



Praca oryginalna
Original paper

Suzanne N. Foster¹, Paul R. Smith², Michael Biggs¹, Guy N. Ritty¹, Frances E. Hollingbury¹, Stephen R. Morley²

Ustalanie czasu, jaki upłynął od zgonu, na podstawie poziomu potasu w cieple szklistym oka u ofiar śmiertelnych wypadków drogowych

Estimation of postmortem interval using vitreous potassium levels in cases of fatal road traffic collision

¹Wydział Patologii Sądowej, Uniwersytet Leicester, Leicester, Wielka Brytania

²Oddział Toksykologii Sądowej, Leicester Royal Infirmary, Leicester, Wielka Brytania

¹East Midlands Forensic Pathology Unit, University of Leicester, Leicester, United Kingdom

²Forensic Toxicology Unit, Leicester Royal Infirmary, Leicester, United Kingdom

Streszczenie

Cel pracy: Opracowanie formuły, która umożliwi dokładne określenie czasu, jaki upłynął od zgonu (*postmortem interval* – PMI) przy wykorzystaniu analizy poziomu potasu w cieple szklistym – na podstawie grupy ofiar śmiertelnych wypadków drogowych.

Materiał i metody: Materiał stanowiły próbki płynu z ciała szklistego pobrane od 78 osób, które zmarły w następstwie wypadku drogowego w okresie od 2010 do 2015 r. Próbkę pobrano z obojga oczu i przekazano do analizy. Pomiar poziomu potasu przeprowadzono w sposób pośredni przy wykorzystaniu diagnostycznego analizatora wyposażonego w elektrody jonoselektywne – ADVIA 2400 chemistry system marki Siemens. Dokładny czas zgonu ofiar był znany z dokumentacji policyjnej. Odnotowano czas pośmiertnego pobrania próbek oraz obliczono PMI. Następnie metodą regresji liniowej przeanalizowano zależność między tymi dwoma wielkościami. Oceniono również wpływ wieku ofiar.

Wyniki: Wartości PMI mieściły się w przedziale 6–62 godzin. W miarę wzrostu poziomu potasu w cieple szklistym rośnie także wartość PMI. Zależność między tymi zmiennymi ma charakter liniowy. Opisuje ją równanie regresji $PMI = 6,42[K+] - 40,94$, $R = 0,67$ ($p < 0,001$). W efekcie uzyskano formułę o wysokim stopniu zbieżności z trzema innymi badaniami opisanymi we wcześniejszych doniesieniach literaturowych. Formuła dostarcza wartości szacunkowych, które mogą wykraczać poza jeden dzień kalendarzowy. Uwzględnienie wieku oraz interwencji medycznej powoduje jedynie nieistotną poprawę wartości predykcyjnej formuły.

Wnioski: Przy wykorzystaniu zwalidowanych metod uzyskano formułę umożliwiającą ustalenie PMI na podstawie poziomu potasu w płynie ciała szklistego. Chociaż niniejsza praca dotyczy ofiar wypadków drogowych, metody podlegają ekstrapolacji i można je uznać za porównywalne z innymi metodami opublikowanymi w ostatnim czasie. Jednakże w tych przypadkach, w których niezbędny jest większy poziom dokładności, zaleca się stosowanie biomarkerów zapewniających większą precyzję.

Słowa kluczowe: potas, czas, jaki upłynął od zgonu (PMI), czas zgonu, płyn ciała szklistego, patologia sądowa, wypadek drogowy.

Abstract

Aim of the study: To produce a formula that can accurately predict postmortem interval (PMI) based on vitreous potassium levels using road traffic collision fatalities.

Material and methods: Vitreous humour samples were taken from 78 individuals who had died following road traffic collisions between 2010 and 2015. Samples were obtained from both eyes and were sent for on-site analysis. Measurement of potassium was by an indirect ion-specific electrode Siemens diagnostics ADVIA 2400 chemistry system. Exact time of death was known from police reports, the time of postmortem was recorded and the postmortem interval was calculated. Linear regression was then used to analyse the relationship between the two. The impact of age was also assessed.

Results: PMI was between 6 and 162 hours. As vitreous potassium increases, the PMI also increases; exhibiting a linear relationship. This is illustrated by a regression equation of $PMI = 6.42[K^+] - 40.94$, $R = 0.67$ ($p < 0.001$). This produced a formula closely comparable with three other studies proposed in previous literature and produces estimates that may exceed one calendar day. When both age and medical intervention are accounted for there is an insignificant improvement in prediction.

Conclusions: Validated methods have been used to produce a formula for prediction of PMI using vitreous potassium. Although this is specific to road traffic collisions, the methods are transferable and can be seen to be comparable with other recently published methods. Nonetheless, if greater levels of accuracy are required it is suggested that biomarkers delivering a higher level of precision should still be sought.

Key words: potassium, postmortem interval (PMI), time of death, vitreous humour, forensic pathology, road traffic collision.

Wprowadzenie

Ustalenie czasu, jaki upłynął od zgonu (*postmortem interval* – PMI), może odgrywać istotną rolę w badaniach sądowo-lekarskich. Określenie miejsca, czasu i rodzaju zgonu osoby zmarłej do celów ewidencyjnych leży w kompetencjach koronera. W przypadku zgonów objętych dochodzeniem policyjnym niezbędne mogą się okazać ustalenie punktu czasowego, w którym doszło do napaści, i weryfikacja alibi przedstawionego przez podejrzanego [1]. Dokładność takich szacunków jest szeroko dyskutowana w literaturze przedmiotu już od wielu lat [2]. Na przestrzeni lat stosowano do tego celu czysto fizyczne sposoby wyznaczania PMI przy wykorzystaniu znamion śmierci – spadku temperatury zwłok i powstawania plam opadowych, oraz procesów fizykochemicznych – m.in. obecności stężenia pośmiertnego lub jego braku, a także procesów gnilnych zachodzących w wyniku metabolizmu bakteryjnego [3–6]. W literaturze opisano wiele zmian biochemicznych występujących po śmierci na poziomie komórkowym. Wykazano, że są one skutkiem wystąpienia m.in. autolizy i reakcji metabolicznych [6].

Oznaczenie pośmiertnego poziomu potasu w płynie znajdującym się w ciele szklistym oka jest wiary-

Introduction

The estimation of the postmortem interval (PMI) can play an important role in medico-legal investigation. For the purpose of registration, it is the jurisdiction of the HM Coroner to establish where, when and by what means an individual came to death. In deaths investigated by the police it may be necessary to establish the timing of when an assault has occurred and to check the legitimacy of a suspect's alibi [1]. Its accurate prediction has been debated in the literature for many years [2]. Historically, purely physical techniques of postmortem interval estimation based upon methods such as body cooling and development of hypostasis have been employed along with physiochemical processes such as the presence or absence of rigor mortis and the process of putrefaction secondary to bacterial metabolism [3–6]. A plethora of biochemical changes occurring at a cellular level have been described during the postmortem period. These processes are known to arise due to occurrences such as autolysis and metabolic reactions [6].

Vitreous humour is a trusted site for measurement of postmortem potassium levels because it is isolated from the rest of the body and is relatively un-

godną metodą, ponieważ jest to lokalizacja „odizolowana” od reszty organizmu i w przeciwieństwie do krwi czy płynu mózgowo-rdzeniowego w stosunkowo niewielkim stopniu ulega zmianom powodowanym przez rozkład sąsiednich tkanek. Wzrost stężenia potasu w ciele szklistym następuje na skutek ustania działania pompy umożliwiającej przenikanie potasu przez błonę półprzepuszczalną aż do osiągnięcia stanu równowagi [7, 8]. Opracowano liczne formuły pomiaru pośmiertnego poziomu potasu w ciele szklistym i jego wykorzystania przy ustalaniu PMI [4, 5, 9–20]. Zaleca się m.in. przeprowadzanie oznaczeń metodą regresji liniowej, w której stężenie potasu jest zmienną niezależną, a PMI – zmienną zależną [10, 14, 21].

Znajomość dokładnego czasu zgonu ma kluczowe znaczenie przy opracowywaniu formuły predykcyjnej, która daje wiarygodne wyniki. Nie zawsze jednak czas zgonu jest rejestrowany z wystarczającą precyzją. Wskazuje się, że rodzaj śmierci może mieć wpływ na dokładność oznaczania pośmiertnego poziomu potasu w płynie ciała szklistego, a należyte uwzględnienie tej kwestii umożliwia poprawę precyzji [14].

Cel pracy

Celem pracy było stworzenie formuły umożliwiającej dokładne określenie PMI na podstawie poziomu potasu w płynie ciała szklistego. Wykorzystano przypadki zgonów w wypadkach drogowych ze względu na znane okoliczności i dokładny czas śmierci. Rozważono także potencjalny wpływ wieku.

Materiał i metody

Dobór przypadków

Próbki płynu z ciała szklistego oka pozyskano od 78 nieselekcjonowanych kolejnych śmiertelnych ofiar wypadków drogowych w latach 2010–2015, w wieku powyżej 18 lat. We wszystkich przypadkach koroner formalnie zlecił przeprowadzenie sekcji zwłok i pobranie próbek biologicznych w celu wykonania analiz toksykologicznych i biochemicznych. próbki pobrano z obojga oczu za pomocą strzykawki o pojemności 10 ml z igłą 18G. Pobrany materiał przeniesiono do pojedynczego standardowego pojemnika na próbki w celu wykonania analizy pośmiertnej. próbki były optycznie czyste i nie zawierały widocznych makroskopowo pozostałości ani przebarwień, w przypadku któ-

affected by decomposition of surrounding tissue as can be seen with blood and CSF. A rise in potassium within the vitreous occurs due to a cessation of the pump, allowing potassium to cross the semi-permeable membrane until equilibrium is reached [7, 8]. Vitreous potassium levels as measured postmortem and their utilisation in the prediction of postmortem interval has resulted in the proposal of multiple formulae [4, 5, 9–20]. It has been recommended that this be done using linear regression with potassium as the independent variable and postmortem interval as the dependent variable [10, 14, 21].

Knowing an accurate time of death is something that is of utmost importance if useful results are desired when designing a predictive formula. This is something that may not always be recorded with great precision. It has been suggested that the mode of death may have an impact on the accuracy of utilising postmortem vitreous levels and a higher level of precision can be achieved when this is accounted for [14].

Aim of the study

The aim of this study is to produce a formula that can accurately predict postmortem interval based on vitreous potassium levels using road traffic collision fatalities where the circumstances of the death and the exact time of death are known. The potential effect of age is also considered.

Material and methods

Case selection

Vitreous humour samples were obtained from 78 non-selected consecutive individuals over the age of 18 years who died as a result of road traffic collisions between 2010 and 2015, where legal authority was provided by the HM Coroner to undertake a postmortem examination and recover biological samples for toxicological and biochemical investigation. Samples were obtained from each eye using a 10 ml syringe and 18-G needle and decanted into a single plain specimen container for postmortem analysis. The specimens were optically clear, showing no obvious macroscopic debris or discolouration, which is considered to pose a potential risk of producing erroneous results due to contamination with blood

rych istnieje potencjalne ryzyko fałszywych wyników na skutek zanieczyszczenia krwią [21]. Dokładny czas zgonu ofiar był znany z akt policyjnych. Odnotowano czas pośmiertnego pobrania próbek oraz obliczono znany PMI. Z badania wyłączono próbki pobrane od osób, u których nie określono precyzyjnie czasu zgonu. Uwzględniono PMI o długości do jednego tygodnia. Analiza objęła 58 osób, których zgon stwierdzono na miejscu zdarzenia, oraz 20 osób, u których przeprowadzono interwencję medyczną (3 osoby zmarły podczas przewożenia do szpitala, 10 podczas pobytu na szpitalnym oddziale ratunkowym, a kolejnych 7 na skutek obrażeń odniesionych w wypadku drogowym po pobycie w szpitalu przez okres do jednego tygodnia).

Analiza biochemiczna

Próbki przekazano do pracowni toksykologii sądowej w celu ilościowego oznaczenia poziomu elektrolitów, w tym potasu. Po odwirowaniu próbek przeprowadzono pomiary stężenia potasu metodą pośrednią przy wykorzystaniu diagnostycznego analizatora wyposażonego w elektrody jonoselektywne – ADVIA 2400 chemistry system (Siemens Healthcare, Niemcy), który jest standardowo używany w pracowni.

Analiza statystyczna

Metodą regresji liniowej zbadano zależność między poziomem potasu w płynie ciała szklistego a czasem, jaki upłynął od zgonu. W modelu regresji wielokrotnej uwzględniono wiek jako potencjalny czynnik zakłócający.

Zgoda komisji etycznej

Próbki płynu z ciała szklistego oka pobiera się rutynowo od wszystkich ofiar wypadków drogowych badanych przez Wydział Patologii Sądowej w Leicester pod kątem analiz toksykologicznych i określania profili biochemicznych. Jednostka ta przekazuje opis uzyskanych wyników do patologa sądowego odpowiedzialnego za daną sprawę w celu dołączenia do końcowego raportu z sekcji zwłok. W związku z tym nie było konieczne uzyskanie dodatkowej zgody komisji etycznej.

Wyniki

W grupie 78 analizowanych przypadków wiek mieścił się w przedziale 18–94 lat, średnia wieku wy-

[21]. The exact time of death was known from police reports, the time of postmortem sampling recorded and known postmortem interval calculated. Samples from individuals where a precise time of death was not established were not included in the study. Time-frames of up to one week postmortem interval were included. There were 58 individuals pronounced dead at the scene and 20 who received medical intervention (3 died in the ambulance, 10 died in the Accident and Emergency department, and 7 died due to the injuries sustained in road traffic collision following a stay in hospital of up to one week).

Biochemical analysis

The specimens were sent for on-site analysis within the forensic toxicology department for quantification of electrolytes including potassium. Following sample centrifugation measurement of potassium was by an indirect ion-specific electrode Siemens diagnostics ADVIA 2400 chemistry system (Siemens Healthcare, Germany) which is used as standard within the department.

Statistical analysis

Linear regression was used to analyse the relationship between the vitreous potassium levels and postmortem interval. The possibility of age being a confounding factor was considered in a multilinear regression model.

Ethical approval

Vitreous humour is obtained as routine in all road traffic collision cases undertaken by the East Midlands Forensic Pathology Unit in Leicester as part of toxicological analysis, and biochemistry profiles are performed. Interpretation by the forensic toxicology department is then submitted to the reporting forensic pathologist for inclusion in the final postmortem report. Additional ethical approval was not required.

Results

Of the 78 cases the age ranged from 18 to 94 years with a median age of 45 years, interquartile range

nosiła 45 lat, a przedział międzykwartyłowy 26,75–60 lat. Czas, jaki upłynął od zgonu, wynosił 6–162 godzin i wykazywał cechy rozkładu normalnego. Powyższe ramy czasowe uwzględniono z uwagi na fakt, że niektóre z osób zmarły na miejscu zdarzenia, a inne przed śmiercią przebywały w placówkach szpitalnych. Średnia wartość PMI wyniosła 74,2 godziny przy odchyleniu standardowym 39,4.

We wszystkich analizowanych przypadkach przy wykorzystaniu prostej regresji liniowej określano PMI na podstawie poziomu potasu w płynie ciała szklistego: zarówno u ofiar, które zmarły na miejscu zdarzenia ($n = 58$), jak i u osób, u których przeprowadzono interwencje medyczne ($n = 20$). Uzyskano istotne równanie regresji: $(F(1,76) = 155,676, p < 0,001)$. Wartość R^2 wyniosła 0,672 ($p < 0,001$). Czas, jak upłynął od zgonu, wyniósł $-40,94 + 6,42(K)$ h dla pomiaru poziomu potasu w mmol/l. Wartość PMI rosła o 6,42 godziny na jeden mmol/l potasu – przy przedziale ufności 5,4–7,4 (ryc. 1.). Dane obejmują zakres od średniego niedoszacowania wynoszącego –18,5 godziny (odchylenie standardowe 13,3 godziny) do średniego przeszacowania 16,1 godziny (odchylenie standardowe 16,3 godziny).

Następnie u osób, które zmarły na miejscu zdarzenia ($n = 58$), wyliczono prostą regresję liniową ($F(1,56) = 118,481, p < 0,001$). Wartość R^2 wyniosła 0,679 ($p < 0,001$). Czas, jak upłynął od zgonu, wyniósł $-32,48 + 5,97(K)$ h dla pomiaru poziomu potasu w mmol/l. Wartość PMI rosła o 5,97 godziny na jeden mmol/l potasu – przy przedziale ufności 4,9–7,4.

Oba uzyskane równania (dla całej grupy oraz dla ofiar, które zmarły na miejscu wypadku) zastosowano w odniesieniu do analizowanego zestawu danych w celu ich porównania za pomocą sparowanego testu T. Nie odnotowano istotnej różnicy pod względem wyników otrzymanych przy wykorzystaniu oryginalnej formuły dla całej grupy (wartość średnia 70,67; odchylenie standardowe 34,12) oraz formuły dotyczącej osób zmarłych na miejscu zdarzenia (wartość średnia 71,31, odchylenie standardowe 31,77); $t(57) = -2,03, p = 0,047$. Z tego względu w pracy zastosowano pierwszą z formuł, opracowaną na podstawie wszystkich 78 przypadków.

Do danych z niniejszego badania zastosowano pojedynczo formuły bazujące na prostej regresji liniowej opisane w 14 wcześniejszych pracach (tabela I) [4, 5, 9–20]. Wśród nich są trzy badania o wynikach bardzo zbliżonych do wyników niniejszego badania, co można stwierdzić na wykresie Blanda-Altmana.

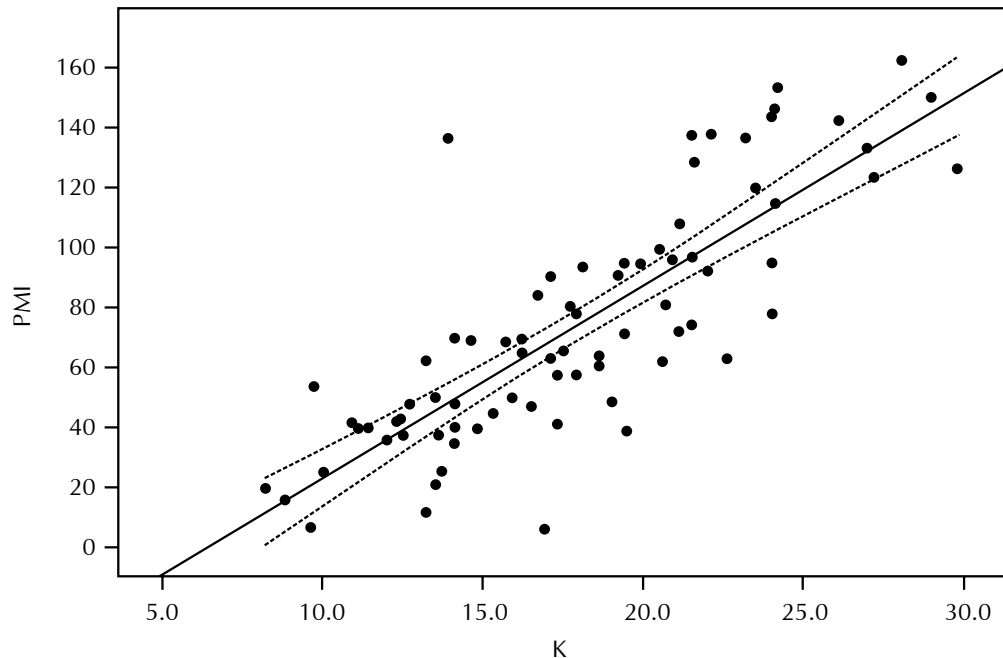
26.75–60 years. Postmortem interval ranged from 6 to 162 hours and was normally distributed. This range of timescales is accounted for because some individuals died at the scene and others received hospital care prior to death. The mean postmortem interval was 74.2 hours with a standard deviation of 39.4.

A simple linear regression was calculated to predict postmortem interval based on vitreous potassium in all cases, including those dead at the scene ($n = 58$) and those who received medical intervention ($n = 20$) and a significant regression equation was found: $(F(1,76) = 155.676, p < 0.001)$. The R^2 is 0.672 ($p < 0.001$). Postmortem interval is equal to $-40.94 + 6.42(K)$ hours when potassium is measured in mmol/l. Postmortem interval increased 6.42 hours for each mmol/l of potassium, confidence interval 5.4–7.4 (Fig. 1). Data ranged from a mean underestimation of –18.5 hours (standard deviation 13.3 hours) to a mean overestimation of 16.1 hours (standard deviation 16.3 hours).

Further to this, a simple linear regression was then calculated just on those individuals known to be dead at the scene ($n = 58$) ($F(1,56) = 118.481, p < 0.001$). The R^2 is 0.679 ($p < 0.001$). Postmortem interval was equal to $-32.48 + 5.97(K)$ hours when potassium was measured in mmol/l. Postmortem interval increased 5.97 hours for each mmol/l of potassium, confidence interval 4.9–7.1.

Both of the equations generated (for all-comers and for those dead at the scene) were then applied to our dataset for the purposes of comparison using a paired T -test. There was not a significant difference in the results generated using our original, all-comers formula (mean 70.67, standard deviation 34.12) and the dead at scene only formula (mean 71.31, standard deviation 31.77); $t(57) = -2.03, p = 0.047$. This has resulted in the former formula, generated from all 78 cases, being utilised within this study.

Simple linear regression formulae from 14 previous studies have been individually applied to the data from this study (Table I) [4, 5, 9–20]. There are three studies with results very similar to those of this study when compared using Bland Altman plots. Formulae proposed by this study, Adelson *et al.*, Zhou *et al.* and Coe were applied to our dataset and compared with actual postmortem interval (Figs. 2–5, Table II). These demonstrate that only two cases fall outside of two standard deviations from



Ryc. 1. Analiza przeprowadzona metodą regresji liniowej dla 78 przypadków, przedstawiająca wartości poziomu potasu względem czasu, jaki upłynął od zgonu (przy 95-procentowym przedziale ufności)
Fig. 1. Linear regression analysis for 78 cases with potassium values plotted against postmortem interval with 95% confidence limits

Tabela I. Zaproponowane formuły ustalania czasu, jaki upłynął od zgonu, na podstawie poziomu potasu w ciele szklistym oka – bieżące badanie oraz badania wcześniejsze
Table I. Proposed formulae for prediction of postmortem interval using vitreous potassium – this and previous studies

Formuła/Formulae	Autorzy/Authors	Przypadki w badaniu/Cases in study
6.42[K]-40.94	niniejsze badanie/this study	78
5.88[K]-31.53	Adelson <i>et al.</i> (1963) [15]	209
5.88[K]-32.71	Zhou <i>et al.</i> (2007) [16]	62
6.15[K]-38.1	Coe (1969) [17]	145
1.076[K]-2.81	Jashnani <i>et al.</i> (2010) [4]	120
2.749[K]-11.98	Mihailovic <i>et al.</i> (2012) [5]	32
3.75[k+]-16.22	Bohra <i>et al.</i> (2014) [20]	200
5.77[K]-13.28	Bortolotti <i>et al.</i> (2011) [9]	164
4.32[K]-18.35	James <i>et al.</i> (1997) [10]	100
3.92[K]-19.04	Muñoz Barús <i>et al.</i> (2001) [21]	113
4.2[K]-26.65	Stephen and Richards (1987) [12]	1427
4.701 [K]-29.06	Siddamsetty (2014) [13]	210
7.14[K]-39.1	Sturner and Ganter (1964) [18]	125
5.26[K]-30.09	Madea (1989) [14]	107
5.88[K]-47.1	Hansson <i>et al.</i> (1966) [19]	203

Formuły opracowane w niniejszym badaniu, jak również formuły z prac Adelsona i wsp., Zhou i wsp. i Coe zastosowano w odniesieniu do naszego zestawu danych, a następnie porównano z rzeczywistą wartością PMI (ryc. 2–5., tabela II). Stwierdzono, że zaledwie dwa przypadki wykraczają poza dwa odchylenia standardowe od średniej (2,6%) w tym badaniu, jak i formułach zaproponowanych w badaniach Adelsona i wsp., Zhou i wsp. i Coe.

Uwzględniono również inny potencjalny czynnik zakłócający, którym jest wiek. Po korekcie wiekowej i jej zastosowaniu w modelu regresji skorygowana wartość R^2 rośnie z poziomu 0,67 do 0,69.

Dyskusja i wnioski

W ramach niniejszej pracy stworzono formułę, która jest porównywalna z formułami z wcześniejszych doniesień literaturowych. W niezależnych badaniach Adelsona i wsp., Zhou i wsp. i Coe opracowano formuły o dużym stopniu analogii do formuły zaproponowanej w naszym badaniu. Stanowi to dodatkowe potwierdzenie zgromadzonego zbioru dowodów.

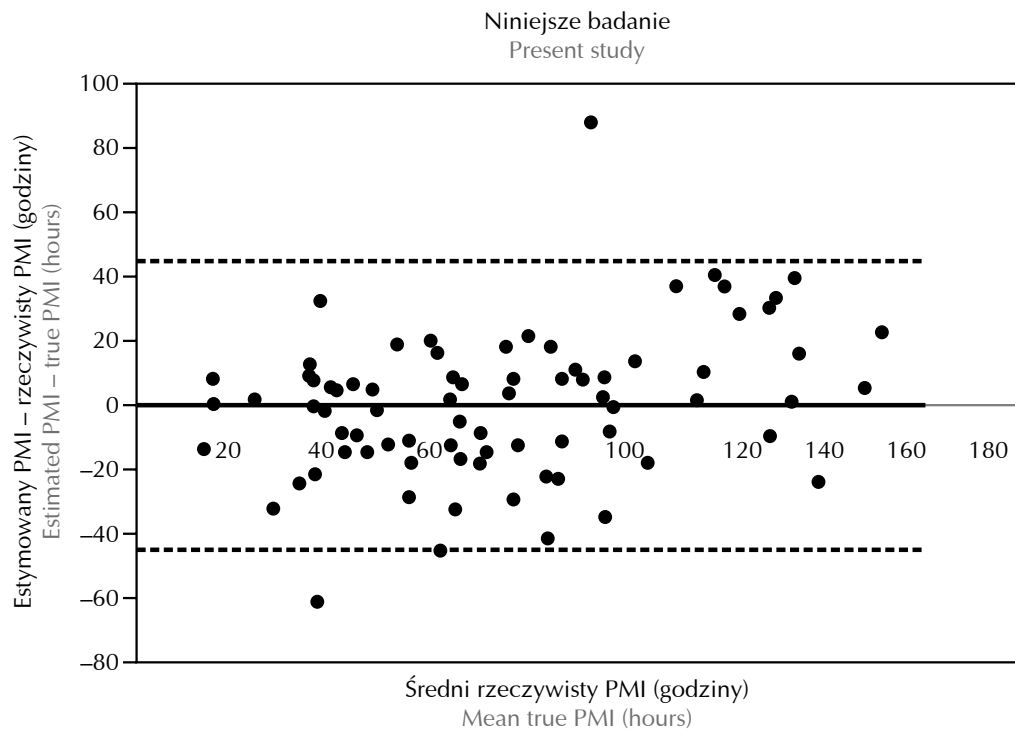
the mean (2.6%) for this study as well as for the formulae proposed by Adelson *et al.*, Zhou *et al.* and Coe.

Another potential confounder that we have accounted for is age. When age is accounted for and applied to a regression model the adjusted R^2 value is increased from 0.67 to 0.69.

Discussion and conclusions

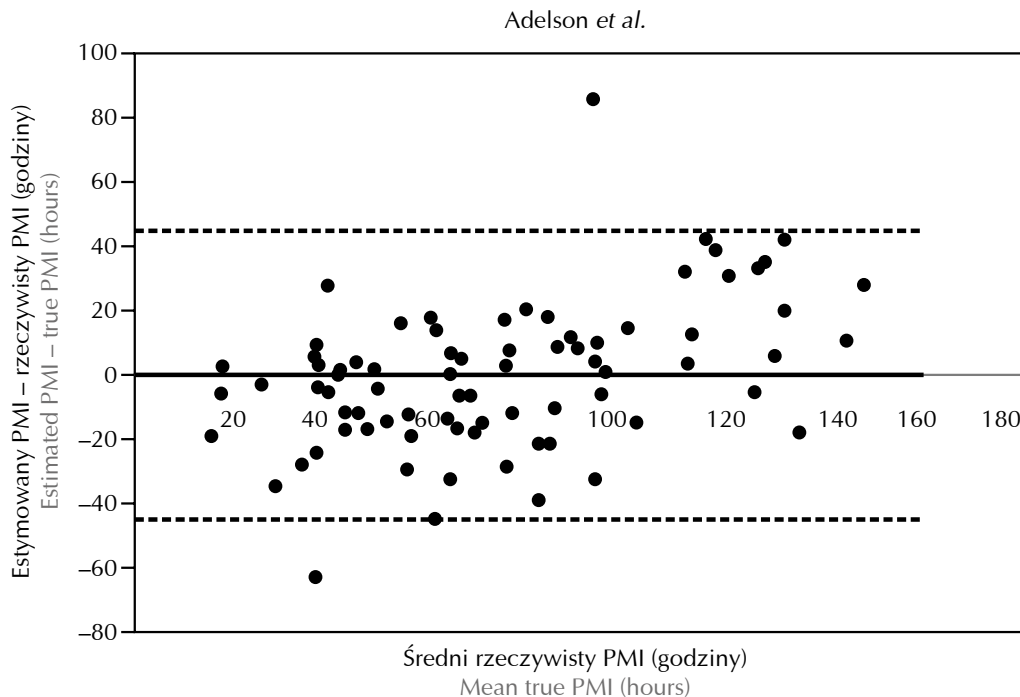
This study has produced a formula that is comparable with those proposed in previous literature. Independent studies by Adelson *et al.*, Zhou *et al.* and Coe have produced formulae that are notably similar to that produced by this study which further strengthens this body of evidence.

When our formula is applied to our range of potassium levels the potential postmortem interval window is quite wide with mean underestimation and mean overestimation suggesting that prediction of the postmortem interval could be in excess of one calendar day from the actual postmortem interval. This fails to yield the degree of accuracy that would be desirable in a medicolegal case. When we consid-



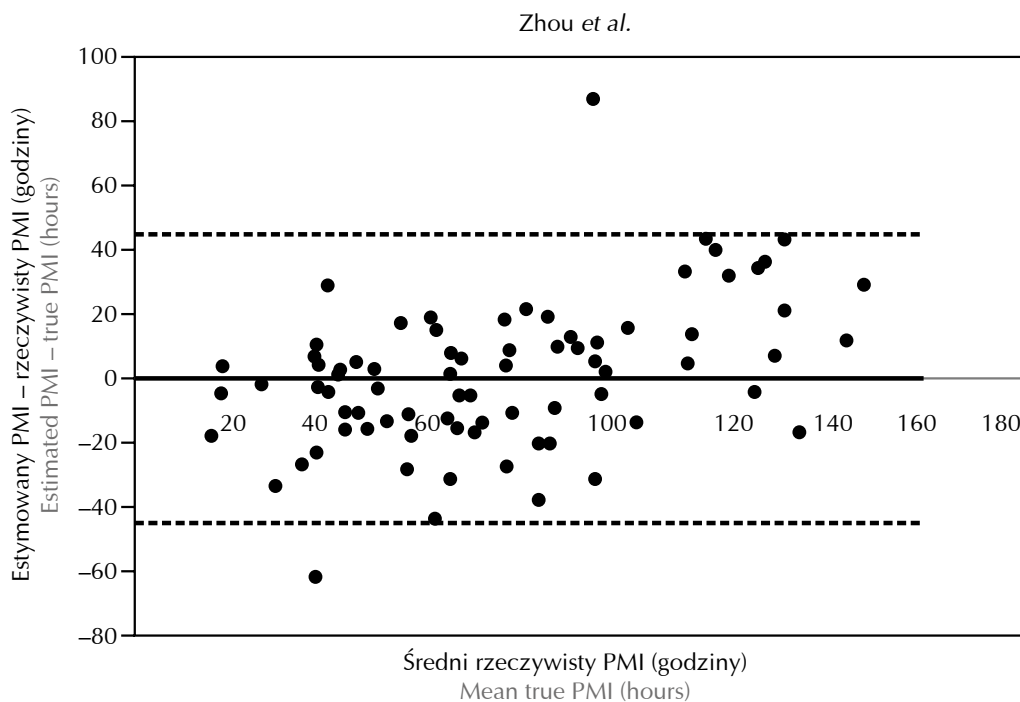
Ryc. 2. Wykres Blanda-Altmana ukazujący wartości rzeczywiste czasu, jaki upłynął od zgonu, oraz wartości ustalone przy wykorzystaniu formuły własnej

Fig. 2. Bland Altman plot showing actual versus predicted postmortem interval using our own formula



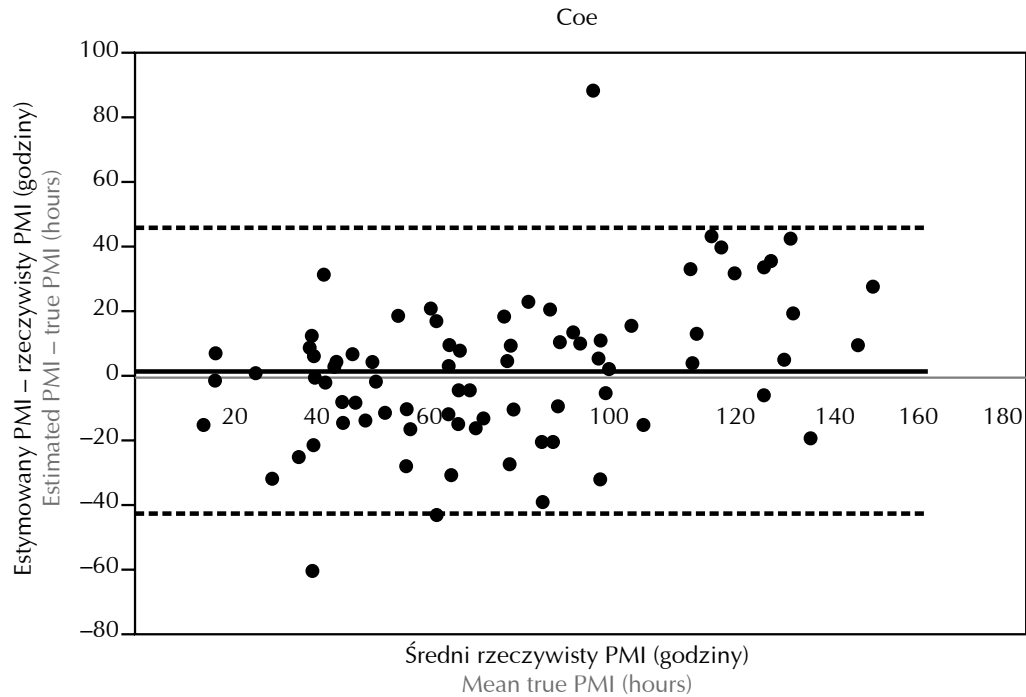
Ryc. 3. Wykres Blanda-Altmana ukazujący wartości rzeczywiste czasu, jaki upłynął od zgonu, oraz wartości ustalone przy wykorzystaniu formuły Adelsona

Fig. 3. Bland Altman plot showing actual versus predicted postmortem interval using Adelson's formula



Ryc. 4. Wykres Blanda-Altmana ukazujący wartości rzeczywiste czasu, jaki upłynął od zgonu, oraz wartości ustalone przy wykorzystaniu formuły Zhou

Fig. 4. Bland Altman plot showing actual versus predicted postmortem interval using Zhou's formula



Ryc. 5. Wykres Blanda-Altmana ukazujący wartości rzeczywiste czasu, jaki upłynął od zgonu, oraz wartości ustalone przy wykorzystaniu formuły Coe

Fig. 5. Bland Altman plot showing actual versus predicted postmortem interval using Coe's formula on data from this study

Tabela II. Dane statystyczne do wykresu Blanda-Altmana – liczba przypadków, średnia różnicy i odchylenie standardowe przy wykorzystaniu formuł analizy danych z niniejszego badania (pokazane dla niniejszego badania oraz prac autorstwa Adelsona i wsp., Zhou i wsp. i Coe)

Table II. Bland Altman plot statistics – number of cases, mean of the difference and standard deviation using formulae applied to data from this study (shown for this study, Adelson *et al.*, Zhou *et al.* and Coe)

	PMI – niniejsze badanie Predicated PMI – this study	PMI – Adelson i wsp. Predicated PMI – Adelson <i>et al.</i>	PMI – Zhou i wsp. Predicated PMI – Zhou <i>et al.</i>	PMI – Coe Predicated PMI – Coe
Liczba przypadków Number of cases	78	78	78	78
Średnia różnicy Mean of difference	0.09	0.32	1.50	2.04
Odchylenie standardowe Standard deviation	22.88	22.89	22.89	22.77

Zastosowanie naszej formuły w analizie zakresu zawartości potasu ukazuje, że potencjalne okienko czasowe PMI jest dość szerokie, a średnie wartości niedoszacowania i przeszacowania wskazują, że ustalona tą metodą wartość PMI może odbiegać nawet o więcej niż jeden dzień kalendarzowy od rzeczywistego okresu, jaki upłynął od zgonu. Nie jest to poziom dokładności, jaki byłby pożądanym w analizie sądowo-lekarskiej.

er the studies completed by Adelson *et al.*, Zhou *et al.* and Coe we see very similar levels of accuracy. There is a propensity to underestimate the time of death within the first four days with a drift towards overestimation within the latter part of the first week post-mortem.

In producing an accurate formula for which post-mortem interval may be predicted it was deemed

W badaniach Adelsona i wsp., Zhou i wsp. i Coe stopień dokładności był jednak bardzo podobny. Istnieje tendencja do niedoszacowania czasu zgonu w okresie pierwszych czterech dni oraz do jego przeszacowania w kolejnych dniach w pierwszym tygodniu po śmierci.

Przy opracowywaniu dokładnej formuły umożliwiającej ustalanie PMI kluczowe było pozyskanie dokładnych danych o czasie zgonu. Skoncentrowano się więc na analizie ofiar śmiertelnych wypadków drogowych, u których czas zgonu był precyzyjnie odnotowany przez policję i personel medyczny. Podnosi to tym samym wiarygodność naszej formuły.

Już wcześniej zidentyfikowano kilka potencjalnych zmiennych towarzyszących. Jedną z nich jest rodzaj zgonu. We wszystkich przypadkach analizowanych w niniejszej pracy zgon nastąpił na skutek urazu ciała. We wcześniejszym badaniu dotyczącym określania przyczyny zgonu przez powieszenie otrzymano wyniki o istotnie wyższym poziomie precyzji w porównaniu z formułą opracowaną na podstawie przypadków zmarłych z różnych przyczyn [21]. Stwierdzono też różnice między przypadkami śmierci na skutek choroby przewlekłej a zdarzeniami o ostrym przebiegu [14]. Autorzy rozważyli możliwość, że interwencja medyczna może rzutować na poziom potasu w cieple szklistym oka, jednak porównanie wyników uzyskanych z użyciem formuły regresji opracowanej dla wszystkich przypadków łącznie oraz dla tych przypadków, w których zgon stwierdzono na miejscu zdarzenia, nie ujawniło statystycznie istotnej różnicy. Należy tym samym uznać, że wdrożenie leków oraz dożylnie podawanie płynów nie ma wpływu na stwierdzany pośmiertnie poziom potasu w płynie ciała szklistego. Jednocześnie trzeba zaznaczyć, że jest to zagadnienie, które może wymagać dokładniejszych badań.

Innym potencjalnym czynnikiem zakłócającym jest wiek. Jego uwzględnienie w modelu regresji wielokrotnej nie przełożyło się jednak na istotne udoskonalenie modelu. Badanie nie potwierdziło istotnej zależności między wiekiem a poziomem potasu w płynie ciała szklistego oka przy ustalaniu PMI. Wynik ten jest zgodny z rezultatami uzyskanymi we wcześniejszych pracach [4, 13, 15, 22]. Z drugiej strony wskazano na istotną różnicę między populacją dorosłych i niemowląt [17]. W niniejszym badaniu nie uwzględniono osób w wieku poniżej 18 lat, więc nie można podać żadnych wniosków dotyczących powyższej grupy wiekowej.

extremely important to have accurate times of death and so focusing on fatal road traffic collisions where police and medical personnel were able to record this precisely strengthens our formula.

A number of possible covariates have previously been identified. An example of this is the mode of death which, for all of our cases, was known to be due to trauma. A previous study identifying cause of death by hanging yielded significantly more precise results when compared to producing a formula based on cases with mixed causes of death [21] and differences have been seen in those with chronic illness that has led to death versus an acute event [14]. We have considered the possibility that medical intervention may have an impact upon vitreous potassium levels but when comparing the results of applying a regression formula generated from all cases and from cases where the individual is pronounced dead at the scene there is no statistically significant difference inferring that the use of drugs and intravenous fluids does not have an effect on levels of post-mortem vitreous potassium. However, it is noted that this may be an area requiring more in depth research.

Another possible confounder is age which has been incorporated into a multilinear regression model that does not contribute a significant improvement in the model. This study did not confirm a significant link between age and vitreous potassium when predicting the postmortem interval. This finding is supported by previous work undertaken in other studies [4, 13, 15, 22]. Conversely, it has been proposed that a significant difference can be observed between adults and infants [17]. This study does not consider individuals under the age of 18 years and so it is not possible to comment on this age group.

A limitation of this study is that it does not account for ambient temperature which can affect core temperature [1]; because this may have had an effect on the results seen and may help to explain the two results that appear as outliers.

The findings from this study suggest that prediction of postmortem interval from vitreous potassium levels using a simple linear regression model results in estimates that may exceed one calendar day from the exact time of death. Both accounting for age and focussing specifically on those pronounced dead at the scene with no medical intervention

Ograniczeniem niniejszego badania jest fakt, że nie uwzględniono w nim temperatury otoczenia, która może wpływać na temperaturę wewnętrzną ciała [1]. Czynniki te mogły rzutować na otrzymane wyniki i może wyjaśniać dwie obserwacje odstające.

Na podstawie przeprowadzonego badania można stwierdzić, że przy ustalaniu czasu, jaki upłynął od zgonu, na podstawie poziomu potasu w cieple szklistym oka przy wykorzystaniu prostego modelu regresji liniowej uzyskiwane są dane szacunkowe, które mogą odbiegać o ponad jeden dzień kalendarzowy od dokładnego czasu zgonu. Korekta wiekowa oraz uwzględnienie w modelu regresji wyłącznie tych osób, których zgon stwierdzono na miejscu zdarzenia, bez podejmowania interwencji medycznej, powoduje jedynie minimalną poprawę dokładności szacunków. Należy więc zachować ostrożność przy interpretacji wyników w analizach sędowo-lekarskich oraz podawać w nich ograniczenia stosowanej metodologii. Niniejsze badanie stanowi kolejny argument przemawiający za tezą, że jeśli przy szacowaniu czasu, jaki upłynął od zgonu, niezbędny jest wyższy poziom dokładności, konieczne może być zastosowanie innych metod oceny biochemicznej.

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

when generating a regression model results in only a minimal improvement in estimation accuracy. As a result of this, care should be taken when interpreting results in a medico-legal case and the limitations of the methodology should be stated. This adds to a growing body of knowledge that proposes that other methods of biochemical assessment are likely to be required if a higher level of accuracy for the estimation of postmortem interval is to be found.

The authors declare no conflict of interests.

Piśmiennictwo

References

1. Madea B, Henssge C. Autolysis, putrefactive changes and postmortem chemistry. In: Madea B. Estimation of the Time since Death. 3rd ed. CRC Press, Florida 2016; 161-185.
2. Donaldson AE, Lamont IL. Estimation of postmortem interval using biochemical markers. Aust J Forensic Sci 2014; 46: 8-26.
3. Zilg B, Bernard S, Alkass, Berg S, Druid H. A new model for the estimation of time of death from vitreous potassium levels corrected for age and temperature. Forensic Sci Int 2015; 254: 158-166.
4. Jashnani KD, Kale SA, Rupani AB. Vitreous humour: Biochemical estimation of postmortem interval. J Forensic Sci 2010; 55: 1523-1527.
5. Mihailovic Z, Atanasijevic T, Popovic V, Milosevic MB, Spherhake 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: 400-403.
6. Henssge C, Madea B. Estimation of the time since death. Forensic Sci Int 2007; 165: 182-184.
7. Madea B. Is there recent progress in the estimation of the postmortem interval by means of thanatochemistry? Forensic Sci Int 2005; 151: 139-149.
8. HodaFouad AS, Eman AS, Manal HAA, Abeer MS, Heba AS. Estimation of postmortem interval using thanatochemistry and postmortem changes. Alex J Med 2012; 48: 335-344.
9. 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 2-110 hours using capillary ion analysis. Med Sci Law (suppl) 2010; 51: 20-23.
10. James RA, Hoadley PA, Sampson BG. Determination of postmortem interval by sampling vitreous humour. Am J Forensic Med Pathol 1997; 18: 158-162.
11. Muñoz JI, Suárez-Peñaranda JM, Otero XL, Rodríguez-Calvo MS, Costas E, Miguéns X, Concheiro L. A new perspective in the estimation of postmortem interval (PMI) based on vitreous [K+] J Forensic Sci 2001; 46: 209-214.
12. Stephen RJ, Richards KG. Vitreous humour chemistry. The use of potassium concentration for the prediction of postmortem interval. J Forensic Sci 1987; 32: 503-509.



13. Siddamsetty AK, Verma SK, Kohli A, Puri D, Singh A. Estimation of time since death from electrolyte, glucose and calcium analysis of postmortem vitreous humour in semi-arid climate. *Med Sci Law* 2014; 54: 158-166.
14. Madea B, Henssge C, Honig W, Gerbracht A. References for determining the time of death by potassium in vitreous humor. *Forensic Sci Int* 1989;; 40: 231-243.
15. Adelson L, Sunshine I, Lindfors R, Laiho K. Potassium content of the vitreous body as an aid in determining the time of death. *J Forensic Sci* 1963; 8: 503-514.
16. Zhou B, Zhang BC, Gengqian ZB, Xinshen ZD, Jiang XD. The determination of potassium concentration in vitreous humor by low pressure ion chromatography and its application in the estimation of postmortem interval. *Chromatogr B* 2007; 852: 278-281.
17. Coe JI. Postmortem chemistries on human vitreous humor. *Am J Clin Pathol* 1969; 51: 741-750.
18. Sturmer WQ, Ganter GE. The postmortem interval. A study of potassium in the vitreous humor. *Am. J Clin Pathol* 1964; 42: 137-144.
19. 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: 390-394.
20. Bohra B, Verma R, Mathur IB, Sharma Y, Khangwal VP, Joshi M. Estimation of postmortem interval by measuring potassium level in vitreous humour. *J Indian Acad Forensic Med* 2014; 36: 374-378.
21. Muñoz Barús JI, Suárez-Peñaranda J, Otero XL, Rodríguez-Calvo MS, Costas E, Miguéns X, Concheiro L. Improved estimation of postmortem interval based on differential behaviour of vitreous potassium and hypoxanthine in death by hanging. *Forensic Sci Int* 2001; 125: 67-74.
22. Rognuma TO, Holmenb S, Mussea MA, Dahlberga PS, Stray-Pedersena A, Saugstadb OD, Opdal SH. Estimation of time since death by vitreous humor hypoxanthine, potassium, and ambient temperature. *Forensic Sci Int* 2016; 262: 160-116.

Adres do korespondencji

Suzanne N. Foster
East Midlands Forensic Pathology Unit
University of Leicester
Level 3 Robert Kilpatrick Building
Leicester Royal Infirmary
LE15WW LEICESTER
United Kingdom
e-mail: snf9@le.ac.uk

Address for correspondence

Suzanne N. Foster
East Midlands Forensic Pathology Unit
University of Leicester
Level 3 Robert Kilpatrick Building
Leicester Royal Infirmary
LE15WW LEICESTER
United Kingdom
e-mail: snf9@le.ac.uk