

A COMPARATIVE STUDY OF THE ETHYL ALCOHOL CONCENTRATION IN VITREOUS HUMOR IN RELATION TO ETHYL ALCOHOL CONCENTRATION IN BLOOD AND URINE

Paweł PAPIERZ, Jarosław BERENT, Leszek MARKUSZEWSKI, Stefan SZRAM
Chair and Department of Forensic Medicine, Medical University, Łódź

ABSTRACT: This paper presents the results of a comparative study of ethyl alcohol concentration in *post-mortem* vitreous humour, blood, and urine specimens collected from 500 deceased persons. Statistical analysis indicates a high correlation between alcohol levels in the examined body fluids. This shows that vitreous humour alcohol concentration can also be useful in forensic investigations related to alcohol intoxication and the cause of death.

KEY WORDS: Ethyl alcohol; Blood; Urine; Vitreous humour.

Problems of Forensic Sciences, vol. LVIII, 2004, 34–44
Received 21 June 2004; accepted 16 November 2004

INTRODUCTION

In forensic medical practice, determination of ethyl alcohol concentration in the human organism is carried out not only on blood but also on other body fluids. Urine and vitreous humour specimens are the most frequently analysed. When testing urine it is necessary to take into account that the quantity of alcohol in the bladder, both at the moment of ethanol drinking and afterwards, may undergo physiological changes. Urine retention in the bladder or frequent emptying leads to changes in alcohol concentration levels in the urine.

Vitreous humour is another body fluid which, apart from blood and urine, is of major importance in forensic investigations. Vitreous humour, unlike blood, is not formed from cells and is to some extent isolated from the organism, hence its lower susceptibility to biochemical changes and contamination [3, 9]. It also has the advantage of having a constant volume, not subject to serious fluctuations. Furthermore, if blood ethanol concentration analysis is not possible, alcohol level determination in vitreous humour can be an alternative method of gaining reliable data [13]. Published articles indicate the possibility of using intraocular fluid for evaluation of the state of intoxication (sobriety). [4, 7, 10, 13, 14].

In this situation, it seemed appropriate to carry out a comparative study on the level of ethyl alcohol in vitreous humour in relation to blood and urine. In contrast to similar studies [1, 2, 8, 12], the investigation described here was carried out on a very large quantity of material obtained from 500 autopsies performed at the Department of Forensic Medicine of the Medical University in Łódź.

The results of this study, aiming to provide information on ethanol levels in vitreous humour in comparison to ethanol levels in blood and urine have been presented in this paper.

MATERIALS AND METHODS

The examined material consisted of blood, urine, and vitreous humour specimens collected during forensic medical autopsies performed in the Department of Forensic Medicine of the Medical University in Łódź in 2000–2003. The material was collected from deceased persons in whom the blood alcohol concentration measured earlier was at least 0.1‰.

Blood specimens were taken directly from the femoral vein, urine from the bladder by cutting or inserting a needle, whereas vitreous humour was collected by eyeball puncture with a thin needle. Analysis was carried out within 72 hours of death. After collection, specimens of the three biological fluids were stored in tightly closed plastic containers at a temperature of +4°C. Alcohol in samples was determined by gas chromatography with use of Trace GC 2000 apparatus, and in blood and urine samples was further confirmed by the ADH method. During the first stage of the study, material obtained from 500 autopsies was analysed. Regression equations and correlation coefficients for vitreous humour/blood and vitreous humour/urine sets were calculated from the obtained results.

In the second stage of the study, a division into subgroups was introduced. The first subgroup of 55 cases was composed of people who had died during the alcohol absorption phase, whereas the second subgroup of 435 cases encompassed persons who had died during the alcohol elimination phase. The alcohol action phase was defined on the basis of the assumption that in the resorption phase, body fluids alcohol concentration is lower than blood alcohol concentration, whereas in the elimination phase, this relationship is reversed [7, 11]. For this reason, 10 cases were rejected, where alcohol concentrations in blood and urine were identical. For each subgroup, a statistical analysis of the correlation between alcohol levels in the vitreous humour/blood set and the vitreous humour/urine set was made. The degree of blood hydration was not taken into consideration in the study.

RESULTS AND DISCUSSION

The obtained results of the examination of material obtained from 500 forensic necropsies were assessed in two sets. The first set was vitreous humour/blood, and the second – vitreous humour/urine. In order to establish the relationship between alcohol concentrations in the examined fluids, statistical analysis was performed, and a correlation coefficient and regression equation were calculated.

Figures 1 and 2 show the correlation between the ethanol concentrations in the vitreous humour/blood set and the vitreous humour/urine set respectively.

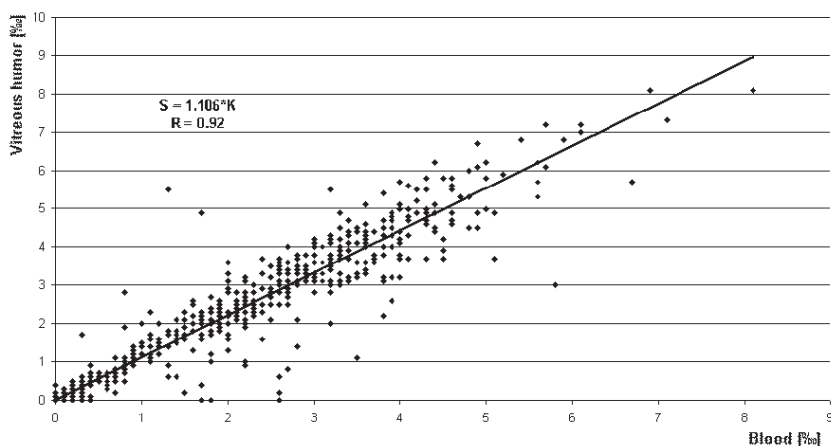


Fig. 1. Concentration of ethanol in vitreous humor (S) *versus* ethanol concentration in blood (K).

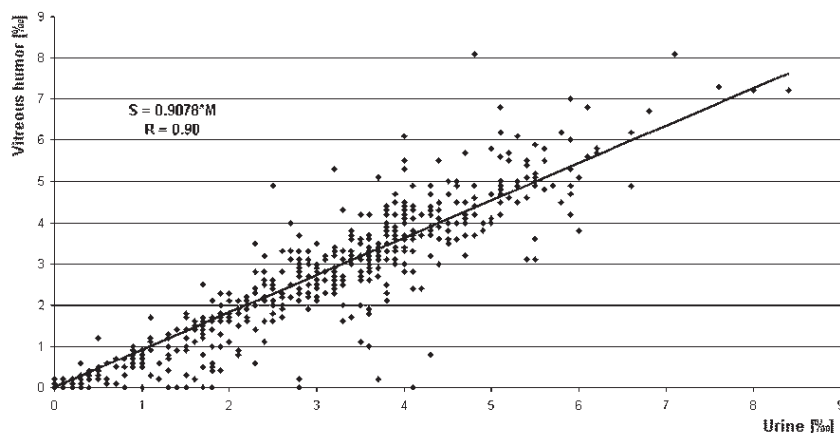


Fig. 2. Concentration of ethanol in vitreous humor (S) *versus* ethanol concentration in urine (M).

It was ascertained that regression equations are: $S = 1.106 \times K$ ($R = 0.92$) for the vitreous humour/blood set and $S = 0.9078 \times M$ ($R = 0.90$) for the vitreous humour/urine set, where S – vitreous humour alcohol concentration, K – blood alcohol concentration, and M – urine alcohol concentration. The correlation coefficient for the vitreous humour/blood set was 0.92, compared with 0.90 for the vitreous humour/urine set.

The alcohol concentrations in both sets were highly correlated. However, the broad scattering of the results lowered the accuracy of estimation of blood alcohol concentration because of the possibility of significant error occurrence. As was mentioned earlier, for the purpose of limiting this error, the examined material was divided into two subgroups, depending on the phase of alcohol action. To establish the relationship between alcohol concentrations in the examined fluids, statistical analysis was once more performed, and the correlation coefficient and regression equation were calculated for each subgroup separately.

The results of statistical calculations and correlation between alcohol concentrations in the subgroup of 55 cases connected with the absorption phase are presented here. Figures 3 and 4 show the correlation between ethanol concentrations in the vitreous humour/blood set and the vitreous humour/urine set respectively.

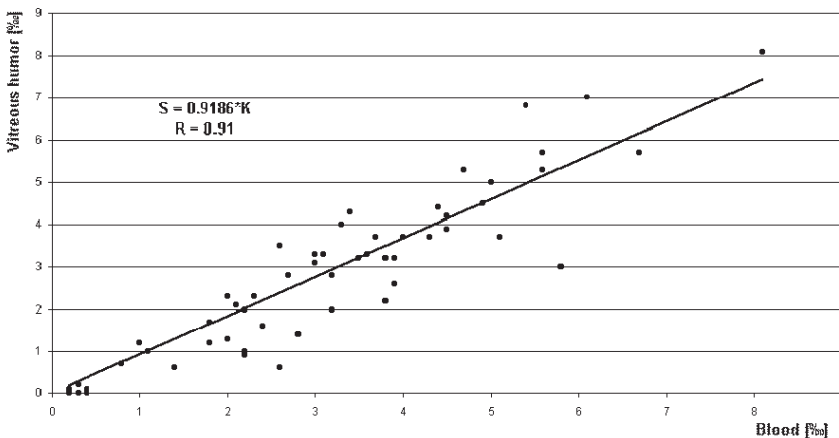


Fig. 3. Concentration of ethanol in vitreous humour (S) versus ethanol concentration in blood (K).

It was found that the regression equations are: $S = 0.9186 \times K$ ($R = 0.91$) for the vitreous humour/blood set and $S = 1.0984 \times M$ ($R = 0.91$) for the vitreous humour/urine set; where S – vitreous humour alcohol concentration, K – blood alcohol concentration, and M – urine alcohol concentration.

In this subgroup, the correlation coefficient for both the vitreous humour/blood set and the vitreous humour/urine set was 0.91.

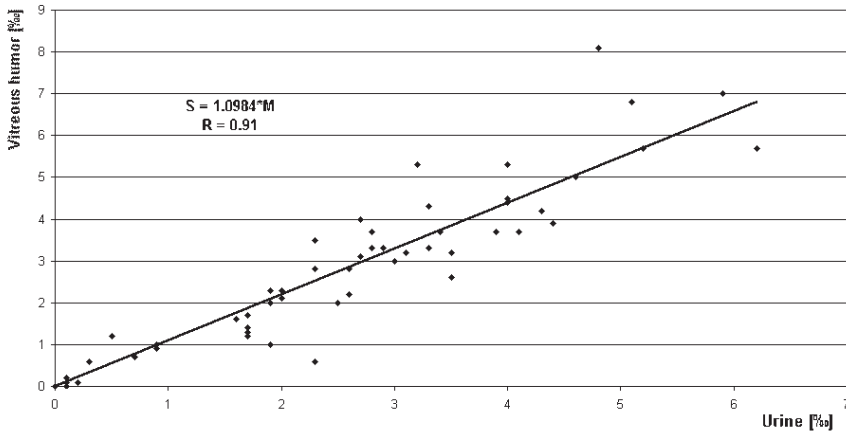


Fig. 4. Concentration of ethanol in vitreous humour (S) *versus* ethanol concentration in urine (M).

The results of statistical calculations and correlation between the alcohol concentrations in the subgroup of 435 cases where death was assumed to have occurred during the elimination phase are presented below.

Figures 5 and 6 show the correlation between the ethanol concentrations in the vitreous humour/blood set and the vitreous humour/urine set respectively.

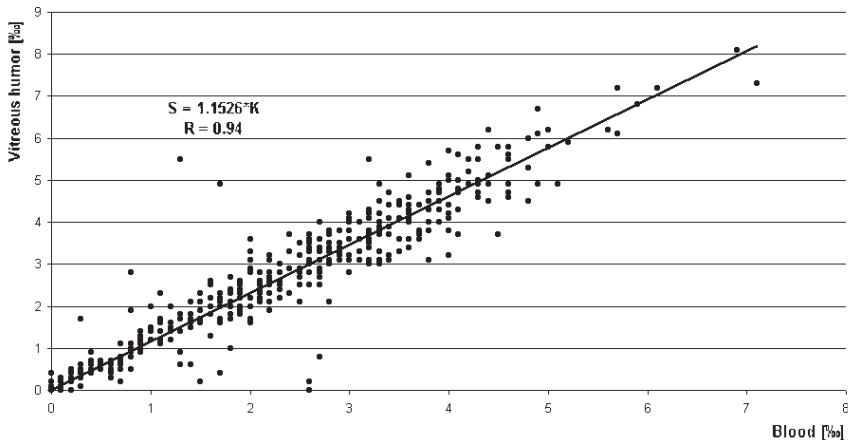


Fig. 5. Concentration of ethanol in vitreous humour (S) *versus* ethanol concentration in blood (K).

It was found that the regression equations are: $S = 1.1526 \times K$ ($R = 0.94$) for the vitreous humour/blood set and $S = 0.8916 \times M$ ($R = 0.91$) for the vitreous humour/urine set; where S – vitreous humour alcohol concentration, K – blood alcohol concentration, and M – urine alcohol concentration.

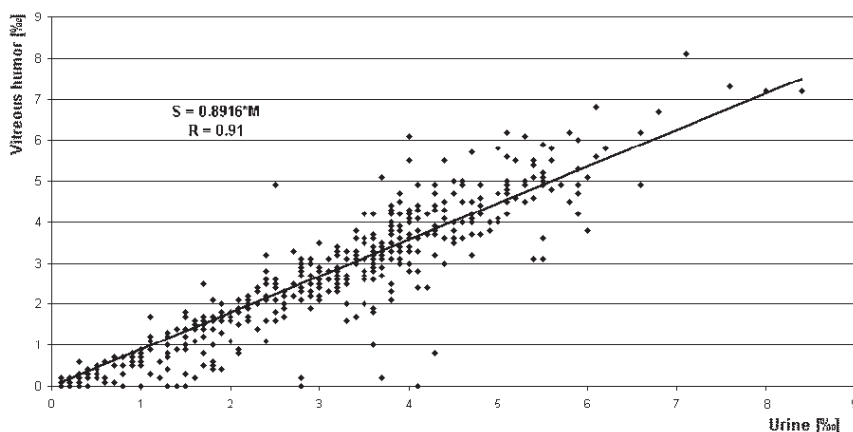


Fig. 6. Concentration of ethanol in vitreous humour (S) *versus* ethanol concentration in urine (M).

In this subgroup, the correlation coefficient for the vitreous humour/blood set was 0.94, evidently bigger than the coefficient of 0.91 for the vitreous humour/urine set.

The present study confirms the view concerning the very high degree of correlation between alcohol concentrations in blood and vitreous humour put forward by Jaklińska i Tomaszewska [7], Raszeja [10], Trela [14], and Gelbke at al [5, 6]. The mentioned authors also consider that determination of alcohol concentration in blood and in one or two body fluids is a reliable indicator defining whether death occurred in the phase of alcohol absorption or elimination [4, 7, 13]. A lack of previous studies on the correlation between body fluids and also the small number of cases (related to absorption phase) analysed by the authors of the present work does not allow binding conclusions to be drawn about the possibility of estimating blood alcohol concentrations in the absorption phase.

SUMMARY

1. A high coefficient of correlation was ascertained between alcohol concentration in vitreous humour and blood and also between alcohol concentration in vitreous humour and urine.
2. The conducted study demonstrates that there is a direct correlation between the alcohol concentrations in blood and urine.
3. The introduction of a division of the analysed material into two subgroups of alcohol absorption phase and alcohol elimination phase minimises the scatter of single cases around the regression line, im-

proves the correlation coefficient, and decreases the error of estimating blood alcohol concentration in the absorption phase.

4. Vitreous humour is of major importance in *post-mortem* alcohol determination.

References:

1. Audrlicky I., Pribilla U. O., Vergleichende Untersuchung der Alkoholkonzentration im Blut, der Synovialflüssigkeit und Harn, *Blutalkohol* 1971, Bd. 8, S. 116.
2. Coe J. I., Sherman R. E., Comparative study of postmortem vitreous humor and blood alcohol, *Journal of Forensic Sciences* 1970, vol. 15, pp. 185–190.
3. DiMaio V., DiMaio D., Medycyna Sądowa, Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2003.
4. Gawrzewski W., Trela F., Grochowska Z., Próba określenia fazy wchłaniania i eliminacji alkoholu w oparciu o stopień uwodnienia krwi, moczu i ciała szklistego, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1974, t. 24, s. 189–194.
5. Gelbke H. P., Lesch P., Schmidt G., Postmortale Alkoholkonzentrationen III. Die Alkoholkonzentrationen im Liquor cerebrospinalis und in der Glaskörperflüssigkeit, *Blutalkohol* 1978, Bd. 15, S. 115–124.
6. Gelbke H. P., Lesch P., Spiegelhalter B., [et al.], Postmortale Alkoholkonzentrationen. I. Die Alkoholkonzentrationen im Blut und in der Glaskörperflüssigkeit, *Blutalkohol* 1978, Bd. 15, S. 1–10.
7. Jaklińska A., Tomaszewska Z., Badania porównawcze nad zawartością alkoholu etylowego w ciałku szklistym gałki ocznej i w płynie mózgoworodzeniowym po śmierci, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1971, t. 21, s. 77–80.
8. Leahy M. S., Farber E. R., Meadows T. R., Quantitation of ethyl alcohol in the postmortem vitreous humour, *Journal of Forensic Sciences* 1968, vol. 13, pp. 498–502.
9. Mądro R., Badania doświadczalne na królikach nad przydatnością równoczesnego oznaczania stężenia alkoholu w ciałku szklistym gałki ocznej i we krwi dla pośmiertnej diagnostyki stanu nietrzeźwości, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1987, t. 37, s. 1–13.
10. Raszeja S., Krueger A., Olszewska I., Stężenie alkoholu etylowego w ciałku szklistym oka i mazi stawowej *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1971, t. 21, s. 61–66.
11. Raszeja S., Nasiłowski W., Markiewicz J., Medycyna sądowa, PZWL, Warszawa 1990.
12. Sturner O. Q., Coumbis R. J., The quantitation of ethyl alcohol in vitreous humour and blood by gas chromatography, *American Journal of Clinical Pathology* 1966, vol. 46, pp. 349–351.

13. Trela F., Badania nad rozmieszczeniem alkoholu etylowego w ustroju człowieka w aspekcie sądowo lekarskim, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1985, t. 35, s. 213–227.
14. Trela F., Badania porównawcze stężeń alkoholu w żółci, w ciałku szklistym i we krwi pobranych ze zwłok, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 2000, t. 50, s. 227–233.

BADANIA ZALEŻNOŚCI STĘŻENIA ALKOHOLU W CIELE SZKLISTYM W STOSUNKU DO STĘŻENIA WE KRWI I W MOCZU

Paweł PAPIERZ, Jarosław BERENT, Leszek MARKUSZEWSKI, Stefan SZRAM

WSTĘP

W praktyce sądowo-lekarskiej w celu określenia zawartości alkoholu etylowego w organizmie poddaje się badaniu – poza krwią – również inne płyny ustrojowe. Najczęściej stosowane są mocz i ciało szkliste. Podczas analizy moczu należy brać pod uwagę, że jego ilość w pęcherzu – zarówno w momencie spożycia etanolu, jak i w późniejszym okresie – może podlegać zmianom fizjologicznym. Zaleganie moczu w pęcherzu lub częste jego opróżnianie powoduje zmiany stężenia zawartego w nim alkoholu.

Kolejnym płynem ustrojowym, który poza krwią i moczem posiada duże znaczenie badawcze, jest ciało szkliste. Szkliska, w odróżnieniu od krwi, nie została zbudowana z komórek i jest w pewnym stopniu izolowana od organizmu, stąd jej mniejsza podatność na zmiany biochemiczne i zanieczyszczenie [3, 9]. Na korzyść tego materiału przemawia również stała objętość nie podlegająca poważniejszym wahaniom. Wykorzystując ciało szkliste, można dokonać wiarygodnych oznaczeń, podczas gdy nie jest możliwe zbadanie stężenia alkoholu we krwi [13]. Istniejące w piśmiennictwie publikacje wskazują na możliwość wykorzystania płynu z gałki ocznej w ocenie stanu trzeźwości [4, 7, 10, 13, 14].

W tej sytuacji wydało się celowe przeprowadzenie badań porównawczych zawartości alkoholu etylowego w szklisce w stosunku do krwi i moczu. W odróżnieniu od większości autorów prac o podobnej tematyce [1, 2, 8, 12], opisane tu badania wykonano na bardzo liczbnym materiale pochodzącym z 500 sekcji wykonanych w Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wyniki badań mających na celu udzielenie odpowiedzi na pytanie, jak kształtuje się poziom alkoholu w szklisce w stosunku do stężenia alkoholu we krwi i mocz, przedstawiono w niniejszym doniesieniu.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiałem badawczym były próby krwi, moczu i szkliski uzyskane podczas sądowo-lekarskich sekcji zwłok wykonanych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 2000–2003. Materiał pobrano od tych osób, u których zmierzone wcześniej stężenia alkoholu we krwi wyniosły co najmniej 0,1‰.

Próbki krwi pobierano bezpośrednio z żyły udowej, mocz przez nacięcie pęcherza lub pobranie igłą, natomiast płyn ciała szklistego uzyskiwano przez nakłucie gałki ocznej cienką igłą. Czas od zgonu do momentu badania nie przekraczał 72 godzin. Po pobraniu, próbki wszystkich trzech płynów ustrojowych przechowywano w szczelnie zamkniętych plastikowych pojemnikach w temperaturze +4°C. Poziom alkoholu

w próbkach oznaczano metodą chromatografii gazowej na urządzeniu Trace GC 2000, a w krwi i moczu potwierdzano również metodą ADH. W pierwszym etapie badań analizowano materiał pochodzący z 500 sekcji. Dla uzyskanych wyników określono równania regresji i współczynniki korelacji w układzie szklistka-krew i szklistka-mocz.

W drugim etapie badań zastosowano podział na podgrupy. Pierwsza podgrupa liczyła 55 przypadków osób, u których zgon nastąpił w fazie wchłaniania, druga, licząca 435 przypadków, obejmowała osoby, u których zgon nastąpił w fazie eliminacji. Do określenia fazy działania alkoholu przyjęto założenie, że w fazie resorpcyjnej stężenie w płynach ustrojowych jest mniejsze od stężenia we krwi, natomiast w fazie eliminacji stosunek ten jest odwrotny [7, 11]. Z tego względu odrzucono 10 przypadków, dla których stężenie alkoholu we krwi było identyczne ze stężeniem w moczu. Dla każdej z podgrup dokonano analizy zależności stężenia alkoholu w układzie szklistka-krew oraz zależności stężenia alkoholu w układzie szklistka-mocz. W badaniach nie uwzględniono stopnia uwodnienia krwi.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Uzyskane wyniki badań materiału pochodzącego z 500 sekcji zwłok rozpatrywano w dwóch układach. Pierwszy to układ szklistka-krew, a drugi to układ szklistka-mocz. Dla uzyskania wzajemnych relacji stężenia alkoholu w badanych płynach przeprowadzono analizę statystyczną, obliczono współczynnik korelacji i równanie regresji.

Na rycinie 1 przedstawiono zależność stężenia alkoholu w układzie szklistka-krew, natomiast na rycinie 2 przedstawiono zależność stężenia alkoholu w układzie szklistka-mocz.

Stwierdzono, że równania regresji mają postać odpowiednio: $S = 1,106 \times K$ ($R = 0,92$) dla układu szklistka-krew oraz $S = 0,9078 \times M$ ($R = 0,90$) dla układu szklistka-mocz, gdzie S – stężenie alkoholu w szklistce, K – stężenie alkoholu we krwi i M – stężenie alkoholu w moczu. W przypadku układu szklistka-krew współczynnik korelacji wyniósł 0,92 i był wyższy niż współczynnik korelacji dla układu szklistka-mocz, który był równy 0,90.

W obu układach stwierdzono wysoki współczynnik korelacji stężenia alkoholu. Jednak duży rozrzut wyników obniżał dokładność szacowania stężenia alkoholu we krwi z uwagi na możliwość wystąpienia sporego błędu. Jak już wspomniano wcześniej, w celu zmniejszenia tego błędu podzielono cały materiał na dwie podgrupy w zależności od fazy działania alkoholu. Dla uzyskania wzajemnych relacji stężenia alkoholu w badanych płynach przeprowadzono ponownie analizę statystyczną oraz obliczono współczynnik korelacji i równanie regresji dla każdej podgrupy oddzielnie.

Na rycinie 3 przedstawiono zależność stężenia alkoholu w układzie szklistka-krew, a na rycinie 4 przedstawiono zależność stężenia alkoholu w układzie szklistka-mocz.

Stwierdzono, że równania regresji mają postać: $S = 0,9186 \times K$ ($R = 0,91$) dla układu szklistka-krew oraz $S = 1,0984 \times M$ ($R = 0,91$) dla układu szklistka-mocz, gdzie S – stężenie alkoholu w szklistce, K – stężenie alkoholu we krwi i M – stężenie alkoholu w moczu.

W podgrupie tej współczynnik korelacji dla układu szklistka-krew i szklistka-mocz w obu przypadkach wynosił 0,91.

Wyniki obliczeń statystycznych i zależności stężenia alkoholu w podgrupie 435 przypadków, w której przyjęto, że zgon nastąpił w fazie eliminacji alkoholu, przedstawiono poniżej.

Na rycinie 5 przedstawiono zależność stężenia alkoholu w układzie szklistka-krew, a na rycinie 6 przedstawiono zależność stężenia alkoholu w układzie szklistka-mocz.

Stwierdzono, że równania regresji mają postać: $S = 1,1526 \times K$ ($R = 0,94$) dla układu szklistka-krew oraz $S = 0,8916 \times M$ ($R = 0,91$) dla układu szklistka-mocz, gdzie S – stężenie alkoholu w szklistce, K – stężenie alkoholu we krwi i M – stężenie alkoholu w moczu.

W grupie tej współczynnik korelacji dla układu szklistka-krew wynosił 0,94 i był wyraźnie wyższy od współczynnika dla układu szklistka-mocz wynoszącego 0,91.

Przeprowadzone badania potwierdzają opinię o wysokim stopniu korelacji między stężeniem etanolu we krwi i w szklistce, które przedstawili m. in. Jaklińska i Tomaszewska [7], Raszeja [10], Trela [14] oraz Gelbke i in. [5, 6]. Wymienieni autorzy uważają również, że zbadanie stężenia alkoholu we krwi i w jednym, względnie dwóch płynach ustrojowych, jest dobrym wskaźnikiem określającym, czy zgon nastąpił w fazie resorpcji, czy w fazie eliminacji alkoholu [4, 7, 13]. Brak wcześniejszych badań dotyczących zależności występujących między płynami ustrojowymi oraz mała liczebnie grupa analizowanych przez autorów niniejszej pracy przypadków nie pozwala na wyciągnięcie wiążących wniosków odnośnie do możliwości szacowania stężenia alkoholu we krwi w fazie wchłaniania.

PODSUMOWANIE

1. Stwierdzono wysoki współczynnik korelacji stężenia alkoholu w szklistce w stosunku do krwi oraz w szklistce w stosunku do moczu.
2. Z przeprowadzonych badań wynika, że istnieje ścisły związek między stężeniem alkoholu we krwi w stosunku do stężenia alkoholu w moczu.
3. Wprowadzenie podziału materiału analitycznego pod względem fazy działania alkoholu na fazę wchłaniania i eliminacji zmniejsza rozrzut pojedynczych przypadków wokół prostej regresji, poprawia współczynnik korelacji oraz zmniejsza błąd szacowania stężenia alkoholu we krwi.
4. Ciało szkliste posiada dużą wartość w pośmiertnych oznaczeniach zawartości alkoholu.