

Vücut sıvılarında Antemortem - Postmortem Etil Alkol Düzeyinin Belirlenmesinde Kullanılan Biyobelirteçler

Biomarkers Used to Determine Antemortem and Postmortem Ethyl Alcohol Level in Body Fluids

Mahmut Aşirdizer, Yasin Etli, Orhan Gümüş, Erhan Kartal, Yavuz Hekimoğlu

Corresponding author: Mahmut Aşirdizer

Department of Forensic Medicine, Dursun Odabaşı Medical Center, Yuzuncu Yıl University, 65080 Van, Türkiye, email: masirdizer@yahoo.com

ÖZET

Etil alkol kullanımı pek çok açıdan adli tıp pratiği ile çakışmaktadır. Bu durum etil alkol kullanımının ve postmortem üretiminin tespit edilmesini adli tıp açısından son derece önemli kılmaktadır. Buna karşın antemortem-postmortem alkol düzeylerinin belirlenmesinde klasik yöntemlerin pek çok durumda yetersiz kaldığı görülmektedir. Bu durum etil alkol kullanımının tespiti için ek yöntemlere ihtiyaç duyulmasına sebep olmaktadır. Gama Glutamil Transferaz, Ortalama Eritrosit Hacmi ve Karbonhidrat Takısı Eksik Transferrin gibi bazı yöntemlerin belli dezavantajlarının olması da kullanım alanlarını ve yararlarını sınırlamaktadır. Son yıllarda etanol kullanımının göstergesi olarak tanımlanan etil glukronid, etil sülfat, fosfatidiletanol, 5-hidroksitriptofol / 5-hidroksiindol asetik asit oranı ve yağ asidi etil esterleri gibi biyobelirteçlerin yararlılıkları pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır. Bu derlemede, antemortem - postmortem etil alkol ayrımı konusunda bu tür yeni yöntemlerin kullanımının yaygınlaştırılmasının öneminin vurgulanması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Etil alkol, postmortem alkol üretimi, etil glukronid, etil sülfat, fosfatidiletanol, yağ asidi etil esterleri, 5-Hidroksitriptofol/5-Hidroksiindol asetik asit oranı.

ABSTRACT

Consumption of ethyl alcohol has intersected with forensic science practice in many situations. This situation makes it highly important for forensic medicine to determine consumption and postmortem production of ethyl alcohol. For all that, classical methods can be insufficient to determine the antemortem and postmortem ethanol level in many situations. This causes a need for additional methods for the detection of ethyl alcohol. The presence of certain disadvantages of some methods such as Gama Glutamyl Transferase, Main Corpuscular Volume and Carbohydrate Deficient Transferrin, it limits their utility and their usage areas. The usefulness of biomarkers such as ethyl glucuronide, ethyl sulfate, phosphatidylethanol, 5-Hydroxytryptophol/5-hydroxyindoleacetic acid ratio and fatty acid ethyl esters, which were determined as indicator of ethanol use in the last years has been proven in many studies.

In the present review article, it was aimed that to emphasizing the importance of dissemination of using the similar new methods about identification of antemortem - postmortem ethanol.

Keywords: Ethyl alcohol, postmortem alcohol production, ethyl glucuronide, ethyl sulfate, phosphatidylethanol, fatty acid ethyl esters, 5-Hydroxytryptophol / 5-Hydroxyindoleacetic acid ratio.

GİRİŞ

Etil alkolün dünya genelinde en yaygın kullanılan ve kötüye kullanımı en sık olan madde olduğu ortaya konulmuş olup bunun bir sonucu olarak da etil alkol (EtOH) kullanımı adli tıp pratiğiyle pek çok noktada çakışmaktadır. Alkolün kötüye kullanımının pek çok kazada birincil faktör olduğu ve birçok cinayet olgusunda kolaylaştırıcı faktör olduğu ifade edilmektedir. Bu etkilerinin yanında birçok maddenin toksik etkisini arttırdığı ve kronik kullanımının hedef organ hasarı yapmasına ek olarak bazı ölüm

olgularında (hipotermi, yanık, asfiksi) ölüm mekanizmasına katkıda bulunduğu da gösterilmiştir (1).

Günümüzde pek çok adli olguda kanda EtOH bakılması rutin uygulamaya girmiştir. Ancak kanda EtOH varlığının tespit edilmesi her zaman kesin olarak alkol alındığını göstermemektedir. Bazı postmortem örneklerde EtOH tespit edildiği halde bu durumun alkol alımına bağlı olmadığı ve EtOH'ün antemortem ve postmortem olarak vücutta üretilebileceği yapılan pek çok çalışmada ortaya konmuştur (2-6).

Günümüzde yakın zamanda EtOH alındığını doğrudan ve dolaylı olarak belirleyebilecek pek çok yöntem ortaya konmuştur (7-11).

Bu derlemede,antemortem alkol kullanımının güvenilir göstergeleri oldukları gösterilmiş ve günümüzde antemortem-postmortem alkol seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan biyobelirteçler olan Etil Glukronid (EtG), Etil Sülfat (EtS), yağ asidi etil esterleri (Fatty Acid Ethyl Esters = FAEE), fosfatidiletanol ve 5-hidroksitriptofol / 5-hidroksiindol asetik asit (5-HTOL/5-HIAA) oranı hakkında yapılmış kapsamlı araştırmaları özetlemeyi amaçladık.

ALKOLÜN METABOLİZMASI

Oral alımını takiben EtOH'ün büyük kısmının ince bağırsak ve mideden pasif difüzyonla emildiği bilinmektedir. Daha sonrasında ise hızla emilen alkolün kandaki konsantrasyonunun 30-60 dakika sonra maksimum seviyeye ulaştığı ifade edilmektedir (1,12). Alkolün büyük oranda karaciğer tarafından detoksifiye edildiği ve %2-10'luk küçük bir kısmının ise değişmeden atıldığı ortaya konulmuştur (1). Bu %2-10'luk küçük kısmın ise solunum havası, ter ve idrar ile değişik oranlarda atıldığı gösterilmiştir (12). EtOH'ün karaciğerde detoksifiye edilme mekanizması ise önce asetaldehite sonra asetata dönüşmesini sağlayan bir oksidasyon reaksiyonudur. Bu iki reaksiyonun katalizörleri ise alkol dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenazdır (1). Vücuda alınan EtOH'ün %1'lik küçük bir kısmının ise değişik yollardan metabolize olduğu gösterilmiştir (Şekil 1).Bu değişik metabolik yollarla alkolün minör metabolitleri olan EtG, EtS, fosfatidiletanol ve FAEE oluşmaktadır. (9,13-16).

Vücutta çeşitli aşamalardan geçen alkolün kandaki düzeyinin maksimum seviyeye ulaştıktan sonra Adli Tıp Kurumu Beşinci Adli Tıp İhtisas Kurulu tarafından kabul edildiği üzere, "sıfır derece" eliminasyon kinetiğine göre metabolizma sonucu kandaki alkol düzeyinin bir saatte 12-18mg/

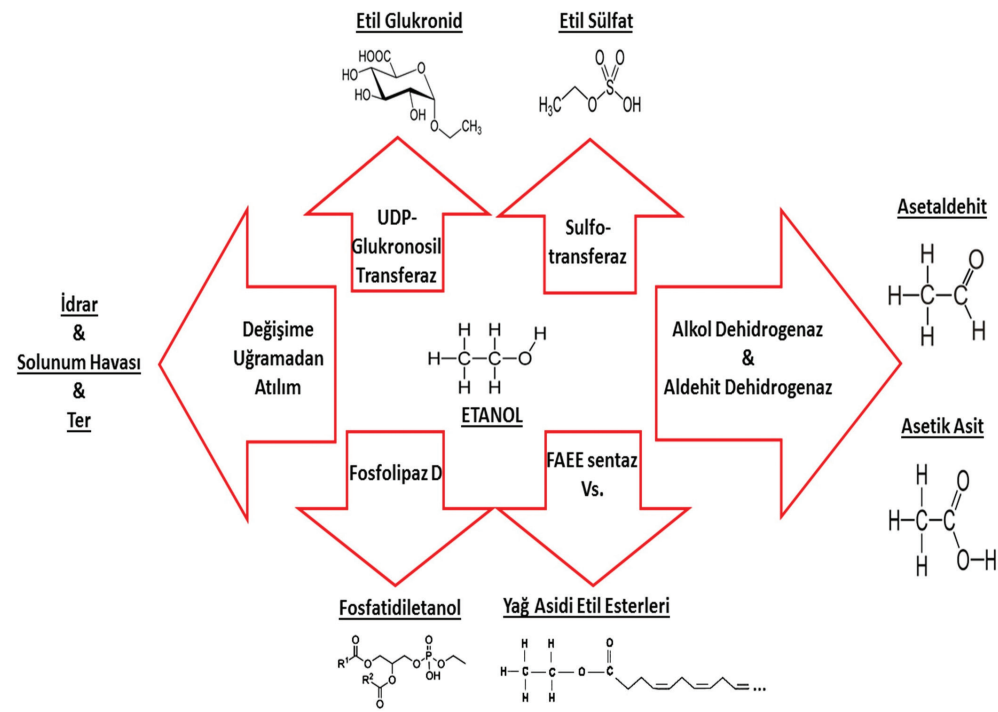
dl, ortalama 15mg/dl düştüğü hesaplanmaktadır. Bu durum, üzerinden yeterince vakit geçtikten ve alkol vücuttan tamamen atıldıktan sonra alkol alımının klasik yöntemlerle tespit edilemeyeceği anlamına gelmekte ve bazı adli vakalarda kargaşaya sebep olmaktadır.

POSTMORTEM ALKOL ÜRETİMİ

Alkolün postmortem olarak üretilebileceği ilk olarak 1936 yılında Wagner tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir (2). Daha sonrasında yapılmış pek çok çalışmada da değişik sebeplerle ölmüş ve ölümünün üzerinden değişik süreler geçmiş vakalarda alkolün postmortem olarak üretildiği bildirilmiştir (3-6). Postmortem alkol üretimi tespit edilen seviyenin bazı vakalarda 120mg/dl ve bazı ekstrem olgularda ise 220mg/dl ve 300mg/dl düzeylerine kadar çıkabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (6,17).

1989 ve 1990 yıllarında meydana gelen uçak kazalarında ölen olguların kan alkol seviyelerinin incelendiği bir çalışmada, incelenen toplam 975 olgudan 79'unda yasal sınır kabul edilen 40mg/dl'nin üzerinde alkol tespit edilmiş, bu 79 vakanın 22'sinde (%28) alkol kullanımı tespit edilmiş, 21'inde (%27) alkolün kan, idrar, vitröz hümler ve dokulardaki dağılımı baz alınarak postmortem alkol üretimi olduğu saptanmış, 36'sında (%45) ise alkolün orijini tespit edilememiştir. Aynı çalışmada postmortem üretime atfedilen EtOH düzeylerinin 10mg/dl ile 180mg/dl arasında değiştiği ifade edilmiştir (17). Bir başka çalışmada ise farklı derecede çürümüş olan cesetlerde postmortem alkol üretimi %55,6 oranında bulunmuş ve bu vakalarda tespit edilen alkol miktarının 8mg/dl ile 76mg/dl arasında değiştiği, ortalama değerin ise 31mg/dl olduğu bulunmuştur (18).

Postmortem alkol üretiminin mekanizmasını araştırmak için pek çok araştırma yapılmış olup, bu alkolün mikrobial aktivite ile üretildiği genel olarak kabul görmüştür. Ölüm gerçekleşikten



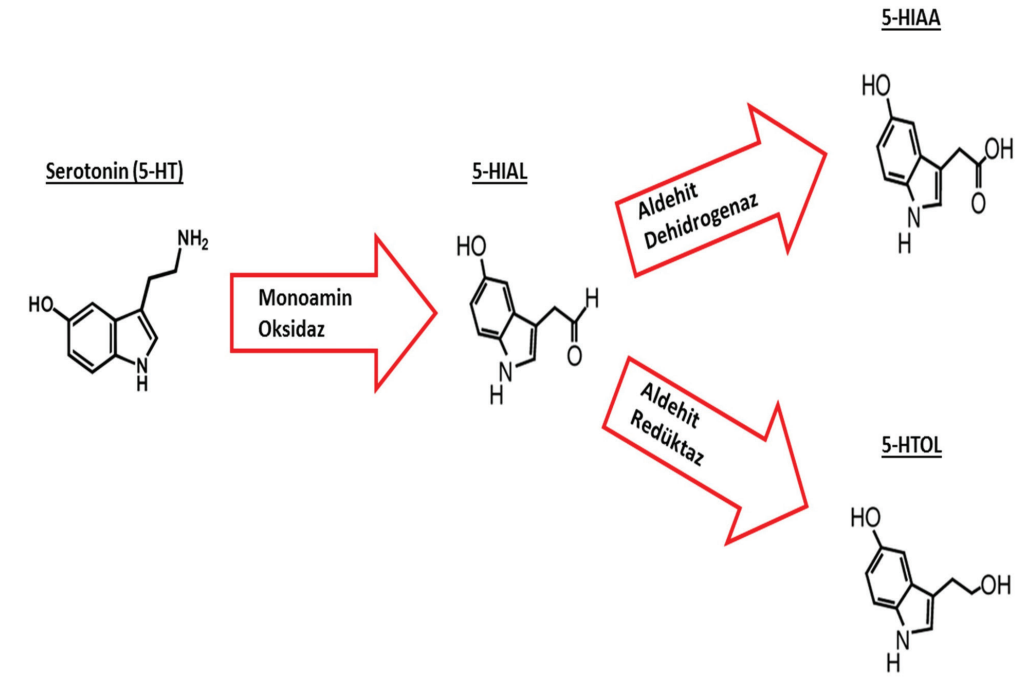
Şekil 1: Etıl alkolün metabolik yolları

hemen sonra endojen ve eksojen mikroorganizmalar vücudu istila etmeye başlamaktadır. Ölümünden sonra bir kısmı asetaldehite dönüşen EtOH'un kandaki seviyesi düşebilirken, vücudu istila eden bu bakterilerin karbondhidratları sindirmeleri sonucunda yükselme ihtimali de bulunmaktadır (3).

Postmortem olarak vücutta üretildiği tespit edilen EtOH'un muhtemel üretim mekanizmaları arasında; antemortem mikrobial aktivite ile endojen alkol üretimi, postmortem mikrobial aktivite ile endojen alkol üretimi, örnek alınmasını takiben mikrobial aktivite ile alkol üretilmesi ve bunların çeşitli kombinasyonları sayılmaktadır (3,18,19). Hayvanlar üzerinde yapılmış bir çalışmada ise postmortem alkol üretimine katkıda bulunan pek çok türden mikroorganizma olduğu gösterilmiştir (5). Aşırdizer (20), yenidoğanlarda kanda alkol bulunması ile ilgili olarak, gebelikte kronik alkol tüketimine bağlı olarak fetal alkol spektrum bozukluğunun Kuzey Amerika'da doğan her 100 yeni doğandan birinde görüldüğünü; yine sütte bulunan laktozun, laktik maya denilen bakteriler tarafından laktik aside dönüştürüldüğü, 17.12.1998 tarihli 23556 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanmış Bebek Mamaları -Bebek Formülleri Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ hükümlerine göre bebek mamalarında laktoz, sukroz ve nişasta bulunmakta olduğunu, her olguda olmayıp, düşük oranda da olsa mideden diyafram ve ösafagial reflü ile kalp kanına alkol geçişinin kanıtlandığını, bebeklerin aldıkları anne sütü veya mamadaki laktozun, laktik aside dönüşümü ve daha sonrada mikrobial ajanlar ile laktik asitin fermentasyonu sırasında etanol oluştuğunu, bebeklerde reflünün fazla, kalp-mide arası mesafenin kısa ve diyaframın ince olduğunu, bebeklerde yeterli miktarda femoral kan elde edilmesi daha zor olduğundan genellikle perikardial aralıktan kan elde edildiğini, bu nedenle yenidoğanların kanında postmortem alkol belirlenebileceğini, ayırımında mekonyumda EtG ve EtS tayininin esas olduğunu ifade etmiştir.

ALKOL KULLANIMINI GÖSTEREN BİYOBELİRTEÇLER

Günümüzde alkol alımının göstergesi olarak kullanılabilecek pek çok metod bulunmaktadır. Bunlar arasında alkolü doğrudan gösteren metodlar olan kimyasal metod, enzimatik me-



Şekil 2: Serotoninmetabolizması

tod ve gaz kromatografik metod sayılmaktadır (5). Alkol alımının dolaylı göstergelerinden olan GGT'nin (gama glutamiltransferaz) pek çok hastalık ve maddeden etkileniyor oluşu güvenilirliğini kısıtlamaktadır. Diğer biyobelirteçler olan karbondhidrat takısı eksik transferrin (Carbohydratedeficienttransferrin, CDT) ve ortalama eritrosit hacmi (MCV) ise kümülatif alkol kullanımında değerli bilgiler sunmaktadır (8). Bu duruma ek olarak daha önceden belirtildiği üzere, alkolün vücutta ve alınan örnekte çeşitli mekanizmalarla oluştuğunun gösterilmesi alkol kullanımının medikolegal yönünü daha da karmaşık hale getirmiştir (2-6).

Alkol kullanımının tespiti konusunda ortaya çıkmış bu karmaşayı gidermek adına, araştırmacılar yakın zamanda alkol alındığını gösterebilecek pek çok değişik biyobelirteç öne sürmüşlerdir. Bu belirteçler arasında minör alkol metabolitleri olan EtG, EtS ve Fosfatidiletanol, bir serotonin metaboliti olan 5-hidroksitriptofol (5-HTOL), serotonin metabolitlerinin birbirine oranı (5-hidroksitriptofol/5-hidroksiindol-3-asetik asit, 5-HTOL/5-HIAA), EtOH'un yağ asitleri ile esterleşmesi sonucu ortaya çıkan FAEE ve serum, vitroz hümör, idrar ve doku etanol konsantrasyonlarının karşılaştırılması sayılabilir (6-10,13,17,21).

Serotonin Metabolitlerinin Birbirine Oranı (5-HTOL/5-HIAA)

Alkol kullanımının serotonin (5-HT) metabolizmasına etkileri ve bu etkilerin bir alkol kullanım markırı olarak kullanılması son yıllarda araştırmacıların ilgisini çekmeye başlamıştır (7). 5-HT vücutta ilk olarak monoaminoksidaz aracılığıyla oksidatif deaminasyona uğrayarak 5-hidroksiindol-3-asetaldehit (5-HIAL)'e dönüşmektedir. 5-HIAL ise büyük çoğunlukla aldehid dehidrogenaz ile oksidasyon tepkimesine girmekte ve ortaya majör serotonin metaboliti olan 5-hidroksiindol-3-asetik asit (5-HIAA) çıkmaktadır. 5-HIAL'in küçük bir kısmı ise aldehit redüktaz ile redükte olarak 5-hidroksitriptofol (5-HTOL) oluşturmaktadır (Şekil 2) (7). EtOH kullanımının 5-HT metabolizmasını 5-HIAA yönünden 5-HTOL yönüne kaydırduğu, EtOH kullanımı sonrası 5-HTOL oluşumunda artış ve 5-HIAA oluşumunda azalma olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (22,23). Sonuçta EtOH kullanımı sonrası 5-HTOL/5-HIAA oranı yükselmiş bulunmakta ve bu durum EtOH tamamen vücuttan atılmış olsa bile belli bir süre devam etmektedir. Bu durum 5-HTOL/5-HIAA oranının bir alkol kullanım belirteci olarak kullanılmasının önünü açmıştır (7,22,23).

Ölümden önce alkol aldığı bilinen ve ölümden önce alkol almadığı bilinenlerden oluşan toplam 44 cesetten alınan idrar örneklerindeki 5-HTOL/5-HIAA oranının karşılaştırıldığı bir çalışmada 15 pmol/mmol değeri referans değer olarak alındığında, alkol kullanımı olmayan 21 olgunun tamamının bu değer in altında kaldığı, alkol kullanmış olan 23 olgunun tamamının ise bu değerin üstünde kaldığı gösterilmiştir (7).

Fosfatidiletanol

Fosfatidiletanol, EtOH'ün Fosfolipaz D ile fosforile olması sonucu ortaya çıkan bir minör EtOH metabolitidir (13,24). Son yıllarda fosfatidiletanolün yakın zamanda alkol kullanımının göstergesi olarak kullanılabileceğine dair pek çok çalışma yayınlanmıştır (13,24,25). Yapılan çalışmalar belirgin sarhoşluğa sebep olsa bile tek bir doz EtOH kullanımının fosfatidiletanolün kanda tespit edilebilir düzeye erişmesi için yeterli olmadığını göstermektedir. Bunun yerine günlük 50g EtOH'ün en az birkaç gün kullanılması gerekmektedir. Hansson ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada alkol bağımlılığı tedavisi için hastaneye başvurmış 15 alkolik bireyde başvuru sırasında bakılan fosfatidiletanol düzeyleri 11,0-15,4pmol/l arasında bulunmuş ve fosfatidiletanolün kanda 14 güne kadar tespit edilebilir düzeyde bulunabileceği görülmüştür (25).

Yağ Asidi Etil Esterleri (FAEE)

EtOH ve yağ asitlerinin esterleşmesi sonrası açığa çıkan FAEE'nin etanol kaynaklı sitotoksitede rol oynadığı üzerine çalışmalar yapıyorken yakın zamanda kısa ve uzun dönem alkol kullanım göstergesi olarak kullanılabileceği keşfedilmiştir (10). 4 gönüllü erkek ve 3 gönüllü kadında, legal toksik doz kabul edilen 100mg/dl'lik pik düzeyine ulaşacak şekilde 90 dakika içinde EtOH kullanımı sonrası periyodik olarak FAEE düzeylerine bakılmış, EtOH ve FAEE'nin zamana göre bozulma eğrilerinde büyük bir benzerlik olduğu görülmüştür. Aynı zamanda kan EtOH konsantrasyonu tespit edilebilir düzeyin altına indiğinde FAEE'nin en az 24 saat daha tespit edilebilir düzeyde kaldığı gösterilmiştir (26).

Cesetten kan elde edilmesinin mümkün olmadığı durumlarda FAEE'nin alkol kullanım belirtici

olarak kullanılıp kullanılamayacağının araştırıldığı bir çalışmada, 31 otopsi sonrası alınan karaciğer ve adipoz doku örneklerinde FAEE düzeyi bakılmış, kanında alkol tespit edilmiş olan cesetlere ait karaciğer ve adipoz doku örneklerindeki FAEE düzeyleri ile kanında alkol tespit edilmemiş cesetlere ait örneklerdeki FAEE düzeyleri arasında önemli bir fark olduğu görülmüştür. Aynı zamanda özel bir FAEE olan etil araşidonat, kanında EtOH tespit edilmiş cesetlere ait örneklerin hemen hemen hepsinde 200pmol/g düzeyinin üzerinde bulunmuş ve ek bir FAEE ilişkili alkol kullanım belirtici olabileceği vurgulanmıştır (9).

Etil Glukronid

EtOH'ün glukronidasyonu yüz yıldan fazladır bilinmektedir ve bu reaksiyon sonunda EtG ortaya çıkmaktadır (8). Ancak özellikle 1990'lı yıllar ve sonrasında yakın zamanda EtOH kullanımının ve kanında alkol tespit edilen vakalarda gerçekte alkol alınıp alınmadığının göstergesi olarak kullanılabileceği konusunda çalışmalar yapılmıştır (8,26-41). Yapılan bir araştırmada alkol alımını takiben yaklaşık 30 dakika sonra kanda, yaklaşık 1 saat sonra ise idrarda tespit edilebilir düzeye ulaştığı gösterilen EtG'in, kanında maksimum seviyesinde iken 0,5 promil alkol olan gönüllülerde idrarda 16 saate kadar, kanda ise 3-5 saat sonrasına kadar tespit edilebildiği gösterilmiştir (42). Bir başka çalışmada ise ölümden önce alkol kullanıldığı bilinen ve alkol kullanmadığı bilinen vakalarda kandaki etanol ve EtG düzeylerine bakılmış, 11 vakada ölümden önce alkol kullanımı olmadığı halde kanda alkol bulunmuş (endojen alkol üretimi), ancak bu 11 vakanın hiçbirinde kanda EtG tespit edilmemiştir. Ölümden önce değişik dozlarda alkol aldığı bilinen 93 vakanın tamamında ise kanda EtG bulunduğu bildirilmiştir (43).

EtG'in alkol kullanımını yüksek sensitivite ve spesifikite ile gösterebilmesinin yanında çok çeşitli örneklerde tespit edilebiliyor oluşu avantaj sağlamaktadır. Yapılan pek çok araştırmada EtG'nin, kanda, idrarda, vitröz hüümörde, saç ve tırnakta gösterilebileceği ortaya konmuştur. (8,27,42) Ayrıca Likit Kromatografi Tandem Mass-Spektrometri (LC-MS-MS) ile tespit edilebiliyor oluşu da EtG'nin alkol kullanım belirtici olarak kullanılmasında ticari avantaj sağlamaktadır.

Keten ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada değişik sebeplerle meydana gelmiş 110 ölüm vakasında kan, idrar ve vitröz hüümör örneklerinde LC-MS-MS ile EtG tespit edilip edilemeyeceği araştırılmıştır. Kanında EtOH tespit edilen 24 vakanın 21'inde kanda, 18'inde vitröz hüümörde, 16'sında ise idrarda EtG tespit edilebilir düzeyde bulunmuştur. Alkol kullanım öyküsü olan bir vakada ise kanda EtOH ve EtG tespit edilememiş, buna karşın idrarda ve vitröz hüümörde EtG tespit edilebilir düzeyde bulunmuştur. EtG'nin tespit edilemediği ancak ölümden hemen önce alkol kullanımı olan vakalarda ise EtG'nin tespit edilebilir düzeye ulaşması için gerekli sürenin geçmiş olmasına dikkat çekilmiştir (44).

Kronik olarak alkol kullanan 16 gönüllüde saç ve tırnakta LC/MC/MS metodu ile EtG'nin tespit edilmeye çalışıldığı bir araştırmada, saç örneklerinde 1.33-65.67 (+/- SD16.57) ppb arasında, tırnak dokusunda ise 4.27-225.03 (+/- SD 59.77) ppb aralığında EtG tespit edilmiş, saç dokusu ile tırnak dokusu EtG değerleri arasında anlamlı (r=0,808, p<0,001) bir ilişki olduğu gösterilmiştir (28).

Etil Sülfat

Farelerde, karaciğerde aktive sülfat ve etanolün konjugasyonu ile EtS'in oluştuğu ilk olarak 1959'da Vestermark tarafından bildirilmiş, daha sonrasında yapılan araştırmalarda ise insanlarda da üretildiği ve alkolün minör metabolitlerinden olduğu ortaya konulmuştur (15,45). 2004'te Schneider ve arkadaşları tarafından LC-MS-MS ile idrarda EtS tespit edilip, ölçülebilmesini sağlayan bir metod geliştirmesi ile EtS'in yakın zamanda alkol kullanımının bir göstergesi olarak rutinde kullanılmasının yolu açılmıştır (46).

Wurst ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada, değişik miktarlarda alkol almış deneklerden, alkol kullanımından 19-45 saat sonrasında alınmış 74 idrar örneğinde EtS, EtG ve EtOH düzeylerine bakılmış, sadece 14 örnekte EtOH bulunmuş iken, 54 örnekte EtG ve 56 örnekte de EtS bulunduğu bildirilmiştir. Ek olarak 8 örnekte yalnızca EtS pozitifken, 6 örnekte ise yalnızca EtG pozitif bulunmuştur. Bu sonuçlara göre EtS'in, özellikle EtG ile birlikte değerlendirildiğinde alkol kullanımının tespiti konusunda daha

sensitif ve spesifik sonuçlar sunabileceği ifade edilmiştir (15).

Hoseith ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel bir çalışmada 10 gönüllü denekten 0,5 g/kg alkol kullanımının ardından alınan idrar örneklerinde EtOH, EtG ve EtS düzeyleri ile GTOL/5-HIAA oranına bakılmış, EtOH'ün ortalama 5,9 saate kadar, EtG'nin ortalama 30 saate kadar, EtS'nin ortalama 32 saate kadar ve GTOL/5-HIAA oranının ortalama 9,8 saate kadar tespit edilebilir düzeyde kaldığı gösterilmiştir. Buna karşın alkol kullanımı öncesi alınan kontrol örneklerinin hiçbirinde EtOH tespit edilmemiş, deneyden 8 gün öncesinde 215g alkol tükettiğini belirten bir denekten alınan örnek dışında da hiçbir örnekte EtG ve EtS saptanamamıştır. İdrarda maksimum konsantrasyona ulaşma sürelerinin ise EtOH için ortalama 2,1 saat, EtG için 5 saat, EtS için 4 saat ve GTOL/5-HIAA oranı için ise ortalama 4 saat olduğu bildirilmiştir (21).

Alkol kullanımı sonrası elde edilen idrar örneklerinde EtG ve EtS düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada, ardışık olarak alınan 354 idrar örneğinin 86'sında (%24) EtS ve EtG pozitif bulunmuştur. 3 örnekte sadece EtS, 4 örnekte ise sadece EtG pozitif bulunmuştur. Tespit edilen EtS ve EtG değerleri arasında yüksek bir lineer korelasyon olduğu tespit edilmiştir. EtS seviyelerinin 0,05mg/dl ile 264mg/dl arasında değiştiği (ortalama: 18,5mg/dl, medyan:2,86 mg/dl), EtG değerlerinin ise 0,13mg/dl ile 997mg/dl arasında değiştiği (ortalama:77mg/dl, medyan:7,52mg/dl) gösterilmiştir (16).

79 ölüm vakasından elde edilen kan ve idrar örneklerinde EtOH, EtG ve EtS değerlerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada, olgular kan EtOH düzeylerine göre 3 gruba ayrılmış (Grup A: >200mg/dl, Grup B: 80-200 mg/dl ve Grup C: 10-80 mg/dl), Grup A'ya (kan EtOH: >200mg/dl) giren 31 vakaya ait tüm örneklerde EtG, 30 vakada ise EtS tespit edilebilir düzeyde bulunmuştur. EtS tespit edilemeyen bir vakaya ait örneklerde ise EtG'nin düşük seviyede olduğu gösterilmiştir. Grup B'ye (kan EtOH:80-200 mg/dl) dâhil edilen 21 vakanın 20'sinde EtS ve EtG tespit edilebilir düzeyde bulunmuştur. Grup C'ye dâhil edilen 27 vakanın ise 19'unda EtG ve EtS tespit edilmiştir (29).

SONUÇ

Alkol kullanımının tespiti konusunda adli tıp uygulamaları sırasında pek çok sorunla karşılaşmakta olup bu sorunların başında postmortem alkol üretimi gelmektedir. Bu sorunların çözümü için öne sürülmüş görece yeni alkol kullanım göstergeleri olan EtG, EtS, fosfatidiletanol, FAEE ve 5-HTOL/5-HIAA oranı üzerinde pek çok

araştırma yapılmış ve yararlılıkları gösterilmiştir. Ülkemizde de adli tıp uygulamalarında sıkça sorunlar yaşanan antemortem - postmortem alkol ayrımı konusunda her ne kadar Adli Tıp Kurumu’nun bazı merkezlerinde günümüzde EtG ve EtS değerleri araştırılmakta ise de, bu tür yeni yöntemlerin kullanımının yaygınlaştırılması ve bilinirliklerinin arttırılmasının yararlı olacağı görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Saukko P, Knight B. Forensic Aspects of Alcohol In: Saukko P, Knight B, eds. Knight’s Forensic Pathology 3rd Edition. London: Hodder Arnold,2004:552-9.

2. Wagner K. Über die Veränderlichkeit des Alkoholgehaltes von Leichenblut und nichtsteril aufbewahrten Blutproben. Deuts Z Ges Gerich Med 1936;26:276-92.

3. Ziavrou K, Boumba VA, Vougiouklakis TG. Insights into the origin of postmortem ethanol. Int J Toxicol 2005;24(2):69-77.

4. Singer PP, Jones GR, Lewis R, Johnson R. Loss of ethanol from vitreous humor in drowning death. J Anal Toxicol 2007;31(8):522-5.

5. Corry JE. A review: Possible sources of ethanol ante- and post-mortem: its relationship to the biochemistry and microbiology of decomposition. J Appt Bacteriol 1978;44(1):1-56.

6. Caplan YH, Levine B. Vitreous humor in the evaluation of postmortem blood ethanol concentrations. J Anal Toxicol 1990;14(5):305-7.

7. Johnson RD, Lewis RJ, Canfield DV, Blank CL. Accurate assignment of ethanol origin in postmortem urine: liquid chromatographic-mass spectrometric determination of serotonin metabolites. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2004;805(2):223-34.

8. Wurst FM, Kempter C, Metzger J, Seidl S, Alt A. Ethyl glucuronide: A marker of recent alcohol consumption with clinical and forensic implications. Alcohol 2000;20(2):111-6.

9. Refaai MA, Nguyen PN, Steffensen TS, Evans RJ, Cluette-Brown JE, Laposata M. Liver and adipose tissue fatty acid ethyl esters obtained at autopsy are postmortem markers for premortem ethanol intake. Clin Chem 2002;48(1):77-83.

10. Best CA, Laposata M. Fatty acid ethyl esters: Toxic non-oxidative metabolites of ethanol and markers of ethanol intake. Front Biosci 2003;8:e202-17.

11. Emrich J, Sprung R, Sammler J, Remberg G. Identification of fatty acid methyl esters (FAMES) in postmortem tissue. A new marker of alcohol abuse? Forensic Sci Int 1997;85(1):41-9.

12. Ramchandani VA, Bosron WF, Li TK. Research advances in ethanol metabolism. Pathologie Biologie 2001;49(9):676-82.

13. Hansson P, Varga A, Krantz P, Alling C. Phosphatidylethanol in post-mortem blood as a marker of previous heavy drinking. Int J Legal Med 2001;115(3):158-61.

14. Foti RS, Fisher MB. Assessment of UDP-glucuronosyltransferase catalyzed formation of ethyl glucuronide in human liver microsomes and recombinant UGTs. Forensic Sci Int 2005;153(2-3):109-16.

15. Wurst FM, Dresen S, Allen JP, Wiesbeck G, Graf M, Weinmann W. Ethyl sulphate: a direct ethanol metabolite reflecting recent alcohol consumption. Addiction 2006;101(2):204-11.

16. Helander A, Beck O. Ethyl sulfate: A metabolite of ethanol in humans and a potential biomarker of acute alcohol intake. J Anal Toxicol 2005;29(5):270-4.

17. Canfield DV, Kupiec T, Huffine E. Postmortem alcohol production in fatal aircraft accidents. J Forensic Sci 1993;38(4):914-7.

18. de Lima IV, Midio AF. Origin of blood ethanol in decomposed bodies. Forensic Sci Int 1999;106(3):157-62.

19. Grellner W, Iffland R. Assessment of postmortem blood alcohol concentrations by ethanol levels measured in fluids from putrefactive blisters. Forensic Sci Int 1997;90(1-2):57-63.

20. Asirdizer M. Forensic medical aspects of toxicological analysis results. 1. Forensic Toxicology Days, 14-16 April 2011, Istanbul. Available at: https://www.researchgate.net/publication/279038395_Toksikolojik_Analiz_Sonularnn_Adli_Tbbi_Yn [cited: 23 June 2015].

21. Høiseth G, Bernard JP, Stephanson N, Normann PT, Christophersen AS, Mørland J, Helander A. Comparison between the urinary alcohol markers EtG, EtS, and GTOL/5-HIAA in a controlled drinking experiment. Alcohol Alcohol 2008;43(2):187-91.

22. Beck O, Helander A. 5-hydroxytryptophol as a marker for recent alcohol intake. Addiction 2003; 98(Suppl 2):63-72.

23. Svensson S, Some M, Lundsjö A, Helander A, Cronholm T, Höög JO. Activities of human alcohol dehydrogenases in the metabolic pathways of ethanol and serotonin. Eur J Biochem 1999;262(2):324-9.

24. Alling C, Gustavsson L, Månsson JE, Benthin G, Anggård E. Phosphatidylethanol formation in rat organs after ethanol treatment. Biochim Biophys Acta 1984;793(1):119-22.

25. Hansson P, Caron M, Johnson G, Gustavsson L, Alling C. Blood phosphatidylethanol as a marker of alcohol abuse: levels in alcoholic males during withdrawal. Alcohol Clin Exp Res 1997;21(1):108-10.

26. Doyle KM, Cluette-Brown JE, Dube DM, Bernhardt TG, Morse CR, Laposata M. Fatty acid ethyl esters in the blood as markers for ethanol intake. JAMA 1996;276(14):1152-6.

27. Tümer AR, Keten A, Karacaoğlu E, BalsevenOdabaşı A, Akçan R, Evaluation of ethyl glucuronide, a minor metabolite of ethyl alcohol, accompanied by related cases. Hacettepe Tıp Derg 2011;42(3):141-5.

28. Karanfil R, Keten A, Zeren C, Rifaioğlu E N, Göktaş MT.

Comparison of hair and nail ethyl glucuronide concentrations. Dicle Tıp Derg 2014;41(4):635-9.

29. Al-Asmari AI, Anderson RA, Appelblad P. Direct determination of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in postmortem urine specimens using hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. J Anal Toxicol 2010;34(5):261-72.

30. Arndt T, Gierten B, Güssregen B, Werle A, Grüner J. False-positive ethyl glucuronide immunoassay screening associated with chloral hydrate medication as confirmed by LC-MS/MS and self-medication. Forensic Sci Int 2009;184(1-3):e27-9.

31. Beyer J, Vo TN, Gerostamoulos D, Drummer OH. Validated method for the determination of ethylglucuronide and ethylsulfate in human urine. Anal Bioanal Chem 2011;400(1):189-96.

32. Caslavská J, Jung B, Thormann W. Confirmation analysis of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in human serum and urine by CZE-ESI-MS(n) after intake of alcoholic beverages. Electrophoresis 2011;32(13):1760-4.

33. Dahl H, Voltaire Carlsson A, Hillgren K, Helander A. Urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate testing for detection of recent drinking in an outpatient treatment program for alcohol and drug dependence. Alcohol Alcohol 2011;46(3):278-82.

34. Dahl H, Hammarberg A, Franck J, Helander A. Urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate testing for recent drinking in alcohol-dependent outpatients treated with acamprosate or placebo. Alcohol Alcohol 2011;46(5):553-7.

35. Favretto D, Nalesso A, Frison G, Viel G, Traldi P, Ferrara SD. No-discharge atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry of ethyl glucuronide and ethyl sulfate. J Mass Spectrom 2010;45(1):121-4.

36. Favretto D, Nalesso A, Frison G, Viel G, Traldi P, Ferrara SD. A novel and an effective analytical approach for the LC-MS determination of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine. Int J Legal Med 2010;124(2):161-4.

37. Schmitt G, Aderjan R, Keller T, Wu M. Ethyl glucuronide: an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data, and determination in serum and urine. J Anal Toxicol 1995;19(2):91-4.

38. Helander A, Kenan N, Beck O. Comparison of analytical approaches for liquid chromatography/mass spectrometry determination of the alcohol biomarker ethyl glucuronide in urine. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2010;24(12):1737-43.

39. Musshoff F, Albermann E, Madea B. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine after consumption of various beverages and foods--misleading results? *Int J Legal Med* 2010;124(6):623-30.

40. Stewart SH, Koch DG, Burgess DM, Willner IR, Reuben A. Sensitivity and specificity of urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in liver disease patients. *Alcohol ClinExp Res* 2013;37(1):150-5.

41. You Y, Uboh CE, Soma LR, Guan F, Li X, Rudy JA, Chen J. Biomarkers of alcohol abuse in racehorses by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2007;21(23):3785-94.

42. Høiseth G, Bernard JP, Karinen R, Johnsen L, Helander A, Christophersen AS, Mørland J. A pharmacokinetic study of ethyl glucuronide in blood and urine: applications to forensic toxicology. *Forensic Sci Int* 2007;172(2-3):119-24.

43. Høiseth G, Karinen R, Christophersen AS, Olsen L, Nor-mann PT, Mørland J. A study of ethyl glucuronide in post-mortem blood as a marker of ante-mortem ingestion of alcohol. *Forensic Sci Int* 2007;165(1):41-5.

44. Keten A, Tumer AR, Balseven-Odabasi A. Measurement of ethyl glucuronide in vitreous humor with liquid chromatography-mass spectrometry. *Forensic Sci Int* 2009;193(1-3):101-5.

45. Vestermark A, Bostrom H. Studies on ester sulfates. V. On the enzymatic formation of ester sulfates of primary aliphatic alcohols. *Exp Cell Res* 1959;18(1):174-7.

46. Schneider H, Glatt H. Sulpho-conjugation of ethanol in humans in vivo and by individual sulphotransferase forms in vitro. *Biochem J* 2004;383(Pt.3):543-9.