

ارزش غلظت پتاسیم مایع زجاجیه در تعیین زمان مرگ

فائقه مقدم

کارشناس ارشد سم‌شناسی سازمان پزشکی قانونی کشور

خلاصه

تعیین زمان مرگ (*Postmortem interval (PMI)*) به وسیله اندازه‌گیری غلظت پتاسیم مایع زجاجیه بیش از ربع قرن موضوع بحث و بررسی محققان پزشکی قانونی بوده است. متأسفانه دخالت عوامل مختلف مانع از آن است که در همه موارد بتوان از پتاسیم مایع زجاجیه به‌عنوان شاخص مطمئن *PMI* استفاده نمود. عوامل خارجی مؤثر بر غلظت پتاسیم این نمونه بیولوژیکی شامل: تکنیکهای نمونه‌برداری، روشهای تجزیه‌ای و بالاخره درجه حرارت محیط است و از مهمترین فاکتورهای داخلی شناخته‌شده می‌توان از سن و نیز مقدار اوره نیتروژن نام برد. در حال حاضر اندازه‌گیری غلظت هیوگراتین در مایعات بیولوژیکی و تری‌متوکسی تیرامین در پوتامن مغز از فاکتورهای مورد نظر در حدس *PMI* می‌باشند. در این مقاله با مروری بر ارزش اندازه‌گیری غلظت پتاسیم مایع زجاجیه، محدودیت‌ها و نیز روشهای پیشنهادی جهت بالابردن کارایی آن در تعیین زمان مرگ مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد.

مرگ فقط در محدوده زمانی وسیع و احتمالی قابل ارزیابی است. استفاده از روشهای پاراکلینیکی به‌نحوی که با اندازه‌گیریهای دقیق آنها بتوان خطای روشهای بالینی را به حداقل رسانیده و امکان تعیین زمان مرگ را با درجه اطمینان بیشتری فراهم نمود، همواره مورد نظر محققان بوده است.

مشاهده تحولات وسیع در پارامترهای بیوشیمیایی بدن پس از مرگ فکر اولیه استفاده از این تغییرات در تعیین زمان مرگ است.

تعیین دقیق زمان مرگ یکی از مهمترین مباحث پزشکی قانونی در جرم‌شناسی است. چه بسا که روشن‌شدن زمان فوت بخصوص در مرگهای مشکوک و بدون شاهد، بتواند بی‌گناهی را از دام اتهام برهاند و یا جرم‌گناهکاری را به اثبات رساند.

شواهد فیزیکی بدن نظیر تغییرات درجه حرارت، علائم چشمی، سختی جسد و غیره مدتهای طولانی برای تخمین *PMI* مورد استفاده قرار گرفته و باید اذعان نمود که در اغلب موارد با این شواهد، زمان

نتایج بسیاری از بررسیهای اولیه نیز مؤید نظریات Adelson و همکاران بود و از بین آنها می توان جالبترین نتایج را متعلق به یک بررسی تصادفی بر مایع زجاجیه ۵۴ جسد دانست (Sturner 63): در این بررسی در زمان بیش از ۱۰۴ ساعت پس از مرگ و با حد اعتماد ۹۵٪، خطای معیار $\pm 9.5h$ تعیین گردید. ولی به تدریج تحقیقات دیگری که در شرایط مختلف انجام پذیرفت، تفاوت آشکاری را در پارامترهای منحنی بخصوص در خطای معیار مطرح نمود، به طوریکه در نتایج چهار بررسی: Sturner(63)، Hughes(65)، Hansson(66) و Stegmaier(71) که در زمانی تقریباً معادل ۱۰۰ ساعت پس از مرگ انجام گرفت خطای معیار از ± 9.5 تا ± 40 ساعت متفاوت بود (جدول شماره ۱).

جدول ۱: غلظت پتاسیم در مایع زجاجیه

95% - limits of confidence

	p.m. interval	95% $\pm h$
STURNER 63	104h	9.5
STEGMAIER 71	85h	16
HUGHES 65	100h	20
HANSSON 66	120h	40

این جمع بندی اگرچه تا حدودی مایوس کننده بود ولی در عین حال ایجاب نمود که عوامل خطاساز و کیفیت اثر آنها روشن گردد، با این امید که شناسایی و احتراز از این نوع عوامل بتواند غلظت پتاسیم زجاجیه را در تعیین PMI حتی المقدور معتبر و قابل اتکا باقی گذارد. به نظر می رسد وجود اختلاف نتایج در بررسیهای مختلف، ناشی از دخالت عامل (و یا عوامل) زیر باشند:

۱- عوامل خارجی

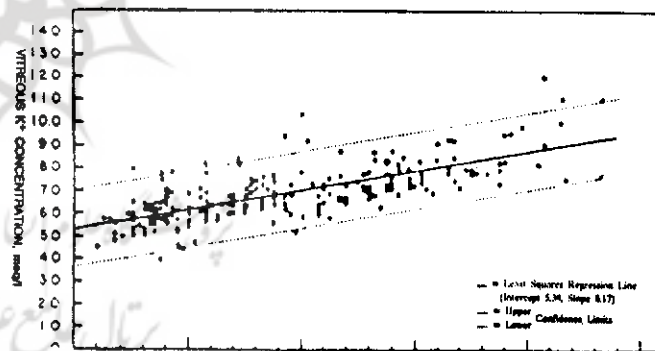
این عوامل به طور عمده وابسته به تکنیک نمونه برداری، روشهای تجزیه ای و بالاخره اختلاف درجه حرارت محیط می باشد.

در واقع هر پارامتری که تغییرات کمی آن پس از مرگ (در جهت افزایش یا کاهش) تابع ثابت تری از زمان بوده و عوامل محدودتری بتوانند آهن تغییرات آن را تحت الشعاع قرار دهند فاکتور مناسب تری برای تخمین PMI محسوب می گردد. علیرغم بررسیهای وسیع هیچ یک از فاکتورهای بیوشیمیایی در اجساد تا به امروز نتوانسته اند با دقتی مطلوب زمان مرگ را مشخص نمایند و به همین علت استفاده از آنها پس از مدتی به فراموشی سپرده شده است.

ولی بنا بر دلایل مختلفی، انباشتگی یون پتاسیم زجاجیه، بیش از سه دهه مورد بحث و مذاقه محققان بوده و بیش از همه در مورد کارایی آن نظرات موافق و مخالف ارائه گردیده است.

مایع زجاجیه، دارای ترکیبی مشابه مایع نخاعی و سرم بوده و در عین حال پس از مرگ از آلودگیهای خون، باکتریها و اتولیز جسد، نسبتاً مصون است مایع زجاجیه به ویژه به علت نمونه گیری ساده و بدون نیاز به کالبدگشایی از نمونه های مورد توجه در پزشکی قانونی است.

استفاده از این نمونه دارای سابقه ای طولانی و با ارزش در سم شناسی پزشکی قانونی به خصوص در تشخیص داروها، مرفین و الکل است.



شکل ۱: فاصله زمانی بعد از مرگ بر حسب ساعت

اولین بار Nauman (۱۹۵۹) ضمن بررسی ترکیب بیوشیمیایی مایع زجاجیه، افزایش غلظت آنرا پس از مرگ گزارش نمود و چند سال بعد Adelson و همکاران (۱۹۶۳) وجود یک ارتباط خطی بین غلظت پتاسیم و زمان مرگ را ثابت و استفاده از آن را در تخمین PMI پیشنهاد نمودند.

Adelson در این بررسی مقدار پتاسیم در زمان صفر (Intercept) را، 5.36 meq/l و شیب منحنی (slope) را، 0.17 meq/l per h تعیین نمود (شکل ۱).

۱-۱- تکنیک نمونه برداری:

در نمونه گیری از مایع زجاجیه دو نکته حائز اهمیت است، اولاً لازمست که تمام حجم مایع قابل اسپیراسیون از چشم تخلیه گردد، زیرا که غلظت پتاسیم در قسمت میانی کره چشم متفاوت از بخش شبکیه بوده و ثانیاً نمونه باید به آهستگی اسپیره گردد، تخریب و کنده شدن بافت‌های اطراف موجب می‌گردد که سلولهای اضافی با این مایع همراه گشته و الکترولیتهای ناشی از این سلولها به آسانی قادر به تحریف نتایج خواهند بود.

۲-۱- روشهای تجزیه‌ای:

به‌طور کلی اندازه‌گیری پتاسیم زجاجیه به دو روش انجام می‌گیرد:

الف: روش SIE (Specific Ion Electrode)، که یک روش پتانسیومتری است. و در آن با استفاده از یک الکتروود مخصوص جامد، مایع و یا گاز به اندازه‌گیری یونها می‌پردازند (در اندازه‌گیری پتاسیم از الکتروود نوع مایع استفاده می‌شود)، با استفاده از این روش اندازه‌گیری یونها در مقادیر بسیار ناچیز میسر است.

ب: F.P. (Flame Photometry)، یا نورسنجی شعله‌ای، یک روش طیف‌سنجی است و در آن تحریک اتمهای یک نمونه با افشاندن محلولی از آن به‌داخل یک شعله داغ انجام می‌شود و تابش منتشر شده به وسیله اتمهای تحریک شده متناسب با غلظت است.

مهمترین موارد کاربرد این روش در تجزیه فلزاتی مانند سدیم، پتاسیم، کلسیم و لیتیم مخصوصاً در بافتها و نمونه‌های زیستی است. تعیین غلظت پتاسیم مایع زجاجیه نسبت به دستگاه تجزیه‌ای مورد استفاده متفاوت گزارش شده است. مثلاً بررسیهایی که در آن مقدار پتاسیم یک نمونه زجاجیه با دو روش F.P. و S.I.E انجام گرفته دارای اختلاف معنی‌داری بوده‌اند و بطور کلی به نظر می‌رسد غلظت پتاسیم به علت اختلاف حساسیت دو روش متفاوت است بدین معنی که مقدار آن در زمان صفر و نیز مقدار شیب رگرسیون در بررسیهایی که با دستگاه S.I.E انجام گرفته بیش از مقادیر مشابه آن توسط دستگاه F.P. می‌باشد.

۳-۱- درجه حرارت محیط:

بدون تردید افزایش درجه حرارت محیط تعیین‌کننده‌ترین فاکتور در افزایش غلظت پتاسیم در PMI می‌باشد. Rognam و همکاران (۱۹۹۱) افزایش غلظت پتاسیم زجاجیه را در $0.17 \text{mmol/l/h } ^\circ\text{C}$ و در

230°C ، 0.30mmol/l/h اعلام نموده‌اند.

۲- عوامل داخلی

اگرچه عوامل داخلی و چگونگی اثر آنها بر غلظت پتاسیم زجاجیه پس از مرگ ناشناخته‌تر از عوامل خارجی است ولی از دو عامل سن و سابقه بیماریها می‌توان به‌عنوان شاخصترین آنها نام برد:

۱-۲- سن:

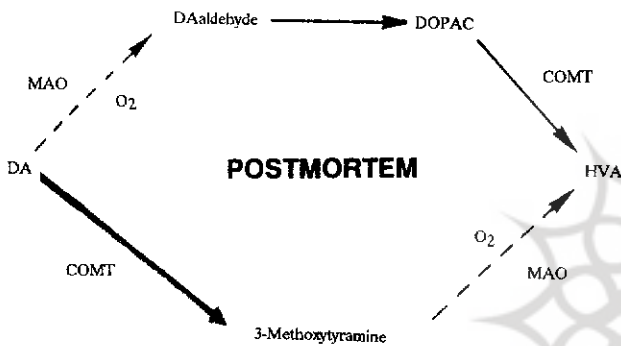
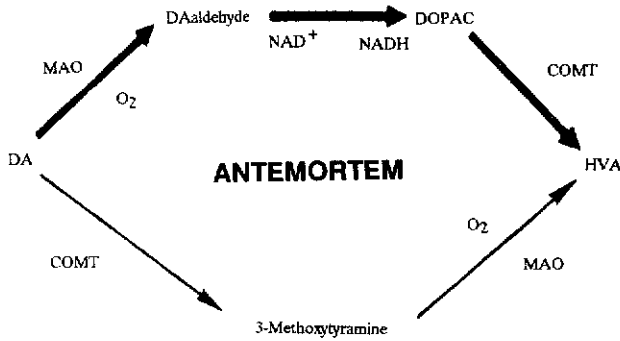
سطح پتاسیم زجاجیه در کودکان بسیار سریعتر از بالغین افزایش می‌یابد، به همین علت تعیین زمان مرگ در کودکانی که با استفاده از منحنی‌های بالغین انجام گرفته باشد، بیش از زمان مرگ واقعی آنها می‌باشد.

۲-۲- بیماریها:

افزایش پتاسیم زجاجیه در اجساد افرادی با سابقه بیماریهای مزمن بی‌قاعده‌تر از افرادی است که به‌دنبال یک علت حاد و تروماتیک فوت نموده‌اند، علت این پدیده هنوز به‌درستی روشن نیست ولی احتمال دارد تغییر غلظت پتاسیم در زمان حیات و اثر آن بر غلظت پتاسیم زجاجیه در زمان مرگ علت این پدیده باشد و بالاخره تحقیقات Medea و همکاران (۱۹۸۹) نشان می‌دهد که افزایش پتاسیم زجاجیه در افرادی که دچار احتباس اوره نیتروژن قابل توجهی (بیش از 100mg/dl یا 35.7mmol/l) می‌باشند پس از مرگ سریعتر از سایرین انجام می‌گیرد.

با توجه به محدودیت‌های استفاده از پتاسیم زجاجیه در تعیین PMI اخیراً استفاده از چند فاکتور شیمیایی به‌همراه یکدیگر، به‌نحوی که نتایج آنها بتواند با همپوشانی نقاط ضعف یکدیگر نتایج قابل اعتمادتری را ارائه نماید مورد توجه قرار گرفته است و در حال حاضر استفاده از دو فاکتور هیپوگزانتین و تری‌متوکسی تیرامین^(۱) بیش از سایر روشها مطرح است:

۱- هیپوگزانتین (HX) که از آدنیلک اسید^(۲) مشتق می‌شود، محصول واسطه سنتز اوریک اسید و پیش‌تاز گزانتین است. HX از



- Antemortem and postmortem fate of putaminal dopaamine.

DA = Dopamin

CoMT = Catechol-o-methyl transferase

MAO = Monoaminoxidase

DoPAC = Dihydroxy Phenylacetic Acid

HVA = Homovanillic Acid

شکل ۲

مایع زجاجیه لاینحل باقی می ماند. ولی متأسفانه تاکنون بررسیهای که بتواند جوابگویی این نیاز باشد انجام نپذیرفته است.

از سوی دیگر به نظر می رسد استفاده از پتاسیم زجاجیه در مواردی که مدت طولانی تری از مرگ گذشته باشد، باارزشر است. Medea (۱۹۹۰) در این مورد چنین اظهار نظر می کند:

«به نظر ما پتاسیم مایع زجاجیه در ۲۴ ساعت اول زمان مرگ ارزش محدودی دارد زیرا که در این فاصله سایر متدها مانند استفاده از درجه حرارت بدن، فعالیت الکتریکی ماهیچه ها و قابلیت تحریک

تخریب هیپوکسیک آدنوزین منوفسفات (AMP) ایجاد می شود. بنابراین انتظار می رود در شرایط کمبود اکسیژن غلظت این متابولیت AMP در بافتها و مایعات بیولوژیکی افزایش یابد. در سال ۱۹۷۵ هیپوگزانترین به عنوان شاخص بیوشیمیایی تئوری هیپوکسی در کودکانی که دچار سندرم مرگ ناگهانی (S.I.D.S) می گردند، مطرح گردید و افزایش معنی دار آن در مایعات بیولوژیکی (سرم، مایع نخاعی و ادرار) این قبیل کودکان مورد توجه قرار گرفت.

و بالاخره Saugstad در سال ۱۹۷۸ اولین گزارش را در مورد ارزش هیپوگزانترین در تعیین PMI ارائه نمود. استفاده از HPLC مهمترین روش اندازه گیری هیپوگزانترین می باشد.

۲- دوپامین یک واسطه شیمیایی عصبی در CNS است و به طور عمده توسط منوآمینو اکسیداز کاتابولیزه می گردد. تبدیل دوپامین به تری متوکسی تیرامین (3MT) در واقع یک راه فرعی کاتابولیسیم دوپامین در vivo است ولی پس از مرگ 3MT مبدل به متابولیت عمده و اصلی دوپامین می گردد (شکل ۲).

اندازه گیری 3MT پوتامن خلفی مغز به وسیله HPLC الکتروشیمیایی انجام می گیرد و غلظت آن در بررسیهای مختلف نشانگر یک رابطه خطی با PMI می باشد.

بحث و نتیجه گیری

نظر به تفاوت آشکار موجود در گزارشات مختلف آیا می توان غلظت پتاسیم مایع زجاجیه را به تنهایی و یا همراه با سایر فاکتورهای بیوشیمیایی شاخص بالارزشی در تعیین PMIT دانست؟ نتایج بررسیهای انجام شده بیانگر آنست که استفاده از افزایش غلظت پتاسیم در تعیین PMT فقط زمانی مفید است که عوامل مداخله گر در مورد هر فرد به درستی ارزیابی شده و مورد نظر قرار گیرد.

به دلیل اهمیت درجه حرارت محیط بدون شک استفاده از یک منحنی جداگانه برای هر درجه حرارت مطمئن تر است ولی برای سهولت کار می توان از فرمول پیشنهادی Sturner استفاده نمود:

$$PMI = 7.14 \times K \text{ Concentration} - 39.1$$

باید توجه نمود که نتایج حاصل از این فرمول در شرایطی که درجه حرارت کمتر از 10°C (50°F) باشد قابل اعتمادتر است. تعیین PMT در کودکان نیز نیازمند استفاده از منحنی مخصوص آن سن است و تا زمانی که جداول رفرنس برای گروههای سنی کمتر از ۷ سال در دسترس نباشد مشکل تعیین PMI در کودکان به وسیله پتاسیم

محركهائی چون آمفتامین و كوكائین از كارایی 3MT می‌كاهد زیراكه مصرف این محركها در حیوانات سبب آزادشدن دوپامین از عقده‌های قاعده‌ای (basal ganglia) می‌گردد، (انباشتگی دوپامین گاهی اوقات در مصرف اوپیوئیدها نیز مشاهده گردیده است). از سوی دیگر در مصرف باربیتوراتها به علت کاهش ترشح نوروترانسمیترها با مقادیر کمتر 3MT و کاهش برآورد PMI روبرو خواهیم بود.

در مسمومیت با داروهایی كه سبب دپرسیون تنفسی می‌گردند، به دلیل وجود شرایط هیپوكسی، غلظت هیپوگزانتین نیز افزایش می‌یابد و در نتیجه استفاده از هیپوگزانتین در این گونه موارد موجب می‌شود PMI بیش از زمان واقعی آن ارزیابی گردد، بنابراین با توجه به تداخلات ذكرشده توصیه می‌شود از این دو فاکتور فقط در صورت منفی بودن نتیجه آزمایشات سم شناسی استفاده گردد.

شیمیایی عنیبه کاربرد بهتری دارند ولی با افزایش زمان مرگ كارایی روشهای فیزیکی به علت از بین رفتن فعالیت‌های الكتریکی و متعادل شدن دمای بدن با محیط کمتر گشته و به همین علت ارزش استفاده از غلظت پتاسیم زجاجیه افزایش می‌یابد.

در مورد سایر فاکتورهای بیوشیمیایی باید گفت كه مطمئناً تعیین غلظت هیپوگزانتین مایع زجاجیه و 3MT پوتامن مغز می‌تواند به بالابردن حد اطمینان پتاسیم مایع زجاجیه در حدس PMI یاری رساند مشروط بر آنكه عوامل خطاساز و محدودكننده آنها نیز مد نظر قرار گیرد.

اثرات دسته‌ای از داروها و مواد شیمیایی از جمله موارد شناخته شده‌ای است كه سبب می‌شوند ارزیابی PMI با این دو فاکتور نیز دچار خطا گردد، مثلاً انباشتگی اولیه دوپامین در اثر مصرف

REFERENCES

- Adelson, L. and et al.
Vitreous potassium concentration as an indicator of the postmortem interval. *J. Forensic Sci.* 8:503-519 (1963).
- Coe, J. I.
Vitreous Postassium as a measure of the postmortem interval: An historical review and critical evaluation. *Forensic science international.* 42:201-213 (1989).
- Coe, J. I. and Apple, F.S.
Variations in vitreous humor chemical values as result of instrumentation. *J. of Forensic sciences,* 30:828-835 (1985).
- Lange, N., Swearer, S., Sturmer, W.Q.
Human postmortem interval estimation from vitreous potassium: an analysis of original data from six different studies. *Forensic science international* 66:159-174 (1994).
- Medea, B. Herrman, N, and Henbge, C.
Precision of estimation the time since death by vitreous potassium comparison of two different equations. *Forensic science international,* 46:277-289 (1990).
- Medea, B. and et al.
References for determining the time of death by potassium in vitreous humor. *Forensic sciences international* 40:231-243 (1989).
- Manahan, S.E.
Quantitative chemical Analysis (1986) Brooks/Cole Co.
- Nauman, H.N. Postmortem chemistry of the vitreous body in man. *Arch ophthal,* 62:359-363. (1959)
- Rognum, T.O., et al.
A new biochemical method for estimation of postmortem time. *Forensic science international,* 51:139-146 (1991).
- Rognum, T.O., and Saugstad, G.D.

- Hypoxanthine levels in vitreous huymor: Evidences of Hypoxia in most infants of died of sudden infants death syndrome.
Pediatrics, 87:306-310 (1991).
11. Saugstad, O.D., and Olaisen, B.
Postmortem hypoxanthine levels in the vitreous humour
Forensic science international, 12:33-36 (1978).
12. Sparks, D.L. and et al.
3-Methoxytyramine in the putamen as a gauge of the postmortem interval. J. of Forensic sciences, 31:962-971 (1986).
13. Sturner, W. Q and Gatner, G.E.
The postmortem interval: a study of potassium in the vitreous humor. Am. J. Clin, Pathol, 42:137-144 (1964).
14. Sturner, W.Q. the vitreous humour: postmortem potassium chauges.
The lancet, 1:807-808 (1963).
15. Stephens, T.J., and Richards, R.G., vitreous hamor chemistry: The use of potassium concentration for the prediction of the postmortem interval, J. of forensic sciences, 32:503-509 (1987).
16. Sparks, D.L. and et al.
Comparison of chemical methods for determining postmortem interval.
J. of forensic sciences, 34:197-206 (1989).
17. Wang, W.E. and Howell, S.B.
Simultaneous liquid chromatography of 5-Fluorouracil, uridine, hypoxanthine, xanthine, uric acid, allopurinol and oxypuynol in plasma. Clin. Chem, 26:1706-1708 (1980).
18. Yip, D.C., and Shom, B.S.
A study on the correlation of blood and viterous humour alcohol levels in the late absorption and elimination phases.
Med. sci. law, 30:29-33 (1990).
19. Ziminski, K.R., and et al.
Comparative study of postmortem barbiturates, methadone, and morphine in vitreous humor, blood, and tissue.
J. of forensic sciences 29:903-909 (1989).

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
رتال جامع علوم انسانی