



Praca oryginalna
Original paper

Michał Szeremeta¹, Ewelina Mironiuk^{2,3}, Maciej Janica^{2,3}, Petra Drobuliakova², Karolina Lomperta²,
Magdalena Szczypek², Anna Niemcunowicz-Janica¹

Wykorzystanie ciała szklanego oka jako alternatywnego materiału do oznaczania stężenia alkoholu w zwłokach ludzkich

Vitreous humour as an alternative material for the determination of alcohol concentration in human corpses

¹Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polska

²Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polska

³Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Statystyki i Informatyki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polska

¹Department of Forensic Medicine, Medical University of Białystok, Poland

²Student's Scientific Group at the Department of Forensic Medicine, Medical University of Białystok, Poland

³Student's Scientific Group at the Department of Statistics and Medical Informatics, Medical University of Białystok, Poland

Streszczenie

Cel pracy: Celem pracy jest ocena przydatności ciała szklanego oka (*vitreous humour* – VH) w oznaczaniu alkoholemii u zmarłych. W pracy przedstawiono korelację pomiędzy zawartością alkoholu etylowego w cieple szklanym a stężeniem alkoholu etylowego we krwi żyłnej (*femoral blood* – FB).

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiły próbki krwi i ciała szklanego oka pobrane od 62 osób zmarłych w latach 2012–2016, których sekcje przeprowadzono w Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Do badania zawartości alkoholu wykorzystano metodę chromatografii gazowej (GC). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu MF Excel oraz Statistica 12.5, a następnie przedstawiono w formie opisowej oraz rycin i wykresów.

Wyniki: Analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy stężeniem etanolu w VH i w FB. Korelacja Spearmana pomiędzy stężeniem etanolu w badanych materiałach wyniosła $r = 0,96$, $p < 0,01$.

Wnioski: Przeprowadzone badania nie wykazały statystycznie istotnych różnic pomiędzy stężeniem alkoholu w VH i FB. Pozwala to przyjąć, że w przypadkach, gdy nie ma możliwości pobrania do badań toksykologicznych krwi żyłnej, ciało szklane oka może być stosowane jako wiarygodny materiał alternatywny.

Słowa kluczowe: alkohol, ciało szklane oka, krew żylna.

Abstract

Aim of the study: The aim of the study was to assess the suitability of vitreous humour (VH) for determining alcohol-aemia in deceased bodies. The study presents a correlation between the content of ethyl alcohol in vitreous humour and the concentration of ethyl alcohol in venous blood (femoral blood – FB).

Material and methods: The study material consisted of blood and vitreous humour samples taken from 62 individuals who died in the period 2012–2016 and whose post-mortem examinations were carried out at the Department of Forensic Medicine, Medical University of Białystok. The content of alcohol was determined using the method of gas chromatography (GC). The findings of the study were analyzed statistically with MF Excel and Statistica 12.5, and then presented in a descriptive form, including figures and charts.

Results: Statistical analysis did not reveal significant differences between the concentration of ethanol in VH and FB. Spearman's correlation between the concentration of ethanol in the materials under study was $r = 0.96$, $p < 0.01$.

Conclusions: The study demonstrated no statistically significant differences between the concentration of alcohol in VH and in FB. Consequently, vitreous humour can be used as a reliable alternative material in cases where there is no possibility of collecting venous blood for toxicological tests.

Key words: alcohol, vitreous humour, venous blood.

Wstęp

Według raportów i statystyk policyjnych nadmierne spożycie napojów alkoholowych prowadzące do stanu nietrzeźwości stanowi istotne źródło wypadków ze skutkiem śmiertelnym, urazów, utonięć, samobójstw oraz innych przestępstw [1–5]. Picie szkodliwe i alkoholizm są głównymi przyczynami wypadków komunikacyjnych oraz wypadków w miejscu zamieszkania lub w pracy. Alkohol, obok takich substancji, jak paracetamol, benzodiazepiny oraz opioidy, jest wykrywany w toksykologii sądowej najczęściej [5, 6]. Dlatego do celów procesowych tak ważna jest wiarygodna ocena stanu trzeźwości.

W praktyce medyczno-sądowej zdarzają się przypadki skrajnego wykrwawienia – najczęściej dotyczą one ofiar wypadków komunikacyjnych oraz samobójstw [7]. W takiej sytuacji ciało szkliste oka (*vitreous humor* – VH) może być bardzo pomocne w analizie toksykologicznej [8].

Badania nad wykorzystaniem VH jako alternatywnego materiału w diagnostyce pośmiertnej zostały zapoczątkowane przez Naumanna w latach 40. i 50. XX w. [9]. Od kilku dekad VH jest z powodzeniem wykorzystywane w postępowaniach sądowno-lekarskich i staje się coraz cenniejszym materiałem do analiz toksykologicznych [8]. Ma to związek z jego anatomiczną lokalizacją – pomiędzy siatkówką a soczewką oka, co zapewni dobrą izolację płynu od środowiska zewnętrznego, a także z bardzo pożądanym z punktu widzenia toksykologii uwodnieniem przekraczającym 98%. Oprócz wody VH zawiera sieć włókien kolagenowych i hialuronianu glikozaminoglikanu [10], co nadaje mu konsystencję żelu. Resztę stanowią cukry, mocznik, kreatynina, elektrolity oraz nieliczne komórki [11, 12]. Elektrolity możliwe do oznaczenia w VH to

Introduction

Based on police reports and statistics, excessive consumption of alcoholic beverages leading to intoxication is a significant cause of fatal accidents, injuries, drownings, suicides and other crimes [1–5]. Harmful drinking and alcoholism are the main factors contributing to the occurrence of traffic accidents and accidents in the workplace and at home. Along with substances such as paracetamol, benzodiazepines and opioids, alcohol is among the most frequently detected substances in forensic toxicology [5, 6]. Consequently, a reliable assessment of the state of sobriety is extremely important for the forensic process.

In medico-legal practice there are cases of extreme exsanguination, usually affecting victims of traffic accidents, but also suicides [7]. In such situations vitreous humour (VH) can be a very useful material for toxicological analysis [8].

The first studies on the use of VH as an alternative material in post-mortem diagnostics were initiated by Naumann in the 1940s/50s [9]. Vitreous humour has been successfully used in medico-legal proceedings for several decades now, and VH is becoming an increasingly valuable material in toxicological analysis [8]. This is due to the anatomical location of VH between the lens and the retina, ensuring good isolation from the external environment, and the high level of hydration (exceeding 98%) which is very desirable in toxicological tests. In addition to water, VH contains a network of collagen fibres and glycosaminoglycan hyaluronate [10] giving it a gel-like consistency. Other components include sugars, urea, creatinine, electrolytes and a small number of suspended cells [11, 12]. Vitreous humour offers the possibility to detect a range of electrolytes, mainly

przede wszystkim: sód, potas, chlorek, wapń i magnez [13–18].

Analiza VH daje wiarygodne informacje nie tylko na temat chwilowego stężenia alkoholu we krwi. Oznaczenie stężenia ubogowęglowodanowej transferyny w szklistce może również wskazać na wielotygodniowe nadużywanie alkoholu bez względu na wynik pośmiertnego badania stężenia alkoholu we krwi oraz w moczu. Negatywne wyniki obu testów wraz z podwyższonym stężeniem ubogowęglowodanowej transferyny mogą sugerować śmierć na skutek powikłań po odstawieniu alkoholu [19, 20].

W ostatnich latach wysoką przydatność VH w pośmiertnych badaniach biochemicznych potwierdzili Graphher i wsp., którzy po zastosowaniu angiografii metodą tomografii komputerowej (angio-CT) wykazali brak wpływu środków kontrastujących na rozkład czy zmianę ilościową substancji chemicznych, takich jak: sód, chlor, glukoza, kreatynina, mocznik [21]. Z perspektywy diagnostycznej fakt ten wydaje się bardzo obiecujący.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły próbki krwi i VH pochodzące od 62 osób zmarłych w latach 2012–2016 śmiercią nagłą i gwałtowną; sądowo-lekarskie sekcje zwłok tych osób przeprowadzono w Zakładzie Medycyny Sądowej w Białymstoku. Do oceny statystycznej przyjęto każdy wynik oznaczenia poziomu alkoholu $\geq 0,1\%$. Wiek zmarłych mieścił się w przedziale od 18 do 74 lat. Zwłoki nie były objęte widocznymi przemianami pośmiertnymi, w tym gniciem. Ponadto z badania wykluczono materiał pochodzący od chorych na cukrzycę, osób z istotnymi procesami zapalnymi w okresie poprzedzającym zgon, a także zmarłych w związku z krwotokiem (wstrząsem krwotocznym). Dodatkowo w celach badawczych przeanalizowano okoliczności ujawnienia zwłok.

Krew w czasie sekcji została pobrana z żyły udowej, a VH przez bezpośrednie nakłucie gałki ocznej. Oznaczenia stężenia alkoholu etylowego dokonano dwukrotnie, używając w tym celu metody kapilarnej chromatografii gazowej z wykorzystaniem techniki analizy fazy nadpowierzchniowej (*head space analysis*). Oznaczenia wykonano za pomocą chromatografu gazowego Trace GC ultra f. Thermo z autosamplerem TRI PLUS – modelu dwukanałowego wyposażonego w dwie kolumny kapilarne różniące

sodium, potassium, chloride, calcium and magnesium [13–18].

VH analysis provides information not only about instantaneous blood concentration of alcohol. Determining the concentration of carbohydrate-deficient transferrin in vitreous body can be indicative of alcohol abuse lasting for many weeks regardless of the findings of post-mortem evaluation of alcohol concentration in blood and urine. Negative results of both tests – together with an elevated concentration of carbohydrate-deficient transferrin – may indicate death due to complications of alcohol withdrawal [19, 20].

In recent years, high suitability of VH in post-mortem biochemical tests has been confirmed by Graphher *et al.* Based on post-mortem computed tomography angiography (CTA), the authors showed that contrast agents had no effect on the decomposition or quantitative changes of chemical substances including sodium, chlorine, glucose, creatinine and urea [21], which also opens promising diagnostic perspectives.

Material and methods

The study material consisted of blood and VH samples collected from 62 individuals who died a sudden and violent death in the period 2012–2016, and whose post-mortem examinations were carried out at the Department of Forensic Medicine, Medical University of Białystok. Every result of alcohol level determination $\geq 0.1\%$ was included in statistical analysis. The age of the deceased ranged from 18 to 74 years. The corpses had no visible signs of post-mortem processes such as putrefaction. Material collected from diabetic patients, persons with severe inflammatory processes in the period preceding death, and individuals who died of haemorrhage (haemorrhagic shock) were excluded from the study. In addition, the circumstances of body discovery were analyzed for research purposes.

Blood samples were taken during post-mortem examinations from the femoral vein, and VH samples were obtained by direct puncture of the eye. The concentration of ethyl alcohol was determined twice by capillary gas chromatography using the technique of headspace analysis. The assays were carried out using dual-channel Trace GC Ultra gas chromatographer from Thermo with TRI PLUS autosampler, equipped with two capillary columns of

się polarnością (Zebron BAC1 i Zebron BAC2 f. Phenomenex) [22–26].

Materiał podzielono na grupy w zależności od płci, przyczyny i okoliczności zgonu, czasu, jaki upłynął od chwili śmierci do pobrania próbek do badań, a także wieku. Ze względu na bardzo duży przedział wiekowy do obliczeń statystycznych przyjęto jedynie dwie grupy: poniżej 50. roku życia oraz powyżej 50. roku życia.

Dane zostały poddane analizie statystycznej. W obliczeniach przyjęto granicę poziomu istotności $p = 0,05$. Normalność rozkładu sprawdzono testem Shapiro-Wilka. Korelację oceniono testem Spearmana. Do porównania grup niezależnych przy braku normalności rozkładu użyto testu *U* Manna-Whitneya.

Wyniki

Stężenie alkoholu etylowego we krwi w badanym materiale mieściło się w zakresie 0,1–4,6‰, zaś w VH jego wartości oscyływały w granicach 0,1–4,5‰. Mediana różnic między stężeniem alkoholu w VH i krwi wynosiła 0,2‰. W 74% przypadków poziom alkoholu etylowego był wyższy w VH, bez względu na wiek, płeć i czas, jaki upłynął pomiędzy pobraniem materiału do badań a wykonaniem analizy toksykologicznej (ryc. 1–3).

Wykazano istotną statystycznie korelację ($r = 0,96$) pomiędzy poziomem alkoholu w badanych materiałach. Średni stosunek stężenia etano-

different polarity (Zebron BAC1 and Zebron BAC2 from Phenomenex) [22–26].

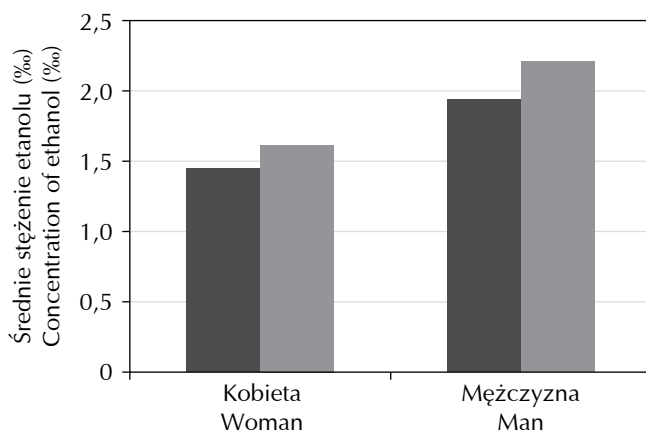
The material was divided into groups depending on sex, cause and circumstances of death, time elapsed from death to the time of collecting samples for examinations, and age. In view of a very large age span only two groups (under the age of 50 and over the age of 50) were selected for statistical calculations.

The data were subjected to statistical analysis. The significance threshold in the calculations was set at $p = 0.05$. The normality of distribution was verified with the Shapiro-Wilk test. Correlation was assessed using Spearman's test. Where no normal distribution was identified, the comparison of independent groups was performed with Mann-Whitney *U* test.

Results

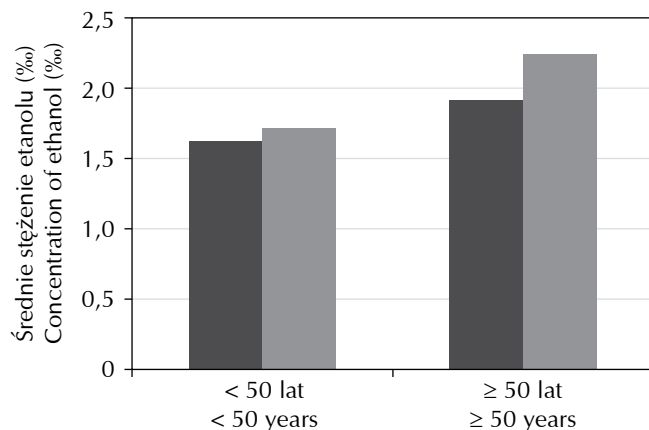
In the study material, the concentration of ethyl alcohol in blood varied in the range of 0.1 to 4.6 ‰, and in vitreous humour it ranged from 0.1 to 4.5 ‰. The median difference between the concentration of alcohol in VH and blood was 0.2 ‰. In 74% of cases the level of ethyl alcohol was higher in VH irrespective of age, sex and time elapsed between sampling the material for testing and performing the analyses (Fig. 1–3).

A statistically significant correlation ($r = 0.96$) was shown between the alcohol level in the studied materials. The mean ratio between ethanol concen-



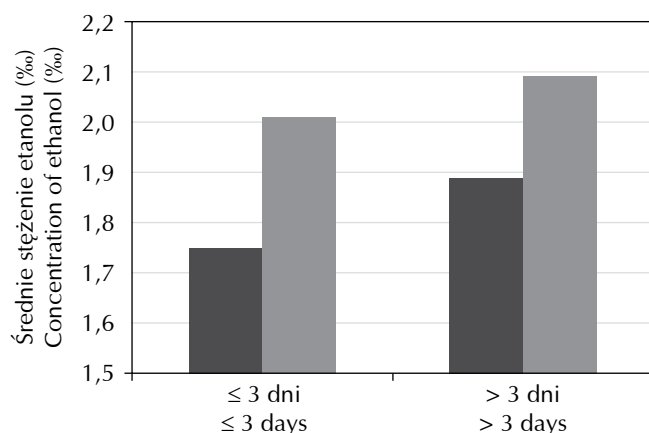
■ FVB – stężenie alkoholu we krwi / FVB – concentration of alcohol in blood
 ■ VH – stężenie alkoholu w cieple szklistym oka / VH – concentration of alcohol in vitreous humour

Ryc. 1. Stężenie alkoholu etylowego we krwi oraz w cieple szklistym oka w zależności od płci
Fig. 1. Concentration of ethyl alcohol in blood and vitreous humour depending on sex



■ FVB – stężenie alkoholu we krwi / FVB – concentration of alcohol in blood
 ■ VH – stężenie alkoholu w cieple szklistym oka / VH – concentration of alcohol in vitreous humour

Ryc. 2. Stężenie alkoholu etylowego we krwi oraz w cieple szklistym oka w zależności od wieku
Fig. 2. Concentration of ethyl alcohol in blood and vitreous humour depending on age



■ FVB – stężenie alkoholu we krwi / FVB – concentration of alcohol in blood
 ■ VH – stężenie alkoholu w cieple szklistym oka / VH – concentration of alcohol in vitreous humour

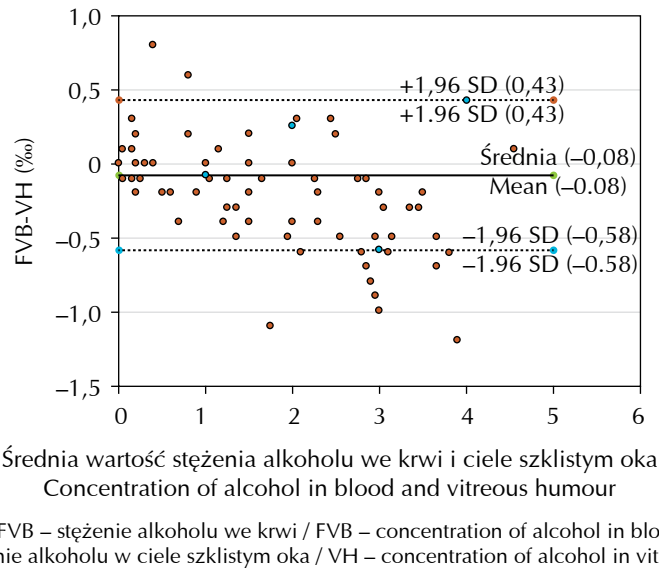
Ryc. 3. Stężenie alkoholu etylowego we krwi oraz w cieple szklistym oka w zależności od czasu między zgonem a przeprowadzeniem oznaczeń
Fig. 3. Concentration of ethyl alcohol in blood and vitreous humour depending on time elapsed from death to the time of collecting samples for examinations

lu we krwi i w VH (B : V) wynosił 0,96. Korelacja stężenia alkoholu etylowego w VH oraz we krwi w odniesieniu do wieku wykazała postępujący wraz z wiekiem wzrost różnicy pomiędzy stężeniem etanolu w VH i we krwi ($r = 0,32, p = 0,023$) (ryc. 4).

Przeprowadzona analiza wykazała także, że okres od zgonu do pobrania próbek krwi i VH w celu oznaczenia alkoholu etylowego nie miał istotnego wpływu na różnicę pomiędzy stężeniami etanolu w obu materiałach ($r = -0,02, p = 0,87$). Z badań wynika też, że płeć zmarłej osoby nie miała znaczenia dla różnicy stężenia etanolu we krwi

tration in blood and VH (B : V) was 0.96. The correlation between the concentration of ethanol in VH and in blood in relation to age showed an increase in ethanol concentration in VH and in blood along with increasing age ($r = 0.32, p = 0.023$) (Fig. 4).

The analysis also demonstrated that the period from death to taking blood and VH samples for determining ethyl alcohol had no significant influence on the difference between ethanol concentrations in both materials ($r = -0.02, p = 0.87$). Also, the sex of the deceased person was not found to have an effect on the difference in the concentra-



Ryc. 4. Wykres Bland-Altman obrazujący różnice pomiędzy stężeniami alkoholu we krwi pobranej z żyły udowej (FVB) oraz ciała szklistego oka (VH), a także średnie stężenie alkoholu we krwi i w cieleszklistym

Fig. 4 Bland and Altman plot showing differences between ethanol concentration in femoral venous blood and vitreous humour (VH), and concentration of ethyl alcohol in blood and vitreous humour

oraz w VH. Współczynnik korelacji pomiędzy stężeniami w grupach kobiet i mężczyzn był zbliżony i w obu wynosił $r = 0,96$. Ponadto iloraz B : V nie różnił się w sposób istotny statystycznie między grupami mężczyzn i kobiet. Wykazano natomiast istotne statystycznie różnice między stosunkiem B : V w analizowanych grupach wiekowych: grupie I ($p = 0,037$) i grupie II ($p = 0,009$). Korelacja stężenia alkoholu etylowego w VH oraz we krwi w grupie II była bardzo silna (tab. 1).

Współczynnik korelacji utrzymywał się na bardzo wysokim poziomie niezależnie od przyczyny zgonu. Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy stosunkiem B : V oraz różnic stężenia alkoholu we krwi i VH w zależności od warunków ujawnienia zwłok.

Dyskusja

Pomiar stężenia alkoholu we krwi jest rutynowym działaniem podczas medyczno-sądowych sekcji zwłok. Wynika to z konieczności określenia stanu trzeźwości zmarłego, co jest szczególnie istotne podczas procesu sądowego, a także w postępowaniu odszkodowawczym. Ze względu na tak duże znaczenie ewentualnej alkoholemii wskazane jest użycie

tion of ethanol in blood and in VH. The correlation coefficient between concentrations in the group of women and men was similar ($r = 0,96$ in both groups). In addition, the B : V ratio did not differ between groups of men and women in a statistically significant manner. However, there were statistically significant differences in the B : V ratio between the analyzed age groups: group I ($p = 0.037$) and group II ($p = 0.009$). The correlation between ethanol concentration in VH and blood in group II was very strong (Table 1).

The correlation coefficient was consistently at a very high level irrespective of the cause of death. There were no significant differences in the B : V ratio or differences in the alcohol concentration in blood and VH depending on the conditions of corpse discovery.

Discussion

The measurement of blood alcohol concentration is a routine procedure during medico-legal autopsies. It is done in order to determine the state of sobriety of the deceased, which is significant for the legal procedure, also in compensation proceedings. Since the possibility of alcoholism carries such a great im-

Tabela I. Analiza statystyczna stężeń alkoholu w ciele szklistym i krwi w zależności od płci, wieku i czasu między śmiercią a pobraniem próbki

Table I. Statistical analysis of alcohol concentrations in vitreous humour and blood depending on sex, age and time between death and sample collection

	Płeć Sex		Wiek Age		Czas między śmiercią a pobraniem próbki Time between death and sample collection	
	Kobiety Women (n = 12)	Mężczyźni Men (n = 50)	< 50 lat < 50 years (n = 28)	≥ 50 lat ≥ 50 years (n = 34)	≤ 3 dni ≤ 3 days (n = 35)	> 3 dni > 3 days (n = 27)
Korelacja Spearmana (stężenie alkoholu w ciele szklistym i krwi) Spearman's correlation (concentration of alcohol in vitreous humour and blood)	$r = 0,96$ ($p < 0,001$) $r = 0,96$ ($p < 0,001$)	$r = 0,96$ ($p < 0,001$) $r = 0,96$ ($p < 0,001$)	$r = 0,95$ ($p < 0,001$) $r = 0,95$ ($p < 0,001$)	$r = 0,97$ ($p < 0,001$) $r = 0,97$ ($p < 0,001$)	$r = 0,97$ ($p < 0,001$) $r = 0,97$ ($p < 0,001$)	$r = 0,95$ ($p < 0,001$) $r = 0,95$ ($p < 0,001$)
Mediana różnic stężenia alkoholu w ciele szklistym i krwi (‰) ¹ Median difference between the concentration of alcohol in vitreous humour and blood (‰) ¹	0,1 0.1	0,25 0.25	0,1 0.1	0,3 0.3	0,2 0.2	0,2 0.2
	$p = 0,29$ $p = 0.29$		$p = 0,009$ $p = 0.009$		$p = 0,78$ $p = 0.78$	
Mediana stosunku B : V ² Median B : V ratio ²	0,90 0.90	0,87 0.87	0,95 0.95	0,85 0.85	0,91 0.91	0,085 0.085
	$p = 0,61$ $p = 0.61$		$p = 0,037$ $p = 0.037$		$p = 0,63$ $p = 0.63$	

¹Test U Manna-Whitneya dla różnic stężeń alkoholu w ciele szklistym i krwi względem zmiennej płci, wieku oraz czasu

²Test U Manna-Whitneya dla stosunku B : V względem zmiennej płci, wieku oraz czasu

¹Mann-Whitney U test for differences in the concentration of alcohol in vitreous humour and blood in relation to variables including sex, age and time

²Mann-Whitney U test for B : V ratio in relation to variables including sex, age and time

dotatkowego materiału w analizie toksykologicznej, którym może być VH.

Problem ten dostrzegli w ostatnim czasie Markowska i wsp., wskazując na konieczność rutynowego zabezpieczania VH do badań toksykologicznych, zwłaszcza w sytuacjach rozkładu gnilnego zwłok, silnie zdegradowanych próbek krwi i odwodnienia [27]. W ocenie autorów do ww. okoliczności należałoby także dodać sytuacje, w których pobranie krwi jest niemożliwe, np. z powodu skrajnego wykrwawienia ofiary. Równocześnie badanie VH i krwi powinno minimalizować ryzyko uzyskania nieprawidłowych wyników [28]. W przypadku ba-

portance, it is advisable to use an additional material, for example VH, in toxicological analyses.

The problem has recently been recognized by Markowska *et al.*, drawing attention to the need to routinely collect VH for toxicological tests, especially in cases involving putrefied corpses, highly degraded blood samples and dehydration [27]. In the authors' opinion, in addition to the above circumstances, routine VH sampling should also be performed in cases where blood collection is impossible, for example because of extreme exsanguination. Concurrent examination of VH and blood is expected to minimize the risk of incorrect results [28]. In blood sample tests the

dań próbek krwi ostateczne oznaczenie poziomu alkoholu nie zawsze musi odpowiadać jego stężeniu w chwili śmierci. Na końcowy wynik wpływ mają m.in.: warunki środowiska, w jakim ciało znajdowało się po śmierci, a także czas od chwili śmierci do przeprowadzenia sekcji zwłok. Należy również pamiętać, że na poziom stężenia alkoholu wpływa też uwodnienie krwi, które u osób żywych wynosi ok. 80%. W zwłokach w stanie gnicia bądź częściowo zwęglonych poziom uwodnienia może być niższy nawet o 20%, co przy wysokich stężeniach etanolu może zafałszować wynik nawet o 1 % [29–32]. Znaczenie wpływu środowiska zewnętrznego na wyniki pośmiertnych badań toksykologicznych wykazała Singer i wsp., analizując dwa przypadki utonięć, w których ciała znajdowały się w wodzie przez długi czas (2 i 4 tygodnie). Badacze stwierdzili, że zjawisko dyfuzji alkoholu z VH z otaczającą wodą całkowicie uniemożliwiło określenie poziomu alkoholu w chwili śmierci [33].

Pomijając sytuacje dość rzadkie oraz doniesienia kazuistyczne, liczni autorzy podkreślają dużą przydatność VH w ocenie właściwego stanu alkoholemii. Porównując stężenia różnych substancji we krwi oraz w VH, Kintz i wsp. wykazali, że korelacja w przypadku etanolu jest bardzo wysoka ($r = 0,99$). Podobną zależność uzyskaliśmy w naszym badaniu ($r = 0,96$). W obu analizach stężenie alkoholu w VH było wyższe niż stężenie we krwi. Wartość współczynnika B : V w badaniu Kintza i wsp. wyniosła 0,86 [34–36]. Z kolei Papierz i wsp., badając współczynnik korelacji pomiędzy stężeniem etanolu w VH w czasie wchłaniania oraz jego stężeniem podczas eliminacji alkoholu, stwierdzili również wysoką zależność jak w naszym badaniu. W czasie wchłaniania uzyskana przez nich wartość współczynnika r wynosiła 0,91, zaś podczas eliminacji była ona wyższa i wynosiła 0,94 [37].

Sylvester i wsp. zwrócili uwagę na dużą zmienność wyników stężenia alkoholu w VH, oceniając wskaźnik B : V na 0,94, a współczynnik korelacji na 0,98 [28]. Nasze badania wykazały istotną statystycznie korelację w odniesieniu do obu badanych materiałów ($r = 0,96$). Średni stosunek stężenia etanolu we krwi i VH (B : V) wynosił 0,96.

Jones i Holgrem w badaniu obejmującym 672 autopsje porównali stężenie alkoholu w VH oraz we krwi obwodowej. W tym przypadku współczynnik korelacji był równy 0,979, zaś wartość współczynni-

final determination of the level of alcohol does not always correspond to its concentration at the time of death. The final result of blood ethanol test depends on a number of factors including environmental conditions affecting the body after death and the time elapsed between death and post-mortem examination. It should also be noted that alcohol concentration is influenced by the level of blood hydration, which is equal to about 80% in living individuals. In putrefied or partially charred corpses hydration may be lower by up to 20%, which, at high ethanol concentrations, may falsify the result by up to 1 % [29–32]. The importance of the external environment as a factor affecting the results of post-mortem toxicological tests has been demonstrated by Singer *et al.* in their analysis of two cases of drowning with the bodies being in water for a prolonged time (2 and 4 weeks, respectively). The researchers found that the diffusion of alcohol from VH into the surrounding water prevented the determination of the level of alcohol at the time of death [33].

Leaving aside relatively rare and casuistic cases, many authors have highlighted that VH is a highly suitable material for the reliable assessment of the state of alcoholaemia. Kintz *et al.*, comparing the concentrations of various substances in blood and VH, have shown that the correlation for ethanol is very high ($r = 0.99$). A similar relationship was observed in our study ($r = 0.96$). In both analyzed studies, the alcohol concentration in VH was higher than in blood. The value of the B : V ratio in the study by Kintz *et al.* was 0.86 [34–36]. A high correlation, similar to that identified in our study, has also been found by Papierz *et al.*, evaluating the correlation coefficient between ethanol concentration in VH during the periods of absorption and elimination of alcohol. During the absorption period, the coefficient was equal to $r = 0.91$, and in the elimination phase the value rose to 0.94 [37].

Sylvester *et al.* have pointed to the high variability of results obtained for the concentration of alcohol in VH, with the B : V ratio equal to 0.94, and the correlation coefficient equal to 0.98 [28]. Our study shows a statistically significant correlation in both studied materials ($r = 0.96$), with the mean ratio between ethanol concentration in blood and VH (B : V) amounting to 0.96.

Jones and Holgrem have studied 672 autopsies to compare the alcohol concentration in VH and

ka V : B wynosiła 1,19 : 1 [7]. Z kolei Gelbke i wsp. w badaniu obejmującym 592 autopsje określili współczynnik korelacji na poziomie 0,936, a także zasugerowali, że stężenie alkoholu we krwi można oszacować na podstawie stężenia alkoholu w VH przy użyciu wzoru $BAC = 0,81 \times VH$ [38]. Pounder i wsp. przeprowadzili dalsze badanie ukazujące wysoką korelację między stężeniem alkoholu w VH oraz we krwi obwodowej. Stwierdzili jednak brak prostego wzoru, który pozwalałby na oszacowanie stężenia alkoholu we krwi na podstawie stężenia alkoholu w VH [39].

Wnioski

Stwierdzono wysoki współczynnik korelacji pomiędzy stężeniem alkoholu we krwi i w VH.

Porównanie korelacji stężeń alkoholu i stosunków B : V w badanych materiałach wskazuje na dużą przydatność VH do badań toksykologicznych, niezależnie od płci, wieku i czasu, jaki upłynął od zgonu do wykonania sekcji zwłok, a także przyczyny zgonu oraz okoliczności ujawnienia zwłok.

Ciało szkliste stanowi bardzo dobry materiał do oceny stopnia alkoholismu u zmarłych i powinno być rutynowo badane w toksykologii sądowej, przede wszystkim w sytuacjach, gdy pobranie krwi jest niemożliwe.

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

peripheral blood. In this case the correlation coefficient was 0.979, and the value of the V : B ratio was 1.19 : 1 [7]. Gelbke *et al.*, in a study of 592 autopsies, have determined the correlation coefficient to be 0.936, and suggested that the blood alcohol concentration can be estimated based on the alcohol concentration in VH using the formula $BAC = 0.81 \times VH$ [38]. Also, Pounder *et al.* have conducted a further study showing a high correlation between the alcohol concentration in VH and peripheral blood. However, they concluded that there was no simple formula to estimate the concentration of alcohol in blood based on the alcohol concentration in VH [39].

Conclusions

A high correlation coefficient was found between the concentration of alcohol in blood and VH.

A comparison of the correlation of alcohol concentrations and B : V ratios in the studied materials shows that VH is very useful for toxicological tests regardless of sex, age and time from death to post-mortem examination, cause of death and circumstances of corpse discovery.

Vitreous humour is a very good material for assessing the degree of alcoholism in the deceased and should be routinely used in forensic toxicology, especially when collecting blood samples is not possible.

The authors declare no conflict of interest.

Piśmiennictwo

References

1. Policja. Statystyka. Wypadki drogowe – raporty roczne. Statystyka policja. <http://statystyka.policja.pl/st/ruch-drogowy/76562,Wypadki-drogowe-raporty-roczne.html>.
2. Policja. Statystyka. Nietrzeźwi sprawcy przestępstw. Statystyka policja. <http://statystyka.policja.pl/st/wybrane-statystyki/nietrzezwi-sprawcy-prz/50862,Nietrzezwi-sprawcy-przestepstw.html>.
3. Policja. Statystyka. Zamachy samobójcze. Statystyka policja. <http://statystyka.policja.pl/st/wybrane-statystyki/zamachy-samobojcze>
4. Policja. Statystyka. Statystyka utonięć. Statystyka policja. <http://statystyka.policja.pl/st/wybrane-statystyki/utonięcia>
5. Kugelberg FC, Jones AW. Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature. *Forensic Science International* 2007; 165: 10-29.
6. Girasek DC, Gielen AC, Smith GS. Alcohol's contribution to fatal injuries: a report on public perceptions. *Ann Emerg Med* 2002; 39: 622-630.
7. Jones AW, Holmgren P. Uncertainty in estimating blood ethanol concentrations by analysis of vitreous humour. *J Clin Pathol* 2001; 54: 699-702.

8. Baniak N, Campos-Baniak G, Mulla A, Kalra J. Vitreous Humor: A Short Review on Post-mortem Applications. *J Clin Exp Pathol.* 2015; 5: 199.
9. Naumann HN. Postmortem chemistry of the vitreous body in man. *Arch Ophthalmol* 1959; 62: 356-363.
10. Stitt AW, Moore JE, Sharkey JA, et al. Advanced glycation end products in vitreous: Structural and functional implications for diabetic vitreopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998; 39: 2517-2523.
11. Zilg B, Alkass K, Berg S, et al. Postmortem identification of hyperglycemia. *Forensic Sci Int.* 2009; 185: 89-95.
12. Gagajewski A, Murakami MM, Kloss J, et al. Measurement of chemical analytes in vitreous humor: stability and precision studies. *J Forensic Sci* 2004; 49: 371-374.
13. Coe JI. Hypothermia: autopsy findings and vitreous glucose. *J Forensic Sci* 1984; 29: 389-395.
14. Osuna E, Vivero G, Conejero J, et al. Postmortem vitreous humor beta-hydroxybutyrate: its utility for the postmortem interpretation of diabetes mellitus. *Forensic Sci Int* 2005; 153: 189-195.
15. Balasooriya BA, St Hill CA, Williams AR. The biochemistry of vitreous humor. A comparative study of the potassium, sodium and urate concentrations in the eyes at identical time intervals after death. *Forensic Sci Int* 1984; 26: 85-91.
16. Coe JI. Postmortem chemistries on human vitreous humor. *Am J Clin Pathol* 1969; 51: 741-750.
17. Farmer JG, Benomran F, Watson AA, Harland WA. Magnesium, potassium, sodium and calcium in post-mortem vitreous humor from humans. *Forensic Sci Int* 1985; 27: 1-13.
18. Madea B. Is there recent progress in the estimation of the postmortem interval by means of thanatochemistry? *Forensic Sci Int* 2005; 151: 139-149.
19. Osuna E, Pérez-Cárceles MD, Moreno M, et al. Vitreous humour carbohydrate-deficient transferrin concentrations in the post-mortem diagnosis of alcoholism. *Forensic Sci Int* 2000; 108: 205-213A.
20. Berkowicz S, Wallerstedt K, Wall H. Denison Carbohydrate-deficient transferrin in vitreous humour: a marker of possible withdrawal-related death in alcoholics. *Alcohol Alcohol* 2001; 36: 231-234.
21. Grabherr S, Palmiere C, Widmer C et al. Postmortem biochemistry performed on vitreous humor after postmortem CT-angiography. *Legal Medicine* 2012; 14: 297-303.
22. Zasady przeprowadzania pomiarów stężenia alkoholu oraz opiniowania w sprawach trzeźwości. Zalecenia opracowane przez Instytut Ekspertyz Sądowych zatwierdzone przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Medycyny Sądowej i Kryminologii w dniu 26 listopada 2004 r. *Prokuratura i Prawo* 2005; 4: 117-124.
23. Ostaszewska I. Oznaczanie zawartości alkoholu etylowego w płynach ustrojowych człowieka metodą chromatografii gazowej head-space-walidacja metody. *Problemy kryminalistyki* 2009; 265: 33-44.
24. <https://www.phenomenex.com/Application/Detail/17898?returnURL=/Application/Search>
25. <https://www.phenomenex.com/Application/Detail/17897?returnURL=/Application/Search>
26. <https://az621941.vo.msecnd.net/documents/66f5bc58-c01f-45a8-9544-1584351dbf9f.pdf>
27. Markowska J, Szopa M, Zawadzki M, Piekoszewski W. Ciało szkliste oka – rutynowy czy alternatywny materiał do badań w medycynie sądowej. *Arch Med Sadowej Kryminol* 2017; 67: 201-213.
28. Sylvester PA, Wong NACS, Warren BF et al. Unacceptably high site variability in postmortem blood alcohol analysis. *F Clin Pathol* 1998; 51: 250-252.
29. Audrlicky I. Die Abhängigkeit des Alkoholspiegels im Leichenblut von verschiedenen Wassergehalt im untersuchten Material. *Blutalkohol* 1965; 3: 169-175.
30. Brettel HF. Erfahrungen mit Wassergehaltbestimmungen bei Leichenblut. *Blutalkohol* 1969; 439-449.
31. Trela FM, Marek Z, Halama A, et al. Poziom alkoholu we krwi i przychłonce pobranych ze zwłok. *Arch Med Sąd i Krym* 1974; 1: 65-69.
32. Trela FM. Untersuchungen zur Äthanolverteilung in den Körperflüssigkeiten des Menschen unter Rechtsmedizinischen Aspekten. *Blutalkohol.* 1989; 26: 305-318.
33. Singer PP, Jones GR, Lewis R, et al. Loss of ethanol from vitreous humor in drowning death. *J Anal Toxicol* 2007; 31(8): 522-525.
34. Kintz P, Tracqui A, Mangin P. Toxicological investigations on unusual materials (hair and vitreous humor): interest and limitations. *Arch Toxicol Suppl* 1992; 15: 282-285.
35. Caplan YH, Levine B. Vitreous humor in the evaluation of postmortem blood ethanol concentrations. *Anal Toxicol.* 1990; 14: 305-307.
36. Yip D, Shum B. A study on the correlation of blood and vitreous humor alcohol levels in the late absorption and elimination phases. *Med Sci Law.* 1990; 30: 29-33.
37. Papierz P, Berent J, Markuszewski L, Szram S. A comparative study of the ethyl alcohol concentration in vitreous humor in relation to ethyl alcohol concentration in blood and urine. *Problems of Forensic Sciences* 2004; 58: 34-44.
38. Gelbke HP, Lesch P, Spiegelhalder B, et al. Postmortal alkoholkonzentrationen I. Die Alkoholkonzentrationen im Blut und in der Glaskörperflüssigkeit. *Blutalkohol* 1978; 15: 1-10.
39. Pounder DJ, Kuroda N. Vitreous alcohol is of limited value in predicting blood alcohol. *Forensic Sci Int* 1994; 65: 73-80.

Michał Szeremeta, Ewelina Mironiuk, Maciej Janica, Petra Drobuliakova, Karolina Lomperta, Magdalena Szczypek,
Anna Niemcunowicz-Janica
Wykorzystanie ciała szklistego oka jako alternatywnego materiału do oznaczania stężenia alkoholu w zwłokach ludzkich

Adres do korespondencji

Michał Szeremeta
Zakład Medycyny Sądowej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Waszyngtona 13
15-230 Białystok, Polska
e-mail: michalszeremeta@gmail.com

Nadesłano: 22.03.2018

Zaakceptowano: 19.05.2018

Address for correspondence

Michał Szeremeta
Department of Forensic Medicine
Medical University of Białystok
13 Waszyngtona St.
15-230 Białystok, Poland
e-mail: michalszeremeta@gmail.com

Submitted: 22.03.2018

Accepted: 19.05.2018

