25	2	-6.07	15.18	1.86	11.51	2.9	17.03	-0.01	11.22	10.26	5.61	6.68	6.31	93.93	101.86	102.9
16	EME	10-500	0.999	1	10	-16.53	3.72	1.97	1.89	1.98	3.08	-12.05	7.96	2.81	5.33	7.44	9.64	83.47	101.97	101.98
17	Etizolam	2-100	0.999	0.25	2	-2.2	8.31	-5.55	5.81	1.79	4.95	-2.08	6.08	1.05	9.93	6.87	7.82	97.8	94.45	101.79
18	Fentanyl	0.5-50	0.999	0.05	0.5	7.62	6.18	3.6	3.03	5.96	4.07	-7.36	16.89	1.5	8.26	6.97	5.96	92.38	103.6	105.06
19	Florin	5-500	0.997	0.05	5	3.97	5.25	-17.54	2.96	-9.08	3.49	-4.53	11.13	4.59	11.27	-1.14	13.06	103.97	82.46	90.92
20	Imipramine	0.5-50	0.998	0.05	0.5	-12.34	9.21	0.94	5.1	4.16	4.74	-12.8	2.71	3.9	6.51	10.61	4.06	87.66	100.94	104.16
21	Ketamine	2-100	0.998	0.25	2	3.08	7.35	19.94	5.5	13.47	1.42	3.13	8.36	7.65	11	10.62	5.77	96.92	119.94	113.47
22	LSO	1-100	0.999	0.1	1	15.25	1.79	7.62	2.44	7.63	2.63	14.61	10.22	10.75	4.62	10.54	9.15	115.25	107.62	107.63
23	Lorazepam	10-500	0.999	1	10	-16.84	8.38	-9.65	3.72	-5.65	5.08	-12.85	8.77	4.05	7.22	3.45	7.97	83.16	90.35	96.35

No.	Name	Linearity range (ng/mL)	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Intra Day (Accuracy)						Inter Day (Precision)						% Recovery		
						Low		Medium		High		Low		Medium		High		L	M	H
						%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV			
24	MDA	10-500	1	1	10	-11.7	3.47	8.14	2.55	3.6	2.74	-12.99	4.01	8.52	5.65	5.8	88.3	108.14	103.6	
25	MDA	1-100	0.9992	0.1	1	19.12	6.11	14.83	5.71	13.7	2.56	11.96	4.6	13.94	4.2	13.61	119.12	114.83	113.7	
26	MDMA	2.5-250	0.9999	0.25	2.5	13.02	2.92	7.37	2.02	1.11	3.63	-1.09	10.76	-4.63	7.8	2.45	113.02	92.63	101.11	
27	Mephedrone	1-100	0.998	0.1	1	7.38	3.56	18.98	2.89	13.81	2.8	13.25	4.63	16.54	3.17	12.9	107.38	118.98	113.81	
28	Methylone	0.5-50	0.996	0.05	0.5	7.84	14.11	1.51	10.07	8.65	15.18	-10.99	8.09	-0.63	10.11	3.87	92.16	98.49	106.65	
29	Methamphetamine	2-100	0.998	0.25	2	17.62	11.96	18.85	3.73	11.88	1.22	13.85	5.7	14.57	3.19	13.21	117.62	118.85	111.88	
30	Methylphenone	5-500	0.999	0.5	5	6.66	7.63	11.33	2.08	-0.18	3.1	-16.09	9.43	-6.1	5.98	4.25	93.34	88.67	99.82	
31	Methylphenidate	2-100	1	0.25	2	-14.13	6.44	6.52	7.06	6.07	6.16	-0.48	14.77	11.54	4.39	13.77	83.87	106.52	108.07	
32	Mirtazapine	2-100	0.999	0.25	2	-7.42	6.01	18.08	2.89	8.85	4.01	-1.08	8.51	12.63	4.88	10.99	92.58	118.08	108.85	
33	Moxiprine	10-500	0.998	1	10	-15.3	2.87	-1.83	3.88	-4.69	6.63	-15.04	3.04	6.62	6.32	4.4	84.7	98.17	95.31	
34	Nalorphine	5-250	0.999	0.5	5	-0.73	2.48	5.7	17.61	-1.6	18.06	1.45	10.3	5.41	8.56	9.65	99.27	105.7	98.4	
35	Naloxone	5-250	1	0.5	5	-10.14	3.4	0.65	18.65	-4.11	17.26	-3.36	6.59	4.23	11.08	1.73	80.86	99.35	95.89	
36	Naltrexone	5-250	0.998	0.5	5	-19.92	11.85	12.48	18.13	1.99	15.89	0.83	9.68	4.05	11.13	7.69	80.08	112.48	101.99	
37	Nimetazepam	5-250	0.999	0.5	5	-17.02	14.77	6.74	9.27	2.72	13.71	-3.89	-14.04	0.03	10.08	7.03	82.98	106.74	97.28	
38	Nitrazepam	10-100	0.999	1	10	18.4	5.29	-0.04	10.6	-5.47	15.9	-5.37	15.73	8.34	9.18	2.63	118.4	99.96	94.53	
39	Nordiazepam	5-250	0.999	0.5	5	-17.76	3.53	13.89	5.02	1.9	7.28	-4.61	14.66	8.2	10.02	6.97	82.24	113.89	101.9	
40	Novpseudophedrine	10-500	0.999	1	10	-8.18	7.73	5.43	2.05	-0.49	3.13	-1.31	5	1.68	5.25	2.56	91.82	94.57	99.51	
41	Nortriptyline	2-100	0.997	0.25	2	10.78	12.02	1.39	4.45	5.93	4.06	-5.03	10.19	4.54	8.23	6.63	86.99	98.61	105.93	
42	Oxazepam	10-500	0.999	1	10	-17.43	6.7	10.15	9.47	12.76	7.48	-11.27	11.27	8.58	2.87	8.16	82.57	110.15	112.76	
43	Oxycodone	10-500	0.999	1	10	19.77	2.8	4.32	1.15	-0.12	1.59	-15.41	5.2	0.79	3.42	2.26	80.23	95.48	99.88	
44	Pentazocine	2-100	0.996	0.25	2	-8.65	8.72	14.86	17.32	2.61	16.26	5.27	11.79	11.97	5.89	11.4	91.35	114.86	102.61	
45	Phencyclidine	2-100	0.996	0.25	2	-8.43	6.24	10.79	18.4	2.02	15.98	0.9	10.91	6.76	12.98	7.41	91.57	110.79	102.02	
46	Pravapam	1.4-50	0.999	0.25	1	18.3	37.13	1.2	8.63	11.27	17.25	-1	14.01	1.45	11.99	4.13	118.3	101.2	111.27	
47	Pseudoephedrine	10-500	0.999	1	10	-16.98	2.54	5.32	1.15	3.33	1.87	-15.99	5.5	0.03	9.83	7.88	83.02	94.68	103.33	

No.	Name	Linearity range (ng/mL)	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Intra Day (Accuracy)						Inter Day (Precision)						% Recovery		
						Low		Medium		High		Low		Medium		High		L	M	H
						%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV	%Bias	%CV			
48	Sibutramine	1-100	0.999	0.1	1	-7.29	16.04	7.87	10.94	7.14	2.07	-7.33	11.16	12.87	3.47	11.02	3.28	92.71	107.87	107.14
49	Sildenafil	5-250	0.995	0.25	5	-4.73	10.4	-11.29	16.79	6.38	12.71	-5.96	9.07	1.25	13.57	5.21	9.44	95.27	88.71	106.38
50	Temozolamid	2-100	1	0.1	2	-13.99	12.87	-10.43	12.01	4.34	9.92	-7.05	8.52	4.32	11.46	6.07	8.34	86.01	89.57	104.34
51	Tramadol	2-100	1	0.25	2	-17.54	6.57	-13.78	8.26	-12.85	7.17	-0.86	12.89	2.3	13.56	5.53	10.53	82.46	86.22	87.15
52	Traordam	2.5-250	0.999	0.25	2.5	-2.61	12.7	-13.85	13.62	6.61	12.7	-7.45	11.21	0.42	10.55	5.31	8.51	97.39	86.15	106.61
53	Trempramine	0.5-50	0.999	0.05	0.5	1.3	15.32	-13.27	6.51	10.02	9.84	-7.41	6.6	7.56	13.06	6.8	10.17	101.3	113.27	110.02
54	Zolpidem	0.5-50	0.998	0.05	0.5	-7.2	18.07	11.73	5.27	10.64	7.62	-9.19	7.56	4.75	6.81	8.19	6.99	92.8	111.73	110.64
55	Zopiclone	1-100	0.999	0.1	1	12.36	7.54	19.48	0.61	16.75	2.58	3.12	13.04	17.6	1.61	15.19	3.9	112.36	119.48	116.75
56	Zaleplon	2.5-250	0.998	0.25	2.5	-11.27	10.35	-3.75	1.93	1.92	4.96	-5.11	5.47	-0.35	3.4	5.22	5.74	88.73	96.25	101.92

Forensic case application

Routine forensic toxicology analyses were conducted, alongside parallel testing of the same forensic samples using a modified QuEChERS method for sample preparation. Results obtained from both the routine method and the modified method exhibited consistency in the identification and quantification of drugs and narcotics across the tested 10 cases.

Discussion

Routine solid phase extraction (SPE) typically necessitates approximately 60 minutes for sample preparation, and various analytes and sample matrices often require distinct SPE techniques. However, the modified QuEChERS method requires only about 15 minutes for sample preparation, encompassing 56 common drugs and narcotics. In this experiment, it demonstrated reliability in facilitating the simultaneous extraction of various drugs, narcotics, and metabolites of forensic interest from both whole blood and vitreous fluid specimens. Moreover, it offers cost-effectiveness compared to SPE, which demands expensive equipment such as vacuum manifolds, pumps, and nitrogen evaporators. Additionally, the use of disposable devices eliminates the potential for cross-contamination of samples.

This method could serve as a valuable sample preparation technique for untargeted determination in forensic domains, given its coverage of up to 56 common drugs and narcotics including ketamine, mitragynine, sibutramine and sildenafil. However, this study excluded cannabinoids due to findings from the pilot study, indicating that the modified QuEChERS method was unsuitable for extracting cannabinoids from either whole blood or vitreous fluid.

Conclusion

The preparation of whole blood and vitreous humor using the modified QuEChERS technique proves suitable for application in forensic toxicological investigations of common drugs and narcotics. Method validation confirms that this approach satisfies the acceptable criteria and results obtaining from real cases are consistent with the routine method of the laboratory. Adopting the same extraction technique for whole blood and vitreous fluid, characterized by its affordability, simplicity, and ease of use, has the potential to enhance the efficiency of forensic toxicology laboratories.

References

- (1). de Campos EG, da Costa BRB, Dos Santos FS, et al. Alternative matrices in forensic toxicology: a critical review. *Forensic Toxicol.* 2022; 40: 1 - 18.

- (2). Hubbard JA, Navarrete AL, Fitzgerald RL, et al. Acidic drug concentrations in postmortem vitreous humor and peripheral blood. *J Anal Toxicol.* 2021; 45: 69 - 75.
- (3). Jones S, McGowan C, Boyle S, et al. An overview of sample preparation in forensic toxicology. *WIREs Forensic Sci.* 2021; 4: 13. doi.org/10.1002/wfs2.1436.
- (4). Dulaurent S, El Balkhi S, Poncelet L. et al. QuEChERS sample preparation prior to LC-MS/MS determination of opiates, amphetamines, and cocaine metabolites in whole blood. *Anal Bioanal Chem.* 2016; 408: 1467 – 74.
- (5). Campêlo JM, Rodrigues TB, Costa JL, et al. Optimization of QuEChERS extraction for detection and quantification of 20 antidepressants in postmortem blood samples by LC-MS/MS. *Forensic Sci Int.* 2021; 319: 110660. doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110660.
- (6). Usui K, Hayashizaki Y, Hashiyada M, et al. Rapid drug extraction from human whole blood using a modified QuEChERS extraction method. *Leg Med (Tokyo).* 2012; 14: 286 - 96.

ORIGINAL ARTICLE

Sex and Ancestry Estimation from Mandible

in a Thai Population using the (hu)MANid Programme

Wantana Takaeng, MD., Sittiporn Ruengdit, Ph.D. and
Chaturong Kanchai, M.D., Asso. Prof.*

Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

* Correspondence to: รองศาสตราจารย์ นายแพทย์จตุรงค์ กันชัย ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ชั้น 4 อาคารเอ็มดี 110 ถนนอินทวโรรส ตำบลศรีภูมิ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200 โทรศัพท์ 053-935432-4 โทรสาร 053-935431 e-mail: chaturong.k@cmu.ac.th

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

Submitted: 2 June 2022

Accepted: 12 June 2022

Published: 1 June 2024

Abstract

Background: Skull can be used for sex and ancestry estimation by metric and morphometric approach, especially mandible, which is the strongest part of the skull and can be well preserved. The (hu)MANid application has been developed to classify sex and ancestry of human mandible and is available to the public free of charge. The application contains a variety of population including Thai.

Objective: To validate sex and ancestry estimation method applying the (hu)MANid program to a Thai population

Materials and Methods: 11 mandibular measurements and 6 traits were examined from 105 mandibles belong to modern Thai individuals and were entered into the (hu)MANid program for sex and ancestry estimation. Total correct classification and posterior probability were obtained from linear and mixed discriminant analysis for both estimations.

Results: Percentage of correction prediction in pooled populations by Ancestry, Sex and Combined using Linear Discrimination Analysis (LDA) and Mixture Discrimination Analysis (MDA) are 28.57 and 30.48, 74.29 and 70.48, and 23.81 and 25.71, respectively.

Conclusion: Percentage of correction prediction in a Thai population using the (hu)MANid program is high by the Sex estimation, but it is low by the Ancestry estimation.

Keywords: mandible, sex estimation, ancestry estimation, (hu)MANid

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: กะโหลกศีรษะสามารถประเมินเพศและเชื้อชาติได้จากวิธีการวัดและลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเฉพาะกระดูกขากรรไกรล่าง ทั้งนี้โปรแกรม (hu)MANid ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อช่วยในการจำแนกเพศและเชื้อชาติโดยใช้กระดูกขากรรไกรล่างเป็นกระดูกที่แข็งแรงที่สุดในกลุ่มกระดูกกะโหลกศีรษะ และยังคงสภาพได้ดีหลังการเนา โดยใช้ฐานข้อมูลหลากหลายเชื้อชาติรวมถึงเชื้อชาติไทย และสามารถใช้ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

วัตถุประสงค์: เพื่อตรวจสอบความน่าเชื่อถือของการประเมินเพศและเชื้อชาติจากกระดูกขากรรไกรล่างของกลุ่มประชากรไทยโดยใช้โปรแกรม (hu)MANid

วัสดุและวิธีการศึกษา: ศึกษาในกระดูกขากรรไกรล่างในกลุ่มประชากรไทยจากศูนย์วิจัยนิติวิทยากระดูก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 105 ตัวอย่าง โดยใช้ Digital Sliding Caliper และ Mandibulometer เป็นเครื่องมือ วัดกระดูกขากรรไกรล่างจำนวน 11 ค่าและประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 6 ลักษณะ บันทึกผลการวัดและประเมิน นำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม (hu)MANid บันทึกผลเพศและเชื้อชาติ ค่าความน่าจะเป็นย้อนกลับ เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความความถูกต้องในการประเมิน

ผลการศึกษา: ในตัวอย่างกลุ่มประชากรไทยเมื่อวิเคราะห์ด้วย Linear Discrimination Analysis (LDA) และ Mixture Discrimination Analysis (MDA)ตามลำดับ จำแนกเชื้อชาติได้ถูกต้องร้อยละ 28.57 และ 30.48

จำแนกเพศได้ถูกต้องร้อยละ 74.29 และ 70.48 จำแนกเชื้อชาติร่วมกับเพศได้ถูกต้องร้อยละ 23.81 และ 25.71 ตามลำดับ

สรุป: ค่าความถูกต้องในการประเมินเชื้อชาติและเพศในกลุ่มประชากรไทยโดยใช้โปรแกรม (hu)MANid มีค่าสูงในการประเมินเพศ แต่ค่อนข้างต่ำในการประเมินเชื้อชาติ

คำสำคัญ: กระดูกขากรรไกรล่าง, การประเมินเพศ, การประเมินเชื้อชาติ, (hu)MANid

บทนำ

ข้อมูลทางชีวภาพของผู้ตาย เช่น อายุ เพศ เชื้อชาติ ส่วนสูง เป็นต้น ถือเป็นส่วนสำคัญในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล⁽¹⁾ เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของผู้สูญหาย และนำไปสู่การระบุตัวผู้ตาย เพื่อให้ได้คำตอบของการชันสูตรพลิกศพตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 154⁽²⁾ เนื่องจากสภาพศพที่พบในที่เกิดเหตุอาจมีลักษณะเป็นโครงกระดูก สภาพศพบางส่วนเป็นกระดูก เน่ามาก ถูกความร้อนสูง หรือ มีลักษณะเป็นชิ้นส่วนของร่างกาย กรณีเหล่านี้สามารถนำความรู้ เรื่องนิติมานุษยวิทยา (forensic anthropology) ว่าด้วยการใช้ความรู้เรื่องกระดูกมนุษย์ในทางนิติวิทยาศาสตร์มาช่วยวิเคราะห์ได้ นิติมานุษยวิทยาในปัจจุบันใช้วิธีทางสัณฐานวิทยา จุลชีววิทยา การวัด และภาพถ่ายทางรังสีมาช่วยในการประเมินเพศ เชื้อชาติ อายุ และส่วนสูง⁽³⁻⁸⁾ ซึ่งกะโหลกศีรษะและกระดูกขากรรไกรล่างสามารถประเมินเพศและเชื้อชาติได้จากวิธีการวัดและลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเฉพาะกระดูกขากรรไกรล่างเป็นกระดูกที่แข็งแรงที่สุดในกลุ่มกระดูกกะโหลกศีรษะ และยังคงสภาพได้ดีหลังการเน่า⁽⁹⁻¹³⁾ ในปี พ.ศ. 2560 มีการพัฒนาโปรแกรม (hu)MANid เพื่อช่วยในการจำแนกเพศและเชื้อชาติโดยใช้กระดูกขากรรไกรล่าง⁽¹⁴⁺¹⁵⁾ ซึ่งโปรแกรมจะวิเคราะห์ข้อมูลโดยเทียบกับฐานข้อมูลที่มี และให้ผลลัพธ์ออกมาได้ทั้งเชื้อชาติและเพศ ผู้พัฒนาโปรแกรมใช้ฐานข้อมูลหลากหลายเชื้อชาติ จำนวน 1745 ตัวอย่าง แบ่งเป็น ชาย 1140 คน และหญิง 505 คน จำแนกเป็น American Black และ American White คนเผ่าพื้นเมืองอเมริกัน, ชาวแกมพูชา, ชาวจีน, ชาวแก้วตมาลา, ชาวเกาหลี ทั้งยุคก่อนประวัติศาสตร์และปัจจุบัน, ชาวไทย และชาวเวียดนาม Berg และคณะ⁽¹⁴⁾ ทดสอบความแม่นยำของโปรแกรมโดยใช้ตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่างที่ทราบเพศและเชื้อชาติ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ในกลุ่มเพศชายเชื้อชาติต่างๆ พบค่า Total Correct Classification 57.1 – 62.1% และ 66.8 – 70.7% เมื่อ

วิเคราะห์ด้วย Linear Discrimination Analysis (LDA) และ Mixture Discrimination Analysis (MDA) ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม วิธีการประเมินเพศและเชื้อชาติที่สร้างขึ้นจากกลุ่มประชากรเชื้อชาติหนึ่งเมื่อนำมาใช้กับอีกกลุ่มประชากรเชื้อชาติหนึ่งอาจทำให้ผลการประเมินคลาดเคลื่อนได้เนื่องจากความแตกต่างด้านลักษณะและขนาด^(10, 16-18) นอกจากนี้ตามกฎหมายของ Daubert^(19, 20) ที่กล่าวถึงปัจจัยในการพิจารณาความเกี่ยวข้องและความน่าเชื่อถือของพยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ เช่นว่า วิธีการที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์นั้นได้มีการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการ (peer-review) และมีอัตราความคลาดเคลื่อนของการประเมินที่เป็นไปได้เท่าใด เป็นต้น ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงดำเนินการทดสอบความน่าเชื่อถือของค่าทำนายในการประเมินเพศและเชื้อชาติจากกระดูกขากรรไกรล่างของกลุ่มประชากรไทย โดยใช้โปรแกรม (hu)MANid

วัสดุและวิธีการศึกษา

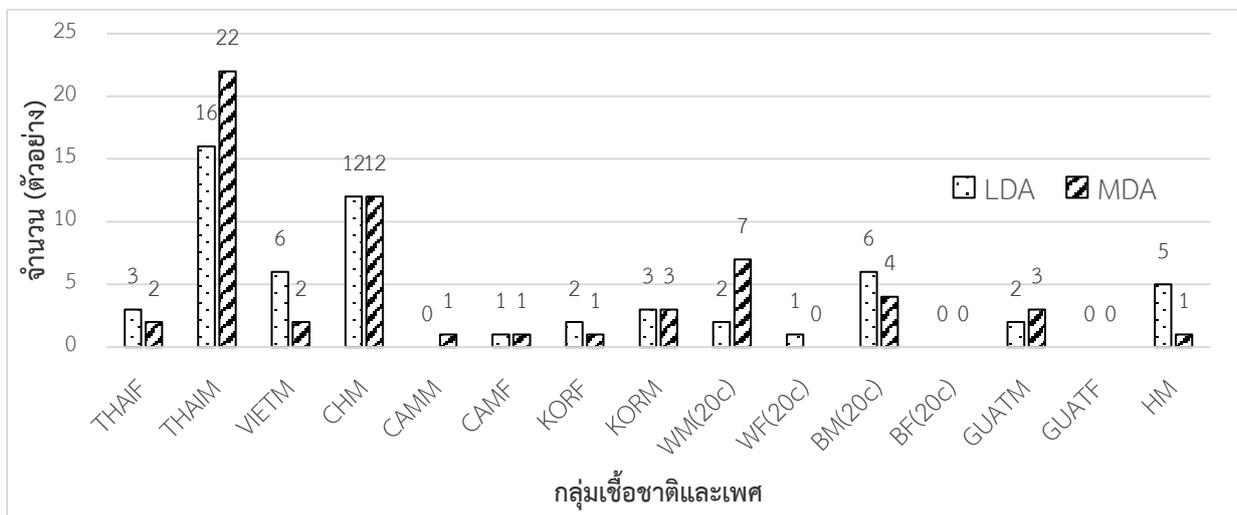
กลุ่มที่จะนำมาศึกษาเป็นกระดูกขากรรไกรล่างของผู้บริจากร่างกายชาวไทย ณ ศูนย์วิจัยนิติวิทยากระดูก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไปทั้งเพศชายและเพศหญิง เป็นกระดูกขากรรไกรล่างที่มีข้อมูลเบื้องต้นของผู้บริจากร่างกาย ได้แก่ เพศ อายุ ส่วนสูง และเหตุตายระบุไว้ โดยพิจารณาลักษณะของขากรรไกรล่างข้างที่แสดงลักษณะชัดเจนที่สุด และวัดค่าทางด้านซ้ายของขากรรไกรล่างเกณฑ์ในการคัดออก ได้แก่ กระดูกขากรรไกรล่างมีลักษณะไม่สมบูรณ์ มีพยาธิสภาพ มีการบาดเจ็บ หรือมีภาวะไรฟันทั้งปาก ใช้ตัวอย่างทั้งหมด 105 ตัวอย่าง โดยสุ่มจากตัวอย่างทั้งหมดที่มี ณ ศูนย์วิจัยนิติวิทยากระดูก จำนวน 592 ตัวอย่าง การเก็บข้อมูลดำเนินการโดยมีการปกปิดข้อมูลเพศของผู้บริจากร่างกายไว้เพื่อไม่ให้ผู้ประเมินเกิดความเอนเอียง (bias) ในขณะประเมิน โดยวัดค่าตัวแปร จำนวน 11 ค่า ได้แก่ ความสูงของคาง (Infradentale-gonial distance), ความสูงของของขากรรไกรล่างส่วน body ในตำแหน่ง Mental Foramen (Height of the Mandibular body), ระยะห่างระหว่าง Gonion ทั้งสองข้าง (Bigonial Breadth), ระยะห่างระหว่าง Condylar Process ทั้งสองข้าง (Bicondylar Breadth), ความกว้างที่น้อยที่สุดของ Ramus (Minimum Ramus Breadth), ความสูงที่มากที่สุดของ Ramus (Maximum Ramus Height), ความยาวของกระดูกขากรรไกรล่าง (Mandibular Length), ขนาดมุมของกระดูกขากรรไกรล่าง (Mandibular Angle), ความกว้างของส่วน body ของกระดูกขากรรไกรล่างในตำแหน่งของ Mental Foramen (Mandibular Body Breadth at the Mental Foramen), ความกว้างของส่วน body ของกระดูกขากรรไกรล่างในตำแหน่งระหว่างฟันกรามซี่ที่ 2 และ 3 (Mandibular Body Breadth at the M2/M3 Junction) และ ความกว้างของขากรรไกรล่างระหว่างฟันกรามซี่ที่ 3 (Dental Arcade Width at the Third Molar) และพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของขากรรไกรล่าง จำนวน 6 ลักษณะ ได้แก่ รูปร่างของคาง (CS), ลักษณะของขอบล่างของกระดูกขากรรไกรล่าง (LBM), รูปร่างของ Ascending Ramus (ARS), ลักษณะการกางออกของ Gonial Angle (GAF), การปรากฏของ Mandibular Torus (MT) และลักษณะของการพลิกเข้าด้านในของ Posterior Ramus Edge (PREI) วิธีการวัดและการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาอ้างอิงจาก Berg^(13, 14) และ Moore-Jansen⁽²¹⁾ โดยงานศึกษานี้ได้ขอยกเว้นการพิจารณารับรองเชิงจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (FOR-2564-08054 No. EXAMPTION 7886/2565)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ แบบบันทึกข้อมูลลักษณะและค่าตัวแปร, Mandibulometer, Sliding Caliper และโปรแกรม (hu)MANid เมื่อได้ข้อมูลการวัดและลักษณะของกระดูกขากรรไกรล่างแล้วจึงนำไปป้อนเข้าโปรแกรม (hu)MANid (<https://anthropologyapps.shinyapps.io/humanid/>) เพื่อให้ได้ผล

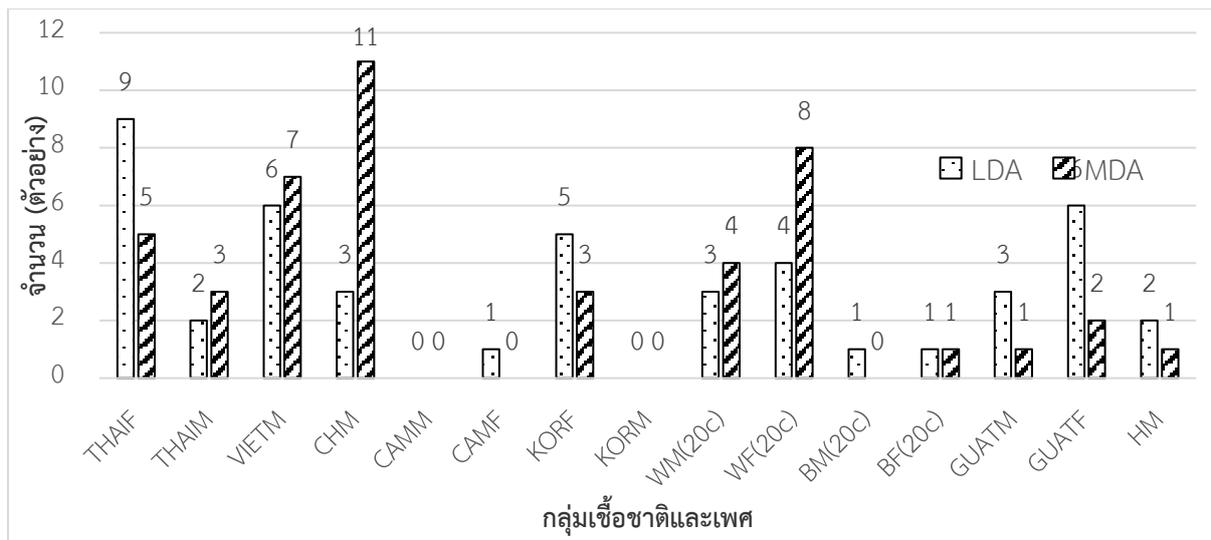
วิเคราะห์เพศและเชื้อชาติ จากนั้น บันทึกผลวิเคราะห์ที่ได้ (Predicted Group) ของเชื้อชาติและเพศ จากโปรแกรม แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าความน่าเชื่อถือในการประเมินของโปรแกรม

ผลการศึกษา

ตัวอย่างทั้งหมด 105 ตัวอย่าง แบ่งเป็นเพศชาย 59 ตัวอย่าง และเพศหญิง 46 ตัวอย่าง อายุตั้งแต่ 19 ถึง 90 ปี ค่ามัธยฐานของอายุเท่ากับ 54.76 ปี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 15.76 ปี ผลการวิเคราะห์เพศและเชื้อชาติที่ได้จากโปรแกรม hu(MAN)id พบว่า ในตัวอย่างกลุ่มประชากรไทยเพศชาย จำนวน 59 ตัวอย่าง วิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ออกเป็นเชื้อชาติไทยเพศชายได้ 16 ราย และ 22 รายตามลำดับ และพบผลการวิเคราะห์เป็นกลุ่มอื่น ได้แก่ เชื้อชาติจีนเพศชาย เชื้อชาติเวียดนามเพศชาย และเชื้อชาติไทยเพศหญิง เป็นต้น ผลแสดงดังกราฟที่ 1 และในตัวอย่างกลุ่มประชากรไทยเพศหญิง จำนวน 46 ตัวอย่าง วิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ออกเป็นเชื้อชาติไทยเพศหญิงได้ 9 ราย และ 5 รายตามลำดับ และพบผลการวิเคราะห์เป็นกลุ่มอื่น ได้แก่ เชื้อชาติจีนเพศชาย เชื้อชาติเวียดนามเพศชาย และเชื้อชาติยุโรปผิวขาวเพศหญิง ผลแสดงดังกราฟที่ 2

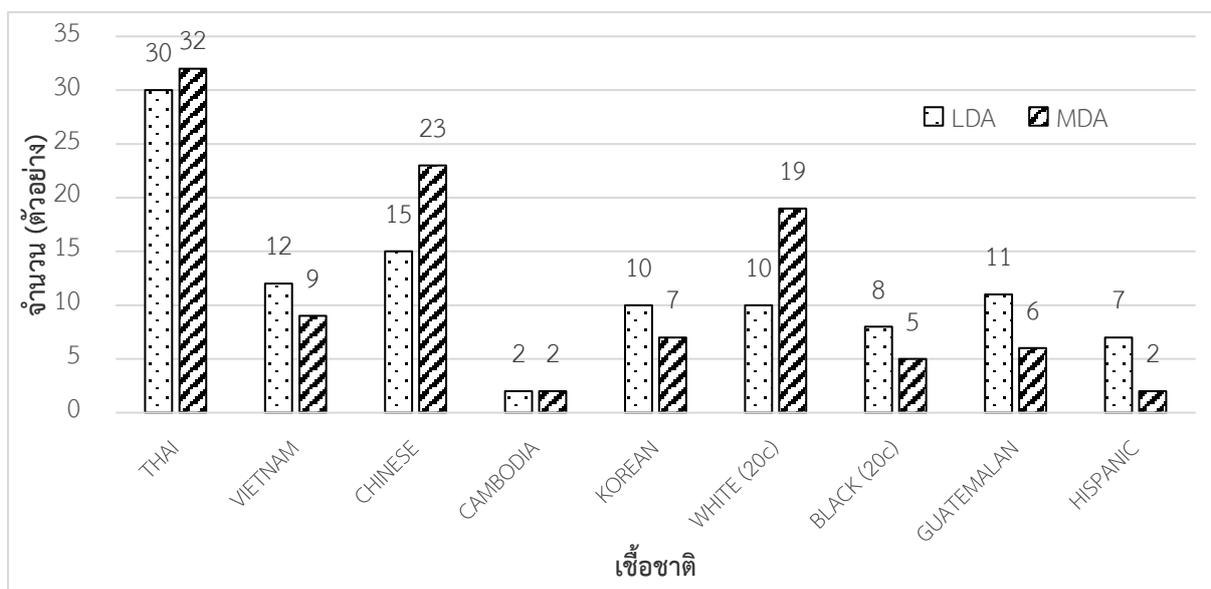


กราฟที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์ในตัวอย่างกลุ่มประชากรไทยเพศชาย (หมายเหตุ THAI: เชื้อชาติไทย, VIET: เชื้อชาติเวียดนาม, CH: เชื้อชาติจีน, CAM: เชื้อชาติกัมพูชา, KOR: เชื้อชาติเกาหลี, W: American White, B: American Black, GUAT: เชื้อชาติกัวเตมาลา, H: เชื้อชาติฮิสแปนิก, M: เพศชาย และ F: เพศหญิง)

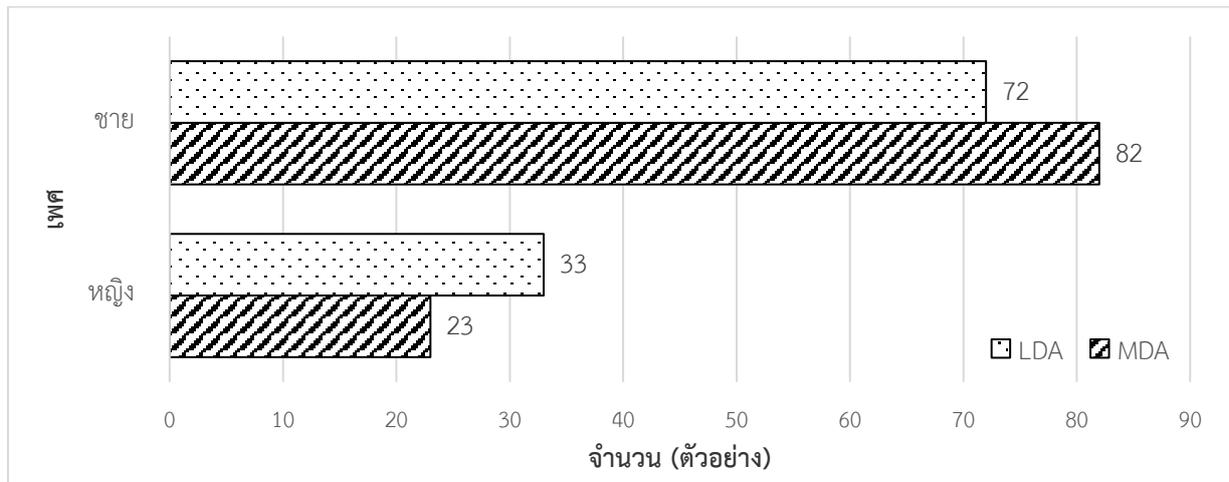


กราฟที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ในตัวอย่างกลุ่มประชากรไทยเพศหญิง (หมายเหตุ THAI: เชื้อชาติไทย, VIET: เชื้อชาติเวียดนาม, CH: เชื้อชาติจีน, CAM: เชื้อชาติกัมพูชา, KOR: เชื้อชาติเกาหลี, W: American White, B: American Black, GUAT: เชื้อชาติกัวเตมาลา, H: เชื้อชาติฮิสปานิก, M: เพศชาย และ F: เพศหญิง)

ผลการวิเคราะห์แยกตามเชื้อชาติ พบว่า ผลเป็นเชื้อชาติไทย จำนวน 30 และ 32 ราย เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ รองลงมาพบเป็นเชื้อชาติจีน จำนวน 15 และ 23 ราย, เชื้อชาติยุโรป (White) จำนวน 10 และ 19 ราย และเชื้อชาติเวียดนาม จำนวน 12 และ 9 ราย เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ ผลแสดงดังกราฟที่ 3 และผลการวิเคราะห์แยกตามเพศ พบว่า ผลวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA พบเป็นเพศชาย จำนวน 72 และ 82 ราย และเพศหญิง 33 และ 23 ราย ตามลำดับ แสดงดังกราฟที่ 4



กราฟที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์จำแนกตามเชื้อชาติ



กราฟที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์จำแนกตามเพศ

นำผลการวิเคราะห์ทั้งหมดที่ได้จากโปรแกรม (hu)MANid มาหาค่าความถูกต้องในการประเมินเพศและเชื้อชาติ พบว่า ในตัวอย่างกลุ่มประชากรทั้งหมดเมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ จำแนกเชื้อชาติได้ถูกต้องร้อยละ 28.57 และ 30.48 จำแนกเพศได้ถูกต้องร้อยละ 74.29 และ 70.48 จำแนกเชื้อชาติร่วมกับเพศได้ถูกต้องร้อยละ 23.81 และ 25.71 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1

ผลการวิเคราะห์เชื้อชาติ เพศ และเชื้อชาติร่วมกับเพศ เมื่อแบ่งตามกลุ่มอายุ 4 กลุ่ม และแบ่งตามเพศ พบว่า ในกลุ่มประชากรชายไทย พบค่าความถูกต้องในการจำแนกเชื้อชาติสูงสุดในกลุ่มประชากรอายุ 41 – 60 ปี คือ ร้อยละ 43.48 ด้วยวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธี รองลงมาเป็นกลุ่มประชากรอายุ 61-80 ปี ร้อยละ 35 และ 40 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ ค่าความถูกต้องในการจำแนกเพศสูงสุดในกลุ่มประชากรอายุ 61 - 80 ปี ร้อยละ 90 และ ร้อยละ 100 รองลงมาเป็นกลุ่มอายุ 41 – 60 ปี ร้อยละ 86.96 และ 95.65 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ ค่าความถูกต้องในการจำแนกเชื้อชาติร่วมกับเพศพบค่าความถูกต้องสูงสุดในกลุ่มประชากรอายุ 41 – 60 ปี ร้อยละ 39.13 และ 43.48 รองลงมาเป็นกลุ่มอายุ 61 – 80 ปี ร้อยละ 30 และ 40 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ

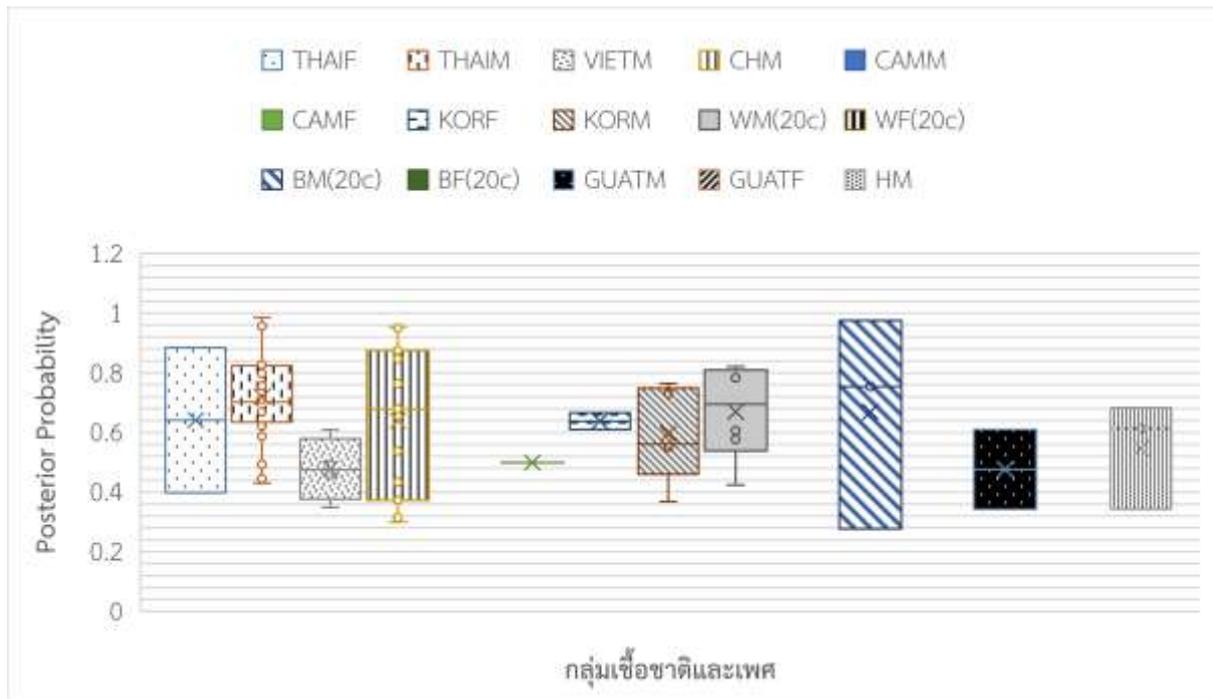
ในกลุ่มประชากรหญิงไทย พบค่าความถูกต้องในการจำแนกเชื้อชาติสูงสุดในกลุ่มอายุ 61 – 80 ปี คิดเป็นร้อยละ 50 ทั้งสองวิธีวิเคราะห์ รองลงมาเป็นกลุ่มอายุ มากกว่า 80 ปี ร้อยละ 25 และ 50 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ ค่าความถูกต้องในการจำแนกเพศพบสูงในกลุ่มประชากรหญิงอายุ 61 – 80 ปี ร้อยละ 70 และ 50 รองลงมาเป็นกลุ่มอายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 40 ปี ร้อยละ 60 และ 50 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ ในการจำแนกเพศร่วมกับเชื้อชาติพบว่า ค่าความถูกต้องสูงสุดในกลุ่มอายุ 61 – 80 ปี ร้อยละ 40 และ 30 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ รองลงมาเป็นกลุ่มอายุมากกว่า 80 ปี ร้อยละ 25 ในวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธี

ตารางที่ 1 ร้อยละของค่าความถูกต้องของการทำนายโดยรวม และแบ่งตามกลุ่มอายุของแต่ละเพศตามการทำนายเชื้อชาติเพศ และเชื้อชาติร่วมกับเพศ

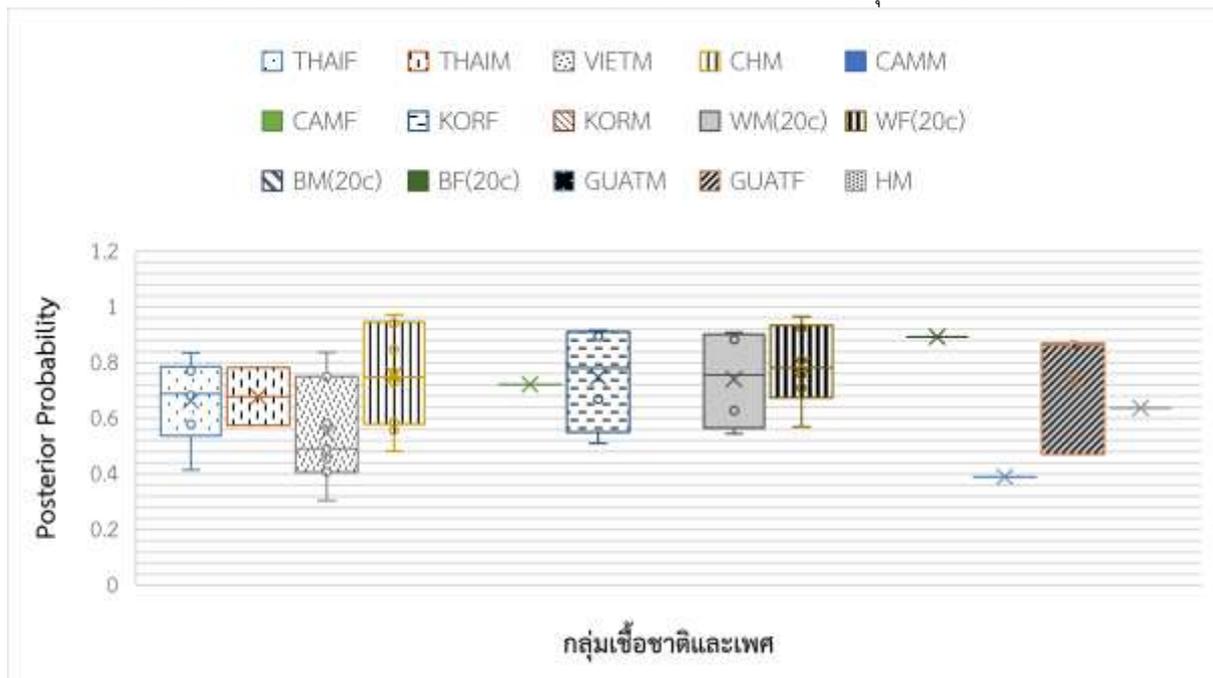
Sex (Age)	Analysis Method	%Correct Ancestry	%Correct Sex	%Correct Ancestry & Sex
Pooled Sex (n=105)	LDA	28.57	74.29	23.81
	MDA	30.48	70.48	25.71
Male ≤40 yrs (n=13)	LDA	15.39	92.31	7.69
	MDA	46.15	76.92	30.77
Male 41-60 yrs (n=23)	LDA	43.48	86.96	39.13
	MDA	43.48	95.65	43.48
Male 61-80 yrs (n=20)	LDA	35	90	30
	MDA	40	100	40
Male >80 yrs (n=3)	LDA	0	66.67	0
	MDA	0	100	0
Female ≤40 yrs (n=10)	LDA	0	60	0
	MDA	0	50	0
Female 41-60 yrs (n=22)	LDA	22.73	50	18.18
	MDA	4.55	31.82	4.55
Female 61-80 yrs (n=10)	LDA	50	70	40
	MDA	50	50	30
Female >80 yrs (n=4)	LDA	25	50	25
	MDA	50	50	25

เมื่อนำผลการการจำแนกมาวิเคราะห์ความถูกต้องในการจำแนกเป็นกลุ่มประชากรเอเชียพบว่า มีค่าทำนายความถูกต้องโดยรวมอยู่ที่ร้อยละ 65.71 และ 69.52 เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LDA และ MDA ตามลำดับ ค่าทำนายความถูกต้องในกลุ่มตัวอย่างชายอยู่ที่ร้อยละ 62.71 และ 67.8 เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LDA และ MDA ตามลำดับ และในกลุ่มตัวอย่างหญิงอยู่ที่ร้อยละ 32.61 และ 17.4 เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี LDA และ MDA ตามลำดับ

ค่า Total Correct Classification ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี LDA และ MDA เท่ากับร้อยละ 54.4 และ 67.5 ตามลำดับ นำค่าความน่าจะเป็นย้อนกลับ (posterior probability) ของการทำนายผลมาจำแนกข้อมูลตามกลุ่มเชื้อชาติและเพศที่ประเมินได้ โดยแบ่งตามกลุ่มตัวอย่างประชากรชายไทยและหญิงไทย ในกราฟที่ 5 และ 6 แสดงการกระจายตัวของค่าความน่าจะเป็นย้อนกลับของตัวอย่างกลุ่มประชากรชายไทยพบว่า ค่ากลางของค่าความน่าจะเป็นย้อนกลับสูงในกลุ่มชายไทย (0.720) รองลงมาเป็นกลุ่มชายเชื้อชาติยุโรป (White) (0.670) และกลุ่มชายเชื้อชาติแอฟริกัน (Black) (0.669) ตามลำดับ ในตัวอย่างกลุ่มประชากรหญิงไทยพบว่า ค่ากลางของค่าความน่าจะเป็นย้อนกลับสูงในกลุ่มชายเชื้อชาติจีน (0.757) รองลงมาเป็นกลุ่มหญิงเชื้อชาติเกาหลีใต้ (0.747) และกลุ่มหญิงเชื้อชาติยุโรป (White) (0.741) ตามลำดับ



กราฟที่ 5 แสดงการกระจายของค่าความน่าจะเป็นย้อนกลับของตัวอย่างกลุ่มประชากรชายไทย



กราฟที่ 6 แสดงการกระจายของค่าความน่าจะเป็นย้อนกลับของตัวอย่างกลุ่มประชากรหญิงไทย

อภิปรายผลการศึกษา

การประเมินเพศร่วมกับเชื้อชาติของกลุ่มประชากรไทยโดยใช้โปรแกรม (hu)MANid มีค่าความแม่นยำน้อย คิดเป็นร้อยละ 23.81 และ 25.71 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ แต่มีความแม่นยำสูงในการจำแนกเพศ คิดเป็นร้อยละ 74.29 และ 70.48 เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ สอดคล้องกับงานศึกษาของ Tomas⁽²²⁾ ซึ่งพบว่า ความแม่นยำในการประเมินเพศของเชื้อชาติยุโรป (White) เชื้อชาติแอฟริกัน (Black) และกลุ่มฮิสปานิก คิดเป็นร้อยละ 43.75, 68.97 และ 53.06 ตามลำดับ และความแม่นยำในการ

ประเมินเพศร่วมกับเชื้อชาติคิดเป็นร้อยละ 21.88, 44.83, 18.37 ตามลำดับ ในการศึกษาี้ ผลการประเมินเชื้อชาติในทุกกลุ่มเพศพบเป็นเชื้อชาติไทยมากที่สุด รองลงมาพบเป็นเชื้อชาติจีน เชื้อชาติยุโรป และเชื้อชาติเวียดนาม ผลการประเมินบางส่วนถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเชื้อชาติจีนเพศชาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลุ่มชาวเอเชียพื้นทวีปมีความใกล้เคียงในสัณฐานวิทยาตั้งแต่ยุคก่อนประวัติศาสตร์จนถึงยุคปัจจุบัน มีการอพยพและกวาดต้อนในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พื้นทวีป และอาจทำให้การประเมินเชื้อชาติมีความคลาดเคลื่อน^(23,24) และแม้แต่ในกลุ่มเอเชียพื้นทวีปและหมู่เกาะเอเชียตะวันออกเฉียง เช่น เกาหลี และญี่ปุ่น มีประวัติการย้ายถิ่นฐานจากเอเชียพื้นทวีปไปเกาะเกาหลีและเกาะญี่ปุ่นในช่วง 2300 ปีก่อน และจากตอนใต้ของจีนเข้าสู่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้พื้นทวีปเมื่อประมาณ 5000 ปีก่อน⁽²⁵⁾ ในงานศึกษาของ Atkinson และคณะ⁽²⁶⁾ พบว่าการประเมินสัณฐานวิทยาของกระดูกขากรรไกรล่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างชาวญี่ปุ่นและชาวไทย จาก 13 ลักษณะ มี 7 ลักษณะที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าความถูกต้องในการประเมินร้อยละ 70.8 น้อยกว่าการประเมินระหว่างกลุ่มตัวอย่างชาวเอเชียและกลุ่มชนพื้นเมืองอเมริกันที่มี 9 ลักษณะที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าความถูกต้องในการประเมินร้อยละ 85.3

ผลการวิเคราะห์แยกตามเพศ พบว่า ผลวิเคราะห์ส่วนใหญ่พบเป็นกลุ่มประชากรชาย จำนวน 72 และ 82 ราย และเพศหญิง 33 และ 23 ราย เมื่อวิเคราะห์ด้วย LDA และ MDA ตามลำดับ อาจเป็นผลมาจากฐานข้อมูลในกลุ่มประชากรเอเชียมีเพศหญิงน้อย⁽¹⁴⁾ และการใช้ข้อมูลจากกลุ่มประชากรเชื้อชาติอื่นไม่อาจนำมาใช้ในการประเมินเพศของเชื้อชาติเอเชียได้ โดยในงานศึกษาของ Tallmans และคณะ⁽²⁷⁾ พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกลุ่มตัวอย่างชาวเอเชียโดยใช้วิธีของ Walker⁽²⁸⁾ ซึ่งพัฒนาวิธีการมาจากกลุ่มตัวอย่างชาวอเมริกัน มีค่าความถูกต้องในการประเมินเพศของกลุ่มตัวอย่างชาวไทยและชาวญี่ปุ่นอยู่ที่ร้อยละ 76.8 – 87.7 ดังนั้น โปรแกรมควรมีฐานข้อมูลกลุ่มประชากรเอเชียเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้การประเมินเพศมีความแม่นยำมากขึ้น

สรุป

โปรแกรม (hu)MANid สามารถประเมินเพศของกลุ่มประชากรไทยได้ แต่ยังคงมีความแม่นยำต่ำในการประเมินเชื้อชาติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากฐานข้อมูลกลุ่มประชากรไทยของโปรแกรมมีน้อย⁽¹⁴⁾ นอกจากนี้ผลงานวิจัยนี้ยังเป็นผลการศึกษาเบื้องต้น ควรทดสอบเพิ่มในประชากรไทยให้ครอบคลุมทุกภูมิภาค เพราะตัวอย่างที่ใช้ในการสร้างโปรแกรมมาจากกลุ่มประชากรไทยภาคอีสาน และในอนาคตควรมีการทดสอบโปรแกรมว่า ผลการประเมินที่มีค่าความถูกต้องต่ำเกิดจาก ความแตกต่างของขนาดและลักษณะของกระดูกขากรรไกรล่างระหว่างภูมิภาค หรือความจำเพาะของวิธี Discriminant analysis

เอกสารอ้างอิง

- (1). Austin D, King RE. The Biological Profile of Unidentified Human Remains in a Forensic Context. *Acad Forensic Pathol.* 2016; 6: 370 - 90.
- (2). ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา, ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 52, (ลงวันที่ 10 มิถุนายน 2478).
- (3). Byers SN, Rhine S. Introduction to forensic anthropology. Boston: Allyn and Bacon; 2008.
- (4). Diegoli TM. Forensic typing of short tandem repeat markers on the X and Y chromosomes. *Forensic Sci Int Genet.* 2015; 18: 140 - 51.
- (5). Brooks S, Suchey JM. Skeletal age determination based on the os pubis: a comparison of the AcsfidiNemesk6ri and Suchey-Brooks methods. *Hum Evol.* 1990; 5: 227 - 38.
- (6). Mahakkanukrauh P, Khanpetch P, Prasitwattanseree S, et al. Stature estimation from long bone lengths in a Thai population. *Forensic Sci Int.* 2011; 210: 279 e1 - 7.
- (7). Simmons-Ehrhardt TL, Ehrhardt CJ, Monson KL. Evaluation of the suitability of cranial measurements obtained from surface-rendered CT scans of living people for estimating sex and ancestry. *J Forensic Radiol Im.* 2019. DOI:[10.1016/j.jofri.2019.100338](https://doi.org/10.1016/j.jofri.2019.100338)
- (8). Tallman SD. The Evaluation and Refinement of Nonmetric Sex and Ancestry Assessment Methods in Modern Japanese and Thai Individuals. Knoxville: University of Tennessee; 2016.
- (9). Hefner JT. Cranial nonmetric variation and estimating ancestry. *J Forensic Sci.* 2009; 54: 985 - 95.
- (10). Dong H, Deng M, Wang W, et al. Sexual dimorphism of the mandible in a contemporary Chinese Han population. *Forensic Sci Int.* 2015; 255: 9 - 15.
- (11). Hu KS, Koh KS, Han SH, Shin KJ, Kim HJ. Sex determination using nonmetric characteristics of the mandible in Koreans. *J Forensic Sci.* 2006; 51: 1376 - 82.
- (12). Byrnes JF, Kenyhercz MW, Berg GE. Examining Interobserver Reliability of Metric and Morphoscopic Characteristics of the Mandible. *J Forensic Sci.* 2017; 62: 981 - 5.
- (13). Berg GE. Biological affinity and sex determination using morphometric and morphoscopic variables from the human mandible. Knoxville, TN: University of Tennessee; 2008.
- (14). Berg GE, Kenyhercz MW. Introducing Human Mandible Identification [(hu)MANid]: A Free, Web-Based GUI to Classify Human Mandibles. *J Forensic Sci.* 2017; 62: 1592 - 8.
- (15). Kenyhercz MWaB, Gregory E. Evaluating Mixture Discriminant Analysis to Classify Unknown Human Mandibles with (hu)MANid, A Free, R-Based GUI. In *New Perspectives in Forensic Human Skeletal Identification*, edited by Krista Latham, Eric Bartelink, and Michael Finnegan. Boca Rotan, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2017.
- (16). Sharma M, RK. G, A. G, et al. A morphometric study of the human mandible in Indian populations for sex determination. *Egypt J Forensic Sci.* 2016; 104: 165 - 9.
- (17). Thakur KC, Choudhary AK, Jain SK, et al. Racial achitecture of Human Mandible-an Anthropology Study. *J Evol Med Dent Sci-*. 2013; 2: 4177 - 88.

- (18). Thunyacharoen S, Lymkhanakhom S, Chantakhat P, et al. An anatomical study on locations of the mandibular foramen and the accessory mandibular foramen in the mandible and their clinical implication in a Thai population. *Anat Cell Biol.* 2020; 53: 252 - 60.
- (19). ไพจิตร สวัสดิ์สาร, ดร. การพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ในศาลในคดีอาญา: วิทยาลัยการยุติธรรม; 2547.
- (20). Christensen AM, Crowder CM. Evidentiary standards for forensic anthropology. *J Forensic Sci.* 2009; 54: 1211 - 6.
- (21). PH M-J, Ousley S, Jantz R. Data collection procedures for forensic skeletal material. Knoxville, TN: University of Tennessee; 1994.
- (22). Tomas, Natalie R., Is the (hu)MANid Program Valid in a Pediatric Population?, Chicago, IL. University of Illinois; 2020.
- (23). Pietrusewsky, M., A multivariate analysis of measurements recorded in early and more modern crania from East Asia and Southeast Asia, *Quat. Int.* 2010; 11: 42 - 54.
- (24). Techataweewan N, Tuamsuk P, Toomsan Y, et al. A large modern Southeast Asian human skeletal collection from Thailand. *Forensic Sci Int.* 2017; 278: 406.e1 - 6. doi:10.1016/j.forsciint.2017.06.03025.
- (25). Pureepatpong Kongkasuriyachai, N., Prasitwattanaseree, S., Case, D.T., et al. Craniometric estimation of ancestry in Thai and Japanese individuals. *Aust J of Forensic Sci* 2020; 54: 294 - 310.
- (26). Atkinson, M.L. and Tallman, S.D. Nonmetric Cranial Trait Variation and Ancestry Estimation in Asian and Asian-Derived Groups. *J Forensic Sci* 2020; 65: 692 - 706. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.14234>
- (27). Tallman, S.D. Cranial Nonmetric Sexual Dimorphism and Sex Estimation in East and Southeast Asian Individuals. *Forensic Anthropol.* 2019; 2: 1 - 18. <https://doi.org/10.5744/fa.2019.1010>
- (28). Walker PL. Sexing skulls using discriminant function analysis of visually assessed traits. *Am J Phys Anthropol* 2008; 136: 39 – 50

CASE REPORT

Primary leiomyosarcoma of pulmonary artery causing sudden death in a young female: An autopsy case report

Dr. Bhavya P. Mohan MD, DNB, Associate Professor^{1*},

Dr. Sheeju P. A MD, Associate Professor²,

Dr. Jini L Valooran MD, Associate Professor³,
and Dr. Sreelakshmi P K MD, Registrar⁴

¹ Department of Pathology

² Department of Forensic Medicine

³ Government medical college, Thrissur, Department of Pathology, Manjeri

⁴ Department of Pathology, KIMS Health, Kollam, Kerala, India

* Correspondence to: Dr. Bhavya P.Mohan, Associate Professor, Department of Pathology, Government Medical College P.O, Thrissur, KERALA. Ph number: +919142044008 e-mail: bhavyasharath80@gmail.com, sheejumanju@gmail.com, jinivalooran77@gmail.com, ambadi52@gmail.com

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

Abstract

Even though a cardiovascular aetiology is the most common finding in a sudden death scenario, malignancy is quite a rare contributor. Sarcomas of pulmonary artery are very uncommon malignancies which can cause sudden death. This rare and unique case of a primary leiomyosarcoma of pulmonary artery in a 38-year-old lady who died suddenly, was revealed during autopsy, and subsequently confirmed by histopathology and immunohistochemistry.

Key words: Pulmonary, Sarcoma, Smooth muscle, Sudden, Young, Death

Introduction

A natural, unexpected death that occurs within 24 hours of the onset of final symptoms in an apparently healthy individual is called sudden death by World Health Organization⁽¹⁾. About 88% of all sudden deaths are of cardiac etiology⁽²⁾. However, about 40% of sudden death cases are unwitnessed, which makes it difficult to obtain relevant evidence and information. In such cases, medicolegal autopsy is usually performed, which is also required to gain any information⁽²⁾.

Malignancies, in particular, sarcomas are quite unusual findings in cases of sudden death⁽²⁾. Sarcomas per se are less common than carcinomas. Cardiac involvement by sarcomas resulting in sudden death is still uncommon. Sarcomas of the pulmonary artery are rare tumors that can result in sudden death or unusual clinical scenarios⁽²⁻³⁾. They comprise of only 0.5% of all lung malignancies. Cases with primary sites of sarcoma in vital organs are more vulnerable to sudden death, and are less likely to be diagnosed antemortem⁽²⁾. These tumors appear to arise from multipotential mesenchymal cells of the arterial intima, classifying them as intimal sarcomas owing to their distinct features and different morphological subtypes have been described⁽⁴⁾. Among primary pulmonary artery sarcomas (PPAS), primary pulmonary

artery leiomyosarcoma (PPAL) is an aggressive subtype with smooth muscle differentiation and carries a poor prognosis. PPAL grows and fills the pulmonary artery lumen, with the obstruction causing dyspnea, pulmonary hypertension, and elevation of right ventricular pressure and it can cause death by bilateral pulmonary artery occlusion⁽³⁾.

Case Report

A 37-year-old female was brought dead to the casualty of a peripheral hospital. Four days prior to the death, there was a history of fever, giddiness, and flu-like symptoms, for which she sought treatment from a primary health center and the symptoms were relieved. Subsequently, she was taken to the peripheral hospital following a fainting episode in the early morning, where she was declared as brought dead. There was neither any clinical history of significant organ or functional disease, such as epilepsy, that could have caused sudden death nor there was any family history of heart disease/sudden cardiac death. Notably, she was on antihypertensive medications.

During medicolegal autopsy conducted at our institution, the general appearance was that of a moderately built and nourished adult female of length 159cms and weight 55kg. Conjunctivae were congested, corneas hazy and pupils mid-dilated. No traumatic injury was found. Brain, trachea, bronchi, and lungs were congested. Pleural cavities, mediastinum and esophagus were normal. Right atrial and right ventricular chambers were dilated. Pulmonary trunk at its beginning was fully occluded by a protruding, whitish, firm, and friable mass, attached to the pulmonary valves and to its intima. Right ventricular chamber and pulmonary trunk showed blood clots. Left atrium and left ventricle were normal. Coronary arteries were patent. Whole dissected heart, bits from lung, liver, kidney, and spleen were sent for histopathological evaluation.

On gross examination, the heart weighed 300 g. Thickness of right ventricle and left ventricle was 0.5cm and 1.2cm respectively. Chambers, coronaries, valves, and myocardium were within normal limits except for blood clots within right ventricle. Pulmonary trunk showed a nodular, friable occlusive mass measuring 6x5.5x3.4cm. Cut section was grey white and fleshy with areas of spotty necrosis, haemorrhage and focal myxoid change (Fig.1a, b). Other organs were congested, without major findings.

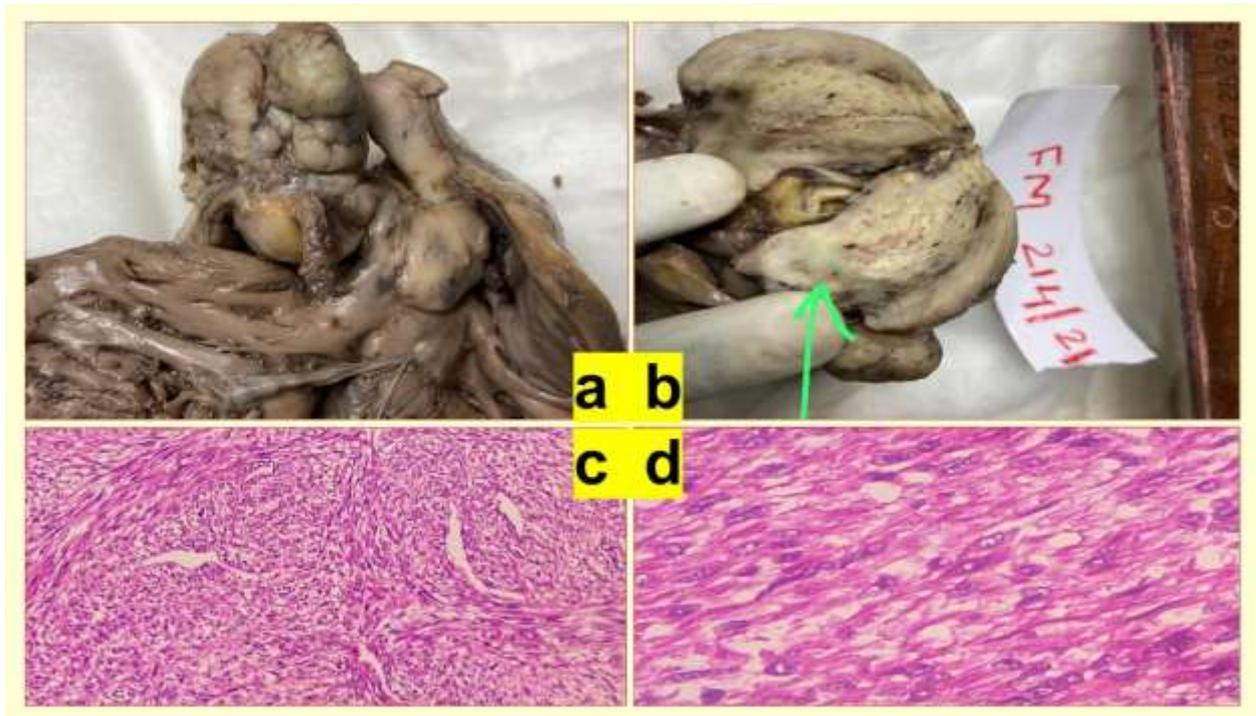


Figure 1: a. nodular, friable mass occluding the pulmonary trunk b. cut surface of the mass with grey white, fleshy look and areas of spotty necrosis, myxoid change and hemorrhage c. (H&Ex100) infiltrative tumor with cells in interlacing fascicles and thin blood vessels within d. (H&Ex400) pleomorphic spindle cells with vesicular nuclei, moderate eosinophilic cytoplasm, and occasional prominent nucleoli.

Microscopically, bits from liver, lungs, spleen, fallopian tubes, and ovaries showed congestion. Endometrium was haemorrhagic. Kidney showed congestion and features of calculous nephropathy. Sections from the nodular mass revealed an infiltrating tumour with cells arranged in interlacing bundles and fascicles in a loose myxoid stroma. Individual cells were pleomorphic, spindle to ovoid cells having variable amount of eosinophilic cytoplasm, vesicular nuclei with blunt ends and prominent nucleoli in some. 4-5 mitotic figures were noted/10 high power fields. Atypical mitoses, multinucleate giant cells and extensive areas of necrosis were noted. Tumour was seen infiltrating into the underlying muscle. Immunohistochemically, tumour cells strongly expressed smooth muscle actin. Desmin showed strong patchy expression. Cytokeratin was reactive in focal areas of tumour. Ki-67 proliferation index was about 15%. Tumour cells were negative for CD34 (with positive internal control) and S100 (Fig.2). With these findings, a final diagnosis of primary pulmonary artery leiomyosarcoma was offered.

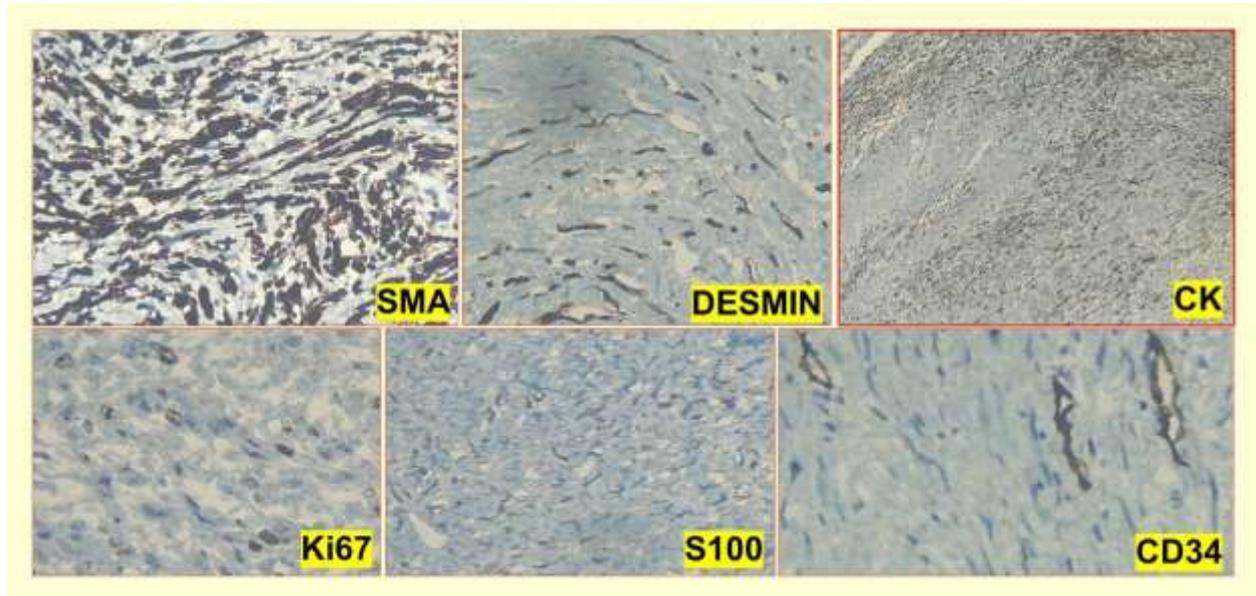


Figure 2: Tumor cells showing strong, diffuse SMA positivity, patchy strong desmin positivity, focal CK positivity, Ki-67 expression in about 15% cells, CD34 and S100 negativity. (CD34 shows vascular channels as positive internal control)

Discussions

The first published case of PPAS was from an autopsy in 1923 by Mandelstam⁽³⁾. It has a very low incidence and only a total of 400 cases have been reported in the literature⁽³⁾. Sarcomas of pulmonary artery can result in a clinical syndrome that may be mistakenly recognized as pulmonary embolism or right heart failure. The differential diagnoses include pulmonary artery sarcoma, thromboembolism, and lung cancer. Various histologic subtypes of intrathoracic sarcoma are described, including angiosarcoma, leiomyosarcoma, fibrosarcoma, hemangiopericytoma, and rhabdomyosarcoma⁽⁵⁾. Cox et al. have reported undifferentiated sarcoma as the most common subtype of PPAS⁽⁶⁾ However, Bandyopadhyay et al. found leiomyosarcoma as the most common histological type of PPAS (20%) followed by spindle cell sarcoma; in their literature review⁽⁷⁾. Pulmonary artery leiomyosarcomas present with a mean age of 50 years at diagnosis, and with equal frequency in men and women⁽⁵⁾. PPAL almost always originates from the pulmonary trunk with attachment to the wall, grows intraluminally, and may extend into one or both pulmonary arteries or to the pulmonary valve and right ventricular outflow tract. Histologically, atypical spindle cells with coarse chromatin arranged as bundles in loose myxoid stroma with foci of necrosis are seen. Aberrant cytokeratin expression is described in leiomyosarcoma, as in our case⁽⁸⁾.

The tumor can spread transmurally into adjacent lung parenchyma, bronchi, or lymph nodes and may extend to the myocardium and mediastinum. Systemic metastases can be found in about 20% of cases⁽⁹⁾. Survival was said to be poor in patients with tumor size more than 5 cm and in high grade tumors because of higher frequency of local invasion and distant metastasis⁽¹⁰⁾.

Conclusion

Histomorphology of autopsy specimens helps in detection of unexpected and unknown pathologies which can help to formulate better management strategies for living patients with similar clinical background.

Acknowledgement

Authors would like to acknowledge Dr. Anu T R, and Dr. Archana K, Residents, Department of Pathology, for the assistance provided in grossing and photomicrography.

References

- (1.) Sessa F, Esposito M, Messina G, Di Mizio G, Di Nunno N, Salerno M. Sudden Death in Adults: A Practical Flow Chart for Pathologist Guidance. *Healthcare*. 2021; 9: 870. doi: [10.3390/healthcare9070870](https://doi.org/10.3390/healthcare9070870)
- (2.) Li YI, WY H, Shun C. Sudden Death Due to Sarcoma: An Unusual Case and Literature Review. *J Forensic Sci Criminol*. 2016; 1: 4. doi: 10.15744/2348-9804.4.104
- (3.) Tachi K, Inomata S, Tanaka M. Occlusion of the pulmonary artery by a primary pulmonary artery sarcoma resulting in cardiac arrest: a case report. *JA Clin Rep*. 2019; 5: 15. doi: 10.1186/s40981-019-0235-0.
- (4.) Yamasaki M, Sumi Y, Sakakibara Y, Tamaoka M, Miyazaki Y, Arai H, et al. Pulmonary Artery Leiomyosarcoma Diagnosed without Delay. *Case Rep Oncol*. 2011; 4: 287 – 98.
- (5.) Sardenberg RA da S, Cangnaci Neto R, Cavalcanti F, Younes RN. High-grade primary pulmonary leiomyosarcoma. *Einstein Sao Paulo Braz*. 2011; 9: 523 – 6.
- (6.) Chen D, Zhu G, Wang D, Zhang Z, Fang W, Qu Z. Clinicopathological and immunohistochemical features of pulmonary artery sarcoma: A report of three cases and review of the literature. *Oncol Lett*. 2016; 11: 2820 – 6.
- (7.) Bandyopadhyay D, Panchabhai TS, Bajaj NS, Patil PD, Bunte MC. Primary pulmonary artery sarcoma: a close associate of pulmonary embolism—20-year observational analysis. *J Thorac Dis*. 2016; 8: 2592 – 601.
- (8.) Iwata J, Fletcher CD. Immunohistochemical detection of cytokeratin and epithelial membrane antigen in leiomyosarcoma: a systematic study of 100 cases. *Pathol Int*. 2000 ; 50: 7 – 14.

- (9.) Demirci NY, Naurzvai N, Kirbas I, Akyürek N, Gürsel G, Öztürk C. Pulmonary artery leiomyosarcoma: A clinical dilemma. *Lung India*. 2018; 35: 164 – 7.
- (10.) Bacha EA, Wright CD, Grillo HC, Wain JC, Moncure A, Keel SB, et al. Surgical treatment of primary pulmonary sarcomas1. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1999; 15: 456 – 60.

APPENDIX 1

INFORMATION FOR AUTHORS

All authors listed in a paper submitted to Asian Archives of Pathology (AAP) must have contributed substantially to the work. It is the corresponding author who takes responsibility for obtaining permission from all co-authors for the submission. When submitting the paper, the corresponding author is encouraged to indicate the specific contributions of all authors (the author statement, with signatures from all authors and percentage of each contribution can be accepted). Examples of contributions include: designed research, performed research, contributed vital new reagents or analytical tools, analysed data, and wrote the paper. An author may list more than one type of contribution, and more than one author may have contributed to the same aspect of the work.

Authors should take care to exclude overlap and duplication in papers dealing with related materials. See also paragraph on Redundant or Duplicate Publication in “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” at <http://www.icmje.org/index.html>.

The submitted manuscripts will be reviewed by the members of the Editorial Board or the expert reviewers. At the discretion of the Editorial Board, the manuscripts may be returned immediately without full review, if deemed not competitive or outside the realm of interests of the majority of the readership of the Journal. The decision (reject, invite revision, and accept) letter will be coming from the Editorial Board who has assumed responsibility for the manuscript’s review. The editor’s decision is based not just on technical merit of the work, but also on other factors such as the priority for publication and the relevance to the Journal’s general readership. All papers are judged in relation to other submissions currently under consideration.

Categories of Manuscripts

1. Letters to the Editor

The letters to the editor are the reactions to any papers published in AAP. These letters will be reviewed by the Editorial Board and sent to the authors of the original paper with an invitation to respond. Letters and eventual responses will be published together, when appropriate.

- *Word Count: 300 – 500 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 10*
- *Figure or Table: Maximum of 1 (if needed)*

2. Original Articles

The original articles are the researches describing the novel understanding of anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine), forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence), molecular medicine or pathobiology. Systematic reviews, meta-analyses and clinical trials are classified as articles. The articles should be clearly and concisely written in the well-organised form (see **Organisation of Manuscripts**): abstract; introduction; materials and methods; results; discussion; and conclusions. The manuscripts that have passed an initial screening by the Editorial Board will be reviewed by two or more experts in the field.

- *Word Count: 3,000 – 5,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)*
- *Structured Abstract (see Organisation of Manuscripts): 150 – 200 words*
- *References: Maximum of 150*
- *Figures or Tables: Maximum of 6*

3. Review Articles

The review articles are generally invited by the Editor-in-Chief. They should focus on a topic of broad scientific interest and on recent advances. These articles are peer-reviewed before the final decision to accept or reject the manuscript for publication. Therefore, revisions may be required.

- *Word Count: 3,000 – 5,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)*
- *Unstructured Abstract: 150 – 200 words*
- *References: Maximum of 150*
- *Figures or Tables: Maximum of 4*

4. Case Reports

AAP limits publication of case reports to those that are truly novel, unexpected or unusual, provide new information about anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine) or forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence). In addition, they must have educational value for the aforementioned fields. The journal will not consider case reports describing preventive or therapeutic interventions, as these generally require stronger evidence. Case reports that involve a substantial literature review should be submitted as a review article. The submitted case reports will undergo the usual peer-reviewed process.

- *Word Count: 1,200 – 2,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)*
- *Unstructured Abstract: 150 – 200 words*
- *References: Maximum of 20*
- *Figures or Tables: Maximum of 4*

5. Case Illustrations

Case illustrations are aimed to provide education to readers through multidisciplinary clinicopathological discussions of interesting cases. The manuscript consists of a clinical presentation or description, laboratory investigations, discussion, final diagnosis, and up to 5 take-home messages (learning points). Regarding continuous learning through self-

assessment, each of the case illustrations will contain 3 – 5 multiple choice questions (MCQs) with 4 – 5 suggested answers for each question. These MCQs are placed after the final diagnosis and the correct answers should be revealed after the references. The questions and take-home messages (learning points) are included in the total word count. The manuscripts that have passed an initial screening by the Editorial Board will be reviewed by two experts in the field.

- *Word Count: 1,000 – 2,000 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 10*
- *Figures: Maximum of 2*
- *Tables: Maximum of 5*

6. Technical Notes

The technical notes are brief descriptions of scientific techniques used in the anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine), forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence), molecular medicine or pathobiology. The submitted manuscripts are usually peer-reviewed.

- *Word Count: Maximum of 1,000 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 5*
- *Figures or Tables: Maximum of 2*

Organisation of Manuscripts

7. General Format

The manuscripts written in English language are preferable. However, Thai papers are also acceptable, but their title pages, abstracts, and keywords must contain both Thai and English. These English and Thai manuscripts are prepared in A4-sized Microsoft Word documents with leaving 2.54-cm (1-inch) margins on all sides. All documents are required to be aligned left and double-spaced throughout the entire manuscript. The text should be typed in 12-point regular Times New Roman font for English manuscript and 16-point regular TH SarabunPSK font for Thai manuscript.

The running titles of English and Thai manuscripts are placed in the top left-hand corner of each page. They cannot exceed 50 characters, including spaces between words and punctuation. For the header of English paper, the running title will be typed in all capital letters. The page number goes on the top right-hand corner.

Footnotes are not used in the manuscripts, but parenthetical statements within text are applied instead and sparingly. Abbreviations should be defined at first mention and thereafter used consistently throughout the article. The standard abbreviations for units of measure must be used in conjunction with numbers.

All studies that involve human subjects should not mention subjects' identifying information (e.g. initials) unless the information is essential for scientific purposes and the patients (or parents or guardians) give written informed consent for publication.

8. Title Page

The title page is the first page of the manuscripts and must contain the following:

- The title of the paper (not more than 150 characters, including spaces between words)
- The full names, institutional addresses, and email addresses for all authors (If authors regard it as essential to indicate that two or more co-authors are equal in status, they may be identified by an asterisk symbol with the caption “These authors contributed equally to this work” immediately under the address list.)
- The name, surname, full postal address, telephone number, facsimile number, and email address of the corresponding author who will take primary responsibility for communication with AAP.
- Conflict of interest statement (If there are no conflicts of interest for any author, the following statement should be inserted: “The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.”)

9. Abstract

A structured form of abstract is used in all Original Article manuscripts and must include the following separate sections:

- *Background: The main context of the study*
- *Objective: The main purpose of the study*
- *Materials and Methods: How the study was performed*
- *Results: The main findings*
- *Conclusions: Brief summary and potential implications*
- *Keywords: 3 – 5 words or phrases (listed in alphabetical order) representing the main content of the article*

10. Introduction

The Introduction section should clearly explain the background to the study, its aims, a summary of the existing literature and why this study was necessary or its contribution to the field.

11. Materials and Methods

The Materials and Methods section must be described in sufficient detail to allow the experiments or data collection to be reproduced by others. Common routine methods that have been published in detail elsewhere should not be described in detail. They need only be described in outline with an appropriate reference to a full description.

Authors should provide the names of the manufacturers and their locations for any specifically named medical equipment and instruments, and all chemicals and drugs should be identified by their systematic and pharmaceutical names, and by their trivial and trade names if relevant, respectively. Calculations and the statistical methods employed must be described in this section.

All studies involving animal or human subjects must abide by the rules of the appropriate Internal Review Board and the tenets of the recently revised Helsinki protocol. Hence, the manuscripts must include the name of the ethics committee that approved the study and the committee's reference number if appropriate.

12. Results

The Results section should concisely describe the findings of the study including, if appropriate, results of statistical analysis which must be presented either in the text or as tables and figures. It should follow a logical sequence. However, the description of results should not simply repeat the data that appear in tables and figures and, likewise, the same data should not be displayed in both tables and figures. Any chemical equations, structural formulas or mathematical equations should be placed between successive lines of text. The authors do not discuss the results or draw any conclusions in this section.

13. Discussion

The Discussion section should focus on the interpretation and the significance of the findings against the background of existing knowledge. The discussion should not repeat information in the results. The authors will clearly identify any aspects that are novel. In addition, there is the relation between the results and other work in the area.

14. Conclusions

The Conclusions section should state clearly the main summaries and provide an explanation of the importance and relevance of the study reported. The author will also describe some indication of the direction future research should take.

15. Acknowledgements

The Acknowledgements section should be any brief notes of thanks to the following:

- *Funding sources*
- *A person who provided purely technical help or writing assistance*
- *A department chair who provided only general support*

- Sources of material (e.g. novel drugs) not available commercially

Thanks to anonymous reviewers are not allowed. If you do not have anyone to acknowledge, please write “Not applicable” in this section.

16. References

The Vancouver system of referencing should be used in the manuscripts. References should be cited numerically in the order they appear in the text. The authors should identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses or as superscripts. Please give names of all authors and editors. The references should be numbered and listed in order of appearance in the text. The names of all authors are cited when there are six or fewer. When there are seven or more, only the first three followed by “et al.” should be given. The names of journals should be abbreviated in the style used in Index Medicus (see examples below). Reference to unpublished data and personal communications should not appear in the list but should be cited in the text only (e.g. A Smith, unpubl. Data, 2000).

- *Journal article*

1. Sibai BM. Magnesium sulfate is the ideal anticonvulsant in preeclampsia – eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 1141 – 5.

- *Books*

2. Remington JS, Swartz MN. *Current Topics in Infectious Diseases*, Vol 21. Boston: Blackwell Science Publication, 2001.

- *Chapter in a book*

3. Cunningham FG, Hauth JC, Leveno KJ, Gilstrap L III, Bloom SL, Wenstrom KD. Hypertensive disorders in pregnancy. In: Cunningham FG, Hauth JC, Leveno KJ, Gilstrap L III, Brom SL, Wenstrom KD, eds. *Williams Obstetrics*, 22nd ed. New York: McGraw-Hill, 2005: 761 – 808.

17. Tables

The tables should be self-contained and complement, but without duplication, information contained in the text. They should be numbered consecutively in Arabic numerals (Table 1, Table 2, etc.). Each table should be presented on a separate page with a comprehensive but concise legend above the table. The tables should be double-spaced and vertical lines should not be used to separate the columns. The column headings should be brief, with units of measurement in parentheses. All abbreviations should be defined in footnotes. The tables and their legends and footnotes should be understandable without reference to the text. The authors should ensure that the data in

the tables are consistent with those cited in the relevant places in the text, totals add up correctly, and percentages have been calculated correctly.

18. Figure Legends

The legends should be self-explanatory and typed on a separate page titled “Figure Legends”. They should incorporate definitions of any symbols used and all abbreviations and units of measurement should be explained so that the figures and their legends are understandable without reference to the text.

If the tables or figures have been published before, the authors must obtain written permission to reproduce the materials in both print and electronic formats from the copyright owner and submit them with the manuscripts. These also follow for quotes, illustrations, and other materials taken from previously published works not in the public domain. The original resources should be cited in the figure captions or table footnotes.

19. Figures

All illustrations (line drawings and photographs) are classified as figures. The figures should be numbered consecutively in Arabic numerals (Figure 1, Figure 2, etc.). They are submitted electronically along with the manuscripts. These figures should be referred to specifically in the text of the papers but should not be embedded within the text. The following information must be stated to each microscopic image: staining method, magnification (especially for electron micrograph), and numerical aperture of the objective lens. The authors are encouraged to use digital images (at least 300 d.p.i.) in .jpg or .tif formats. The use of three-dimensional histograms is strongly discouraged when the addition of these histograms gives no extra information.

20. Components

14.1. Letters to the Editor

The Letter to the Editor manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Main Text*
- *References*
- *Table (if needed)*
- *Figure Legend (if needed)*
- *Figure (if needed)*

14.2. Original Articles

The Original Article manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Structured Abstract*
- *Introduction*
- *Materials and Methods*
- *Results*
- *Discussion*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.3. Review Articles

The Review Article manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Unstructured Abstract*
- *Introduction*
- *Main Text*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.4. Case Reports

The Case Report manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Unstructured Abstract*
- *Introduction*
- *Case Description*
- *Discussion*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*

- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.5. Case Illustrations

The Case Illustration manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Clinical Presentation or Description*
- *Laboratory Investigations*
- *Discussion*
- *Final Diagnosis*
- *Multiple Choice Questions (MCQs)*
- *Take-Home Messages (Learning Points)*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Correct Answers to MCQs*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.6. Technical Notes

The Technical Note manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Introduction*
- *Main text*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

Proofreading

The authors of the acc

epted manuscripts will receive proofs and are responsible for proofreading and checking the entire article, including tables, figures, and references. These authors should correct only typesetting errors at this stage and may be charged for extensive alterations. Page proofs must be returned within 48 hours to avoid delays in publication.

Revised Manuscripts

In many cases, the authors will be invited to make revisions to their manuscripts. The revised manuscripts must generally be received by the Editorial Board within 3 months of the date on the decision letter or they will be considered a new submission. An extension can sometimes be negotiated with the Editorial Board.

APPENDIX 2 BENEFITS OF PUBLISHING WITH ASIAN ARCHIVES OF PATHOLOGY

Asian Archives of Pathology (AAP) is an open access journal. Open Access makes your works freely available to everyone in the world. It provides a significant boost to the readership of your articles, and has been shown to have an increase in positive influence on citations and reuse. Hence, open-access leads to more recognition for our esteemed authors.

The journal has been sponsored by the Royal College of Pathologists of Thailand. We have the policy to disseminate the verified scientific knowledge to the public on a non-profit basis. Hence, we have not charged the authors whose manuscripts have been submitted or accepted for publication in our journal.

Since AAP is also a peer-reviewed journal, the submitted manuscripts will be reviewed by the members of the Editorial Board or the expert reviewers. The decision on these manuscripts is processed very fast without any delay and in shortest possible time. The processing period is 1 – 2 weeks. These decisions of the reviewers are unbiased and the decision (reject, invite revision, and accept) letter coming from the Editorial Board is always conveyed to the authors.

APPENDIX 3 SUBMISSION OF THE MANUSCRIPTS

- Step 1:** Access www.asianarchpath.com
- Step 2:** If you did not register before, please create an account first.
- Step 3:** Login with your username and password.
- Step 4:** Click the “+ New Submission” button on the upper right-hand side of the page.
- Step 5:** Proceed to fill up the Submission Form online and follow the directions given therein.
- Step 6:** Upload your manuscript file (s).
- Step 7:** Re-check the content of your manuscript (s) and the uploaded file (s) more carefully prior to the submission. If you have submitted your manuscript file (s) incorrectly, you must contact Editor-in-Chief of Asian Archives of Pathology immediately. The Editor-in-Chief can clear the incorrect attempt and allow you another submission.
- Step 8:** Click the “Submit Manuscript” button under Important Notice.

If you have any further enquiries, please do not hesitate to contact the Journal.

APPENDIX 4 CONTACT THE JOURNAL

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building
Phramongkutklao College of Medicine
317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

APPENDIX 5

SUPPORT THE JOURNAL

Asian Archives of Pathology (AAP) has a mission of disseminating the unbiased and reliable medical knowledge on a non-profit basis. If you consider that this journal is useful for the public, you can support us by submitting your advertisements via the contact information below.

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology
Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building
Phramongkutklao College of Medicine
317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

Every support, small or big, can make a difference.

Thank you

A handwritten signature in black ink, reading "Ruangpratheep". The signature is written in a cursive style with a horizontal line underneath the name.

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

MD, FRCPath (Thailand), MSc, PhD

Editor-in-Chief of Asian Archives of Pathology

ACADEMIC MEETINGS AND CONFERENCES

Announcements of academic meetings and conferences that are of interest to the readers of Asian Archives of Pathology (AAP) should be sent to the Editor-in-Chief at least 3 months before the first day of the month of issue. The contact information is shown below.

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building

Phramongkutkloa College of Medicine

317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

WHAT IS INSIDE THIS ISSUE?

Original Article:

Simple Modified QuEChERS Extraction of Blood and Vitreous Fluid in..... 1
Determination of 56 common Forensic Drugs and Narcotics by LC-MS/MS
Nat Tansrisawad, Parat Thirati and Apinya Tuptim

Sex and Ancestry Estimation from Mandible in a Thai Population..... 19
using the (hu)MANid Programme
Wantana Takaeng, M.D., Sittiporn Ruengdit, Ph.D. and
Chaturong Kanchai, M.D., Asso. Prof.

Case Report:

Primary leiomyosarcoma of pulmonary artery causing sudden death..... 31
in a young female: An autopsy case report
Dr. Bhavya P. Mohan MD, DNB, Associate Professor, Dr. Sheeju P. A MD, Associate
Professor, Dr. Jini L Valooran MD, Associate Professor
and Dr. Sreelakshmi P K MD, Registrar