



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**POSTMORTEM DÖNEMDE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD),
GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSH-Px) ve
MALONDİALDEHİDİN (MDA) BEYİN ve BÖBREK
DOKULARINDAKİ DEĞİŞİMİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Burak GÜMÜŞ

UZMANLIK TEZİ

TOKAT
2012



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**POSTMORTEM DÖNEMDE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD),
GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSH-Px) ve
MALONDİALDEHİDİN (MDA) BEYİN ve BÖBREK
DOKULARINDAKİ DEĞİŞİMİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Burak GÜMÜŞ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Ali YILDIRIM

TOKAT

2012

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince ve tez çalışmalarım sırasınca ilgilerini ve deneyimlerini paylaşarak her türlü desteği sağlayan Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanı ve Tez Danışmanım Yrd. Doç. Dr. Ali YILDIRIM'a, ihtisasım süresince ve çalışmalarım esnasında yardımlarını Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖZER'e, bir süre anabilim dalımızda görev yapmış olan Doç. Dr. Sadık TOPRAK'a, tez çalışmalarım aşamasında desteklerini esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Hüseyin ÖZYURT'a, Arş. Gör. Dr. Mehmet ŞAHİN'e, Öğr. Gör. İsmail BENLİ'ye ayrıca Kastamonu Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Merkezi'nde görev yapan biyokimya uzmanı abim Dr. Alper GÜMÜŞ'e ve bu süre içerisinde beraber çalıştığım mesai arkadaşlarıma,

Son olarak bana her türlü desteği sağlayan aileme teşekkür ederim.

Dr. Burak GÜMÜŞ

ÖZET

Post mortem periyotta ölüm zamanının tahmini adli tıbbın ana çalışma konularından biridir. Bu çalışmanın amacı antioksidan enzim ve oksitativ stres belirteçleri olan SOD, GSH-px ve MDA'nın postmortem periyottaki değişimlerini ölçmek ve bunların ölüm zamanı tahmininde kullanışlı olup olmadığını tartışmaktır.

Araştırmaya 40 adet sıçan dahil edilmiştir. Grup 1, hasarsız kontrol grubu olarak değerlendirilmiş ve ötanazi işleminden hemen sonra, grup 2'de 6 saat sonra, grup 3'de 12 saat sonra, grup 4'de 24 saat sonra ve grup 5'de 48 saat SOD, GSH-Px ve MDA düzeylerinin ölçülmesi için beyin ve böbrek dokusu alınmıştır.

Beyin dokusunda ölçülen MDA değerleri açısından grup 1'in diğer gruplardan anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmiştir ($p=0.001$, $p=0.01$ ve $p=0.01$). Böbrek dokusunda ölçülen MDA değerleri açısından Grup 1, 2 ve 3'ün grup 5'den anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmiştir ($p=0.007$, $p=0.003$ ve $p<0.001$).

SOD, GSH-Px ve MDA'nın tanisal yeterliliğini saptamak için hesaplanan 1 SD ve 2 SD değerlerine denk gelen cut-off değerleri seçtik. Beyin dokusunda ölçülen MDA değerleri için; cut-off değeri 18.92 nmol/gr.doku (1 SD) seçilirse, %88 duyarlılık ve %75 özgünlükle ölümün ilk altı saat içinde gerçekleşmiş olabileceğini hesapladık. Beyin dokusunda ölçülen MDA değerleri için; cut-off değeri 21.26 nmol/gr.doku (2 SD) seçilirse, %37.5 duyarlılık ve %97 özgünlükle ölümün ilk altı saat içinde gerçekleşmiş olabileceğini hesapladık. Böbrek dokusundan elde edilen MDA değerleri için; cut-off değeri 12.18 nmol/gr.doku (1 SD) seçilirse, %100 duyarlılık ve %79 özgünlükle ölümün ilk kırk sekiz saat içinde gerçekleşmiş olabileceğini hesapladık.

Sonuç olarak bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile postmortem sürecin MDA, GSHP-x ve SOD üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızın ileride yapılacak benzer çalışmalara fayda sağlayacak nitelikte olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Postmortem, SOD, GSH-Px, MDA.

ABSTRACT

Estimation of the time of death in the post mortem period is one of the main subject of forensic science. The aim of this study is to evaluate antioxidant enzymes (SOD, GSH-px) and oxidative stress markers (MDA) in the post mortem period and to discuss these changes are useful for prediction of time of death or not.

40 rats were included in the study. We measure levels of SOD, GSH-Px and MDA in brain and renal tissue. Group 1 was non-intrusive control group. All the groups were euthanized. Group 1 was euthanized and evaluated immediately. Group 2 was evaluated after 6 hours, group 3 was evaluated after 12 hours, group 4 was evaluated after 24 hours, group 5 was evaluated after 48 hours left respectively.

MDA levels of Group 1 were significantly different from other groups ($p=0.001$, $p=0.01$, $p=0.01$) at brain tissue. MDA levels of group 1, 2, 3 were significantly different from group 5 ($p=0.007$, $p=0.003$ ve $p<0.001$) at renal tissue.

1 SD and 2 SD levels were selected as cut-off levels for determining diagnostic adequacy of MDA. For brain tissue MDA level; if the cut-off level is selected 18.92 nmol/gr.tissue (1 SD), we calculated that death could have taken place in first six hour with %88 sensitivity and %75 specificity. For brain tissue MDA level; if cut-off level is selected 21.26 nmol/gr.tissue (2 SD), death could have taken place in first six hour with %37.5 sensitivity and %97 specifty. When measured in renal tissue MDA values for the calculation of diagnostic adequacy. Diagnostic adequacy for renal tissue MDA levels; if the cut-off level is selected 12.8 nmol/gr.tissue (1 SD), we calculated that death could have taken place in first 48 hour with %100 sensitivity and %79 specificity.

As a result of this study effects of postmortem process, to the levels of MDA, and SOD and GSHP-x were investigated. We believe that our study will flash on future studies on similar subjects.

Key Word: Postmortem, SOD, GSH-Px, MDA.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

| | |
|--|-----|
| TEŞEKKÜR | iv |
| ÖZET | v |
| İNGİLİZCE ÖZET | vi |
| İÇİNDEKİLER DİZİNİ | vii |
| KISALTMALAR | ix |
| TABLolar DİZİNİ | x |
| GRAFİKLER DİZİNİ | xi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Ölümün tanımı: | 3 |
| 2.1.1. Somatik Ölüm (Fizyolojik ölüm): | 3 |
| 2.1.2. HücreseL Ölüm (Biyolojik Ölüm): | 3 |
| 2.1.3. Beyin Ölümü: | 4 |
| 2.2. Ölümün Tanısı: | 5 |
| 2.2.1. Yalancı Ölüm: | 5 |
| 2.3. Postmortem Dönemde Meydana Gelen Değişimler ve Postmortem İnterval Tayini: | 6 |
| 2.3.1. Temel Vücut Fonksiyonlarının Kaybı: | 9 |
| 2.3.2. Hareketsizlik (Kasların Gevşemesi): | 10 |
| 2.3.3. Sıvı Kaybı (Dehidratasyon): | 10 |
| 2.3.4. Postmortem Göz Değişiklikleri: | 11 |
| 2.3.5. Postmortem Kan Sıvısındaki Değişimler, Ölü Kanının Pıhtılaşması ve Erimesi: | 12 |
| 2.3.6. Cesedin Soğuması (Algor Mortis): | 13 |
| 2.3.7. Otoliz: | 17 |
| 2.3.8. Ölü Lekeleri (Livor Mortis): | 17 |
| 2.3.9. Ölü Sertliği (Rigor Mortis): | 20 |
| 2.3.10. Çürüme (Dekompozisyon): | 22 |
| 2.3.10.1. Sabunlaşma (Sponifikasyon): | 26 |
| 2.3.10.2. Mumyalaşma (Mumifikasyon): | 27 |
| 2.3.10.3. Tahnit (Embalging): | 28 |
| 2.3.10.4. Salamurlaşma (Maserasyon): | 28 |
| 2.3.11. Biyokimyasal Değişimler: | 29 |
| 2.3.11.1. Elektrolit Değişimleri: | 31 |
| 2.3.11.1.1. Sodyum (Na ⁺): | 32 |
| 2.3.11.1.2. Klor (Cl ⁻): | 33 |
| 2.3.11.1.3. Potasyum (K ⁺): | 33 |
| 2.3.11.1.4. Kalsiyum (Ca ⁺): | 37 |
| 2.3.11.1.5. Sülfür (S ⁻²): | 38 |

| | |
|--|----|
| 2.3.11.1.6. Fosfor (P ⁻³ veya P ⁻⁵): | 38 |
| 2.3.11.1.7. Magnezyum (Mg ⁺²): | 39 |
| 2.3.11.2. Hipoksantin (Hx): | 40 |
| 2.3.11.3. pH: | 41 |
| 2.3.11.4. C-Reaktif Protein (CRP): | 41 |
| 2.3.11.5. Glikoz: | 41 |
| 2.3.11.6. İnsulin, Kalsitonin, Tiroglobulin ve Glukagon'un İmmünohistokimyasal Analizi: | 43 |
| 2.3.11.7. Nükleik Asitler: | 43 |
| 2.3.11.7.1. DNA (Deokrisibo Nükleik Asit) Bozulması: | 43 |
| 2.3.11.7.2. RNA (Ribonükleik Asit) Bozulması: | 44 |
| 2.3.12. Postmortem İnterval Tayini İçin Araştırılan Diğer Yöntemler: | 45 |
| 2.3.12.1. Mide İçeriği: | 45 |
| 2.3.12.2. H-Manyetik Rezonans Spektroskopisi ve Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi ile Çürümenin İzlenmesi: | 45 |
| 2.3.12.3. Postmotem İskelet Kaslarının Uyalılabilirliği: | 46 |
| 2.4. Oksijen Yetersizliği (Hipoksi ve Asfiksi): | 47 |
| 2.4.1. Oksijen Yetersizliğinin Beyin Üzerine Etkileri: | 48 |
| 2.4.2. Oksijen Yetersizliğinin Böbrek Üzerine Etkileri: | 49 |
| 2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar: | 50 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM | 53 |
| 3.1. Biyokimyasal İnceleme | 54 |
| 3.1.1. Doku Protein Düzeyi Ölçümü | 55 |
| 3.1.2. Doku ve Serum SOD Aktivitesinin Ölçülmesi | 56 |
| 3.1.3. Doku ve Serum GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü | 57 |
| 3.1.4. Doku ve Serum Lipid Peroksit (LPO) Düzeylerinin Ölçümü (MDA) | 58 |
| 3.2. İstatistiksel Analiz: | 59 |
| 4. BULGULAR | 60 |
| 4.1. Beyin ve Böbrek dokuları arasından SOD, GSH-Px ve MDA değerleri açısından fark olup olmadığının değerlendirilmesi | 60 |
| 4.2. Gruplar arasında SOD, GSH-Px ve MDA değerleri açısından fark olup olmadığının değerlendirilmesi | 62 |
| 4.3. Kruskal Wallis analiz sonuçları | 66 |
| 4.4. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar: | 67 |
| 4.5. Değerlendirilen parametrelerin korelasyonu | 69 |
| 4.6. Tanısal yeterlilik | 71 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ | 73 |
| 6. KAYNAKLAR | 80 |

KISALTMALAR

| | |
|--------|--|
| PMİ | : Postmortem İnterval |
| SOD | : Süperoksit Dismutaz |
| GSH-pX | : Glutatyon Peroksidaz |
| MDA | : Malondialdehid |
| TBA | : Tiyobarbitürik Asit |
| EKG | : Elektrokardiyografi |
| ATP | : Adenozin Trifosfat |
| Hx | : Hipoksantin |
| CRP | : C reaktif Protein |
| DNA | : Deoksiribonükleik Asit |
| RNA | : Ribonükleik Asit |
| OD | : Optik Dansite |
| TCA | : Trisiklik Asetik Asit |
| NADPH | : Nikotin Amid Adenindinükleotit |
| GSH | : Glutatyon |
| GSSG | : Okside Glutatyon |
| SPSS | : Statistical Package for the Social Science |

TABLolar DİZİNİ

| Tablo | Sayfa |
|---|--------------|
| Tablo 1: Gruplar ve uygulanan işlemler | 54 |
| Tablo 2: Beyin ve böbrek dokularında SOD, GSH-Px ve MDA değerleri tanımlayıcı istatistikleri | 60 |
| Tablo 3: Tanımlayıcı istatistik SOD | 63 |
| Tablo 4: tanımlayıcı istatistik GSH-Px | 64 |
| Tablo 5: Tanımlayıcı istatistik MDA | 65 |
| Tablo 6: Beyin ve böbrek dokularında SOD, GSH-Px ve MDA değerlerinin gruplar arasında farklı olup olmadığı gösteren Kruskal Wallis Analizi sonuçları | 66 |
| Tablo 7: Beyin dokusunda MDA değerleri açısından grupların ikili karşılaştırmalarına ait p değerleri gösterilmiştir | 67 |
| Tablo 8: Böbrek dokusunda MDA değerleri açısından grupların ikili karşılaştırmalarına ait p değerleri gösterilmiştir | 68 |
| Tablo 9: Dokulara göre SOD, GSH-Px ve MDA parametrelerinin ilişkisi p ve r değerleri gösterilmiştir | 69 |

GRAFİKLER DİZİNİ

| Grafik | Sayfa |
|--|-------|
| Grafik 1: Ölüm zamanı tespitinin temel ilkesi (Ölçülen değerden geriye doğru bir eğim ile başlangıç değerinin hesaplanması) | 8 |
| Grafik 2: Beyin ve böbrek dokularında ayrı ayrı GSH-Px, SOD ve MDA değerlerinin boks-plot grafikler olarak gösterimi | 61 |
| Grafik 3: Dokulara göre SOD değerlerinin boks plot grafiklerinde gösterimi | 63 |
| Grafik 4: Dokulara göre GSH-Px değerlerinin boksplot grafiklerinde gösterimi | 64 |
| Grafik 5: Dokulara göre MDA değerlerinin boks plot grafiklerinde gösterimi | 65 |
| Grafik 6: Beyin dokusunda GSH-Px ve MDA arasında ilişkiyi gösteren grafik | 70 |
| Grafik 7: Böbrek dokusunda GSH-Px ve MDA arasında ilişkiyi gösteren grafik | 70 |
| Grafik 8: Beyin ve böbrek dokularından ölçülen MDA değerleri için önerilen cut-off değerlerinin saçılım grafikleri üzerinde gösterim. | 72 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 1. Nomogram metodunun uygulanması | 15 |
| Şekil 2. Beyin ısısı ile ölüm zamanı nomogramı | 16 |
| Şekil 3. Orbicularis oculi kaslarının uyarılması sonucu pozitif reaksiyon dereceleri. | 47 |
| Şekil 4: Ötenazi işleminin şematik gösterimi | 53 |

1. GİRİŞ

Hangi sebeple meydana gelmiş olursa olsun, cinsiyet ve başka faktörlere bağımlı olmaksızın canlılığını yitiren her insanın vücudunda bir dizi doğal değişiklik meydana gelmektedir. Değişiklikler moleküler düzeyde başlayıp mikroskobik düzeyde devam etmekte ve büyük morfolojik değişiklikler meydana gelmektedir (1, 2). Bir insan vücudu veya kalıntıları, ölüm gerçekleştikten sonra bir dizi değişime uğramaktadır. Bu değişimlerin, karmaşık biyolojik olayları ve doku yıkımını etkileyen postmortem süreci içeren geniş bir yelpazesi bulunmaktadır (3).

Çok eskilerden beri cesetlerde gözlenen postmortem değişiklikler ile ölüm zamanı tayin edilmeye çalışılmıştır. Ölüm zamanının güvenilir bir şekilde tespit edilmesi, adli tahkikatı yönlendirmesi açısından önemli bir konudur (2). Ölü bir beden bulunduğu zaman, ölümden bulunana kadar geçen zamanı aralığını kesin olarak tespit etmek mümkün değildir (4). Teknolojideki tüm gelişmelere rağmen, henüz ölüm zamanı kesin olarak tayin edecek bir yöntem bulunamamıştır (2).

Ölüm zamanı ya da postmortem intervalin (PMİ) saptanması kuşku ve doğal olmayan ölümlerde önem arz etmektedir (5). Ölüme şahit olunmadığı sürece kesin ölüm zamanını tespit etmek mümkün değildir. Ancak elde edilecek bilgiler ile ölüm anını kapsayacak bir zaman aralığı tahmini yapmak mümkün olabilmektedir. Genel olarak kısa süreli PMİ tahmini dar bir aralığı ve uzun süreli PMİ tahmini hata şansı yüksek olan geniş bir aralığı kapsamaktadır. En güvenilir tahminler, ölü beden üzerinde çok sayıda gözlemin bir arada kullanılmasıyla yapılmaktadır (4). Kesin ölüm zamanı tespitini sağlayan herhangi bir yöntem bulunmamaktadır. Ölüm zamanı tespitine yönelik klasik yöntemler ile kesin sonuçlara ulaşmak mümkün olmadığı gibi yanlış yönelme de yol açabilmektedir (5).

Aslında, hemen her ölüm mekanizmasının temelde biyokimyasal nedenlere bağlı olduğu düşünülmektedir (6). Bütün biyolojik varlıklar öldükten sonra çürümek ve ekolojik sisteme katılmak durumundadır (5). Çürümenin veya dış etmenlerin etkilerine olarak bağlı olarak postmortem dönemde birçok maddenin konsantrasyonunda değişimler gözlenmektedir (7). Ölümden sonra vücut sıvılarının,

elektrolitlerinin ve diğer kimyasal maddelerin analizi; ölüm nedeninin tanısı, bazı anatomik bozuklukların değerlendirilmesi, PMİ tahmini gibi amaçlar için kullanılmaktadır (6). Somatik ve biyolojik ölüm arasında geçen süre içerisinde organların fonksiyonunun devamı, ölümden sonra bile devam eden enzimatik ve bakteriyel aktivite, ölen hücrelerin permabilite değerışiklikleri gibi etkenler sebebiyle vücut sıvılarında değerışimler meydana gelmektedir (5). Ölümden sonra elektrolitler ve diğer kimyasal maddeler ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu vitröz humor, serebrospinal sıvı veya kan gibi ekstrasellüler sıvı kompartmanları üzerinden yürütölmektedir (6). Birçok biyokimyasal metot, farklı sıvı örneklerinde konsantrasyon değerışikliklerini (artma veya azalma) ölçmektedir (8).

Postmortem biyokimyasal incelemelerle ilgili yapılan literatür taramasında süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve malondialdehid (MDA) ile ilgili yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu araştırmada deney hayvanlarında (Wistar-Albino Sıçan) postmortem dönemde SOD, GSH-Px, MDA; beyin ve böbrek dokularında sabit ısı ve nem ortamında belli zaman aralıkları içerisindeki değerışimleri araştırmak amaçlanmıştır. Bu araştırma sonucunda PMİ tayininde kullanılması muhtemel parametreler tespit edilmeye çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ölümün tanımı

Ölüm, genel olarak organizmaya canlılık veren özelliklerin (dolaşım, solunum ve sinir sistemi fonksiyonlarının) geriye dönüşümsüz olarak yitirilmesidir (9). Ölüm vücuttaki canlılık halinin yavaş yavaş yok olması ile oluşan biyolojik bir olaydır. Her ölüm başlangıcı ve sonu olan bir takım olaylar zincirini içermektedir. Bu süre kişiden kişiye, ölüm sebebine ve şekline göre farklılıklar göstermektedir. İnsan organizmasına canlılık veren üç büyük sistem bulunmaktadır. Bu sistemlerden birisinin fonksiyonunu kaybetmesi sonucu diğer sistemler çalışsa bile ölüm meydana gelecektir (5). Dünya üzerindeki çoğu ülkede dolaşım ve solunum gibi temel yaşam sistemlerinin yapay destek olmaksızın çalışmaması ve merkezi sinir sistemi fonksiyonlarının tamamen durması hukuki açıdan ölüm olarak kabul edilmektedir (2).

2.1.1. Somatik Ölüm (Fizyolojik ölüm)

Bir organizmaya canlılık veren özelliklerin yitirildiğinin tespit edilmesine ve klinik olarak adlandırılan ölüme “somatik ölüm” denilmektedir (9). Vücudun bir bütün halinde öldüğünün kabul edilmesi halidir. Somatik ölüm, spontan solunum ve dolaşımın tamamen durmasından sonra beyin sapında bulunan yaşamsal merkezlerin fonksiyonlarının durması olarak tanımlanmaktadır. Somatik ölüm gerçekleşikten sonra dokularda yaygın bir anoksi olmakta ve hücrelerdeki metabolik olaylar bir süre sonra sona ermektedir (5). Somatik ölüm gerçekleşikten sonra dahi hücreler bir süre daha canlılığını devam ettirebilmektedir (9).

2.1.2. Hücresel Ölüm (Biyolojik Ölüm)

Hücrelerin farklı zamanlarda fonksiyonlarını yitirerek biyolojik özelliklerini kaybetmesi, “hücresel ölüm” olarak adlandırılmaktadır (10). Nükleer patalamara bağlı ölümler gibi durumlar dışında somatik ile hücresel ölüm eş zamanlı olarak meydana gelmez (5). Anoksi nedeniyle belli bir süre sonra geriye dönüşü olmayan bozukluklar ortaya çıkacak ve bütün hücrelerin yaşamı sonlanacaktır. Somatik ölümle birlikte

meydana gelen anoksiye her doku farklı şekilde cevap vermekte ve en duyarlı hücreler birkaç dakika kadar yaşabilmektedir (5). Hücresel ölümden sonra solunum, dolaşım ve merkezi sinir sistemi fonksiyonları sonlandıktan sonra sistemler arası koordinasyon bozulmakta ve sonrasında organlar arasındaki düzen, doku içi ve hücre içi fonksiyonlar bozulmaktadır (1).

2.1.3. Beyin Ölümü

Beyin ölümü, organizmanın beyin sapındaki solunum ve dolaşım merkezinin canlılığını yitirdiği ve artık yaşama ümidi kalmamış kişilerden, ihtiyacı olan kişilere organ ve doku transplantasyonu işlemini yapabilmek için ortaya atılmış bir kavramdır (12). Beyin ölümü klinik bir tanı olup beyin fonksiyonlarının tam ve geri dönüşümsüz kaybıdır. Beyin ölümü korteksteki hücrelerin ölümü anlamına gelmemektedir (5). Beyin ölümünde beyin ve beyin sapı fonksiyon yapamamaktadır. Kardiyovasküler sistem spontan olarak tek aktivite gösteren sistemdir. Yeterli hiperkarbi olduğu zaman apne ve solunum devam etmektedir. Sadece omuriliğin yönetimindeki refleksler devam etmektedir (13).

Beyin (beyin sapı) ölümünün ana ilkeleri şunlardır:

- Geri dönüşümü olmayan yapısal bir hasarının olması,
- Zehirlenme ve hipotermi gibi tedavisi olanaklı uyarılara cevap vermeyen durumların kapsam dışı bırakılması, beş yaşın altındaki çocukların kapsam dışı bırakılması,
- Klinik muayeneler ile beyin sapı fonksiyonlarının durmuş olduğunun saptanması,
- Doğrulayıcı testlerin yapılmış olması gerekmektedir.

Somatik ölüm ile hücresel ölüm arasında geçen süre içerisinde hücrelerin canlılıkları devam ettiği için dolayı organ transplantasyonu işleminin gerçekleştirilmesi mümkün olabilmektedir (5). Organ transplantasyonu için alınan organın, bir başka canlıda işlevini sürdürebilmesi için hücresel düzeyde ölümün meydana gelmemiş olması gerekmektedir (9).

Beyin ölümü (irreversibl koma) tanısını koyabilmek için:

- Koma primer hipotermiye, hipovolemik ya da hipotansif şoka, geriye dönüşüm sağlayabilecek entoksikasyonlara veya metabolik ve endokrin bozukluklara bağlı olmamalıdır,
- Bilinç tamamen kaybolmalıdır,
- Spontan hareketler bulunmamalı ve ağrılı uyarana cevap alınmamalıdır,
- Spontan solunum bulunmamalıdır,
- Beyin sapı refleksleri tamamen kaybolmalıdır (pupiller dilate veya fiks olmalı, ışık reaksiyonu alınmamalı, kornea, vestibülo-okuler, okülo-sefalik, palatal ve trakeal refleksler alınmamalı),
- Apne testi negatif olmalıdır,

Etyolojisi bilinen ölümlerde en az 12 saat ve etyolojisi bilinmeyen ölümlerde en az 24 saat yukarıda sayılan koşulların devamlılığı tespit edilmelidir (5).

2.2. Ölümün Tanısı

Ölüm meydana geldiği zaman hekimler tarafından onaylanması gerekmektedir ve ölümün tanısını koyabilmek için ölümün kesin belirtilerine bakılmalıdır (9). Ölümün meydana gelip gelmediğinin tespit edilebilmesi için ilk olarak dolaşım ve solunum fonksiyonlarının devam edip etmediğinin incelenmesi gerekmektedir (12). Spontan solunumun olmaması, dolaşımın olmaması ve beyin ölümü bulguları ile birlikte birincil kas gevşemesinin gelişmesi, derinin ışık geçirgenliği ve elastikiyet özelliklerinin kaybolması, somatik ölümün tanısını koymamızı sağlayan bulgulardır. Ölümün klinik tanı kriterleri, nabız yokluğu, solunumun durması, bilinç kaybı, dilate ve reaksiyonsuz pupillalardır (9).

2.2.1. Yalancı Ölüm

Bir insanın ölmediği halde öldüğünün sanılmasına “*yalancı ölüm*” denilmektedir. Yalancı ölüm; kanamalar nedeniyle meydana gelen bayılmalarda, asfiktik durumlarda, ilaçlar ve uyutucu-uyuşturucu maddeler ile meydana gelen zehirlenmelerde, elektrik ve yıldırım çarpmalarında, soğuğa maruz kalmada, korku

ve heyecan etkisi ile olan bayılmalarda, kafa travmaları gibi durumlarda gözlenebilmektedir (9). Bu gibi durumlarda, yaşam ilgili fonksiyonlar kontrol edilirken solunumda yüzeleşme, bazı reflekslerin azalması, kalp atımında yavaşlama, nabızda zayıflama gibi belirtiler gözlenebileceğinden yalancı ölüm açısından dikkatli olunmalıdır (5).

2.3. Postmortem Dönemde Meydana Gelen Değişimler ve Postmortem İnterval Tayini

Ölüm, nedeni hangi sebeple olursa olsun cinsiyet ve başka faktörlere bağımlı olmaksızın canlılığını yitiren her insanın vücudunda bir dizi doğal değişiklikler meydana gelmektedir (1, 2). Ölümden sonra dokuların yıkımı ile meydana gelen karmaşık biyolojik süreçlerin ve çeşitli faktörlerin etkileriyle geniş bir aralıkta postmortem değişiklikler gözlenmektedir (3). Postmortem dönemde meydana gelen değişiklikler erken ve geç olmak üzere iki temel gruba ayrılabilir (14).

Erken dönem postmortem değişiklikler:

- Geri dönüşümsüz kardiyak arrest sonucu kan akımının kesilmesi oksijenin hücrelere ulaşmasını engeller ve hücre metabolizmasının bozulmasına yol açar.
- Sinir aktivitesi durur, refleksler (kornea dahil) gözlenmez ve solunum durur.
- Retinal kan damarları içindeki kan kolonları bozulur.
- Oküler tansiyon kaybolur.
- Birincil kas gevşemesi gözlenir (kaslar öldükten sonra kısa bir süre için uyarıya yanıt verebilir ve arada bir seğirmeler olabilir).
- Cilt, konjunktiva ve mukozalar soluklaşma olur.
- Mesane kas tonusunun kaybı sonucu mesane boşalması gözlenebilir.
- Semen çıkışı olabilir.
- Genellikle mide içeriğinin regürjitasyonu olur.
- Algor motris, livor motris ve rigor motris gözlenir.

Geç dönem postmortem değişiklikler: Bu süreçte hücresel bozulma, mikrobiyal / bakteriyel yıkım, çevresel etmenler etkili olmaktadır. Çürüme, mumyalaşma ve iskeletleşme bu dönemde gözlenmektedir (14).

Postmortem değişiklikleri etkileyen faktörler ise özet olarak aşağıdaki gibidir.

Postmortem değişikliklerin başlangıcını ve devamını hızlandıran faktörler:

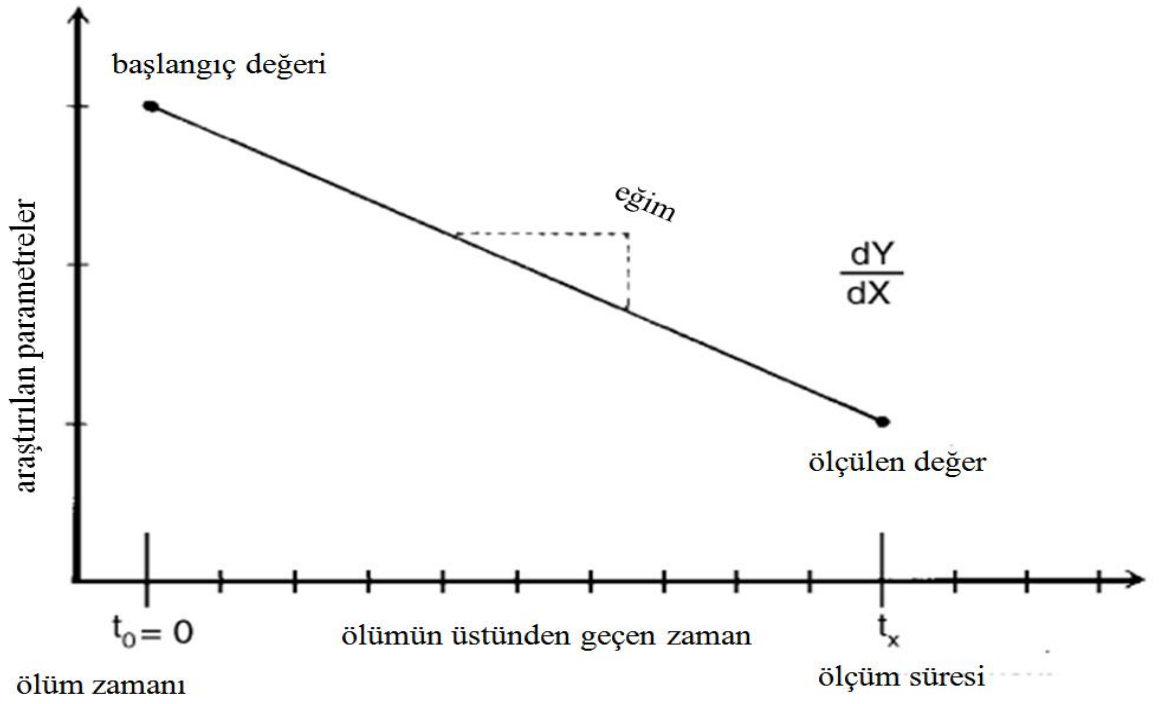
- Ölümün sıcak nemli bir ortamda meydana gelmesi,
- Ölenin kilolu veya yağ oranının yüksek olması,
- Ölümün infeksiyon ve sepsis ile meydana gelmesi,
- Ölümün intoksikasyon (eroïn gibi yasa dışı maddelerle) ile meydana gelmesi,
- Ölümün açık yaralar (ateşli silah veya delici-kesici alet yaraları gibi perfor eden yaralanmalar veya penetran travmatik yaralanmalar) ile meydana gelmesi,
- Vücut yüzeyini sıcak tutacak giysiler veya vücut yüzeyinde izole edecek nesnelere bulunması,

Postmortem değişiklikleri yavaşlatıcı veya durdurucu faktörler:

- Ölümün serin (soğuk) ve kuru bir ortamda veya düşük sıcaklıklar altında gerçekleşmesi,
- Ölenin çıplak ince giyinmiş olması veya ölümden kısa bir süre elbiselerinin çıkarılması,
- Ölümden kısa bir süre soğutma işlevi olan yerde saklanması olarak sıralanabilir (3).

PMİ tayini ölüm zamanı ile postmortem incelemeler arasında geçen zaman aralığı olarak tanımlanmaktadır (5). Bir insanın öldüğü kesin olarak tespit edildikten sonra ne zaman öldüğünün de tespit edilmeye çalışılmalıdır (9). Ölüm zamanının tayini adli çalışmalarda rutin bir görevdir (15). Ölüm zamanının tespiti kriminal ve sivil ölümlerde önem arz etmekte olup, PMİ tayini adli olaylarda suçluyu veya suçsuzu ayırmak için gerekli olabileceği gibi miras davalarında da faydalı olabilmektedir (16). Suç mahallinde ölüm zamanı tayininin iki önemli amacı vardır.

Soruşturmacılara, saldırının zamanı hakkında bir ön fikir vermek ve şüphelinin mazeretlerinin tutarlılığını kontrol etmek amaçlanmaktadır. Ancak ölüm zamanı tayini, sağ kalım süresi kısa olduğu zaman bir fikir verebilmekte ve ölüm zamanı tayini çok nadir olarak mahkemede tek başına delil olarak kullanılabilir (8). Ölüm zamanı tayini ile ilgili makalelerin sayısı ile uygulamalardaki önemi ve değeri arasında ters bir orantı bulunmaktadır (15).



Grafik 1: Ölüm zamanı tespitinin temel ilkesi (Ölçülen değerden geriye doğru bir eğim ile başlangıç değerinin hesaplanması) (15).

Ölüm zamanı tespitinin temel ilkesi, başlangıç noktasına dönme eğilimine bağlı olarak ölçülebilir zamanın hesaplanmasıdır. Ölüm zamanı eğrisi ve başlangıç noktası; iç ve dış etkenlerden, antemortem ve postmortem koşullardan etkilenmektedir (15). Ölüm zamanı tayininde adli tahkikat ve olay yeri incelemesi esas alınmaktadır, ancak adli soruşturmalarda ölü soğuması, ölü morlukları, ölü katılığı, dekompozisyon gibi postmortem değişikliklerden ve çeşitli laboratuvar yöntemlerinden de yararlanılmaktadır (5, 16). Ölümünden sonra geçen zamanın kesin tespitinin yapılamayacağı, ancak ölümden sonra geçen zaman aralığı hakkında

yorum yapılabileceği ve zaman aralıklarının olabildiğince daraltılması gerektiği belirtilmektedir (17).

Ölüm sonrası gözlenen ve hekimlerin araştırması gereken aşağıdaki gibi sıralanmaktadır:

- Temel vücut fonksiyonlarının (merkezi sinir sistemi, solunum ve dolaşım) kaybı,
- Hareketsizlik (kas gevşemesi, muskuler flaksidite),
- Sıvı kaybı (dehidratasyon),
- Göz değişiklikleri,
- Ölü kanının pıhtılaşması ve erimesi (postmortem koagülasyon ve hemoliz),
- Vücut sıvılarındaki postmortem biyokimyasal değişimler,
- Ölü soğuması (ısı kaybı, algor mortis),
- Otoliz,
- Ölü lekeleri (ölü morluğu, livor mortis),
- Ölü sertliği (ölü katılığı, rigor mortis),
- Çürüme (kokuşma, pütrefaksiyon) (5, 12).

2.3.1. Temel Vücut Fonksiyonlarının Kaybı

Ölümden sonraki dönemde ölümün tanısı açısından temel vücut fonksiyonlarının kaybı tespit edilmeye çalışılmalıdır. Bu belirtiler kişiye canlılık veren merkezi sinir sistemi, solunum sistemi ve dolaşım sistemi işlevlerinin son bulmasıdır. Dolaşım sistemi araştırılması için nabız ve tansiyon ölçülür, kalp sesleri stetoskop yardımı ile dinlenir, ekokardiyografi cihazı ile kalbin elektriksel aktivitesi incelenir, parmak ipe bağlanarak ipin sıkıldığı yerde solukluk ve parmak ucunda morarma olup olmadığına bakılmalıdır. Elektrokardiyografi kesin bir tanı yöntemi olup elektrokardiyografi cihazının bulunduğu yerlerde mutlaka yapılmalıdır. Solunum sisteminin incelenmesi için inpeksiyon ile göğüs hareketlerine bakılmalı, oskültasyon ile solunum sesleri dinlenmeli, oda şartlarında ağız ve burun delikleri önüne konulacak bir ayna ile buğulanma olup olmadığın bakılarak ayna testi yapılmalıdır. Merkezi sinir sistemi muayenesi nörolojik bir muayenedir. Merkezi sinir sistemi muayenesi için beyin sapı fonksiyonlarının sürüp sürmediğinin

tespitinde belli reflekslerin araştırılması yapılmalıdır. Kornea, pupilla, ayrıca orofarengeal, vestibulo-oküler ve okülo-sefalik refleksler değerlendirilmelidir. Elektroensefalografi ölüm tanısı açısından yararlı bir metottur ve sakıncaları bulunmaktadır (5, 12).

2.3.2. Hareketsizlik (Kasların Gevşemesi)

Ölüm gerçekleşikten sonra düz ve çizgili kaslar gevşemekte ve tonusunu kaybetmektedir. Ölümden sonra gerçekleşen bu olaya “birincil kas gevşemesi” denilmektedir. Birincil kas gevşemesinin sonucu olarak alt çene düşmekte ve ağız açılmakta, göğüs çökmekte, kollar ve bacaklar gevşemektedir. Yüz kaslarının gevşemesine bağlı olarak kırışıklar düzleşmekte ve kişi daha genç bir görünüme sahip olabilmekte, yüzde boş ve manasız bir ifade gözlenmektedir. Sfinkter kaslarının gevşemesi sonucu idrar ve gaita atılımı olabilmektedir. İlerleyen dönemde ölü sertliğinin kaybolması ile “ikincil kas gevşemesi” gözlenmektedir. Somatik ölüm gerçekleşikten sonra tüm çizgili kasların tonusu kaybolmakta ve kişi yere yığılmaktadır. Bu yığılma sırasında kişinin vücudunda sıyrık ve ekimozlar meydana gelebilmektedir. Bu yaraların kas gevşemesine mi yoksa travmaya bağlı olduğunun ayrımı yapılmalıdır. Primer kas gevşemesi sonucu oluşan yaralar genellikle yüzeysel ve hafif lezyonlardır, sıklıkla vücudun çıkıntılı (alın, burun sırtı, çene, diz kapakları ve yan kısımları, şakaklar, omuz ve ayak yan kısımları gibi) kısımlarında meydana gelmektedir (5, 12).

2.3.3. Sıvı Kaybı (Dehidratasyon)

İnsan vücudunun dörtte üçü sıvılardan oluşmaktadır ve ölümden sonra buharlaşma yoluyla sıvı kaybı meydana gelmektedir. Bu sıvı kaybı sonucu cesedin ağırlığında azalma meydana gelmektedir. Ortamın ısısı, nem, hava akımı, cesedin giysi durumu gibi etkenlerle değişim göstermekle birlikte ölümden sonra göz, deri ve mukozalardan su kaybı sonucu bazı değişiklikler meydana gelmektedir. Gözde sıvı kaybı sonucu, göz kapağının açık kalan aralığında sklera dokusunun kuruması ile “Tache Noire Sklerotica” isimi verilen kahverengi bir görünüm meydana gelmekte, göz küresinde yumuşama ve çökme gözlenmektedir (5, 12).

Erişkinlerde sıvı kaybı önemli ağırlık değişimine neden olmamakla birlikte yeni doğan bebeklerde sıvı kaybı ortalama olarak günde kilogram başına 18-20 gram civarındadır. Bebeğin doğumdaki ağırlığı bilindiği takdirde ağırlık kaybından yola çıkarak PMİ tahmini yapılabilir (2, 18). Normal olarak 2.5-3 kg doğan bebeklerde, ölümün üzerinden 8-10 gün geçtiği zaman kilo kaybı 500 gr'mı bulacağından genel vücut ağırlığına eklenmeli ve diğer miat tayini yöntemlerine de bakılmalıdır (5).

Deri ve mukoza kaybı bulunan kısımlarda sıvı kaybı sonucu "parşömen plağı" adı verilen kuru-sert bir tabaka şeklinde koyu sarımtırak, kahverengi, siyaha doğru değişen renklerde oluşumlar meydana gelmektedir. Ölümün doğal belirtisi olan parşömen plakları ile kişinin canlı iken uğradığı travmalar ile karışabilmektedir. Parşömen plağını ekimozdan ayırt etmek için lezyon olan bölge kesilerek incelenmelidir (5, 12).

Derinin iri gözenekli ve ince olduğu bölgelerde travmatik bir neden olmadan da sıvı kaybı meydana gelebilmekte parşömen plakları (erkeklerde skrotum, bebeklerde ağız çevresi ve mukozası, kadınlarda labiumlarda mukozalar ve çevresindeki deri parçaları gibi) gözlenebilmektedir. Canlıda travmalara bağlı oluşan parşömen plaklarının altında ekimoz gözlenir ve bunlara "altı ekimozlu parşömen plağı" denilmektedir (12). Altı ekimozlu parşömen plağı ölüme çok yakın bir zamanda meydana gelen travmanın belirtisidir (5). Postmortem dönemde, parşömen plakları 30 dakika ila 5-6 saat içerisinde görünür hale gelebilmektedir (19).

2.3.4. Postmortem Göz Değişiklikleri

Ölüm gerçekleştik yaklaşık 10 dakika kadar sonra korneada bulanıklaşma meydana gelmekte, 10-12 saat kadar sonra ise kornea süt rengini almakta, göz içi tansiyon düştüğü için pupilla yapıları bozulabilmektedir. Pupillalarda 2 mm'ye kadar daralma olabileceği gibi, 9 mm'ye kadar genişleme de olabilmektedir. Göz içi tansiyonun düşmesi sonucu gözlerde içe çökme gözlenmektedir. Oftalmoskop ile incelendiği takdirde ilk 2 saatte retinada solma, 3 saatten sonra sislenme, 5 saatten sonra soluklaşma ve homojen görünüm, 6. saatte disk sınırlarında bulanma, 7-10 saatte diskin tamamında bulanma ve 12 saatten sonra ise disk ve retinal damarlar

kaybolmaktadır. Göz kapakları açık kaldığı takdirde korneada kahverengi bir renk değişimi meydana gelmektedir (5).

Kocatürk ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ölüm zamanı bilinen ve 200 olgu içeren bir çalışmada, postmortem korneal bulanıklık ve pupil çapları PMİ açısından değerlendirilmiştir. Bu araştırma sonucunda PMİ ile korneal bulanıklık arasında anlamlı bir ilişki olduğu, pupil çapları ile PMİ arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (17).

2.3.5. Postmortem Kan Sıvısındaki Değişimler, Ölü Kanının Pıhtılaşması ve Erimesi

Ölüm gerçekleşikten sonra kalp ve damarlar içinde bulunan kan pıhtılaşmaya başlamaktadır. Ölümden sonra yaklaşık yarım saat içinde kan pıhtılaşmaya başlamaktadır ancak bu pıhtılaşma canlı kişide oluşan pıhtılaşmadan farklı özellikler göstermektedir. Ölüm sonrası pıhtılaşma kanın içerisindeki fibrinden meydana gelmekte ve bu oluşuma “postmortem pıhtı” veya “aleka” denilmektedir. Sıklıkla parlak, sarımsı-beyaz renkte ve elastik kıvamda olup, kalp boşluklarında ve büyük damarlarda iri kitleler halinde gözlenmektedirler. Her ölümden sonra postmortem pıhtı oluşmakta ancak karbondioksitin aşırı arttığı durumlarda böbrek üstü bezinden adrenalin salgılanması ile meydana gelen hormonal değişiklikler neticesi fibrinolizin enzim konsantrasyonu artış olduğundan postmortem pıhtı erimektedir. Meydana gelen olaylar sonucunda kan, sıvı ve pıhtısız bir durumda gözlenmektedir. Bu olaya ise “ölü kanın sıvı durumunda kalması” denilmektedir. Agoni dönemi uzadıkça postmortem pıhtı oluşumu artmaktadır. Ölümden uzun süre sonra kanın sıvı halde bulunmasının dokuların oksijen kullanma yeteneğinin mekanik bir olaya bağlı olarak azalması ya da asfiksi sırasında karbondioksit miktarında artması sonucunda pıhtılaşma zamanının uzamasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Postmortem pıhtı ölümden 3 saat kadar sonra hemolize olmaya başlamakta ve postmortem pıhtının hemolizi yaklaşık olarak 24 saat içerisinde tamamlanmaktadır. Postmorem pıhtının antemortem veya postmortem olup olmadığını değerlendirmek için pıhtı formalin içine konulmalıdır. Formalin içinde pıhtı sertleşir ve büküldüğünde kırılır ise

antemortem olduğu, esnek olarak kıvrılır ve bükülür ise postmortem pıhtı olduğu düşünölmektedir (5, 12).

Rajesh ve arkadaşlarının yaşları 4 ile 70 arasında değişen 60 erkek ve 20 kadın üzerinde yaptığı bir araştırmada; lenfositlerin otolitik süreçlere daha dayanıklı olduğu, nötrofillerin ortalama bir dayanıklılığının olduğu, monosit ve ezonofillerin ise daha erken etkilendiğini belirtmekte olup eritrositlerin 18 saate kadar ve trombositlerin 20 saate kadar postmortem dönemde sağlam olarak gözlenebileceğini bildirmişlerdir (20).

Miura ve arkadaşlarının kanda ve organlarda postmortem myoglobın konsantrasyonunun değişimini araştırdıkları bir çalışma sonucunda aşağıdaki sonuçlara ulaşmışlardır:

- Kanda myoglobın konsantrasyonunun çok kısa sürede sert bir şekilde arttığını, kaslarda ise 14 gün değişmeden kaldığını,
- Akciğerde ve böbrekte 5 güne kadar yavaş bir miktarda arttığını ancak renal arter bağlandığı zaman 5 gün kadar böbrek myoglobın düzeyinde herhangi bir değişme görmediklerini,
- Tiroid bezinde ise myoglobın konsantrasyonunun 7 güne kadar ciddi şekilde arttığını ve tiroid bezindeki myoglobın konsantrasyonunun kas dokusundaki myoglobın konsantrasyonuna ulaştığını bildirmişlerdir.

Kan, akciğer, böbrek ve tiroid bezinde meydana gelen myoglobın konsantrasyonunda meydana gelen artışın temel sebebinin myoglobının kan yoluyla difüzyonu sonucu olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak tiroid bezi ve akciğer dokusu miyoglobın konsantrasyonlarının PMİ tayininde kullanılabileceğini bildirmişlerdir (21).

2.3.6. Cesedin Soğuması (Algor Mortis)

Cesedin soğuması ölümden sonraki ilk 24 saatlik dönem içerisinde ölüm zamanı tayini için kullanılan en uygun göstergedir (22). Cesedin sıcaklığının olay yerinde bile kolayca ölçülebilir olması nedeniyle cesedin sıcaklığından ölüm zamanı

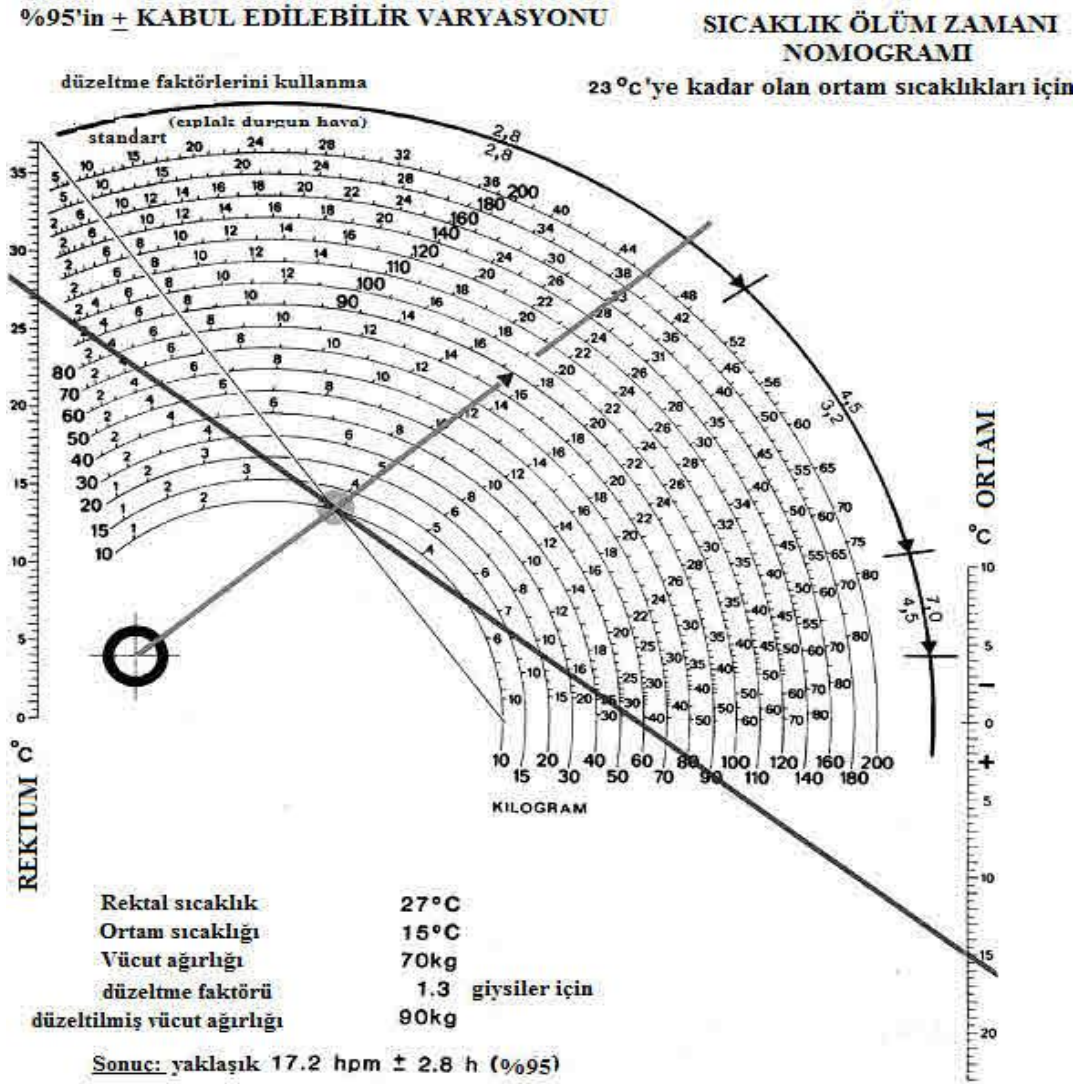
taini çok pratik bir metottur (23). İnsan vücudu, her biri farklı fiziksel özelliklere sahip dokulardan meydana geldiği için ölümden sonra soğuma karmaşık bir olaydır (9). Hava şartlarına maruz kalan cesedin soğuma hızını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlardan önemli olanlar:

- Soğuma sürecinde ortalama atmosferik ısı,
- Ceset üzerinde giysi olup olmaması,
- Atmosferik hava hareketleri ve nem oranı,
- Kişinin gelişim ve beslenme durumu,
- Başlangıç ısını yükselten (hipertemi) veya düşüren (hipotermi) nedenler (5).

Vücudun ısı üretimi ölümden kısa bir süre sonra sona ermekte ancak ısı kaybı devam etmektedir (5, 22). Ölümden sonra ısının düşmesi hesaplanırken, ölüm anındaki ısı normal olarak kabul ($37.2\text{ }^{\circ}\text{C}$) edilmektedir. Ancak bazı durumlarda normalin altında (konjestif kalp yetmezliği, masif hemoraji v.b.) veya üstünde (enfeksiyon, pons kanaması, sıcak çarpması v.b.) olabilmektedir (9). Sağlıklı kişilerde vücutta üretilen ısı ile vücut dışına aktarılan ısı arasında denge bulunmaktadır. Ancak ölümden sonra vücut ısısı çevre ısısıyla eşitlenene kadar soğumaya devam etmektedir. Vücudun yüzeyi vücut iç kısımlarına nazaran daha hızlı soğuduğu için ölümden birkaç saat geçtikten sonra vücut dokunmakla soğuk olarak hissedilmektedir (5). Vücut ısısını belirlemek için hiçbir zaman yüzey ısısı ölçülmemelidir. Ölüm gerçekleştikten sonra vücut ısısını saptamanın en güvenilir metodu organlara ait ısıyı kaydetmektir. Cesedin vücut ısısı, çevre ısı ile eşitleninceye kadar saatte 1-2 derece kadar düşer ve bu durum yaklaşık olarak 24 saat kadar sürmektedir (5, 9). Adli uygulamalarda rektal ısı ölçümü veya karın duvarının bıçakla kesilerek intrahepatik / subhepatik ısı ölçümü yapılmalıdır. İnsanda koltuk altından ölçülen vücut sıcaklığı $36-36.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasındadır. Ancak iç organların sıcaklığı $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ daha yüksektir. Oral, timpanik veya koltuk altı ısı ölçümü; ölümden sonra vücut iç ısısını yansıtmadığından kullanılmamalıdır (12, 22).

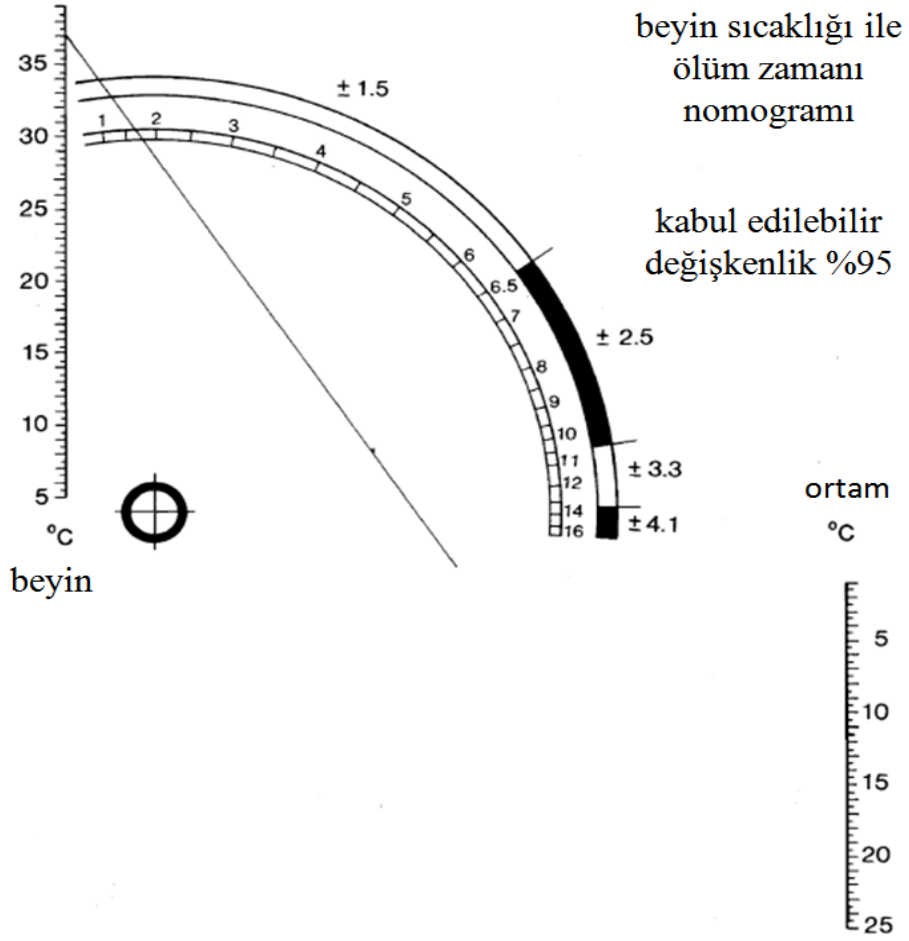
Sağlıklı erişkinlerde yaklaşık 4 saat kadar vücut sıcaklığının değişmediği belirtilmektedir. Simpson'un formülüne göre ölüm anında postmortem vücut sıcaklığının normal olduğu kabul edildiğinde, cesedin üzerinde giysiler bulunuyorsa,

ilk altı saat içerisinde yaklaşık olarak her saat başına 2.5 °C ve ilk 12 saatte ise ortalama olarak her saat başına 1.5–2 °C sıcaklığın kaybedildiği belirtilmektedir. Taylorun yaptığı bir araştırmada ise vücut sıcaklığının her saat başına ortalama olarak 2.2–2.4 °C civarında bir hızla düştüğünden bahsedilmektedir (5). Postmortem ısı kaybını hesaplayan şemalardan en yaygın ve en kullanışlı olanının Henssge Nomogramı olduğu belirtilmektedir. Ancak Henssge Nomogramında bile 2.8 saatlik sapma mevcuttur. Nomogram yöntemi ile ölüm zamanı tayini yapıldığında, ölümün erken dönemlerinde ölüm zamanı açıklanabilmektedir. Cesedin soğumasını hesaplanmasında kullanılan birçok şema mevcuttur ancak bu şemaların hiç birisi tam anlamıyla güvenilir değildir (5, 23).



Şekil 1. Nomogram metodunun uygulanması (23).

Ölüm zamanı tayininde kullanılan bir başka metod ise beyin ısı ölçümüdür. Ölümden sonra; ilk 6.5 saat içerisinde beyin ısı ölçüm yöntemi ile ölüm zamanı tahmini ± 1.5 saat olarak, 6.5 saat ile 10 saat arasında beyin / rectal ısı ölçüm yöntemleri kombine edilerek ölüm zamanı tahmini ± 2.4 saat olarak, 10.5 saaten sonra rectal ısı ölçüm yöntemi ile ölüm zamanı tahmini ± 3.2 saat olarak hesaplanabilmektedir (23).



Şekil 2. Beyin ısı ile ölüm zamanı nomogramı (23).

PMİ tayininde vücut sıcaklığı ölçümü, ölümden sonraki ilk birkaç saat içinde doğru sonuçlar verebilmektedir, ancak tek başına kesin bir yöntem olarak kullanılmamalıdır (5). Ölümden sonra vücut ısı ölçümleri ile PMİ tayini yapıldığında güvenilirliği arttırmak için diğer yöntemlerle birlikte kullanılmalıdır.

2.3.7. Otoliz

Otoliz kelime manası olarak hücre ve dokuların kendi kendine erimesi olarak adlandırılmaktadır. Otoliz hücre ve dokuların içeriğindeki enzimler ve sıvıların etkisi ile hücre ve doku yapılarının bozulmasıdır. Ölümden sonra enzimlerin işlevini sürdürmesi ile otoliz ölümden hemen sonra başlamaktadır (5, 12). Otolizde, bakterilerin etkisi olmadan postmortem fermentatif olaylar meydana gelmektedir (24). Vücutta bulunan hücreler oksijen bulamadığı zaman, kandaki karbondioksit miktarı artmakta ve pH düşmektedir. Artık maddeler arttığı zaman, oluşan bu maddeler hücreye zarar vermektedir. Hücresel enzimler hücreyi erittiğinde ve hücre zar yapıları bozulduğunda, hücrelerden dışarı sıvı çıkışı olmaktadır (25).

Kimyasal enzimatik bir süreç olan otoliz, ısının artışı ile hızlanmakta ve ısının azalması ile yavaşlamaktadır. Otoliz süreci, dondurma veya enzimlerin inaktivasyonu ile durmaktadır (16). Postmortem otoliz ve daha sonra gelişen pütrefaksiyon nedeniyle, doku ve organ bütünlükleri bozulduğundan, intrasellüler ve ekstrasellüler alanlar arasında ve sonrasında farklı dokular arasında sıvı ve element geçişleri meydana gelmektedir. Postmortem otoliz sonucu meydana gelen bu değişimler ortam ısısı, nem ve bakteri konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilenmektedir (26).

Otoliz sürrenal medullası ve pankreas gibi enzimatik aktivitesi yüksek olan yerlerde daha erken ve şiddetli olarak gözlenmektedir. Bağ dokusu, lökositler ve beyinde glia hücreleri diğer dokulara nazaran otolize daha dayanıklıdır. Ölümden sonra mide içeriğinin mideden yukarı doğru çıkması nedeniyle larinkste epiglot muokzasını şişirmekte ve meydana gelen bu olaya “yalancı glottis ödemi” denilmektedir (5).

2.3.8. Ölü Lekeleri (Livor Mortis)

Ölümden sonra dolaşım durmakta ve daha sonra yer çekiminin etkisiyle vasküler sistemden vücudun yere yakın bölgelerindeki venül ve kapillerlere kan toplanmaktadır. Kanın zaman içerisinde vücudun alt bölgelerindeki kılcal damarları ve venleri doldurması ile oluşan dolgunluğa “livor motris” denilmektedir. Ölü

lekelerinin genellikle mor renkte olmasından dolayı “ölü morluğu” terimi de kullanılmaktadır. Ölü lekeleri, cesedin ölüm sırasında veya ölümden sonra aldığı pozisyona bağlı olarak yer çekiminin etkisi ile vücudun basıya maruz kalmayan yerlerinde oluşmaktadır (5, 9, 16).

Omuz kemikleri, dirsek, kalça, uyluk ve topuklar gibi cilt dokusunun hafif derecede basınca maruz kaldığı yerlerde ölü lekelerinin oluşumu engellenmekte ve solukluk gözlenmektedir. Benzer şekilde giysilerin basınç yaptığı ve daraldığı yerlerde, takıların olduğu yerlerde, derinin kıvrımlı olduğu yerlerde solukluk gözlenmektedir. Ölü lekeleri derinin yanında kalp kası, iskelet kasları, akciğer gibi iç organları da tutmaktadır. İç organlarda gözlenen ölü lekelerine “hipostaz” denilmektedir (5, 22).

Ölü lekeleri tüm cesetlerde oluşur ancak kanın tamamen aktığı, kronik anemi veya masif kanama gibi durumlarda fark edilmeyebilir. Ancak konjestif kalp yetmezliği gibi kan miktarının arttığı durumlarda ölü lekelerinin daha çabuk ve yoğun miktarda oluştuğu bilinmektedir (5, 22, 27). Dolaşımdaki kan miktarı, koagülasyon oranı, fibrinolizis konsantrasyonu ve indirgenmiş hemoglobin seviyelerinin; ölü lekelerinin yaygınlığını ve ortaya çıkma zamanını etkilediği bilinmektedir (18). Hipostaz, ölümden sonra hemen başlamakta ancak bir süre görünür olmayabilmektedir. (22) Ölü lekeleri ölümden sonraki 3-5 saat içerisinde bazen de 1-2 saat içerisinde çizgiler halinde başlamakta daha sonra bu çizgiler birleşerek plaklar haline almakta ve 8-10 saatlik zaman dilimi içerisinde geniş alanları kaplayacak şekilde lokalize olmaktadır (5, 12).

Ölü lekelerinin adli yönden önemi, renginden dolayı ölüm sebebi ile ilgili fikir vermesi ve dağılımından dolayı cesedin pozisyonu ile ilgili bilgi vermesidir (22). Bu lekeler cesedin pozisyonu ile yer değiştirebilmektedir ve ölü lekeleri tam olarak oluşmadan önce cesedin pozisyonu değiştirilirse (ilk 10 saat içerisinde) bu lekelerin yeri pozisyona göre değişebilmektedir. Ölümden sonraki 10-15 saat içerisinde ceset çevrilir veya taşınır ise ölü lekeleri cesedin hem ilk pozisyonuna hem de sonraki pozisyonuna göre oluşacaktır. Ancak ölü lekeleri tam olarak oluşuktan sonra (15-20 saat geçtikten sonra) cesedin pozisyonunun değiştirilmesi, ölü

lekelerinin yerleşimini etkilememektedir. Ası durumunda eldiven çorap tarzında oluşmaktadır. Suda boğulmalarda su içerisinde yüz üstü yatar pozisyonda sürüklenmelerde kafada ve vücut ön kısımlarında daha yoğun şekilde oluşmaktadır (5, 9).

Kan sıvısı ölümden sonra içerisindeki eritrositlerin parçalanması ile önce kırmızısı ve daha sonra eritrositlerin oksijeni kaybetmesi ile koyu mor bir renk halini almaktadır. Ölü lekeleri genelde mor renkte olmakta ve bu rengin koyuluğu redükte olan hemoglobin miktarına bağlı olmaktadır. Solunum ve dolaşımın durmasından sonra bile hücreler oksijen kullanmaya devam etmekte ve kandaki hemoglobin redükte olmaktadır (9, 12). Ölü lekeleri çürümenin başlamasıyla gerilemekte, önce yeşil bir renk almakta ve daha sonra bu renk siyaha dönmektedir (22). Ölümün meydana geliş şekline göre ölü lekelerinin rengi değişebilmektedir (CO zehirlenmelerinde kiraz kırmızısı, potasyumkromat, potasyumklorat ve anilin zehirlenmelerinde çikolata rengi, suda boğulma ve donmada açık kırmızı, kolerada siyaha yakın mor gibi) (5, 9).

Ölü lekeleri ile kişinin canlı iken uğradığı travmanın bulgusu olan ekimozun ayrımının yapılamadığı veya şüphelenildiği durumlarda aşağıda sıralanan yöntemler uygulanabilir:

- Kuşkulanılan bölgeye kesi atılarak bir bez ile silindiğinde ölü lekeleri kaybolur, ekimoz ise sabit kalır.
- Ölü lekeleri cesedin pozisyonuna yer çekimin etkisi ile vücudun alt kısımlarında oluşurken, ekimoz ise travmanın isabet ettiği vücudun herhangi bir bölgesinde oluşabilir.
- Ekimoz genellikle hematoma, sıyrık gibi diğer travmatik bulgularla birlikte gözlenir.
- Emin olunamayan bulgularda ise histopatolojik inceleme için örnek alınarak incelenmelidir.
- Çürümenin ilerlemesi ile ölü lekelerinin ayrımı güçleşmektedir (5).

İnoue ve arkadaşlarının spektrofotometrik ölçüm yaparak ölüm zamanı kesin olarak bilinen 42 ceset üzerinde yaptığı bir araştırmada ölü morluğunun belli dalga boyundaki ışık emme abzorbansı ile PMİ arasında korelasyon olduğunu belirtmişlerdir (28).

Usumoto ve arkadaşları 21 kadavra üzerinde yaptığı başka bir çalışmada ise ölü morluğunu spektrofotometrik yöntemle ölçtüklerini, PMİ tayininin ± 4.76 saatlik bir standart sapma ile hesaplayan yeni bir denklem bulduklarını bildirmişlerdir (29).

Ölü morluğunun oluşumu, postmortem interval tayini için çok değişken metottur. Ancak geleneksel adli tıp uygulamalarından dolayı köklü bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (22).

2.3.9. Ölü Sertliği (Rigor Mortis)

Ölümden sonra vücutta bulunan kaslar önce gevşemekte, daha sonra ise sertleşmektedir (9). Ölümden hemen sonra gözlenen kas gevşemesine “primer kas gevşemesi” denilmektedir. Primer kas gevşemesinden sonra istemli ve istemsiz kaslarda yaygın olarak gözlenen sertleşmeye “ölü sertliği veya rigor mortis” denilmektedir. Ölümün üzerinden belirli bir zaman geçtikten sonra çürümenin başlaması ile rigor mortis yerini “sekonder kas gevşemesine” bırakmaktadır (22). Sekonder kas gevşemesi otoliz ve bakteriyel aktiviteler sonucu protein yıkımının artması ile meydana gelmektedir (8).

Tipik olarak, hafif bir sertlik ölümünden sonra en az 30 dakika içinde tespit edilebilmektedir, ancak bazı durumlarda ölü sertliğinin gözlenmesi yaklaşık 7 saat'e kadar gecikebilmektedir (22). Ölü sertliği erişkinlerde yaklaşık olarak 3-5 saat içerisinde gözlenebilir hale gelmektedir. Ölü sertliği 10-15 saat içerisinde en yüksek seviyesine ulaşmakta ve bu durum bir süre daha devam etmektedir. Ölü sertliği tamamen oluştuğundan sonra ceset kaskatı kesilmekte ve cesedin bir tarafından tutulduğunda tüm vücut birlikte hareket etmektedir. Ölü sertliği oluştuğundan sonra kas gücü kullanılarak eklemler açıldığında ölü sertliği bir daha oluşmamaktadır (5, 12).

Ölü sertliğinin oluşma mekanizması ölüm anındaki glikojen depoları ve ATP (adenozin trifosfat) miktarı ile ilişkilir. Kaslarda glikojen bulunduğu müddetçe ATP resentezi sağlanabilmektedir. Ancak ölümden sonra kaslarda glikojen depoları kendilerini yenileyememektedir. Glikojen depolarının boşaldığı durumlarda (insulin, iodoasetik zehirlenmeleri gibi) ölü sertliği çabuk başlamaktadır. Dokularda ATP miktarı %85'in altına düştüğü zaman ölü sertliği gözlenmeye başlamakta ve %15'in altına düştüğünde maksimum seviyeye ulaşmaktadır (5, 12).

Ölü sertliği tipik olarak öncelikle göz kapakları, alt çene, boyun gibi küçük kaslarda gözlenmekte ve daha sonra kollara inmektedir. Öncelikle el ve ayakların küçük distal eklemlerinde ve daha sonra dirsek, diz ve omuz ve kalça gibi büyük proksimal eklemlerde devam etmektedir (22). Ölü sertliği bütün kaslarda aynı anda gerçekleşmektedir. Ancak öncelikle çene kasları gibi daha küçük kaslarda görünür hale geldiğinden, ölü katılığının küçük kaslardan başladığı ve yavaş yavaş bütün vücuda yayıldığı şeklinde genel kabul gören görüş bulunmaktadır (16). Musculus arrectores pilorumların kasılması ile deride "cutis anserina" olarak adlandırılan "kaz derisi" görünümü izlenebilmektedir. Erektör pililerin kontraksiyonu ile kıllar dikleşebilmektedir. İris kaslarının etkilenmesi ile pupillarda anizokori olabilmektedir. Skrotum, penis, seminal kese ve kanalları, prostatın kasılması ile sperm atılımı olabilmektedir (5, 9).

Ölü sertliğinin başlama hızını ve devam etme süresini etkileyen bazı faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlerden en çok dikkate çekenler; çevre ısısı, ölümden önceki kas aktivitesi, yaş, kas kitlesi ve beslenme durumudur. Genel kural olarak rigor mortis hızlı başladığı zaman, devam etme süresi de görece kısa olmaktadır (5, 9, 22). Çevre ısının yüksek olduğu durumlarda ölü sertliği çabuk oluşmakta ve kısa sürmekte, ısının düşük olduğu durumlarda ise ölü sertliğinin oluşumu gecikmekte ve daha uzun sürmektedir. Çok düşük sıcaklarda ise ölü sertliğinin oluşumu tamamen durmaktadır. Uzun süren kas aktivitesi sonrası meydana gelen ölümlerde ölü sertliği çabuk gelişip kısa sürmektedir. Ani ölümlerden sonra ise sıklıkla ölü sertliği daha geç başlamakta ve uzun sürmektedir. Fetuserde ve ölü doğumlarda ölü sertliği çabuk gelişip kısa sürmektedir. Küçük çocuklarda ve yaşlılarda ise yetişkinlere oranla daha hızlı gelişmektedir (5).

Bazı durumlar ölü katılığı ile karışabilmektedir. Ölü sıkışması, sıcak sertliği, soğuk sertliği gibi durumları ölü sertliği ile karışabilen durumlara örnek olarak verilebilir (9). Donmuş cesetler normal ısıdaki bir ortama alındığında donma çözüldüğü zaman donmadan önce ölü sertliği meydana gelmemiş ise ölü sertliği oluşmaya başlayacak ve cesetteki katılık ölü sertliğine bağlı ise postmorem süreç devam edecektir. Yangın ortamında bulunan cesetlerde ise yüksek ısı nedeniyle kas proteinlerinin denatürasyonu sonucu ceset “ringdeki boksör” görünümünü alacaktır. Isı sertliği sonucu kas proteinlerinin yapısı bozulduğundan bir daha ölü sertliği oluşmayacaktır. Ölümden hemen sonra oluşan ölü sertliğine “ölü sıkışması” veya “cadaveric spasm” denilmektedir. Emosyonel stresin yoğun olduğu aniden meydana gelen ölümlerde gözlenen nadir bir durumdur. Bazen belli bir kas grubunu tutarak lokal olabileceği gibi bazen tüm kaslarda meydana gelebilmektedir. Ölü sıkışması olayın orijini hakkında fikir vermesi nedeni ile adli tıp açısından önem arz eden bir durumdur (5).

Ölü katılığı ortam şartları ile değişmekle birlikte yaklaşık olarak 36 saat içinde dekompozisyonun gelişmesi ile kaybolduğu, ancak bu sürenin 6 güne kadar uzayabildiği belirtilmektedir. Ölü katılığı sıcaklığın yüksek olduğu ortamlarda ise 24 saat içerisinde kaybolabilmektedir (16). Ölü sertliğinin süresinde ve oranında olgular arasında büyük varyasyonlar gözlenebildiğinden postmortem interval tayininde çok düşük bir değeri olduğu belirtilmektedir (22).

2.3.10. Çürüme (Dekompozisyon)

Organik yapı taşlarından oluşan insan vücudunun, ölümden sonra meydana gelen olumsuz değişimler sonucu karmaşık organik bileşiklerin temel basit yapı taşlarına ayrılarak yok olması ve doğaya karışması sürecine “çürüme” denilmektedir (12). Dekompozisyon otoliz ve pütrefikasyon olmak üzere iki aşamalı bir olaydır. Otoliz inrasellüler enzimler ile aseptik bir kimyasal bozulma olayıdır. Çürümenin ağırlıklı olan bölümü pütrefikasyondur. Çürümeyi gerçekleştiren asıl etkenler vücudun doğal florasında bulunan bakteriler ve patojen bakterilerdir (5). Çürüme esnasında bakteriler ve endojen enzimlerin etkisi ile yumuşak dokular, iskeletleşme meydana gelene kadar yok olmaktadır. Vücut yüzeyinde görülen değişiklikler aynı

anda iç organlarda meydana gelmektedir Çürüme esnasında dokularda gözlenen temel değişiklikler; gaz oluşumu, renk değişimi ve sıvılaşmadır (22).

Çürüme esnasında dokularda meydana gelen değişiklikler:

- Dokuların renginde meydana gelen değişimler: Çürümenin erken dönemlerinde kanın hemolize olması ile dokular kırmızı-kahverengi bir renge boyanmaktadır. Daha sonra methemoglobin ve hematin oluşumu bu renk siyaha dönmektedir. Kükürlü bileşiklerin hemoglobin ile birleşmesi sonucu sülfhemoglobin oluşmakta ve yeşilimsi-sarı, yeşilimsi-mavi bir renge dönmektedir. İlk olarak bakterilerden zengin çekum bölgesi üzerinde gözlenen bu renk değişimi zamanla tüm vücuda yayılmaktadır.
- Dokularda gaz artışı: Çürüme sonrası birçok gaz (hidrojen, fosforlu hidrojen, sülfürlü hidrojen, metan, karbondioksit) açığa çıkmakta ve çürümenin kokusunu bu gazlar vermektedir. Açığa çıkan bu gazlar mide ve barsaklarda birikerek karnın şiş ve gergin bir görünüme bürünmesine neden olmaktadır. Zamanla gaz tüm dokular altında birikmekte ve skrotum, meme gibi gevşek dokuların hacminde ileri derecede artış gözlenmektedir. Artan gaz basıncının diyaframı itmesi sonucu akciğer ve solunum yollarındaki havanın dışarı çıkmakta ve bu olaya “ölü solunumu” adı verilmektedir. Çürümenin ilerlemesi ile cilt üzerinde içi sıklıkla boş olan veya az miktarda hafif kanlı, pis kokulu bir sıvı içeren “çürüme bülleri” oluşmaktadır.
- Dokuların lifefiksasyonu: Çürümenin ilerlemesi ile tüm dokular yumuşayarak sıvılaşmakta ve dokular bu sıvı ile dolmaktadır. Epidermisin yumuşaması ile cilt kolayca soyulur bir hal almakta ve bu olaya “skin slipage” ismi verilmektedir. Avuç içi ve ayak tabanı gibi epidermisin kalın olduğu dokular soyulmakta, saçlar ve tırnaklar kolayca yerlerinden ayrılabilir bir hal almaktadır (5).

Çürümeyi etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunları kısaca sıralarsak:

- Yoğun böcek aktivitesinin olduğu nemli ve sıcak bölgelerde iskeletleşme 3 gün içerisinde tamamlanabilmektedir. Bu böcek aktivitelerinin yıkıcı fiziksel

etkileri olsa bile, böceklerin kendileri ölüm zamanı tayini açısından faydalı bilgiler sağlayabilmektedir.

- Antemortem dönemde septisemi gibi vücutta bakteriyel enfeksiyon olduğu durumlarda çürümenin gelişimi daha hızlı olmaktadır. Arsenik ve antimon zehirlenmelerinde ise şiddetli kusmaların gözlenmesi nedeniyle çürüme daha yavaş seyretmektedir.
- Konjestif kalp yetmezliği gibi vücutta sıvı birikimin olduğu durumlarda çürüme daha hızlı seyrederken, dehidratasyon ve şiddetli kusmalar sonucu meydana gelen ölümlerde çürüme daha yavaş seyretmektedir.
- Vücut yüzeyinde meydana gelen yaralanmalar bakterilerin vücuda girişi için bir kapı görevi görerek çürümeyi teşvik etmektedir.
- Kan çürümeyi sağlayan organizmalar için bir kanal görevi gördüğünden, ağır kan kaybı olan olgularda çürümede gecikme gözlenmektedir.
- Çürüme çocuklarda, erişkinlere oranla daha hızlı olmaktadır. Yeni doğanlarda kommensal bakterilerin eksikliği ve yeni doğanların çabuk ısı kaybetmeleri nedeniyle çürüme daha yavaş olmaktadır. Çürüme yaşlı insanlarda gençlere göre daha hızlı seyretmektedir. Şişman kişiler ise zayıflara oranla daha hızlı çürümektedir.
- Çevre sıcaklığının çürüme üzerinde çok büyük bir etkisi vardır. Çevre ısının düşük olduğu durumlarda bakterilerin çoğalması engelleneceğinden çürümenin gelişimi önemli derecede yavaşlamaktadır. Çürümenin gelişimi için en ideal sıcaklık normal vücut sıcaklığı olan 37.5°C 'dir. 0°C 'de ise tüm biyolojik aktiviteler durduğu için çürümede tamamen durmaktadır.
- Cesedin bulunduğu ortamın havası sıcak, nemli ve hareketsiz ise çürüme hızlı seyretmektedir. Rüzgarlı, kuru ve soğuk havalarda ise çürüme yavaş şekilde ilerlemektedir.
- Çok katlı veya kalın giyinme durumunda veya düşük sıcaklıktan koruyan etmenlerin olduğu durumlarda çürüme daha hızlı meydana gelmektedir. Ancak kefene sarılmış ve sıkı giysili cesetlerde ise çürüme daha yavaş meydana gelmektedir.
- Cesedin suda veya toprak altında bulunduğu durumlarda çürüme daha yavaş olmakta ve Carper Kanuna göre sıcaklık aynı kalmak koşulu ile açık havada 1

haftada gözlenen değişiklikler, suda 2 haftada ve toprak altında 8 haftada gözlenmektedir. Suda çürüyen cesetlerde ağırlık merkezinin baş olması nedeniyle çürümeye ait bulgular baş ve boyun bölgesinde yoğunlaşmaktadır. Ilık sularda soğuk sulara göre, organik maddeden zengin sularda (bataklık, foseptik v.b.) ve durgun sularda akıntılı sulara göre çürüme daha hızlı seyretmektedir (5, 22).

Çürüme evreler halinde ilerlemekte ve iskeletleşmeye kadar devam etmektedir. Çürüme dört ayrı döneme ayrılmaktadır.

- Birinci Dönem: Ölümden 36-48 saat sonra karın sağ alt kadranda, bakteriyel açıdan yoğun olan çekumun olduğu yerin üzerine uyan bölgede yeşil renk değişimi gözlenmesi ile başlamaktadır. Yeşil renk, oluşan sülfhemoglobin nedeniyle meydana gelmektedir. Bu renklenme yavaş yavaş tüm vücuda yayılmaktadır. Birinci haftanın sonunda genelde vücudun tamamının rengi değişim gözlenmektedir. Bu dönem içerisinde yüzeysel venler belirgileşmekte ve dallı-budaklı bir görünüm oluşmaktadır. Oluşan bu görünüme “çürüme haritası” veya “mermerleşme” denilmektedir. İkinci haftanın başlarında gaz oluşmaya başlamakta ve cesedin kokusunu bu gazlar vermektedir. Gazlar ilerleyen dönemde karnın gerilmesine neden olmakta ve basınçla feçes, mide içeriği dışarı çıkmaktadır. Karında artan gaz basıncı diyafragmayı iterek ağız boşluğundan ve burun deliklerinden hava çıkmasına neden olmaktadır. Subkutan dokularda gazlar meydana gelmekte ve tüm vücut şişmektedir. İkinci haftada deride büller oluşmakta daha sonra patlayıp dökülmektedir. Karaciğer dokusunda çürüme gazlarının etkisi “bal peteği” veya “İsviçre Peyniri” olarak adlandırılan bir görünüm oluşmaktadır. Çürümenin ilerlemesi ile kalp “torba kalp” olarak adlandırılan yumuşak, deforme ve deforme bir görünüme bürünmektedir. Üçüncü-beşinci haftanın sonunda saçlar gevşemekte ve tırnaklar ayrılmaktadır. Kokuşma gazlarının etkisi ile ileriki dönemlerde karında patlama meydana gelmektedir. Karın patlaması birinci dönemin bittiğini ve ikinci dönemin başladığını göstermektedir. Birinci dönem yaklaşık olarak 3-4 hafta kadar sürmektedir (5, 9, 12).

- İkinci Dönem: Karın patlaması sonrası karın ve toraks çökmekte, tüm organlar çamur kıvamında ve görünümünde bir madde ile dolu kesecikler şeklinde görülmektedir. Bu dönemde gazların ve sıvıların dışarı çıkması nedeniyle tüm organlarda küçülme gözlenmektedir. Bu dönemden sonra ölüm zamanı tayini güçleşmektedir. Karaciğerin kaybolması ile ikinci dönemin bittiği anlaşılmaktadır.
- Üçüncü Dönem: Karaciğer ayırt edilemeyecek hale gelmekte ve kaslar yerlerinden ayrılmaya başlamaktadır. Bu dönem içerisinde kemikler artık görünür hale gelmeye başlamaktadır. Cinsiyetin dışarıdan ayırt edilemeyecek duruma gelmesi ile üçüncü dönemin bittiği anlaşılmaktadır.
- Dördüncü Dönem: Cilt, cilt altı dokusu tamamen kaybolmuş ve cinsiyet ayırt edilemez hale gelmiştir. Bu dönem içerisinde tek ayırt edilebilecek organ uterusdur. Bu dönem içerisinde bulunan ortama göre değişmekle birlikte 3-5 yıl içerisinde iskeletleşme ile tamamlanmaktadır (5, 12).

Çürüme süresinin başlangıcında ve gelişiminde önemli farklılıklar bulunduğundan ölüm zamanı tayini için duyarlı bir yöntem değildir (22). Çürümenin bazı istisnai durumları (sabunlaşma, mumyalaşma, maserasyon) bulunmaktadır. Bunlardan bahsetmek gerekirse:

2.3.10.1. Sabunlaşma (Sponifikasyon)

Nemli ortamlara gömülen veya su içerisinde kalan cesetlerde nadiren meydana gelen istisnai bir durumdur. Sabunlaşmasının gerçekleşebilmesi için çürümenin başlamış olması gerekmektedir. Çürümenin farklı bir şekli olan sabunlaşma, yağlı dokularının sarı-beyazımsı, yağlı, mum benzeri, ekşimiş kokusu olan bir maddeye dönüşmesi şeklinde tanımlanmaktadır. Oluşumun ilk aşamalarında keskin bir amonyak kokusu hissedilmektedir. Sabunlaşma hidroliz sonucu ortaya çıkan yağ asitleri sonucu oluşur ve yağ asitlerinin asidik bir ortam oluşturması sebebiyle çürükçül bakteriler inhibe olmaktadır. Sıcak, nemli ve anaerobik ortam sabunlaşma oluşumunu desteklemektedir. Akıntılı ve soğuk sularda sabunlaşma daha yavaş seyretmektedir. Sabunlaşma toprak içerisinde gerçekleştiğinde ceset toprak rengini alırken, su içerisinde kalan cesetler ise kirli beyaz görünüme bürünmektedir.

Sabunlaşma sıklıkla yanak, göğüs, kalça gibi yağ dokusu içeren bölgelerde cilt altında gelişmektedir. Sabunlaşmanın yağ dokusundan zengin kısımlarda gözlenmesine “lokal sabunlaşma”, tüm vücutta yaygın bir şekilde gözlenmesine ise “genel sabunlaşma” denilmektedir. Sabunlaşmanın birincil önemi, ölüm zamanı tayininin saptanmasında sağladığı fayda olmayıp kimliklendirme ve yaraların tanımlanmasında sağladığı faydalardır. Sabunlaşma olan bir cesetle ile karşılaşıldığı zaman, postmortem sürecin en az birkaç hafta ilermiş olduğu veya muhtemelen birkaç ay ilerlemiş olduğu düşünülmelidir. İdeal sıcaklık ve nemin olduğu koşullarda sabunlaşmanın gözle görünür hale gelmesi 3-4 haftayı bulmaktadır. Normalde oluşması için birkaç ay geçmesi gerekmektedir ve yaygın halde gözlenmesi 5-6 aydan önce meydana gelmemektedir. Sabunlaşma genel olarak su içerisinde 1 yılda ve toprak içerisinde 3 yılda tamamlanmaktadır. Sabunlaşma bir kez oluştuktan sonra ceset yıllarca değişmeden kalmaktadır. Geçirgenliği düşük ve suyu tutan topraklar sabunlaşmayı kolaylaştıracağından mezar yeri seçilirken bu hususa dikkat edilmesi gerekmektedir (5, 22.).

2.3.10.2. Mumyalaşma (Mumifikasyon)

Mumyalaşma, dokuların dehidratasyonu ve kurumasiyla karakterize bir çürüme şeklidir. Mumyalaşma doğal nedenlerle olabileceği gibi yapay olarak da mumyalaştırma işlemi yapılabilir. Mumyalaşma esnasında cilt buruşmakta, kemikleri ve tendonları çevreleyen parşömen veya kösele gibi kuru, sert, kahverengi bir yapıya dönüşmektedir. Mumyalaşma esnasında tüm organlar küçülmekte, kemik çıkıntılarının olduğu yerler belirginleşmektedir. Mumyalaşma çöl gibi kuru ve sıcak havanın olduğu ortamlarda meydana gelmektedir. Kuru, rüzgarlı ortamlarda kalan, bebek, yaşlı, zayıf ve dehidrate kişilerde mumyalaşma daha sık gözlenmektedir. Yeni doğanlar, küçük ve steril olduğundan dolayı mumyalaşma daha sık gözlenmektedir. Mumyalaşma gerçekleştikten sonra cesetler uzun yıllar boyunca değişmeden kalabilmektedir. Mumyalaşmanın adli açıdan önemi yaraların tanımlanmasında ve kimliklendirmede sağladığı faydalardır. Mumyalaşma için gereken zaman tam olarak tarif edilememekte ancak en ideal şartlarda mumyalaşma için bir haftanın geçmiş olması gerekmektedir (5, 22.).

2.3.10.3. Tahnit (Embalging)

Cesedi mikroorganizmalardan korumak amacıyla yapılan bir işlemdir. Vücuttaki kanın dışarı alınarak yerine koruyucu sıvıların enjekte edilmesi ile yapılmaktadır. Genellikle ceset bir yere nakledileceği zaman veya teşhir için yapılan bir işlemdir. Tahnit işlemi, mumyalama gibi uzun süreli koruyuculuk sağlayamamakta ancak bir süre daha kimlik tespitinin yapılmasına olanak sağlamaktadır (5).

2.3.10.4. Salamurlaşma (Maserasyon)

Uterusun kapalı amniyotik kesesi içinde ölen ve bir müddet kalan fetusta meydana gelen aseptik otolize “maserasyon” denilmektedir. Antepartum ölümlerin tamamında maserasyon gözlenmemektedir. Perinatal ölümlerin ise 1//3’ünde maserasyon gözlendiği bildirilmektedir. Maserasyonla ilgili değişiklikler sadece doğumdan birkaç gün önce ölen fetuslarda gözlenmektedir. Maserasyon gözlenebilmesi için fetus amniyon sıvısı içerisinde en 6-8 saat kadar beklemiş olması gerekmektedir. Maserasyon sırasında bakteriyel çürümenin herhangi bir rolü yoktur. Maserasyonun en önemli bulgusu derinin soyulmasıdır. Gövde, aşırı derecede hareketli ve basık bir kafaya gevşek bir şekilde bağlıdır. Uzunlar kolaylıkla gövdeden ayrılabilir. Patladığı zaman kırmızısı ve kahverengi bir açıklık bırakan içi sıvı dolu büyük büller bulunmaktadır. Vücudun çürümüş bir kokusu vardır ancak gaz oluşumu gözlenmemektedir. Maserasyon bulguları Langey Kriterleri başlığı altında 4 evre olarak tanımlanmaktadır.

- Evre 0: Haşlanmış deri görünümü,
- Evre 1: Derinin soyulmaya başlaması,
- Evre 2: Deride ileri derecede soyulma ve seröz kaviteelerde kırmızı renkli efüzyon birikimi,
- Evre 3: Sarı-kahverengi renkli karaciğer ve bulanık efüzyon.

Malformasyon ve gelişim geriliği olan bebeklerde maserasyon daha sık gözlenmektedir. Masere bebeklerde kemikleşme bulguları normal doğan bebeklere göre zıtlık göstermektedir. Normal doğan bebeklerde kemikleşme noktaları beyaz

zeminde kırmızı bir nokta gibi iken masere bebeklerde kırmızı zeminde kirli beyaz renktedir. Fetusun maserasyonu, intrauterin PMI'nin bir kanıtıdır ve bu nedenle ölü doğum veya infantisid için kanıt niteliği taşımaktadır (5, 22).

2.3.11. Biyokimyasal Değişimler

Postmortem dönem boyunca, kan ve diğer vücut sıvılarındaki birçok maddenin konsantrasyonunda çürüme ve dış etmenlerin etkisi ile bir takım değişiklikler meydana gelmektedir (5, 7). Ölüm zamanı tayini ile ilgili yeni parametreler incelendiğinde, altta yatan sürecin doğasının ne olduğu araştırılmalı ve aşağıdakiler akılda tutulmalıdır.

- Ağırlıklı olarak fiziksel süreç (vücut soğuması, kan toplanması),
- Metabolik prosesler (metabolitler, substrat konsantrasyonu, enzim aktivitesi),
- Otoliz (seçici membran geçirgenliğinin kaybı, difüzyon, morfolojik değişiklikler),
- Fiziko-kimyasal işlemler (supravital gevşeme, rigor mortisin immünolojik reaksiyonu),
- Bakteriyel süreç (çürüme) (15).

Ölüm zamanı tayinindeki birçok kimyasal yöntem aşağıdaki temel ilkelere dayanmaktadır.

- Otoliz nedeniyle hücre zar yapılarının bozulması ve Fick Kanuna göre konsantrasyon gradyenti ile difüzyon meydana gelmesi. Yüksek konsantrasyon gradyentleri, dağılım hacmine bağlı olarak ölüm zamanı tayini için daha uygun analitlerdir.
- Metabolik süreçler anında son bulmadığından ölüme ait ürünler (laktat, Hx) tespit edilebilir.
- Bakteriyel metabolizma ürünlerinin üretimi (aminoasitlerin artış) tespit edilebilir.
- Protein üretiminde durma (azalma) gözlenir (30).

Antemortem taze dokular üzerinden çalışma yapmanın imkansızlığı nedeniyle araştırmacılar postmortem örneklerde biyokimyasal çalışmalar yapmaktadır (31). İnsanın genetik, etnik, beslenme, çevresel ve sosyolojik farklılıkları bulunmaktadır. Bütün otopsi örnekleri antemortem ve postmortem faktörlerin kombinasyonundan etkilenmektedir. Postmortem analizler için kullanılan doku örnekleri organ bankalarında saklanmaktadır. Çünkü bu örneklerdeki nükleik asitler ve proteinler kabul edilebilir derecede stabil kalmaktadır. Bu faktörleri özetlemek gerekirse:

- Agonal dönem: Terminal hastalıklar dönemindeki durumlar.
- Ölüm hızı: Terminal dönemden ölüme kadar olan süreci kapsayan periyot.
- Soğutma dönemi: Bir hastanın ölümü ile soğutulması arasında geçen dönem.
- Postmortem interval: Organların çıkartılması ile dondurulması veya fiske edilmesi arasındaki dönem.
- Depolama zamanı: Otopsi sırasında alınan organın saklanmasından sonra kullanılana kadar geçen süre (32).

Kan ve diğer vücut sıvıları ile postmortem biyokimya analizi; bir yüz yıl kadar kapsamlı, karmaşık ve sıkıcı araştırmaların konusu olmuştur. Ölümünden sonra vücut sıvılarında bulunan elektrolitlerin ve diğer kimyasal maddelerin analizi; ölüm nedeni tanısı, bazı anatomik bozuklukların değerlendirilmesi, PMİ tahmini gibi amaçlar için kullanılmaktadır (6).

Postmortem örneklerin yaşı, cinsiyeti, aldığı tedavi ve agonal dönem gibi etkenler, dokuların saklanma koşulları; doku kalitesini etkilediğinden elde edilen verileri de etkilenmektedir (31). Metabolik ve otolitik süreçler; sıcaklık, hastalık durumu, ölmeden önceki terminal dönemin uzunluğu, ortam özellikleri, bireysel farklılıklar gibi nedenlerden etkilendiğinden konsantrasyonlarda büyük değişikliklere sebep olmakta ve bu süreçlerin araştırılmasının pratikte bir değeri olmamaktadır (30). Postmortem biyokimyasal çalışmalar sonucunda birçok tutarsızlıklar, düzensizlikler bulunduğundan; postmortem biyokimyasal çalışmalar oldukça karmaşık bir konudur. Kimyasal metotlar ile ölüm zamanı tayini, sıcaklık ile zaman tayininden sonra en çok araştırılan metottur (6). Ölüm sonrası biyokimyasal incelemeler, sürecin ilerlemesi ile birlikte önemini yitirmektedir (12).

2.3.11.1. Elektrolit Değişimleri

Hemen her ölüm mekanizmasının büyük ölçüde elektrolit bozukluklarından kaynaklandığı ve temelde biyokimyasal nedenlerle meydana geldiği düşünülmektedir. Postmortem elektrolit değişimleri ile ilgili ilk araştırılan maddeler sodyum (Na^+), klor (Cl^-) ve potasyum (K^+) iyonları gibi elementler olmuştur (6). Ölümden sonra bazı elektrolitlerde yükselme ve bazı elektrolitlerde ise düşme gözlenmektedir (12). Ölümden sonra elektrolitler ve diğer kimyasal maddeler ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu vitröz humor, serebrospinal sıvı ve kan gibi ekstrasellüler sıvı kompartmanları üzerinde yürütülmektedir (6).

Birçok biyokimyasal metot, farklı sıvı örneklerinde konsantrasyon değişikliklerini (artma veya azalma) ölçmektedir. Örneklerde otoliz ile hücre dışı sıvı potasyumunda artma, klor ve sodyumunda ise düşme gözlenmektedir. Otolizle indüklenen konsantrasyon değişiklikleri; laktik asit, amonyum, hipoksantin (Hx) artışları veya glukoz azalması gibi durumlar ile kombine edilmiştir. Kanda otoliz serebrospinal sıvıya göre daha hızlı ilerlemekte, vitröz humorda ise serebrospinal sıvıya göre yavaş ilerlemektedir (daha izole ve kapalı bir yapısı olması nedeniyle) (8). Vücut sıvılarının alım yeri ve şekli, yaşam sırasındaki ve hatta ölümden sonraki istikrarsız ve öngörülemez farklılıklar; postmortem elektrolit düzeylerini etkilemektedir. Vücut sıvılarındaki postmortem elektrolit düzeyi farklılıklarının muhtemel sebeplerini özetlemek gerekirse:

- Ölüm veya PMİ aralığının uzunluğu,
- Hücresel pH ve sıcaklık,
- Çevre sıcaklığı,
- Ölüm şekli ve nedeni,
- Bireysel farklılıklar,
- Agoni döneminin etkileri,
- Ömrü boyunca veya ölüm anında var olan ya da tanısı konmamış küçük biyokimyasal değişikliklerin bulunması,
- Antemortem dönemde var olan patolojik durumlar olarak sayılabilir (6).

2.3.11.1.1. Sodyum (Na⁺)

Kan: Kan veya serumda sodyumun, ölümünden sonra hızla azaldığı gösterilmiştir. Ancak düşüş oranı bireyden bireye büyük farklılıklar göstermekle birlikte tahminen 1 saatte 0.9 mEq/L düştüğü hesaplanmış olup Na⁺ değerlerini saçılımını görselleştirmek için kullanılan Leastsquare Regresyon Yöntemi ile aralarında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (6). Singh ve arkadaşları ise Flame Fotometre ile 474 örnek üzerinde yaptığı bir çalışmada serum sodyum ve potasyum konsantrasyonlarının oranları arasında PMI'nin ilk 3-58 saatlik dilimi içerisinde çok anlamlı bir logaritmik ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca postmortem serum Na⁺ ve K⁺ konsantrasyonlarının değişiminden PMI'nin tahmin edilebileceğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak Na⁺/K⁺ oranlarının standart sapması ile 3.2, 5.7 ve 4.6 saatlik tahminler yapılabileceğini ancak bu oranların çevre sıcaklığı, ölüm nedeni, yaş ve cinsiyet gibi diğer faktörler tarafından önemli derecede etkilendiğini belirtmişlerdir (33).

Serebrospinal sıvı: Naumann serebrospinal sıvıdaki sodyum, klor, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve fosfor gibi elektrolitlerin ölümden sonra genel olarak düştüğünü göstermiş ancak bu düşüşün düzensiz olduğunu ve ölüm zamanı tayini için duyarlı olmadığını belirtmiştir (6). Schoning ve Straffuss yaptıkları bir çalışmada 60 adet yetişkin melez köpeğin serebrospinal sıvı örneklerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda antemortem ve postmortem dönemde serebrospinal sıvı sodyum konsantrasyonunun stabil kaldığını bildirmişlerdir (34).

Vitröz Humor: Jaffe ve Coe; 145 normal erişkinde, vitröz sodyumun ölümden sonraki ilk 30 saat stabil kaldığını ve Coe; vitröz sodyumun ortalama 143 mEq/l⁻¹ olmak üzere 135 ile 151 mEq/l⁻¹ arasında dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir (6). Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada benzer şekilde sağ ve sol gözden eş zamanlı alınan vitroz humor örneklerinde sodyum konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemediği bildirilmektedir (35).

Sinovyal Sıvı: Madae ve arkadaşlarının postmortem 6 ile 126 saati arasındaki 74 normal erişkindeki sinovyal sıvı ve vitröz humordaki sodyum içeriklerini karşılaştırmışlar. Araştırma sonucunda vitröz humor ve sinovyal sıvı

konsantrasyonların benzer şekilde yayılım gösterdiğini bildirmişlerdir. Yapılan araştırmada sodyum değerlerinin 86 ila 164 mmol/l arasında dağıldığını ve ortalama değerin 145 mmol/l olduğunu bildirmişlerdir (36).

2.3.11.1.2. Klor (Cl⁻)

Kan: Jetter, Schyler ve Coe ölümden sonra plazma klorid düzeyinin ortalama 80-90 mEq/L arasına kadar düştüğünü ve bu düşüşün saatte 0.25-0.97 mEq/L olduğunu bildirmişlerdir (6). Singh ve arkadaşlarının 474 örnek üzerinde yaptığı bir çalışmada postmortem kanda klor konsantrasyonunun değişimini araştırmışlardır. Yapılan bu araştırma ile plazma klor düzeyi ile PMİ arasında ölümden sonraki 3-58 saat arasında önemli bir ilişki olduğu ve ± 2.1 saatlik yanılma payı olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak bu değerlerin çevre sıcaklığı, ölüm, yaş nedeni ve cinsiyet gibi diğer faktörler tarafından önemli derecede etkilendiğini belirtmişlerdir (33).

Vitröz humor: Coe'nin bildirdiğine göre vitröz klorid düzeyinin sodyum gibi ölümden sonraki ilk 18 saat sabit kaldığını ve vitröz klorid konsantrasyonunun ortalama 120 mEq/L olacak şekilde 104 ile 132 mEq/L arasında dağıldığını bildirmektedir (6). Jashnani ve arkadaşlarının 120 otopsi serisinde yaptığı bir araştırmada; vitröz klor düzeyinin değişmediğini ve postmortem dönemde istatistiksel anlamlılık göstermediğini bildirmiştir (37). Yıldırım ve arkadaşlarının ölüm zamanları bilinen 65 vakada postmortem ilk 37,5 saatteki vitröz humorde sağ ve sol gözden eş zamanlı alınan vitroz humor örneklerinde Cl⁻ konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemediği saptanmıştır (35).

Sinovyal sıvı: Madae ve arkadaşları 65 olgu üzerinde yapılan bir çalışmada sinovyal sıvı klorid düzeyinin ortalama değerinin 100 mEq/L olduğunu ve 49 ila 116 arasında dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir (36).

2.3.11.1.3. Potasyum (K⁺)

Kan: Kan veya plazma potasyum düzeyinin ölümden sonra çok hızlı arttığı için ölüm zamanı tayinini için kullanımının imkansız olduğu belirtilmektedir (6).

Vitröz humor: Vitröz humor potasyum konsantrasyonu ile PMİ arasındaki ilişki birçok araştırmacı tarafından araştırılmış bir konudur (38). Vitröz humor serebrospinal sıvıya göre daha kolay erişilebilir olması ve kana göre daha yavaş bozulması nedeniyle postmortem biyokimyasal analizler için daha sık kullanılmaktadır (39). Birçok araştırmacı ölümden sonra vitröz potasyum düzeyindeki artışın PMİ tayini için güvenilir bir kimyasal gösterge olduğunu bildirmektedirler. Vitröz potasyum düzeyindeki artış aritmetik olmasına rağmen PMİ ile potasyum konsantrasyonları arasında büyük varyasyonlar olduğu görüşü hakimdir (6). Ölüm sonrası seçici membran geçirgenliğinin bozulması sonucu kanda birkaç saat içinde, serebro spinal sıvıda 15-20 saat içinde, vitröz humorda 100-120 saat içinde konsantrasyon gradyenti kaybolmaktadır (8). İlk olarak 1963 yılında Sturner tarafından çalışan postmortem vitröz humor potasyum seviyesinde meydana gelen artış; PMİ tayini ve geç postmortem kimyasal değişikliklerin incelenmesi için en çok araştırılan parametrelerden birisi olmuştur. Sturner'in orijinal araştırmasından sonra gelen araştırmacılar ölümden önce anormal elektrolit değişimlerini içeren daha geniş aralığı olan araştırmalarda yapmışlar ve farklı istatistiksel parametrelerde tanımlamışlardır (30). Sturner'in formülündeki eğim literatürdeki en düz eğimdir (8). Sturner'in formülü sadece çevresel sıcaklığın buzdolabı sıcaklığına yakın olduğu seviyelerde kullanılabilir. Rognum ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada ortam sıcaklığı arttıkça eğim artmaktadır (30, 40). Çevre sıcaklığı 5 °C olduğunda vitröz humor potasyum eğiminde 0.17 mmol/l/h, 10 °C olduğunda 0.20 mmol/l/h, 23 °C olduğunda 0.30 mmol/l/h şeklinde artış olduğunu bildirmişlerdir (8). Yapılan araştırmalarda Sturner ve Lie PMİ tayininde vitröz potasyum kullanımının ± 5 saatlik bir yanılma payının olduğu, Adelson, Hughes, Hansın ve Coe ise ± 10 saatten fazla bir yanılma payının olduğunu bildirmiş olup Hanson ve arkadaşlarının 203 vaka üzerinde yaptığı çalışmada ± 20 saatlik yanılma payının olduğunu bildirmişlerdir. Marchenko'nun 300 olgu üzerinde yaptığı bir araştırmada kişiler arasında büyük bireysel farklılıklar bulunduğundan vitröz potasyum düzeyinin 3-6 saatlik zaman dilimi içerisinde kullanılabilirliğini belirtmektedir (6). Vitröz potasyum yükselişini ve eğimini sıcaklık kadar önemli derecede etkileyen bir ikinci faktörde ölüm öncesi dönemdeki kronik rahatsızlıklardır. Kronik hastalıkları sonrası olan ölümlerde, akut travma sonrası olan ölümlere göre potasyum seviyeleri daha

değişkendir (30). Ayrıca, ciddi üre-nitrojen retansiyonu olan olgularda potasyum artışının eğimi daha dik olmakta ve klinik adli tıbbın içerdiği bütün örneklerin 34 saatlik bir güven sınırı bulunmaktadır. Üre değerleri >100 mg/dl olan değerler ve terminal dönemi >6 saat olan olgular elendiğinde; güven aralığı ± 22 ve ± 20 saate çekilebilmektedir (8). Vitröz üre nitrojeni; üre değerlerinde bozulmuş hemostazı ve elektrolit metabolizmasını göstermede çok uygun bir göstergedir. İlgili referans örnekleri ve formülleri %95 güven aralığında ölüm zamanı tayinini açıklamak için seçilebilir. Kritik seviyelerdeki üre ve kreatinin ölüm zamanı tahmininin hassaslığı ile korelasyonu bağımsız araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır (30). Munoz ve arkadaşlarının 201 örnek üzerinde yaptığı bir araştırma ile; vitröz potasyum ile PMİ'yi tahmin etmek için yeni ve daha hassas bir formül önermişlerdir. Sadece hastane dışı ölümler dikkate alındığında sonuçların önemli ölçüde geliştirildiğini bildirmişlerdir (38). Yıldırım ve arkadaşlarının ölüm zamanları bilinen 65 vakada postmortem ilk 37,5 saatteki vitröz humorde potasyum konsantrasyonlarının PMİ ile korelasyon gösterdiği, sağ ve sol gözden eş zamanlı alınan örneklerde postmortem vitröz potasyum konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, mevsimsel ısıdaki artışın potasyum konsantrasyonlarında etkisinin minimal olarak tespit edildiği belirtilmektedir (35). Lange ve arkadaşları vitröz potasyum artışı ile ilgili 790 olgu içeren 6 çalışmayı yeniden analiz ettiler ve aşağıdaki sonuçlara ulaşmışlardır:

- Vitröz potasyum ve PMİ arasındaki ilişkinin tamamen doğru olmadığını,
- Vitröz potasyum rezidüel değişkenliğinin PMİ'ye benzer şekilde tamamen sabit olmadığını bildirmişlerdir.

Potasyum konsantrasyonları arttıkça PMİ tahmininin güvenilirliği azalmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda potasyum değerleri <7 mmol/l olduğu zaman ± 1 saat, >7 mmol/l ancak <12 mmol/l olduğu zaman ± 2 saat, >12 and <18 mmol/l ± 3 saat, >18 mmol/l olduğu ± 5 saat olarak tespit edilmiştir. Eğer bu veriler güvenilir olsaydı kimse ölüm zamanı tahmin etmeye çalışmaz, otopsi için bekler ve vitröz potasyum verilerine güvenirdi. Yayınlamamış bir çalışmada bağımsız olgularda bu istatistik verilerin teyit etmeye çalışıldığı ancak yüksek oranda yanlış tahminler ortaya çıktı tespit edilmiştir. Çoklu doğrusal regresyon analiz yönteminde

vitroz potasyum yanında daha fazla zamanla değişen analitler kullanmaktadır. Potasyum, sodyum, üre ve glukozu multiple regresyon analizi formülünde beraber kullanılarak \pm 14 saate kadar, sadece potasyum tek başına kullanıldığında \pm 16 saate kadar tahmini ölüm zamanı hesaplanabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle çoklu doğrusal regresyon analizi kullanılarak ölüm zamanı tayininin güvenilirliğinde hafif bir yükselme sağlanabilmektedir (30). Tagliaro ve arkadaşları; kapiller elektroforez yöntemi ölçüm için çok düşük miktarda vitroz humor örneği bulunmasının yeterli (50 μ l) olduğunu bildirmişlerdir. Postmortem örnekler 7 ile 144 saat arasında alınmış ve her iki göz vitroz humorda potasyum konsantrasyonları 4.1 ile 23.5 mmol/l arasında dağılım göstermiştir. Tek bir vaka hariç 24 olguda her iki göz potasyum konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (42). Vitroz humor analizindeki en büyük engellerden birisi metotların üre ve serum için kalibre edilmiş olması ancak vitroz humor için uygun olmaması olduğu belirtilmektedir. Sağ ve sol göz arasında farklı yöntemler kullanıldığında farklı sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir. Vitroz humor elektrolit ölçümünde analiz edilen maddelerin tekrarında bile kötü sonuçlar elde edildiği anlaşılmış ve bu sorunların vitroz humorün yüksek viskozitesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu yüzden viskoziteyi düşürmek için ön çalışma olarak ısıtmak ve hiyaluridaz ile enzimatik sindirime maruz bırakmak gibi metotlarda denenmiştir (30). Isıtma işlemi ile viskozite düştüğü için pipetlemeye uygun hale geldiği belirtilmiştir (39).

Serebrospinal sıvı: Mason 46 cesetten 58 örnek alarak ölümden sonraki ilk yarım saat ile 70 saat arası serebrospinal sıvı örneklerini alev fotometri kullanarak incelemiştir. Bu araştırma sonucunda potasyum konsantrasyonlarının postmortem dönemde logaritmik bir artış gösterdiğini bildirmektedir (43).

Sinovyal sıvı: Sinovyal sıvı romatoloji kitaplarında iyi araştırılmış bir sıvı kompartmanıdır. Ancak alkol konsantrasyonu, ilaç dağılımı ve postmortem biyokimya ile ilgili yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sinovyal sıvı ile ilgili yapılan çalışmalarla sinovyal sıvının postmortem tayininde kullanılabilceği belirtilmiş ancak glukoz ve potasyum dışındaki diğer parametrelerde sinovyal sıvıda postmortem interval tayininde anlamlı sonuçlar bulunamamıştır. Sinovyal sıvıdaki potasyum konsantrasyonu zaman içerisinde vitroz humordakine benzer şekilde

olduğu tespit edilmiştir Madae ve arkadaşları sinovyal sıvıdaki potasyum konsantrasyonunun ortalama değerinin 9.5 mEq/L olduğunu ve değerlerin 2.6 ile 23.6 mEq/L arasında dağıldığını bildirmiştir Vitroz humorun elde edilemediği durumda sinovyal sıvının kullanılması önem arz edebildiği belirtilmektedir (6, 30, 36)

2.3.11.1.4. Kalsiyum (Ca⁺)

Kan: Jetter ve Naumana göre kalsiyum erken postmortem dönemde sabit kalmaktadır. Hodgkinson ve Hamblton ise 8 örnekten elde ettikleri serum total kalsiyum konsantrasyonlarının ölümden sonraki 11 ila 50 saat arasında arttığını, diğer iki örnekte ise ölümden sonraki ilk 2 saat sabit kaldığını bildirmektedirler. Ancak Fekete ve Brundson bu değerlerin normal postmorem değerleri göstermediğini ve dağılımının aşırı derecede geniş olduğunu belirtmişlerdir.

Serebrospinal sıvı: Nauman antemortem ve postmortem serebrospinal sıvı konsantrasyonlarının benzer olduğunu bulmuştur (6). Schoning ve Strafuss yaptıkları bir çalışmada 60 adet yetişkin melez köpeğin serebrospinal sıvı örneklerini incelemişlerdir. Bu araştırma sonucunda ortalama kalsiyum konsantrasyonunun 4.77 meq/litre olduğunu ve 3.5 ile 6 meq/litre arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Kalsiyumun postmortem dönemde hafif ama sürekli ve tutarlı bir artış gösterdiğini ancak gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediğini belirtmişlerdir (34).

Vitroz Humor: Madae vitroz humor kalsiyum değerlerin 1.05 mmol/l ile 2.33 mmol/l arasında dağıldığını ve ortalama değerinin 1.68 mmol/l olduğunu bildirmiştir (36). Coe erken postmortem dönemde kalsiyum konsantrasyonlarının sabit kaldığını ve ortalama değerinin 100 ml'de 6.8 mg olduğunu, dağılımının 100 ml'de 6 ile 8.4 mg arasında olduğunu bildirmiştir. Naumanın 211 olgu üzerinde yaptığı bir çalışmada ortalama kalsiyum konsantrasyonunun PMI'nin dokuzuncu saatinde 100 ml'de 7.2 mg olduğunu bildirilmiştir (6). Jashnani ve arkadaşlarının 120 otopsi serisinde yaptığı bir çalışmada; vitroz kalsiyum düzeyinin değişmediğini ve postmortem dönemde istatistiksel anlamlı farklılık göstermediğini bildirmiştir (37).

Sinovyal sıvı: Madae sinovyal sıvı kalsiyum değerlerinin 1.51 ile 3.58 mmol/l arasında dağıldığını ve ortalama değerinin 2.36 mmol/l olduğunu bildirmiştir (36).

Perikardiya sıvı: Li ve arkadaşlarının postmortem 48 saatlik dönem içerisinde otopsi yapılan 385 olguda perikardiyal sıvı kalsiyum seviyelerini araştırmışlar. Yapılan bu araştırma ile postmortem dönem içerisinde tuzlu suda boğulma vakalarında kalsiyum seviyelerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu, hipertemi, künt travma ve intoksiyasyon olgularında ise kalsiyum seviyelerinde dūřuř olduğunu bildirmişlerdir (44).

2.3.11.1.5. Sūlfür (S⁻²)

Jensen postmortem sulfatın serum üre ve kreatinin seviyesi ile doęru orantılı olduęunu bulmuřtur. Coe ise serum inorganik sūlfat düzeyinin ilk 24 saat deęiřmedięini ve sonraki 2 gün içerisinde yaklaşık olarak %20 oranında dūřtüęünü bildirmiřtir (6).

2.3.11.1.6. Fosfor (P⁻³ veya P⁻⁵)

Kan: Jetter inorganik fosforun ölümden sonraki 1 saat içerisinde arttığını yaklaşık olarak on sekizinci saatte 20 mEq/L seviyesinde ulaştığını göstermiştir. Both, Jetter ve Schyler'de serum organik fosforun ölümden sonra arttığını bildirmişlerdir (6).

Serebrospinal Sıvı: Schoning ve Strafuss yaptıkları bir çalışmada 60 adet yetişkin melez köpeğin serebrospinal sıvı örneklerini incelemişler. Yaptıkları araştırma ile fosfor konsantrasyonunun ortalama değerinin 1.51 meq/l olduğunu ve 1.1 ile 2.2 meq/l değiştiğini tespit etmişlerdir. Fosforun ölümden sonra büyük oranda arttığını ve bu artışın postmortem zamandan ve sıcaklıktan etkilendiğini bildirmişlerdir (34). Nauman fosforun antemortem döneme (0.8 mEq/L) göre postmortem dönemde (5.2 mEq/L) ciddi derecede arttığını ancak ölüm zamanı ile arasında bir korelasyon bulunmadığını bildirmiştir (6).

Vitröz Humor: Nauman vitröz humorda inorganik fosforun 0.1 ila 3.3 mEq/l arasında dağıldığını ve ortalama değerin 1.2 mEq/l olduğunu bildirmişler ancak PMİ ile arasında bir bağlantıdan bahsetmemiştir (6).

2.3.11.1.7. Magnezyum (Mg⁺²)

Kan: Hodgkinson ve Hamblton 8 olgunun 5'inde posmortem magnezyum düzeyinin kan ve serumda ölümden sonraki 11 ila 38. saat arasında arttığını ve 2.4 ila 5 mEq/l arasında dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir. Coe'nin araştırmasında Calcium-O-Cresolphthalein kompleksi ile magnezyumun aşikar hemoliz oluşmadan hücre içinden çıkarak plazmaya hareket ettiğini belirtmiştir. Nauman'a göre ise hemoliz başladığı zaman plazma magnezyum seviyesinin 20-30 mEq/L'ye kadar arttığını belirtmiştir.

Serebrospinal sıvı: Nauman'ın 131 olgu üzerinde yaptığı bir çalışmada ölümden sonraki ilk 10.5 saatte serebrospinal sıvı magnezyum seviyesinin antemortem döneme (2 mEq/L) göre postmortem dönemde (2.9 mEq/L) ciddi şekilde arttığını belirtmiştir (6).

Vitröz Humor: Lincoln ve Lane'nin 97 sağlıklı sığırın vitröz humoru üzerinde yaptığı bir araştırmada postmortem magnezyum konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Çevresel ısı 23 °C olduğunda antemortem ve postmorem magnezyumun birbirleri ile paralellik gösterdiğini, çevrsel ısı 30 °C olduğunda ise postmortem magnezyum konsantrasyonlarının postmortem 36 saatlik dönem içerisinde anlamlı şekilde düştüğünü tespit etmişlerdir. Sonuç olarak ölümün üzerinden geçen 24 saat geçtikten sonra ortam sıcaklığının 23 °C'yi aşmadığı vakalarda postmortem magnezyum konsantrasyonlarının postmortem 48 saatlik dönem içerisinde meydana gelen magnezyum dengesizliklerinin tespiti için kullanılabileceğini bildirmiştir (45). Swift ve arkadaşları 38 çocukta magnezyum konsantrasyonu ile PMİ ilişkisini araştırmış ve olguların üçte ikisinde vitröz humorda magnezyum konsantrasyonun 100 ml'de 0.003'ten 0.009'a yavaş şekilde bir gösterdiğini ayrıca postmortem magnezyumun çocukların yaşları ile dağılım gösterdiğini bildirmiştir (6).

Perikardiyal sıvı: Li ve arkadaşlarının postmortem 48 saatlik dönem içerisinde otopsi yapılan 385 olguda perikardiyal sıvı magnezyum seviyelerini araştırmışlar. Araştırma sonucunda tuzlu suda boğulma olgularında magnezyum seviyelerinin diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, kesici alet

yaralanmalarında da yüksek olduğunu ancak hiotermi vakalarında ise düşüş olduğunu bildirmişlerdir (44).

2.3.11.2. Hipoksantin (Hx)

Vitröz humorde Hx, PMİ tayininde potasyumun yanında bir yöntem olarak önerilmiştir. Rognum ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada vitröz Hx ve potasyum seviyeleri üzerinde otopsi zamanının ve sıcaklığın etkisi karşılaştırılmıştır. Bu araştırma ölüm zamanı ve tanısı bilinen 87 örnek üzerinden yapılmıştır. Cesetler 5°C, 10°C, 15°C ve 23°C'de saklanmıştır. Postmortem 1.5 saatlik dönem içerisinde normal Hx seviyesinin 1.6 µmol/l olduğu ve potasyum konsantrasyonunun 5.8 mmol/l olduğu tespit edilmiştir. Hipoksantin konsantrasyonlarının sıcaklıklara göre saat başına 4.2, 5.1, 6.2 ve 8.8 µmol/l arttığı; potasyum konsantrasyonlarının ise sıcaklıklara göre saat başına 0.17, 0.20, 0.25 ve 0.30 mmol/l arttığı tespit edilmiştir. Artış eğrilerinin artan sıcaklıktan etkilendiği ve yüksek sıcaklıkta eğrilerdeki artışın daha dik olduğu bildirilmiştir. Bu araştırma sonucunda:

- Hx postmortem dönemde 120 saate kadar doğrusal bir artış göstermekte olduğunu,
- Eğrinin sıcaklığa bağlı olarak değiştiğini,
- Vitröz Hx ile vitröz potasyum değerleri arasında güçlü bir ilişki olduğunu,
- Vitröz Hx'in vitröz potasyuma göre dağılım aralığının daha dar olduğunu tespit etmişlerdir (30, 40).

Hx'in postmortem dönemde artışının kabul edilebilir olduğu, ancak potasyum değerlerinin ölüm zamanı tayininde Hx'e göre güçlü korele olduğu ve bu nedenle ölüm zamanı tayininin Hx'e göre potasyumda daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir (30, 46). Yıldırım ve arkadaşlarının ölüm zamanları bilinen 65 vakada postmortem ilk 37,5 saatteki vitröz humorde Hx konsantrasyonunun postmortem süreçte doğrusal bir şekilde arttığı ve bu artışın hemen başladığı, ayrıca mevsimsel ısıdaki artışın Hx konsantrasyonlarında belirgin bir artışa neden olduğu bildirilmektedir (35).

2.3.11.3. pH

Ölümden sonra kan doku pH'sı; glikojenoliz ve glikoliz, laktik asit ve fosforik asit birikmesi sonucu düşmektedir. Yaklaşık olarak 24-36 saat sonra otoliz ve çürüme nedeniyle bazik ürünler açığa çıktığından kan pH'sı yükselmeye başlamaktadır (12). Sawyer ve arkadaşları sıçan dokuları üzerinde yaptığı araştırmada postmortem dönemde kardiyak kan pH düzeyinin azaldığını tespit etmişlerdir. PMİ (postmortem 2 ile 20 saatlik dönem) ile kan kardiyak pH düzeyi arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (47). Jetter ölümden sonra zamanla kan asitlik düzeyinin arttığını göstermiştir ve ilk 12 saat pH değerinin 6.73 olduğunu, sonraki 12 saatlik peryotta ortalama pH değerinin 6.43 olduğunu bildirmiştir. Straumfjord ve Burler benzer bulgular tespit ettiklerini bildirmiş ancak kan örneğinin alım yerine göre pH değerlerinde varyasyonlar olduğunu bildirmişlerdir (6).

2.3.11.4. C-Reaktif Protein (CRP)

Volaka ve arkadaşlarının ölümle sonuçlanan otopsi olguları üzerinde yaptığı bir araştırmada; serumda farklı türdeki inflamasyon uyaranlarına karşı cevap olarak meydana gelen CRP'nin ile ani travmatik ölümlerde ölüm sonrası geçen zaman arasında istatistiki olarak anlamlı bir negatif korelasyon olduğu ve PMİ'nin CRP üzerindeki azaltıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir (48).

2.3.11.5. Glikoz

Ölümden sonraki ilk 12 saatte, karaciğerde glikojenin yıkılması ile alt vena kavada glikojen birikmesi olmakta ve sağ kalbe difüzyon ile geçmektedir. Bazen kan glikozunun 300 mg/dl'yi aşabileceği belirtilmektedir. Açlık ve ileri derecede karaciğer hasarı olduğu durumlarda ise sağ kalpte kan şekeri yükselmesinin daha az olacağı belirtilmektedir. Vücudun diğer yerlerinde ise glikozun 6-8 saat içerisinde yıkılacağı ve kandan kaybolacağı, bu azalmanın ısıdan ve bozulmamış beyaz hücre sayısından etkileneceği belirtilmektedir (5).

Hipoglisemide postmortem glikoz: Kanda postmortem glikoz seviyelerinin değişimi tahmin edilememekte ve glikoz seviyelerinde tutarsız düşmeler olmaktadır. Bu sebepten postmortem vitröz humor glikozunun analizi ile hipoglisemi tespit edilememektedir. Postmortem vitröz humordaki glikoz konsantrasyonunun düşüşü PMİ hesaplanmasında kullanılmak için çok düzensizdir (49, 50).

Hiperglisemide postmortem glikoz: Hperglisemi araştırılmasından ekstremitelerde kanında 200 mg/dl kan şekeri tayin edildiğinde hiperglisemi tanısının konulabileceği belirtilmektedir (5). Kanda postmortem glikoz 500 mg/dL'nin (27.8 mmol/L) üzerine çıkması diabetik olmayan kişilerin %10'unda tespit edilmekte ve konjestif kalp rahatsızlığı, elektrik çarpmalarına bağlı ölüm, asfiksi, kardiyopumoner resüsitasyon gibi durumlarda kan glikoz seviyeleri artabilmektedir. Bu artışın muhtemel mekanizmasının terminal dönemde oluşan stres nedeniyle meydana gelen katekolamin değarjı ve sıklıkla kardiyopulmoner resüsitasyon nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Yalnızca postmortem glikoz analizi yapılarak diabetes mellitusun tespit edilemeyeceği bildirilmektedir. Kontrol altına alınamayan diabetes mellitusta postmortem glikolizin vitröz humordaki glikoz seviyesine çok düşük bir etkisi olduğu belirtilmektedir. Postmortem dönemde diabetik olmayanlarda kan glikoz seviyelerindeki yükselmenin, vitröz humorda 100 mg/dl'nin üzerine karşılık gelmediği bildirilmektedir. Yapılan araştırmalarda diabetes mellitus vakaları dışında vitröz humor glikoz seviyesinin 200 mg/dl'nin (11.1 mmol/L) üzerine çıkmadığını bildirilmektedir (49, 50).

Diabetik Ketoasidozda Postmortem Glikoz: Glikoz seviyelerinin artışı nadiren 300 mg/dL altında veya 1000 mg/dl'nin üzerindedir. Ortalama olarak 736 mg/dl olduğu belirtilmektedir Kan glikoz konsantrasyonu hastalığın şiddeti için güvenilir bir kılavuz değildir (49, 51).

Ketotik Olmayan Diabetik Komada Postmortem Glikoz: Ketotik olmayan diabetik komada kan glikoz seviyeleri çok yüksektir. Oakley kan glikozunun ortalama değerinin 1949 mg/dL olduğunu ve tespit edilen en yüksek kan glikoz seviyesinin 2500 mg/dl olduğunu bildirmiştir (51).

2.3.11.6. İnsulin, Kalsitonin, Tiroglobulin ve Glukagon'un İmmunohistokimyasal Analizi

Wehner ve arkadaşları yaptığı bir dizi bir çalışmada:

- Panreatik beta-hücrelerinde immunohistokimyasal insulin analizi ile ölümün üzerinden 12 gün geçmiş cesetlerde pozitif immun reaksiyon görüldüğünü, 30 gün geçmiş cesetlerde negatif immun reaksiyon görüldüğünü,
- Troid bezinin c-hücrelerinde immunohistokimyasal kalsitonin analizi ile ölümün üzerinden 4 gün geçmiş cesetlerde pozitif immun reaksiyon görüldüğünü ve 13 gün geçmiş cesetlerde negatif immun reaksiyon görüldüğünü,
- Troid bezinin kolloid ve foliküler hücrelerinde immunohistokimyasal tiroglobulin analizi ile ölümün üzerinden 5 gün geçmiş cesetlerde pozitif immun reaksiyon görüldüğünü ve 13 gün geçmiş cesetlerde negatif immun reaksiyon görüldüğünü,
- Pankreatik α -hücrelerinde immunohistokimyasal glukagon analizi ile ölümün üzerinden 6 gün geçmiş cesetlerde pozitif immun reaksiyon görüldüğünü ve 14 gün geçmiş cesetlerde negatif immun reaksiyon görüldüğünü bildirmişlerdir.

Wehner ve Arkadaşları; farklı koşullar altında pozitif ve negatif immun reaksiyonların daha erken veya daha geç olabileceğini çünkü otoliz gelişiminin; pH, sıcaklık, nem, metabolik durum ve hastalıklardan etkileneceğini belirtmişlerdir (52, 53, 54, 55).

2.3.11.7. Nükleik Asitler

2.3.11.7.1. DNA (Deokrisibo Nükleik Asit) Bozulması

DNA bozulması ile ölüm zamanı tayini ile ilgili ilk biyokimyasal ve immunohistokimyasal çalışmalar 30 yıl öncesine dayanmaktadır (30). Bir organizma öldükten sonra hücre içinde bulunan nükleazlar geçen zamanla kromozomal DNA'yı küçük parçalara ayırmaktadır ve bu küçük parçalar izole edilip görünür hale

getirildiğinde kantitatif olarak ölçülebilmektedir (56). DNA molekülü ölüm zamanı tayini için değerli bir parametre gibi gözükmemektedir çünkü otolizle birlikte DNA denatürasyonu postmortem dönemde hemen başlamakta ve 3 gün kadar devam etmektedir. DNA denatürasyonunun çevre sıcaklığından ve ölümün meydana geliş mekanizmasından etkilenmiyor gibi gözüktüğü bildirilmektedir (57). İnsan karaciğer ve testis örneklerinde sitofotometrik tarama yöntemi kullanılarak doğrusal olmayan bir DNA azalması tespit edilmiş, ancak DNA bozulması ile ilgili verilerin dağılım aralığının çok geniş olduğu ve ölüm zamanı tayini için pratik bir yöntem olmadığı anlaşılmıştır (30). Cina ölüm zamanı bilinen otopsi serilerinin dalak dokusunda flowsitometri ile DNA içeriği ile ilgili bir çalışma yapmış ve bu çalışmanın ön verileri neticesinde orta postmortem döneme kadar DNA bozulmasının ölçülebilir olduğunu bildirmiştir (58). DNA ile ilgili biyokimyasal reaksiyonların soğuk ortamlara göre sıcakta daha hızlı olması gibi DNA bozulmasının sıcaklık gibi dış etkenlerden bağımsız olduğunu öne sürmenin yanlış olduğu belirtilmiştir. Viral örneklerle yapılan çalışmalarda benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Sonuç olarak flowsitometrik DNA bozulmasının PMİ tayininde kabul edilebilir bir metot olmadığı anlaşılmıştır (30).

2.3.11.7.2. RNA (Ribonükleik Asit) Bozulması

Postmortem RNA bozulması üzerinde yeterince sistematik çalışma yapılmamış bir konudur. RNA, DNA'nın aksine in vivo ve in vitro olarak nerdeyse her yerde bulunmaktadır ve ribonükleaz aktivitesi nedeniyle degrade olduğundan DNA'ya göre daha az stabildir. İnsan mRNA parçalanma düzeyi ölçümünün ölüm zamanının belirlenmesinde bir araç olabileceği düşünülmüştür. Bauer ve arkadaşlarının mRNA bozulmasını ölçmek için geliştirdiği Multiplex-RT-PCR metodu ile yaptığı bir çalışmada; yaşayanlardan alınan kan örnekleri, ölümden sonra alınan kan örnekleri ve beyin dokuları alınıp 5 gün kadar buzdolabında bekletilmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak mRNA bozulmasının, canlı kişilerden alınan kan örneklerdeki saklama zamanı ve otopsi yapılan kişilerde PMİ ile ciddi derecede korele olduğunu bildirmişlerdir. Ancak oldukça büyük güven aralıkları nedeniyle üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerektiğini belirtmişlerdir (59).

2.3.12. Postmortem İnterval Tayini İçin Araştırılan Diğer Yöntemler

2.3.12.1. Mide İçeriği

PMİ tayininde araştırılan başka bir yöntem ise mide içeriği ile PMİ arasındaki ilişkidir. Ancak bu metodun son yemek yenilen zamandan, yenilen besin maddesinin özelliklerinden ve kişisel özelliklerden etkilendiği bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda hafif bir yemeğin yaklaşık olarak 1 saatte, ağır bir yemeğin 3 ila 5 saat arasında sindirildiği, sağlıklı erişkinlerde 3-4 saat içerisinde mide içeriğinin boşaldığı ancak yemeğin ağırlığına bağlı olarak 4 ila 6 saati bulabildiği tespit edilmiştir. Ayrıca sıvı gıdaların katı gıdalara nazaran daha hızlı bir şekilde mideyi terk ettiği ve sıvı gıdaların mide boşalma yarı ömrünün 178 ± 22 dakika olduğu, katı gıdalarda ise bu sürenin 277 ± 44 dakika olduğu bildirilmektedir. Ölüm sonrası mide içeriğine göre yapılacak bir ölüm zamanı tayininin öznel ve deneyime bağlı bir tahmin niteliğinde olduğu belirtilmektedir (5, 16).

2.3.12.2. H-Manyetik Rezonans Spektroskopisi ve Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi ile Çürümenin İzlenmesi

Çürüme ile meydana gelen değişiklikler ile kabataslak PMI tayininin deneyimli adli patologlarca yapılması mümkün olmakla beraber ses getiren bilimsel bir metot değildir. On yıllar önce Bonte ve Daraldup beyin gibi organlarda kokuşma sırasında protein bozulması ile ilgili kapsamlı deneysel çalışmalar yapmışlardır. Daraldup beyinde aminoasit konsantrasyonu ile ölüm zamanı hesaplaması ile ilgili bir metot geliştirmiştir. Ancak bu metotlar rutinde uygulama imkanı kazanamamıştır (30). Cesedin soğumasına dayalı PMİ tayini ile ilgili standart metotlar ölümden sonra 48 saatlik dönem içerisinde meydana gelen değişiklikler ile sınırlıdır. H-Manyetik Rezonans Spektroskopisi vasıtasıyla alternatif, invaziv olmayan ve beyindeki metabolitlerin değişimini gözlemleyen bir yöntem önerilmiştir (60). Beyin örnekleri, çürüme ile küçük metabolik varyasyonlar göstermekte ve kafatasının olması nedeniyle çevresel etmenlerden korunmaktadır. Bu teknik çürüme ilerledikçe zaman içerisinde görünümü değişen tekrar edilebilir bir yöntemdir. H-Manyetik Rezonans Spektroskopisi yöntemi kullanılarak postmortem çürüme ile ilgili yapılan araştırma sonucu aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- İnvaziv olmayan kimyasal bir analiz yöntemi ile doğallığı bozmadan analitleri ölçme imkanı olduğu anlaşılmıştır.
- Tekrar edilebilir olması ile postmortem değişiklikleri izlemenin mümkün olduğu anlaşılmıştır.
- Koyun modellemesinin insan beyni içinde geçerli olduğu anlaşılmıştır.
- Bu model ile sıcaklık gibi faktörlerinde çalışılabileceği anlaşılmıştır.
- 400 saate kadar 10 adet metabolitin analitik fonksiyonlarının tespitinin mümkün olduğu bildirilmiştir.
- 5 adet metabolitin kombinasyonunun, 250 saate kadar PMİ tahmini ile korele olduğu tespit edilmiştir.

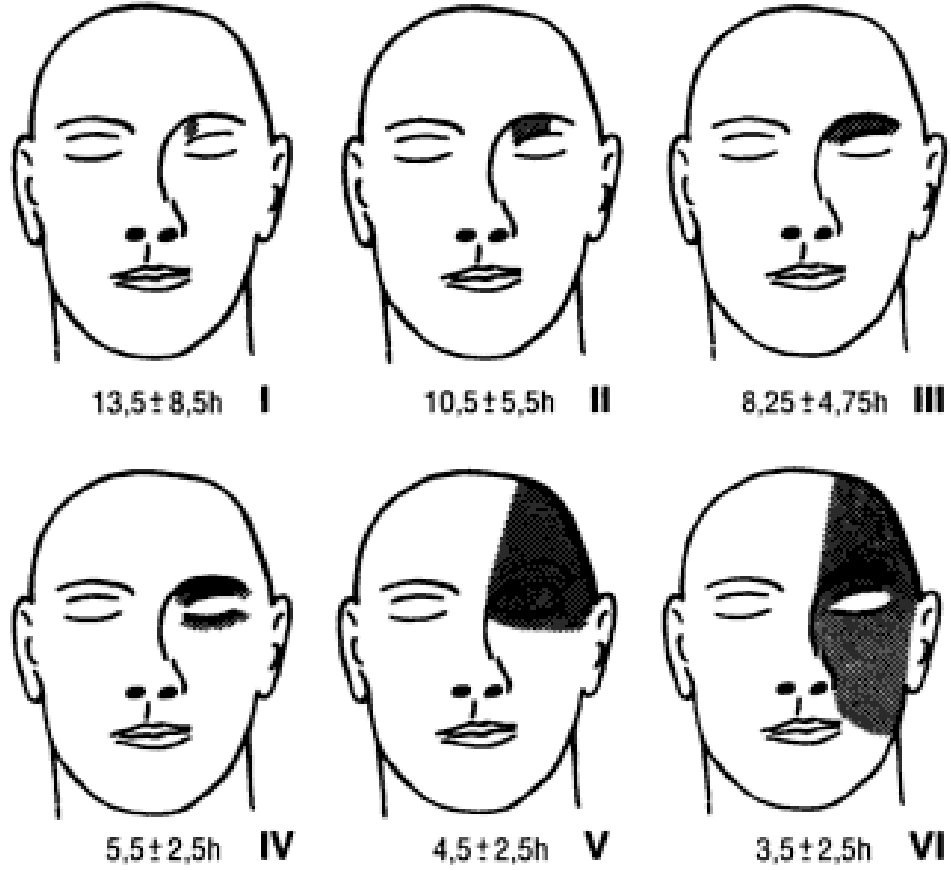
PMİ'deki bu metabolik değişiklikler ile ölüm zamanı tahmininde kantitatif hesaplanabilir ve kabul edilebilir bir yöntem bulunamamıştır (30).

Hirakawa ve arkadaşlarının Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi kullanarak yaptığı bir araştırmada farelerin femoral iskelet kasındaki metabolik değişikliklerin PMİ ve ölüm nedeni ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (61).

2.3.12.3. Postmortem İskelet Kaslarının Uyarılabilirliği

Supravitaliti geriye dönüşümsüz iskemi sonrası dokuların canlı kalma dönemi olarak tanımlanabilir. Supravitaliti çoğunlukla işlevsel parametreler (eksitasyon için duyarlılık) ile tanımlanır. Dokulardaki supravital değişiklikler, postmortem ısı ölçümünden farklı olarak bilgi veren teorik olarak ilgi çekici, pratik ve etkili bir yöntemdir (15, 62). Ölüm zamanı tayininde postmortem iskelet kaslarının stimülasyonlarına bağlı değişikliklerinin incelendiği birçok araştırma bulunmaktadır (16). Yapılan bir araştırmada iğne elektrotlar, üst göz kapağının buruna doğru olan kısmına yerleştirildikten sonra kaslar sabit dikkörtgen elektrotlarla uyarılmaktadır. Bağımsız kaslar incelendiğinde; erken postmortem dönemde güçlü kontraksiyonlar olduğu ve kas kasılmasının elektrottan uzaklara yayıldığı, postmortem süreç uzadıkça kas yanıtı daha zayıf olduğu ve yayılımının daha sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Ancak göz kapağında amfizem veya hematoma olduğu zaman elektiriksel uyarılabilirlik çok daha uzun sürebilmektedir. Hipotermide elektiriksel uyarılabilirliğin gözlenme süresi çok daha uzun olmakta ve uzun terminal veya

agonal dönemi olan ölüm olgularında elektriksel uyarılabilirliğin gözlenme süresi daha kısa olabilmektedir. Bu yöntemle gözlemsel olarak şiddetli aşamalar ile ölüm zamanı tayini mümkün olabilmektedir (8, 15, 63).



Şekil 3. Orbicularis oculi kaslarının uyarılması sonucu pozitif reaksiyon dereceleri. Fasyal kasların üst göz kapağının burun kısmına doğru iğne elektrot yerleştirilerek uyarılması (64).

2.4. Oksijen Yetersizliği (Hipoksi ve Asfiksi)

Oksijen akciğer ile vücuda girmekte ve kan ile organlara taşınmaktadır, daha sonra ise hücre içi solunum sistemi tarafından özümşenerek metabolizma için enerji üretilmektedir. Bu sistemin herhangi bir yerinde oksijen dağılımı bozulduğu zaman organlar zarar görmekte veya organizma ölmektedir (65). Altta yatan problem ne olursa olsun her ölüm dokuların hipoksisi veya anoksisi sonucu meydana gelmektedir (66). Asfiksini kelime anlamı nabızsızlık olup; klinik olarak oksijen

eksikliği demektir. Asfiktik ölümler respirasyon/ventilasyon mekanizmasını etkileyen birçok nedenden meydana gelmektedir (67). Atmosfer havasında O₂ oranı %18 ila 21 civarındadır, O₂'nin %12-16 civarına düşmesi ile yaşam için tehlike oluşmakta, O₂'nin %5'in altına düşmesi durumunda ise ani bilinç kaybı ve ölüm meydana gelmektedir. Asfikside temel sorun, dokuların ani ve derin oksijen yetmezliğidir (2, 68). Solunum havasında karbondioksit miktarındaki artış merkezi sinir sistemi depresyonuna ve solunum durmasına yol açmaktadır. Havadaki normal karbondioksit oranı %0.1'dir. Oksijen miktarı %20'de sabit kalmak koşulu ile karbondioksit miktarı artırılırsa, ölüm gaz karışımının solunması sonucu meydana gelmektedir. Toksik olmayan gazlar sonucu asfiksi, yüksek konsantrasyonlarda gaz mevcut olan kapalı alanda kalma veya bu şekilde bir ortama girmekle meydana gelmektedir (67). Asfikside patofizyolojik olarak hipoksi-iskemi sonucu doku düzeyinde hipoksemi ve asidoz meydana gelmektedir (69). Hipoksi, kandaki oksijenin normalde olması gerekenden daha az olmasıdır (70). Bir insanın arter kanındaki PO₂ ortalama 80-98 mmHg civarında ve PCO₂ ortalama 40 mmHg civarındadır. PO₂'nin 60 mmHg'ın altında olması ve PCO₂'nin 50 mmHg'nın üzerinde olması hipoksi olarak tanımlanmaktadır. Hipoksi meydana geldiği zaman kan beyin ve adrenal bezlerde toplanır, akciğer böbrek barsak gibi iç organlardan ve ciltten uzaklaşır (66, 68).

2.4.1. Oksijen Yetersizliğinin Beyin Üzerine Etkileri:

Bir erişkin bireyin ağırlığının sadece %2-3'ü kadar olan beyin, kalp debisinin %20'sini almakta ve istirahatte toplam oksijenin dörtte birini tüketmektedir. Beyin vücuttaki oksijene-duyarlılığı yüksek olan organlardan birisidir ve nörolojik bozuklukların hipoksinin belirgin bir göstergesi şaşırtıcı değildir (65). Hücrel oksijen insan beyine ulaştıktan sonra mitokondriyal solunum için kullanılmaktadır. Moleküler oksijen bu yoldan kaçtığı takdirde dismutasyona uğrayarak reaktif oksijen radikalleri oluşmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri aşırı biriktiği zaman antioksidan mekanizma bu biyomoleküllerin hücreye ve organlara vereceği hasarı azaltmaya çalışmaktadır. Beynin diğer dokulara göre oksijen alımı daha yüksek olduğu için oksidatif strese duyarlılığı daha fazla olmaktadır (31). Beyin dokusu, çeşitli nedenlerle (yüksek oksijen tüketimi, hızla peroksitlenebilen fosfolipitlerin fazla

miktarda bulunması ve nöronların yenilenememesi gibi) serbest radikal hasarına özellikle duyarlıdır (71). Hipoksik-iskemik olaylarda; nöron hasarının temel mekanizmaları, hücrel iyonların şifti, enerji yetersizliği, kalsiyumun aktive ettiği fosfolipid degregasyonu, nörotransmitterlerin artması ve beyin mikrosirkülasyonundaki değişikliklerdir. Oksijen yetersizliğinin sonucu olarak ATP'nin yetersiz üretimi nedeniyle hücre iyon dengesi bozulmaktadır. Hücre membranlarında ATP'ye bağlı sodyum-potasyum pompalarının çalışmaması hücre içinde sodyumun birikimine ve ödeme neden olmakta ve potasyumun hücre dışına çıkması ile eksitator aminoasitlerin salınımı artmaktadır. Sodyumun hücre içine girmesi ve potasyumun hücre dışına çıkması sonucu hücre membranı depolarize olmakta ve voltaja bağlı kalsiyum kanallarının açılması nedeniyle hücre içinde kalsiyum birikimi meydana gelmektedir. Hücre içinde kalsiyum artması sonucu fosfolipid hidrolize aktivite olduğu zaman lipid peroksidasyonu, yağ asitlerinin salınımı ve serbest radikal oluşumu meydana gelmektedir. Hipoksik-iskemik travmalarda aşırı miktarda oksijen serbest radikali oluşmaktadır. Oksijen serbest radikallerini temizleyiciler (SOD ve katalaz) büyük moleküller olduğundan kan beyin bariyerini aşamamakta veya hücre içerisine girememektedirler (72).

2.4.2. Oksijen Yetersizliğinin Böbrek Üzerine Etkileri:

Normal kişilerde glomerüler filtrasyon ve reabsorpsiyon işlemleri; elektrolit dengesini, sıvı ve çözülmüş maddelerin hemostazını idame ettirmede katkıda bulunmaktadır, ancak bu işlemler için vücudun toplam enerjisinin %10'unu kullanılmaktadır (73, 74). Böbrek, kan akımı ile oksijenlenmesi arasında dikkate değer bir farklılık gözlenmektedir. Yüksek kan akışı ve oksijene rağmen, böbrekteki oksijen gerilimi özellikle medulla bölgesinde nispeten düşüktür. Bunun nedeni arteriyel ve venöz, preglomerüler ve postglomerüler damarların paralel şekilde bulunmasıdır. Bu durumun sonucu olarak oksijen arteriyollerden postkapiller venöz sisteme şant yoluyla yayılmaktadır (75). Arteriyel-venöz oksijen şantının varlığı nedeniyle böbreklerde oksijen alımı oldukça yetersizdir (74). Oksijen şantının varlığı fizyolojik sınırlar içerisinde renal kan akımını arttırmakta ve hafif miktarda hemodilüsyona sebep olmaktadır. (76). Bu yüksek enerji tüketimi ve oksijen alımındaki yetersizlik nedeniyle böbrekler hipoksiye oldukça duyarlıdır. Peritubuler

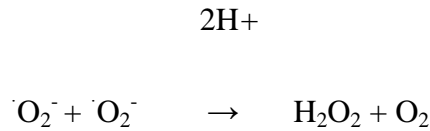
kapillerin kaybı sonucu ileri derecede tubulointertisyel hasar ile birlikte progresif glomerüler skleroz ve tubulointertisyel fibrozis meydana gelmektedir. Böbreğin enerji kullanımı ve oksijen tüketiminin birincil amacı elektrolit ve çözülmüş madde reabsorbsiyon işleminin devamlılığını sağlamaktır (74). Böbrekte iskemi meydana geldiği zaman reaktif oksijen türleri serbest kalmaktadır. Kronik hipoksik böbreklerin iskemiye daha dayanıklı olduğu bilinmektedir. 45 dakika renal arter oklüzyonu yanıt olarak, iskemiden 24 saat sonra böbrek fonksiyonları geri başladığı bildirilmiştir (77). Nakashi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 21 gün sonra hipobarik hipoksik ratların tamamında kalp, akciğer, karaciğer ve böbrek serum MDA seviyelerinin ve kontrol grubuna göre anlamlı derece arttığını gösterilmiş ancak bu süre içinde SOD, CAT ve GSH-Px seviyelerinde önemli ölçüde bir değişim olmadığı saptanmıştır (78).

2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar:

Serbest radikaller, dıştaki atomun yörüngesinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, dengeli olmayan bileşiklerdir. Çiftlenmemiş elektronlar, serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipit, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik maddeye zarar vermelerine sebep olmaktadır (79). Oksijen metabolizması, radyasyon, pestisit, bazı tıbbi tedavi yolları, kirli sular ve benzeri birçok etken oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Serbest radikallerin en çok bilinenleri tekli oksijen (1O_2), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksi (OH), peroksi (ROO^{\cdot}) ve alkoksidir (RO^{\cdot}) (80). Genel olarak oksijen türevi serbest radikaller hipoksi sırasında azalmaktadır (81). Serbest radikaller ileri derecede reaktif ve kısa ömürlü bileşiklerdir. Bu yüzden serbest radikalleri doğrudan ölçerek analiz etmek zordur. Çoğunlukla lipitler, proteinler ve DNA ile reaksiyonları sonucu oluşan çeşitli son ürünlerin ölçümü yapılmaktadır. Yaygın olarak lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden MDA'nın ölçümü yapılmaktadır. Protein hasarı, DNA hasarı ve antioksidan seviyelerinin tayini de (örn. GSH-Px, katalaz ve SOD düzeylerinin ölçülmesi) sık kullanılan yöntemlerdendir (82).

Serbest radikallerin oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve istikrarlı hale getirme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” denilmektedir (83). Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek (onlarla bağ kurarak) hücrelere zarar vermelerini önlemektedir (84). Antioksidanlar, birincil (önleyici) ve ikincil (zincir kırıcı) antioksidanlar olmak üzere ikiye gruba ayrılmaktadır. SOD, GSH-Px, katalaz, peroksidaz ve transferrin gibi birincil antioksidanlar; mevcut serbest radikaller ile reaksiyona girerek serbest radikallerin daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önlemektedirler. SOD, GSHP-x ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri ortadan kaldıracı yeteneğine sahiptir (79, 85). Birincil antioksidanlar içinde bulunan bu enzimler serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmakta ve bir hücresel bölgeden diğer hücresel bölgeye geçişini engelleyebilmektedir (79). C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşikler ikincil antioksidanlar olarak bilinmekte; oksijen radikalini yakalama ve radikal zincir reaksiyonlarını kırma gibi fonksiyonları bulunmaktadır (85).

Süperoksit dismutaz (SOD) (EC 1.15.1.1): SOD enzimi, süperoksit anyonunun (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüşümünü katalize ederek süperoksit anyonu ve hidrojen peroksidin etkisini zayıflatmaktadır.



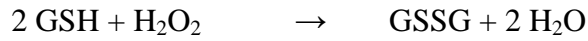
SOD

SOD’un katalizlediği bu reaksiyon, pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlıdır. Neredeyse bütün aerobik organizmaların SOD içerdiği belirlenmiştir (86). SOD, sitoplazmada bakır-çinko SOD (Cu-Zn SOD) şeklinde, mitokondride mangan SOD (Mn-SOD) şeklinde ve hücre dışında demir SOD (Fe-SOD) şeklinde bulunmaktadır (87).

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) (EC 1.11.1.9): Görevi tiyol grupları ve enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak olan hücresel bir

antioksidan enzimdir. Tiyol grubu bulunan bir tripeptid olan glutatyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini engelleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi çok sayıda enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebilen ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutatyon (GSH), biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir (88). Aktivitesi için selenyum mineraline gereksinim duyan GSH-Px enzimi, glutatyonun indirgenmiş formu GSH'ı, oksitlenmiş hali olan okside glutatyon (GSSG) dönüştürmektedir.

GSH-Px



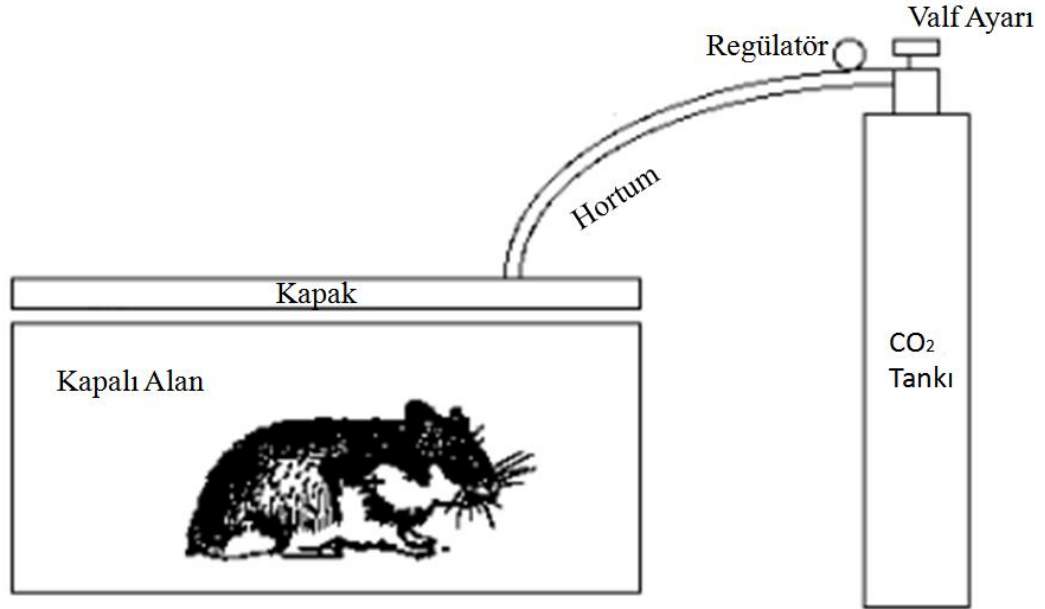
GSH ayrıca hücre içinde tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksi (OH) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmadan da reaksiyona girebilmektedir (86).

Malondialdehid (MDA): MDA formülü $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ olan organik bir bileşiktir. Yapısı bu önerilen formülden daha karmaşıktır. MDA reaktif oksijen türlerinden birisidir ve oksidatif stresin *invivo* test edilebilen biyolojik işaretleyicisidir (89). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, MDA oluşumuna neden olmaktadır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun özgül ya da kantitatif bir belirteci değildir, ancak lipid peroksidasyonunun düzeyi ile korelasyon gösterir (90). Reaktif oksijen türleri doymamış lipidlerin yapısını bozarak MDA oluşumuna neden olurlar. Reaktif bir aldehit olan MDA birkaç tane elektrophil hücresi bulunmaktadır ve hücrede toksik etkiye neden olmaktadır. Proteinlere kovalan olarak bağlanıp ileri lipid oksidasyon ürünlerinin oluşmasına sebep olur. Bu aldehitin üretimi organizmada oksidatif stresin düzeyini ölçmek için biyo işaretleyici olarak kullanılmaktadır (89).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda ağırlıkları 170 gr ila 220 gr arasında değişen toplam 40 adet, Wistar türü albino sıçan kullanıldı. Tüm işlemler, 1986 Uluslararası Strazburg Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesi şartlarına uygun olarak, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, Etik Kurul Onayı (2012 HADYEK 005) alınarak veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi. Denekler; standart sıçan kafesleri içinde, kemirgenlere özel standart pellet yem ve su ile istedikleri kadar beslenen sıçanlardan seçildi.

Tüm sıçanlar anestezi kutusuna alındı ve 5 psi basıncı aşılmayacak şekilde 4.5 lt/dk'dan CO₂ verilerek sıçanlara ötenazi yapıldı. CO₂ verilme aşamasında 3-5 dakika kadar sıçanların hareketleri, pupilleri, soluk alıp vermesi izlendi ve 3-5 dakika sonunda hareketin sonlanması, solunumun durması, pupillerin fiks dilate olması gözlemlendikten sonra işlem sonlandırıldı (91).



Şekil 4: Ötenazi işleminin şematik gösterimi (91).

Postmortem dönemde beyin ve böbrek dokularında MDA, SOD ve GSH-Px seviyeleri arasında fark olup olmadığını araştırmak amacıyla 40 sıçan basit randomizasyon ile 8'erli 5 gruba ayrıldı.

Tablo 1: Gruplar ve uygulanan işlemler

| | Bekleme süresi | Uygulanan işlem |
|----------|----------------|---|
| Grup I | 0 saat | Sıçanların beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı hemen -80 C° muhafaza altına alındı. |
| Grup II | 6 saat | Oda sıcaklığında ($20 \pm 2\text{ C}^\circ$) bekletilen sıçanların beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı ve -80 C° muhafaza altına alındı. |
| Grup III | 12 saat | Oda sıcaklığında ($20 \pm 2\text{ C}^\circ$) bekletilen sıçanların beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı ve -80 C° muhafaza altına alındı |
| Grup IV | 24 saat | Oda sıcaklığında ($20 \pm 2\text{ C}^\circ$) bekletilen sıçanların beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı ve -80 C° muhafaza altına alındı |
| Grup V | 48 saat | Oda sıcaklığında ($20 \pm 2\text{ C}^\circ$) bekletilen sıçanların beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı ve -80 C° muhafaza altına alındı |

3.1. Biyokimyasal İnceleme

Beyin ve Böbrek Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi: Beyin ve Böbrek doku örnekleri 1/10 oranında 50 mM Tris-HCl (pH=7.4) tamponunda, buz içinde, soğukta homojenize edilmiştir (92). Hazırlanan homojenatların bir kısmından MDA düzeyleri tayin edilmiştir. Homojenatların geri kalan kısmı, soğutmalı santrifüjde +4

°C’de 3.500 rpm’de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. Ayrılan süpernatantlardan GSH-Px ve doku protein düzeyi tayini yapılmıştır.

SOD aktivitesini tayin etmek için kalan süpernatant, kloroform/etanol karışımı ile 1/1 (v/v) oranında muamele edilip, 3500 rpm’de +4°C’de 40 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte oluşan etanol fazından alınarak protein ve SOD enzim aktivite tayini yapıldı (93).

3.1.1. Doku Protein Düzeyi Ölçümü

Protein düzeylerinin ölçümü Lowry yöntemi ile yapıldı (94). Bakır-protein kompleksi alkali çözeltide oluşarak fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifi) redükler ve koyu mavi bir renk oluşur. Oluşan rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Folin reaktifinin ilavesinde dikkat edilmesi gerekenler: Bu reaktif sadece asit ortamda dayanıklıdır, fakat bahsedilen bu redükleme ise pH 10’da oluşmaktadır. Bu sebeple folin reaktifi hızlı bir şekilde alkali bakır-protein çözeltisine ilave edilmeli ve karıştırılmalıdır. Bu uygulama ile rolün reaktifi parçalanmadan önce redüklenme olayı gerçekleşir

Kimyasallar: Na₂CO₃, NaOH, CuSO₄, folin ciocalteu’s fenol reaktifi, bovine serum albumin.

Ölçüm yöntemi: Standart grafiği elde etmek için konsantrasyonunu bildiğimiz bovine serum albuminden hazırlanmış çözeltiler kullanıldı “Optik dansite (OD) mg/ml protein konsantrasyonu” grafiği çizilerek protein değerleri bu grafikten okundu. 0,01 mL numune örnek tüplerine alındı ve üzerlerine 0,49 mL distile su ilave edildi. Kör tüpüne ise 0,5 mL distile su konuldu. Kimyasallarla elde ettiğimiz ölçüm reaktifi 2,5 mL olarak deney tüplerine dağıtıldı. Alt üst edilerek karıştırılan tüpler 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrası deney tüplerine 0,25 mL hazırlanan folin ciocalteu’s fenol reaktifi ilave edilip 30 dakika oda ısısında inkübasyona alındı. Süre sonunda standart ve numuneler köre karşı 700 nm’de okundu.

Hesaplama:

- Protein (mg/ml) = grafikten okunan değer x faktör
- F (faktör) = standart hacmi (0,5 ml)/ numune hacmi (0,010 ml) = 50

Not: Faktör, kullanılan numune miktarına göre değişir. Numunenin miktar değişikliği distile su hacmi ile ters orantılı olarak tüpe pipetlenir.

3.1.2. Doku ve Serum SOD Aktivitesinin Ölçülmesi

SOD aktivitesi düzeyi, Sun ve arkadaşlarının yöntemi ile Durak ve arkadaşlarının yapmış olduğu modifikasyona göre tespit edildi (93, 95). Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu indirgemesi esasına dayanır. Meydana gelen süperoksit radikalleri nitroblue tetrazoliumu indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Oluşan kompleks 560 nm'de maksimum absorbanans verir. Enzimin bulunmadığı ortamda bu indirgenme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD bulunduğunda ise nitroblue tetrazoliumun indirgenmesi gerçekleşmeyip mavi-mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır.

$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = (\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{num}}) / \text{Abs}_{\text{kör}} \times 100$$

Bir SOD ünitesi; nitroblue tetrazoliumu redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

Kimyasallar: 150 µmol/L nitroblue tetrazoliumu, 0,3 mmol/L xanthine, 0,6 mmol/L EDTA (2 Na tuzu), 400 mmol/L Na₂CO₃, 1 g/L bovine serum albumin, xanthine oxidase, 2 M (NH₄)₂SO₄, 0,8 mmol/L CuCl₂

Ölçüm yöntemi: Kimyasallar kullanılarak hazırlanan ölçüm reaktifinden 2,85 mL deney tüplerine alındı. Üzerlerine 0,1 mL numunelerin ekstraktlarından ilave edildi. Kör tüpüne ekstrak yerine 0,1 mL distile su konuldu. Elde edilen tüm karışımların üzerine 0,05 mL ksantin oksidaz ilave edilip, hızlı bir şekilde alt üst edilerek karıştırıldı ve oda ısısında 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon

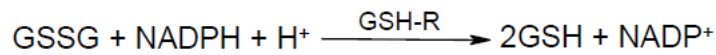
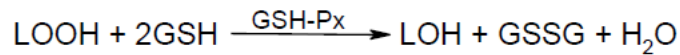
sonrası tüplere stop solüsyonu olarak 0,1 mL bakır klorür eklendi ve numunelerin köre karşı 560 nm’de absorbansları okundu.

Hesaplama

- % İnhibisyon = [(Absorbans kör {K} - Absorbans Örnek{Ö})] / K x 100
- % 50’lik inhibisyona 1 U denildiği için
- Aktivite (U/ml) = [(% inhibisyon/50) x (1 /0,1)] ml.
- U/ml = [(K-Ö) / K] x 20 x 5 (sulandırma faktörü)
- Spesifik aktivite (U/ g protein) = [U/mL / mg/ml protein]

3.1.3. Doku ve Serum GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü

GSH-Px aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının yöntemine göre ölçüldü (96). GSH-Px ortamda hidrojen peroksit bulunduğunda redükte GSH’nin, GSSG’ye yükseltgenmesini katalizler. GSH-Px’in hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda oluşturduğu GSSG, GSH-redüktaz ve NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit) yardımı ile GSH’a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH’ın NADP’ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans seviyesinde meydana gelen azalmanın 340 nm’de okunmasıyla hesaplanır.



Enzim Ünitesi: NADPH’ın birim zamanda okside olan mikromol miktarıdır.

Kimyasallar: 150 mM redükte GSH, GSH-Redüktaz, 8 mM NADPH, 1 M NaN₃ (Sodyum azid), 50 mM H₂O₂, fosfat tamponu (pH = 7,50 mM), 3,2 M (NH₄)₂S₀₄

Ölçüm yöntemi: Hazırlanan deney tüplerine; 2,650 mL EDTA’lı fosfat tamponu, 0,1 mL redükte GSH, 0,1 mL NADPH, 0,01 mL GSH-Redüktaz, 0,01 mL NaN₃, 0,02 mL numune konuldu. Karışımları hazırlanarak 30 dakika inkübe edildi.

İnkübasyon sonrası deney tüplerine 0,1 mL hidrojen peroksit ilave edilip 5 dakika boyunca dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede numunelerin absorbans değerleri kaydedildi. Aktivite azalışının lineer olduğu absorbans aralığının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesap yapıldı.

Hesaplama

- $IU/L = [(\Delta A/t)/6,22 \times 10^{-6}] \times (1 / 0,02)$
- Spesifik aktivite IU/mg protein = (IU/L) / (1000xW)

3.1.4. Doku ve Serum Lipid Peroksit (LPO) Düzeylerinin Ölçümü (MDA)

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile 90 °C'de reaksiyona girer ve pembe renkli kromojen oluşturur. MDA düzeyinin tayini oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır (144).

Kimyasallar: %10'luk Trisiklik asetik asit (TCA), % 0,675'lik TBA, Stok standart solüsyonu (1, 1, 3, 3 tetra metoksiopropan)

Ölçüm Yöntemi: Kapaklı cam deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA konuldu, üzerlerine 0,5 ml numune eklenerek vorteksle karıştırıldı. Elde edilen karışımların ağzları kapatılarak 90 °C'de 15 dakika inkübe edildiler. İnkübasyon sonrası soğuk su altında soğutulan numuneler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrası elde edilen süpernatantlardan 2 ml ayrı tüplere aktarıldı, bunların üzerlerine % 0,675'lik TBA ilave edildi ve tekrar 90 °C'de 15 dakika inkübe edildiler. İnkübasyon sonrası tekrar soğuk su altında soğutulan numuneler, 532 nm'de köre karşı absorbansları okutuldu. Kör tüpüne de numune yerine 0,5 ml distile su konularak aynı işlemler yapıldı.

Hesaplama:

- $MDA \text{ (nmol/ g.yaş doku)} = (\text{Örnek OD/Standart OD}) \times \text{Standart Konsantrasyonu}$

3.2. İstatistiksel Analiz:

Çalışmalarda elde edilen bulgular SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11.5 paket programı kullanılarak değerlendirildi.

Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistikler olarak, ortalama, standart sapma, en küçük ve en büyük değerler hesaplandı. Verilerin yaygınlığını değerlendirmek amacıyla kutu (boks plot) grafikler oluşturuldu.

Dokular arasında çalışılan parametreler açısından fark olup olmadığı İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi yapılarak % 95'lik güven aralığında ve anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Oluşturulan gruplarda arasında çalışılan parametreler açısından fark olup olmadığı değerlendirilmesi: Normal dağılım özelliklerine uymayan niceliksel verilerin bulunduğu bağımsız beş grubun karşılaştırılması Kruskal Wallis Varyans analizi ile yapıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında ve anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Grupların ikili karşılaştırılması niceliksel veriler normal dağılım özelliklerine uymadıkları için nonparametrik Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Gruplar karşılaştırılmadan önce beş grup için anlamlılık düzeyi (p) Bonferroni düzeltmesi uygulanarak 0.01 seçildi.

4. BULGULAR

40 adet Wistar Albino türü sıçanlar 8'erli 5 gruba ayrıldı ve her bir gruptaki sıçanlar ölümden sonra ön görülen sürede oda sıcaklığında bekletildikten sonra beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı. Çıkarılan dokularda SOD, GSH-Px ve MDA parametrelerinin değerleri ölçüldü.

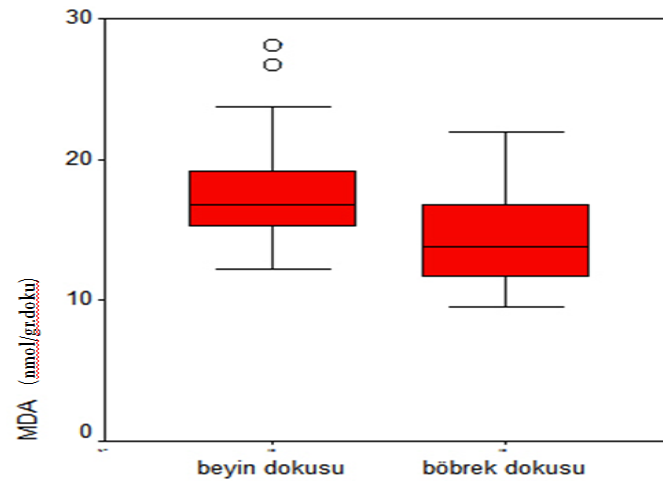
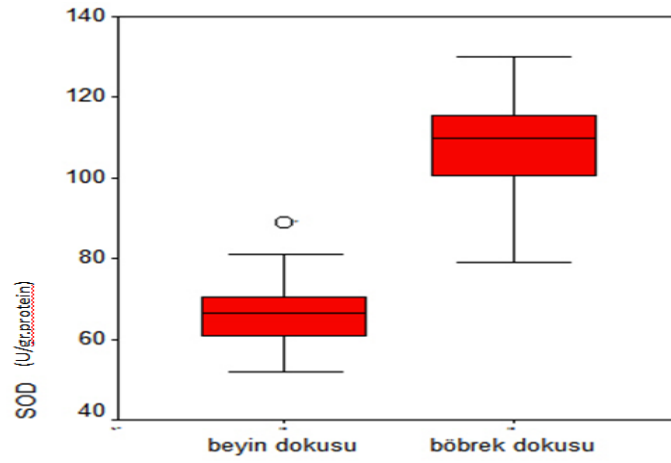
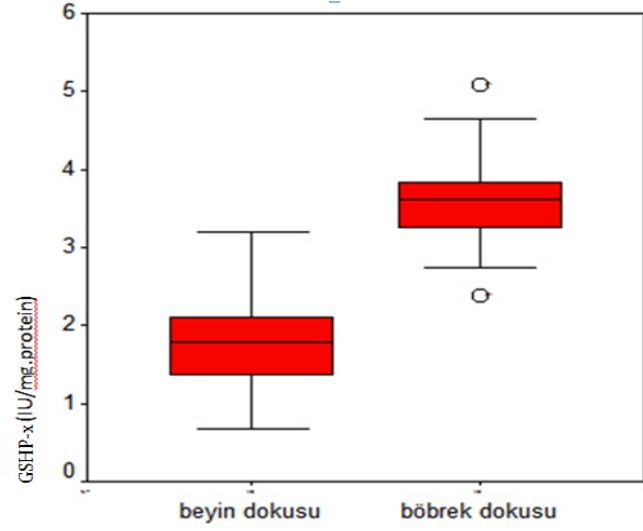
4.1. Beyin ve Böbrek dokuları arasından SOD, GSH-Px ve MDA değerleri açısından fark olup olmadığının değerlendirilmesi

Tablo 2: Beyin ve böbrek dokularında SOD, GSH-Px ve MDA değerleri tanımlayıcı istatistikleri.

| | | N | Min | Maks | X | SD |
|---------------|------------------------|----|-------|--------|--------|-------|
| Beyin dokusu | SOD (U/gr.protein) | 40 | 52,00 | 89,00 | 67,00 | 7,59 |
| | MDA (nmol/gr.doku) | 40 | 12,18 | 28,10 | 17,54 | 3,49 |
| | GSH-Px (IU/mg.protein) | 40 | 0,68 | 3,20 | 1,78 | 0,580 |
| Böbrek dokusu | SOD (U/gr.protein) | 40 | 79,00 | 130,00 | 108,62 | 11,61 |
| | MDA (nmol/gr.doku) | 40 | 9,57 | 21,91 | 14,45 | 3,22 |
| | GSH-Px (IU/mg.protein) | 40 | 2,39 | 5,08 | 3,58 | 0,512 |

Min: minimum, Maks: maksimum, X: ortalama, SD: Standart sapma.

Dokular arasında çalışılan parametreler açısından fark olup olmadığı İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi yapılarak % 95'lik güven aralığında ve anlamlılık $P < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Her iki grubun homojen olup olmadığını Levene's varyans homojenliği testi ile yapıldı grupların homojen olduğu gözlemlendi. SOD, GSH-Px ve MDA'nın beyin ve böbrek dokuları arasında değerlerinde anlamlı farklar olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p < 0.001$).



Grafik 2: Beyin ve böbrek dokularında ayrı ayrı GSH-Px, SOD ve MDA değerlerinin boks-plot grafikler olarak gösterimi.

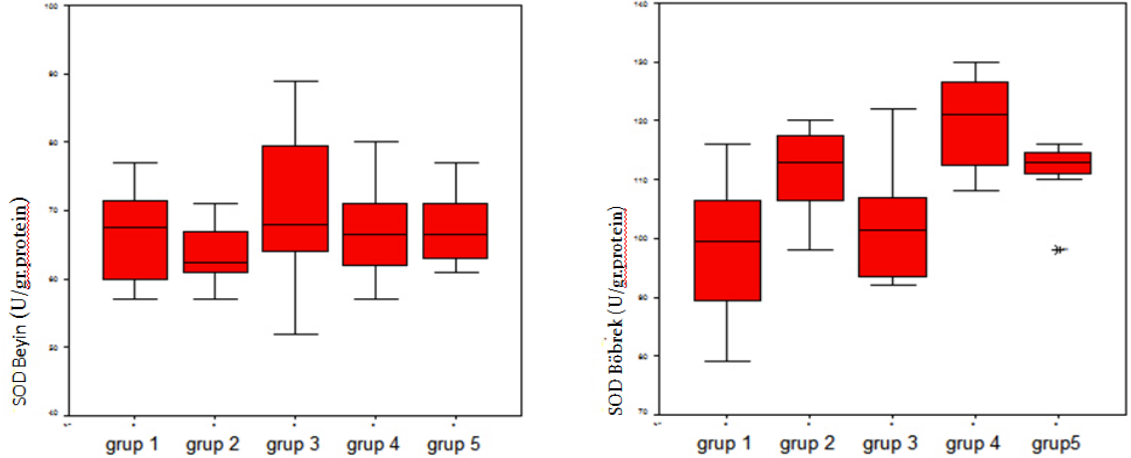
4.2. Gruplar arasında SOD, GSH-Px ve MDA değerleri açısından fark olup olmadığının değerlendirilmesi

Tablo 3’de SOD, tablo 4’de GSH-Px ve tablo 5’de MDA değerlerinin gruplara gore tanımlayıcı istatistikleri verilmektedir. Grafik 3’de SOD, Grafik 4’de GSH-Px ve Grafik 5’de MDA değerleri için oluşturulan boks plot grafikler gösterilmektedir.

Tablo 3: Tanımlayıcı istatistik SOD

| SOD (U/gr.protein) | | N | Min | Maks | X | SD |
|----------------------|---------------|---|-----|------|--------|-------|
| Grup 1 (0.saat) | Beyin dokusu | 8 | 57 | 77 | 66,50 | 6,99 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 79 | 116 | 98,25 | 12,80 |
| Grup 2 (6.saat) | Beyin dokusu | 8 | 57 | 71 | 63,63 | 4,53 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 98 | 120 | 111,50 | 7,74 |
| Grup 3 (12. saat) | Beyin dokusu | 8 | 52 | 89 | 70,50 | 11,68 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 92 | 122 | 102,25 | 10,01 |
| Grup 4 (24. saat) | Beyin dokusu | 8 | 57 | 80 | 67,00 | 7,38 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 108 | 130 | 119,75 | 8,13 |
| Grup 5 (48. saat) | Beyin dokusu | 8 | 61 | 77 | 67,38 | 5,78 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 98 | 116 | 111,38 | 5,70 |

Min: minimum, Maks: maksimum, X: ortalama, SD: Standart sapma.



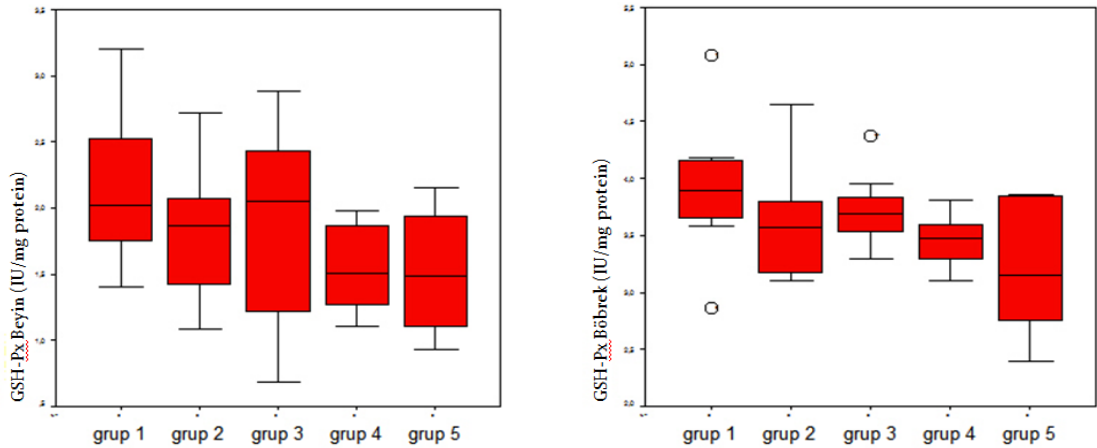
Grafik 3: Dokulara göre SOD değerlerinin boks plot grafiklerinde gösterimi

Beyin dokusunda SOD ortalama değerlerinin 5 grupta da birbirine yakın şekilde olduğu gözlenmiştir. Böbrek dokusunda ise SOD değerlerinin gruplar arasında artıp azalma şeklinde değişim gösterdiği izlenmektedir. Bu değişimler grafik 3’de görsel olarak da izlenebilmektedir.

Tablo 4: Tanımlayıcı istatistik GSH-Px

| GSH-Px (IU/mg protein) | | N | Min | Maks | X | SD |
|------------------------|---------------|---|------|------|------|------|
| Grup 1 (0. saat) | Beyin dokusu | 8 | 1,40 | 3,20 | 2,15 | 0,60 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 2,86 | 5,08 | 3,91 | 0,62 |
| Grup 2 (6. saat) | Beyin dokusu | 8 | 1,08 | 2,72 | 1,81 | 0,51 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 3,09 | 4,65 | 3,60 | 0,51 |
| Grup 3 (12. saat) | Beyin dokusu | 8 | 0,68 | 2,89 | 1,87 | 0,77 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 3,28 | 4,37 | 3,72 | 0,32 |
| Grup 4 (24. saat) | Beyin dokusu | 8 | 1,10 | 1,98 | 1,54 | 0,33 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 3,09 | 3,81 | 3,45 | 0,22 |
| Grup 5 (48. saat) | Beyin dokusu | 8 | 0,93 | 2,15 | 1,51 | 0,46 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 2,39 | 3,86 | 3,21 | 0,57 |

Min: minimum, Maks: maksimum, X: ortalama, SD: Standart sapma.



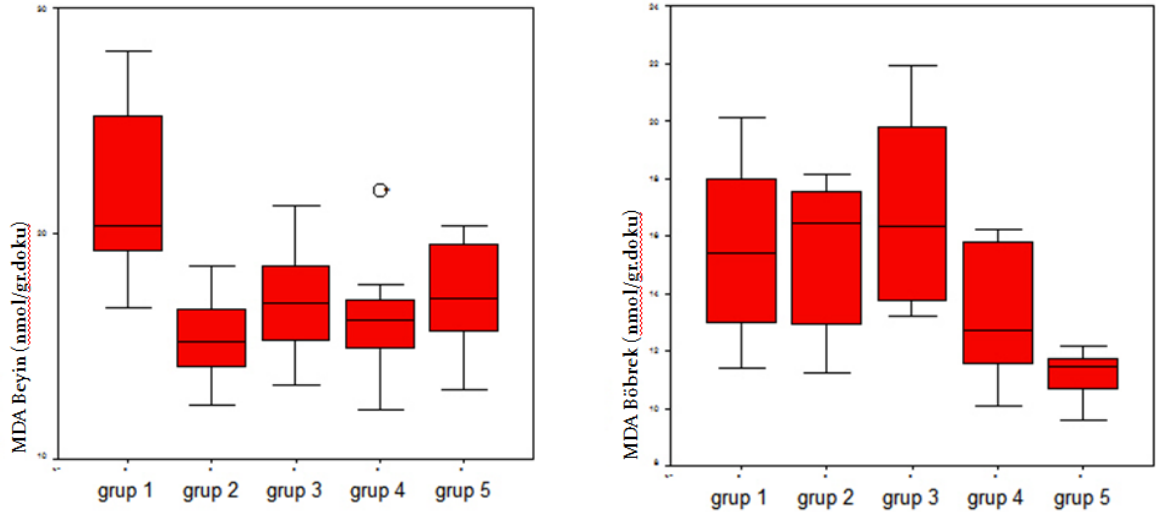
Grafik 4: Dokulara göre GSH-Px değerlerinin boksplot grafiklerinde gösterimi

Beyin dokusunda GSH-Px grup 4 ve 5'te, grup 1-3'e göre ortalama değerlerinin düşük olduğu gözlenmektedir. Böbrek dokusunda ise GSH-Px ortalama değerlerinin grup 3 haricinde düştüğü izlenmektedir. Bu değişimler grafik 4'de görsel olarak da izlenebilmektedir.

Tablo 5: Tanımlayıcı istatistik MDA

| MDA (nmol/gr.doku) | | N | Min | Maks | X | SD |
|----------------------|---------------|---|-------|-------|-------|------|
| Grup 1 (0. saat) | Beyin dokusu | 8 | 16,72 | 28,10 | 21,79 | 3,99 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 11,41 | 20,09 | 15,52 | 3,10 |
| Grup 2 (6. saat) | Beyin dokusu | 8 | 12,39 | 18,54 | 15,36 | 1,96 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 11,21 | 18,15 | 15,38 | 2,66 |
| Grup 3 (12. saat) | Beyin dokusu | 8 | 13,27 | 21,22 | 17,00 | 2,46 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 13,21 | 21,91 | 16,86 | 3,47 |
| Grup 4 (24. saat) | Beyin dokusu | 8 | 12,18 | 21,91 | 16,30 | 2,80 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 10,08 | 16,20 | 13,29 | 2,38 |
| Grup 5 (48. saat) | Beyin dokusu | 8 | 13,07 | 20,33 | 17,25 | 2,48 |
| | Böbrek dokusu | 8 | 9,57 | 12,15 | 11,18 | 0,84 |

Min: minimum, Maks: maksimum, X: ortalama, SD: Standart sapma.



Grafik 5: Dokulara göre MDA değerlerinin boks plot grafiklerinde gösterimi

MDA değerlerinin beyin dokusunda grup 1’de ortalama olarak yüksek olduğu ancak diğer gruplarda ortalama değerlerin düştüğü gözlenmiştir. Böbrek dokusunda ise MDA değerleri grup 1-3’de, grup 4 ve 5’e göre ortalama olarak yüksek olduğu

gözlendirilmiştir. Bu değişimler grafik 5’teki boks plot grafiklerden görsel olarak izlenebilir.

4.3. Kruskal Wallis analiz sonuçları

Beyin ve böbrek dokuları için ayrı ayrı ölçülen SOD, GSH-Px ve MDA değerleri aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığının anlaşılabilmesi için normal dağılım özelliklerine uymayan niceliksel verilerin bulunduğu bağımsız beş grubun karşılaştırılması Kruskal Wallis Varyans analizi ile yapıldı. Sonuçlar % 95’lik güven aralığında ve anlamlılık $P < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Tablo 6’de Kruskal Wallis analizi sonuçları verilmektedir.

Tablo 6: Beyin ve böbrek dokularında SOD, GSH-Px ve MDA değerlerinin gruplar arasında farklı olup olmadığı gösteren Kruskal Wallis Analizi sonuçları.

| | Beyin dokusu | | | Böbrek dokusu | | |
|---------|--------------|--------|--------|---------------|--------|--------|
| | SOD | MDA | GSH-Px | SOD | MDA | GSH-Px |
| ki kare | 2,879 | 14,135 | 5,907 | 16,015 | 16,347 | 7,635 |
| p | 0,578 | 0,007 | 0,206 | 0,003 | 0,003 | 0,106 |

Kruskal Wallis Analizi ile SOD değerleri açısından beyin dokusunda gruplar arasında anlamlı bir fark yokken ($p=0.578$) böbrek dokusunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlendi ($p=0.003$) (Tablo 6). Kruskal Wallis Analizi ile GSH-Px değerleri açısından hem beyin dokusunda hem de böbrek dokusunda gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlendi ($p=0.2$, $p=0.1$) (Tablo 6). Kruskal Wallis Analizi ile hem beyin hem de böbrek dokularında MDA değerleri açısından anlamlı farklar olduğu gözlendi ($p=0.007$, $p=0.003$) (Tablo 6).

4.4. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar:

Fark bulunan gruplarda, bu farkın hangi gruplardan ileri geldiğinin anlaşılabilmesi için ikili karşılaştırmalar yapıldı. Grupların ikili karşılaştırılması niceliksel veriler normal dağılım özelliklerine uymadıkları için nonparametrik Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Gruplar karşılaştırılmadan önce beş grup için anlamlılık düzeyi (P) Bonferroni düzeltmesi uygulanarak 0.01 seçildi.

Tablo 7: Beyin dokusunda MDA değerleri açısından grupların ikili karşılaştırmalarına ait p değerleri gösterilmiştir.

| | Grup 1 (0.saat) | Grup 2 (6.saat) | Grup 3 (12.saat) | Grup 4 (24.saat) | Grup 5 (48.saat) |
|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Grup 1 (0.saat) | | 0.001 | 0.01 | 0.005 | 0.028 |
| Grup 2 (6.saat) | | | 0.19 | 0.51 | 0.10 |
| Grup 3 (12.saat) | | | | 0.57 | 0.78 |
| Grup 4 (24.saat) | | | | | 0.51 |
| Grup 5 (48.saat) | | | | | |

Beyin dokusunda ölçülen MDA değerleri açısından grup 1'in, grup 2-5'den anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmiştir ($p=0.001$, $p=0.01$, $p=0.005$, $p=0.028$). Grup 2, grup 3, grup 4 ve grup 5'e ait MDA değerlerinin kendi aralarında ikili karşılaştırmalarında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Bkz. Tablo 7).

Tablo 8: Böbrek dokusunda MDA değerleri açısından grupların ikili karşılaştırmalarına ait p değerleri gösterilmiştir.

| | Grup 1 (0.saat) | Grup 2 (6.saat) | Grup 3 (12.saat) | Grup 4 (24.saat) | Grup 5 (48.saat) |
|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Grup 1 (0.saat) | | 0.95 | 0.57 | 0.23 | 0.007 |
| Grup 2 (6.saat) | | | 0.57 | 0.51 | 0.003 |
| Grup 3 (12.saat) | | | | 0.51 | <0.001 |
| Grup 4 (24.saat) | | | | | 0.65 |
| Grup 5 (48.saat) | | | | | |

Böbrek dokusunda ölçülen MDA değerleri açısından Grup 1-4'ün, grup 5'den anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmiştir ($p=0.007$, $p=0.003$ ve $p<0.001$). Grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4'ün kendi aralarında ikili karşılaştırmalarında ise anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir (Bkz. Tablo 8).

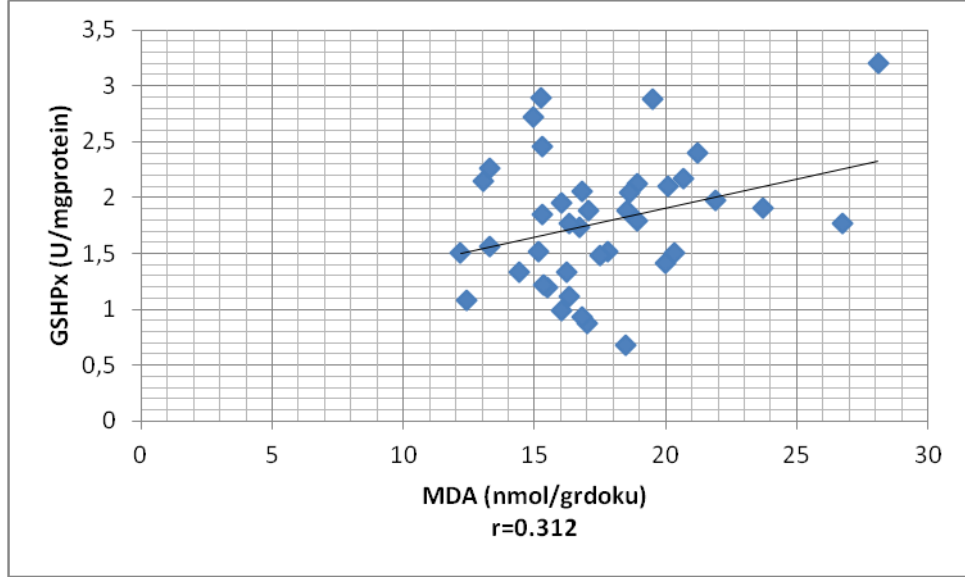
4.5. Değerlendirilen parametrelerin korelasyonu

Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson Korelasyon Analizi yapılarak araştırıldı. Elde edilen. r. ve. P. değerleri Tablo 9’de verilmektedir.

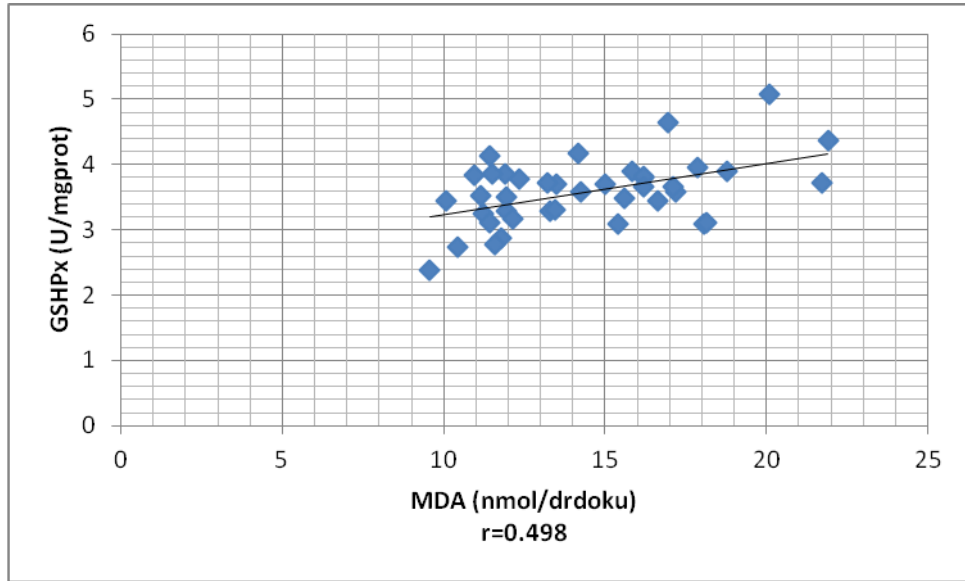
Tablo 9: Dokulara göre SOD, GSH-Px ve MDA parametrelerinin ilişkisi p ve r değerleri gösterilmiştir.

| | | | SOD | MDA | GSH-Px | |
|--------------|---------------|-------|--------|-----------|-----------|--------|
| Beyin dokusu | SOD | r | 1 | 0,215 | -0,032 | |
| | | p | . | 0,184 | 0,847 | |
| | MDA | r | 0,215 | 1 | 0,312(*) | |
| | | p | 0,184 | . | 0,050 | |
| | GSH-Px | r | -0,032 | 0,312(*) | 1 | |
| | | p | 0,847 | 0,050 | . | |
| | | | 40 | 40 | 40 | |
| | Böbrek dokusu | SOD | r | 1 | -0,297 | -0,154 |
| | | | p | . | 0,063 | 0,341 |
| MDA | | r | -0,297 | 1 | 0,498(**) | |
| | | p | 0,063 | . | 0,001 | |
| | | | 40 | 40 | 40 | |
| GSH-Px | | r | -0,154 | 0,498(**) | 1 | |
| | p | 0,341 | 0,001 | . | | |

Hem beyin hem de böbrek dokusunda MDA ile GSH-Px arasında anlamlı pozitif bir ilişki olduğu gözlenmektedir.($r=0.312$, $p=0.05$ ve $r=0.498$, $p=0.001$)



Grafik 6: Beyin dokusunda GSH-Px ve MDA arasında ilişkiyi gösteren grafik



Grafik 7: Böbrek dokusunda GSH-Px ve MDA arasında ilişkiyi gösteren grafik

4.6. Tanısal yeterlilik

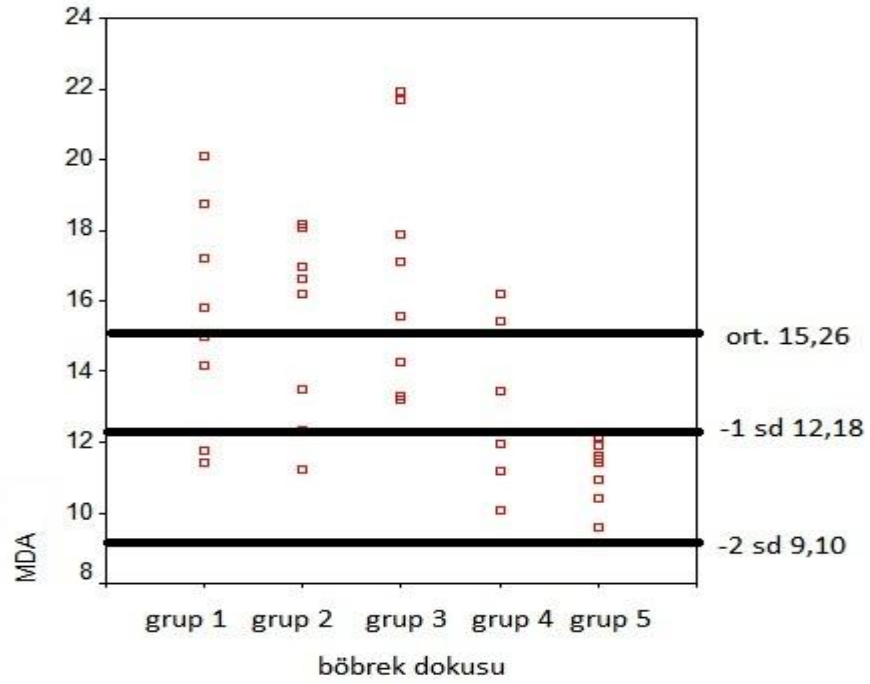
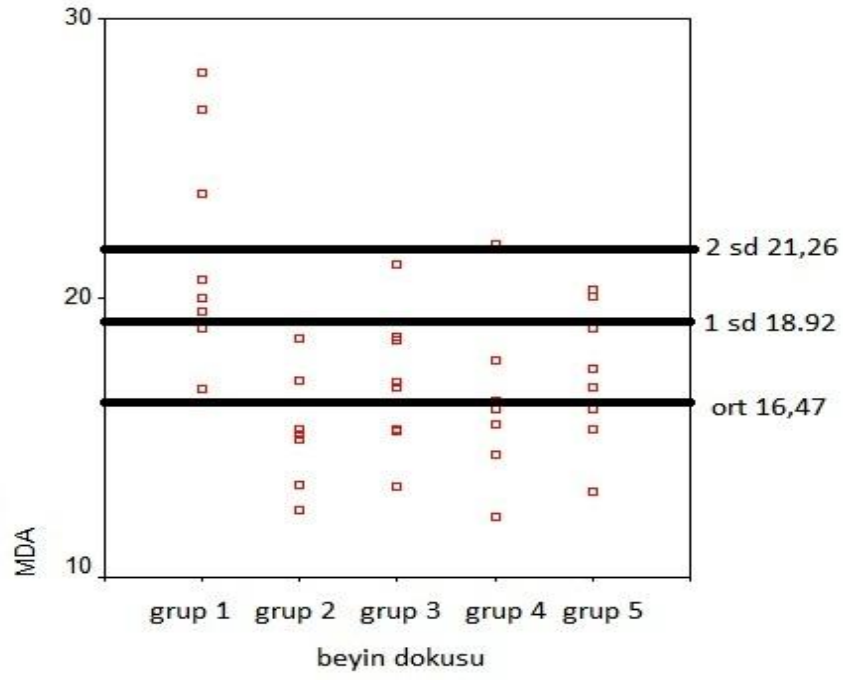
Hem beyin hem böbrek dokularında gruplar arasında anlamlı fark, sadece MDA değerleri açısından gözlemlendi. Beyin dokusunda grup 1'in ve böbrek dokusunda ise grup 5'in diğer gruplardan anlamlı olarak farklı olduğu tespit edildi. Bu gözlem üzerine ölüm zamanı tayininde kullanılmak üzere teorik olarak belli cut-off değerleri seçtik. Bu cut-off değerlerini seçerken hem beyin dokusunda hem de böbrek dokusundan aralarında fark olmayan gruplardan elde ettiğimiz ortalama ve standart sapmaları kullandık. Grafik 8'de beyin ve böbrek dokularında seçilen cut-off değerleri saçılım grafikleri üstünde gösterilmektedir.

Beyin dokusundaki MDA değerleri için:

- Cut-off değeri 18.92 nmol/gr.doku seçilirse ve bu değer üzerindeki değerler pozitif olarak kabul edilirse duyarlılık %75 ve özgünlük %88 olarak hesaplanmaktadır.
- Cut-off değeri 21.26 nmol/gr.doku seçilirse bu değer üzerindeki değerler pozitif olarak kabul edilirse duyarlılık %37.5 ve özgünlük %97 olarak hesaplanmaktadır.

Böbrek dokusundaki MDA değerleri için:

- Cut-off değeri 12.18 nmol/gr.doku seçilirse ve bu değer altındaki değerler pozitif olarak kabul edilirse duyarlılık %100 ve özgünlük %79 olarak hesaplanmaktadır.
- Cut-off değeri 9.1 nmol/gr.doku seçilirse, bu değer altında pozitif değer bulunmadığı için özgünlük ve duyarlılık tanımlanamamaktadır.



Grafik 8: Beyin ve böbrek dokularından ölçülen MDA değerleri için önerilen cut-off değerlerinin saçılım grafikleri üzerinde gösterim.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Şimdiye kadar yapılan postmortem elektrolitler ve diğer kimyasal maddeler ile ilgili çalışmaların birçoğu vitröz humor, serebrospinal sıvı ve kan gibi ekstrasellüler sıvı kompartmanları üzerinde yürütülmüştür (6). Bizim çalışmamızda ise böbrek ve beyin organ dokuları araştırılmıştır.

Serbest radikaller ileri derecede reaktif ve kısa ömürlü bileşiklerdir. Bu yüzden serbest radikallerin doğrudan ölçümlerini analiz etmek zordur. Çoğunlukla lipitler, proteinler ve DNA ile reaksiyonları sonucu oluşan çeşitli son ürünlerin ölçümü yapılmaktadır. Yaygın olarak lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden MDA'nın ölçümü yapılmaktadır. Protein hasarı, DNA hasarı ve antioksidan seviyelerinin tayini (örn. GSH-Px, katalaz ve SOD düzeylerinin ölçülmesi) de sık kullanılan yöntemlerdendir (82). Bizim çalışmamızda da antioksidan enzimlerden olan SOD, GSH-Px ve oksidatif stresin bir belirteci olan MDA incelenmiştir. İncelenen dokularda SOD, GSH-Px ve MDA parametreleri kendi aralarında ve organ dokuları arasında karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda beyin ve böbrek dokularındaki SOD, GSH-Px, MDA seviyelerinin ortalama değerleri karşılaştırıldığında, anlamlı derecede farklı olduğunu tespit ettik. Ölçülen SOD ve GSH-Px seviyelerinin ortalamasının böbrek dokusunda beyin dokusuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Tablo 2, Grafik 2). Böbrek dokusunda antioksidan enzim ekspresyonunun diğer organlara göre belirgin olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir (97). Bu da beyin ve böbrek dokusunda ölçülen SOD ve GSH-Px enzim seviyelerinin ortalama değerlerinin böbrek dokusunda beyin dokusuna göre daha yüksek ölçülmesinin nedenini açıklar niteliktedir. Beyin ve böbrek dokularında ölçülen MDA seviyelerinin ortalamasının ise beyin dokusunda böbrek dokusuna göre daha yüksek olduğunu gözlemledik (Bkz. Tablo 2, Grafik 2). Beyin dokusunda hızla peroksitlenebilen fosfolipitlerin fazla miktarda bulunduğu bildirilmiştir (71). Bu durum, çalışmamızda tespit ettiğimiz MDA seviyelerinin ortalama değerlerinin beyin dokusunda böbrek dokusuna göre daha yüksek olmasının sebebini açıklar niteliktedir.

Yaptığımız çalışmada postmortem dönemde MDA ve GSH-Px'in beyin ve böbrek dokusunda birbirleri ile pozitif bir korelasyon gösterdiğini tespit etmiş bulunmaktayız (Bkz. Tablo 9, Grafik 6, Grafik 7). Fountolakis ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; postmortem 72 saate kadar 23 °C'de saklanan sıçan beyinlerini saklamışlar ve sıçan beyinlerinin protein seviyelerini araştırmışlardır. Yapılan bu araştırma ile postmortem dönemde değişikliklerinin büyük ölçüde yapısal protein ve enzim seviyelerinde gözlendiğini bildirmişleridir (98). Oksijen metabolizması oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır (80). Ancak oksijen türevi serbest radikallerin hipoksi sırasında azaldığı bildirilmektedir (81). Reaktif oksijen türleri doymamış lipidlerin yapısını bozarak MDA oluşumuna neden olmaktadır (89). Ölümden sonra hücre ve dokuların içeriğindeki enzimler ve sıvıların etkisi ile hücre ve doku yapıları bozulmaktadır (12). Otoliz sırasında, vücutta bulunan hücreler oksijen bulamadığı zaman, kandaki karbondioksit miktarı artmakta ve pH düşmektedir. Artık maddeler arttığı zaman, oluşan bu maddeler hücreye zarar vermektedir. Hücresel enzimler hücreyi eritmekte ve hücrelerden dışarı sıvılar çıkmaktadır (25). Kimyasal enzimatik bir süreç olan otoliz, ısının artışı ile hızlanmakta ve ısının azalması ile yavaşlamaktadır. Otoliz, dondurma işlemi veya enzimlerin inaktivasyonu ile durmaktadır (16). Ölüm sonrası oksijen metabolizması sonlanacağı için serbest oksijen radikali oluşumu artık gerçekleşmeyecektir. Hücresel ölüm gerçekleştikten sonra hücre yapıları bozulmakta ve ortamda serbest kalan antioksidan enzimler işlevine bir müddet devam etmektedir. Bu da çalışmamızda tespit ettiğimiz MDA seviyelerinde zamanla azalmasını açıklar niteliktedir. Bununla beraber ölümden sonra enzimler yavaş yavaş inaktive olmaktadır. Böylece MDA ve GSH-Px seviyelerinin birbiri ile pozitif bir korelasyon göstererek düşme nedenin bu olduğunu düşünmekteyiz.

Hem beyin, hem de böbrek dokusunda GSH-Px değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir (Bkz. Tablo 6). Beyin dokusunda SOD değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken, böbrek dokusunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir (Bkz. Tablo 6). Canlılarda kardiopulmoner sistemin hızlı ve verimli çalışması için oksijen transportuna ihtiyaç vardır. Hayvan hücrelerinde hipoksiye adapte olmuş hücre gelişimi mevcut olmadığından iskemiye oldukça duyarlıdır.

Bunun sonucu olarak oksijen eksikliği meydana geldiğinde hücre içi ATP seviyesini korumak için anerobik glikolizde artışa ihtiyaç duyulmaktadır. Sonuç olarak gen ekspresyonunda değişiklikler olmakta ve total protein sentezinde azalma meydana gelmektedir. Bu değişikliklere rağmen ATP azalmasına engel olunamadığı takdirde membran iyon pompaları ve mebran bütünlüğü bozulacaktır. Hücre içi Ca^{+} arttığı zaman yıkıcı süreçler başlaması ile hücrede şişme ve hücre ölümü meydana gelecektir (99). SOD ve GSH-Px protein yapılı enzimlerdir. Ölüm gerçekleşikten sonra hücrede yeni protein sentezinin gerçekleşmeyeceğinden bu enzim seviyelerinde bir artış beklenmemelidir. Bu da çalışmamızda tespit ettiğimiz beyin ve böbrek dokusunda GSH-Px'in ve beyin dokusunda SOD'un anlamlı bir değişim gözlenmemesinin sebebi olarak düşünülmektedir. SOD seviyesinin böbrek dokusunda anlamlı olarak farklı çıkması beklenen bir durum değildir. Bu durumun SOD'nin çalışma yöntemi ile ilgili bir belirsizlikten kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Kruskal Wallis Analizi ile hem beyin, hem de böbrek dokularında MDA değerlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır (Bkz. Tablo 6). Beyin dokusunda ölçülen MDA değerleri açısından grup 1'in; grup 2, grup 3, grup 4 ve grup 5'den anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmiştir (Bkz. Tablo 7). Beyin dokusunda grup 2, grup 3, grup 4 ve grup 5'e ait MDA değerleri kendi aralarında ikili karşılaştırmalar yapıldığında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Bkz. Tablo 7). Böbrek dokusunda ölçülen MDA değerleri açısından grup 1, grup 2 ve grup 3'ün grup 5'den anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmiştir (Bkz. Tablo 8). Böbrek dokusunda grup 1, grup 2 ve grup 3'e ait MDA değerleri kendi aralarında ikili karşılaştırmalar yapıldığında anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir (Bkz. Tablo 8). Yapılan literatür taramasında; postmortem dokularda MDA seviyelerinin değişiminin araştırıldığı yeteri kadar çalışmaya ulaşılamamıştır. Harish ve arkadaşları, beyin farklı anatomik bölgelerinde yaptıkları çalışmada MDA değerlerinin zamanla arttığını bildirmişlerdir (31). Ancak biz çalışmamızda beyin dokusunda Grup 1'deki (postmortem 6. saat) MDA değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek olduğunu saptadık. Bu durumun muhtemel mekanizmasının hücre ölümünün gerçekleştiği sırada meydana gelen kaos nedeniyle artan oksidatif stres olabilir. Ancak zaman ilerledikçe duran oksijen metabolizması sonucu yeni serbest radikaller

üretilemeyecektir. Hücre canlılığı sona ermiş olsa bile ortamda mevcut bulunan antioksidan faktörler ilk başta MDA'yı zaman içinde nötralize ettiğini ve MDA seviyelerini azalttığını düşünmekteyiz. Somatik ölüm meydana geldiği zaman dokulara kan pompalanması duracağından, dokular artık oksijenlememekte ve anoksi oluşmaktadır. Somatik ölümle birlikte meydana gelen anoksiye her doku farklı cevaplar vermektedir (5). Vücuttaki bütün organ ve dokuların oksijensiz kalmaya dayanıklılıkları farklı şekildedir (100). Ölüm gerçekleştiği zaman oksijen yetersizliğine dayanıklılığına göre organların ve hücrelerin ölümü farklı zamanlarda gerçekleşmektedir (101). Oksijen yetersizliğine en duyarlı organ beyindir çünkü diğer dokulara göre oksijen alımı daha yüksektir ve oksidatif strese duyarlılığı daha fazla olmaktadır (31, 100). Beyin hücreleri enerji üretimini sadece oksijenle birlikte aerobik metabolizma ile sağlayabilmektedir (102). Böbrek dokusunda ise MDA seviyelerinin Grup 5'te (postmortem 48. saat), diğer gruplara nazaran anlamlı olarak düşük olduğunu saptadık. Bu durumun böbrek dokusundaki hücrelerin anoksiye daha dirençli olması ile açıklanabileceğini düşünmekteyiz. Böbrek dokusu ölüm gerçekleştikten bir süre sonra dahi bütünlüğünü ve bazı fonksiyonlarını korumaktadır. Ancak zaman ilerledikçe böbrek dokusunda da beyin dokusuna benzer şekilde MDA değerleri düşmektedir.

Çalışmamızda böbrek ve beyin dokusundaki MDA değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu ve zaman uzadıkça MDA seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Bkz. Grafik 5). Gruplar arasındaki bu farkın PMI tayininde kullanılabileceği düşünülerek belirli cut-off değerleri saptanmıştır. Bu cut-off değerleri belirlenirken beyin ve böbrek dokusundaki MDA değerleri için ayrı ayrı fark olmayan grupların (beyin dokusunda grup 2-5'in ve böbrek dokusunda grup 1-4'ün) ortalama ve standart sapmaları hesaplandı (Bkz. Grafik 8). Beyin dokusunda MDA seviyeleri için cut-off değeri olarak seçilen 18.92 nmol/gr.doku değerinin üzeri (ortalamanın 1 SD üzeri) pozitif kabul edildiği takdirde %75 duyarlılık ve %88 özgünlükle ölümün ilk 6 saat için gerçekleşmiş olabileceği varsayılabilmektedir (Bkz. Grafik 8). Beyin dokusunda MDA seviyeleri için cut-off değeri olarak seçilen 21.26 nmol/gr.doku değeri (ortalamanın 2 SD üzeri) pozitif kabul edildiği takdirde %37.5 duyarlılık ve %97 özgünlükle ölümün ilk 6 saat için gerçekleşmiş olabileceği varsayılabilmektedir (Bkz. Grafik 8).

Böbrek dokusunda MDA seviyeleri için cut-off değeri olarak seçilen 12.18 nmol/gr.doku değeri (ortalamanın 1 SD altı) pozitif kabul edildiği takdirde %100 duyarlılık ve %79 özgünlükle ölümün üzerinden 48 saat geçmiş olabileceği varsayılabilmektedir (Bkz. Grafik 8). Böbrek dokusunda MDA seviyeleri için cut-off değeri olarak seçilen 9.1 nmol/gr.doku değerinin (ortalamanın 2 SD altı) altında pozitif değer bulunmadığı için özgünlük ve duyarlılık tanımlanamamıştır (Bkz. Grafik 8). Elimizde altın standart olarak kullanabileceğimiz başka bir parametre olmadığı için roc eğrisi oluşturamadık. Eğer altın standart olarak kullanılacak başka bir parametre ile birlikte bu çalışma tekrarlanırsa çok daha iyi duyarlılık ve özgünlük değerleri elde edilebilir.

Beyin ve böbrek dokusundaki MDA seviyeleri beraberce değerlendirildiğinde beyin dokusunda MDA seviyesinde azalma gözlemediği ancak böbrek dokusunda MDA seviyesinde azalma gözlenmediği durumda ölümün 6 saat ile 48 saat arasında gerçekleşmiş olabileceği varsayımı yapılabilecektir (Bkz. Grafik 5). Ancak çalışmamızda antemortem beyin ve böbrek dokusundaki MDA seviyeleri araştırılmamıştır. Antemortem beyin ve böbrek dokusu MDA değerleride araştırıldığı takdirde bu varsayımın daha sağlıklı bir şekilde yapılabileceğini düşünmekteyiz. Fountoulakis ve arkadaşları postmortem sıçan beyinleri üzerinde yaptığı çalışmada bizim çalışmamızda tespit ettiğimiz sürelerle uyumlu olacak şekilde sonuçlara ulaşmışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; postmortem 6 saat içerisinde dihydropyrimidinase-related protein-2 seviyesinde azalma gözlemediği ve bu proteinin iki yeni kısa formunun tespit edildiği bildirilmektedir. Diğer birçok protein seviyesindeki azalmanın ise (nörofilament, alpha-interneksin, synaptosomal-associated protein 25, glial fibriler asidik protein, ısı şok proteinleri and dynamin-1 gibi) özellikle postmortem 48 saatte içerisinde belirgin olduğunu tespit etmişlerdir. Tubulin, aktin, albumin gibi belli başlı proteinlerin ise kısa formlarında artış gözlemediği bildirilmektedir (98).

Genel olarak tanımlanan tek bir postmortem değişiklik ile ölüm zamanı ile ilgili kesin sonuçlara ulaşmak imkansızdır (3). Ölüm zamanı için kullanılan tüm yöntemlerde bir dereceye kadar kusur ve güvenilmezlik mevcuttur. Bu yöntemler genellikle şüpheli ve belirsiz cevaplar vermektedir (16). Uygulamada PMİ tayininde

kullanılan yöntemlerin birçoğu pratikte herhangi bir önem (kesin, güvenilir ve anında sonuç veren) kazanamamıştır (15). Ölüm zamanı tayininde yalnız başına kullanabileceğimiz bir yöntem bulunmamaktadır (5). Genel olarak kısa süreli PMİ tahmini dar bir aralığı ve uzun süreli PMİ tahmini hata şansı yüksek olan geniş bir aralığı kapsamaktadır. En güvenilir tahminler, ölü beden üzerinde çok sayıda gözlemin bir arada kullanılmasıyla yapılmaktadır (4). Ölümden sonra geçen zamanın kesin tespitinin yapılamayacağı, ancak ölüm sonrası zaman yorum yapılabileceği ve zaman aralıklarının olabildiğince daraltılmasının gerektiği belirtilmektedir (17). Ölümün ne zaman gerçekleştiği adli bilimlerde içerisinde üzerinde çokça durulan bir konudur. Bu gibi durumlarda çoğu zaman adli tahkikat ve olay yeri incelemesi esas almaktadır, ancak bazen adli bilimlerinde yardımına başvurulmaktadır (23). PMİ tayini için daha kesin sonuçlar verebilecek yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir (30).

Çalışmamızın tahmin ettiğimiz bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Bunlar değinmek gerekirse:

- Çalışmamızda böbrek ve beyin organ dokusu incelenmiştir. Yapılacak diğer çalışmalarda ise farklı organ dokularının (kalp, karaciğer, dalak, akciğer v.b.) incelenmesi ile daha kapsamlı sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz.
- Çalışmamızda antioksidan enzimlerden SOD, GSH-Px ve oksidatif stres belirteci olan MDA parametreleri incelenmiştir. Diğer antioksidan enzimlerin ve oksidatif stres belirteçlerinin de araştırılmasının postmortem sürecin oksidatif stres ve antioksidan sistem üzerine daha etkilerini daha net bir şekilde ortaya koyabileceği kanaatindeyiz.
- Örnek sayısının kısıtlılığı nedeniyle PMİ döneminde 5 grup oluşturulmuştur. Daha büyük örnek sayıları ile daha dar zaman dilimleri içerisinde oluşturacaklarda gruplarda SOD, GSH-Px ve MDA değerlerinin postmortem dönemdeki değişimlerinin daha net gözlenebileceği kanaatindeyiz.
- Çalışmamızda çalışılan SOD, GSH-Px ve MDA değerlerinin antemortem seviyeleri bilinmemektedir. Canlı hayvanlardan alınacak dokularda ölçülecek antemortem değerler, postmortem değerler ile karşılaştırılması halinde daha sağlıklı sonuçlar elde edilebileceği kanaatindeyiz.

- Çalışmamız sabit ısı ve nem ortamında gerçekleştirilmiştir. Farklı ortam koşullarının postmortem dönemde SOD, GSH-Px ve MDA değerlerine etkilerinin olabileceği düşünmekteyiz. Bu nedenle farklı ortam koşulları sağlanarak yapılacak çalışmalara da ihtiyaç vardır.
- İnsan metabolizması, sıçan metabolizmasına oranla çok daha fazla faktörden etkilenmektedir. Bu çalışmada elde edilen verilen sıçanlar için geçerlidir. Bu parametrelerin insanlar içinde geçerli olup olmadığı veya insanlar için kullanıp kullanılamayacağı da insan çalışmaları yapılarak doğrulanmalıdır.

Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile postmortem sürecin MDA, GSH-Px ve SOD üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmamız sonucunda beyin ve böbrek organ dokularında MDA seviyelerinin gruplar arasında anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir. MDA seviyelerindeki azalmanın PMİ tayininde fayda sağlayabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak; çalışmamızın ileride yapılacak benzer çalışmalara fayda sağlayacak nitelikte olduğu kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

1. Presnell SE, Cina SJ. Postmortem changes. Erişim adresi: <http://emedicine.medscape.com/article/1680032-overview>. Erişim tarihi: 16.08.2012.
2. Alper B, Azmak D, Çekin N ve ark. Adli Otopsi ve Adli Patoloji, Birinci Basamak İçin Adli Tıp El Kitabı. TTB Yayınları, Polat Matbaası, Ankara 1999; 36-48.
3. Tsokos M. Postmortem Changes. Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine, Eds J Payne-James, Byard RW, Corey TS, Henderson C. Elsevier: Oxford, 2005, 2: 456-476.
4. Dix J, Michael A. Graham. Time of Death, Decomposition, and Identification: An Atlas. Boca Raton: CRC, 2000.
5. Kulusayın Ö, Koç S. Ölüm; Adli Tıp, Cilt I, Ed. Soysal Z, Çakalır C. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, No: 4165-224, İstanbul, 1999, 93-152.
6. Al-Alousi LM. Electrolyte Disturbances. Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine, Eds J Payne-James, RW Byard, TS Corey, C Henderson. Elsevier: Oxford 2005, 2: 476-482.
7. Gürler AS, Büyük Y, Şahin MF ve ark. Suda boğulma tanısında biyokimyasal analizler ve stronsiyumun önemi. Adli Tıp Dergisi. 2011; 25: 125-136.
8. Payne J, Payne J, Busuttil A ve ark. Forensic medicine: clinical and pathological aspects. Madae B, Henssge C. Time of Death. Greenwich Medical Media. London 2003. pp: 91-115.
9. Hancı İH. Ölüm ve Postmortem (Ölüm Sonrası) Değişiklikler. Hancı İH. Adli Tıp ve Adli Bilimler. Ankara 2002; 1. Baskı. Pp: 285-347.
10. Bilge Y. Ölüm Bilimi. Adli Tıp. Nobel Tıp Kitap Evi. Ankara. 2008. 2. Baskı: pp: 125-135.
11. Salaçin S. Adli Tıp Ders Notu. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Adana, 1995; 20-32.
12. Koç S, Can M. Ölüm Kavramı ve Ölü Muayenesi. Koç S, Can M. Birinci Basamakta Adli Tıp. Klinik Gelişim Dergisi Adli Tıp Özel Sayısı. 2009; 18-37.

13. Brust JCM. Koma. Merritt's Neurology, Eds Rowland LP, Pedley TA. Wolters Kluwer Lippincott Williams and Wilkins. (Çeviri Editörü Doğu O. Güneş Tıp Kitapevleri. 12. baskı). Philadelphia. 2010: 22-30.
14. Postmortem İnterval. Erişim Adresi: <http://www.forensicmed.co.uk/pathology/post-mortem-interval/>. Erişim Tarihi: 11.08.2012.
15. Henssge C, Madea B. Estimation of the time since death. Forensic Science International. 2007; 165; 182–184.
16. Di Maio DJ, Di Maio VJM. Forensic pathology, Time of Death. CRC Press LLC, Florida, 2nd ed, 2001: 43-63.
17. Kocatürk BK, Balcı Y, Bal C. Ölüm Zamanı Bilinen 200 Olguda Makroskopik Göz Bulgularının Postmortem İnterval Açısından Değerlendirilmesi. Türkiye Klinikleri, J Foren Med. 2007, 4:102-105.
18. Dominick J, Vincent J.M: Forensic Pathology. CRC Press, Florida 1993; 21-42.
19. Henssge C, Knight B, Krompecher Th, Madea B, Nokes L (Eds.), The Estimation of the Time since Death in the Early Postmortem Period, second ed., Edward Arnold, London, 2002, pp. 103–133.
20. Rajesh B, Dixit PG. Evaluation of morphological changes in blood cells of human cadaver for the estimation of postmortem interval. Ind Medica 2007; 7: 35-39.
21. Miura M, Naka T, Miyaishi S. Postmortem Changes in Myoglobin Content in Organs. Acta Med Okayama. 2011; 65: 225-30.
22. Pounder DJ. Postmortem Interval. Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine, Eds J Payne-James, RW Byard, TS Corey, C Henderson. Elsevier: Oxford 2005, 2: 482-488.
23. Henssge C, Madea B. Estimation of the time since death in the early post-mortem period. Forensic Science International 2004; 144: 167–175.
24. Cakalır C. Post-mortem interval. I. Adli Bilimler Kongresi; Adana. Kongre Kitabı. 12-15 Nisan 1994;36-42.
25. Vass AA, Barshick SA, Sega GA ve ark. Decomposition chemistry of human remains: a new methodology for determining the postmortem interval. J Forensic Sci. 2002; 47: 542-53.

26. Doğan KH, Günaydın G, Demirci Ş. Sıçanlarda doku element seviyeleri ve postmortem interval. Selçuk Üniversitesi Tıp dergisi. 2007; 23: 57-67.
27. Siegel J. Postmortem Interval. Encyclopedia of Forensic Sciences. Three Volume Set 2000.
28. Inoue M, Suyama A, Matuoka T ve ark. Development of an instrument to measure postmortem lividity and its preliminary application to estimate the time since death. Forensic Sci Int. 1994; 65: 185-93.
29. Usumoto Y, Hikiji W, Sameshima N ve ark. Estimation of postmortem interval based on the spectrophotometric analysis of postmortem lividity. Leg Med (Tokyo). 2010; 12: 19-22.
30. Madea B. Is there recent progress in the estimation of the postmortem interval by means of thanatochemistry? Forensic Science International. 2005; 151: 139–149.
31. Harish G, Venkateshappa C, Mahadevan A ve ark. Glutathione metabolism is modulated by postmortem interval, gender difference and agonal state in postmortem human brains. Neurochem Int. 2011; 59: 1029-42.
32. Hynd MR, Lewohl JM, Scott HL ve ark. Biochemical and molecular studies using human autopsy brain tissue. J Neurochem. 2003; 85: 543-62.
33. Singh D, Prashad R, Parkash C ve ark. Linearization of the relationship between serum sodium, potassium concentration, their ratio and time since death in Chandigarh zone of north-west India. Forensic Sci Int. 2002; 130: 1-7.
34. Schoning P, Strafuss AC. Postmortem biochemical changes in canine cerebrospinal fluid. J Forensic Sci. 1980; 25: 60-6.
35. Yıldırım A, Demirel B, Akar T ve ark. Usage of vitreous humour hypoxanthine and potassium values for the estimation of postmortem interval. Journal of Society for development in new net environment in B&H, HealthMED, 2011; 5: 1029-1036.
36. Madea B, Kreuser C, Banaschak S. Postmortem biochemical examination of synovial fluid--a preliminary study. Forensic Sci Int. 2005; 118: 29-35.
37. Jashnani KD, Kale SA, Rupani AB. Vitreous humor: biochemical constituents in estimation of postmortem interval. J Forensic Sci. 2010; 55: 1523-7.

38. Munoz JI, Sua´rez-Penaranda JM, Otero XL ve ark. A new perspective in the estimation of postmortem interval (PMI) based on vitreous [K⁺], J. Forensic Sci. 2001; 46; 209–214.
39. McNeil AR, Gardner A, Stables S. Simple method for improving the precision of electrolyte measurements in vitreous humor, Clin. Chem. 1999; 45; 135–136.
40. Rognum TO, Hauge S, Oyasaeter S ve ark. A new biochemical method for estimation of postmortem time, Forensic Sci. Int. 1991; 51; 139–146.
41. 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; 159–174.
42. Tagliaro F, Bortolotti F, Manetto G ve ark. Potassium concentration differences in the vitreous humour from the two eyes revisited by microanalysis with capillary electrophoresis. J Chromatogr A. 2001; 924: 493-8.
43. Mason JK, Klyne W, Lennox B. Potassium Levels in the Cerebrospinal Fluid after Death. J Clin Pathol. 1951; 4: 231–233.
44. Li DR, Quan L, Zhu BL ve ark. Evaluation of postmortem calcium and magnesium levels in the pericardial fluid with regard to the cause of death in medicolegal autopsy. Leg Med (Tokyo). 2009; 11: 276-8.
45. Lincoln SD, Lane VM. Postmortem magnesium concentration in bovine vitreous humor: comparison with antemortem serum magnesium concentration. Am J Vet Res. 1985; 46: 160-2.
46. Madea B, Ka´ferstein H, Hermann N ve ark. Hypoxanthine in vitreous humor and cerebrospinal fluid-marker of postmortem interval and prolonged (vital) hypoxia? Forensic Sci. Int. 1994; 65: 19–31.
47. Sawyer WR, Steup DR, Martin BS ve ark. Cardiac blood pH as a possible indicator of postmortem interval. J Forensic Sci. 1988; 33: 1439-44.
48. Volaka A, Safran N, Kolusayın MÖ ve ark. Postmortem periyotta c- reaktif protein düzeyinin ölüm zamanı ve ölüm nedeni ile ilişkisi. Adli Tıp Dergisi. 2011; 25: Sayı / No:2

49. Post mortem biochemistry. Erişim Adersi: <http://www.forensicmed.co.uk/science/toxicology/post-mortem-biochemistry>. Erişim tarihi: 15.08.2012.
50. Coe JI. Postmortem chemistry update – emphasis on forensic application. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*. 1993; 14: 91-117.
51. DiMaio VJ, Sturmer WQ, Coe JI. Sudden and unexpected deaths after the acute onset of diabetes mellitus. *J Forensic Sci*. 1977; 22: 147-51.
52. Wehner F, Wehner HD, Schieffer MC ve ark. Delimitation of the time of death by immunohistochemical detection of insulin in pancreatic b-cells, *Forensic Sci. Int*. 1999; 105: 161– 169.
53. Wehner F, Wehner HD, Schieffer MC ve ark. Delimitation of the time of death by immunohistochemical detection of calcitonin, *Forensic Sci. Int*. 2000; 122: 89–94.
54. Wehner F, Wehner HD, Subke J. Delimitation of the time of death by immunohistochemical detection of thyroglobulin, *Forensic Sci. Int*. 2001; 110: 199–206.
55. Wehner F, Wehner HD, Subke J. Delimitation of the time of death by immunohistochemical detection of glucagon in pancreatic alpha-cells. *Forensic Sci Int*. 2001; 124: 192-9.
56. Johnson LA, Ferris JA. Analysis of postmortem DNA degradation by single-cell gel electrophoresis, *Forensic Sci. Int*. 2002; 126: 43–47.
57. Di Nunno NR, Constantinides F, Bernasconi P ve ark. Is flow cytometric evaluation of DNA degradation a reliable method to investigate the early postmortem period? *Am. J. Forensic Med. Pathol*. 1998; 19: 50–53.
58. Cina SJ. Flow cytometric evaluation of DNA degradation: a predictor of postmortem interval? *Am. J. Forensic Med. Pathol*. 1994; 15: 300–302.
59. Bauer M, Gramlich I, Polzin S ve ark. Quantification of mRNA degradation as possible indicator of postmortem interval--a pilot study. *Leg Med (Tokyo)*. 2003; 5: 220-7.
60. Ith M, Scheurer E, Kreis R ve ark. Estimation of the postmortem interval by means of (1)H MRS of decomposing brain tissue: influence of ambient temperature. *NMR Biomed*. 2011; 24: 791–798.

61. Hirakawa K, Koike K, Uekusa K ve ark. Experimental estimation of postmortem interval using multivariate analysis of proton NMR metabolomic data. *Leg Med.* 2009; 1: 282-5.
62. Madea B. Importance of supravitality in forensic medicine, *Forens. Sci. Int.* 1994; 69: 221–241.
63. Madea B, Henssge C. Electrical excitability of skeletal muscle postmortem in casework, *Forens. Sci. Int.* 1990; 47: 207–227.
64. A Klein, S Klein, Die Todeszeitbestimmung am menschlichen Auge, *Med. Akademie Dresden, Med. Diss.* 1978.
65. Pierson DJ. Pathophysiology and Clinical Effects of Chronic Hypoxia. *Respir Care* 2000; 45: 39-511.
66. Hilal A, Gülmen MK. Akut derin hipoksi ve anoksiye bağlı ölümler. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı. Erişim Adresi: http://cukurovatip.cu.edu.tr/adlitip/index_dosyalar/Page1625.htm. Erişim Tarihi: 23.08.2012.
67. Walker A, Milroy CM. Asphyxia. *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine*, Eds J Payne-James, RW Byard, TS Corey, C Henderson. Elsevier: Oxford 2005, 2: 151-157
68. Koç S, Özaslan A. Genel olarak asfiksiler, ası, boğma, tıkama-tıkanma, kimyasal asfiksiler. İçinde: Soysal Z, Çakalır C, editörler. *Adli Tıp, Cilt 1.* İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları; 1999: 405-457.
69. Asfiksi. *Wikipedi*. Erişim adresi: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Asfiksi>. Erişim Tarihi. 06.08.2012.
70. Banavida B, Mencia Huerta JM. PAF and cytokine network in inflammatory processes. *Clin Rev Allergy.* 1994; 12: 381-95.
71. Eker B, Aydın M, Kuşcu MK ve ark. Şizofreni Hastalarında Oksidatif Stres ve Serbest Radikal Hasarının Göstergesi Olarak İdrarda Malondialdehit Ölçümü. 2012; 25: 64-68.
72. Belet NM, Küçükköçük Ş. Hipoksik İskemik Ensefalopatide Tedavi Yaklaşımı ve Yeni Görüşler. *O.M.Ü. Tıp Dergisi.* 1998; 15: 87-94.
73. Meyer TW, Hostetter TH. Uremia. *N Engl J Med.* 2007; 357: 1316-1325.
74. Chiang C-K, Tanaka T, Nangaku M. Dysregulated Oxygen Metabolism of the Kidney by Uremic Toxins: Review. *J Ren Nutr.* 2012; 22: 77-80.

75. Eckardt KU, Bernhardt WM, Weidemann A ve ark. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal disease. *Kidney Int Suppl.* 2005; 99: 46-51.
76. Gardiner BS, Smith DW, O'Connor PM ve ark. A mathematical model of diffusional shunting of oxygen from arteries to veins in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011; 300: 1339-52.
77. Chen CF, Tsai SY, Ma MC, Wu MS. Hypoxic preconditioning enhances renal superoxide dismutase levels in rats. *J Physiol.* 2003; 15: 561-9.
78. Nakanishi K, Tajima F, Nakamura A ve ark. Effects of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats. *J Physiol.* 1995; 489: 869–876.
79. Diplock, A. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, Belgium. 1998; 59 p.
80. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int J Food Sci. Tech.* 2001. 36; 703-725.
81. De Groot H, Littauer A. Hypoxia, reactive oxygen, and cell injury. *Free Radic Biol Med.* 1989; 6: 541–551.
82. Valko M, Leibfritz D, Moncol J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
83. Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.* 1999. 53; 46-48.
84. Antioksidan. Erişim Adresi: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan>. Erişim Tarihi: 08.08.2012.
85. Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M ve ark. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem.* 2002. 50; 3122-3128.
86. Larson RA. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry.* 27; 969-978.
87. Marklund SL. Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung. *Biochem J.* 1984; 220: 269-272.
88. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 194-200.

89. Malondialdehyde. Wikipedia. Erişim Adresi: <http://en.wikipedia.org/wiki/Malondialdehyde>. Erişim Tarihi: 08.08.2012.
90. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-31.
91. Euthanasia Guidelines. Erişim Adresi: <http://www.ahc.umn.edu/rar/euthanasia.html>. Erişim tarihi: 12.08.2012.
92. Akkuş İ. Klinik biyokimya laboratuvarı kitabı. Akkuş Öz Eğitim Bas. Yay. Dağ. Konya. 1995; 1-354.
93. Sun Y, Oberley L W, Ying L, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 1988; 34: 497-500.
94. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL ve ark. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193: 265-275.
95. Durak I, Yurtarslanı Z, Canbolat O ve ark. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta*. 1993; 214: 103-104.
96. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med*. 1967; 70: 158-169.
97. Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic Biol Med*. 1996; 20: 463-466.
98. Fountoulakis M, Hardmeier R, Höger H ve ark. Postmortem changes in the level of brain proteins. *Exp Neurol*. 2001;167(1):86-94.
99. Cobb JP, Hotchkiss RS, Karl IE ve ark. Mechanisms of cell injury and death. *Br J Anaesth*. 1996; 77: 3-10.
100. Tuncel N, Aydın S, Zeytinoğlu M. Solunum Sistemi ve Önemi. İnsan Anatomisi ve Fizyolojisi. Anadolu Üniversitesi Yayınları. Eskişehir. 2006; p: 179-196.
101. Ivan L, Melrose M: The way we die. Brain death, vegetative state, euthanasia and other end-of-life dilemmas. Pari Publishing; 2007: in pres.
102. Law R, Bukwirwa H. The Physiology of Oxygen Delivery, *Physiology*. 1999; 10: 1-2. Erişim Tarihi: 12.08.2012. Erişim adresi: http://www.nda.ox.ac.uk/wfsa/html/u10/u1003_01.htm.

