

Geçmişten günümüze göz içi sıvısı analizi ile postmortem interval tayini

Postmortem interval estimation by vitreous fluid analysis from past to present

Aykut Lale, Mahmut Şerif Yıldırım, Ramazan Akçan, Aysun Balseven Odabaşı, Ali Rıza Tümer

Corresponding author: Aykut Lale

Hacettepe University Hospital, Sıhhiye Campus, Altındağ, 06100, Ankara, Türkiye
email: aykutlale@gmail.com

ÖZET

Postmortem interval (PMI) postmortem incelemelerde önemli bir yere sahiptir. PMI tayini için güvenilirlikleri değişen birçok analiz yöntemi bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında göz içi sıvısının biyokimyasal analizi ile yapılan araştırmalar ön plana çıkmaktadır. Özellikle göz içi sıvısındaki potasyum [K⁺] ve hipoksantin [Hx] konsantrasyonlarının postmortem dönemdeki değişimleri gösterdikleri korelasyon ile ilgi odağı olmaktadır. Tespit edilen hata oranlarının azaltılması amaçlanarak daha doğru sonuçlar elde edilmeye çalışılmaktadır. Ayrıca korelasyon bulunan diğer biyokimyasal belirteçlerin tespiti için çalışmalar güncellenmeye devam etmektedir. Yazımızda göz içi sıvısının biyokimyasal incelemeleri ile PMI tayini literatür eşliğinde tartışılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Göz içi sıvısı, postmortem interval, potasyum.

ABSTRACT

Postmortem interval is one of the most important factors to be considered in postmortem examinations. There are many methods of analysis differing in scientific reliability for postmortem interval estimation. However, biochemical studies of vitreous fluid stand out among these methods. Especially [K⁺] and Hypoxanthine [Hx] concentrations in vitreous fluid are scientifically favored because of their correlation with postmortem changes. By aiming to reduce detected error rates, achieving more accurate results is targeted. In addition, studies focusing on the detection of other biochemical markers in which correlation is found are still being carried out. In our paper, PMI estimation by vitreous biochemical analysis is discussed with literature findings.

Keywords: Vitreous fluid, postmortem interval, potassium.

GİRİŞ

Postmortem interval (PMI), modern Adli Tıp uygulamalarında, postmortem incelemelerde önemli yere sahip antitelardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. PMI tayini için kullanılan yöntemlerin tamamı ölümden sonra dereceli olarak meydana gelen değişikliklerin zamanlarını hesaplamak prensibine dayanmaktadır. Postmortem biyokimyasal çalışmalarda da hücrelerin lizisi, hücresel pompaların çalışmaması, pütre-faksiyonla birlikte üretilen organik ve inorganik maddelerin interferansı gibi faktörler postmortem interval tayininde biyokimyasal yöntemlerin kullanılmasına olanak veren dereceli değişimler olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Bu yazıda postmortem olarak göz içi sıvısından yapılan

biyokimyasal incelemelerin literatür eşliğinde tartışılması amaçlanmaktadır.

GÖZ İÇİ SIVISI ÖRNEKLENMESİ

Postmortem dönemde göz içi örnekleme için sıklıkla uygulanan yöntem Coe ve ark tarafından önerilen yöntemdir. Göz içine lateral kantustan ve skleral bölgeden enjektör yardımıyla girilmektedir. Bu işlem esnasında iğnenin uç açıklığının yukarı tarafa bakması önerilmekte olup yumuşak şekilde tek aspirasyon yapılarak göz içi sıvısının tamamının alınması tavsiye edilmektedir (2).

GÖZ İÇİ SIVISI ÖZELLİKLERİ VE BİYOKİMYASI

Lens ve retina arasındaki vitreus boşluğunu dolduran göz içi sıvısı jelatinöz yapıda bir sıvıdır. Vitreusu oluşturan sisternal yapılar ile birlikte bulunmaktadır. Yapısal olarak göz içi sıvısı vitreus içerisinde homojenize olarak dağılmamaktadır. Retinaya yakın olarak bulunan özellikle ora serrata komşuluğunda olan korteks kısmı daha yoğun özellik göstermektedir (3).

Göz içi sıvısı tek gözde yaklaşık 3.9 ml kadar bulunmaktadır. Kimyasal yapı olarak %95'den fazla kısmı sudan oluşmaktadır. 280-1360 µg/mL protein içermektedir. Genel olarak bu proteinleri yaklaşık %40'ını albümin, %30'unu demir bağlayan proteinler oluşturmaktadır. Kollojen konsantrasyonu yaklaşık 300 µg/mL'dir. GAG'lar diğer majör vitreus yapısını oluşturan yapılarıdır. Bunlar arasından en sık olarak hyaluranik asit, kondroitin sülfat, heparan sülfata rastlanmaktadır. Özellikle hyaluranik asit viskozitenin oluşmasını sağlayan en önemli içeriktir. Konsantrasyonu 96-115 µg/mL arasında saptanmaktadır. Laktik asit, piruvik asit, askorbik asit tespit edilen önemli organik bileşenlerdir. 2 µg/mL konsantrasyonunda lipid içerik bulunmakta ve bunun %50-55 oranını doymamış yağ asitleri oluşturmaktadır. Elektrolitlere bakıldığında ise sodyum konsantrasyonu 2,714-3,542 mg/mL, potasyum [K⁺] konsantrasyonu 130-470 µg/mL, kalsiyum konsantrasyonu 56-106 µg/mL, klor konsantrasyonu 3,155-5,140 mg/mL'dir (3, 4).

Yaşlanma ile beraber progresif likefaksiyon gelişmektedir. Geniş premaküler likefaksiyon yaşlı gözlerde bulunmaktadır. Protein içerik artmaktadır. Doğumla beraber sıfır olan likit hacmi giderek çoğalmakta, jelatinöz volüm ise yetişkin dönemden sonra azalma göstermektedir. Hyaluranik asit seviyeleri ise yaşla beraber lineer olarak düşmektedir. Lipid içerikteki doymamış yağ oranı ise yaşla beraber sabit olarak seyretmektedir (3, 4).

GÖZ İÇİ SIVISI ANALİZİ İLE PMI ARASINDAKİ İLİŞKİ

Göz içi sıvısı anatomik olarak korunaklı bir bölgede bulunmaktadır. Postmortem dönemde kontaminasyondan en az derecede etkilenmektedir ve diğer vücut sıvıları ile karşılaştırıldığında bu nedenle daha uzun süre stabil olarak kalmaktadır. Ayrıca daha düşük diffüzyon hızlarına sahiptir (5). Bu özellikleri nedeniyle hem pratik kullanım için hem de araştırmalar için sürekli ilgi çeken bir örnek olmaktadır.

POTASYUM ANALİZİ

Antemortem dönemde [K⁺] dağılımına bakıldığında; lensin ön yüzeyinde [K⁺] birikimi bulunmaktadır. Bu lensin arka yüzeyindeki [K⁺] artışından sorumludur. Lensin arkasından pasif olarak göz içi sıvısına dağılmaktadır. Göz içindeki [K⁺] kan-retina bariyerinden oluşan emilim ile dengelenmektedir. Postmortem dönemde retina hücrelerinin canlılığını kaybetmesi ile aktif difüzyon yapan pompalar durmakta ve hücre zarının otolizi sonucunda pasif difüzyon ile göz içi sıvısına [K⁺] geçişi olmaktadır (6).

Sonuç olarak ön taraftan arka tarafa antemortem dönemde azalan gradiente postmortem dönemde pasif difüzyon ile retina yüzeyinden akan [K⁺] da eklenmektedir. Merkeze doğru giderek azalan bir oranda [K⁺] konsantrasyon farkı oluşmaktadır. Bito ve ark tarafından göz içi sıvısının anterior, merkez ve posterior segmentinde farklı gradientlerin oluştuğu, anterior ve posterior segmentlerde daha yüksek konsantrasyonların saptandığı gösterilmiştir (7).

1950'li yılların sonları ve 1960'lı yılların başlarında PMI ile göz içi sıvısında [K⁺] artışı arasında korelasyon bulunduğu ve anlamlı olduğu fark edilmiştir (8, 9). Sturmer bu bilgilere dayanarak ve kendi yaptığı analizler sonucunda bu anlamlı ilişkiyi ilk

Tablo 1: Göz içi $[K^+]$ değeri - PMI ilişkisi ile ilgili yapılan çalışmalar

PMI = 7,14 $[K^+]$ - 39,1	(Sturner 1963)(10)
PMI = 5,26 $[K^+]$ - 30,9	(Madea, Henssge ve ark 1989)(14)
PMI = 4,32 $[K^+]$ - 18,35	(James, Hoadley ve ark 1997)(15)
PMI = 3,92 $[K^+]$ - 19,04	(Munoz, Suarez-Penaranda ve ark 2001)(17)
PMI = 6,41 $[K^+]$ - 46,25	(Mulla, Massey ve ark 2005)(33)
PMI = 5,8753 $[K^+]$ - 32,7132	(Zhou, Zhang ve ark 2007)(35)
PMI = 1,076 $[K^+]$ - 2,815	(Jashnani, Kale ve ark 2010)(22)
PMI = 2,7157 $[K^+]$ - 19,9538	(Tumram, Bardale ve ark 2011)(40)
PMI = 5,7699 $[K^+]$ - 13,2763	(Bortolotti, Pascali ve ark 2011)(38)

olarak formülize eden kişi olmuştur. Araştırmasında 91 otopsi olgusunu incelemiş ve PMI = 7,14 $[K^+]$ - 39,1 formülünü elde etmiştir. Formülün standart hatası 4,7 saat olarak belirtilmiştir (10).

Sturner'in formülü göz içi sıvısında $[K^+]$ artışını lineer olarak kabul etmektedir. Fakat Hansson ve ark 3-310 saat arasında değişen PMI'e sahip otopsi çalışmasında 203 olguyu değerlendirmiş ve bu yükselişin 120. saate kadar devam ettiğini göstermiştir. 120. saatten sonra denge konsantrasyonuna ulaştığını vurgulamışlardır. Ayrıca çalışmalarında göz içi sıvısında $[K^+]$ analizinin PMI tayini için ideal bir yöntem olmadığı belirtilmiştir (11).

Göz içi sıvısında $[K^+]$ artışının ilk 12 saat için daha yüksek güvenli aralık ile korelasyon gösteren sonuçlar verdiği Adjutantis ve ark tarafından vurgulanmıştır. İlk 12 saat için $\pm 1,7$ saat olarak belirtilen standart hatanın $[K^+]$ seviyeleri üzerine düzeltme uygulandığında $\pm 1,1$ saate kadar düşürüldüğü belirtilmiştir. Çalışmacılar ayrıca bilinen zaman aralıklarında iki gözden farklı zamanlarda örneklemeler yapmışlar ve kendi çalışmalarına göre oluşturdukları eğri dışında kalan örneklerin 12 saatten fazla PMI'e sahip olduklarının anlaşılabilirliği belirtmişlerdir (12).

Yapılan çalışmalar göz içi $[K^+]$ analizi için korelasyonu ve bunun güvenilirliğini göstermeye devam etmişlerdir fakat çalışmalar küçük örneklem

grupları ile yapılmışlardır (10-12). Stephen ve ark yaptıkları çalışmada PMI süreleri 35 saatten az olan 1427 olgu ile çalışmışlardır. Elde ettikleri ilişki için düşük bir güven aralığı bulmuşlardır. Standart hataları ise ± 20 saattir (13). Yüksek olgu sayısı ile yapılan bu çalışma ile standart hatanın oldukça fazla ve sonuçlarının güvenilirliğinin düşük olduğu daha fazla dikkati çekmiştir.

Sonrasında çalışmalar güvenilirliği artırmak amacıyla belli şartlar için standardize edilmeye çalışılmıştır. Madea ve ark yaptıkları çalışmalarında ani ölüm olguları ile kronik hastalıklı hastane ölümlerini karşılaştırmışlardır. Analizler sonucunda ürenin $[U]$ göz içi sıvısındaki elektrolit imbalansını göstermek için iyi bir internal standart olduğu vurgulanmıştır. Tüm olgulardaki göz içi $[K^+]$ değeri analizlerinde ortaya çıkan standart hata ± 34 saat iken göz içi $[U]$ < 100 mg/dL olan olgular için standart hata ± 22 saat olarak bulunmuştur. Ayrıca terminal periyodu 6 saatten fazla olan olgular çıkarıldığında standart hata ± 20 saate düşmektedir. Madea ve ark çalışmalarında PMI = 5,26 $[K^+]$ - 30,9 formülünü önermişlerdir. Sturner'in formülü ile karşılaştırıldığında daha düşük bir eğime sahiptir ve Sturner'in formülünde hesaplanan yüksek tahminler engellenmektedir (14).

James ve ark 100 olguluk serilerinde hem bu iki formülün geçerliliklerini araştırmış hem de kendileri yeni bir formül ortaya koymuşlardır. Sturner'in

formülünün daha önce belirtildiği üzere yüksek PMI zamanları verdiği tekrar gösterilmiştir. Madea ve ark'nın formülü ise çalışmalarında belirtilen hata oranları ile uyumlu olarak bulunmuştur. James ve ark yaptıkları çalışma ile $PMI = 4,32 [K^+] - 18,35$ formülünü bulmuşlar ve ortalama yüksek PMI zamanını 9 saat (SD=30 saat), ortalama düşük PMI zamanını 2 saat (SD=22 saat) olarak hesaplamışlardır (15).

Lange ve ark 1963-1989 arasındaki 6 çalışmanın verilerini birleştirerek sonuçlarını analiz etmişlerdir. Yaptıkları analizler sonucunda elde edilen eğrinin aslında tam olarak lineer olmadığını belirtmişlerdir. LOESS eğrisi olarak ifade edilen ve %95 güvenilirlik bandı oluşturan bir grafik çizmişlerdir. Eğriye ek olarak düşük, orta ve yüksek PMI değer tahminlerini eklemiştir (16).

Munoz ve ark 176 olgu üzerinden PMI 29 saatten kısa olan olgular üzerinde çalışmıştır. Çalışmalara yeni bir bakış açısı kazandırarak istatistiksel olarak bağımsız değişken olarak kabul edilen PMI yerine $[K^+]$ değerinin bağımsız değişken olarak kullanılmasının daha uygun olacağını belirtilmişlerdir. Yapılan bu değişiklikte standart hata $\pm 8,56$ saatten $\pm 7,15$ saate düşürülmüştür. Munoz ve ark yaptıkları çalışmayı formülize etmişler ve $PMI = 2,58 [K^+] - 9,30$ formülünü elde etmişlerdir. Olgular arasından hospitalize edilmiş olgular çıkarılınca $PMI = 3,92 [K^+] - 19,04$ formülü bulunmuş ve Madea ve ark'nın bulgularını destekleyerek daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir (17). Lucy ve ark tarafından bu değişiklik doğrulanmıştır (18).

Bu iki çalışmanın kullanılabilirliğini araştırmak için Madea ve ark kendileri analiz ettiği 170 olgunun ($PMI < 133$) yanı sıra Munoz ve ark tarafından paylaşılan verileri de kullanmışlardır. Munoz ve ark tarafından önerilen bağımsız değişkenin değiştirilmesi fikri için elde edilen veriler PMI süresi uzadığında çok ciddi farklılık göstermemiştir. Standart hata $\pm 25,96$ saatten $\pm 23,27$ saate düşmüştür. Hata oranında fark edilir bir değişiklik oluşturmamasına rağmen pratik kullanımda ihmal edilebilir düzeyde kaldığını vurgulamışlardır. Lange ve ark tarafından önerilen grafik ve tablo için yapılan değerlendirmede ise olguların %38,7'si belirtilen çerçeveler içerisinde tespit edilmiştir.

%61 oranında olgu için doğru PMI tahmini yapılamamıştır. Yüksek PMI tahminine neden olduğu ve pratikte kullanılmasının faydalı olmayacağı sonucuna ulaşılmıştır (19).

A. Göz İçi $[K^+]$ Değerini Etkileyen Antemortem-Postmortem Faktörlerin Analizi

a. Ortam sıcaklığı

Eksternal olarak tek etkileyen faktör olarak ortam sıcaklığı vurgulanmaktadır. Ortam sıcaklığının artması ile göz içi $[K^+]$ konsantrasyonundaki artışın daha hızlı gerçekleştiği belirtilmekle birlikte (20) ortam sıcaklığının artış ile ortaya çıkan değişiklik, anlamlı bir artışa sebep olmaması nedeniyle etkili bir faktör olarak değerlendirmeye alınmamaktadır (9, 10, 21, 22).

b. Yaş

Yaşın anlamlı olarak göz içi $[K^+]$ konsantrasyonlarına etkisi yetişkin ve çocuk yaş grupları arasında ortaya çıkmaktadır. Göz küresinin Alan/Hacim oranı artan yaşla beraber yetişkinlik dönemine kadar artmaktadır. Postmortem dönemde bu durum oransal olarak daha hızlı bir $[K^+]$ artışı oluşturmaktadır (23). Yetişkinler arasında yaş faktörü değerlendirildiğinde anlamlı farklılık oluşturmamaktadır (22).

c. Sağlık durumu

Kronik hastalıkların varlığı özellikle plazma $[K^+]$ konsantrasyonu değişikliği oluşturan hastalıklar antemortem dönemde göz içi $[K^+]$ konsantrasyonu üzerinde değişiklik oluşturmaktadır. Ayrıca agonal fazın uzun olduğu olgularda göz içi $[K^+]$ konsantrasyonu artışı daha düzensiz seyretmektedir. Madea ve ark terminal epizodu 6 saatten daha fazla olan olguları dışladıklarında daha anlamlı sonuçlar elde ederek bu durumu anlamlı hale getirmişlerdir (14). Ek olarak Garg ve ark tarafından yapılan çalışmada yanık olgularında göz içi $[K^+]$ konsantrasyonu anlamlı olarak yüksek bulunmuşlardır (24). Fakat enfeksiyon hastalıkları ölümlerinin yüksek oranda olduğu Jashnani ve ark'nın çalışmasında ise sepsis gibi uzun terminal epizotlu ölümlere rağmen göz içi $[K^+]$ konsantrasyonu üzerinde an-

lamli değişiklik bulunmamıştır (22). Ortaya çıkan çelişki ölüm sebepleri üzerine daha spesifik çalışmalar yapılması gerekliliğini göstermektedir.

d. Üre retansiyonu

Coe ve ark tarafından ayrı bir antite olarak alın- sa da Madea tarafından antemortem dönemdeki elektrolit imbalansını göstermek için kullanılabil- lecek internal standart olarak kabul edilmektedir. Aslında göz içi [U], antemortem sağlık durumunu yansıtan, postmortem dönemde göz içi sıvısında stabil seyreden bir maddedir. Göz içi [U] >100 mg/dL olan olgular antemortem dönemde oluşan elektrolit imbalansını yansıtmaktadır (2, 14, 25).

B. Örneklemeye Yöntemlerinin Etkisi

Göz içi sıvısının örneklenmesi lateral kantustan skleral bölgede enjektör yardımıyla yapılmaktadır. Sıklıkla kullanılan ve Coe tarafından önerilen temel yöntem göz içine belirtilen şekilde enjektörle ulaşıldıktan sonra iki temel özellik içermektedir.

1. Göz içi sıvısının tamamı alınmalıdır. Çünkü göz içi sıvısı tam olarak homojen karakterde değildir. Retina komşuluğundaki kısmı merkezdeki kısma göre daha yoğun bir yapıdadır. Analiz yapılacak madde için kesin sonuç elde edilebilmesi için tüm sıvıya ihtiyaç bulunmaktadır.
2. Aspirasyon yapılırken mümkün olduğunca yumuşak bir aspirasyon yapılmalıdır. Sıvının içine karışan kontaminasyon oluşturan doku parçaları analiz sonuçlarında değişikliklere neden olabilmektedir (2). Doku kontaminasyonun tespiti için yapılan Lendoiro ve ark'nın çalışmasında makroskopik olarak kontamine sayılmayan örneklerde mikroskopik olarak kontaminasyonun var olabileceği belirtilmektedir. Bu durumun göstergesi olarak ürik asit kullanıldığında ve LC-MSMS ile yapılan analizlerde kontaminasyon tespit edilen olguların PMI'leri hesaplandığında kontaminasyondan etkilenerek yanlış sonuçlar bulunduğu ortaya konmuştur (26).

Fakat Tagliaro ve ark tarafından aynı gözden aynı anda enjektör yardımıyla 50 µl alınan örnekler

karşılaştırılmış, alınan örneklerin [K⁺] konsantrasyonları açısından anlamlı farklılık göstermediği ortaya konmuştur (27).

Metod olarak 3 saatlik intervaller ile tekrarlayan aspirasyonlar sonrasında elde edilen örneklerden [Mg⁺⁺], laktat ve [K⁺] çalışmaları yapılmış ve araştırma sonuçları Coe tarafından önerilen geleneksel örneklemeye yöntemi kullanılmadan da anlamlı sonuçlar elde edilebileceğini ve tekrarlayan aspirasyonların daha fazla bilgi sağlayacağı kanaatini oluşturmuştur (28-30). Kontrollü çevre koşulları altında tekrarlayan aspirasyonlar ile [K⁺] analizi sonucunda PMI ile kuvvetli korelasyon bulunmasının yanı sıra örneklemeye yöntemi ile ilgili olarak fizyolojik sınırlar içinde küçük deviasyonların gerçekte olduğu gösterilmektedir. Postmortem dönemde tam olarak [K⁺] konsantrasyon hareketlerinin açıklanmadan kabul edilen tek seferde tüm göz içi sıvısının örneklenmesinden vazgeçilebileceği düşünölmektedir (29).

Önemli olan bir diğer durum ise çalışmalar tarafından ortaya konan eş iki göz arasında aynı anda yapılan analizlerin ciddi farklılık göstermesidir (31, 32). Yapılan güncel çalışmalar ise eş iki göz arasında [K⁺] konsantrasyonu açısından anlamlı farklılık olmadığını belirtmektedir (27, 33-35). Yapılan çalışmaların sonuçlarının çelişmesi, farklılığın örneklemeye esnasında oluşan doku hasarından kaynaklandığının vurgulanması, göz içi sıvısının kolay etkilenebilir bir sıvı olması nedeniyle PMI tayininde kullanılabilirliğini sorgulamaktadır.

C. Analiz Öncesi Kullanılan

Yöntemlerin Etkisi

Göz içi sıvısının aşırı viskoz yapısı nedeniyle tekrarlayan analizlerde problem oluşturduğu ve tekrarlayan analizlerle aynı sonuçların elde edilemediği vurgulanmaktadır. Bu nedenle bu viskoz yapının azaltılması için göz içi sıvısı analiz öncesi birtakım işlemlere tabi tutulmaktadır. Santrifuj, ultrasonik banyo, ısıtma, hyaluronidaz kullanımı ve dilüsyon sıklıkla kullanılan analiz öncesi yöntemlerdir. Yapılan bu işlemlerin de analiz sonuçları üzerinde değişiklik oluşturduğu belirtilmektedir (25). Blana ve ark'nın bu yöntemleri karşılaştıran

çalışmalarında, ısıtma işleminin uygulanmasının sonuçlarda ciddi varyasyonlara yol açtığı, sıklıkla daha düşük sonuçlara sebep olduğu, hyalürinidaz uygulamasının ise daha yüksek sonuçlar alınmasına neden olduğu, ultrasonik banyo ve santrifüj işlemlerinin daha uygun sonuçlar verdiği, santrifüj işleminin uygulanmasının kolay olması sebebiyle en iyi yöntem olduğu belirtilmektedir [36]. Fakat Thierauf ve ark çalışmalarında santrifüj işleminin ultrasonik banyo işlemine göre daha düşük ölçümlere meyil oluşturduğunu belirtilmiştir. Bu durumun açıklaması olarak santrifüj işlemi ile oluşan çökeltinin içinde yüksek konsantrasyonda madde kalması düşünülmektedir. Ayrıca santrifüj ve ultrasonik banyo işlemlerine ek olarak yapılacak dilüsyon işlemi, daha kararlı ölçümler yapılmasını sağlamaktadır [34].

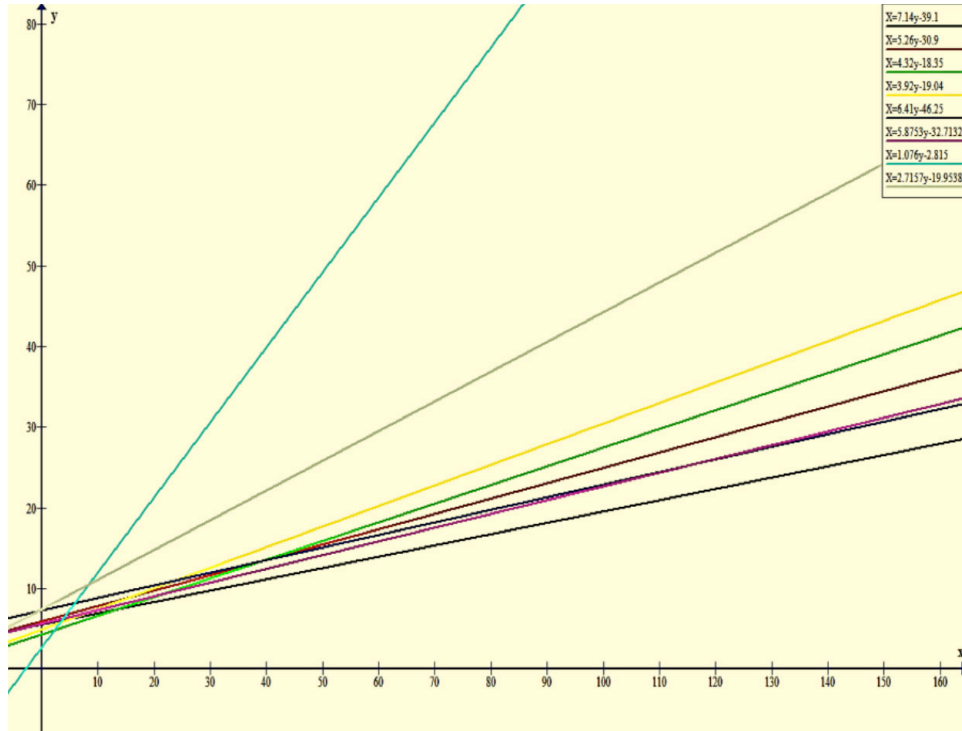
Örneklerin ölçüm esnasına kadar veya ölçüm sonrasında saklanması gereken koşul olarak +4 derecenin yerine -20 derece olması gerektiği vurgulanmaktadır. +4 derecede saklanan örneklerin küçük de olsa anlamlı istatistiksel elektrolit yükselmesi gösterdiği kanıtlanmıştır. -20 derecede 6-12 ay örnekler daha stabil şekilde korunabilmektedir [37].

Değişkenlerin belirlenmesine yönelik yapılan araştırma sonuçlarına rağmen güncel çalışmalar standart hata oranı için hala çalışmaktadırlar. Bortolotti ve ark 2011 yılında 164 olguluk çalışmalarında literatürdeki en düşük hata oranlı formülü vermiş olmalarına rağmen Chandrakanth ve ark 2013 yılında 114 olguluk yaptıkları çalışma sonucunda göz içi biyokimyası ile PMI arasında anlamlı ilişki olmadığı sonucuna varmışlardır [38, 39].

Bulunan formüller toparlandığında ve hepsi bir grafikte birleştirildiğinde sonuçlar arasındaki çeşitlilik ortaya konmaktadır (Grafik 1).

HİPOKSANTİN ANALİZİ

Hipoksantin [Hx], metabolizmada hipoksik koşullarda ATP, AMP ve adenozin yıkımının son ürünü olarak dikkati çekmektedir. Rognum ve ark yaptıkları çalışmada göz içi sıvısında [Hx], PMI ile korele olarak saptanmaktadır. Sıcaklığın [Hx] artışı üzerine olan artırıcı etkisi vurgulanmaktadır. Ayrıca nonhipoksik ölümler için ilk 24 saat için [K⁺] analizinden [Hx] analizinin daha değerli sonuçlar verdiğini belirtmektedir [41].



Grafik 1: x=PMI, y= göz içi [K⁺] konsantrasyonu

Fakat Madea ve ark [K⁺] analizinin daha anlamlı sonuçlar verdiği üzerine yoğunlaşmaktadır (23). James ve ark [K⁺] analizi ile beraber değerlendirilebileceğini söylemektedirler ve [K⁺] analizi için verdikleri formülün yanı sıra [Hx] değerleri için; $PMI = 0,31 [Hx] + 0,05$ formülünü vermekte olup, formülün standart hatasını 15 saat olarak belirtmektedirler (15).

Ölüm sebepleri ile [Hx] değerleri arasındaki bağlantı incelendiğinde ası olgularında daha değerli sonuçlar elde edilmiştir. Ası olgularına özel olarak; $PMI = 0,153 [Hx] - 0,368$ formülü oluşturulmuştur (42). HPLC kullanılarak yapılan analizler sonrasında [Hx] seviyeleri için elde edilen değerlerin PMI ile uyumlu olmasına rağmen kesinlik noktasında ilerleme kaydetmediği vurgulanmaktadır (43).

DİĞER ELEKTROLİTLERİN ANALİZİ

[Mg⁺⁺]

İntrasellüler önemi iyonlardan birisi olarak bulunmaktadır. Postmortem dönemde göz içi sıvısında artış göstermektedir. PMI ile ilişkisi ise bazı çalışmalar ile kanıtlanırsa da güvenilir şekilde PMI tahminine olanak vermemektedir (30).

[Na⁺]

Postmortem dönemde minimal düzeyde azalma eğilimindedir. Yapılan çalışmalar genellikle bu durumun PMI için anlamlı olmadığı kanaatinde oldukları (22, 33, 40).

[Ca⁺⁺], [Cl⁻]

PMI ile ilişkili bulunmamışlardır (22, 40).

ORGANİK MADDELERİN ANALİZİ

Laktat

Postmortem dönemde oksijensiz solunumun son ürünü olarak oluşmaktadır. Laktat dehidrogenaz enzimi bu yoldan sorumludur. Sadece travmatik ölüm olguları için sıcaklık 20 derece üzerinde

olmak koşuluyla $PMI = 1,696 L - 10,562$ formülü önerilmiştir. Fakat postmortem dönemde enzimin optimal çalışma şartları giderek bozulmaktadır. Azalan sıcaklık enzimin optimal çalışma sıcaklığından uzaklaşmakta, biriken pH enzimin çalışma hızını azaltmaktadır. İlk 24 saat için 2,5 saatlik standart hata ile hesaplama yapılabileceği belirtilmektedir (28).

Glukoz

Postmortem dönemde giderek azalmaktadır. PMI tayini için zayıf negatif korelasyon göstermektedir (40).

Serbest aminoasit

PMI ile göz içi sıvısında artan taurin, glutamat ve özellikle aspartat anlamlı ilişkili bulunmuştur (44).

miRNA

miRNA gen ekspresyonunu düzenleyen protein kodlamayan RNA'lardır. Odriozola ve ark yaptığı çalışma ile PMI ile aralarında anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen sirkadyan ritm nedeniyle sürekli değişen oranlarda saptanan miRNA'lar ölüm zamanı hakkında gece veya gündüz gibi zaman tahmininde bulunmaya yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir (45).

Metal ve Metalloproteinler

PMI ile göz içi sıvısı [Fe], [Mg] ve [Mo] miktarları arasında korelasyon bulunmaktadır. Fakat [Mg] ve [Mo] daha randomize hareket etmektedir ve zayıf korelasyon oluşturmaktadır. 1-7 günlük PMI için göz içi [Fe] konsantrasyonları oldukça anlamlı olarak ilişkili bulunmaktadır. $PMI = 0,0176 [Fe] + 0,425$ formülü önerilmektedir. Zamanla yıkılan kan-retina bariyerinden sızan kanla beraber göz içi sıvısında [Fe] konsantrasyonlarının arttığı düşünülmektedir. Eşlik eden serotransferrin yükselmesi kan-retina bariyerinin yıkımına işaret eden bir parametre olarak dikkati çekmektedir (5).

SONUÇ

Göz içi sıvısı postmortem dönemde sıklıkla incelenen, ayrıca toksikolojik analizlerde kullanılan,

postmortem dönemin getirdiği değişikliklerden daha az etkilendiği için PMI tayini için uygun olduğu düşünülen bir örnek olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalar ile umut vadeden sonuçlar alınmasına rağmen çalışmalardan çelişkili sonuçların ortaya çıkması, hata paylarının yüksek olması akıllarda soru işaretleri bırakmaktadır. Aradaki bu çelişkilerin giderilmesi için yapılan çalışma sonuçları ile örnekleme standardizas-

yonunun yapılması ve bu standart işlemler ile değişkenlerin analizinin yapılması gerekliliği bulunmaktadır. Bu amaçla ülkemizde gerek akademik, gerek pratik uygulamalara yardımcı olması noktasında dikkate alınmasının, standardizasyon için çalışmalar planlanmasının, güncel yaklaşımlar denenmesinin ve paylaşılmasının yeni ufuklar açacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Coe JI. Postmortem chemistry update emphasis on forensic application. *Am J Forensic Med Pathol* 1993;14(2):91-117.
2. Coe JI. Vitreous potassium as a measure of the postmortem interval: an historical review and critical evaluation. *Forensic Sci Int* 1989;42(3):201-13.
3. Kleinberg TT, Tzekov RT, Stein L, Ravi N, Kaushal S. Vitreous substitutes: a comprehensive review. *Surv Ophthalmol* 2011;56(4):300-23.
4. Chirila T, Hong Y. The vitreous humor. *Handbook of biomaterial properties*: Springer; 1998. p. 125-31.
5. Júnior JCS, Mollo Filho PC, Guidugli RBF, Eberlin MN, de Souza Pessôa G, da Silva EG. Metals and (metallo) proteins identification in vitreous humor focusing on post-mortem biochemistry. *Metallomics* 2014;6(10):1801-7.
6. Reddy D, KINSEY VE. Composition of the vitreous humor in relation to that of plasma and aqueous humors. *AMA Arch Ophthalmol* 1960;63(4):715-20.
7. Bitó LZ. Intraocular fluid dynamics: I. Steady-state concentration gradients of magnesium, potassium and calcium in relation to the sites and mechanisms of ocular cation transport processes. *Exp Eye Res* 1970;10(1):102-16.
8. Naumann HN. Postmortem chemistry of the vitreous body in man. *AMA Arch Ophthalmol* 1959;62(3):356-63.
9. Jaffe F. Chemical postmortem changes in the intraocular fluid. *J Forensic Sci* 1962;7:231-7.
10. Sturmer W. The vitreous humour: Postmortem potassium changes. *Lancet* 1963;281(7285):807-8.
11. Hansson L, Uotila U, Lindfors R, Laiho K. Potassium content of the vitreous body as an aid in determining the time of death. *J Forensic Sci* 1966;11(3):390-4.
12. Adjutantis G, Coutselinis A. Estimation of the time of death by potassium levels in the vitreous humour. *Forensic Science* 1972;1(1):55-60.
13. Stephens R, Richards R. Vitreous humor chemistry: the use of potassium concentration for the prediction of the postmortem interval. *J Forensic Sci* 1987;32(2):503-9.
14. Madea B, Henssge C, Hönig W, Gerbracht A. References for determining the time of death by potassium in vitreous humor. *Forensic Sci Int* 1989;40(3):231-43.
15. James RA, Hoadley PA, Sampson BG. Determination of postmortem interval by sampling vitreous humour. *Am J Forensic Med Pathol* 1997;18(2):158-62.
16. Lange N, Swearer S, Sturmer WQ. Human postmortem interval estimation from vitreous potassium: an analysis of original data from six different studies. *Forensic Sci Int* 1994;66(3):159-74.
17. Munoz JI, Suarez-Penaranda JM, Otero XL, Rodriguez-Calvo MS, Costas E, Miguens X. A new perspective in the estimation of postmortem interval (PMI) based on vitreous. *J Forensic Sci* 2001;46(2):209-14.
18. Lucy D, Aykroyd R, Pollard M. Commentary on Munoz JI, Suarez-Penaranda JM, Otero XL, Rodriguez-Calvo MS, Costas E, Miguens X, Concheiro L. A new perspective in the estimation of postmortem interval (PMI) based on vitreous. *J Forensic Sci* 2001;46(6):1527-8.

19. Madea B, Rödiger A. Time of death dependent criteria in vitreous humor—Accuracy of estimating the time since death. *Forensic Sci Int* 2006;164(2):87-92.
20. Komura S, Oshiro S. Potassium levels in the aqueous and vitreous humor after death. *Tohoku J Exp Med* 1977;122(1):65-8.
21. Adelson L, Sunshine I, Rushforth N, Mankoff M. Vitreous potassium concentration as an indicator of the postmortem interval. *J Forensic Sci* 1963;8(4):503-14.
22. Jashnani KD, Kale SA, Rupani AB. Vitreous humor: Biochemical constituents in estimation of postmortem interval. *J Forensic Sci* 2010;55(6):1523-7.
23. Madea B, Käferstein H, Hermann N, Sticht G. Hypoxanthine in vitreous humor and cerebrospinal fluid—a marker of postmortem interval and prolonged (vital) hypoxia? Remarks also on hypoxanthine in SIDS. *Forensic Sci Int* 1994;65(1):19-31.
24. Garg V, Oberoi S, Gorea R, Kaur K. Changes in the levels of vitreous potassium with increasing time since death. *JIAFM* 2004;26(4):971-3.
25. Madea B. Is there recent progress in the estimation of the postmortem interval by means of thanatochemistry? *Forensic Sci Int* 2005;151(2):139-49.
26. Lendoiro E, Cordeiro C, Rodríguez-Calvo MS, Vieira DN, Suárez-Peñaranda JM, López-Rivadulla M. Applications of Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) in estimating the post-mortem interval using the biochemistry of the vitreous humour. *Forensic Sci Int* 2012;223(1):160-4.
27. Tagliaro F, Bortolotti F, Manetto G, Cittadini F, Pascali VL, Marigo M. Potassium concentration differences in the vitreous humour from the two eyes revisited by microanalysis with capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 2001;924(1):493-8.
28. Mihailovic Z, Atanasijevic T, Popovic V, Milosevic MB. Could lactates in vitreous humour be used to estimate the time since death? *Med Sci Law* 2011;51(3):156-60.
29. Mihailovic Z, Atanasijevic T, Popovic V, Milosevic MB, Sperhake JP. Estimation of the postmortem interval by analyzing potassium in the vitreous humor: could repetitive sampling enhance accuracy? *Am J Forensic Med Pathol* 2012;33(4):400-3.
30. Mihailovic Z, Atanasijevic T, Popovic V, Milosevic MB. The role of vitreous magnesium quantification in estimating the postmortem interval. *J Forensic Sci* 2014;59(3):775-8.
31. Balasooriya B, St Hill C, Williams A. The biochemistry of vitreous humour. A comparative study of the potassium, sodium and urate concentrations in the eyes at identical time intervals after death. *Forensic Sci Int* 1984;26(2):85-91.
32. Pounder DJ, Carson D, Johnston K, Orihara Y. Electrolyte concentration differences between left and right vitreous humor samples. *J Forensic Sci* 1998;43(3):604-7.
33. Mulla A, Massey KL, Kalra J. Vitreous humor biochemical constituents: evaluation of between-eye differences. *Am J Forensic Med Pathol* 2005;26(2):146-9.
34. Thierauf A, Musshoff F, Madea B. Post-mortem biochemical investigations of vitreous humor. *Forensic Sci Int* 2009;192(1):78-82.
35. Zhou B, Zhang L, Zhang G, Zhang X, Jiang X. The determination of potassium concentration in vitreous humor by low pressure ion chromatography and its application in the estimation of postmortem interval. *J Chromatogr B* 2007;852(1):278-81.
36. Blana S, Mußhoff F, Hoeller T, Fimmers R, Madea B. Variations in vitreous humor chemical values as a result of pre-analytical treatment. *Forensic Sci Int* 2011;210(1):263-70.
37. Gagajewski A, Murakami MM, Kloss J, Edstrom M, Hillyer M, Peterson GF. Measurement of chemical analytes in vitreous humor: stability and precision studies. *J Forensic Sci* 2004;49(2):371-4.
38. Bortolotti F, Pascali JP, Davis GG, Smith FP, Brissie RM, Tagliaro F. Study of vitreous potassium correlation with time since death in the postmortem range from 2 to 110 hours using capillary ion analysis. *Med Sci Law* 2011;51(suppl 1):S20-S3.
39. Chandrakanth H, Kanchan T, Balaraj B, Virupaksha H, Chandrashekar T. Postmortem vitreous chemistry—An evaluation of sodium, potassium and chloride levels in estimation of time since death (during the first 36 h after death). *J Forensic Leg Med* 2013;20(4):211-6.
40. Tumram NK, Bardale RV, Dongre AP. Postmortem analysis of synovial fluid and vitreous humour for determination of death interval: a comparative study. *Forensic Sci Int* 2011;204(1):186-90.

41. Rognum TO, Hauge S, Øyasaeter S, Saugstad OD. A new biochemical method for estimation of postmortem time. *Forensic Sci Int* 1991;51(1):139-46.
42. Muñoz Barús JI, Suárez-Peñaranda JM, Otero XL, Rodríguez-Calvo MaS, Costas E, Miguéns X. Improved estimation of postmortem interval based on differential behaviour of vitreous potassium and hypoxanthine in death by hanging. *Forensic Sci Int* 2002;125(1):67-74.
43. Munoz J, Costas E, Rodríguez-Calvo M, Suarez-Penaranda J, Lopez-Rivadulla M, Concheiro L. A high-performance liquid chromatography method for hypoxanthine determination in vitreous humour: application to estimation of post mortem interval. *Hum Exp Toxicol* 2006;25(5):279-81.
44. Girela E, Villanueva E, Irigoyen P, Girela V, Hernández-Cue-to C, Peinado JM. Free amino acid concentrations in vitreous humor and cerebrospinal fluid in relation to the cause of death and postmortem interval. *J Forensic Sci* 2008;53(3):730-3.
45. Odriozola A, Riancho JA, de la Vega R, Agudo G, García-Blanco A, de Cos E. miRNA analysis in vitreous humor to determine the time of death: a proof-of-concept pilot study. *Int J Legal Med* 2013;127(3):573-8.