



T.C

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**İnsan Diş Dokusundaki Elementlerin Postmortem İnterval Belirlenmesi
Açısından Kullanılabilirliğinin Değerlendirilmesi**

DR. SERTAÇ DALGIÇ

UZMANLIK TEZİ

TOKAT-2021



T.C

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**İnsan Diş Dokusundaki Elementlerin Postmortem İnterval Belirlenmesi
Açısından Kullanılabilirliğinin Değerlendirilmesi**

DR. SERTAÇ DALGIÇ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR. ÜYESİ SELÇUK ÇETİN

TOKAT-2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde bilgi birikimi ve tecrübesiyle mesleki gelişimime katkıda bulunan, tezimin hazırlanmasında büyük katkısı olan değerli hocam Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÇETİN'e,

Uzmanlık eğitimimin bir bölümünde kendisiyle çalışmış olmayı büyük bir şans olarak gördüğüm Kırklareli Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bülent EREN'e,

Çalışmamda bana yardımcı olan Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nihat AKBULUT'a, verilerin kimyasal analizi ve değerlendirilmesi sürecinde çok emek harcayan Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Yakup BUDAK'a, tez verilerinin istatistiksel analizinde yardımlarından dolayı Üniversitemiz Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr. Gör. Emre KUYUCU'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım sevgili Uzman Dr. Abuzer GÜLDEREN'e ve Uzman Dr. Tuba ŞAHİNOĞLU GÜNEŞ'e, ayrıca uzmanlık eğitimimin sonlarında beni çömezlikten kurtaran değerli arkadaşlarım Dr. Şule Sinem GEDİKBAŞ'a, Dr. Havva Deniz KARAKUŞ'a, Dr. Tuğba ATASEVEN'e, Dr. İlkay KALKANLI'ya ve Dr. Halime ÇAKIR'a, Dr. Gizem ŞİŞMAN'a, Dr. Kahraman Mustafa ÇENGEL'e, Dr. Edibe Rumeysa SELVİ ALAKBARAV'a ve yıllarını Adli Tıp'a adanmış Birsen KAYAK'a,

Tez aşamasında bana bahçesini açarak çalışmamı gerçekleştirmeme yardımcı olan değerli aile dostumuz Şuşu'ya ve ailesine, tüm hayatım boyunca bana her türlü maddi ve manevi desteği sağlayarak bugünlere gelmemi sağlayan sevgili anne ve babama, her zorlukta yanımıza koşup bizi asla yalnız bırakmayan sevgili Yıldız annem ve Yaşar babama,

En kuvvetli destekçim değerli eşim canımın içi Çağlam'a ve en büyük hediyem biricik kızım Defnem'e,

En içten duygularıyla çok teşekkür ederim.

Dr. Sertaç DALGIÇ

ÖZET

AMAÇ: Ölümden sonra insan vücudunda çürüme sürecine bağlı fiziksel ve kimyasal değişiklikler olmaktadır ve bu değişiklikler postmortem interval tahmininde kullanılmaktadır. Kullanılan birçok yöntemle rağmen postmortem intervali tam olarak belirleyen bir yöntem henüz bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarla; ölüm zamanını net gösterecek yöntemler bulunması amaçlanmaktadır. Anatomik lokalizasyonu, sağlam ve izole yapısından dolayı diş diğer dokulara göre daha korunaklı olduğundan postmortem interval tahmininde doğru ve uzun süreli sonuçlar elde etmeye uygun olabilecek bir dokudur. Amacımız; ölüm zamanı kesin olarak bilinmeyen ve açık arazide bulunan cesette diş dokusundaki element seviyelerinin postmortem süreç ile ilişkisini incelemek ve artış-azalış-değişikliklerini değerlendirerek ölüm zamanının saptanmasındaki kullanılabilirliğini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'ne başvuran hastaların sağlıklı ve parçalanmadan çekilmiş 3. molar dişleri alındı. Dişler içerisinde sert alçı bulunan çene benzeri plastik bir modelde üzeri hayvansal çizgili kas dokusuyla kapatılarak açık havada çürüme sürecine bırakıldı. Örnekler, çekim sonrası 0. saat (kontrol grubu), 1.ay, 3.ay, 6.ay, 9.ay, 12.ay olmak üzere, her grupta 10 örnek olacak şekilde toplam 6 gruba ayrıldı. Süreç sonunda 6 grubun dişleri parçalama, öğütme ve asitle eritme işlemlerinden geçirildi ve İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) analiz yöntemi kullanılarak Na, Mg, P, Ca, Fe, Mn, Co, Zn, Cd, Pb, Si elementlerinin ölçümleri yapıldı.

BULGULAR: Çalışmamızda Na, Mg, Fe, Co, Pb, Si elementlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler olduğu tespit edildi. Özellikle Co elementinde gruplar arası artışın dikkate değer şekilde düzenli olduğu ve hiçbir grupta dalgalanma göstermediği belirlendi. Na elementinin 1.ay pikinden sonra düzenli olarak azaldığı, Fe elementinin 1.ayda artışının 3.aya göre fazla olması dışında düzenli bir şekilde arttığı, Pb ve Si elementlerinin 3.ayda 6.aya göre görülen fazla artışları dışında düzenli olarak artış gösterdiği görüldü.

SONUÇ: Co ve Na elementleri için konsantrasyondan postmortem interval tahmini yapmamızı sağlayacak 2 adet regresyon denklemi elde edildi. İnsan diş elementlerinde postmortem gerçekleşen değişimler daha büyük örneklem grupları, farklı çürüme ortamları, daha uzun süre ve daha fazla element analizini kapsar şekilde çalışılmalıdır. Bulunacak denklemler diğer postmortem interval tahmin yöntemleriyle kıyaslanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Adli Tıp, Postmortem İnterval, Element Analizi.

ABSTRACT

AİM: After death, chemical and physical changes occur in the human body due to the decomposition process, and these changes are used in the estimation of the postmortem interval. Despite many methods used, there is not yet a method that determines the postmortem interval exactly. For this reason, new studies are needed to determine the postmortem interval. With the studies carried out; It is aimed to find methods that will clearly show the time of death or provide the most accurate postmortem interval estimation. Since the tooth is more protected than other tissues due to its anatomical localization, robust and isolated structure, it is a tissue that may be suitable for obtaining accurate and long-term results in the estimation of the postmortem interval. In our study; we aimed to evaluate the postmortem increase-decrease-changes of some elements in the human tooth and to determine their usability in estimating the time of death.

MATERIALS-METHODS: The 3rd teeth which were extracted from the patients who applied to the Tokat Gaziosmanpaşa University Faculty of Dentistry, Oral and maxillofacial Surgery Polyclinic, were collected. The teeth were covered with animal-striped muscle tissue in a hard plaster in a jaw-like plastic model and left to decay in the open air. The samples were divided into 6 groups, 10 samples in each group, at 0 hour after extraction (control group), 1st month, 3rd month, 6th month, 9th month, 12th month. At the end of the process, the teeth of 6 groups were subjected to grinding, grinding and acid melting processes and by using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (ICP-MS) analysis method, the elements of Na, Mg, P, Ca, Fe, Mn, Co, Zn, Cd, Pb, Si were determined measurements were made.

RESULTS: In our study, statistically significant changes were found in Na, Mg, Fe, Co, Pb, Si elements. In particular, it was determined that the increase in Co element between groups was remarkably regular and did not fluctuate in any group. Na element decreased regularly after the 1st month peak. It was observed that the increase of Fe element in the 1st month was higher than in the 3rd month, but it increased regularly. Pb and Si elements increased regularly in the 3rd month compared to the 6th month, except for the excessive increase.

CONCLUSION: For Co and Na elements, 2 regression equations were obtained to enable us to estimate the postmortem interval from the concentration. Changes seen in postmortem dental tissue elements should be studied with larger sample groups, different decay environments, longer time and more element analysis, and compared with other postmortem interval estimation methods.

Keywords: Forensic Medicine, Postmortem Interval, Element Analysis

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vi
TABLOLAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Postmortem İnterval Tahmininde Kullanılan Yöntemler	4
2.1.1 PMİ Tahmininde Ölü Soğumasının (Algor Mortis) Kullanımı	4
2.1.2 PMİ Tahmininde Ölü Sertliğinin (Rigor Mortis) Kullanımı	5
2.1.3 PMİ Tahmininde Ölü Lekelerinin (Livor Mortis) Kullanımı	7
2.1.4 PMİ Tahmininde Postmortem Bozunmanın (Dekompozisyon) Kullanımı	8
2.1.5 PMİ Tahmininde Kas ve Sinir Mekanik-Elektriksel-Kimyasal Uyarılabilirliğinin Kullanımı	9
2.1.6 PMİ Tahmininde Mide Boşalma Hızının Kullanımı	10
2.1.7 PMİ Tahmininde Kan İncelemeleri	10
2.1.8 PMİ Tahmininde Vitroz Sıvı İncelemeleri	11
2.1.9 PMİ Tahmininde Doku Element Seviyesi İncelemeleri	12
2.1.10 PMİ Tahmininde Moleküler Genetik Tetkiklerin Kullanımı	13
2.1.11 PMİ Tahmininde Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler	14
2.1.12 PMİ Tahmininde Kullanılan Entomolojik Yöntemler	14
2.1.13 PMİ Tahmininde Kullanılan Diğer Güncel Yaklaşımlar	16
2.2 İskeletleşmiş Cesetlerde PMİ Tahmini	16
2.3 Dişin Yapısı	18
2.4 İnsan Diş Yapısında Bulunan Makro ve Mikroelementler	19
2.5 Diş Sert Dokularındaki Element Analizinde Kullanılan Yöntemler	21
2.6 ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi) Cihazı	21
3.GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Örneklerin Toplanması ve Dişlerin Çürüme Süreci	22

3.2 Kimyasal Analiz.....	26
3.3. İstatistiksel Analiz.....	28
4.BULGULAR.....	29
4.1 Sodyum (Na) elementi	30
4.2 Magnezyum (Mg) elementi.....	32
4.3 Demir (Fe) elementi	34
4.4 Kobalt (Co) elementi	36
4.5 Kurşun (Pb) elementi	38
4.6 Silisyum (Si) elementi.....	40
4.7 Fosfor (P) elementi.....	42
4.8 Kalsiyum (Ca) elementi	44
4.9 Manganez (Mn) elementi.....	45
4.10 Çinko (Zn) elementi.....	46
4.11 Kadmiyum (Cd) elementi	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	50
6. KAYNAKLAR	62

KISALTMALAR

PMI: Postmortem interval

ICP-MS: İndüktif olarak Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometrisi

Na⁺: Sodyum

Mg⁺²: Magnezyum

Fe: Demir

Ca⁺²: Kalsiyum

Co⁺² : Kobalt

Pb : Kurşun

P : Fosfor

Cd⁺²: Kadmiyum

Zn⁺²: Çinko

Si⁺⁴: Silisyum

Mn: Manganez

Al⁺³: Alüminyum

K⁺: Potasyum

Cu⁺²: Bakır

S⁺²: Kükürt

Se⁺²: Selenyum

Sb: Antimon

As⁺³ : Arsenik

Ba: Baryum

Be: Berilyum

Bi: Bizmut

B: Bor

Ag: Gümüş

Y: İtiryum

Sn: Kalay

Cr: Krom

Pb: Kurşun

La: Lantan

Li⁺: Lityum

Mo: Molibden

Ni⁺²: Nikel

Nb: Niyobyum

Ce: Seryum

Sr⁺²: Stronsiyum

Ti: Titanyum

W: Tungsten

V: Vanadyum

⁰C: Santigrat derece

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

ATP: Adenozin Trifosfat

CO: Karbonmonoksit

UV: Ultraviyole

ml: Mililitre

mg: Miligram

kg: Kilogram

g: Gram

pH: Hidrojen gücü

SS: Standart sapma

ppb : part per billion (milyarda bir birim)

mikro-CT: Bilgisayarlı Mikro Tomografi

MS : Kütle Spektrometre

PIXE: Proton İnduced X-Ray Emisyon

AAS: Atomik Absorpsiyon Spektrometre

FAAS: Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi

CPAA: Charged Particle Aktivasyon Analiz

HPLC: Yüksek performanslı Sıvı Kromatografisi

IGAA: Instrumental Gamma-Aktivasyon Analizi

ICP-OES: İndüktif olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometrisi

NAA: Nötron Aktivasyon Analizi

PIXE: Proton İnduced X-Ray Emisyon

PIGE: Proton İnduced Gamma-Ray Emisyon

PGAA: Prompt-Gamma Aktivasyon Analizi

AFS: Atomik Floresans Spektrometrisi

rRNA: ribozomal RNA

miRNA: microRNA

snRNA: Small Nucleer RNA

mRNA: Messenger RNA

PCR: Polymerase Chain Reaction

HMGB1: Yüksek Hareketlilik Grubu Protein 1

¹⁴C: radyokarbon

Sr90: Strontium 90

Pb210: Kurşun 210

Po210: Polonyum 210

HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

IgM: İmmünglobulin M

GABA: Gama Aminobütirik Asit

CaSO₄.2H₂O: Kalsiyum Sülfat Dihidrat

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 Erkek ve kadın sayıları	29
Tablo 2 Grupların yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı	29
Tablo 3 Nicel değerlere ilişkin dağılım (n=60).....	30
Tablo 4 Sodyum (Na) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı	31
Tablo 5 Na elementine ilişkin toplu karşılaştırmalar	32
Tablo 6 Magnezyum (Mg) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı.....	33
Tablo 7 Mg elementine ilişkin toplu karşılaştırmalar	34
Tablo 8 Demir (Fe) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı.....	35
Tablo 9 Fe elementine ilişkin toplu karşılaştırmalar.....	36
Tablo 10 Kobalt (Co) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı.....	37
Tablo 11 Co elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar	38
Tablo 12 Kurşun (Pb) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı	39
Tablo 13 Pb elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar	40
Tablo 14 Silisyum (Si) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı.....	41
Tablo 15 Si elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar	42
Tablo 16 Fosfor(P) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı	43
Tablo 17 Kalsiyum (Ca) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı	44
Tablo 18 Manganez (Mn) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı	45
Tablo 19 Çinko (Zn) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı	46
Tablo 20 Kadmiyum (Cd) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı	47
Tablo 21 Deneyin yapıldığı ayların ayrı ayrı hava değerleri	48
Tablo 22 Grupların yer aldığı dönemlere ait hava değerleri	49
Tablo 23 Co elementi için bilinen PMİ ve denklemle hesaplanmış PMİ.....	53
Tablo 24 Na elementi için bilinen PMİ ve denklemle hesaplanmış PMİ.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Plastik çene modeli kalıbı	23
Şekil 2 Yarisına kadar sert alçıya gömülmüş dişler ile oluşturulan çene modeli	23
Şekil 3 Hayvansal kaynaklı çizgili kas ile örtülen çene modeli	23
Şekil 4. 9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci.....	24
Şekil 5. 6,9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci.....	24
Şekil 6. 3,6,9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci.....	25
Şekil 7. 1,3,6,9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci.....	25
Şekil 8 Dişlerin ezilmesinde kullanılan 25 tonluk manuel kollu pres.....	26
Şekil 9 ICP MS cihazı.....	27
Şekil 10 Sodyum (Na) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri.....	31
Şekil 11 Magnezyum (Mg) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	33
Şekil 12 Demir (Fe) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	35
Şekil 13 Kobalt (Co) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	37
Şekil 14 Kurşun (Pb) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri.....	39
Şekil 15 Silisyum (Si) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	41
Şekil 16 Fosfor(P) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	43
Şekil 17 Kalsiyum (Ca) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri.....	44
Şekil 18 Manganez (Mn) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	45
Şekil 19 Çinko (Zn) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	46
Şekil 20 Kadmiyum (Cd) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri	47

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Bir ceset bulunduğunda dört temel sorunun cevabı aranır; bu sorular ölenin kimliği, ölüm şekli, ölüm sebebi ve ölüm zamanının tespiti. Bu dört temel sorundan biri olan ölüm zamanı tespiti adli vakalarda kritik olduğu kadar cevaplama zor bir konudur. Ani, beklenmedik, doğal olmayan şüpheli ölüm vakalarında, şüpheleri ortadan kaldırmak amacıyla ölü muayenesi veya otopsi yapılması gerekmektedir. Ölü muayenesi ve otopsi işleminin amaçları arasında ölüm zamanının tespiti de yer almaktadır. Adli makamlarca ölü muayenesi yapan hekimden ölüm zamanının belirlenmesine yönelik tüm bulguları saptayarak olabildiğince kesin ve dar bir zaman dilimi belirlemesi istenmektedir (1.2).

Ölüm zamanının belirlenmesinde tek başına kullanılabilen bir yöntem henüz bulunmamaktadır (3,4). Yapılan çalışmalarda önerilen yöntemlerin standardize bir prosedürünün olmadığı görülmektedir (4,5). Bu durumun olası nedenleri; cesedin bulunduğu ortamın hava sıcaklığı, mevsim özellikleri, nem veya kuraklık, rüzgar şiddeti, yağış oranları, yüksek veya düşük rakımda olması, cesedin açık alanda ya da gömülü olması, açıkta bırakıldıysa doğrudan güneş altında olup olmaması, gömüldüyse ne kadar derinliğe gömüldüğü, toprağın özellikleri, akan suyun ya da durgun suyun içinde bulunması, hayvan etkileri, böcek aktivitesi, bitki örtüsü, cesedin pozisyonu, üzerinde kıyafetlerinin olup olmaması, tahnit bulunup bulunmaması, beden yapısı ve ağırlığı, sağlık durumu gibi kişisel ve çevresel faktörlerin vakadan vakaya farklılık göstermesidir. Tüm faktörler göz önünde bulundurulsa bile ölüm zamanı terimini kullanmak yerine ölümün yaklaşık süresini interval olarak yani zaman aralığı olarak belirtmek daha doğru olacaktır (6).

Postmortem interval (PMI) belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, ölümden sonra geçen sürenin kesin olarak söylenemeyeceği; ancak ölümden sonra geçen zaman aralıkları hakkında yorum yapılabileceği görüşü yaygındır (7). Ölümden sonraki süreçte; ilk 24 saati erken PMI, 24 saat 7 gün aralığını ara PMI, 7 gün ve sonrasını geç PMI olarak kabul eden çalışmalar vardır (8,9,10,11). Özellikle geç PMI için doğru bir ölüm zaman tahmini her zaman kolay değildir. PMI belirlemeye yönelik doğru zaman tahmini yapmak adına çok sayıda yöntem ve yeni çalışmalar vardır. Rutin adli tıbbi uygulamalarda kullanılan en yaygın yöntem dış

fiziksel görünüm ve değişimlerinin incelenmesidir (11,12). Bunun dışında; histopatoloji, moleküler biyoloji, spektroskopi, entomoloji, thanatokimya, biyokimya, antropoloji, elektrofizyoloji ve görüntüleme yöntemleri gibi PMİ tahmininde kullanılan birçok alan ve yöntem mevcuttur. Uzamış PMİ ile azalan doğruluk tüm bu yöntemlerde bir sınırlamaya neden olmaktadır. Teknikten bağımsız olarak dokuların ayrışması ve çürüme PMİ belirlenmesini zorlaştırmaktadır (11,13).

Diş; sağlam anatomisi, izole yapısı, çürümeye ve yanmaya karşı daha dayanıklı olması dolayısıyla diğer dokulara göre PMİ belirlenmesinde doğru ve uzun vadeli sonuçlar elde etme açısından avantajlı bir doku olarak ön plana çıkmaktadır (11,14). İnsan diş dokusunun temel bileşenini hidroksiapatit oluşturmaktadır. Kalsiyum, Fosfor, Magnezyum, Sodyum, Potasyum, Klor, Flor, Fosfor, Kükürt, Bakır, Silisyum, Demir, Çinko, Kurşun, su ve organik maddeler insan diş yapısını oluşturan diğer bileşenlerdir (15). Ölüm zamanı tahminine yönelik doku element düzeylerinde ve kemik element düzeylerinde zamanla gerçekleşen değişimleri değerlendiren çalışmalar vardır (16,17). İnsan diş dokusunda element değişiminin PMİ tahmininde kullanılması üzerine yapılan çalışma sayısı ise sınırlıdır.

ICP MS cihazı; plazma kullanarak uyarılmış atom ve iyonlar üretilir, her elementin yaydığı dalga boyu özelliği farklı elektromanyetik emisyon şiddetini ölçerek elementin konsantrasyonunu belirler (18). Çalışılacak numune öncelikle çözelti haline getirilir ve yüksek sıcaklıktaki plazmaya püskürtülür. Plazma; bileşiklerin uyarılmış atom veya iyon haline dönüşmesini sağlayan yüksek enerjili bir argon gazıdır. Plazmada aerosol tanecikleri sırasıyla kurur, parçalanır, atomlaşır, iyonlaşır ve uyarılır. Gaz fazına geçen ve atomlaşıp plazmada uyarılmış duruma geçen elementler kendilerine özgü ışın yayarlar. Bu ışın şiddeti elementlerin derişimleri ile doğru orantılıdır ve bir emisyon spektrometresi ile ölçülür. ICP-MS cihazının; analiz sonuçlarının doğruluğunun, kesinliğinin ve duyarlılığının yüksek olması, düşük konsantrasyonlarda çalışma imkânı sağlaması, girişimlerin çok az olması gibi avantajları vardır (18,19). Hızlı, hassas, ucuz maliyetli ve aynı anda çok sayıda element analizi yapabilen bir cihaz olması nedeniyle biz çalışmamızda ICP-MS cihazıyla analiz işlemlerini gerçekleştirdik.

Çalışmamızda; Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'ne başvuran hastalardan bilgilendirilmiş onam formu eşliğinde alınan 3. molar dişler aylara göre sınıflandırılıp açık ortamda çürüme sürecine bırakıldı. ICP MS cihazıyla element analizleri yapılarak insan diş dokusundaki postmortem element değişiklikleri değerlendirildi. Amacımız; ölüm zamanı kesin olarak bilinmeyen ve açık arazide bulunan cesette diş dokusundaki element seviyelerinin postmortem süreç ile ilişkisini incelemek ve ölüm zamanının saptanmasındaki kullanılabilirliğini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Postmortem İnterval Tahmininde Kullanılan Yöntemler

2.1.1 PMİ Tahmininde Ölü Soğumasının (Algor Mortis) Kullanımı

Vücut ısısı normal koşullar altında ortalama 37.2 °C ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}$) olarak kabul edilir (20). Ölüm gerçekleşince vücut ısısı çevre ısısıyla aynı seviyeye gelineye kadar vücut ısı kaybeder. Her ceset çeşitli kişisel ve çevresel faktörlerden etkilenerek farklı bir hızda soğumaktadır (21,22). Soğuma sürecinde ortamın atmosferik ısısı, hava hareketleri, nem oranı, su hareketleri, ceset üzerinde giysi bulunup bulunmaması, cesedin pozisyonu, vücudun yağ oranıyla orantılı gelişme ve beslenme durumu, beyin kanaması veya sepsis gibi ısı yükseltici nedenler, masif kanama veya hipotermi gibi başlangıç ısını değiştirten nedenler gibi çeşitli faktörler cesedin soğuma hızını etkilemektedir (23).

Vücut dört farklı mekanizmayla ısı kaybeder; merkezden yayılarak dağılan radyasyon, hava akımı-su akışı etkisi sonucu konveksiyon, buharlaşma ile oluşan vaporizasyon ve ısıları farklı iki cismin teması ile oluşan konduksiyon. Postmortem soğuma sürecinde konveksiyon ve konduksiyon daha etkin rol oynar. Radyasyonun etkisi daha azdır ve hesaba katılmaz (20,24).

Vücut yüzeyi çevreye temas nedeniyle vücudun içinden daha hızlı soğuyacaktır ve bu nedenle ölümden bir iki saat sonra vücut yüzeyi dokunmakla soğuk hissedilebilir. Ancak iç organları ısı kaybına daha dirençli olduğundan vücut yüzeyi soğusa bile vücut içi daha geç soğuyacaktır. Bu nedenle yüzey ısısı ölçerek vücut ısısı belirlemek güvenilir bir yöntem değildir. PMİ tahmininde vücut içi ısısı temel alınmalıdır. Postmortem vücut ısını belirlemede en güvenilir yöntem visseral ısının ölçülmesidir. Bu amaçla rektal, subhepatik, intrahepatik, intrakranial, intraorbital, timpanik membran ısıları ölçülmektedir (14,23). Adli tıp pratiğinde en sık merkezi sıcaklığı daha iyi yansıtan rektal sıcaklık ölçümü kullanılır (20). Bu amaçla en sık uzun civalı termometreler tercih edilmektedir (25). İnfrared ve dijital

termometreler, bilgisayar destekli metodlar, mikrodalga temografi sistemi gibi birçok yöntem de vücut ısısının ölçülmesinde kullanılmaktadır (26,27).

Vücut içi ölçülen ısı ölüm sonrası hemen azalmaz ve sıcaklık değişim grafiği bir plato oluşturur. Bu durumun nedeni; vücudun somatik ölüm gerçekleşikten sonra supravital dönemde devam eden metabolik süreçler sebebiyle kısa bir süre daha ısı üretmeye devam etmesi ve insan vücudunun izolasyon özelliğinden dolayı ısı iletiminin gecikmesidir (14,28). Plato fazı ve saatlik soğuma derecesi ile ilgili çeşitli çalışmalar ve görüşler vardır. Koehler; plato fazının 1-3 saat kadar sürüp sonraki 16 saate kadar 0.5-1.5 derece/saatlik bir azalma göstereceğini, Shapiro; sağlıklı kişilerde vücut sıcaklığının 4 saate yakın normal kalabileceğini, Marshall; plato evresi süresinin 5 saat devam edebileceğini belirtmişlerdir (29,30,31). Plato fazını takiben sıcaklık değişim grafisi sigmoid bir eğri şeklinde düşüş gösterir ve hızlı bir soğuma süreci ile birlikte cesedin sıcaklığı ortam sıcaklığıyla eşitlenene kadar soğuma sürer. Knight; ölü soğumasının saatlik 0.8°C olduğunu belirtmiştir (32). Vücut ve çevre sıcaklıkları eşitlendikten sonra soğuma olmaz ve eğri tekrar düz bir plato çizer (20).

PMİ tahmininde ölüm sonrası vücut ısı değişiminin kullanıldığı birçok formül, denklem, algoritma geliştirilmiş olmakla birlikte son yıllarda nomogram metodu ön plana çıkmaktadır. Henssge'nin nomogramı, rutin adli uygulamalarda PMI tahmininde sık kullanılan bir prosedür haline gelmiştir ve bu tekniği geliştirme ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir (33). Bu yöntemde; cesedin kıyafet durumu, çevre ısı, rektal ısı ve cesedin ağırlığına bakılarak PMİ tahmini yapılır. PMİ tahmin ederken nomogram yöntemiyle tahmin edilen PMİ'nin diğer alternatif yöntemlerle desteklenmesi ve bir bütün olarak değerlendirme yapılması gerekmektedir (14). Ölü soğuması kullanılarak yapılan PMİ tahmininde ölümden kısa süre sonra yapılacak bir değerlendirme geç saatlerde yapılacak bir değerlendirmeye göre daha güvenilir olacaktır (20,33).

2.1.2 PMİ Tahmininde Ölü Sertliğinin (Rigor Mortis) Kullanımı

Ölü sertliği; ölüm sonrasında primer kas gevşemesini takip eden süreçte istemli ve istemsiz kasların kasılı duruma geçmesiyle oluşur. Adenozin Trifosfat

(ATP)'ın tükenmesi ve hücre içi kalsiyum artışı sonucu aktin ve miyozin filamentlerinin arasındaki çapraz bağlar birbirinden ayrılamaz ve ölü sertliği oluşur. Ölü sertliği tüm kaslarda aynı anda gelişmeye başlar ancak küçük kas gruplarında (çene ve yüz kasları gibi) kas lifi kitlesi daha az olduğundan ölü sertliği gelişimi kendini daha hızlı gösterir. Di Maio; ölü sertliğinin 15-20 dakika içinde başlayabileceğini belirtmekle birlikte ölü sertliği optimal koşullarda ortalama olarak yaklaşık 3-4 saat içerisinde başlar. (22). Ortalama 6-12 saat içerisinde tüm vücuda yayılır. Maksimum düzeye 10-15 saat içinde ulaşır. Maksimum düzeye ulaştığında vücut bütün esnekliğini kaybederek sert bir şekil alır ve eklemler oynatılamaz (20). Ortalama 48-72 saat sonra çürümenin başlamasıyla ölü sertliği biter ve çözülür (22). Ölü sertliğinin çürümenin hızına göre ölümden 6 gün sonra çözüldüğünü veya çok sıcak bir ortamda ise hızlı bir şekilde 24 saatte çözüldüğünü bildiren yayınlar bulunmaktadır (22). Çözülme; otoliz ve bakteriyel aktiviteyle meydana gelen protein degradasyonu sonucu oluşmaktadır (34).

Ölü sertliğini etkileyen kişisel ve çevresel birçok faktör vardır (35). Cesedin bulunduğu ortamın sıcaklığı, ölü sertliğini etkileyen en önemli faktördür. Çevre ısısı yüksekse ölü sertliği çabuk başlar, kısa sürer. Çevre ısısı düşükse ölü sertliğinin başlama süresi gecikir, hafiftir ve daha uzun sürer (35,36). Varetto; +4°C de çürümenin geç başlayacağını ve ölü sertliğinin 28 güne kadar uzayabileceğini bildirmiştir (37). Cesette ölüm öncesi uzun süreli kas aktivitesi mevcutsa; ölü sertliği çabuk başlar ve kısa sürer. Kaslarda yoğun kasılmaya neden olan striknin zehirlenmesi, elektrik çarpmaları, tetanoz gibi tetani oluşturan nedenlerde ölü sertliği çabuk başlar, uzun sürer ve şiddetlidir. Fetüs ve yeni doğanlarda ölü sertliği çabuk başlar. Yaşlılarda ve kas oranı düşük kişilerde ise ölü sertliği geç başlar (22).

Kişisel ve çevresel çok sayıda değişkenden etkilenen ölü sertliğinin PMİ tahmininde tek başına kullanımı mümkün değildir. Ancak diğer PMİ tahmin yöntemleriyle birlikte kombine edilerek bir bütün olarak değerlendirme yapılmasıyla PMİ tahmin sürecine katkı sağlar (32,38).

2.1.3 PMİ Tahmininde Ölü Lekelerinin (Livor Mortis) Kullanımı

Ölümden sonra damarlar içerisindeki kan yer çekimi etkisiyle dokulara sızarak vücudun postürüne göre alt kısımlarda renk değişikliği oluşturur. Ölüm sonrası kalbin itici görevi duracağı için kan büyük damarlarda birikir. Eritrositlerin parçalanması ile kan önce kırmızı, sonra oksijen kaybetmesi ile koyu mor bir renk alır. Damarlardan pasif difüzyon ile dokulara geçen kan doku içinde yayılır ve dokuları koyu mor renge boyar (32,39). Ölü lekeleri sırt üstü yatan bir cesette cesedin arka bölgelerinde, yüz üstü yatan bir cesette cesedin ön bölgelerinde ve bası görmeyen alanlarda oluşur (20). Bası görmeyen alanlarda oluşmasının nedeni; basıya maruz kalan bölgedeki damarların basınç etkisiyle dolamaması ve bu bölgelerde ölü lekelerinin oluşmamasıdır (23).

Ölü lekeleri ölümden sonra yaklaşık 30 dakika-2 saat arası bir sürede oluşmaya başlar. Ölümden 3-4 saat sonra fark edilebilir bir düzeye ulaşır. Ölü lekeleri en net şekilde yaklaşık 8-12 saat aralığında görülür. Kan, akışkanlığını koruduğu müddetçe yer değiştirebilir. Buna bağlı olarak ölü lekeleri kanın akışkanlığını koruduğu ölüm sonrası yaklaşık 8-12 saat aralığına kadar yer değiştirebilir. Ancak kanın sıvı içeriğinin kapillerden damar dışına sızmasıyla zamanla kan akışkanlığını kaybeder ve hemokonsantrasyon oluşur. Bu noktadan sonra yani ölüm sonrası yaklaşık 8-12 saat aralığından sonra kan hareket edemez ve ölü lekeleri yer değiştiremez. Bu durum adli tıp pratiğinde cesedin yer ve postürünün değiştirilip değiştirilmediğinin anlaşılmasına yardımcı olur. Çürüme sürecinin başlamasıyla ölü lekeleri kaybolur (20,22).

Çevresel ve bedensel birçok faktör ölü lekelerinin oluşum hızını, yoğunluğunu, rengini, yer değiştirme ve kaybolma süresini etkilemektedir. Ölü lekeleri CO zehirlenmesinde vişne kırmızısı, Potasyum kromat, Potasyum klorat, Anilin zehirlenmelerinde siyah-koyu renk, siyanür zehirlenmesinde parlak kırmızı, donma, suda boğulma, morg buzdolabında bekletilme durumlarında açık kırmızı renklerinde oluşabilir (22). Anemik ya da fazla kan kaybetmiş kişilerde ölü lekeleri hiç oluşmayabilir. Çürümenin hızlı olduğu koşullarda ölü lekeleri sabitlenme süresi daha hızlı olurken, çürümenin daha geç başladığı koşullarda ölü lekeleri sabitlenme süresi 24-36 saate kadar uzayabilmektedir (14). Dış faktörlerden etkilenmesi ve

kişiler arası farklılıklar göstermesi nedeniyle ölü lekelerinin PMİ tahmin yöntemi olarak tek başına kullanımı mümkün olmamaktadır (20, 40).

2.1.4 PMİ Tahmininde Postmortem Bozunmanın (Dekompozisyon) Kullanımı

Ölüm sonrası oksijenin tükenmesiyle hücrelerde karbondioksit birikir, ATP azalır, anaerobik glikoliz süreci sonucunda açığa çıkan laktik asid ile pH düşer, hücre zar yapısı bozulur, lizozom enzimleri etkisiyle hücrenin kendi kendini parçalama süreci başlar. Bu duruma otoliz denir. Otolize paralel işleyen ve iç-dış mikroorganizma topluluklarının vücudu sindirmeye başlamasına çürüme (pütrefaksiyon) denir. Otoliz ve çürüme süreçleri postmortem bozunmayı (dekompozisyonu) oluşturur (20,23).

Çürümenin ölümden sonra kişisel faktörlere, ortama ve gömülme durumu gibi birçok çevresel faktöre bağlı olarak değişmekle birlikte yaklaşık 36-48. saatte başladığı kabul edilir (1,32). Dekompozisyon sınıflandırmasına yönelik çalışmalar sonucu bozunma süreci 5 aşamaya ayrılmıştır (41). Taze ceset aşamasında; erken dönem postmortem değişiklikler olmaktadır. Ölümden sonra yaklaşık 1-3. günde başlayan erken bozunma evresinde; otolize bağlı cilt soyulur, bakteri yıkımı sonucu oluşan sulfohemoglobine bağlı ciltte yeşil renk değişikliği oluşur, çürüme gazları birikir, ceset şişer. Karın duvarının yırtılmasıyla bu dönem biter. Yaklaşık 2.-3. haftalarda başlayan ilerlemiş bozunma evresinde; yaygın larva aktivitesi vardır ve vücut bütünlüğü bozulması ilerlemiştir. İskeletleşme evresinde; kemik doku görünür haldedir ve dışarıdadır. İskelet kaybı evresinde; kemiklerde ufalanma ve kortikal kayıp görünür (41). Genellikle 1-2 yıl içerisinde iskelet açığa çıkar ve 3-5 yılda iskeletleşme tamamlanır ancak iskeletleşme süreci çok fazla faktöre bağlı değişebildiği için bazı cesetler daha erken iskeletleşebilirken bazı cesetler korunarak iskeletleşme süreci daha geç tamamlanabilir hatta bazı durumlarda hiç iskeletleşme olmayabilir (23,32). Genel olarak sıcak ve nemli ortamda bulunan cesetlerde bozunma hızlı, soğuk ve kuru ortamlarda bozunma yavaş olmaktadır. Açık havada kalan cesetler suda bulunan cesetler göre, suda bulunan cesetler de toprağa gömülen cesetlere göre daha hızlı bozunur. Yüzeysel gömülen cesetler derine gömülen

cesetlere göre daha hızlı bozunur. Cesedin ağırlığı ve yağ miktarı arttıkça bozunma hızlanır. Cesette dehidratasyon durumu mevcutsa bozunma yavaş, vücutta ödem oluşturan sebepler mevcutsa bozunma hızlı olacaktır. Yeni doğan ve bebek cesetlerinde bozunma yavaş olmaktadır (20,23,32)

Çok sayıda iç ve dış faktörün bozunmayı etkilemesi nedeniyle PMİ tahmininde bozunma süreci özellikle geç dönemde çok etkin kullanılamamaktadır. Total Gün Derece, Total Vücut Skoru gibi yöntemler ve çeşitli formüller geliştirilmiştir ancak bu yöntemler bölgesel doğrulama çalışmalarına ihtiyaç duymaktadır. Bozunma aşamalarının PMİ tahmininde kullanılması hususunda çalışmalar sürmektedir (42,43)

2.1.5 PMİ Tahmininde Kas ve Sinir Mekanik-Elektriksel-Kimyasal Uyarılabilirliğinin Kullanımı

Postmortem süreçte hücreler canlılıklarını sürdürdüğü süre içerisinde kas ve sinirlerin mekanik veya elektriksel uyarılabilirlik seviyelerine göre ölüm zamanını tahmin etmeye çalışan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Mekanik uyarılabilirlik testi için biceps brachii, ön kol ya da bacak kasları seçilerek kasa sert bir cisimle darbe uygulanır. Postmortem 1,5-2 saate kadar yapılan uyarı tüm kası kasarken 4-5 saate kadar yapılan uyarı kasta lokal bir kasılmaya neden olur. 8-12 saat arası yapılan uyarı daha düşük bir lokal etki yaratırken bu kasılma diğer dönemlere göre daha uzun sürmektedir (28).

Elektriksel uyarılabilirlik testi için iğne tipi elektrotlar kullanılarak orbicularis okuli veya orbicularis oris kaslarına uyarı verilerek önce geniş bir alanda kasılma gözlenir. Daha sonra şiddeti ve lokalizasyon genişliği giderek azalan titreme şeklinde kasılmalar gözlenecektir (44). PMİ tahminine yönelik periferik sinir sisteminin uyarıldığı çalışmalarda bulunmaktadır (45). Kas ve sinir uyarılabilirliği cesede ait ve çevresel çeşitli faktörlerden etkilenebildiği için ölüm zamanı tahmininde tek başına kullanım için yeterli görülmemektedir (20).

İrisin kimyasal ve elektriksel uyarılara verdiği yanıtı değerlendiren PMİ tahmin yöntemi çalışmaları mevcuttur. Asetilkolin, Nöradrenalin, Tropacamidin gibi maddelerin iris üzerinde oluşturduğu reaksiyon süreleri ölçülerek ölüm zamanı

tahmini yapılmaya çalışılmaktadır. Ancak ölü katılığı, paradoksal yanıt ve pupil çapının postmortem değişimleri gibi sebeplerden dolayı bu yöntemin güvenilir olmadığını belirten yazarlar vardır (29,46).

2.1.6 PMİ Tahmininde Mide Boşalma Hızının Kullanımı

Ölmeden önce alınan yiyecek ve içeceklerin alındığı saat ve miktar net bir şekilde bilinebiliyorsa mide içeriğine bakılarak ölüm zamanı konusunda fikir yürütülebilir. Midenin hafif bir öğünü 1.5-2 saatte, ortalama bir öğünü 3-4 saatte, ağır bir öğünü 4-6 saatte sindirdiği kabul edilir (14,47). Ancak alınan öğünün miktarı ve partikül yapısı, katı veya sıvı içeriği, karbonhidrat, protein veya yağ oranı, intestinal pasajın uzunluğu, intestinal operasyon öyküsü, egzersiz durumu, sigara, alkol ve narkotiklerle birlikte alınıp alınmadığı gibi faktörler bu durumu değiştirmektedir. Mide boşalması hızının ölüm zamanı tahmininde tek başına kullanımı sindirimin çok çeşitli faktörlerden etkilenmesi ve doğru anamneze ulaşmanın her zaman mümkün olmaması nedeniyle güvenilir bulunmamaktadır (47,48).

2.1.7 PMİ Tahmininde Kan İncelemeleri

Ölüm sonrası kan biyokimyası ve kan hücre morfolojisinde görülen değişikliklerden faydalanılarak PMİ tahminine yönelik çalışmalar vardır. Kanda demir, kreatin kinaz, aspartat aminotransferazın ölüm sonrası arttığı, kalsiyum, transferin, ürik asit, IgM, total ve direkt bilirubinin azaldığı, HDL ve LDL nin önce arttığı sonra azaldığı, üre ve kreatinin ise daha uzun süre stabil kaldığı belirtilmiştir (48,49). Sıçan kanı üzerinde yapılan çalışmalarda ölüm sonrası 18 aminoasit, glutatyon, GABA, oksalat, glioksalat, hidroksiprolin, suksinat, laktik asit, gliserol, palmitik asit, oleik asit, stearik asidin arttığı, piruvatın azaldığı gösterilmiştir (50-51). Kan pH'ı, laktik asit, amonyak, amilaz, özellikle tirozin, treonin ve lizin olmak üzere aminoasitler, alkalen fosfataz, asit fosfataz, Sodyum, Potasyum, C3 kompleman faktör gibi birçok biyokimyasal parametre ile PMİ arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur (20,32,52-54).

Kan hücre morfolojisi değişimiyle PMİ tahminine yönelik yapılan bir çalışmada; ölüm sonrası ilk 2 saatte bütün hücrelerin normal morfolojide olduğu, 3-4. saatte eritrosit morfolojisinde değişikliklerin başladığı, 4-15. saat aralığında nötrofil, eozinofil ve monosit membran lizisi başladığı, nükleer ve sitoplazma değişiklikleri olduğu, 18. saatte eritrositte lizis olduğu, 18-20. saatte nötrofil hücre duvarında tamamen lizis gerçekleştiği, 21.saatte eozinofilik granüller belirlenebildiği ve trombositlerin artık ayırt edilemediği, 24-27. saatte sadece dejenere lenfositlerin ayırt edilebileceği belirtilmiştir (55). Bir başka çalışmada ölüm sonrası 10. saatte nötrofil değişikliklerinin olduğu, 60. saatte ilk olarak eozinofil ve monositlerin kaybolduğu, 66.saatte nötrofillerin kaybolduğu, 84.saatte ise lenfositlerin görülmemeye başladığı belirtilmiştir (56).

2.1.8 PMİ Tahmininde Vitroz Sıvı İncelemeleri

Vitroz sıvı; gözün korunaklı yapısı, çürüme sürecinde kontaminasyonun geç gelişmesi ve steril kalabilmesi nedeniyle ölüm zamanı tahmininde kullanılabilir bir materyaldir. Normalde retina hücrelerinden göz içi sıvısına geçen potasyum (K^+) kan retina bariyeri tarafından geri alır. Ölümden sonra geri alım mekanizmalarının durması nedeniyle potasyum geri alınamaz ve otoliz ile birlikte göz içi sıvı potasyum miktarında bir artış olur (57).

Vitroz sıvı potasyumunun lineer bir artış gösterdiğini ve formül hesaplamalarıyla PMİ tahmini yapılabileceğini belirten çok sayıda çalışma vardır. Sturner; $K^+ = (0.14 \times \text{PMI}) + 5.6$, Ding; $\text{PMI} = -0.55 + (1.66 \times K^+)$, Madea; $K^+ = (0.19 \times \text{PMI}) + 5.88$, Coe; $\text{PMI} = (7.14 \times K^+) - 39.1$ formüllerini önermişlerdir (57-60). Göz içi normal potasyum seviyesi 3.8 mmol/L dir. Ölüm sonrası göz içi sıvı potasyumu saatlik 0.14-0.19 mmol/L arttığı kabul edilir. 15 mmol/L ye yakın değerlerler çürüme ile ilişkilidir. Çok sayıda formül olmasının nedeni olarak; agoni süresi, göz içi sıvı üre seviyesi, ölçüm yöntemi farklılıkları, elektrolit bozukluğu yapabilen veya potasyum seviyesini etkileyebilen endokrin hastalıkların varlığı, ölenin yaşı gibi çok çeşitli faktörlerin vitroz sıvı potasyum miktarını etkiliyor olması

gösterilebilir (20). Bu gibi nedenler dolayısıyla vitröz sıvıda potasyum tayini üzerine iyileştirme çalışmaları ve araştırmalar devam etmektedir.

PMİ tahminine yönelik vitröz sıvı biyokimyasında potasyum dışında glukoz, üre, magnezyum, sodyum ve hipoksantin gibi maddeler de çalışılmıştır. Vitröz sıvı glukoz seviyesi postmortem dönemde hızlı bir düşüş gösterir (32). Postmortem dönemde Magnezyum (Mg^{+2}) seviyesi göz içi sıvıda yavaş bir artış göstermektedir. Sodyum (Na^{+2}) seviyesinin ise azaldığı belirtilmiştir (61-63). Göz içi postmortem üre seviyesinin diğer maddelere göre daha stabil olduğu bildirilmiştir (64). Vitröz sıvıda hipoksantin göz içi potasyum seviyesine korele olduğunu ve postmortem 120. saate kadar lineer bir artış gösterdiğini bildiren çalışmalar vardır (65). Keçiler üzerinde yapılan bir çalışmada; göz içi sıvısında laktat, hipoksantin, alanin, total glutatyon, kolin/fosfokolin, kreatin, myoinozitolün arttığı, glukoz, 3-hidroksibutiratın azaldığı belirtilmiştir. Tüm bu biyokimyasal maddeler çeşitli kişisel faktörlerden ve hastalıklardan etkilenebilmesi nedeniyle PMİ tahmin yöntemi olarak tek başına kullanılamamaktadır (20,66)

2.1.9 PMİ Tahmininde Doku Element Seviyesi İncelemeleri

Ölüm zamanı tahmini için sıçan iç organlarında postmortem element seviyesi değişimini inceleyen bir çalışmada; ölüm sonrası kalsiyum, magnezyum, demir, bakır, sodyum, potasyum, kükürt ve çinko seviyeleri ICP-OES cihazıyla değerlendirilmiş, sodyumun böbrekte azalıp miyokart ve kasta arttığı, demir miktarının beyin, karaciğer, böbrek ve iskelet kasında arttığı, kalsiyumun; karaciğer ve miyokartta arttığı, bakırın böbrek ve miyokarda azaldığı, potasyumun; beyin, karaciğer ve iskelet kasında azaldığı, özellikle iskelet kasında demir, sodyum ve potasyum seviyelerinde PMİ tahminine yönelik anlamlı değişiklikler olduğu gösterilmiştir (17).

2.1.10 PMİ Tahmininde Moleküler Genetik Tetkiklerin Kullanımı

Moleküler tetkikleri kullanarak PMİ tahmini yapılmasına yönelik çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. DNA'nın parçalanma derecesi, RNA'nın parçalanma derecesi, RNA üzerinden gen ekspresyon seviyesi, rRNA, miRNA ve snRNA parçalanması veya ekspresyonu, gen ekspresyonuyla oluşan protein ürünlerinin incelenmesi, protein yıkım ürünlerinin incelenmesi gibi moleküler genetik tetkiklerin ölüm zamanı tahmininde kullanılması hususunda çalışmalar yapılmaktadır (20).

DNA ölüm sonrası parçalanmaya başlamaktadır. DNA parçalanmasının sıcaktan etkilendiği ve ölüm zamanı ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir (67). DNA parçalanma derecesi ile postmortem süre arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada; Raman Mikrospektroskopi ile karaciğer ve böbrek hücre DNA parçalanma seviyesinin ölüm zamanı ile paralellik gösterdiği, flow sitometri ile dalak DNA parçalanma seviyesi ölçümünün ölüm sonrası ilk 72 saatlik süreçte faydalı olabileceği bildirilmiştir (68). Başka bir çalışmada DNA'nın en uzun süre beyin dokusunda parçalanmadan kaldığı, standart elektroforez ile karaciğer DNA parçalanması ölçümünün ölüm zamanı ile korele olduğu belirtilmiştir (69). Tek hücre jel elektroforezi ile yapılan başka bir çalışmada lökosit DNA parçalanma seviyesinin ölüm zamanı ile 56. saate kadar uyumlu olduğu görülmüştür (70). Diş dokusu kullanılarak yapılan çalışmalarda; oda koşullarında saklanan diş pulpalarında 18 ay DNA tespit edilmiştir (71). Başka bir çalışmada diş pulpasında DNA korunmasının yüksek seviyede olduğu, ölüm sonrası 144 saate kadar diş pulpasında DNA tespit edilebildiği ancak tespit edilen DNA seviyelerinin ölüm zamanı ile kolere olmadığı görülmüştür (72).

RNA'nın degradasyon seviyesi ve ölüm zamanı arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada; fare beta aktin mRNA varlığının kas dokusunda 8 gün ve akciğer dokusunda 12 gün devam edebildiğini, bu sürelerin PMİ tahmininde kullanılabileceği bildirilmiştir (73). Sıçan dalaklarıyla yapılan bir çalışmada; beta aktin 2 mRNA seviyesinin 144 saate kadarlık incelemede ölüm zamanı ile korelasyonu tespit edilmiştir (74). Domuz dişlerinin gömüldüğü bir çalışmada beta aktin mRNA'nın 84 güne kadar tespit edilebildiği belirlenmiş ancak degradasyonun lineer olmadığı belirtilmiştir (75). İnsan dişiyle yapılan bir çalışmada; beta aktin mRNA ve 28sRNA degradasyonu içinde anlamlı sonuçlar bulunmuştur (76).

2.1.11 PMI Tahmininde Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler

Postmortem interval ile kültür pozitiflikleri arasında ilişki kurulabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Kültür ve real-time PCR kullanılarak yapılan bir çalışmada; ölüm sonrası en uzun süre steril kalan dokunun perikardiyal sıvı olduğu, karaciğer sterilliğinin postmortem 5. günden sonra anlamlı şekilde azaldığı belirtilmiştir (77). Domuz bacaklarının toprağa gömüldüğü bir çalışmada; farklı günlerde toprağın farklı katmanlarından alınan örneklerden bakteriyel RNA çalışılmış ve postmortem bozunma sürecinde topraktaki bioçeşitlilik artışına bakılarak toprak analizi ile PMİ tahmini yapılabileceği ifade edilmiştir (78). Domuz parçalarının suda bekletildiği başka bir çalışmada; su içinde yaşayan saprofit bakterilerin ölümden sonra su içinde bekleyen cesetlerin suda kalma süresini belirlemede faydası olup olmadığı araştırılmış, farklı günlerde mikrobiyolojik kültür çalışmaları yapılarak farklı bakterilerin farklı günlerde ve farklı miktarlarda kolonize olduğu görülmüştür (79). Sıçan kas, karaciğer ve dalak dokusunda yapılan bir çalışmada; mikrobiyal ATP miktarı ölçülmüş ve postmortem 7. günde bakteriyel ATP'nin pik yaptığı, ATP miktarı ile PMI arasında doğrudan ilişki olduğu gösterilmiştir (80). PMİ ile kültür sonuçları arasında ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (81,82). Cesedin bekletildiği ortamın sıcaklığı, kirliliği, bakteri ve organik materyal yoğunluğu, kişisel faktörler ve enfeksiyon hastalığı gibi durumlar kültür sonuçlarını etkileyebilmekte ve PMİ ile mikrobiyolojik kültürler arasında her zaman aynı ilişkinin kurulabilmesini zorlaştırmaktadır (83).

2.1.12 PMI Tahmininde Kullanılan Entomolojik Yöntemler

Adli entomoloji; ölüm sonrası cesede gelen böceklerin biyolojisini, ekolojisini ve larva gelişim aşamalarını inceleyerek adli vakaların çözümlenmesini ve PMİ tahmini yapılmasını sağlar. Cesetten beslenen böceklerin geliş sırası, yaşam evreleri, cesette kalma süreleri, yumurta, larva ve pupa yaşı, larva uzunluğu, cesetten ayrılma zamanları gözlenir ve PMİ tahminine yönelik çalışmalar yapılır (84).

Ölüm sonrası başlayıp iskeletleşmeye kadar devam eden süreçte böcek aktivitesi çeşitli evrelerden geçer. Başlangıç taze evrede (0-1.gün); ölüm sonrası başlayıp batının şişme evresine kadar cesede ilk olarak nekrofaj Diptera (sinek) türleri gelir. Sinek türlerinden Calliphoridae (yapışkan sinek) yumurtalarını, Sacrophagidae (et sinekleri) larvalarını cesedin çeşitli yerlerine bırakırlar. Batın şişme evresinde (2-6.gün); başlangıç evresinde gelen sineklere Muscidae (karasinek) familyasından sinekler eklenir. Bu dönemde cesette çok sayıda yumurta ve larva vardır. Karnın patladığı ve derinin yırtıldığı aktif ve ileri çürüme evrelerinde (7-50.gün); sinek larvaları genellikle gelişimlerini tamamlarlar. Bu dönemin sonunda baskın olan Coleopter (kınkanatlılar) böcekleridir. Kuruma evresinde (50.gün ve sonrası) cesette kemik, kıkırdak ve saçlardan başka bir şey kalmaz. Bu dönemde Dermistidae (post kınkanatlılar) baskın hale gelir, Hymenoptera (zar kanatlılar) sayısı artar ve akar sayısında da artış gözlenir (20).

Cesette toplanan böcekler; cesedin bulunduğu ortama, coğrafi duruma, mevsime, vücut yapısına, cesette açık yara olup olmamasına, gömülü olup olmadığına göre farklılık göstermektedir. Açıkta bırakılan cesette toplanan böcekler sekiz dalga halinde cesede gelmektedir ve bu sekiz dalga dönemine göre PMİ tahmini yapılmaktadır (85). Açıkta kalan cesetlere ilk gelen böcek türü yapışkan sinekler olan Calliphoridae'dir. Gömülü cesetler için cesedin gömülü olduğu derinliğe göre değişmekle birlikte Conisera Tibialis (kamburlu böcek) en yaygın olarak görülen türdür (86). Cesedin gömülü olması cesedin böceklenme süresini etkileyip geciktirmektedir (87). Sudan çıkarılan cesetlerde ise açıkta bulunan veya gömülü bulunan cesetlerde toplanan böceklerden daha farklı türlerde böcekler toplanmaktadır. Suyun tatlı veya tuzlu olması, cesedin suya batma derecesine göre de toplanan böcekler farklılık göstermektedir (85,86). Sıcak havalarda cesette dakikalar içerisinde böcekler toplanmaya başlarken soğuk havalarda bu süre 1-2 güne kadar gecikebilmektedir (87). Hava sıcaklığı sinek larva olgunlaşma süresini de etkilemektedir. Yapılan bir çalışmada sinek larvaları 10°C hava sıcaklığında 10 günde olgunlaşırken, 5°C hava sıcaklığında 20 günde olgunlaştığı bildirilmiştir (88).

Entomolojik incelemeler çok sayıda değişkenden etkileniyor olması nedeni ile PMİ tahmini ile ilgili her zaman kesin sonuçlar vermese de ölüm sonrası ilk iki ay için en önemli PMİ tahmin yöntemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (84-89).

2.1.13 PMI Tahmininde Kullanılan Diğer Güncel Yaklaşımlar

Postmortem intervali kesin ve net bir şekilde belirleyebilen tek bir yöntem henüz olmadığı için bu konuda her geçen gün yeni çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda birçok yeni belirteç birçok yeni yöntem kullanılarak deneylere tabii tutulmuş ve PMİ tahmini yöntemlerine katkı sağlanmıştır. Buna örnek olarak bir çalışmada; DNA bağlayıcı bir protein olan Yüksek Hareketlilik Grubu Protein 1 (HMGB₁) düzeyi ile PMİ arasındaki ilişki incelenmiştir (90). Başka bir çalışmada; UV Vis Spektroskopisi yöntemiyle plazma optik yoğunluğu ve PMİ arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (91). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada karın ön duvarında postmortem elektriksel rezistans değişikliği ile PMİ arası ilişki araştırılmıştır (92). Tiroid parafoliküler hücrelerinde kalsitoninin immün pozitif reaksiyonu ile PMİ tahminine yönelik çalışmalar yapılmıştır (93). Başka bir çalışmada; Kalmodulin Bağlayıcı Proteinlerin yeni bir biyobelirteç olarak PMİ tahmininde kullanılabileceği belirlenmiştir (94). Tavşan kalplerinden alınan kan ile yapılan bir çalışmada; ATP seviyesi, sıcaklık ve PMİ arasındaki ilişki gösterilmiştir (95). Postmortem 2-168 saat aralığında epididimlerde sperm yaşayabildiği belirlenmiş ve postmortem sperm motilite, morfoloji ve histokimyası ile PMİ tahmininde kullanılabilesine yönelik çalışmalar yapılmıştır (96). Gastrocnemius kasından ultrason dalga geçiş hızı ölçülerek PMİ tahmini yapmaya çalışan çalışmalar vardır (97).

2.2 İskeletleşmiş Cesetlerde PMİ Tahmini

Dekompozisyonu ilerlemiş olsa da yumuşak dokusu bulunan bir cesette ölüm zamanı tahmini yapmak, tam iskeletleşmiş bir cesette ölüm zamanı tahmini yapmaktan daha kolaydır. Yumuşak dokuların varlığı adli entomoloji ve çeşitli diğer PMİ tahmin yöntemlerinin kullanımına olanak sağlar (98). Yumuşak dokular tamamen kaybolup da iskeletleşme tamamlanınca cesedin ölüm zamanını tahmin etmek zorlaşır ve kullanılan ölüm zamanı tahmin yöntemleri tamamen değişir (99). İskeletleşmenin en erken iki haftada gerçekleştiği bilinmektedir. Yaklaşık 50-60 yıllık iskeletleşmiş kalıntılar adli olarak önemli kabul edilmektedir (100). İskeletleşme sürecini cesedin konumu dâhil birçok çevresel faktör etkilemektedir.

Ölümün üzerinden geçen zaman uzadıkça ölüm zamanı tahminine yönelik verilen aralık dış etkenlerinde etkisiyle uzayacaktır (100,101).

İskeletleşmiş cesetlerde araştırma yapılırken ilk olarak morfolojik özellikler incelenir (6). Kemik bozunma sürecinde ortalama şartlarda yumuşak doku kaybını eklem ucu kırıklarının kaybı izler. Daha sonra kemik yoğunluğu azalarak kırılabilirlik artar, süngerimsi doku ve uzun kemik medullar kanallarında doku kaybı gerçekleşir, kemik yüzeyinde çatlamlar ve dökülmeler oluşur (102). Kemikte gerçekleşen mikroyapısal değişikliklerin gömülmüş cesetlerde 2.5 yıl sonra, suda bırakılmış cesetlerde 4 yıl sonra, açık havada bırakılan cesetlerde 15 yıl sonra tespit edildiği çalışmalar vardır (103). Fungal tünelleşme ve bakteriyel aktiviteye bağlı mikroyapısal değişikliklerin en erken 3. ayda başladığını bildiren çalışmalar vardır. Kemik üzerinde gerçekleşen tüm bu değişimler çevresel etkenlerden ve cesedin konumundan etkilenmektedir (100).

Bazı iskeletleşmiş vakalarda, onlarca yıl hatta yüzyıllar öncesine ait kalıntıları yeni iskelet kalıntılarından ayırt etmek için morfolojik özellikleri kullanmak mümkün olmamaktadır. İskeletleşmiş cesetlerde, çevresel etkenlerden ve cesedin konumundan bağımsız işleyen radyoaktif madde yarılanma ömrü ölüm zamanı tahmininde kullanılmaktadır. C^{14} radyokarbon analizi, Sr^{90} strontium analizi, Pb^{210} ve Po^{210} iz element analizi bu amaçla kullanılmaktadır. C^{14} radyokarbon analizi yarılanma ömrünün çok uzun olması nedeniyle adli tıp pratiğinde çok kullanılmamaktadır. PMİ tahmin yöntemi olarak; insan vücudunda yarılanma ömrü 10-13 yıl olan Sr^{90} ve fiziksel yarılanma ömrü 22.3 yıl olan Pb^{210} kullanılmaktadır (104). İskeletleşmiş cesetlerde PMİ tahmini için; UV ışık altında kemiğin mavi beyaz floresansının azalma oranının ölçüldüğü kemik floresans yöntemi, kemik sitrat miktarının azalmasının ölçüldüğü sitraz analizi, zaman içerisinde kemikte kalan hemoglobin içeriğinin ölçüldüğü benzidin zincir luminol reaksiyonu, iskeletleşmeye kadar giden çürüme süreçlerinde azalan nitrojen içeriğinin ölçülmesi ve aminoasit içeriğinin tespiti gibi farklı yöntemler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (105-106). Tüm bu çalışmalarda kullanılan birçok parametreyi etkileyen çok sayıda fiziksel, kimyasal ve biyolojik etken olması nedeniyle iskeletleşmiş cesetlerde veya kemik parçalarında PMİ tahminine yönelik tek başına kullanılabilecek bir yöntem henüz yoktur (100).

2.3 Dişin Yapısı

Diş mine, dentin, sement ve pulpa yapılarından oluşur. Mine, dentin ve sement dişin sert tabakalarıdır. Pulpa ise dişin tek yumuşak tabakası olup bağ dokusundan oluşur ve dişe ait kılcal damarlar ve sinir yapılarını içerir. Mine dokusu insan vücudunda yer alan en sert doku olup dişin en dışta yer alan tabakasıdır ve dişe şeffaflığını verir. Mine tabakası kronu koruyucu bir tabaka olarak örter, kalınlığı her dişte dişin değişik bölgelerine göre farklılık gösterir. Kristallerinin düzenleniş şekli ve içerdiği mineral tuzu miktarının fazla olması nedeniyle vücutta bulunan en sert dokudur. Mine %95 inorganik, %1 organik maddelerden ve %4 sudan oluşur. Major inorganik maddeler Kalsiyum karbonat ve Kalsiyum hidroksitten oluşan apatit kristalleridir ve %90 ile en büyük kısmını Hidroksil Apatit oluşturur. Kalsiyum, Fosfat, Sodyum ve Magnezyum mine yapısında bulunan diğer major inorganik maddelerdir. Demir, Çinko, Bakır, Mangan, Altın, Gümüş, Krom, Kobalt, Stronsiyum, Flor, Brom minenin minor inorganik maddeleridir. Bakır ve Stronsiyum minenin her yerinde aynı oranda bulunur. Flor, Demir, Kurşun, Çinko mine yüzeyinde daha fazla, derinde daha az olarak bulunur (107,108).

Dentin; fizyolojik olarak pulpayı korur ve pulpanın stimüle olmasını sağlar. Sarımsı beyaz renktedir ve ışığı yarı geçirgendir. Dentin dokusu mine dokusuna göre daha az mineralizedir ve daha elastik bir yapıya sahiptir (109). Dentin dokusunun %70'i mineralize olup %20'si organik matriksten oluşur. Organik matriksin %90'ı kollajen %10'u sudan oluşur. Dentinin inorganik kısmının büyük bir bölümü hidroksil apatit kristallerinden oluşur. Dentinde yer alan diğer major inorganik bileşenler arasında; Karbonat, Magnezyum, Potasyum, Demir, Çinko, Stronsiyum, Kurşun yer alır. Minor inorganik bileşenler ise Manganez, Brom, Bakır, Altın, Kobalt, Krom, Gümüş, Selenyumdur (110).

Dişin kökünün büyük kısmı sement tabakası ile örtülüdür. Sement periodontal kemiğe ve dentine tutunur. Sement; mine ve dentine göre daha az mineralize yapıya sahiptir. Tüm mineralize dokular içinde en fazla florid içeren dokudur. Sement %65 inorganik materyal, %23 organik materyal ve %12 sudan oluşmuştur. İnorganik yapı hidroksil apatitten meydana gelmiştir (108).

2.4 İnsan Diş Yapısında Bulunan Makro ve Mikroelementler

Dişlerin temel yapı bileşeni Hidroksi Apatittir. Diş mineralizasyon aşamalarında fizyolojik veya toksik birçok kimyasal element diş sert dokularının yapısına katılır (111). Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg), Sodyum (Na) ve Potasyum (K) mineralize diş sert dokularında yer alan en temel elementlerdendir (112). Alüminyum (Al), Antimon (Sb), Arsenik (As), Bakır (Cu), Baryum (Ba), Berilyum (Be), Bizmut (Bi), Bor (B), Çinko (Zn), Demir (Fe), Fosfor (P), Gümüş (Ag), İtiryum (Y), Kadmiyum (Cd), Kalay (Sn), Kobalt (Co), Krom (Cr), Kurşun (Pb), Lantan (La), Lityum (Li), Manganez (Mn), Molibden (Mo), Nikel (Ni), Niyobyum (Nb), Seryum (Ce), Silisyum (Si), Stronsiyum (Sr), Titanyum (Ti), Tungsten (W), Vanadyum (V) diş sert dokularında bulunabilen diğer elementlerdir (113). Diş yapısında yer alan elementler kişisel faktörlere, çevreye, cinsiyete, beslenmeye, sigara kullanımına, kişide mevcut hastalığa bağlı olarak değişiklik gösterebilir (111).

İnsan diş dokusunda major, minor ve eser elementlerin farklı analitik yöntemlerle ölçüldüğü birçok çalışma vardır. Curzon ve Crocker tarafından Amerika ve Yeni Zelanda da yapılan çalışmalarda 10-20 yaş arası kişilerden alınan diş minesi örneklerinde Mass Spektrometre(MS) analiz yöntemiyle Alüminyum(Al) elementi 0-510 mg/kg aralığında (ortalama 22.89 mg/kg), Gümüş(Ag) elementi 0-36.6 mg/kg aralığında (ortalama 3.44 mg/kg), Baryum(Ba) elementi 0-510 mg/kg aralığında (ortalama 18.93 mg/kg), Potasyum(K) elementi 59.6-4056 mg/kg aralığında (ortalama 961.41 mg/kg), Brom(Br) elementi 0-33.2 mg/kg aralığında (ortalama 4.54 mg/kg), Bor(B) elementi 0-190 mg/kg aralığında (ortalama 8.4 mg/kg), Berilyum(Be) elementi 0-15.9 mg/kg aralığında (ortalama 1.36 mg/kg), Kadmiyum(Cd) elementi 0-27 mg/kg aralığında (ortalama 1.87mg/kg), Kobalt (Co) elementi 0-1.5 mg/kg aralığında (ortalama 0.27 mg/kg), Flor (F) elementi 8.6-925 mg/kg aralığında (ortalama 130.27 mg/kg), Demir(Fe) elementi 0-157 mg/kg aralığında (ortalama 27.95 mg/kg), Molibden (Mo) elementi 0-32 mg/kg aralığında (ortalama 2.37 mg/kg), Nikel(Ni) elementi 0.0-9.0 mg/kg aralığında (ortalama 0.90 mg/kg), Kurşun (Pb) elementi 0-156 mg/kg (ortalama 19.64 mg/kg), Kükürt(S) elementi 0-200 mg/kg (ortalama 24.19 mg/kg), Antimon (Sb) elementi 0-3 mg/kg (ortalama 0.2 mg/kg), Selenyum(Se) elementi 0-18.1 mg/kg (ortalama 1.47 mg/kg), Kalay (Sn) elementi 0-

44 mg/kg (ortalama 1.60 mg/kg), Stronsiyum(Sr) elementi 13-1400 mg/kg (ortalama 157.15 mg/kg), Titanyum (Ti) elementi 0-31.4 mg/kg (ortalama 1.93 mg/kg), Vanadyum(V) elementi 0-0.2 mg/kg (ortalama 0.02 mg/kg), Çinko (Zn) elementi 9.9-806 mg/kg (ortalama 153.12 mg/kg), Zirkonyum (Zr) elementi 0-0.8 mg/kg (ortalama 0.08 mg/kg) olarak ölçülmüştür (114).

Diş minesi ile yapılan başka bir çalışmada Proton İnduced X-Ray Emisyon (PIXE) analiz yöntemiyle Arsenik (As) 14 mg/kg'ın altında ölçülmüştür (115). 67-96 yaş arası kişilerde MS analiz yöntemiyle yapılan başka bir çalışmada Baryum (Ba) 2.83-15.7 mg/kg aralığında (ortalama 6.4 mg/kg) olarak ölçülmüştür (116). 14 ülkeyi kapsayan bir çalışmada MS analiz yöntemiyle Bizmut (Bi) elementi 0-0.04 mg/kg aralığında (ortalama 0.01 mg/kg), İtiryum(Y) elementi 0-9.3 mg/kg (ortalama 1.8 mg/kg) olarak ölçülmüştür (117). 11-60 yaş arası kişilerden alınan 62 dişte Atomik Absorpsiyon Spektrometre (AAS) analiz yöntemiyle Kalsiyum (Ca) elementi 9.97 ± 1.55 , 67-96 yaş arası kişilerden alınan diş minelerinde yapılan başka bir çalışmada MS analiz yöntemiyle Kalsiyum (Ca) elementi $35.2-37.3$ (ortalama 36.5) olarak ölçülmüştür (116-118). Başka bir çalışmada 10-72 yaş arası kişilerden alınan 124 diş örneğinde AAS analiz yöntemiyle Kadmiyum (Cd) elementi 2.7-6.3 mg/kg (ortalama 4.2 ± 0.7) ölçülmüştür (119). PIXE analiz yöntemiyle yapılan bir çalışmada Klor (Cl) elementi 7900 mg/kg ölçülmüştür (120). 10-76 yaş arası kişilerden alınan 123 diş örneğiyle AAS analiz yöntemiyle yapılan başka bir çalışmada Kobalt (Co) elementi 0-0.3 mg/kg (ortalama 0.1 ± 0.1) ölçülmüştür (119). AAS analiz yöntemiyle yapılan başka bir çalışmada Demir (Fe) ortalama 32.03 ± 12.11 mg/kg ölçülmüştür (118). 10-74 yaş arası kişilerden alınan diş örneklerinden Kolorimetrik olarak ölçülen Fosfor(P) elementi 16.5 ± 1.4 çıkmıştır (121). AAS analiz yöntemiyle 123 diş örneğinde Magnezyum (Mg) 5400-11100 mg/kg (ortalama 7926 ± 1044 mg/kg), Manganez (Mn) 0.4-17.1 mg/kg (ortalama 3.9 ± 2.5 mg/kg) olarak ölçülmüştür (119). Endüstriyel alanda yaşayan 11-60 yaş arası kişilerden alınan 62 diş örneğinde AAS analiz yöntemiyle Sodyum (Na) elementi 1125.96 ± 74.98 mg/kg olarak ölçülürken kırsal alanda yaşayan kişilerden alınan 102 diş örneğinde ise AAS analiz yöntemiyle Sodyum (Na) elementi 1192 ± 169.73 mg/kg olarak ölçülmüştür (118). 11-60 yaş arası kişilerden alınan 62 diş örneğinde AAS analiz yöntemiyle Kurşun (Pb) elementi 47.65 ± 16.93 mg/kg, başka bir çalışmada Kurşun (Pb) elementi 1-39 mg/kg (ortalama 13.7 ± 8.5) olarak ölçülmüştür (118,119).

2.5 Diş Sert Dokularındaki Element Analizinde Kullanılan Yöntemler

İnsan vücudunda yer alan major, minor ve eser elementleri ölçmek için birçok farklı analitik yöntem kullanılmaktadır (122-123). Elektrotermal Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi (ETAAS), Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi (FAAS), Charged Particle Aktivasyon Analiz (CPAA), Yüksek performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Instrumental Gamma-Aktivasyon Analizi (IGAA), Kütle Spektrometrisi (MS), İndüktif olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES), İndüktif olarak Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometrisi (ICP-MS), Nötron Aktivasyon Analizi (NAA), Proton İnduced X-Ray Emisyon (PIXE), Proton İnduced Gamma-Ray Emisyon (PIGE), Prompt-Gamma Aktivasyon Analizi (PGAA), Atomik Floresans Spektrometrisi (AFS), X-ışını Absorbsiyon Spektrometrisi, X-ışını Floresans Spektrometrisi, Kolorimetri ve Volimetri gibi yöntemler element analizinde kullanılmaktadır (124,125).

2.6 ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi) Cihazı

Eser element tayininde çözelti haline getirilen katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, ucuz, hassas ve yüksek doğrulukta kantitatif ya da kalitatif olarak ölçümüne olanak sağlayan ileri teknoloji analitik bir cihazdır. ICP-MS cihazı, argon gazı ve/veya nitrojen, hidrojen ve oksijen gazlarının yüksek sıcaklıkta elektriksel olarak iletken bir ortam olan plazma haline getirilmesi sonucu numunede atomik seviyede ölçüm yapar. Yüksek sıcaklık sayesinde oluşan bu atomlar iyonlaştırılarak yaydıkları emisyon bir detektör aracılığıyla ölçülür (126).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

25.06.2020 tarihinde Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışmayı yapmamıza etik ve bilimsel bir sakınca olmadığına dair 83116987-441 sayılı onay alındı. Örnek toplama ve deneysel aşamalar dahil bütün uygulamalar Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi İnsan Gönüllüler Üzerinde Yapılan Tıbbi Araştırmalarda Etik İlkelerine uygun olarak yapıldı.

Çalışmamız; Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 24.06.2020 tarih ve 2020-90 proje numarasıyla desteklenmiştir.

Çalışmamız kapsamında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'nde 18 yaş üstü, ek sistemik hastalığı bulunmayan onam formu ile bilgilendirilip yazılı onamları alınan 60 farklı kişiden gömülü olmayan ya da en fazla Class I veya II gömülülük derecesine sahip toplam 60 adet sağlıklı ve bütün 3. molar diş temin edildi.

3.1. Örneklerin Toplanması ve Dişlerin Çürüme Süreci

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'nde alınan diş örneklerinden toplam 6 grup oluşturuldu. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'nde ek hastalığı bulunmayan gönüllülerden alınan Grup 1 dışındaki diğer 5 gruba ait dişler toplandıktan sonra Tip II model sert beyaz alçıdan ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; kalsiyum sülfat dihidrat) yapılmış mandibula benzeri bir modele kron kısmı dışta, boyun ve kök kısımları sert alçı içerisinde kalacak şekilde yerleştirilip çene modeli oluşturuldu. Alçı kalıp donarak sertleşinceye kadar bekletildi (Şekil 1-2). Daha sonra çene benzeri modelin etrafı hayvansal kaynaklı yaklaşık 1 cm kalınlık, 9-10 cm uzunluk ve 50 gr ağırlıkta çizgili kas dokusu ile kapatılarak ağız içi benzeri bir yapı oluşturularak rekonstrükte edildi (Şekil-3).



Şekil 1 Plastik çene modeli kalıbı



Şekil 2 Yarısına kadar sert alçıya gömülmüş dişler ile oluşturulan çene modeli



Şekil 3 Hayvansal kaynaklı çizgili kas ile örtülen çene modeli

Hazırlanan çene benzeri modeller sırası geldikçe hava ile temas edecek şekilde ince demir telle örülmüş bir kafeste çürüme sürecine bırakıldı. Bu kafesi kullanmamızın amacı hava ve böceklerin girişine izin verip büyük hayvanların girişine izin vermemektir. İlk olarak Grup 6 olan 12. ay grubu demir tel içerisinde çürüme sürecine bırakıldı. 3 ay sonra Grup 5 olan 9. ay grubu çürüme sürecine bırakıldı (Şekil 4). 3 ay sonra Grup 4 olan 6. ay grubu çürüme sürecine bırakıldı (Şekil 5). 3 ay sonra Grup 3 olan 3. ay grubu çürüme sürecine bırakıldı (Şekil 6). 3 ay sonra Grup 2 olan 1. ay grubu çürüme sürecine bırakıldı (Şekil 7). 0. saat olan Grup 1 dişleri toplandıktan sonra bütün dişler çene benzeri modellerinden ayrıldı ve hızlı bir şekilde kimyasal analiz yapılmak üzere kimya bölümüne ulaştırıldı.



Şekil 4. 9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci



Şekil 5. 6, 9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci



Şekil 6. 3,6,9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci



Şekil 7. 1,3,6,9 ve 12. ay gruplarının çürüme süreci

3.2 Kimyasal Analiz

Çalışmamız gönüllülerden alınan diş örneklerinin 6 grup halinde toplam 12 aylık süreç sonunda makro ve mikro elementlerinin, ICP–MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi) cihazı kullanılarak yapılan analizlerini içermektedir. Analiz işlemlerinden önce Bovine Liver ve trace element kontrol kitleri ve cihaza özel referans maddeler ile çeşitli dalga boylarında testler yapılarak elde edilen veriler kalibrasyon teknikleri ile standardize edildi. Her grup için ayrı ayrı kaplarda bulunan diş örnekleri katı olduğundan analiz öncesi çözelti haline getirildi. Çözelti haline getirme sürecinde öncelikle manuel kollu 25 tonluk hidrolik pres makinesiyle dişler parçalara ayrıldı (Şekil 8).



Şekil 8 Dişlerin ezilmesinde kullanılan 25 tonluk manuel kollu pres

Sonra parçalanmış dişler iyice öğütüldü ve mikrodalga sisteminde yüksek basınca dayanıklı teflon kaplar içerisinde eritildi. Bu işlem için dişlerden 0.5 gram alınarak mikrodalga tüplerine aktarıldı. Milestone Ethos D Microwave Labstation marka mikrodalga çözme cihazında 200 °C sıcaklıkta 50 dakika yakma işlemi uygulandı. Yakma programı; öncelikle 15 dakikada sıcaklığın 200 °C dereceye ulaşması, sonra 30 dakika süreyle 200 °C sabit sıcaklıkta kalması ve son adım olarak 5 dakika soğuma şeklinde uygulandı. Yakma esnasında her tüpün sıcaklığının 190-200 °C arasında değiştiği gözlemlendi. Yakma işlemi tamamlanan örnekler seri yıkama ile cam balonlara aktararak saf su ile 100 ml'ye tamamlandı. Yakma işleminde 5 ml nitrik asit (HNO₃) kullanıldı. Örneklerdeki askıda bulunan katı partiküller 0.45 mikronluk filtreden geçirilerek Agilent 7800 Quadrupole ICP-MS cihazıyla tüm gruplarda Sodyum (Na), Magnezyum (Mg), Fosfor (P), Kalsiyum (Ca), Demir (Fe), Manganez (Mn), Kobalt (Co), Çinko (Zn), Kadmiyum (Cd), Kurşun (Pb), Silisyum (Si) elementlerinin ölçümleri yapıldı (Şekil 9).



Şekil 9 ICP MS cihazı

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışma gruplarının genel özellikleri hakkında bilgi vermek amacı ile tanımlayıcı analizler yapıldı. Sürekli değişkenlere ait veriler Ortalama±Standart Sapma ve Ortanca (Minimum-Maksimum Değer) şeklinde verildi. Gruplar arası farklar parametrik durumlar gözetilerek Kruskal Wallis Varyans Analizi ile incelendi. Çoklu karşılaştırmalar için ise Mann Whitney U Testi kullanıldı ve p değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hesaplamalarda hazır istatistik yazılımı kullanıldı. (IBM SPSS Statistics 19, SPSS inc., an IBM Co., Somers, NY).

Anlamlı fark bulunan değişkenler için gruplar arası farklar çoklu karşılaştırma tabloları ile incelendi. Bu tablolarda son sütun Mann Whitney U Testi değerleridir. Bu değerler içinde aynı şekilde 0.05 değerinden küçük olanlar iki grup arasındaki anlamlılığı göstermektedir.

Regresyon denklemi oluşturma işlemleri için IBM SPSS Statistics 19 ve Microsoft Excel 15 programları kullanıldı.

4.BULGULAR

Diş toplanan gönüllülerin %71.7'si kadın, %28.3'ünün erkek olduğu görüldü. Her grupta toplam 10 diş vardı. Grup 1'i oluşturan dişler 7 kadın 3 erkek, Grup 2'yi oluşturan dişler 9 kadın 1 erkek, Grup 3'ü oluşturan dişler 4 kadın 6 erkek, Grup 4' ü oluşturan dişler 9 kadın 1 erkek, Grup 5'i oluşturan dişler 8 kadın 2 erkek, Grup 6'yı oluşturan dişler 6 kadın 4 erkek gönüllüden toplandı (Tablo 1).

Tablo 1 Erkek ve kadın sayıları

	n	%
Erkek	17	28.3
Kadın	43	71.7

Diş toplanan gönüllülerin yaş ortalaması 24.85 olarak bulundu. En küçük yaştan 19, en büyük yaştan 52 olduğu görüldü. 0.saat dişlerini içeren Grup 1'in yaş ortalaması 24.9, 1. ay dişlerini içeren Grup 2'nin yaş ortalaması 23.1, 3. ay dişlerini içeren olan Grup 3 yaş ortalaması 26.2, 6.ay dişlerini içeren Grup 4 yaş ortalaması 24.3, 9.ay dişlerini içeren Grup 5 yaş ortalaması 25.3, 12.ay dişlerini içeren Grup 6 yaş ortalaması 25.3 olarak bulundu (Tablo 2).

Tablo 2 Grupların yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı

	Yaş Ortalaması	Kadın	Erkek
Grup 1	24.9	7	3
Grup 2	23.1	9	1
Grup 3	26.2	4	6
Grup 4	24.3	9	1
Grup 5	25.3	8	2
Grup 6	25.3	6	4

Diş element analizi ile ilgili nicel değerlere ilişkin dağılım Tablo 3 de verilmiştir.

Tablo 3 Nicel değerlere ilişkin dağılım (n=60)

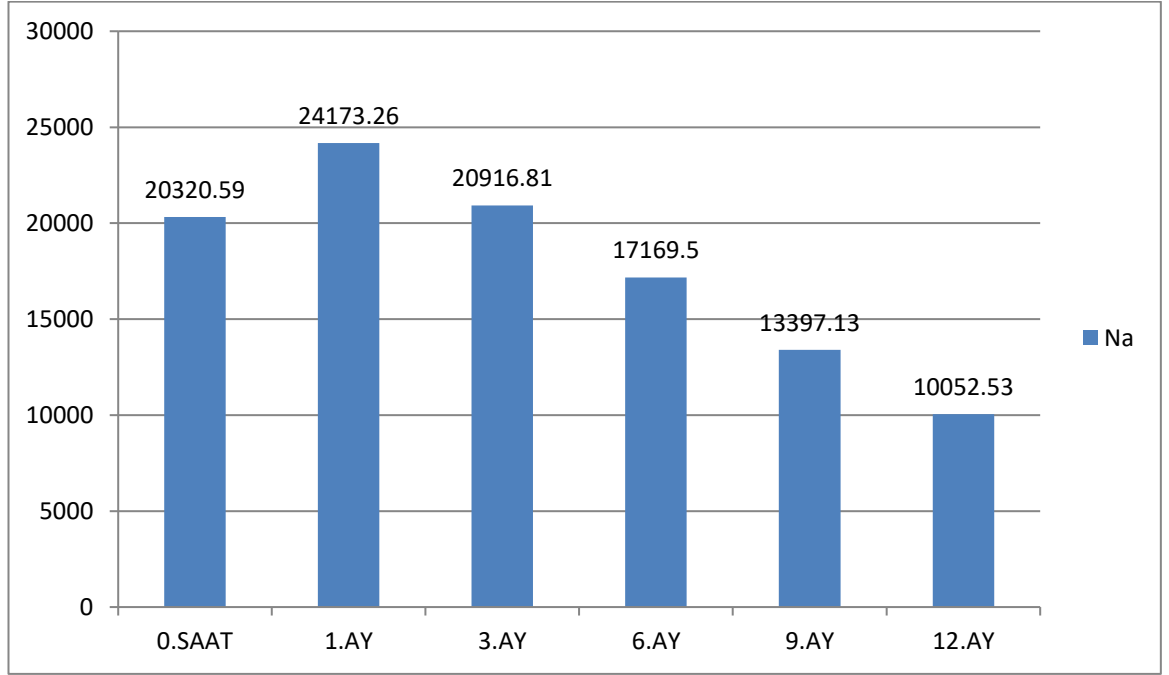
	n	Ortalama	Standart Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum
Yaş	60	24,85	7,26	22,50	19,00	52,00
Na	59	17744,085	5564,183	17647,893	5433,091	26483,002
Mg	59	332629,762	127205,144	316423,404	190703,127	1094457,724
P	60	8875835,391	3463931,261	8439095,672	184945,466	28972153,015
Ca	60	11283371,923	4147557,012	10794847,057	200598,811	34535928,153
Fe	60	206841,038	217417,138	177810,105	5904,835	1786735,782
Co	60	6,160	3,287	4,857	2,649	15,711
Zn	60	8441,911	2649,455	8312,605	141,764	22083,170
Cd	57	0,625	0,800	0,422	0,036	4,927
Pb	60	336,282	319,080	237,940	8,170	1523,647
Si	59	11868,854	6973,166	12389,721	643,357	30441,701

4.1 Sodyum (Na) elementi

Tüm gruplarda Na elementine bakıldı. Toplam 59 diş numunesinde Na elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Na elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olduğu görüldü. Bu anlamlılık Grup 1-Grup 6, Grup 2-Grup 6, Grup 3-Grup 6, Grup 4-Grup 6, Grup 1-Grup 5, Grup 2-Grup 5, Grup 3-Grup 5, Grup 2-Grup 4 arasından kaynaklandığı görüldü. Na elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 4 de, her grup için ortalama Na değerleri Şekil 10 da, Na elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar Tablo 5 de verilmiştir.

Tablo 4 Sodyum (Na) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	20320,59±5818,76	22075,705	10587,497	26483,002	
Grup 2	24173,26±1096,54	24044,619	21842,002	25730,987	
Grup 3	20916,81±2240,8	20962,522	16748,743	24235,786	
Grup 4	17169,5±991,45	16833,5245	16009,604	19201,84	
Grup 5	13397,13±1717,29	12908,039	11461,721	16826,498	
Grup 6	10052,53±2520,17	10445,096	5433,091	13224,026	
					42,378; <0,001



Şekil 10 Sodyum (Na) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

Tablo 5 Na elementine ilişkin toplu karşılaştırmalar

Örneklem1- Örneklem2	Test istatistiği	Standart hata	Standart test istatistiği	Anlamlı lık
Grup6-Grup5	8,622	7,892	1,093	,275
Grup6-Grup4	19,500	7,681	2,539	,011
Grup6-Grup1	30,300	7,681	3,945	,000
Grup6-Grup3	31,700	7,681	4,127	,000
Grup6-Grup2	42,900	7,681	5,585	,000
Grup5-Grup4	10,878	7,892	1,378	,168
Grup5-Grup1	21,678	7,892	2,747	,006
Grup5-Grup3	23,078	7,892	2,924	,003
Grup5-Grup2	34,278	7,892	4,344	,000
Grup4-Grup1	10,800	7,681	1,406	,160
Grup4-Grup3	12,200	7,681	1,588	,112
Grup4-Grup2	23,400	7,681	3,046	,002
Grup1-Grup3	-1,400	7,681	-,182	,855
Grup1-Grup2	-12,600	7,681	-1,640	,101
Grup3-Grup2	11,200	7,681	1,458	,145

Her satır Örneklem 1 ve Örneklem 2 dağılımlarının aynı olduğu sıfır hipotezini test eder.

Asimptotik önemler (2 taraflı testler) görüntülenir. Önem düzeyi 0,05'tir.

Anlamlılık değerleri çoklu testler için Mann Whitney U testi ile ayarlanmıştır.

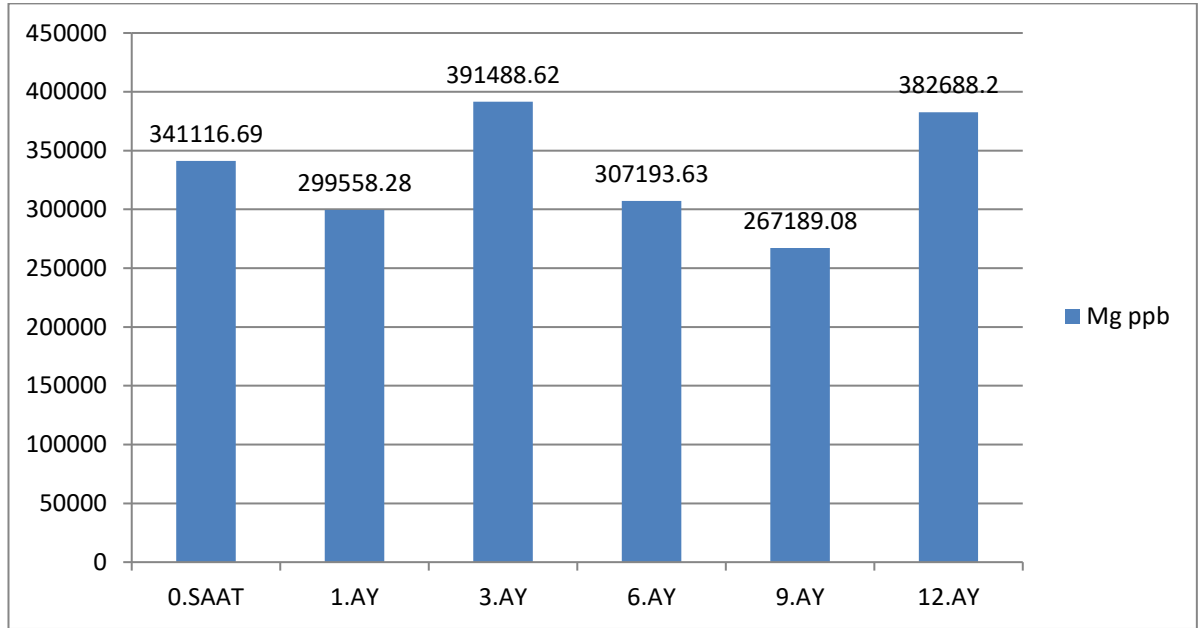
4.2 Magnezyum (Mg) elementi

Tüm gruplarda Mg elementine bakıldı. Toplam 59 diş numunesinde Mg elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Mg elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olduğu görüldü. Bu anlamlılık Grup 1-Grup 5, Grup 3-Grup 5, Grup 5-Grup 6 arasından kaynaklandığı görüldü. Mg elementi için

değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 6 da, her grup için ortalama Mg değerleri Şekil 11 de, Mg elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar Tablo 7 de verilmiştir.

Tablo 6 Magnezyum (Mg) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	341116,69±55761,41	350180,013	235191,916	427759,149	
Grup 2	299558,28±40623,48	302916,5655	214164,809	352062,034	
Grup 3	391488,62±250792,99	328630,4385	240015,468	1094457,724	
Grup 4	307193,63±54733,42	322604,988	209517,386	377027,407	
Grup 5	267189,08±46591,14	268831,12	190703,127	344096,622	
Grup 6	382688,2±136990,07	352913,7545	256343,694	665135,048	
					12,300; 0,031



Şekil 11 Magnezyum (Mg) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

Tablo 7 Mg elementine ilişkin toplu karşılaştırmalar

Örneklem1- Örneklem2	Test istatistiği	Standart hata	Standart test istatistiği	Anlamlı lık
Grup5-Grup2	9,344	7,892	1,184	,236
Grup5-Grup4	12,844	7,892	1,628	,104
Grup5-Grup3	17,644	7,892	2,236	,025
Grup5-Grup6	-22,444	7,892	-2,844	,004
Grup5-Grup1	22,944	7,892	2,907	,004
Grup2-Grup4	-3,500	7,681	-,456	,649
Grup2-Grup3	-8,300	7,681	-1,081	,280
Grup2-Grup6	-13,100	7,681	-1,705	,088
Grup2-Grup1	13,600	7,681	1,771	,077
Grup4-Grup3	4,800	7,681	,625	,532
Grup4-Grup6	-9,600	7,681	-1,250	,211
Grup4-Grup1	10,100	7,681	1,315	,189
Grup3-Grup6	-4,800	7,681	-,625	,532
Grup3-Grup1	5,300	7,681	,690	,490
Grup6-Grup1	,500	7,681	,065	,948

Her satır Örneklem 1 ve Örneklem 2 dağılımlarının aynı olduğu sıfır hipotezini test eder.

Asimptotik önemler (2 taraflı testler) görüntülenir. Önem düzeyi 0,05'tir.

Anlamlılık değerleri çoklu testler için Mann Whitney U testi ile ayarlanmıştır.

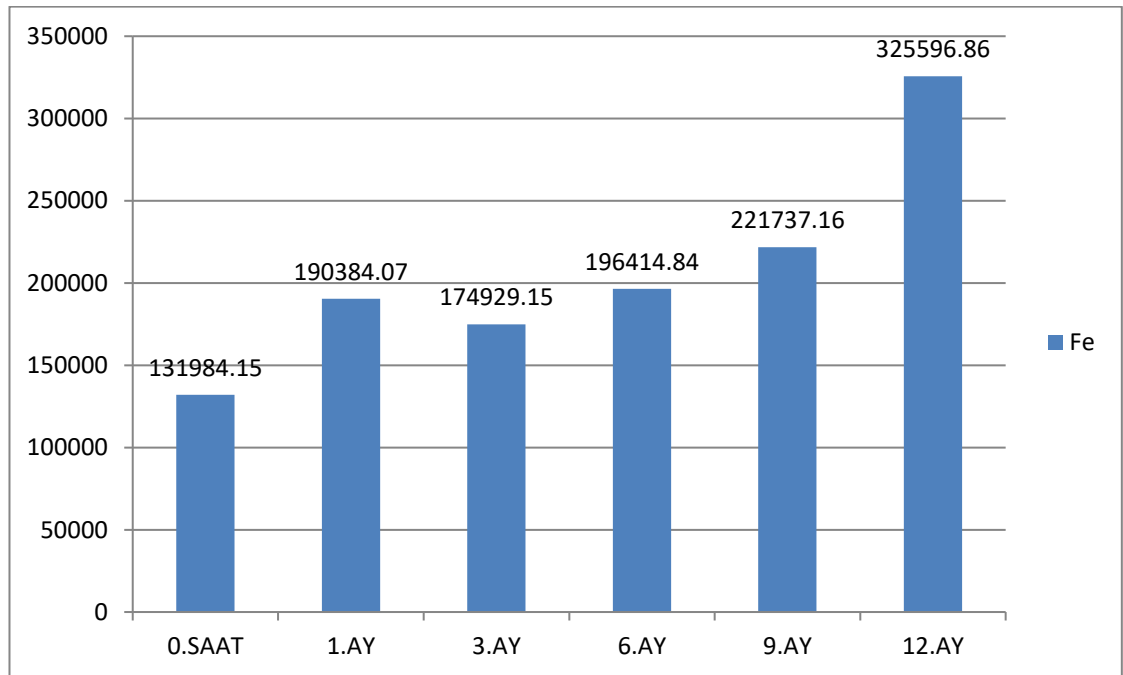
4.3 Demir (Fe) elementi

Tüm gruplarda Fe elementine bakıldı. 60 diş numunesinde Fe elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Fe elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olduğu görüldü. Bu anlamlılık Grup 1-Grup 2, Grup 1-Grup 4, Grup 1-Grup 5, Grup 2-Grup 4, Grup 2-Grup 6, Grup 3-Grup 4 arasından kaynaklandığı görüldü. Fe elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 8 de,

her grup için ortalama Fe değerleri Şekil 12 de, Fe elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar Tablo 9 da verilmiştir.

Tablo 8 Demir (Fe) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	131984,15±62736,59	159428,1335	5904,835	194894,419	
Grup 2	190384,07±24327,47	194910,4775	133824,786	212961,466	
Grup 3	174929,15±22583,31	169906,894	136766,413	213997,21	
Grup 4	196414,84±21041,26	191097,568	170289,315	226008,11	
Grup 5	221737,16±130587,72	179793,2375	158787,151	591875,561	
Grup 6	325596,86±513471,53	165110,3435	144526,77	1786735,782	
					17,765; 0,003



Şekil 12 Demir (Fe) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

Tablo 9 Fe elementine ilişkin toplu karşılaştırmalar

Örneklem1- Örneklem2	Test istatistiği	Standart hata	Standart test istatistiği	Anlamlı lık
Grup1-Grup6	-3,200	7,810	-,410	,682
Grup1-Grup3	-9,700	7,810	-1,242	,214
Grup1-Grup5	-17,800	7,810	-2,279	,023
Grup1-Grup2	-22,700	7,810	-2,906	,004
Grup1-Grup4	-25,200	7,810	-3,227	,001
Grup6-Grup3	6,500	7,810	,832	,405
Grup6-Grup5	14,600	7,810	1,869	,062
Grup6-Grup2	19,500	7,810	2,497	,013
Grup6-Grup4	22,000	7,810	2,817	,005
Grup3-Grup5	-8,100	7,810	-1,037	,300
Grup3-Grup2	13,000	7,810	1,664	,096
Grup3-Grup4	-15,500	7,810	-1,985	,047
Grup5-Grup2	4,900	7,810	,627	,530
Grup5-Grup4	7,400	7,810	,947	,343
Grup2-Grup4	-2,500	7,810	-,320	,749

Her satır Örneklem 1 ve Örneklem 2 dağılımlarının aynı olduğu sıfır hipotezini test eder.

Asimptotik önemler (2 taraflı testler) görüntülenir. Önem düzeyi 0,05'tir.

Anlamlılık değerleri çoklu testler için Mann Whitney U testi ile ayarlanmıştır.

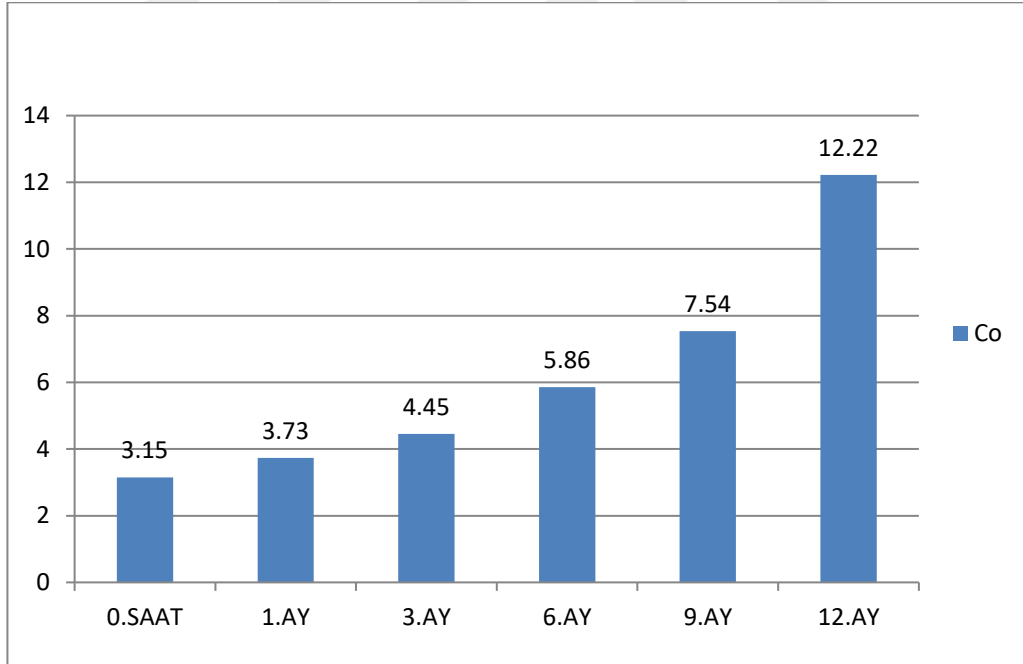
4.4 Kobalt (Co) elementi

Tüm gruplarda Co elementine bakıldı. 60 diş numunesinde Co elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Co elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olduğu görüldü. Bu anlamlılık Grup 1-Grup 3, Grup 1-Grup 4, Grup 1-Grup 5, Grup 1-Grup 6, Grup 2-Grup 4, Grup 2-Grup 5, Grup 2-Grup 6, Grup 3-Grup 5, Grup 3-Grup 6, Grup 4-Grup 6 arasından kaynaklandığı

görüldü. Co elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 10 da, her grup için ortalama Co değerleri Şekil 13 de, Co elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar Tablo 11 de verilmiştir.

Tablo 10 Kobalt (Co) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	3,15±0,51	2,924	2,649	4,013	
Grup 2	3,73±0,42	3,644	3,124	4,451	
Grup 3	4,45±0,35	4,5475	3,874	4,922	
Grup 4	5,86±0,61	5,844	4,987	6,992	
Grup 5	7,54±1,9	7,794	2,773	9,374	
Grup 6	12,22±1,83	11,927	9,896	15,711	
					50,149; <0,001



Şekil 13 Kobalt (Co) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

Tablo 11 Co elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar

Örneklem1- Örneklem2	Test istatistiği	Standart hata	Standart test istatistiği	Anlamlı lık
Grup1-Grup2	-7,300	7,810	-,935	,350
Grup1-Grup3	-17,000	7,810	-2,177	,030
Grup1-Grup4	-28,300	7,810	-3,623	,000
Grup1-Grup5	-33,400	7,810	-4,276	,000
Grup1-Grup6	-47,200	7,810	-6,043	,000
Grup2-Grup3	-9,700	7,810	-1,242	,214
Grup2-Grup4	-21,000	7,810	-2,689	,007
Grup2-Grup5	-26,100	7,810	-3,342	,001
Grup2-Grup6	-39,900	7,810	-5,109	,000
Grup3-Grup4	-11,300	7,810	-1,447	,148
Grup3-Grup5	-16,400	7,810	-2,100	,036
Grup3-Grup6	-30,200	7,810	-3,867	,000
Grup4-Grup5	-5,100	7,810	-,653	,514
Grup4-Grup6	-18,900	7,810	-2,420	,016
Grup5-Grup6	-13,800	7,810	-1,767	,077

Her satır Örneklem 1 ve Örneklem 2 dağılımlarının aynı olduğu sıfır hipotezini test eder.

Asimptotik önemler (2 taraflı testler) görüntülenir. Önem düzeyi 0,05'tir.

Anlamlılık değerleri çoklu testler için Mann Whitney U testi ile ayarlanmıştır.

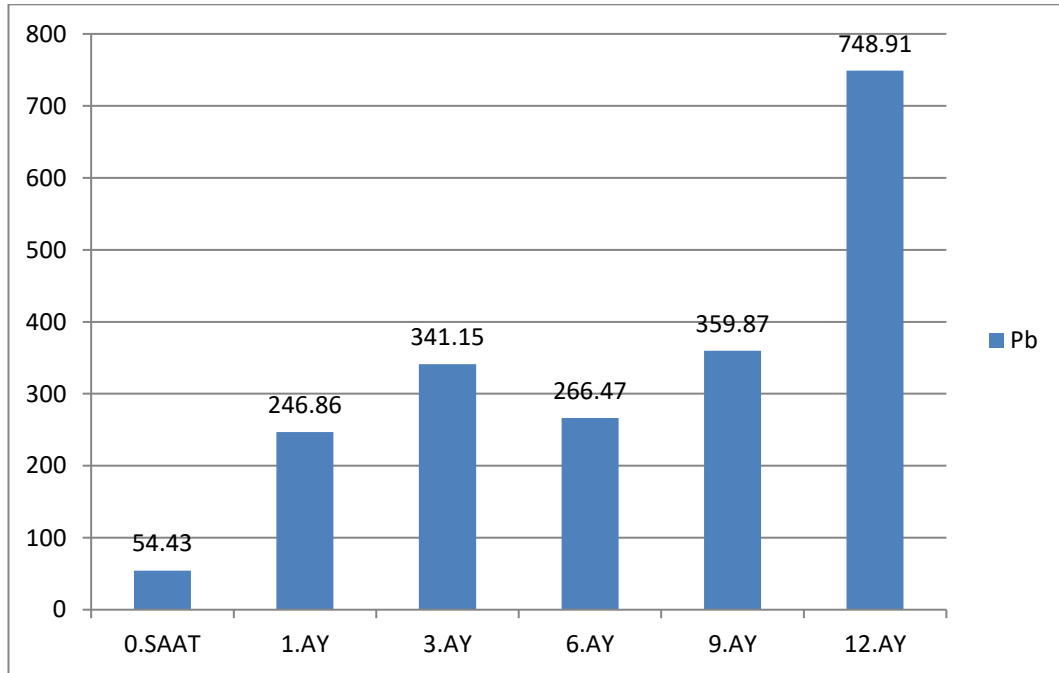
4.5 Kurşun (Pb) elementi

Tüm gruplarda Pb elementine bakıldı. 60 diş numunesinde Pb elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Pb elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olduğu görüldü. Bu anlamlılık Grup 1-Grup 3, Grup 1-Grup 4, Grup 1-Grup 5, Grup 1-Grup 6, Grup 2-Grup 5, Grup 2-Grup 6, Grup 4-Grup 6, Grup 3-Grup 6 arasından kaynaklandığı görüldü. Pb elementi için değerlerin

gruplara göre dağılımı Tablo 12 de, her grup için ortalama Pb değerleri Şekil 14 de, Co elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar Tablo 13 de verilmiştir.

Tablo 12 Kurşun (Pb) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	54,43±45,72	39,1975	8,17	124,659	
Grup 2	246,86±293,7	139,574	118,387	1076,537	
Grup 3	341,15±256,69	242,8415	167,611	929,094	
Grup 4	266,47±108,95	257,7185	140,45	482,696	
Grup 5	359,87±188,63	319,8335	20,363	659,985	
Grup 6	748,91±416,35	563,6	432,464	1523,647	
					37,955; <0,001



Şekil 14 Kurşun (Pb) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

Tablo 13 Pb elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar

Örneklem1- Örneklem2	Test istatistiği	Standart hata	Standart test istatistiği	Anlamlı lık
Grup1-Grup2	-15,300	7,810	-1,959	,050
Grup1-Grup4	-24,800	7,810	-3,175	,001
Grup1-Grup3	-27,200	7,810	-3,483	,000
Grup1-Grup5	-31,900	7,810	-4,084	,000
Grup1-Grup6	-44,800	7,810	-5,736	,000
Grup2-Grup4	-9,500	7,810	-1,216	,224
Grup2-Grup3	-11,900	7,810	-1,524	,128
Grup2-Grup5	-16,600	7,810	-2,125	,034
Grup2-Grup6	-29,500	7,810	-3,777	,000
Grup4-Grup3	2,400	7,810	,307	,759
Grup4-Grup5	-7,100	7,810	-,909	,363
Grup4-Grup6	-20,000	7,810	-2,561	,010
Grup3-Grup5	-4,700	7,810	-,602	,547
Grup3-Grup6	-17,600	7,810	-2,253	,024
Grup5-Grup6	-12,900	7,810	-1,652	,099

Her satır Örneklem 1 ve Örneklem 2 dağılımlarının aynı olduğu sıfır hipotezini test eder.

Asimptotik önemler (2 taraflı testler) görüntülenir. Önem düzeyi 0,05'tir.

Anlamlılık değerleri çoklu testler için Mann Whitney U testi ile ayarlanmıştır.

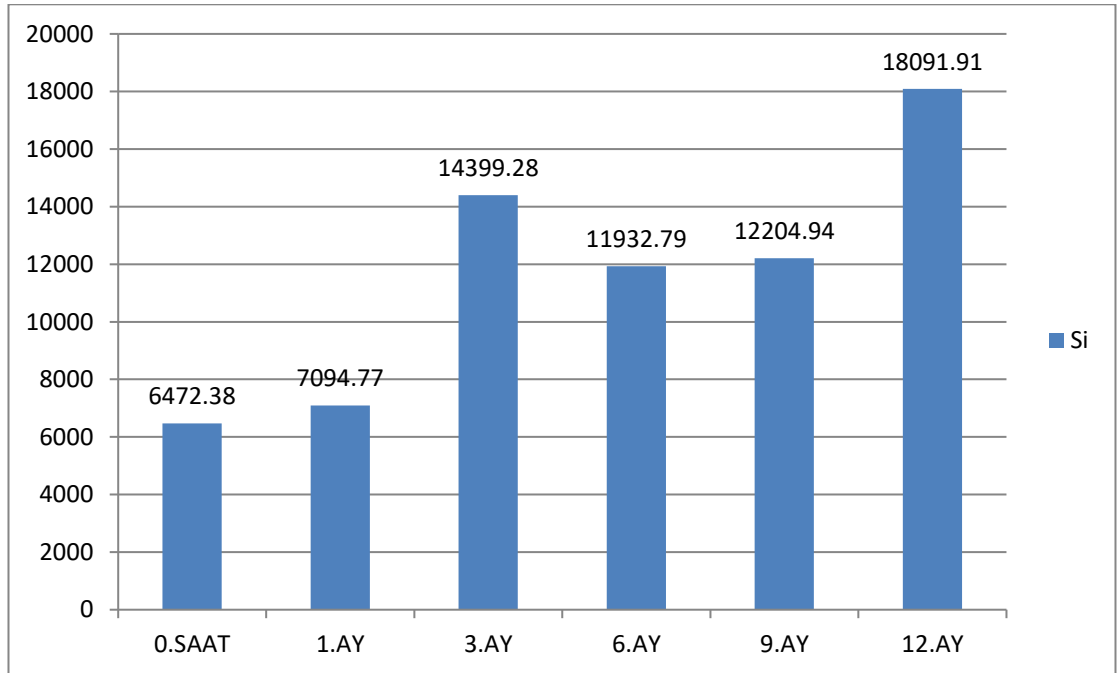
4.6 Silisyum (Si) elementi

Tüm gruplarda Si elementine bakıldı. Toplam 59 dış numunesinde Si elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Si elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olduğu görüldü. Bu anlamlılık Grup 1-Grup 3, Grup 1-Grup 4, Grup 1-Grup 5, Grup 1-Grup 6, Grup 2-Grup 3, Grup 2-Grup 6 arasından kaynaklandığı görüldü. Si elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

Tablo 14 de, her grup için ortalama Si değerleri Şekil 15 de, Si elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar Tablo 15 de verilmiştir.

Tablo 14 Silisyum (Si) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	6472,38±6019,29	5891,988	996,596	21389,408	
Grup 2	7094,77±4296,97	5740,415	1112,347	13831,501	
Grup 3	14399,28±6151,47	13280,075	2148,842	25584,411	
Grup 4	11932,79±7316,38	13645,2555	643,357	22534,614	
Grup 5	12204,94±4551,13	11892,293	6957,22	22797,46	
Grup 6	18091,91±6713,4	19853,0645	8368,636	30441,701	
					19,119; 0,002



Şekil 15 Silisyum (Si) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

Tablo 15 Si elementine ilişkin çoklu karşılaştırmalar

Örneklem1- Örneklem2	Test istatistiği	Standart hata	Standart test istatistiği	Anlamlı lık
Grup1-Grup2	-2,667	7,961	-,335	,738
Grup1-Grup4	-16,300	7,759	-2,101	,036
Grup1-Grup5	-16,400	7,759	-2,114	,035
Grup1-Grup3	-21,100	7,759	-2,719	,007
Grup1-Grup6	-27,900	7,759	-3,596	,000
Grup2-Grup4	-13,633	7,759	-1,757	,079
Grup2-Grup5	-13,733	7,759	-1,770	,077
Grup2-Grup3	-18,433	7,759	-2,376	,018
Grup2-Grup6	-25,233	7,759	-3,252	,001
Grup4-Grup5	-,100	7,552	-,013	,989
Grup4-Grup3	4,800	7,552	,636	,525
Grup4-Grup6	-11,600	7,552	-1,536	,125
Grup5-Grup3	4,700	7,552	,622	,534
Grup5-Grup6	-11,500	7,552	-1,523	,128
Grup3-Grup6	-6,800	7,552	-,900	,368

Her satır Örneklem 1 ve Örneklem 2 dağılımlarının aynı olduğu sıfır hipotezini test eder.

Asimptotik önemler (2 taraflı testler) görüntülenir. Önem düzeyi 0,05'tir.

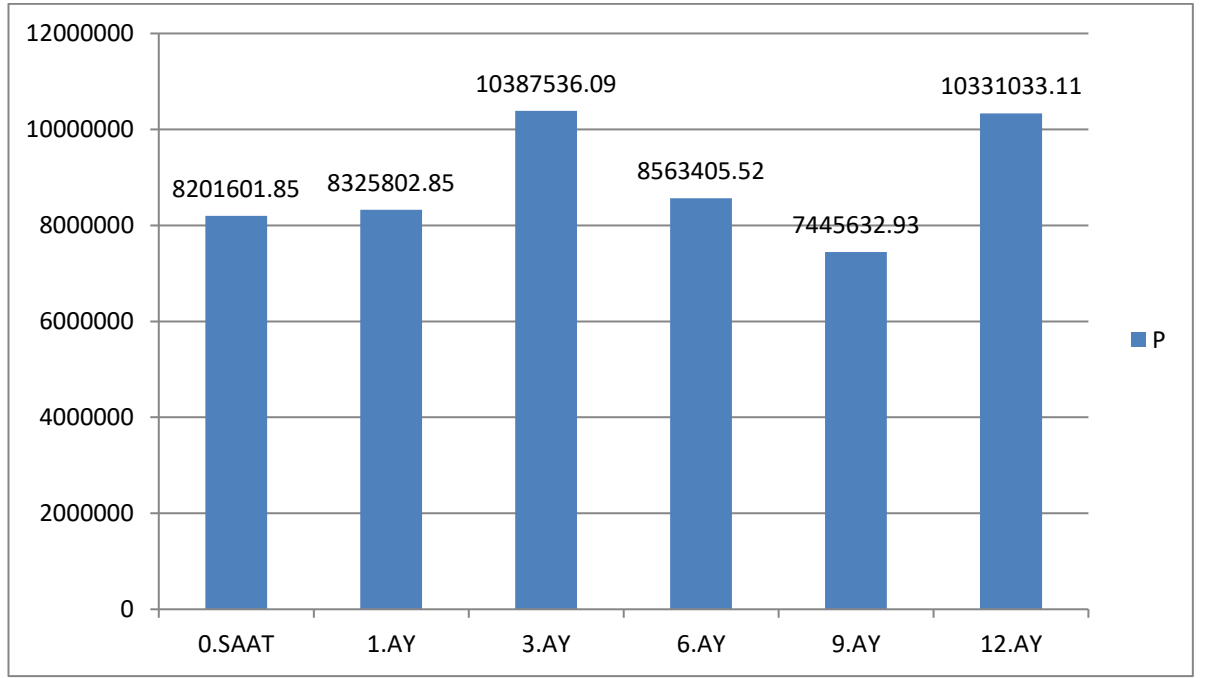
Anlamlılık değerleri çoklu testler için Mann Whitney U testi ile ayarlanmıştır.

4.7 Fosfor (P) elementi

Tüm gruplarda P elementine bakıldı. 60 dış numunesinde P elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. P elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olmadığı görüldü. P elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 16 da, her grup için ortalama P değerleri Şekil 16 da verilmiştir.

Tablo 16 Fosfor(P) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	8201601,85±1000003,32	8621962,032	5905010,001	9163143,99	
Grup 2	8325802,85±1263838,9	8365621,663	5862532,395	9756835,714	
Grup 3	10387536,09±6547150,88	8345657,064	7460299,537	28972153,015	
Grup 4	8563405,52±1264443,14	8529030,79	6020740,242	10855034,776	
Grup 5	7445632,93±2638499,23	7984870,7585	184945,466	9464882,308	
Grup 6	10331033,11±4064658,23	8497109,124	7086731,243	18559392,36	
					2,995; 0,701



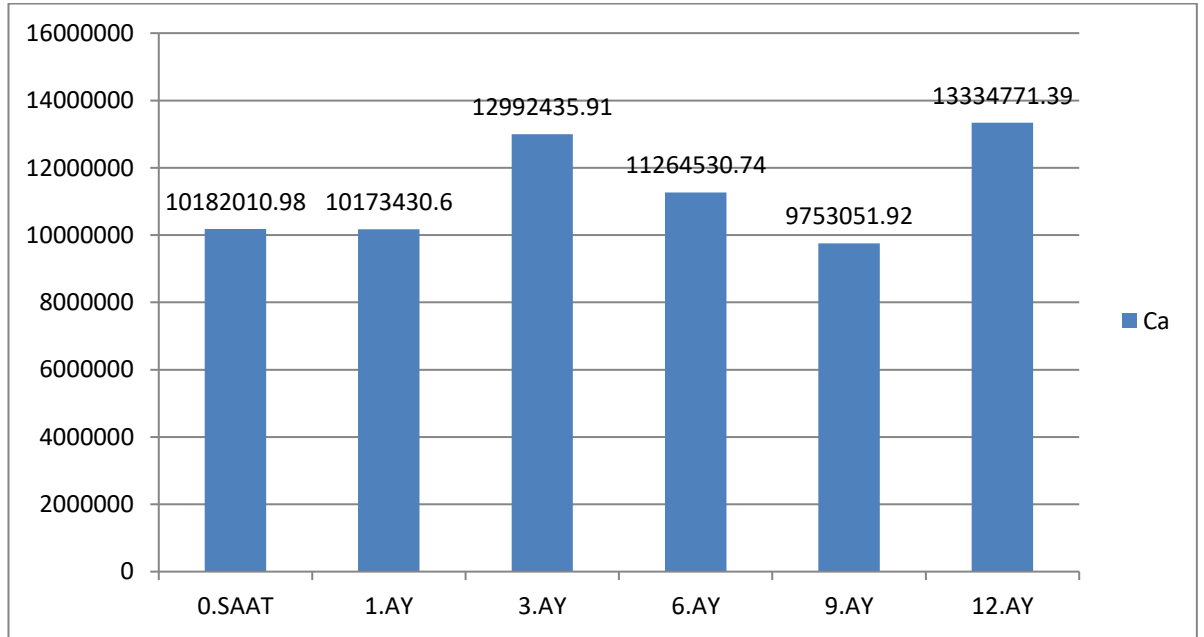
Şekil 16 Fosfor(P) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

4.8 Kalsiyum (Ca) elementi

Tüm gruplarda Ca elementine bakıldı. 60 diş numunesinde Ca elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Ca elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olmadığı görüldü. Ca elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 17 de, her grup için ortalama Ca değerleri Şekil 17 de verilmiştir.

Tablo 17 Kalsiyum (Ca) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	10182010,98±1204978,24	10694192,2345	7271165,866	11128730,314	
Grup 2	10173430,6±1320208,54	10486879,2955	7287749,36	11582756,599	
Grup 3	12992435,91±7615457,13	10758082,2665	8762462,407	34535928,153	
Grup 4	11264530,74±1655401,45	11083703,6085	7912387,039	14176322,148	
Grup 5	9753051,92±3446986,83	10491357,7145	200598,811	12171984,349	
Grup 6	13334771,39±4870072,81	11597917,386	8920131,041	23040595,061	
					8,319; 0,139



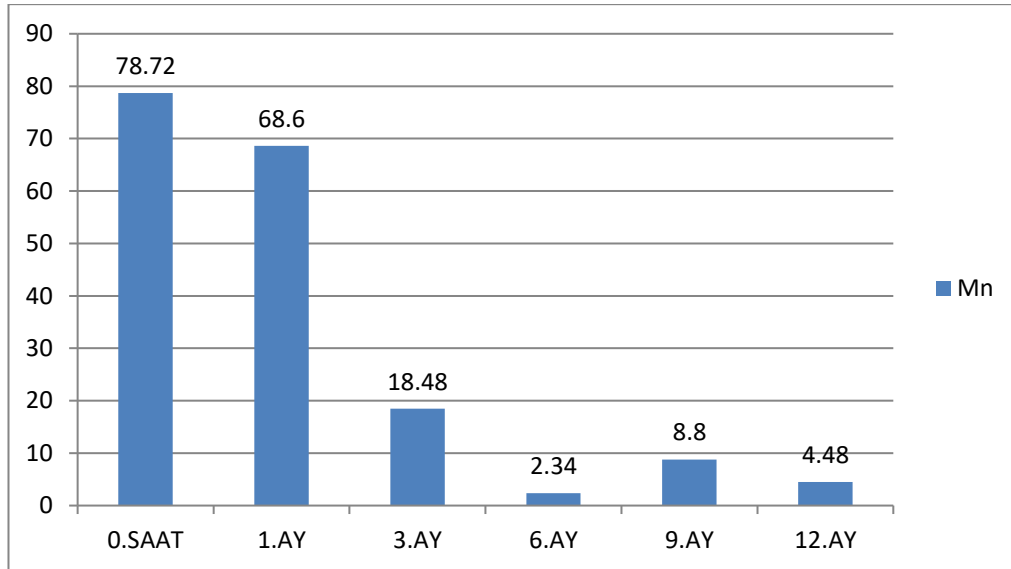
Şekil 17 Kalsiyum (Ca) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

4.9 Manganez (Mn) elementi

Tüm gruplarda Mn elementine bakıldı. 23 diş numunesinde Mn elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Mn elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olmadığı görüldü. Mn elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 18 de, her grup için ortalama Mn değerleri Şekil 18 de verilmiştir.

Tablo 18 Manganez (Mn) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	78,72±88,47	44,864	18,678	206,478	
Grup 2	68,6±83,37	18,391	0,63	174,105	
Grup 3	18,48±14,8	15,3345	4,712	38,546	
Grup 4	2,34±2,14	2,3425	0,827	3,858	
Grup 5	8,8±10,73	5,803	0,272	28,793	
Grup 6	4,48±0,52	4,4845	4,12	4,849	
					9,205; 0,101



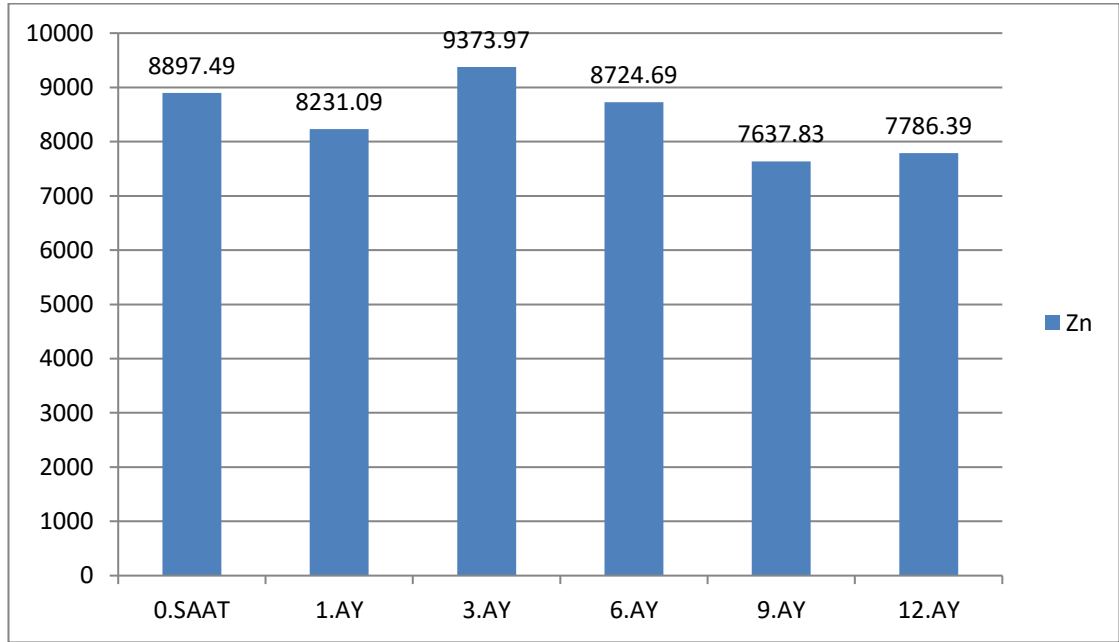
Şekil 18 Manganez (Mn) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

4.10 Çinko (Zn) elementi

Tüm gruplarda Zn elementine bakıldı. 60 diş numunesinde Zn elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Zn elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olmadığı görüldü. Zn elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 19 da, her grup için ortalama Zn değerleri Şekil 19 da verilmiştir.

Tablo 19 Çinko (Zn) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	8897,49±1660,22	9042,5415	6833,247	12267,668	
Grup 2	8231,09±1465,76	8414,2115	5579,667	10650,222	
Grup 3	9373,97±4563,8	7989,1765	6195,065	22083,17	
Grup 4	8724,69±2008,07	8439,153	5688,42	12746,33	
Grup 5	7637,83±3129,51	7853,5645	141,764	12234,389	
Grup 6	7786,39±1981,98	7226,7175	5817,495	12398,592	
					3,493; 0,624



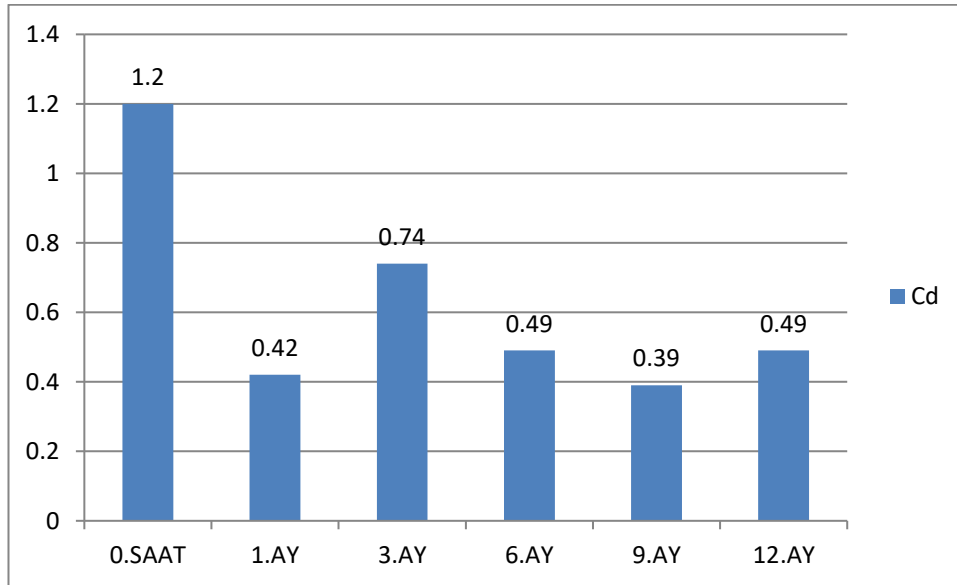
Şekil 19 Çinko (Zn) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

4.11 Kadmiyum (Cd) elementi

Tüm gruplarda Cd elementine bakıldı. 57 diş numunesinde Cd elementi ölçümünün nicel karşılığı tespit edildi. Cd elementi için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark olmadığı görüldü. Cd elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı Tablo 20 de, her grup için ortalama Cd değerleri Şekil 20 de verilmiştir.

Tablo 20 Kadmiyum (Cd) elementi için değerlerin gruplara göre dağılımı

	Ort±SS	Medyan	Minimum	Maksimum	KW, p
Grup 1	1,2±1,37	0,951	0,092	4,927	
Grup 2	0,42±0,21	0,376	0,112	0,788	
Grup 3	0,74±1,14	0,316	0,038	3,606	
Grup 4	0,49±0,16	0,4935	0,163	0,755	
Grup 5	0,39±0,37	0,268	0,04	1,272	
Grup 6	0,49±0,51	0,274	0,036	1,704	
					7,842; 0,165



Şekil 20 Kadmiyum (Cd) elementinin her grupta ortalama ppb değerleri

Çalışmanın yapıldığı 12 aylık sürece ait hava koşulları ile ilgili ayrıntılı bilgiler Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü Meteoroloji Veri Bilgi Sunum Sisteminden elde edildi. Tokat Meteoroloji İstasyonun ölçtüğü günlük ortalama sıcaklık, günlük ortalama maksimum sıcaklık, günlük ortalama minimum sıcaklık, günlük ortalama nispi nem değerleri aylara göre ve grupların çürümeye bırakıldığı dönemlere göre Tablo 21 ve Tablo 22 de verilmiştir.

Tablo 21 Deneyin yapıldığı ayların ayrı ayrı hava değerleri

	Ortalama Sıcaklık	Ortalama Maksimum Sıcaklık	Ortalama Minimum Sıcaklık	Ortalama Nispi Nem (%)
Temmuz 2020	24,2 °C	31,2 °C	18,3 °C	%56,7
Ağustos 2020	22,3 °C	30,5 °C	15 °C	%54,8
Eylül 2020	23 °C	31,2 °C	16,6 °C	%54,5
Ekim 2020	18 °C	26,4 °C	10,9 °C	%46
Kasım 2020	7,4 °C	12,9 °C	3 °C	%72,3
Aralık 2020	5,5 °C	10,8 °C	1,7 °C	%73,2
Ocak 2021	5 °C	10,3 °C	0,6 °C	%68,3
Şubat 2021	5,1 °C	11,5 °C	-0,03 °C	%60,5
Mart 2021	6 °C	11,7 °C	1,3 °C	%65,6
Nisan 2021	13,7 °C	19,9 °C	8,5 °C	%57
Mayıs 2021	18,5 °C	27 °C	10,9 °C	%54,5
Haziran 2021	20,1 °C	26,6 °C	14,2 °C	%63,8

Tablo 22 Grupların yer aldığı dönemlere ait hava değerleri

	Ortalama Sıcaklık	Ortalama Maksimum Sıcaklık	Ortalama Minimum Sıcaklık	Ortalama Nispi Nem (%)
Grup 2	18,5 °C	26,6 °C	14,2 °C	%63,8
Grup 3	16,9 °C	24,5 °C	11,2 °C	%58
Grup 4	11,1 °C	17,8 °C	5,9 °C	%61,8
Grup 5	10,9 °C	17,5 °C	5,7 °C	%63
Grup 6	13,9 °C	20,8 °C	8,4 °C	%60,6

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ölüm zamanı tahmini adli tıp uygulamalarında çok önemli bir yere sahiptir. Ancak tek başına ölüm zamanı tahmini yapılmasını sağlayacak bir yöntem henüz mevcut değildir ve güncel yaklaşımları iyileştirme çalışmaları devam etmektedir. Bu nedenle birçok yöntem bir arada kullanılarak güvenilirlik arttırılmaya çalışılmaktadır (127). Özellikle iskelet kalıntıları vakalarında, yumuşak dokular büyük ölçüde azaldığı veya tamamen ortadan kalktığı için ölüm zamanının tahmin edilmesi daha zor hale gelir. Ölüm zamanı tahmininde özellikle geç dönemi kapsayacak yöntemler kemik ve diş dokuları üzerinden sürdürülmektedir. Diş dokusu sağlam yapısı, korunaklı lokalizasyonu, çürümeye ve dış etkenlere daha dayanıklı olması nedeniyle ölüm zamanı tahminine yönelik birçok çalışmada kullanılmıştır.

Ölüm sonrası biyokimyasını değerlendirerek ölüm zamanı tahmini yapmaya çalışan çalışmalarda vitröz sıvı, beyin omurilik sıvısı, kan, perikart, sinoviyal sıvı, göz yaşı sıvısı gibi vücut sıvılarının yanında beyin, miyokard, böbrek, karaciğer, kemik ve iskelet kası gibi dokularda da element analizi yapılmıştır. Castello ve arkadaşları insan kemikleriyle yaptıkları bir çalışmada kükürt (S) elementinin artışının ve K elementinin azalışının ölüm zamanı tahmini ile anlamlı sonuçları olduğunu gözlemlemişlerdir (128). Doğan K.H. ve arkadaşları rat organlarında 96 saatlik süreyi kapsar şekilde yaptıkları çalışmada Fe elementinin beyin, karaciğer, böbrek ve iskelet kasında artma gösterdiğini, Na elementinin böbrekte azalma, miyokard ve iskelet kasında artma gösterdiğini, K elementinin beyin, karaciğer ve iskelet kasında azalma gösterdiğini, Ca elementinin miyokard ve karaciğerde artma gösterdiğini, Cu elementinin miyokard ve böbrekte azalma gösterdiğini, özellikle iskelet kasında Fe, Na, K elementlerinde anlamlı değişimler gözlemlendiğini belirtmişlerdir (127). Walden ve arkadaşları domuz kemiklerinde, Nagai ve arkadaşları sığır femur kemiği, Gülderen A. ve arkadaşları rat mandibulasında element analizi ile ölüm zamanı tahminine yönelik çalışmalar yapmışlardır (16,129,130).

Literatürde ölüm sonrası diş dokusunu değerlendirerek ölüm zamanı tahmini yapmaya çalışan çalışmalar olup konu genellikle histopatolojik ve moleküler boyutta ele alınmıştır. Var olan çalışmalar suda bırakılmış, toprağa gömülmüş ve açık alanda bırakılmış deney hayvanları üzerinden gerçekleştirilmiştir. Yapılan bir çalışmada laboratuvar ortamında çürüme sürecine bırakılan insan diş dokusunda ölüm zamanına yönelik histopatolojik değişiklikler incelenmiş ve diş pulpasında anlamlı histopatolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada açık alanda çürümeye bırakılmış diş dokusunda ölüm sonrası histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Akbulut N. ve arkadaşları yaptığı çalışmada rat dişlerinde bilgisayarlı mikro tomografi (mikro-CT) ile yüzey aşınması ve mine mineral yoğunluğu değişikliklerini değerlendirilmiştir (11). Boy S.C. ve arkadaşları da postmortem pulpada DNA degradasyonu ile ölüm zamanı arasında ilişki olup olmadığını araştırmışlardır (131).

Diş mine, dentin, sement ve pulpa yapılarından oluşur. Bu tabakaların element içeriği birbirinden farklılık göstermektedir. Bu yapıların kendi içlerinde dahi majör ve minör element miktarlarında farklılık olduğu bilinmektedir. Bush ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada farklı dokularda da ölçülen element miktarlarının kendi içlerinde homojen dağılmadığını bildirmişlerdir (132). Ölüm zamanı tahminine yönelik yapılacak element analizlerinde dokularda element miktarlarının homojen dağılmayabileceği akılda tutulmalıdır. Bu durumda alınacak örneğin dokunun hep aynı yerinde alınması analiz sonucunun daha güvenilir olmasını sağlayacaktır. Biz çalışmamızda ise diş tabakalarını bir bütün olarak çürütüp yine dişi bütün tabakalarıyla birlikte parçalayıp toz haline getirip eritme işlemine tabi tuttuk. Böylelikle dişi bir bütün olarak ele alıp tabakalardan kaynaklanacak farklılıkların oluşmasını engelledik.

Yaş ve cinsiyet doku element seviyelerini etkileyen faktörlerdir. Sıçan karaciğerinde yapılan bir çalışmada yaş ile bazı element düzeylerinde değişimler olduğu görülmüştür (133). Cinsiyetin element miktarına etkisini değerlendiren bir çalışmada ise insan otopsi dokularında kadın ve erkekler arasında element düzeyi açısından anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (134). Biz çalışmamızda Tokat Gaziosmanpaşa Üniversite Hastanesi Diş Hekimliği Fakültesinden toplanan insan dişlerini kullandık. Hedefimiz gruplar arası yaş ve cinsiyet dengliği sağlayarak ortaya çıkacak farklılıkları engellemekti ancak Covid 19 pandemisi dönemine denk gelen

diş toplama sürecinde meydana gelen aksaklıklar nedeniyle yaş ve cinsiyet konusunda gruplar arası denklik sağlanamamıştır. Tüm aksaklıklara rağmen gruplar arası yaş ortalamaları birbirine çok yakın olup gruplarda en küçük 23.1, en büyük 26.2 yaş ortalaması olduğu görülmüştür. Bazı element sonuçlarında görülen gruplar arası dalgalanmaların gruplar arası yaş ve cinsiyet farklılıklarından kaynaklanmış olabileceğini düşünüyoruz.

Literatürde ölüm sonrası insan diş dokusu biyokimyasını değerlendirerek ölüm zamanı tahmini yönelik deneysel veya otopsi dokuları üzerinde yapılan bir çalışma bulunamamıştır. Bu durum, çalışmamızın sonuçlarını değerlendirmemizi güçleştirmiştir. Diş materyali kullanılan bir çalışmada Karabulut N. ve arkadaşları mine mineral yoğunluğunun 8. haftaya kadar fazla değişmediğini, sonrasında 12. haftaya kadar ise azalma gösterdiğini belirtmişlerdir (11). Ölüm zamanı tahmininde kullanılabilecek belirteçlerin kararlı ve düzenli bir artış ya da azalış eğrisi çizmesi beklenmektedir. Bizde çalışmamızda Na, Mg, P, Ca, Fe, Mn, Co, Zn, Cd, Pb, Si elementlerini ayrı ayrı ele alarak miktarlarını ölçtük ve grafilerini inceledik. Co ve Na element konsantrasyonundan PMİ tahmini yapmamızı sağlayabilecek regresyon denklemleri elde ettik.

Co elementi için yapılan ölçümlerde gruplar arasında düzenli ve anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. 1.ay grubunun 0.saat grubuna göre %18 oranında arttığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %19 arttığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %32 arttığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %20 arttığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %62 oranında arttığı görüldü.

Co elementi için gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; 0.saat grubunun 3.ay,6.ay,9.ay ve 12.ay gruplarına göre, 1.ay grubunun 6.ay, 9.ay ve 12. ay gruplarına göre, 3. ay grubunun 9.ay ve 12. ay gruplarına göre, 6.ay grubunun 12.ay grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Curzon ve Crocker; MS cihazıyla yaptıkları çalışmada yaşları 10-20 arası değişen 246 kişiden alınan dişlerde Co elementi ortalamasını 0.27 mg/kg olarak bulmuşlardır (114). Biz çalışmamızda 0.saat grubunda Co elementi ortalamasını 0.00315 mg/kg olarak tespit ettik.

Yapılan analizler ve istatistik çalışmaları sonucunda diş Co elementi konsantrasyonundan ölüm zamanı tahmini yapmamızı sağlayacak bir denklem elde ettik. Regresyon analiziyle elde edilen regresyon denklemi:

$$t(\text{ay}) = 1,340 \times \text{Co (kons ppb)} - 3,085 \quad R^2=\%91,6 \quad p=0,03$$

Konsantrasyon ppb olarak hesaplanmıştır ve zaman olarak elde edilen sonuç ay cinsinden hesaplanmaktadır. Bu denklemde; bağımsız değişkenimizin bağımlı değişkeni açıklama oranı olan $R^2 = \%91,6$ olarak bulunmuştur. p değeri 0,03 tür ve istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmiştir.

Oluşturulan denklemi 60 diş ayrı ayrı uyguladığımızda grupların hesaplanmış PMİ ortalamaları yani **t (ay)** kestirim ortalamaları tablo 23 de verilmiştir.

Tablo 23 Co elementi için bilinen PMİ ve denklemle hesaplanmış PMİ

Bilinen PMİ	Hesaplanmış PMİ (grup ortalamaları)
0.SAAT	1. AY
1.AY	1.9 AY
3.AY	2.9 AY
6.AY	4.8 AY
9.AY	7.7 AY
12.AY	13.2 AY

Denklemi tüm dişlere uyguladığımızda gerçek PMİ e yakın sonuçlar elde edebildik. Özellikle 3.ay grubu için denklemle hesaplanan PMİ ortalamasının 2.9 ay olarak bulunması dikkate değerdi. Her ne kadar kontrol grubunda denklem sonucu tutarlı olmasa da diğer gruplarda bilinen PMİ ile hesaplanmış PMİ arasında daha tutarlı sonuçlar elde edilmiştir.

Literatür taramasında Co elementi için herhangi bir dokuda ölüm zamanı tahminine yönelik yapılan bir çalışma bulamadık. Her ne kadar Co elementini ölüm sonrası süreçte değerlendiren bir çalışma olmasa da bizim çalışmamızda görülen düzenli ve anlamlı yükselişin açık arazide bulunan insan diş dokusunda ölüm zamanı tahmini konusunda ümit vaat ettiğini görüyoruz.

Na elementi için yapılan ölçümlerde 0.saat grubuna göre 1. ay grubunda Na'nın %19 arttığı, 3. ay grubunda 0. saat grubuna göre %2 yüksek olmakla birlikte 1. ay grubuna göre %14 azaldığı ve sonrasında 12.ay grubu dahil olmak üzere düzenli bir şekilde azaldığı görüldü. 3.ay grubuna göre 6.ay grubunun %18, 6.ay grubuna göre 9.ay grubunun %22, 9.ay grubuna göre 12.ay grubunun %25 azaldığı tespit edildi.

Na elementi için gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; 0.saat grubunun 9.ay ve 12.aya göre, 1.ay grubunun 6.ay, 9.ay ve 12.aya göre, 3.ay grubunun 9.ay ve 12.aya göre, 6.ay grubunun 12.aya göre istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu tespit edildi. Walden ve arkadaşları domuz kemiklerinde yaptıkları bir çalışmada Na elementinin çürüme ile birlikte kemikte bizim çalışmamıza benzer bir şekilde azalma gösterdiğini belirtmişlerdir (129). Nagai ve arkadaşları sığır femur kemiği üzerinde yaptıkları bir çalışmada Na elementinin taze su ortamında kontrol grubuna göre 6.ay ve 12.ay gruplarında azaldığını, deniz suyu ve yer altında ise kontrol grubuna göre 6.ay ve 12.ay gruplarında artış gösterdiğini tespit etmişlerdir (130). Na elementinde 1. ayda görülen artış nedeninin inorganik maddelerin yanında organik maddelerinde parçalanarak Na değerini arttırması olduğunu düşünüyoruz. Daha sonra çürümenin ilerlemesiyle birlikte Na elementinde anlamlı bir düşüş meydana gelmiştir.

Diş Na elementi konsantrasyonundan zaman kestirimi yapmamızı sağlayacak regresyon analiziyle oluşturulmuş regresyon denklemi:

$$t(\text{ay}) = 23,111 - 1,052.7 \times \text{Na (kons ppb)} \quad R^2 = \%90.05 \quad p = 0,04$$

Konsantrasyon ppb olarak hesaplanmıştır ve zaman olarak elde edilen sonuç ay cinsinden hesaplanmaktadır. Bu denklemde; bağımsız değişkenimizin bağımlı değişkeni açıklama oranı olan $R^2 = \%90,05$ olarak bulunmuştur. p değeri 0,04 tür ve istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmiştir.

Tablo 24 Na elementi için bilinen PMİ ve denklemlle hesaplanmış PMİ

Bilinen PMİ	Hesaplanmış PMİ (grup ortalamaları)
0.SAAT	-
1.AY	-
3.AY	-
6.AY	5 AY
9.AY	8.1 AY
12.AY	12.5 AY

Na elementinin bilinen PMİ ve denklemlle hesaplanmış PMİ değerleri bakıldığında 0.saat,1.ay ve 3.ay gruplarında negatif sonuçlar elde edilmiş olup bu gruplarda bir ortalama elde edilememiştir. 6.ay, 9.ay ve 12.ay gruplarında ise gerçek PMİ değerlerine yakın sonuçlar olduğu görülmüştür. Na elementi konsantrasyon ortalaması 1.ay grubunda kontrol grubuna göre artmış olup daha sonra tüm gruplarda düzenli olarak azalma göstermesi nedeniyle 0.saat, 1.ay ve 3.ay gruplarında tutarlı sonuçlar elde edilemediğini düşünüyoruz. 6.ay, 9.ay ve 12. ay gruplarında ise denklemlle tutarlı sonuçlar elde edilmiştir.

Organizmanın ölümü sonrası çevresel koşullara bağlı olarak organik ve inorganik bileşenlerde meydana gelen değişikliklere diagenenez denir. Organizmanın çevreyle olan etkileşimi sonucu doğal kemik bileşenleri değişimi uğrar, organik maddenin yıkılmasına bağlı oluşan boşluklarda absorpsiyon ve sızıntıya bağlı olarak element değişimi meydana gelir (135). Özellikle +2 yüke sahip elementler (magnezyum, baryum, kurşun, çinko, kalsiyum, stronsiyum gibi) fazla yer değiştirme kapasitesine sahiptir (136).

Mg elementi için yapılan ölçümlerde gruplar arası dalgalanmalar olduğu gözlemlendi. 0.saat grubuna göre 1.ay grubunun %12 azaldığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %31 arttığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %22 azaldığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre yine %13 azaldığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %43 arttığı tespit edildi.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; 0.saat ve 9.ay grupları arasında, 6.ay ve 9.ay arasında, 9.ay ve 12.ay grupları arasında istatistiksel olarak bir anlam olduğu görüldü. Cutress ve arkadaşları MS cihazıyla yaptıkları çalışmada 54 kişiden alınan diş örneklerinde Mg ortalamasını 745 mg/kg olarak bulmuşlardır. Biz çalışmamızda 0.saat grubunda Mg elementi ortalamasını 341 mg/kg olarak tespit ettik. Walden ve arkadaşları domuz kemiklerinde yaptıkları çalışmalarında Mg elementinin çürüme ile kemikte dalgalı bir değişim gösterdiğini, önemli bir artış ya da azalış göstermediğini belirtmişlerdir (129). Bizim çalışmamızda da görülen Mg elementinde gruplar arası gerçekleşen dalgalanmanın çevre ile olan etkileşime bağlı olarak diyagenez sonucu olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle Mg elementinin ölüm zamanı tahmini konusunda kullanılabilirliğinin sınırlı olduğunu düşünüyoruz.

Fe elementi için yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. Sadece 1.ay grubundan sonra 3.ay grubunda hafif bir azalma olduğu görüldü. 1.ay grubu 0.saat grubuna göre %44 oranında arttığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %8 azalmasına rağmen 0.saate göre %33 oranında arttığı görüldü. 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %12 arttığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %13 arttığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %47 arttığı tespit edildi.

Fe elementi için gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; 0.saat grubunun 1.ay,6.ay ve 9.ay gruplarına göre, 1. ay grubunun 6.ay ve 12. ay gruplarına göre, 3.ay grubunun 6.ay grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Cutress ve arkadaşları MS cihazıyla yaptıkları çalışmada 54 kişiden alınan diş örneklerinde Fe ortalamasını 138 mg/kg olarak bulmuşlardır. Biz çalışmamızda bu çalışmaya yakın olarak 0.saat grubunda Fe elementi ortalamasını 131 mg/kg olarak tespit ettik. Walden ve arkadaşları domuz kemiklerinde yapmış oldukları çalışmada Fe elementinin postmortem süreçte önce yumuşak doku yıkımına bağlı olarak bir miktar arttığını, ilerleyen süreçte postmortem interval ile uyumlu bir şekilde düştüğünü belirtmişlerdir (129). Rat mandibulasıyla yapılan bir başka çalışmada Fe elementinin yine önce hafif arttığı ancak sonrasında postmortem interval ile uyumsuz bir şekilde dalgalı seyrettiği belirtilmiştir (16). Bizim çalışmamızda ise Fe elementi anlamlı bir şekilde artış göstermiştir.

Pb elementi için yapılan ölçümlerde 6.ay grubunda azalma olmakla birlikte gruplar arası anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. 1.ay grubu 0.saat grubuna göre 4.5

kat oranında artış göstermiştir. 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %38 oranında arttığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %22 azaldığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %35 arttığı, 12. Ay grubunun 9.ay grubuna göre 2 kat artış gösterdiği tespit edildi.

Pb elementi için gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; 0.saat grubunun 3.ay,6.ay,9.ay ve 12.ay gruplarına göre, 1.ay grubunun 9.ay ve 12. ay gruplarına göre, 3. ay grubunun 12. ay grubuna göre, 6.ay grubunun 12.ay grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Pb elementi için 6.ay grubunda dalgalanma olmakla birlikte gruplar arası anlamlı bir artış vardır. Bu dalgalanma dişlere ait kişisel ve çevresel faktörlerden kaynaklanmış olabilir. Gil ve arkadaşları AAS cihazıyla yaptıkları bir çalışmada yaşları 11-60 aralığında değişen 40 kişiden alınan dişlerde Pb elementini 0.13-80.37 mg/kg aralığında olduğunu bulmuşlardır (137). Biz çalışmamızda 0.saat grubunda Pb elementini 0.054 mg/kg olarak tespit ettik. Literatür taramasında Pb elementi için herhangi bir dokuda ölüm zamanı tahminine yönelik yapılan bir çalışma bulamadık. Çalışmamızda ortaya çıkan sonuçlara bakarak Pb elementinin ölüm zamanı tahmini konusunda kullanılabilirliğinin olabileceğini ve daha geniş kapsamlı çalışmalarla değerlendirilmesinin postmortem interval tahminine fayda sağlayabileceğini düşünüyoruz.

Si elementi için yapılan ölçümlerde gruplar arasında 3.ay grubu hariç anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. 1.ay grubunu 0.saat grubuna göre %10 oranında arttığı, 3.ay grubunu 1.ay grubuna göre 2 kat arttığı, 6.ay grubunu 3.ay grubuna göre %17 azaldığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %2 arttığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %48 arttığı tespit edildi.

Si elementi için gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; 0.saat grubunun 3.ay,6.ay,9.ay ve 12.ay gruplarına göre, 1.ay grubunun 3.ay ve 12. ay gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Si elementi için 3.ay grubunda dalgalanma olmakla birlikte gruplar arası anlamlı bir artış vardır. Bu dalgalanmanın kişisel ve çevresel faktörlerden kaynaklanabileceğini düşünüyoruz. Literatür taramasında Si elementi için herhangi bir dokuda ölüm zamanı tahminine yönelik yapılan bir çalışma bulamadık. Çalışmamızda ise Si elementinin ölüm sonrası süreçte değişimi anlamlı sonuçlar vermiştir. Bu nedenle Si elementi ölüm zamanı tahmini

konusunda kullanılabilir gözükmetedir ve daha geniş kapsamlı değerlendirilmesi gerekmektedir.

P elementi için yapılan ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamadı ve gruplar arası dalgalanmalar olduğu görüldü. 1.ay grubunun 0.saat grubuna göre %2 arttığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %25 arttığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %18 azaldığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %13 azaldığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %39 arttığı tespit edildi. Doğan K.H. ve arkadaşları da 96 saatlik süreyi kapsar şekilde yaptıkları çalışmada rat iskelet kası, miyokart, böbrek, karaciğer ve beyin dokusunda P elementinin postmortem interval değişiminde anlamlı sonuçlar elde edememişlerdir (127).

Ca elementi için yapılan ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamadı ve gruplar arası dalgalanmalar olduğu görüldü. Ca elementi ve P elementi grafiklerinin birbirlerine çok yakın olduğu dikkati çekti. İki grupta da 3.ay grubu artışından sonra 6.ay grubunda azalma olduğu, 9.ay grubunda azalma devam ettikten sonra kuvvetli bir 12.ay grubu yükselişi olduğu görüldü. Ca elementi 1.ay grubunun 0.saat grubuna göre %0.1 azaldığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %27 arttığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %13 azaldığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %14 azaldığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %37 arttığı tespit edildi. Walden ve arkadaşlarının domuz kemiklerinde yaptıkları çalışmada da Ca elementinin postmortem süreçte dalgalanmalar gösterdiği ve ölüm zamanı tahmini için uygun bir belirteç olmadığını ifade etmişlerdir (129). Rat karaciğer ve miyokart dokusunda yapılan başka bir çalışmada 96 saatlik postmortem gözlemde Ca elementinde yine dalgalanmalar olduğu görülmüştür (127).

Mn elementi için yapılan ölçümlerde grafiksel olarak düzenli sayılabilecek bir azalma olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlılık bulunamadı. 1.ay grubunun 0.saat grubuna göre %13 azaldığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %73 azaldığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %87 azaldığı görüldü. 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre 3,7 kat arttığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %49 azaldığı tespit edildi. 9.ay grubunda görülen artış ve 12.ay grubunun 6.ay grubundan hafif yüksek çıkması nedeniyle gruplar arası dalgalanmalar oluşmuştur. 0.saat, 1.ay, 3.ay ve 9.aylar arasında devamlılık gösteren bir azalma görülmüştür. Curzon ve Crocker MS cihazıyla yaptıkları çalışmalarında yaşları 10-20aralığında değişen 336 kişiden alınan

diş örneklerinde Mn elementi ortalamasını 0.60 mg/kg olarak tespit etmişlerdir (114). Biz çalışmamızda 0.saat grubunda Mn elementi ortalamasını 0.078 mg/kg olarak tespit ettik. Literatür taramasında Mn elementi için herhangi bir dokuda ölüm zamanı tahminine yönelik yapılan bir çalışma bulamadık. Bizim çalışmamızda Mn elementi ölüm sonrası süreçte 6 ay grubunun 9.ay grubunu göre daha fazla düşüş göstermesi dışında devamlı azalış göstermiştir. 1.ay grubundan sonra sert bir düşüş yaşanmış olup 3.,9.,12.aylarda düzenli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir. Grafiksel olarak Mn elementinin düşüşünün umut vaat ettiği görülmüştür. Mn elementinde görülen azalışın daha geniş kapsamlı değerlendirilmesi gerektiğini düşünüyoruz.

Zn elementi için yapılan ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamadı ve gruplar arası dalgalanmalar olduğu görüldü. 1.ay grubunun 0.saat grubuna göre %8 azaldığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %14 arttığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %7 azaldığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %13 azaldığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %2 arttığı tespit edildi. 0.saat ve 1.ay grupları arasında ve 3.ay, 6.ay ve 9.ay grupları arasında kendi içlerinde azalmalar görülse bile tüm grafikte dalgalanmalar olduğu dikkati çekti. Nagai ve arkadaşları sığır femur kemiği üzerinde yaptıkları çalışmada Zn elementinin deniz suyu, tatlı su ve yer altında kontrol grubuna göre 6.ay ve 12.ay gruplarında anlamlı değişiklikler olmadığını tespit etmişlerdir (130).

Cd elementi için yapılan ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamadı ve gruplar arası dalgalanmalar olduğu görüldü. Cd elementi ve Zn elementi grafiklerinin birbirlerine çok yakın olduğu dikkati çekti. Her iki grupta da 0.saate göre 1.ayda azalma olduğu, daha sonra 3.ayda bir artış gerçekleştiği, 6.ay ve 9.ayda düşüş yaşandığı ve 12.ayda 9.aya göre hafif yükseliş olduğu görüldü. Cd elementinin 1.ay grubunun 0.saat grubuna göre 2,8 kat azaldığı, 3.ay grubunun 1.ay grubuna göre %76 arttığı, 6.ay grubunun 3.ay grubuna göre %66 azaldığı, 9.ay grubunun 6.ay grubuna göre %80 azaldığı, 12.ay grubunun 9.ay grubuna göre %26 arttığı tespit edildi. Vrbic ve arkadaşları AAS cihazıyla yaptıkları çalışmalarında yaşları 38-61 aralığında değişen 20 kişiden alınan diş örneklerinde Cd elementi ortalamasını 0.03 ± 0.02 mg/kg olarak tespit etmişlerdir (138). Biz çalışmamızda 0.saat grubunda Cd elementi ortalamasını 0.0012 mg/kg olarak tespit ettik. Yapılan

literatür taramasında Cd elementi için herhangi bir dokuda ölüm zamanı tahminine yönelik yapılan bir çalışma bulamadık.

Sonuç olarak; çalışmamızda insan diş dokusunda yer alan 11 elementin ölüm sonrası miktarlarında görülen artma ve azalmaları aylara göre değerlendirerek element konsantrasyon değişimlerinin ölüm zamanı tahminine katkı sağlayıp sağlayamayacağını araştırdık. Na, Mg, Fe, Co, Pb, Si elementlerinde anlamlı değişiklikler olduğunu saptadık. Özellikle Co elementinin aylara göre değişimi dikkate değer şekilde düzenliydi. Pb elementi ve Fe elementinde görülen artış ve Na elementinde görülen azalışın birer grubun dışında düzenli olduğunu tespit ettik. Diş dokusunda çok daha fazla element bulunduğunu göz önüne alırsak daha çok element ile diş dokusunda ölüm zamanı tahmini hususunda çalışmalar yapılmalıdır.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı ve tahmin performansı yüksek iki denklem oluşturduk. Co elementi için oluşturulan denklemde tüm gruplarda PMİ tahmini yapılabilirdi. Na elementi için oluşturulan denklemde ise 3. ay, 6.ay ve 12.ay gruplarında PMİ tahmini yapıldı. Gelecekte yapmayı planladığımız 2.yıl, 5.yıl ve 10.yıl gruplarında hem bu iki denklem test edilecek olup hem de grafiklerinde ümit vaat eden Fe, Pb, Si, Mn gibi elementleri daha geniş kapsamda değerlendirilecektir.

Çalışmamızda sadece açık alanda bulunan diş dokusu değerlendirildi. Adli vakalarda cesetler açık alanın dışında toprağa gömülü, suya batırılmış ve daha çok çeşitli ortamlarda bulunabilmekte. Diş dokusunda element analizinin ölüm zamanı tahmini konusunda ümit vaat ettiğini gördük. Bu nedenle bu deneysel çalışmanın toprağın farklı tabakalarında değişik derinliklerde gömülerek toprakta ve farklı derinliklerde tatlı ve tuzlu suya batırılarak su içinde sınanmasının faydalı olacağını düşünüyoruz. Hatta adli tıp uygulamalarında karşımıza çıkabilecek çeşitli farklı ortamlarda bu konuda deneysel çalışmalar yapılmalıdır.

Çalışmamızda diş dokusunun çürüme sürecine bırakıldığı 12 aylık bir süre değerlendirildi. Diş dokusunun mukavemeti göz önüne alınırsa bu 12 aylık sürenin kısa olabileceği bir gerçek. 5 yıllık, 10 yıllık hatta daha uzun süreleri kapsar şekilde yapılacak deneylerin diş dokusundan ölüm zamanı tahmini konusunda çok daha faydalı bilgiler verebileceği kanaatindeyiz.

Tüm bu faktörler birlikte değerlendirildiğinde daha çok element, daha uzun süre ve farklı ortamlarda yapılan deneyler sonucunda çürüme sürecinde dış dokusunda element analizine bağlı denklemler ile netliği henüz olmayan ölüm zamanı tahmini konusuna büyük bir katkı sağlanabileceğini düşünüyoruz.

6. KAYNAKLAR

- 1- Hancı H. (2002). Adli Tıp ve Adli Bilimler. Syf: 9-22
- 2- Yıldırım E.F., Ölüm Zamanı Tayininde Yeni Biyolojik Belirteçlerin Tespiti, Ankara 2016, Yüksek Lisans Tezi
- 3- Cardoso HF, Santos A, Dias R, Garcia C, Pinto M, Sérgio C et al. Establishing a minimum postmortem interval of human remains in an advanced state of skeletonization using the growth rate of bryophyte sand plant roots. Int J Legal Med 2010;124(5):451-6 doi: 10.1007/s00414-009-0372-5
- 4- Rodríguez-Martín C, Bass WM. Decomposition of buried bodies and methods that may aid in their location. J Forensic Sci 1985;30(3):836-52.
- 5- Mann RW, Bass WM, Meadows L. Time since death and decomposition of the human body: Variables and observations in case and experimental field studies. J Forensic Sci 1990;35(1):103-11.
- 6- Ünlütürk Ö., İskelet Kalıntılarından Ölüm Zamanı Tayininde Radyoizotop Analizleri, Adli Tıp Bülteni, 2016; 21(3): 177-182
- 7- Simpson C.K., Simpson's Forensic Medicine, 13. Edition, 2003
- 8- Demiralp K, Kursun Cakmak S, Aksoy S et al Assessment of paranasal sinus parameters according to ancient skulls' gender and age by using cone beam computed tomography. Folia Morphol (Warsz) 2018
- 9- Tao L, Ma JL, Chen L (2016) Research progress on estimation of early postmortem interval. Fa yi xue za zhi 32:444–447
- 10- Pittner S, Ehrenfellner B, Monticelli FC, Zissler A, Sängner AM, Stoiber W, Steinbacher P (2016) Postmortem muscle protein degradation in humans as a tool for PMI delimitation. Int J Legal Med 130:1547–1555
- 11- Akbulut N., The micro-CT evaluation of enamel-cement thickness, abrasion, and mineral density in teeth in the postmortem interval (PMI): new parameters for the determination of PMI, International Journal of Legal Medicine (2020) 134:645–653

- 12- Yadav AB, Angadi PV, Kale AD, Yadav SK (2015) Histological assessment of cellular changes in postmortem gingival specimens for estimation of time since death. J Forensic Odonto-stomatology, 33:19–26
- 13- Higgins D, Rohrlach AB, Kaidonis J, Townsend G, Austin JJ (2015) Differential nuclear and mitochondrial DNA preservation in post-mortem teeth with implications for forensic and ancient DNA studies. PLoS One 10:e0126935
- 14- Güneş T.Ş, İnsan Diş Pulpasında Görülen Postmortem Histolojik Değişikliklerin Postmortem İntervalin Tespiti Açısından Değerlendirilmesi, Tokat 2020, Uzmanlık Tezi
- 15- Molleson T., Trace Elements In Human Teeth, G. Grupe et al. (eds.), Trace Elements in Environmental History, © Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1988, Syf: 67-68
- 16- Gülderen A., Kemik Kırık Uçlarında Makro ve Mikro Elementlerin Postmortem Süreçte Tespit Edilebilirliği Ve Antemortem-Postmortem Kırık Ayrımında Kullanılabilirliğinin Değerlendirilmesi, Tokat 2020, Uzmanlık Tezi
- 17- Doğan K.H., Sıçanlarda Doku Element Seviyeleri ve Postmortem İnterval, Selçuk Tıp Dergisi, 2007, Syf: 57-67
- 18- Göksel E., Afyon İli Çeşme Sularında Bazı Ağır Metal Kirlilik Düzeylerinin ICP-MS ile Araştırılması, Afyonkarahisar 2015, Yüksek Lisans Tezi
- 19- Haliloğlu Z.Ç., ICP-MS ile Saç Örneklerinde Element Tayini, Bursa 2020, Yüksek Lisans Tezi
- 20- Dokgöz H., Adli Tıp ve Adli Bilimler, Akademisyen Kitabevi, 2019
- 21- Arslan M.N., Koç S, Ölüm Belirtileri, Türkiye Klinikleri J Foren Med-Special Topics 2016;2(1)
- 22- DiMaio D, VJ D. Forensic Pathology. 2001, Boca Raton: CRC Press, United States
- 23- Soysal Z., Eke M., Çağdır A.S., Adli Otopsi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları Rektörlük Yayın No:4164, İstanbul 1999
- 24- Tsokos M., Postmortem changes, Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine, Elsevier Ltd., Amsterdam, 2005

- 25- James J.P., Bussutil A., Smock W. Forensic medicine: Clinical and Pathological Aspects 2003.
- 26- Morgan C., Nokes L.D.M., Williams J.H., et al. Estimation Of The PM Period By Multipsite Temperature Measurements And The Use Of A New Algorithm. Forensic Sci Int 1988;39:89-95.
- 27- Al-Alousi L.M., Anderson R.A., Land D.V. A Non-Invasive Method For PM Temperature Measurements Using A Microwave Probe. Forensic Sci Int 1994;64:35-46
- 28- Madea B, Estimation of The Time Since Death, 3rd ed, 2016, Boca Raton: CRC Press, United States.
- 29- Koehler K., Post Mortem Chemical Excitability Of The Iris Should Not Be Used For Forensic Death Time Diagnosis, Int J Legal Medicine, 2018 Nisan 18:1-5
- 30- Shapiro HA. The Postmortem Temperature Plateau. J Forensic Med 1965;12:137-41
- 31- Marshall TK. The Use Of Body Temperature In Estimating The Time Of Death And Its Limitations. Med Sci Law., 1969, Temmuz, 9(3):178-182
- 32- Knight B (ed). Forensic Pathology. 2nd Edition. London: Arnold Publishing; 1996
- 33- Henssge C. Death Time Estimation In Case Work, The Rectal Temperature Time Of Death Nomogram. Forensic Sci Int. 1988 Eylül 1, 38(3-4):209-36
- 34- James J.P., Bussutil A., Smock W. Forensic medicine: Clinical and Pathological Aspects 2003.
- 35- Siegel J. Postmortem Interval. Encyclopedia of Forensic Sciences. Three Volume Set 2000.
- 36- Dix J., Graham M. Time Of Death Decomposition And Identification: An Atlas. Florida 2000.
- 37- Varetto L., Curto O., Long Persistence Of Rigor Mortis At Constant Low Temperature. Forensic Science Int., 2005, Ocak 6;147 (1):31-4
- 38- Alper B., Azmak D., Çekin N., ve ark. Adli Otopsi ve Adli Patoloji, Birinci Basamak için Adli Tıp El Kitabı. TTB Yayınları, Polat Matbaası, Ankara 1999; 36-48.

- 39- Tsakos M., Postmortem Changes And Artifacts Occuring During The Early Postmortem Interval, Forensic Pathology Reviews, Humana Press, New Jersey 2005.183-238
- 40- Romanelli, Carolina M., Hypostasis And Time Since Death: State Of Art In Italy And A Novel Approach For An Operative Instrumental Protocol, Am J Forensic Med Pathol, 36.2, (2015):99-103
- 41- Reed Jr HB., A Study Of Dog Carcass Communities In Tennessee With Special Reference To The Insects. Am Midl Nat, 1958 Ocak 1:213-45
- 42- Megyesi MS, Nawrocki SP, Haskell NH. Using Accumulated Degree-Days To Estimate The Postmortem Interval From Decomposed Human Remains. J Forensic Sci 2005;50(3):618-26.
- 43- Vass AA., The Elusive Universal Post Mortem Interval Formula. Forensic Sci Int, 2011, Ocak, 30;204(1-3):34-40
- 44- Poposka V, Estimation Of Time Since Death Through Electric And Chemical Excitability Of Muscle, Prilozi, 2011, 32 (1):211-218
- 45- Elmas I, Baslo B, Ertas M, Kaya M. Analysis Of Gastrocnemius Compound Muscle Action Potential in Rat After Death: Significance For The Estimation Of Early Postmortem Interval. Forensic Sci Int 2001; 116: 125–132.
- 46- Orrico M., Criminal investigations. Pupil Pharmacological Reactivity As Method For Assessing Time Since Death Is Fallacious. Am J Forensic Med Pathol, 2008, Aralık, 1;29(4):304-8
- 47- Jaffe, F. A. 1989. Stomach Contents and The Time of Death. Reexamination of Apersistent Question. Am. J. For. Med. Pathol. 10:525
- 48- Watson J.W, DNA Degradation As An Indicator of Post-Mortem Interval, University of North Texas, August 2010
- 49- Costa I. Et Al, Promissing Blood Derived Biomarkers For Estimation Of The Postmortem Interval, The Royal Society Of Chemistry, 2015, DOI: 10.1039/C5tx00209e
- 50- Donaldson AE, Metabolomics Of Postmortem Blood, Identifying Potential Markers Of Postmortem Interval, Metabolomics, 2015 Şubat, 1;11(1):237-245
- 51- Wu Z, Estimation Of Early Postmortem Interval In Rats GC-MS Based Metabolomics. Legal Med, 2018 Mart 1;31:42-48

- 52- Coe J.I. PM Chemistry Update, Emphasis On Forensic Application. Am J Forensic Med Pathol 1993;14(2):91-117.
- 53- Querido D. In vitro Loss Of Potassium From Erythrocytes During The 0-108 H PM Period In Rats: Relationship Between Potassium Loss And Postmortem interval. Forensic Sci Int 1991; 51:111-123.
- 54- Kominato Y. Et Al., Estimation PM Interval Based On Third Component Of Complement (C3) Cleavage. J Forensic Sci 1989;34(1):207-217.
- 55- Rajesh B, Dixit PG Evaluation Of Morphological Changes In Blood Cells Of Human Cadaver For The Estimation Of Postmortem Interval. Ind Medica 2007; 7
- 56- Kolusayın Ö, Koç S., Adli Tıp 1, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Rek No:4165, İstanbul, 1999, 93-151
- 57- Sturner Wq, The Postmortem Interval, Am J Clin Pathol, 1964 Ağustos, 1;42(2):137-144
- 58- Coe JI., Postmortem Chemistries On Human Vitreous Humor. Am J Clin Pathol, 1969 Haziran, 1;51(6):741-750
- 59- Madea B, Reference For Determining The Time Of Death By Potassium In Vitreous Humor, Forensic Sci Int, 1989, Mart 1;40(3):231-243
- 60- Ding Y, Estimation Of Postmortem Interval By Vitreous Potassium Evaluation With Novel Fluorescence Aptasensor, Sci Rep, 2017, Mayıs, 12;7(1):1868
- 61- Wilkie I.W., Bellamy J.E.C, Estimation of Antemortem Serum Electrolytes and Urea Concentrations From Vitreous Humor Collected Postmortem, Can J. Comp. Med. 46:146-149 (April 1982)
- 62- Jashnani K.D. et al, Vitreous Humor: Biochemical Constituents in Estimation of Postmortem Interval, J Forensic Sci, November 2010, Vol.55, No 6, DOI: 10.1111/j.1556-4029.2010.01501.x
- 63- Mihailovic Z et al, The Role of Vitreous Magnesium Quantification in Estimating the Postmortem Interval, J Forensic Sci, May 2014, Vol.59, No 3, DOI: 10.1111/1556-4029.12286

- 64- Madea B. Is There Recent Progress In The Estimation of The Postmortem Interval by Means of Thanatochemistry? *Forensic Sci Int* 2005;151(2):139-49.
- 65- Rognum TO, A New Biochemical Method For Estimation Of Postmortem Time, *Forensic Sci Int*, 1991, Ekim, 1;51(1):139-146
- 66- Rosa MF, Monitoring The Modifications Of Vitreous Humor Metabolite Profile After Death: An Animal Model. *Biomed Res Int*, 2015
- 67- Bar W, DNA: Postmortem Stability In Various Human Organ Tissues. In *Advances In Forensic Haemogenetics*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1988;392-395
- 68- Xiong P, Raman Micro Spectroscopic Analysis Of Relationship Between DNA Degradation In Tissue Cells And Postmortem Interval. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*. 2010 Haziran 1;30 (6):1511-1515
- 69- Mona AE, The Relationship Between Postmortem Interval And DNA Degradation In Different Tissues Of Drowned Rats. *Mansoura J Forensic Med Clin Toxicol*, 14, 2008:45-61
- 70- Johson LA, Analysis Of Postmortem DNA Degredation By Single Cell Gel Electrophoresis, *Forensic Sci Int*, 2002 Mart 28;126(1):43-47
- 71- Rubio L, Time Depandent Changes In DNA Stability In Decomposing Teeth Over 18 Months, *Acta Odontol Scand*, 2013 Ocak 1;71(3-4):638-643
- 72- Boy SC, Flow Cytometric Evaluation Of Postmortem Pulp DNA Degredation, *Am J Forensic Med Pathol*, 2003, Haziran, 1;24(2):123-127
- 73- Xiao JH, A Preliminary Study On Estimation Of Postmortem Interval According To Be Actin mRNA Stability In Rat, *Fa Yi Xue Za Zhi*, 2005, Şubat, 21(1):19-20
- 74- Lv YH., A Time Course Study Demonstrating mRNA, micro RNA, 18 S rRNA, U 6 snRNA Changes To Estimate Pmı In Deceased Rat's Spleen, *J Forensic Sci*, 2014, Eylül;59 (5):1268-1294
- 75- Young ST, Estimating Postmortem Interval Usin RNA Degradation And Morphological Changes In Tooth Pulp. *Forensic Sci Int*, 2013, Haziran 10;229(1-3):163

- 76-Poor VS., The Rate Of Rna Degradation In Human Dental Pulp Reveals Postmortem Interval. *Int J Legal Med*, 2016 Mayıs 1;130 (3):615-619
- 77-Tuomisto S, Evaluation Of Postmortem Bacterial Migration Using Culturing and Real Time Quantitative Pcr, *Journal Of Forensic Sciences*, 2013;58(4):910-6. Doi: 10.1111/1556-4029.12124.
- 78- Bergmann R, An Rna-Based Analysis Of Changes In Biodiversity Indices In Response To *Sus Scrofa Domestica* Decomposition. *Forensic Science International*. 2014;241:190-4. Doi: 10.1016/J.Forsciint.2014.06.001
- 79-Dickson GC, Marine Bacterial Succession As A Potential Indicator Of Postmortem Submersion Interval. *Forensic Science International*. 2011;209(1):1-10. Doi: 10.1016/J.Forsciint.2010.10.016.
- 80- Liu Q, Bioluminescent Assay Of Microbial Atp In Postmortem Tissues For The Estimation Of Postmortem Interval. *Journal Of Huazhong University Of Science And Technology Medical Sciences = Hua Zhong Ke Ji Da Xue Xue Bao Yi Xue Ying De Wen Ban = Huazhong Keji Daxue Xuebao Yixue Yingdewen Ban*. 2009;29(6):679-83. Doi: 10.1007/S11596-009-0601- 7. Pubmed Pmid: 20037806.
- 81- Roberts FJ. Procurement, Interpretation, And Value Of Postmortem Cultures. *European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication Of The European Society Of Clinical Microbiology*. 1998;17(12):821-7. Doi: 10.1007/S100960050200. Pubmed Pmid: 10052543.
- 82-Silver H, A Practical and Efficacious Method For Obtaining Significant Postmortem Blood Cultures. *Am J Clin Pathol*. 1969;52(4):433-7. Pubmed Pmid: 5820971.
- 83- Yıldırım MŞ, Mikrobiyolojik Yöntemlerin Postmortem İnterval Tahmininde Kullanımı, *Adli Tıp Bülteni*, 2015; 20(1): 56-59.
- 84-Kökdener M., Ölüm Zamanı Tayininde Adli Entomolojik Delillerin Kullanımı, *GÜSBD* 2016; 5(3): 105-110
- 85-Smith K., A manuel of forensic entomology, Oxford University Printing House;1986
- 86-Anderson G, Insect Succession On Carrion and Its Relationship To Determining Time Of Death, *Forensic Entomology, The Utility of Arthropods in Legal Investigations: CRC Press LLC*,2001, syf:143-175

- 87- Açıkgöz N.H, Adli Olaylarda Böceklerden Nasıl Yararlanılır?, Ankara Üniversitesi Hukuk Fakültesi Dergisi, 2002, C51, Sa 3.
- 88- Madea B. Letter to the editor. Comments on " Nerve conduction as a means of estimating early postmortem interval" by K.J Straton, A.Busuttil and M.A.Glasby. Int J Leg Med 1993;105:301-302.
- 89- Amnedt J., Forensic Entomology.Naturwissenschaften,2004,91(2):syf:51-65
- 90- Kikuchi K. et al, HMGB-1: A New Marker for Estimation of The Postmortem Interval, Experimental and Therapeutic Medicine 1: 109-111, 2010.
- 91- Li W., Study On The Correlation Between PMI and OD Changes In Rat's Plasma, Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi. 2008 Dec;28(12):2944-6.
- 92- Querido D.,Time-Dependent Changes In Electrical Resistance of The Intact Abdomen During the 1-504 h Postmortem Period In Rats, Forensic Science International 67 (1994) 17-25.
- 93- Wehner F. et al, Delimitation of The Time of Death by Immunohistochemical Detection of Calcitonin, Forensic Science International 122 (2001) 89-94.
- 94- Kang S. et al, Post-Mortem Changes In Calmodulin Binding Proteins In Muscle And Lung, Forensic Science International 131 (2003) 140-147.
- 95- Sun T.et al, Interpolation Function Estimates Postmortem Interval Under Ambient Temperature Correlating With Blood Atp Level, Forensic Science International 238 (2014) 47–52.dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.02.014.
- 96- Lorenzen G.A., Lawson R.L. A possible new approach for determining the post-mortem interval. The Journal of Criminal Law, Criminology, and Police Science 1971;62(4):560-563.

- 97- Webb P.A., Terry H.J., Gee D.J. A Method For Time Of Death Determination Using Ultrasound: A Preliminary Report. J Forensic Sci Soc. 1986;26(6):393-9.
- 98- Wieberg DA, Estimating the timing of long bone fracture; Correlation between the postmortem interval, bone moisture content and blunt force trauma fracture characteristics. J Forensic Sci 2008;53 (5):1028-34
- 99- Swift B., Dating Human Skeletal Remains: Investigating The Viability of Measuring The Equilibrium Between ^{210}Po And ^{210}Pb As A Means of Estimating The Post-Mortem Interval, Forensic Science International 98 (1998) 119–126
- 100- Aykut L., İskeletleşmiş Cesetlerde Postmortem İnterval Tahmini, Adli Tıp Dergisi, 2016;30(1), syf:71-76
- 101- Bulut Ö., Cesedin Ayrışma Durumuna Göre Birikmiş Gün Sıcaklıkları ile Postmortem İnterval Tahmini, Adli Tıp Bülteni, 2016; 21(2): 107-115, doi:10.17986/blm.2016220396
- 102- Pickering R, The Use of Forensic Antropology, Boca Raton FL: CRC Press, Inc., 2009
- 103- Yoshino M., Microscopical Study On Estimation Of Time Since Death In Skletal Remains, For Sce Int, 1991;49(2):143-158
- 104- Ramsthaler F, Postmortem Interval of Skletal Remains Through The Detection od İnrosseal Hemin Traces. A compresion of UV fluorescence, Luminol, Hexagen-OBTI, Combur tests. Forensic Sci Int 2011;209(1-3):59-63
- 105- Swift B. The timing of death. In: Rutty GN ed. Essentials of Autopsy Practice. London: Springer--Verlag. 2006:189--214.

- 106- Knight B, Lauder I. Practical methods of dating skeletal remains: preliminary study. Med Sci Law 1967;7[4]:205-8
- 107- Keleş S., Radyoterapinin Farklı Dozlarının Süt Dişlerinin Mineral İçeriğine Ve Poliasit Modifiye Rezin Kompozitin Bağlanma Gücü Üzerine Etkisi, Erzurum, 2013, Doktora Tezi
- 108- Afşin. H, (2004), Adli Diş Hekimliği, Adli Tıp Kurumu Yayınları- 10, İstanbul
- 109- Kafrawy AH. Biologic Considerations In the Selection and use of Restorative Materials. Dental Clinics of North America, 1983,27:645-656
- 110- Fuks AB. Pulp therapy for the primary dentition. In: Pinkham JR, Casamassimo PS, McTigue DJ, Fields HW, Nowak AJ (eds). Pediatric Dentistry, 4 th ed. St Louis, Missouri; 2005:375-395
- 111- Fischer A, Wiechula D, Postek-Stefanska L, Kwapulinski J. Concentrations of Metals in Maxilla and Mandible Deciduous and Permanent Human Teeth. Biological Trace Element Research, 2009,132:19-26.
- 112- Reitznerova E, Amarasiriwardena D, Kopcakova M, Barnes RM. Determination of some trace elements in human tooth enamel. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 2000,367:748-54.
- 113- Riyat M, Sharma DC. Analysis of 35 Inorganic Elements in Teeth in Relation to Caries Formation. Biological Trace Element Research, 2009,129:126-129.
- 114- Curzon, M.E.J., Crocker, D.C., Relationships of trace elements in human tooth enamel to dental caries. Arch. oral. Biol., 23 (1978) 647-653.

- 115- Lindh, U., Tveit, B., Proton microprobe determination of fluorine depth distributions and surface multielement characterization in dental enamel, *J. Radioanal. Chem.*, 59 (1) (1980) 167-191.
- 116- Manea-Krichthen, M., Patterson, C, Miller, G., Settle, D., Erel, Y., Comparative increases of lead and barium with age in human tooth enamel, rib and ulna, *Sci. Total Environ.*, 107 (1991) 179-203.
- 117- Cutress, T.W., A preliminary study of the microelement composition of the outer layer of dental enamel, *Caries Res.*, 13 (1990) 73-79.
- 118- Nowak, B., Occurrence of heavy metals and sodium, potassium, and calcium in human teeth, *Analyst*, 120 (1995) 747-750.
- 119- Lappalainen, R, Knuuttila, M., The distribution and accumulation of Cd, Zn, Pb, Cu, Co, Ni, Mn, and K in human teeth from five different geological areas of Finland, *Archs. Oral Biol.*, 24 (1979) 363-364.
- 120- Lindh, U., The nuclear microprobe applied to bioenvironmental studies, *Nucl. Instr. Methods*, 181 (1981) 171-178.
- 121- Knuuttila, M., Lappalainen, R, Alakujjala, P., Relationships between carbonate, sex and other macroelements in human whole enamel, *Scand. J Dent. Res.*, 93 (1993) 1-3.
- 122- Bellis DJ, Hetter KM, Jones J, Amarasiriwardena D, Parsons PJ. Lead In Teeth From Lead-Dosed Goats: Microdistribution And Relationship To The Cumulative Lead Dose. *Environmental Research*, 2008,106:34-41.
- 123- Lobinski R, Moulin C, Ortega R. Imaging And Speciation Of Trace Elements In Biological Environment. *Biochimie*, 2006,88:1591-1604.

- 124- Iyengar GV, Tandon L., Minor and Trace Elements In Human Bones and Teeth, International Atomic Energy Agency,31/25, P.O. Box 100, A-1400 Vienna, Austria
- 125- Beauchemin D. Anal. Chem. 2006, 78, 4111-4135
- 126- Göksel E. Afyon İli Çeşme Sularında Bazı Ağır Metal Kirlilik Düzeylerinin ICP-MS ile Araştırılması,2015 Afyonkarahisar, Yüksek Lisans Tezi
- 127- Doğan KH., Postmortem Changes In Element Levels İn Rat Skeletal Muscle Tissue, Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010;30(4):1332-8
- 128- M.J. Prieto-Castello ve ark. Application of biochemical and X-ray diffraction analyses to establish the postmortem interval, Forensic Science International 172 (2007) 112–118,
- 129- Walden S.C ve ark. An Analysis of Systematic Elemental Changes in Decomposing Bone, J Forensic Sci, January 2018, Vol. 63, No. 1,
- 130- Nagai M., Evaluation of Parameters for Estimating the Postmortem Interval of Skeletal Remains Using Bovine Femurs: A Pilot Study, Diagnostics 2020, 10, 1066; DOI:10.3390/diagnostics 10121066
- 131- Boy S.C. et al, Flow Cytometric Evaluation of Postmortem Pulp DNA Degradation, Am. J. Forensic Med. Pathol. 24 (2) (2003) 123–127
- 132- Bush VJ, Moyer TP, Batts KP, Parisi JE. Essential And Toxic Element Concentrations In Fresh And Formalin-Fixed Human Autopsy Tissues. Clin Chem. 1995. 41(2):284-94.
- 133- Takahashi S, Takahashi I, Sato H, Kubota Y, Yoshida S, Muramatsu Y. Determination of major and trace elements in the liver of Wistar rats by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry and mass spectrometry. Lab Anim. 2000. 34(1):97-105.
- 134- Benes B, Jakubec K, Smid J, Spevackova V. Determination of thirty-two elements in human autopsy tissue. Biol Trace Elem Res. 2000. 75(1-3):195-203.

- 135- Vass, A.A. (2001). "Beyond The Grave-Understanding Human Decomposition." *Microbiology Today* 28; 190-193
- 136- Carvalho, M.L., Marques, A.F. (2008). "Diagenesis Evaluation in Middle Ages Human Bones Using EDXRF." *X-Ray Spectrometry* 37; 32–36.
- 137- Gil, F., Perez, M.L., Facio, A., Villanueva, E., Tojo, R., Gil, A., Dental lead levels in the Galician population, Spain, *Sci. Total Environ.*, 156 (1994) 145-150.
- 138- Vrbic, V., Stupar, J., Byrne, A.R., Trace element content in primary and permanent tooth enamel, *Caries Res.*, 21 (1987) 37-39.



