



T.C

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**İNSAN DIŞ PULPASINDA GÖRÜLEN POSTMORTEM HİSTOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN POSTMORTEM İNTERVALİN TESPİTİ AÇISINDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. TUBA ŞAHİNOĞLU GÜNEŞ

UZMANLIK TEZİ

TOKAT-2020



T.C

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**İNSAN DİŞ PULPASINDA GÖRÜLEN POSTMORTEM HİSTOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN POSTMORTEM İNTERVALİN TESPİTİ AÇISINDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. TUBA ŞAHİNOĞLU GÜNEŞ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. BÜLENT EREN

TOKAT-2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde, bilgi birikimleri ve tecrübeleriyle, mesleki gelişimime katkıda bulunan, adli tıp eğitimim konusunda her türlü desteği sağlayan, tezimin hazırlanmasında katkıları olan değerli hocalarım, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç.Dr. Bülent EREN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÇETİN'e,

Uzmanlık eğitimimin bir bölümünde kendileriyle birlikte çalışmış ve tecrübelerinden faydalanabilmiş olmayı mesleki hayatım için büyük bir kazanım olarak gördüğüm, asistanlığımın tecrübesiz yıllarında bana sabırla muamele eden, kıymetli hocalarım, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof.Dr. Çağlar ÖDEMİR'e ve Dr. Öğr. Üyesi Haşim ASİL'e teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanışında bana yol gösteren, gerek patoloji gerek adli tıp alanında sahip olduğu bilgi ve birikimini esirgemeyen, değerli danışman hocam Doç. Dr. Bülent EREN'e tekrardan teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında, bana kıymetli vakitlerinden ayırarak yardımcı olan Üniversitemiz Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nihat Akbulut'a, Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇETİN'e, tezimin hazırlanışında ve verilerin analizinde yardımlarından dolayı Üniversitemiz Biyoistatistik Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Osman DEMİR'e teşekkür ederim.

Asistan ortamlarına sonradan katılmama rağmen, yabancılık duygusu hissettirmeden beni aralarına dahil eden, birlikte çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarım Dr. Abuzer GÜLDEREN'e ve Dr. Sertaç Dalgıç'a,

Bu uzmanlık alanını seçmemde etkisi büyük olan, tercih ettiğim her yolda bana ışık olan babama,

Uzmanlık eğitimimin hem zorlu hem keyifli zamanlarının en yakın şahidi, en kuvvetli destekçim değerli eşim Tarık'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Tuba ŞAHİNOĞLU GÜNEŞ

ÖZET

Amaç: Postmortem interval (PMI) tayini, şüpheli ölüm olgularında ölümün gerçekleştiği zamanın belirlenebilmesi yönüyle adli bilimler açısından kritik öneme sahiptir. PMI tayiniyle genellikle kesin bir ölüm zamanı belirtilememekte, ölümün gerçekleşmiş olması muhtemel olan bir zaman aralığından bahsedilmektedir. Bu zaman aralığının daralması ve doğruluğunun artması ancak yeni geliştirilecek PMI tayini yöntemleriyle mümkün olacaktır. Çalışmamız ile insan diş pulpasında görülen postmortem histolojik değişikliklerin PMI tayininde kullanılabilirliğinin tespiti amaçlanmıştır.

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 alınarak koşulları kontrol edilebilir ortamda çürümeye bırakılmıştır. Örnekler, çekim sonrası 0. saat (kontrol grubu), 7, 15, 30, 60, 90 ve 180. gün olmak üzere, her grupta 10 örnek olacak şekilde toplam 7 gruba ayrılmış, dekalsifikasyon işlemi sonrasında, hücresel yapılar, ekstraselüler matriks, kan damarları, predentin tabaka ve kollajen liflerinde izlenen değişimler H&E ve Masson Trichrom boyaları kullanılarak, ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Çalışma gruplarının genel özellikleri hakkında bilgi vermek amacıyla tanımlayıcı analizler yapılmıştır. Kategorik değişkenlere ilişkin verilerse (%) şeklinde belirtilmiştir. Tekrarlı ölçümler arasındaki karşılaştırma için non-parametrik Friedman testi kullanılmıştır. P değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Hücresel yapılarda, ekstraselüler matrikste, kan damarlarında, predentin tabakada ve kollajen liflerinde PMI ile korele histopatolojik değişiklikler izlenmiş, kontrol grubuyla bazı çalışma grupları arasında anlamlı farklılık olduğu istatistiki olarak ispatlanmıştır.

Sonuç: Diş pulpasının korunaklı yapısından dolayı PMI tayininde kullanılabilecek kıymetli bir doku olduğu, ancak PMI ile korelasyonunun ispatlanabilmesi için diğer PMI tayini yöntemleriyle de desteklenir daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Postmortem interval, dental pulpa, adli diş hekimliği

ABSTRACT

Aim: Postmortem interval (PMI) determination is one of the main study topics for forensic medicine. Postmortem interval determination generally give us the time interval in which deathay have occurred. Increasing the accuracy of PMI determination will only be possible with the newly developed methods. The aim of this study was to evaluate the histological changes in the human dental pulp in the postmortem process with experimental model and to demonstrate its usefulness in terms of PMI determination.

Materials-Methods: In our study, we use 70 human 3rd molar teeth taken from the people who applied to oral and dental surgery deapartment. 70 teeth divided 7 groups each groups contain 10 teeth. The teeth in control group put into decalcifications liquid, other samples put into natural environment for putrefications. The other samples were taken on postmortem 7, 15, 30, 60, 90 and 180 days respectively. After decalcification, they were stained with Hematoxylin&Eosin and Masson Trichrom. Cell morphology, extracellular matrix, vascular structures, predentin layer, and collagen fibers were evaluated semiquantitatively under the microscop.

Descriptive analyzes were carried out to give information about the general characteristics of the working groups. Regarding categorical variables, it is stated as n (%). Statistical analyses were performed by Friedman test. P value less than 0.05 was considered as significant.

Results: All of the samples showed some histomorphologic changes correlated with PMI. Statistical analysis showed that significant difference between groups in terms of cell morphology, extracellular matrix, vascular structures, predentin layer, and collagen fibers.

Conclusion: Dental pulp is valued tissue for PMI determination because of the its sheltered structure. Time-dependent postmortem progressive histologic changes in dental pulp can be used as an alternative method in the detection of PMI but this will be supported by further studies.

Keywords: Postmortem interval, dental pulp, forensic dentistry

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
KISALTMALAR	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. PMI TAYİNİNDE KULLANILAN FİZİKSEL YÖNTEMLER	3
2.1.1. Livor Mortis (Ölü Morluğu)	3
2.1.2. Algor Mortis (Ölü Soğuması)	4
2.1.3. Rigor Mortis (Ölü Katılığı).....	6
2.1.4.Çürüme	7
2.1.5. Mide Boşalma Hızı.....	9
2.1.6. Gözde Makroskopik Değişiklikler	9
2.2.PMI TAYİNİNDE KULLANILAN BİYOKİMYASAL YÖNTEMLER	10
2.2.1. Kan İncelemeleri	10

2.2.2. Vitroz Humör İncelemeleri	11
2.2.3. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) İncelemeleri	13
2.2.4. Perikard Sıvısı İncelemeleri	14
2.2.5. Dokularda Glukoz ve Glukojen İncelemesi	14
2.2.6. Dokularda Element Seviyesi İncelemesi	14
2.3. PMI TAYİNİNDE KULLANILAN MİKROBİYOLOJİK YÖNTEMLER	15
2.4. PMI TAYİNİNDE KULLANILAN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER	16
2.4.1. Kemik İliği ve Kan Hücrelerindeki Değişim	16
2.4.2. Deri Tabakalarındaki Değişim.....	17
2.4.3. Fosfofruktokinaz-2 (PFK-2) düzeyi ölçümü	17
2.4.4. Aktin Degredasyonunun Saptanması	18
2.5. İSKELETTEŞMİŞ CESETLERDE PMI TAYİNİ	18
2.6. DİĞER GÜNCEL PMI TAYİN YÖNTEMLERİ.....	20
2.6.1. Abdominal Rezistans.....	20
2.6.2. Kalsitoninin İmmünohistokimyasal Tespiti.....	20
2.6.3. Kalmodulin Bağlayıcı Proteinlerin Gösterilmesi	21
2.6.4. Dokuda ve Kanda ATP Düzeyi Belirlenmesi	21
2.6.5. Yüksek Hareketlilik Grubu Protein 1(HMGB ₁) Düzeyi Ölçümü.....	21

2.6.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Kullanımı	21
2.6.7. UV Vis Spektroskopisi Kullanımı	21
3.GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. GRUPLANDIRMA	22
3.2. ÖRNEKLERİN HİSTOPATOLOJİK İNCELEME İÇİN HAZIRLANIŞI	23
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	33
4.BULGULAR	34
4.1. Hücresel Yapılarda İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular	34
4.2. Ekstraselüler Matrisde İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular	36
4.3. Kan Damarlarında İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular	39
4.4. Predentin Tabakada İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular	41
4.5. Kollajen Liflerinde İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	46
6.KAYNAKLAR	53

KISALTMALAR

PMI	: Postmortem interval
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
ATP	: Adenozin Trifosfat
CO	: Karbonmonoksit
K⁺	: Potasyum
Na⁺	: Sodyum
Mg²⁺	: Magnezyum
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
Ca²⁺	: Kalsiyum
Cu²⁺	: Bakır
Fe²⁺	: Demir
S²⁻	: Kükürt
Zn²⁺	: Çinko
PFK-2	: Fosfofruktokinaz-2
ADD	: Birikmiş gün sıcaklığı
TBS	: Total vücut skoru

^{14}C : Karbon:

UV : Ultraviyole

nm : Nanometre

HMGB₁ : Yüksek Hareketlilik Grubu Protein 1

FTIR : Fourier Dönüşümlü Kızılötesi

H&E : Hematoksilen & Eozin

mikro-CT : Bilgisayarlı mikro tomografi

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo-1: Grupların Çürümeye Bırakıldığı Çevre Koşulları	23
Tablo-2: H&E ile hazırlanan preperatlarda kullanılan histokimyasal değerlendirme ölçütleri.....	26
Tablo-3: Masson Trichrom ile hazırlanan preperatlarda kullanılan histokimyasal değerlendirme ölçütleri.....	27
Tablo-4: Hücresel yapılarda görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları	36
Tablo-5: Ekstraselüler matriksde görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları	38
Tablo-6: Kan damarlarında görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları	41
Tablo-7: Predentin tabakada görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları	43
Tablo-8: Kollajen liflerinde görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1. Mandibula benzeri deney modeli	24
Şekil-2. Hayvansal çizgili kas dokusu ile modelin kapatılması	24
Şekil-3. Deney modelleri için saklama kafesi	25
Şekil-4. Dekalsifikasyon işlemi sonrası vertikal kesilebilen diş örnekleri	25
Şekil-5: Hücresel yapı, ekstraselüler matriks, kan damarları ve preنتين tabaka mikroskopik görüntüsü, dereceleri 3+	27
Şekil-6: Hücresel yapıların mikroskopik görüntüsü, derecesi 2+	28
Şekil-7: Ekstraselüler matriksin mikroskopik görüntüsü, derecesi 2+	28
Şekil-8: Kan damarlarının mikroskopik görüntüsü, derecesi 2+	29
Şekil-9: Preنتين tabakanın mikroskopik görüntüsü, derecesi 2+	29
Şekil-10: Hücresel yapı, ekstraselüler matriks ve preنتين tabaka mikroskopik görüntüsü, dereceleri 1+	30
Şekil-11: Kan damarları mikroskopik görüntüsü, derecesi +1	30
Şekil-12: Hücresel yapı, ekstraselüler matriks, kan damarları ve preنتين tabaka mikroskopik görüntüsü, dereceleri 0	31
Şekil-13: Kollajen lifleri mikroskopik görüntüsü, derecesi 3+	31
Şekil-14: Kollajen lifleri mikroskopik görüntüsü, derecesi 2+	32
Şekil-15: Kollajen lifleri mikroskopik görüntüsü, derecesi 1+	32

Şekil-16: Kollajen lifleri mikroskopik görüntüsü, derecesi 0.....	33
Şekil-17: Kontrol grubu (Grup-1) hücrel yapıların mikroskopik görüntüsü.....	34
Şekil-18: Çekim sonrası 180. gün (Grup-7) hücrel yapıların mikroskopik görüntüsü.....	35
Şekil-19: Hücrel yapılarda görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı	35
Şekil-20: Kontrol grubu (Grup-1) ekstraselüler matriks mikroskopik görüntüsü	37
Şekil-21: Çekim sonrası 180. gün (Grup-7) ekstraselüler matriks mikroskopik görüntüsü.....	37
Şekil-22: Ekstraselüler matriksde görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı	38
Şekil-23: Kontrol grubu (Grup-1) kan damarlarının mikroskopik görüntüsü	39
Şekil-24: Çekim sonrası 15. gün (Grup-3) kan damarlarının mikroskopik görüntüsü.....	40
Şekil-25: Kan damarlarında görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı	40
Şekil-26: Kontrol grubu (Grup-1) predentin tabakanın mikroskopik görüntüsü	42
Şekil-27: Predentin tabakada görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı	42
Şekil-28: Kontrol grubu (Grup-1) kollajen liflerinin mikroskopik görüntüsü.....	44

Şekil-29: Kollajen liflerinde görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı	44
--	----

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Ölü muayenesi ve adli otopsi ani, beklenmedik, şüpheli ölüm vakalarında, her ülkenin kendi yasaları ile belirlediği talimatlara uygun olarak, şüpheleri ortadan kaldırmak amacıyla yapılan postmortem inceleme yöntemleridir (1). Ölü muayenesi ve otopsi işleminin amaçları arasında bulunan ölümün gerçekleşmiş olduğu zamanının belirlenmesi de adli tıp uygulamalarında önem arz etmektedir ve ülkemizde de yürürlükte olan Ceza Muhakemesi Kanunu Madde 86'ya göre ölü muayenesi yapan hekim tarafından ölüm zamanının belirlenmesine yönelik tüm bulguların saptanması istenmektedir (2).

Postmortem interval (PMI) tayini, şüpheli ölüm olgularında ölümün gerçekleştiği zamanın belirlenebilmesi yönüyle adli bilimler açısından kritik öneme sahiptir. Bu alanda fiziksel, biyokimyasal, histopatolojik yöntemler gibi çok çeşitli yöntemler kullanılmakta olup bu tekniklerin bazıları çok eski çağlara dayanmakta iken bazıları ise hızla gelişen bilim dünyasında henüz yerini almaya başlamış tekniklerdir. Günümüzde kullanılan bu yöntemlerin temeli kesin bir ölüm zamanı tayininden çok ölümün gerçekleştiği tahmini zaman aralığının belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Belirtilen bu zaman aralığının daraltılabilmesi hatta kesin bir ölüm zamanı belirtilebilmesi için kullanılan bu tekniklerin geliştirilmesi ve yeni tekniklerin ortaya konulması gerekmektedir (3,4).

Diş, anatomik olarak mine, dentin ve sement olmak üzere sert yapılardan ve pulpa olarak adlandırılan, dişin dentin dokusu ile çevrili kan damarı ve sinirden zengin gevşek bağ dokusundan oluşmuş olup insan vücudundaki en sert dokudur. Diş pulpası mineralize dentinin içerisinde bulunan gevşek bağ dokusudur. Diş, anatomik lokalizasyonu, sağlam ve izole yapısından dolayı diğer dokulara göre daha korunaklı olduğundan PMI tayininde doğru ve uzun süreli sonuçlar elde etmeye uygun bir dokudur. Bu nedenle insan diş pulpasında postmortem dönemde görülen histopatolojik değişikliklerin tespiti PMI belirlenmesinde kullanılabilir bir yöntemdir (5). PMI tayininde dental pulpa ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça yenidir ve bununla ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Dental pulpada PMI tayinine dayalı çalışmalar pulpada DNA (deoksiribonükleik asit) ve RNA (ribonükleik asit) degradasyonları ve postmortem histolojik değişikliklerin değerlendirilmesine dayanmaktadır (6).

Bu çalışma ile amacımız; Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'ne başvuran hastalardan alınan 3. molar diş örneklerinin pulpasında görülen çekim sonrası histolojik değişiklikleri inceleyerek, elde edilen bulguların PMI belirlenmesinde kullanılabilirliğinin ortaya konulmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

Ölümün ne zaman gerçekleştiği ile ilgili bilginin doğruluğu, ölüm zamanının yakın olması ile doğru orantılıdır. Ölüm ile ölünün keşfi arasındaki zaman uzadıkça ölüm zamanı konusunda doğru bir tahminde bulunmak da güçleşmektedir (7). PMI tayini tekniklerinden en doğru sonucu alabilmek için genellikle bu yöntemlerin birkaçının birlikte kullanılması ve sonuçların birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Günümüzde kullanılan PMI tayin yöntemlerinin temeli kesin bir ölüm zamanı tayininden çok ölümün gerçekleştiği tahmini zaman aralığının belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Belirtilen bu zaman aralığının daraltılabilmesi hatta kesin bir ölüm zamanı belirtilebilmesi için kullanılan PMI tayin tekniklerinin geliştirilmesi ve yeni tekniklerin ortaya konulması gerekmektedir.

PMI'in tespitinde kullanılan yöntemleri genel başlıkları ile şöyle sıralayabiliriz;

2.1. PMI TAYİNİNDE KULLANILAN FİZİKSEL YÖNTEMLER

Ölüm zamanı tayininde kullanılan en eski yöntemler cesetteki fiziksel değişimlere dayanmaktadır ve tarihinin Eski Yunan dönemine kadar dayandığı bilinmektedir. Bu fiziksel değişimler basit ölçümler ve harici muayene ile saptanabilmektedir. Temelde livor mortis, rigor mortis ve algor mortis olarak üç kriterin değerlendirilmesine dayanmaktadır ve ilerleyen süreçte çürümenin başladığı bilinmektedir (8).

2.1.1. Livor Mortis (Ölü Morluğu)

Ölümden sonra kalbin pompa gücünün ortadan kalkmasıyla periferik vasküler yapılarda cesedin pozisyonuna bağlı olarak yer çekiminin de etkisiyle, kanın göllenmesi sonucu vücudun bası görmeyen yerlerinde gelişen renk değişimidir. Kandaki eritrositlerin parçalanması ile kan önce kırmızımsı, sonra eritrositlerin oksijeni kaybetmesi ile (deoksijenizasyon) koyu mor bir renk almaktadır. Daha sonra bu kan, damarlardan pasif olarak doku içine yayılarak, dokuları koyu mor renge boyamaktadır. Livor mortis, cesedin pozisyonuna göre yer çekiminin de etkisiyle vücudun farklı bölgelerinde oluşmaktadır (3,9).

Livor mortis, kademeli olarak gelişen bir süreç olup ölümden sonraki 30 dakikadan 2 saate kadar değişen bir süre içerisinde fark edilebilir bir düzeye ulaşırken en net şekilde 8-12. saatte görülür. Maksimum renklenmenin oluştuğu bu süreye kadar cesedin pozisyonu değişirse morluklar da yeni pozisyonun yer çekimine olan konumuna göre yer değiştirecektir. Ancak bu süreden sonra artık ölü morlukları sabitlenecek, cesedin pozisyonu değişse dahi artık morluklar yer değiştirmeyen ve dışarıdan bası uygulandığında solmayan bir hal alacaktır. Bu yönüyle ölü morlukları bize ölüm zamanı hakkında bir zaman aralığı verse dahi aslında adli-tıbbi süreçte ölüm zamanı tayininden çok cesedin hareket ettirilip ettirilmediğinin tespitinde önemlidir. Ölü morluklarının, çürümenin hızlı olduğu ortamlarda sabitlenme süresi daha kısayken çürümenin daha geç olması beklenen, örneğin soğuk havalarda, sabitlenme süresi 24-36 saate kadar uzayabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı ölü morluğunun ölüm zamanı belirlenmesinde çok güvenilir bir parametre olmadığı bilinmekte, tek başına ölü morluğu değerlendirilerek kesin bir ölüm zamanı tayin etmek yanlış tahminlere sebep olabilmektedir (9,10).

Ölü morlukları sadece ölünün dış muayenesinde değil iç muayenesinde de karşımıza çıkmaktadır. İç organlarda ölü morluklarını en iyi gözlemleyebildiğimiz organ akciğerdir ve supin pozisyonda bulunan bir cesette, yer çekimine bağlı olarak, ölü morluğunun akciğerin arka yüzünde daha belirgin olarak görülmesi beklenmektedir. İç organlarda görülen livor mortis, peteşi/purpura olarak karşımıza çıkmakta olup genellikle ölümden sonraki 18-24. saatte gelişir ve çürümenin hızla ilerlediğinin bir göstergesidir (10).

2.1.2. Algor Mortis (Ölü Soğuması)

Vücudun ölüm sonrasında soğumasıdır ve bu durum herhangi bir sıcak nesnenin kendisinden daha soğuk bir ortamda kaldığında soğuması gibi düşünülebilir. Her ceset kendi özgün ortamında birçok faktöre bağlı olarak farklı bir hızda soğumaktadır (9,11). Ölümden sonra cesedin giderek soğuduğu gerçeği ilk çağlardan beri biliniyor olsa da, buna dair bilimsel ölçümler ilk olarak 19. yüzyılda yayımlanmıştır (3). Cesedin ölüm sonrası soğumasına dayanan pek çok PMI tayini yöntemi vardır. Son zamanlarda bu teknik rektal ısı, vücut yüzey sıcaklığı, dış kulak yolu sıcaklığı, göz çukuru sıcaklığı ve karaciğer ısısının ölçümüne dayanmaktadır (8).

Ölümden sonra vücut, çevre sıcaklığının 37°C ve üzerinde olduğu durumlar hariç, vücut yüzeyi ve çevresi arasındaki sıcaklık farkı ile orantılı olacak şekilde soğumaktadır. Ölüm gerçekleştiğinde vücutta dolaşım yolu ile gerçekleşen ısı transferi işlemi durmakta ancak kaslarda ve karaciğerde metabolik ısı üretimi bir süre daha devam etmektedir. Dokular ısı iletimi konusunda zayıf olduğundan cilt yüzeyi soğusa bile vücudun iç kısmı daha geç soğumaktadır. Örneğin rektumdan ölçülen ısı, ölüm sonrası hemen düşüş göstermeyip, sıcaklık değişim grafiği bir plato çizmektedir. Isı ölçümü cilt yüzeyinden yapılırsa bu platonun görülmesi beklenmez, kulak, burun gibi boşluklardan yapılırsa plato kısmen beklenir ancak en belirgin olarak rektum gibi vücudun iç sıcaklığının ölçümünde plato görülmektedir. Çürümenin erken döneminin başlaması ile birlikte bakteriyel ve enzimatik aktivite nedeniyle vücut sıcaklığında bir miktar artış olmaktadır (3,9,12).

Kabul edilen eski kurallara göre sıcaklık, ölümden sonra her saat için yaklaşık 1°C düşmektedir fakat bu şekilde doğrusal bir düşüş eğrisi ısı kurallarına aykırıdır ve soğuma eğrisinde izlenmesi beklenen plato, bu kuralda dikkate alınmamıştır. Soğuma eğrisindeki plato da göz önünde bulundurularak geliştirilen formüle göre ise PMI, 37°C 'den o an cesedin ölçülen sıcaklığı çıkartılıp çıkan sonuca 3 eklenmesi ile saat cinsinden ölümün üzerinden geçen süre bulunur. Henssge, postmortem ısı kaybının hesaplanabilmesi için bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntemin çevre koşullarına göre ayarlamaları mevcuttur (3). Henssge'nin nomogramı, PMI tayininde kullanılan bir adli tıp prosedürü haline gelmiştir ve bu teknik ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. Ancak nomogram yöntemiyle tayin edilen PMI'nin diğer alternatif yöntemlerle desteklenmesi gerekmektedir (13).

Soğuma eğrisinde izlenen platonun uzunluğu farklı yazarlar tarafından tartışılmıştır. Plato, insan dokusunun izolasyon özelliğinden dolayı ciltteki ısı iletiminin gecikmesinin bir sonucudur. Shapiro, platonun uzunluğunun 4 saat veya daha da uzun olabileceğini, bunun tam olarak bilinemeyeceğini ve dolayısı ile formüllerin kullanımının yanlış sonuca götüreceğini savunmuştur. Marshall ve Hoare'ye göre ise plato 5 saat kadar uzayabilmektedir (3,12,14).

Vücut ısısının, ölümden sonraki 24 saatte $0.5-1.2^{\circ}\text{C}$ arasında değişmesi beklenir ancak bu durum pek çok kişisel ve çevresel faktöre bağlı olarak değişmektedir. Çevresel faktörlerin (ortamın nemi, vücut- ortam sıcaklık farkı, ortamdaki iletkenlerle vücudun

teması v.s.) etkisini ekarte ederek doğru bir PMI tayininde bulunmak çoğu zaman mümkün değildir (15,16,17). Ayrıca uyurken ölmüş olmak, cesedin bir bebeğe veya yaşlı bir kişiye ait olması, sağlıklı veya hasta bir bedene ait olması, üzerinde örtülerin veya kıyafetlerin bulunması gibi faktörler de ölünün soğuması üzerine etki eden unsurlara örnek olarak verilebilir (18). Soğuma hızının kişisel ve çevresel faktörlere bağlı olduğu açıktır ve bu nedenle PMI tayininde tek başına kullanılmaması tavsiye edilebilir (3,15,16,17).

Cesedin ısısı ölçülürken, hekimin olay yerinde ilk yapacağı şey elle cesedin soğukluğunu hissetmesidir. Genellikle korunmuş yerlerdeki cesetlerde 6-8 saatte, çevre şartlarına daha fazla maruz kalan alanlardaki cesetlerde 2-4 saatte soğukluk hissedilebilir düzeydedir (3). Dış faktörlerin etkisini en aza indirebilmek için vücudun iç ısını ölçmeye yönelik tekniklerin kullanılması daha uygundur. Bunun için en sık kullanılan ve tavsiye edilen yöntem rektal ısı ölçümüdür (3,7,10,11,18).

Rektal ısı ölçümünde, 0-50°C arasını ölçebilen cıvalı termometre kullanımı önerilmektedir. Termometrenin ucu rektumda en az 10 cm ilerletilmeli ve ısının stabil hale gelmesi için birkaç dakika beklenmelidir. Cinsel saldırı ihtimali olan durumlarda bu bölgeden alınacak örneklerin değerli olması nedeniyle PMI tayininde tek başına fazla da rolü olmayan bir teknik için belki de hayati denilebilecek delillerin kaybına göz yumulmamalıdır. Böyle bir durumda sıcaklık ölçümü yine de yapılmak isteniyorsa aksilladan, burun boşluğundan veya dış kulak yolundan yapılmalıdır (10).

2.1.3. Rigor Mortis (Ölü Katılığı)

Ölümden sonra tamamen gevşeyen kasların kontraktür halini alıp eklemlerin oynamaz hale gelmesidir. Normal kas tonusu, adenozin trifosfat (ATP) varlığında aktin ve miyozinin etkileşimiyle oluşmaktadır. Ölü katılığı, ATP yokluğuna bağlı olarak, aktin ve miyozin arasındaki çapraz bağların ayrılmaması sonucu gelişir. Tüm kas proteinleri gibi aktin ve miyozin de ölümden yaklaşık 15-25 saat sonra bozulana kadar, su kaybederek sert kalır. Kas dokusunda gevşeyememe muayene sırasında kendisini eklem sertliği olarak gösterir (19,20).

Vücut kas kütlesi düşük olan ya da fizyolojik özellikleri tükenmiş olan kişilerde (örneğin; yenidoğanlar, yaşlılar, çok yorulmuş kişiler, uzun zaman immobil kalmış hastalar, kanser hastaları) ölü sertliği erken başlangıçlıdır, kısa sürelidir ve daha az şiddetlidir. Buna “Nysten kanunu” denilmektedir. Striknin, karbonmonoksit (CO) zehirlenmeleri ya da tetanoza bağlı ölümlerde ölü katılığının erken başlangıçlı, şiddetli ve uzun süreli olması beklenmektedir (18,21,22). Ancak bunlar istisnai durumlardır ve ortalama şartlarda bulunan bir cesette ölü sertliğinin, ölümden sonra 3-5 saat içerisinde, ATP miktarı normal seviyesinin %85’ine düştüğünde başlaması ve 6-12 saat içerisinde tüm vücuda yayılması beklenmektedir. Ölü katılığı, en belirgin olarak 10-15 saat içinde, ATP miktarı normalin %15’ine düştüğünde görülür ve bu durum bir süre devam eder (16). Ölü katılığı maksimum seviyeye ulaşan bir ceset bir yere yaslandığında, ayakta kalabilecek durumdadır. Bu katılık, ortalama 36-48 saat sonra çürüme nedeni ile çözülmeye başlar. Bunlarla birlikte ölü katılığı, kimyasal bir süreç olması nedeniyle ortam sıcaklığı ile yakından ilişkilidir ve ortamın sıcak olduğu durumlarda daha erken gelişip daha kısa sürmesi, soğuk olduğu ortamlarda ise daha geç gelişip daha uzun sürmesi beklenir (18).

Özetle; çok fazla değişkenden etkilenmesi nedeniyle, PMI tayininde tek başına rigor mortisi değerlendirmekle kesin sonuçlara ulaşılamayacağı unutulmamalıdır (11,20).

2.1.4.Çürüme

Çürüme; aseptik kimyasal bir süreç sonucunda intraselüler enzimler ile hücrenin bozulması olan “otoliz” ve bağırsaktaki bakteri ve mantarlar ile dış çevredeki etkenlerin neden olduğu “pütrifikasyon” sürecini içeren, vücuttan vücuda, çevreden çevreye, hatta aynı vücudun bir bölgesinden bir bölgesine göre değişkenlik gösteren bir olaydır. Çevre koşulları ile yakın ilişkisi olan bu olay için zaman çizelgesi oluşturmak çok zor olsa da hekim kendi bulunduğu bölgenin çevresel özelliklerini göz önünde bulundurarak PMI konusunda bir takım tahminlerde bulunabilir (3,10).

Otoliz, enzim aktivitelerine dayanmaktadır bu sebeple pankreas gibi bir organda daha hızlı görülürken kalp gibi bir organda daha yavaş görülmektedir. Yine kimyasal aktivitelerin etkilendiği sıcaklık, enzim inhibitörü varlığı gibi durumlardan da

etkilenmektedir. Çürüme bakteriyel aktivite ile de yakın ilişkili bir süreç olduğundan bakterinin az bulunduğu cesetlerde beklenenden yavaş ilerler (örn; yenidoğan) (3-11).

Ilıman iklimde bulunan bir cesette çürüme, ölümden sonra 36-48. saatte, sağ iliak fossada karın yüzeyine yakın bulunan çekumdaki bakteriyel aktiviteye bağlı olarak, kendisini yeşil renk değişimi ile makroskopik olarak göstermeye başlar ancak bu konuda net bir zaman belirtmek doğru değildir. Bu renk değişikliği, hemoglobinin sülfhemoglobin ve diğer pigmentlere dönüşmesinin sonucunda oluşur ve ilerleyen zamanlarda tüm gövdede görülebilir hal alır (3,23).

1. hafta içerisinde cesette koku yayılmasına neden olan kükürtlü hidrojen, fosforlu hidrojen, metan, karbondioksit, karbonmonoksit, amonyak ve hidrojen içeren bazı gazlar açığa çıkar. Genellikle 1. haftanın sonunda, oluşan bu gazlara bağlı olarak karında gergin bir görünüm oluşur. Beyin dokusunda da bu bir hafta içerisinde pembe-gri renk değişikliği izlenir, 2-3. haftada karında artan gaz basıncı diafragmayı etkiler, pasif olarak akciğerler ve solunum yolları içindeki havanın ağız boşluğu ve burun deliklerinden dışarı çıkmasına neden olur. Buna, “ölü solunumu” denilmektedir. Açığa çıkan gaz ile birlikte ağız ve burun boşluğundan bir miktar kanlı sıvı sızar ve bu durum dikkat edilmezse kafa travması ile karıştırılabilir. Benzer mekanizma sonucunda vajina ve rektumdan da kanlı sıvı akışı izlenebilmektedir. Gazların bası etkisine bağlı olarak, hemolize kan, yüzeysel toplardamarların belirginleşmesine yol açar. Buna “çürüme haritası” veya oluşan görünüm nedeniyle “mermerleşme” denilmektedir. Yine gazların oluşturduğu basınç etkisi sonucunda bazı cesetlerde uterin prolapsus veya gebeyken ölmüş olan kişilerde “postmortem doğum” olarak isimlendirilen fetüsün basınç etkisi ile dışarı atılması olayı gerçekleşir. 3-4. haftada skrotum ve meme gibi gevşek dokularda aşırı miktarda hacim artışı izlenir, göz kapakları ve dil şişer. Epidermis yanık benzeri soyulan bir görünüm alır. Saçlar ve tırnaklar hafif bir baskıyla bile köklerinden kolayca ayrılabilir. Ciltte koyu griye, iç organlarda yeşil renge doğru bir değişim gözlenir ve üzerlerinde gaz bülleri oluşur. Beyin dokusu sıvı bir hal almakla birlikte meningeal hemoraji ve hematomlar halen izlenebilir durumdadır ancak bazı tümörler ve hemoraji haricindeki lezyonlar hızla kaybolmuş durumdadır. Soğuk havada bulunan cesetler hariç olmak üzere çok sayıda larva istilası gözlenir ve bu larvalar dış ortamdaki bakterilerin de cesede ulaşmasını kolaylaştırmaktadır (20)

İç organlardaki çürüme vücut yüzeyindeki çürümeye göre daha yavaş seyirlidir. Örneğin kalpte, çürümeye orta derecede dirençli bir organ olarak aylar sonra dahi arter darlıkları izlenebilir durumda kalmaktadır. 1. ayın sonunda batın, oluşan çürüme gazlarının etkisiyle patlar. Batın patladıktan sonra ceset küçülür ve iç organlar ayırt edilemez bir görünüm alır, kaslar yerinden ayrılmaya başlar, süreç ilerledikçe cinsiyet ayırt edilemez. Çürümeye en dirençli organlar kadında uterus, erkekte prostat bezidir ve ölümden bir sene sonra dahi gözlemlenebilir. Genellikle 1-2 yıl içerisinde iskelet açığa çıkar ve 3-5 yılda iskeletleşme tamamlanır. Ancak iskeletleşme süreci hem vücut içi hem de dış faktörlerden çok fazla etkilendiği için bazı cesetlerin korunarak iskeletleşme sürecini daha geç tamamlayabileceği hatta bazı durumlarda hiç iskeletleşmeyeceği unutulmamalıdır (3,20,24).

2.1.5. Mide Boşalma Hızı

Midede tam bir öğünün sindirilebilmesi için ortalama 2-6 saat arasında zaman geçmesi gerektiği kabul edilerek bazı ölçümler yapılmaktadır. Ölüm öncesinde şahsın ne zaman yemek yediği bilgisine sahip olunan durumlarda bu ölçüm, PMI tayin yöntemi olarak kullanılmaktadır (8). Midenin hafif bir yemeği yaklaşık 1.5-2 saatte, ortalama bir yemeği 3-4 saatte, ağır bir yemeği 4-6 saatte sindirdiği kabul edilir. Ancak alınan yemeğin miktarı, yağ oranı, alkolle birlikte alınıp alınmadığı gibi faktörler bu durumu değiştirmektedir. Bu tekniğin PMI tayininde tek başına kullanılması, sindirimin çok çeşitli faktörlerden etkilenmesi ve güvenilir anamneze ulaşmanın zorluğu nedeniyle hekimi yanlış sonuçlara götürebilir (7,8).

2.1.6. Gözde Makroskopik Değişiklikler

Gözün makroskopik değişimleri ile ilgili hem ülkemizde hem de dünyada yapılmış çalışmalar mevcuttur (25,26,27)

Ölümden kısa süre sonra irisin dairesel şeklini kaybetmeye başladığı, birkaç dakika içerisinde de lakrimal salgıların bitmesinden dolayı korneal parlaklığın azaldığı bilinmektedir. Ayrıca göz küresi arteriyal basınca bağlı olan gerginliğini ve hacmini kaybeder. Gözde görülen en erken değişim retina üzerindedir ve bunun tespiti için

oftalmoskop ile muayene etmek gerekmektedir. Ölümden hemen sonra retinada kanın segmentlere ayrılmış şekilde akımının azaldığı izlenebilmektedir (3).

Suzutain T. ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada ölü muayenesi yapılan 410 cesedin göz kapaklarının açık veya kapalı olmasına göre PMI tahmininde bulunmuşlardır. Elde ettikleri verilere göre kadavraların, cinsiyet ve mevsim değişkeninden etkilenmeksizin, %27'sinin göz kapakları, ölümlerinden sonraki ilk 6-12 saat arasında açık olduğu, 36 saat-4 gün arasında beklemiş olan cesetlerin tamamında göz kapaklarının tamamen kapalı olduğu tespit edilmiş, bu bilgileri kullanarak göz kapakları açık olarak bulunan cesetlerin en fazla 4 gün içerisinde öldüğü şeklinde yorumlanabileceğini belirtmişlerdir (26).

Başka bir çalışmada ölüm zamanları bilinen 200 olgu korneal bulanıklık ve göz kapaklarının postmortem açık kalmasına bağlı olarak sklerada görülen renk değişikliğinin (tache noire) gelişmesi, pupillometre ile ölçülen pupil çapları yönüyle incelenmiş olup elde edilen verilere göre postmortem 8. saatten sonra gözde korneal bulanıklık görülme ihtimali anlamlı derecede fazlayken korneal bulanıklık gelişen cesetlerde tache noire gelişme ihtimali ise anlamlı derecede azalmış olarak tespit edilmiş, pupil genişlikleri ile PMI arasında anlamlı bir ilişki bulunamadığı bildirilmiş olup postmortem retina ve kornea değişikliklerinin PMI tayininde kullanılabilirliğini gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur (25,28).

2.2.PMI TAYİNİNDE KULLANILAN BİYOKİMYASAL YÖNTEMLER

2.2.1. Kan İncelemeleri

Postmortem dönemde kanda biyokimyasal reaksiyonların hemen sonlanmadığı, pek çok maddede biyokimyasal değişimin devam ettiği bilinmektedir. Ölümden sonra kan şekeri düşer, meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlar ve hücre solunumun anaerobik hale gelmesi sonucunda laktat asit üretimi artar, kan ve doku pH'sı düşer, daha sonra lizozomal enzimler aktiflenerek hücrelerin kendisini tüketme işlemi başlar, otoliz ve çürüme ile birlikte amonyak gibi bazik ürünler açığa çıkar ve pH yükselmeye başlar. Ölümün üzerinden geçen süre, şahsın hayattayken sahip olduğu hastalıklar ve çevresel

şartlar gibi etkenlere bağlı olarak kan hızla kontamine olur ve PMI tayini için değerini ölümden kısa bir süre sonra yitirir (8,20,29).

Kanda çoğu madde ölümden sonra kısa süre içerisinde hızla bozulurken üre ve kreatinin gibi bazı maddeler stabil yapılarını daha uzun süre korur ve 100 saate kadar çok az değişiklik gösterir. Ölüm sonrası üre nitrojen aralığı 4,6-5,5 mmol/l iken kreatinin 70.7 ila 212.2 mol/l arasındadır (8).

Postmortem kan lökosit sayısının düşüşünün değerlendirildiği bir çalışmada, lökosit sayısındaki düşüş ile PMI arasında anlamlı korelasyon olduğu bildirilmiştir (30). Kan biyokimyasal parametrelerinin PMI tayininde kullanabilmesi için matematiksel bir model geliştirmeyi amaçlayan başka bir çalışmada; demir, üre, aspartat aminotransferaz, kreatin kinaz ile kanın çürümesi arasında pozitif bir eğri, total ve direkt bilirubin, ürik asit, transferrin, immünglobin M ve kalsiyum arasında ise negatif bir eğri olduğu, yüksek yoğunluklu ve düşük yoğunluklu lipoproteinler olan LDL'nin ve HDL'nin önce arttığı sonra azaldığı tespit edilmiştir (29).

Jiang Z. ve arkadaşları postmortem kan oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin PMI ile korelasyon halinde olduğunu yaptıkları çalışmanın sonucu olarak bildirmişlerdir (31). Querido'nun bu alanda yaptığı çok sayıda çalışma mevcut olup postmortem plazma klorid konsantrasyonunun ölüm zamanını belirlemede kullanılabileceğini belirtmiştir (32). Başka bir çalışmada ise ratların postmortem eritrosit potasyum (K^+) kaybının tespit edilerek PMI tayininde bulunulabileceğini belirtmiştir (33). Kumar S. ve arkadaşları da kan insülin seviyesinin PMI tayininde kullanılabilir olduğunu tespit etmişlerdir (34).

2.2.2. Vitroz Humör İncelemeleri

Vitroz humör, PMI tayininde eskiden beri sık kullanılan bir biyolojik materyaldir. Kolay elde edilebiliyor olmasının yanı sıra ölüm sonrasında kontaminasyonun çok geç gelişmesi ile postmortem değişikliklerden diğer biyolojik materyallere göre daha az etkileniyor olması bunun nedenidir (35,36,37).

Klinik biyokimyada daha çok kullanılan kanda, ölçülmek istenilen maddenin, olması gereken aralığı çok iyi bilinmektedir. Fakat vitröz humörde bu değer aralıklarının hesaplanmasının güç olması vitröz humörün postmortem dönemde çalışmalar için dezavantajını oluşturmaktadır. Ayrıca ölçülmek istenen maddenin, antemortem bozulmuş kan seviyeleri ile postmortem vitröz humör seviyeleri arasındaki korelasyonun kurulması da güçtür (38).

Fizyolojik koşullarda, tüm hücrelerde, hücre içi K^+ seviyesi yaklaşık 150 mmol/L'dir. Ölüm sonrası, aktif membran geçirgenliğinin yanı sıra seçici zar geçirgenliği bozulmakta, böylece potasyum kademeli olarak hücre dışına çıkmaktadır. Retinadan da göz içi sıvıya potasyum geçişi görülmektedir. Göz içi sıvısının potasyum seviyesindeki bu artışın PMI tayininde kullanılabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (39).

Vitröz humör örneklenirken göz kapakları mümkün olduğunca açılmalı, lateral kantustan skleraya bir enjektör ile girilmeli ve tüm göz içi sıvı tek seferde, yavaşça aspire edilmelidir. Göz içi sıvının yoğunluğu homojen değildir ve tüm sıvı aspire edilmezse yanlış sonuçlar verebilmektedir. Retina hasarı durumunda, K^+ retinadan sızarak göz sıvısına geçeceği için yanlış sonuçlar elde edilmesine neden olmaktadır, bunun önüne geçebilmek adına aspirasyon sırasında enjektörün ucu göz küresinin ortasında tutulmalıdır (3, 40,41).

Vitröz humörün potasyum, sodyum, ürat, hipoksantin düzeyleri kişinin hayattayken sahip olduğu hastalıklar, agonal dönemin uzunluğu, ölenin yaşı gibi çok çeşitli faktörlerden etkilense de sıcaklık en önemli etkileyici faktördür. Çok sayıda değişkenden ve elde edilme yönteminden etkilenen vitröz humörün PMI tayininde kullanımı ile ilgili ortak bir bilimsel görüş mevcut olmasa da pek çok araştırmacı erken dönem (ilk 24 saat) PMI tayininde vitröz humörün kullanılabileceğini kabul etmektedir (3,37,41-47).

Rognum T.O. ve arkadaşları vitröz humörde K^+ ve hipoksantin ölçümlerinin sıcaklıktan etkilendiğini ortaya koyarak bunların ölçümünde sıcaklık faktörünü de birleştirerek ve daha doğru bir sonuca ulaşmaya çalışmışlardır (42). Zilg B. ve arkadaşları da vitröz humörde postmortem K^+ artışının lineer olmadığını, yaş ve çevre sıcaklığından

etkilendiğini 3000'den fazla vitröz humörü inceledikleri çalışma ile ortaya koymuşlardır (37).

Vitröz humör ile PMI tayin yöntemi konusunda çok sayıda araştırma yapılmış ve sonuçlar formülize edilmiştir. PMI ile vitröz humör potasyum konsantrasyonu arasındaki ilişki, $PMI = 7,14 \times K^+ \text{ konsantrasyonu} - 39,1$ şeklinde formülize edilmiş olsa da sonuçların doğruluğunu arttıracak, sıcaklık ve yaş gibi etkenleri de içine alan bir formül henüz ortaya konulamamıştır (39).

Odrizola ve arkadaşları, cesetlerden aldıkları vitröz humörlerde mikroRNA (miRNA) seviyesinin PMI tayininde kullanılabilirliğini incelemiş, gündüz ve gece ölen cesetler arasında anlamlı farklılık olduğunu tespit etmişlerdir (48).

Göz içi postmortem üre seviyesinin diğer maddelere göre daha stabil kaldığı bilinmektedir (39,49). Yapılan çalışmalarda magnezyum (Mg^{+2}) seviyesinin vitröz humörde postmortem dönemde çok yavaş bir hızda arttığı, sodyum (Na^{+2}) seviyesinin ise azaldığı bildirilmişse de bunlar PMI tayininde anlamlı sonuçlar vermemektedir (50,51,52).

Vitröz humör glukoz seviyesi postmortem dönemde hızla düşmekte, birkaç saat içerisinde de neredeyse sıfırlanmaktadır ancak kontrolsüz diyabet veya hipoglisemi gibi durumlarda bu ölçümler sağlıklı sonuçlar vermemektedir (3).

2.2.3. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) İncelemeleri

BOS'daki hücre sayısının ölümden sonra arttığı bilinmektedir. Wayler ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, ölüm zamanları farklı 16-90 yaş arası 35 cesede, sıcaklığı 20°C ve 4°C olan iki farklı ortamda lomber ponksiyon yapılmış, her iki sıcaklık için de BOS hücre sayısı ile PMI arasındaki pozitif korelasyonu gösterir eğriler bulunmuştur (53). Postmortem BOS incelemesinde protein katlanmaları ve enzimatik aktiviteler ile PMI arasında anlamlı ilişki olduğunu gösterir çalışmalar mevcuttur (54).

2.2.4. Perikard Sıvısı İncelemeleri

Perikardiyal sıvıdaki kardiyak spesifik proteinlerin, mRNA'ların ve elektrolitlerin ölüm nedeninin belirlenmesinde katkısının olduğu bilinmekle birlikte perikard sıvısının PMI tayininde kullanılabilirliğini gösteren çalışmalar az sayıdadır. Perikard sıvısının PMI tayininde vitröz humör ve BOS'a göre avantajı, elde edilebilecek materyalin fazlalığı ve elde edilmesinin kolaylığı yönüyledir (45,55).

Perikard sıvısının elektrolit ve protein miktarının incelendiği bir çalışmada, PMI ile vitröz humör K^+ konantrasyonu arasındaki ilişkiye benzer bir ilişki perikard sıvısı için de tespit edilmiş, Na^{+2} konantrasyonu ile PMI arasında da negatif bir korelasyon olduğu görülmüştür (45). Perikard sıvısının spektroskopik yöntemlerle değerlendirilmesi ile kemometrik yöntemlerin birlikte kullanılması durumunda bunun, PMI tayininde kullanılabilir bir yöntem olabileceğini belirten çalışmalar da vardır (45,56).

2.2.5. Dokularda Glukoz ve Glukojen İncelemesi

Postmortem dönemde, kan ve vücut sıvılarındaki gibi diğer dokularda da bazı biyokimyasal değişimler gerçekleşmektedir. Ratlar ile yapılan bir çalışmada, karaciğer, böbrek, kas ve beyin dokularındaki postmortem glukoz ve glukojen miktarlarının postmortem değişimlerinin değerlendirilmesi ile anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır (57).

2.2.6. Dokularda Element Seviyesi İncelemesi

Doğan H.K. ve arkadaşlarının ratların iskelet kasındaki postmortem element seviyesi değişikliğinin PMI tayininde kullanılabilirliğine yönelik yapmış oldukları çalışmada; kas dokusunda kalsiyum (Ca^{+2}), bakır (Cu^{+2}), demir (Fe^{+2}), K^+ , Mg^{+2} , Na^{+2} , kükürt (S^{+2}) ve çinko (Zn^{+2}) seviyeleri incelenmiş, Fe^{+2} , Na^{+2} ve K^+ seviyelerinde PMI tayininde kullanılabilecek anlamlı değişiklik olduğu belirtilmiştir (58).

2.3. PMI TAYİNİNDE KULLANILAN MİKROBİYOLOJİK YÖNTEMLER

Adli entomoloji, adli araştırmalarda böceklerin kullanıldığı bilim dalıdır (59). Cesette bulunan böceklerle ve bu böceklerin özelliklerine göre PMI tahmini yapılabilmektedir. Sıcak havalarda dakikalar içerisinde, soğuk havalarda ise 1-2 gün içerisinde cesede sineklerin gelmeye başladığı gözlemlenebilmektedir (60). Entomolojik yöntemler, ölümden 72 saat sonra, kullanılan diğer PMI tayin yöntemlerine göre daha başarılı hale gelmektedir (61).

Cesette bulunan ve “ölü işçileri” olarak da isimlendirilen böcek sınıfına Sarcosaprophagous türü böcekler denir, Calliphoridae (uçan sinek), Sarcophagidae (et sineği, gri sinek), Muscidae (ev sineği), Lucilia (yeşil sinek), Calliphora (mavi sinek) bu böcek sınıfının farklı türleridir.

Kişinin hayattayken eroin veya kokain gibi madde kullanmış olması larva gelişimini hızlandırıcı, cesedin üzerinde boyalı, yağlı veya yanıcı madde ile kaplı kıyafetler olması ise larva gelişimini yavaşlatıcı bir faktördür. PMI tayininde bulunurken araştırmacı bu durumları göz önünde bulundurmalıdır. Ayrıca mevsime, cesedin vücut büyüklüğüne, cesette açık yara olup olmamasına, coğrafi duruma ve gömülü olup olmadığına göre cesedin böceklenme durumu değişmektedir. Özellikle de cesedin bulunduğu coğrafi konum, üzerinde bulunan böceklerin türünü etkileyen major faktördür. Bunlarla birlikte sadece 2.5 cm kalınlıkta bir toprak ile cesedin gömülü olmasının bile böceklenmeyi geciktirdiği bilinmektedir. Cesedin gömülü olduğu durumlarda, toprağın özellikleri böceklerin de özelliklerini etkilemektedir. Bu çok sayıda değişken nedeni ile entomolojik belirtiler, ölüm zamanı ile ilgili her zaman kesin sonuçlar vermez. (60,62,63). Yine de cesedin bulunduğu çürüme evresine göre üzerinde bulunan entomolojik türleri değerlendirmek gerekirse; cesette henüz kokuşma ve bozulmanın olmadığı postmortem 1. günde Sarcophagidae, Muscidae ve Hymenoptera türleri, karnın şişip vücuttan sıvı akışının gözlemlendiği kokuşma döneminde (2.-6. gün) Calliphoridae türleri baskın olarak izlenirken derinin mermer görünümünü aldığı, kokuşmanın belirgin olduğu dönemde ceset artık böceklerden dolayı zarar görmeye başlamıştır ve cesette Calliphoridae, Muscidae ayrıca Coleoptera’lar görülür. Kokunun zayıfladığı ve bazı yumuşak dokuların tespit edildiği postmortem 13-51. günlerde Coleopteralar baskın olarak görülür. Kemik,

saç ve kurumuş deri kalıntılarının görüldüğü 52-207. günlerde Hymenoptera ve Dermestidae türlerinin görüldüğü belirtilmektedir (64,65,66).

PMI tayininde kullanılan bir yöntem cesette bulunan en büyük larvanın boyunu belirlemektir. Bulunan larvanın hangi saatte, hangi sıcaklıkta, boyunun uzunluğunun ne kadar olduğunu gösterir grafik biliniyorsa buna göre PMI tayininde bulunulur fakat bu grafik bilenemiyorsa ceset üzerinden larvaya ait yumurta alınarak gelişim evresi sabit ortam sıcaklığında, 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ortam oluşturulup izlenerek grafik oluşturulur. Burada, birikmiş gün sıcaklığından yararlanılmaktadır (64). Larva boyuna göre PMI tayini, maksimum PMI tayinini değil minimum PMI tayinini mümkün kılmaktadır (67).

PMI tayini için larvaların en çok uzunluğundan yararlanılsa da son zamanlarda kutikular hidrokarbon üzerine yapılan çalışmalar da vardır. Bu çalışmalar, larvaların yaşla birlikte hidrokarbon içeriğinde görülen değişiminin PMI tayininde kullanılabileceğini ortaya koymuştur (68,69). Kullanılan bir diğer yöntem ise larva ağırlığının ölçülmesine dayanmaktadır (70).

2.4. PMI TAYİNİNDE KULLANILAN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER

Postmortem dokularda histopatolojik bir takım değişiklikler gözlenmektedir. Bu değişikliklerin incelendiği çok sayıda çalışma, histopatolojik incelemelerin PMI tayininde kullanılabilirliğini ortaya koymuştur. Adli histopatoloji, hücrelerin ölüm sonrası değişikliklerini mikroskopik düzeyde incelemekte, bu sayede hem ölüm sebebini hem de ölüm zamanını belirleme imkanı sunmaktadır (71).

2.4.1. Kemik İliği ve Kan Hücrelerindeki Değişim

Kan hücrelerinin, postmortem süreçte hızlı bir morfolojik değişim gösterdiği ancak beyaz kan hücrelerinin bu konuda bir istisna oluşturduğu bilinmektedir. Babapulla C.J. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada postmortem beyaz kan hücrelerinde gösterdiği histopatolojik değişim ile PMI arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (72). Başka bir

çalışmada lenfositlerin otolitik değişikliklere en dirençli kan hücreleri olduğu, eozinofillerin ise bu süreçten erken dönemde etkilendiği belirtilmiştir (73).

Findlay A.B. ve arkadaşlarının yaptıkları, kemik iliğinde izlenen histopatolojik değişikliklerin PMI tayininde kullanılabilirliğini araştıran çalışmada sternumdan alınan kemik iliği örnekleri incelenmiş, bazı piknotik eritroblastlarda, nötrofillerde ve nötrofil miyelositlerinin morfolojisinde zamanla değişim olduğu, bu değişimlerin ölümden sonraki 12 saate kadar PMI saptanmasında anlamlı olabileceği belirtilmiştir (74).

2.4.2. Deri Tabakalarındaki Değişim

Ölüm sonrasında deride hem makroskopik hem mikroskopik değişiklikler olmaktadır. Makroskopik değişiklikler bül oluşumu, cildin kayganlaşması, renk değişikliği, mumyalaşma ve su kaybına bağlı gelişen değişimlerdir (75).

Kovarik C. ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada derinin şu üç önemli postmortem mikroskopik değişikliğini tespit etmişlerdir; en erken mikroskopik değişiklik olan epidermisin dermisten ayrılması, 2. günde gözlemlenebilen dermal dejenerasyon, 4-7. günde gözlemlenebilen ekrin kanalı nekrozu (75).

El-Nahass E.S. ve arkadaşları, deri tabakalarının, sebasöz bezlerin, kıl foliküllerinin, sinir uçlarının postmortem değişimlerini ratlar üzerinde inceledikleri çalışmalarında PMI ile gözlenen histopatolojik değişiklikler arasında ilişki kurulabileceği sonucuna ulaşmışlardır (71).

2.4.3. Fosfofruktokinaz-2 (PFK-2) düzeyi ölçümü

Jin J. ve arkadaşları tarafından postmortem karaciğer PFK-2 düzeyleri immunohistokimyasal olarak tespit edilmiş, bu düzeyin ölüm sonrası giderek anlamlı düzeyde azaldığı belirtilmiştir (76).

2.4.4. Aktin Degredasyonunun Saptanması

Ratlar üzerinde yapılmış bir çalışma ile farklı dokularda görülen aktin degradasyonu Western Blot yöntemi ile incelenmiş, PMI ile aktin içeriği arasında negatif korelasyon olduğu sonucuna ulaşılmıştır (77). Benzer başka bir çalışmada aynı yöntem kullanılarak rat karaciğerlerinde gözlenen aktin tübülün degradasyonları ile PMI arasında ilişki olduğu anlaşılmıştır (78).

2.5. İSKELETLEŞMİŞ CESETLERDE PMI TAYİNİ

Çürümelerini tamamlamış ve artık iskelet halini almış cesetlerde PMI belirlemek oldukça zor bir işlemdir. Ölümün üzerinden geçen süre uzadıkça cesedin maruz kaldığı dış etkenler de artacağından PMI için verilen zaman aralığı da geniş olmaktadır. (79,80).

İskeletleşmesini henüz tamamlamamış bir cesedin PMI tayini için ilk yapılması gereken şey, cesetteki mevcut yumuşak doku miktarını belirlemektir; çünkü yumuşak dokular tamamen kaybolup da iskeletleşme tamamlanınca cesedin ölüm zamanını tahmin etmek zorlaşır (81). İskeletleşmenin en erken iki haftada gerçekleştiği bilirse de iskeletleşmiş bir cesedin ölüm zamanını belirlerken çürüme süreci, hava koşulları, yırtıcı hayvan gibi faktörlerin etkisi de unutulmamalıdır. Her ceset için bu koşullar kendine özgüdür ve bu durum da PMI tayininde dar bir zaman aralığı belirtmeyi neredeyse imkansız kılar (82).

Kemik kalıntılarının makroskopik özellikleri postmortem interval tayininde kullanılmaktadır. Burada adipositlerin makroskopik izlerinin yokluğu, kompakt yüzeyin deformasyonu, kortikal maddenin ayrılması, kemiğin çıplak ellerle kırılması, mikroorganizmaların kemik yüzeyinde oluşturduğu koyu renkli çimlenme gibi özellikler değerlendirilmektedir. Bu gibi özelliklerin değerlendirilmesi araştırmacının mesleki deneyimi ile yakından ilişkili olan ve kesin sonuçlar vermeyen yöntemlerdir (83,84).

İskeletleşmiş cesetlerde PMI tayini için farklı yöntemler geliştirilmiş olup bunlardan birisi birikmiş gün sıcaklığına dayanmaktadır (ADD). ADD, kişinin ölümünden cesedin keşfedildiği zamana kadar maruz kaldığı toplam ısıнын hesaplanmasıdır. ADD ile üç

anatomik bölgenin (baş-boyun, gövde, kol-bacak) ayrışma durumuna göre standardize edilmiş verileri olan total vücut skoru (TBS), PMI tayini hesaplanmasında birlikte kullanılmıştır. Bu yöntem ile çürüme ve iskeletleşme üzerine en çok etki eden sıcaklık faktörü göz önüne alınarak ölüm zamanı ile ilgili tahminde bulunulabilmektedir (79,85).

Kemik dokuda gözlenen sitrat kaybının ölçümüne dayanan PMI tayin yöntemleri de çalışılmaktadır. Yapılan bir çalışmada sitratın ölüm sonrasında dış etkenlerden bağımsız olarak azaldığı gösterilmiştir (86).

Çevresel etkenlerden bağımsız olarak yapılan çalışmalar, genellikle radyonükleotid tekniklere dayanmaktadır. Bu alanda kullanılan diğer yöntemlere örnek olarak ultrason muayenesi, mineral asit spektrumu, inorganik madde içeriğinin atomik absorpsiyon spektrometrik analizi, iyonların, lipidlerin ve proteinlerin tayinleri ve azot içeriğinin araştırılması sayılabilir. En eski ve halen üzerine yeni araştırmalar yapılan teknik radyokarbon tayinidir. Bu metod, karbon (^{14}C) radyonüklidinin tüm yaşayan varlıklarda bulunması ve ölümden sonra da zamanla azalması temeline dayanmaktadır (87,88,89). C atomunu yarılanma ömrünün 5730 yıl olduğu düşünülürse bu teknik PMI için çok geniş bir aralık vermektedir ve adli tıp pratiğinde kullanılmaya uygun değildir (88). 2009 yılında Portekiz’de bir inşaat sahasında tamamen iskeletleşmiş olarak bulunan bir cesedin sağ femurundan alınan 200 gram trabeküler ve kortikal kemik örneği ile radyokarbon analizi yapılmış, cesedin tahmini ölüm zamanı radyokarbon miktarının formüllerde kullanılması ile belirlenmiştir (90).

^{14}C metodunda olduğu gibi elementlerin değişiminin ve radyasyon emisyonunun değerlendirilmesine dayalı olarak yarı ömrü ^{14}C ’e nispeten daha kısa olan stronsiyum, kurşun, polonyum, plütonyum, toryum, radon radyonüklidleri ile yapılmış çalışmalar mevcuttur ve bu çalışmalar ile anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır. Ancak bu elementlerin cesette bulunma durumunun coğrafi özellikler, kişinin beslenme alışkanlıkları ve ölüm yaşı gibi etkenlerle ilişkili olduğu unutulmamalıdır (8, 91-97).

Bu alanda kullanılabilecek bir diğer teknik de insan iskeletinde bulunan hemoglobinin miktarının tayinidir. Bu teknikte kullanılan luminol, hidrojen peroksit ilavesiyle karanlıkta görülebilen ve fotoğraflanabilen mavimsi beyaz bir ışık üreten alkali bir çözelti

olup kan lekelerinin çıplak gözle görülmesini sağlar. Intona F. ve arkadaşları, bir çalışmada ölüm zamanı bilinen 80 cesedin her birinin femur shaftının kompakt dokusundan 300 mg kemik tozu kullanarak PMI uzunluğuna göre beş gruba ayırmış, luminole verdikleri parlaklık reaksiyonunu değerlendirmişlerdir. PMI si kısa olan kemik tozlarının daha yoğun kemiluminesans cevap verdiği ancak çok eski kemik tozlarının luminole hiç cevap vermediği gösterilmiştir (98).

İskeletleşmiş kemikte PMI tayini için bir diğer teknik de ultraviyole (UV) ışınları kullanımıdır. Bu tekniğin esas alındığı bir çalışmada UV ışık ve 490 nanometre (nm) indüklü immunfloresan kullanılmış, çalışmada ölüm tarihi bilinen ve ölümü üzerinden geçen süre 1 ila 49 yıl arasında değişen farklı yerlerde gömülü 30 cesedin femoral kemiğinden kesit alınmış, uygun ortamda saklanmış ve kesitlerin optik davranışları farklı dalga boylarında denendikten sonra en etkili floresan reaksiyonun görüldüğü 490 nm indüklü immunfloresan ve uzun dalga UV ışık altında incelenmiştir. Karanlık bir kutunun içerisine yerleştirilen kemik kesitlerine ışık tutulmuş ve kemikten geri yansıyan ışık yayılımları değerlendirilmiştir. İki yöntem karşılaştırılarak PMI için anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır (99).

2.6. DİĞER GÜNCEL PMI TAYİN YÖNTEMLERİ

2.6.1. Abdominal Rezistans

Karın ön duvarındaki postmortem elektriksel rezistansın değişikliği ile PMI arasındaki korelasyonu gösterir çalışmalar yapılmıştır. Ratlar üzerinde yapılmış bir çalışmada postmortem ilk 24 saat abdominal rezistansın arttığı, 24-504. saatler arasında ise rezistansın düşüş gösterdiği belirtilmiştir (100,101).

2.6.2. Kalsitoninin İmmünohistokimyasal Tespiti

Cesetlerden alınan tiroid dokularının incelendiği bir çalışmada, C hücreleri ile kalsitoninin immun reaksiyonları değerlendirilmiş, postmortem ilk dört gün incelenen tüm örneklerde pozitif reaksiyon görülürken 13. gün ve sonrasında hiç bir reaksiyon görülmediği belirtilmiştir (102).

2.6.3. Kalmodulin Bağlayıcı Proteinlerin Gösterilmesi

Ratların akciğerlerinde ve kaslarında postmortem kalsiyum bağlayıcı proteinlerin otoradyografik olarak görüntülendiği bir çalışmanın sonucunda PMI tayininde kalsiyum bağlayıcı proteinlerin bir belirteç olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (103).

2.6.4. Dokuda ve Kanda ATP Düzeyi Belirlenmesi

Ratlardan postmortem olarak alınan kas dokusunun mikrobiyal ATP düzeyinin incelendiği bir çalışmada mikrobiyal ATP ile PMI arasında yüksek korelasyon olduğu gösterilmiştir. Tavşanlarla yapılan başka bir deneyde tavşanların sağ kalplerinden alınan kan örneklerinin farklı sıcaklıklarda ATP değerleri ölçülmüş ve ATP seviyesi-Ortam sıcaklığı-PMI arasındaki ilişkiyi gösterir matematiksel bir model geliştirilmiştir (104).

2.6.5. Yüksek Hareketlilik Grubu Protein 1(HMGB₁) Düzeyi Ölçümü

HMGB₁, nekroz sonrası ökaryotik hücrelerden salınan bir DNA bağlayıcı protein olup güçlü bir proinflamatuvar stokindir (105, 106). Yapılan çalışmalarda PMI ile HMGB₁ düzeyi arasında anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir (107).

2.6.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Kullanımı

FTIR, matematiksel Fourier dönüşümü yöntemi ile ışığın kızılötesi yoğunluğuna karşı dalga sayısını ölçen bir kimyasal analitik yöntemdir (108). Karaciğer, dalak dokularında ve vitröz humörde bu yöntemin kullanıldığı PMI tayinine yönelik çalışmalar mevcuttur (109, 110).

2.6.7. UV Vis Spektroskopisi Kullanımı

Plazma optik yoğunluğu ile PMI arasında anlamlı ilişki bulunduğunu gösterir ratlar üzerinde yapılmış çalışmalar literatürde mevcuttur (111).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı (Tarih: 16.04.2019, Toplantı No: 2019/07, Proje No: 19-KAEK-09)) alındıktan sonra başlandı. Çalışma kapsamındaki bütün uygulamalar Dünya Tıp Birliği (WMA) Helsinki Bildirgesi İnsan Gönüllüler Üzerinde Yapılan Tıbbi Araştırmalarda Etik İlkeler'e uygun olarak yapıldı.

Çalışmamızda, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'nde, 18 yaş üstü, ek sistemik hastalığı bulunmayan, sağlıklı olarak çekilmiş en fazla Class I veya II gömülülük derecesine sahip olan ya da gömülü olmayıp yine atravmatik olarak çekilmiş, onam formu ile bilgilendirilmiş ve yazılı onamları alınmış 70 farklı hastaya ait toplam 70 adet sağlıklı ve bütün olarak çekilmiş 3. molar diş kullanıldı.

3.1. GRUPLANDIRMA

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'nde alınan diş örnekleri 7 grupta incelendi;

Grup 1: 10 adet 3. molar diş incelendi, çekim sonrası 0. saatte alınan dişleri içermektedir ve bu grup aynı zamanda kontrol grubu olarak kabul edildi.

Grup 2: 10 adet 3. molar diş incelendi, çekim sonrası 7. gün ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Grup 3: 10 adet 3. molar diş incelendi, çekim sonrası 15. gün ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Grup 4: 10 adet 3. molar diş incelendi, çekim sonrası 30. gün ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Grup 5: 10 adet 3. molar diş incelendi, çekim sonrası 60. gün ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Grup 6: 10 adet 3. molar diş incelendi, çekim sonrası 90. gün ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Grup 7: 10 adet 3. molar diş incelendi, çekim sonrası 180. gün ışık mikroskopunda değerlendirildi.

3.2. ÖRNEKLERİN HİSTOPATOLOJİK İNCELEME İÇİN HAZIRLANIŞI

Aynı grup içerisinde değerlendirilecek dişler aynı gün içerisinde gönüllülerden alındıktan sonra, 1. grup dışındaki diğer 6 gruba ait dişler, Tip II model alçısından ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; kalsiyum sülfat dihidrat, sert alçı) yapılmış mandibula benzeri bir modele corona dentis kısmı dışta, cervix dentis ve radix dentis kısımları sert alçı içerisinde kalacak şekilde yerleştirildi ve alçı kalıp sert bir şekilde donana kadar bekletildi (Şekil-1). Daha sonra model alçının etrafı hayvansal kaynaklı yaklaşık 3 cm kalınlıktaki çizgili kas dokusu ile rekonstrükte edildi (Şekil-2). Hazırlanan deney modelleri açık hava koşullarında çürüme sürecine bırakıldı (Şekil-3). Çalışmanın yapıldığı zamana ait hava koşulları ile ilgili ayrıntılı bilgiler Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden elde edildi. Elde edilen bilgiler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo-1: Grupların Çürümeye Bırakıldığı Çevre Koşulları

Grup Numarası	Ortalama Sıcaklık	Minimum sıcaklık	Maksimum sıcaklık	Ortalama Nem	Günlük maksimum rüzgar hızı
2. Grup	22,4°C	12,2°C	33,4°C	%56,2	11,5 m/sn
3. Grup	22,7°C	12,2°C	38,0°C	%56,9	10,3 m/sn
4. Grup	23,3°C	12,2°C	38,7°C	%61,4	9,9 m/sn
5. Grup	21,5°C	11,6°C	38,7°C	%50,9	10,4 m/sn
6. Grup	20,9°C	4,1°C	38,7°C	%59,1	8,8 m/sn
7. Grup	21,7°C	4,1°C	38,7°C	%60,9	8,8 m/sn

1. gruba ait olan dişler çürüme süresi beklenmeden, gönüllüden alındığı anda, aşağıda tarif edeceğimiz işlemlere tabi tutuldu.



Şekil-1. Mandibula benzeri deney modeli



Şekil-2. Hayvansal çizgili kas dokusu ile modelin kapatılması

Hazırlanan deney model içerisinde çürümeye bırakılan 6 gruba ait dişler, yukarıda belirtilen çürüme süreleri dolduktan sonra deney modelinden çıkarıldı ve 1. grup olan kontrol grubu da dahil tüm gruplar fiksasyon için 24 saat boyunca %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda bekletildi. Fiksasyon sonrasında örnekler dekalsifikasyon işlemi için 21 gün boyunca dekalsifikasyon solüsyonunda (%10 formik asit + %10 formaldehit + %80 distile su) bekletildi. Bistüri ile kolayca kesilebilecek kıvama gelen örnekler alınarak histopatolojik rutin takip işlemleri sonrasında parafin bloklara gömülerek poli-L-lizinli lama 5 mikron kalınlığında kesitler alındı (Şekil-4). Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için etüv içinde 50-55°C'de bir gece bekletilip, etüvden

ıkarıldıktan sonra 20 dakika ksilende deparafinize edildi. Ksilenden çıkan preparatlar absolü alkolde 10 dakika, %96'lık alkolde 5 dakika bekletildikten sonra 5 dakika süreyle eşme suyunda yıkanıp 10 dakika süreyle distile suda bekletildi. Hazırlanan kesitler Hematoksilen & Eozin (H&E) ve Masson Trichrom ile boyandı ve iki farklı patoloji uzmanı tarafından çift kör çalışma ile değerlendirildi.



Şekil-3. Deney modelleri için saklama kafesi



Şekil-4. Dekalsifikasyon işlemi sonrası vertikal kesilebilen diş örnekleri

Preperatlar ışık mikroskobu altında, molar diş pulpalarında, H&E ile hücresel yapılar, ekstraselüler matriks, kan damarları, predentin tabaka yapıları, Masson Trichrom ile kollajen lifleri semikantitatif olarak değerlendirildi. Semikantitatif değerlendirme ölçütleri bu alanda yapılmış benzer çalışmalar incelenerek belirlendi (6). Değerlendirmede kullanılan ölçütler Tablo 2'de ve Tablo 3'de gösterildi. Belirtilen

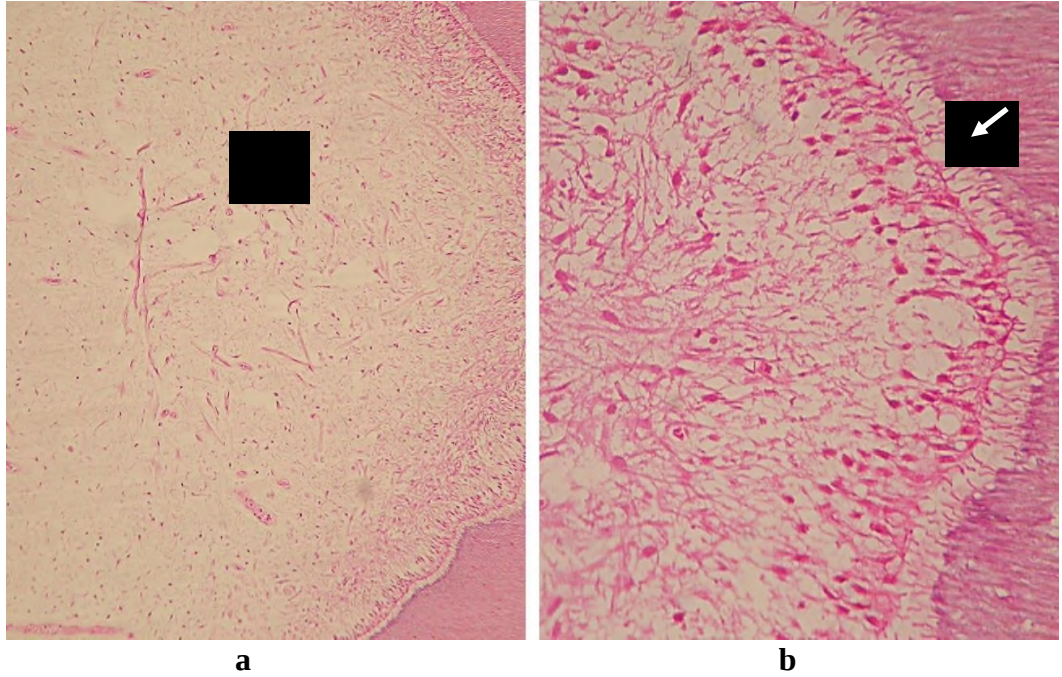
semikantitatif değerlendirme sonucu olan dereceleri yansıtır mikroskop görüntüleri Şekil 5-16'da gösterildi.

Tablo-2: H&E ile hazırlanan preperatlarda kullanılan histokimyasal değerlendirme ölçütleri

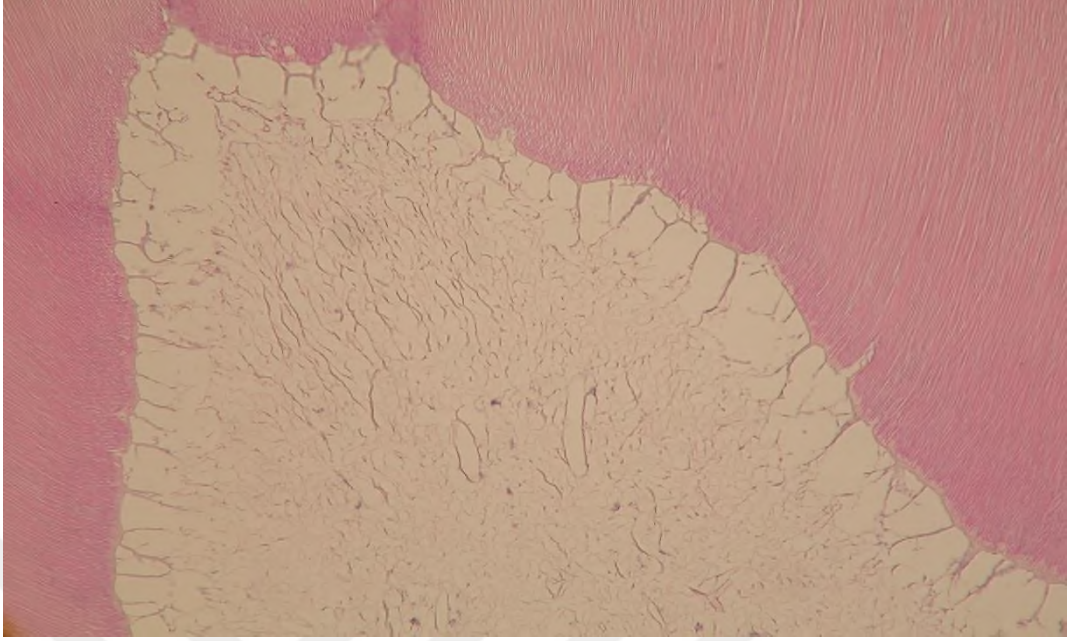
Değerlendirilen Parametre	Değerlendirme Kriterleri	Derece
Hücresel Yapılar	Yoğun hücre, çekirdek morfolojisi korunmuş	3+
	Yoğun hücre, çekirdek morfolojisi bozulmuş, hücresel yapılar periferde birikme gösteriyor.	2+
	Düşük yoğunlukta hücre, morfoloji bozulmuş, düzensiz kromotin, tanımlanamayan morfoloji.	1+
	Hücresel yapı ayırt edilemiyor	0
Ekstraselüler Matriks	Homojen dağılmış matriks, vakuolizasyon yok	3+
	Ekstraselüler matriks homojenitesinde parsiyel kayıp, vakuolizasyon	2+
	Dağılmış, parçalanmış parsiyel matriks, vakuolizasyon	1+
	Ekstraselüler matriks kalıntısı hat şeklinde predentin tabakaya çökmüş	0
Kan Damarları	Endotel hücreleri iyi korunmuş	3+
	Endotel hücreleri morfolojisi bozulmuş, kan damarları seçilebiliyor	2+
	Endotel hücreleri tanımlanamıyor, kan damarları siluet şeklinde	1+
	Kan damarları seçilemiyor	0
Predentin Tabaka	Sınırları belirgin, dentin tabakadan ayırt edilebiliyor, eozinofilik boyanmış	3+
	Sınırları belirgin, dentin tabakadan ayırt edilebiliyor, bazofilik boyanma	2+
	Sınırları düzensiz, bazofilik boyanma	1+
	Predentin ayırt edilemiyor	0

Tablo-3: Masson Trichrom ile hazırlanan preperatlarda kullanılan histokimyasal değerlendirme ölçütleri

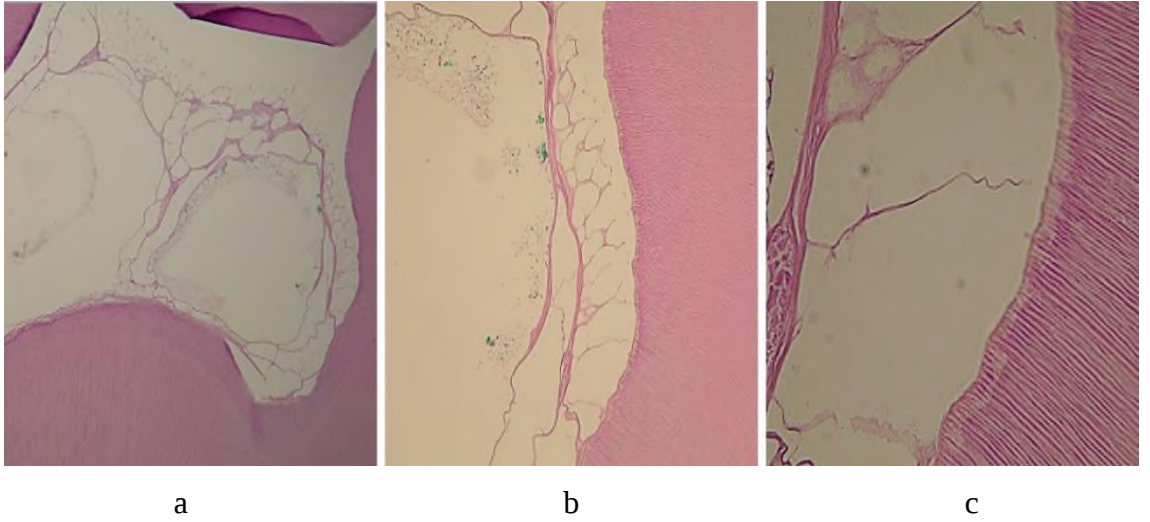
Değerlendirilen Parametre	Değerlendirme Kriterleri	Derece
Kollajen Lifleri	İnce ve dalgalı kollajen lifleri, heterojen boyanma, dağınık pattern yok	3+
	Homojen dağılımlı kollajen lifleri, ince-dalgalı dağılım yok	2+
	Kollajen lifleri kalın hat şeklinde, homojen boyanmış	1+
	Kollajen yapısı izlenmiyor	0



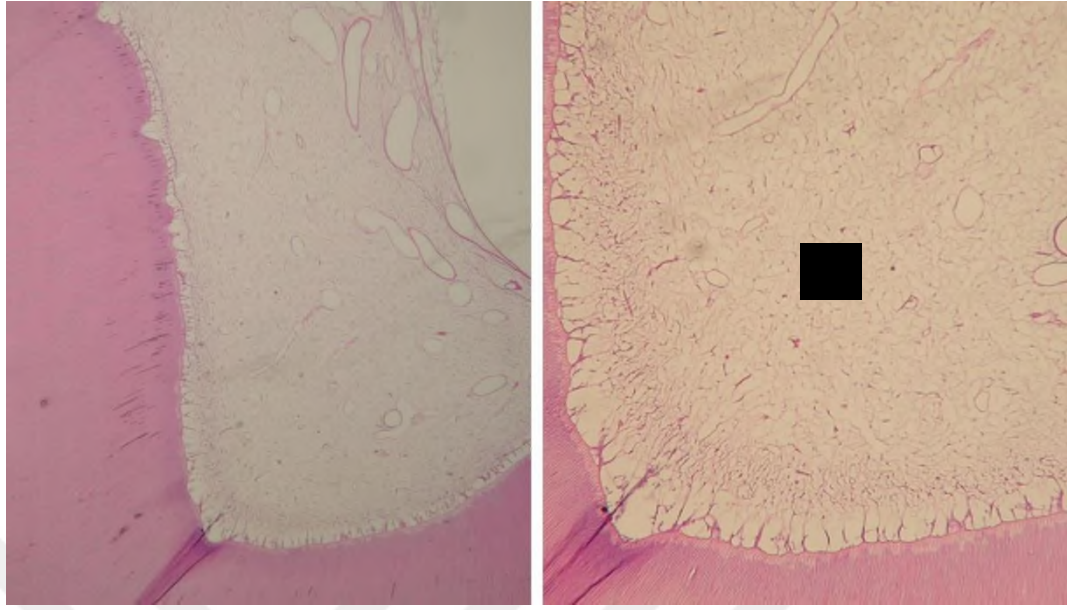
Şekil-5: Hücresel yapılar 3+, ekstraselüler matriks 3+, kan damarları 3+, predentin tabaka 3+, endotel hücreleri iyi korunmuş kan damarı (siyah ok), H&E, x100 (a), sınırları belirgin, dentin tabakadan ayırt edilebilen, eozinofilik boyanmış predentin tabaka (beyaz ok), x400 (b).



Şekil-6: Hücresel yapıların çekirdek morfolojisinde bozulma, derecesi 2+, H&E, x100



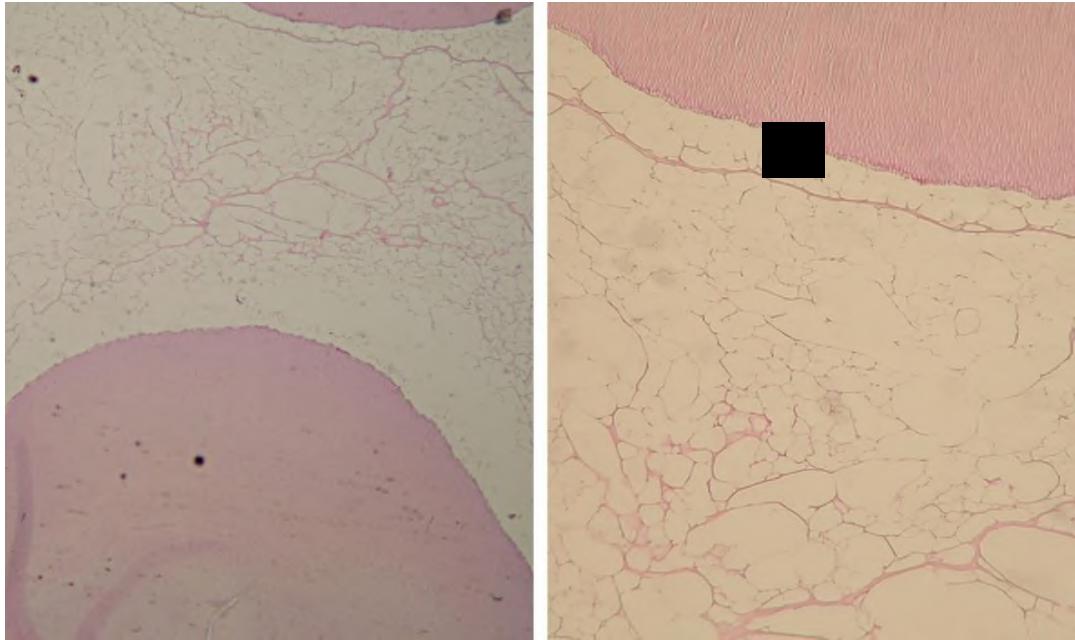
Şekil-7: Ekstraselüler matriks homojenitesinde parsiyel kayıp ve vakuolizasyon, ekstraselüler matriks derecesi 2+, H&E, x40 (a), x100 (b), x400 (c)



a

b

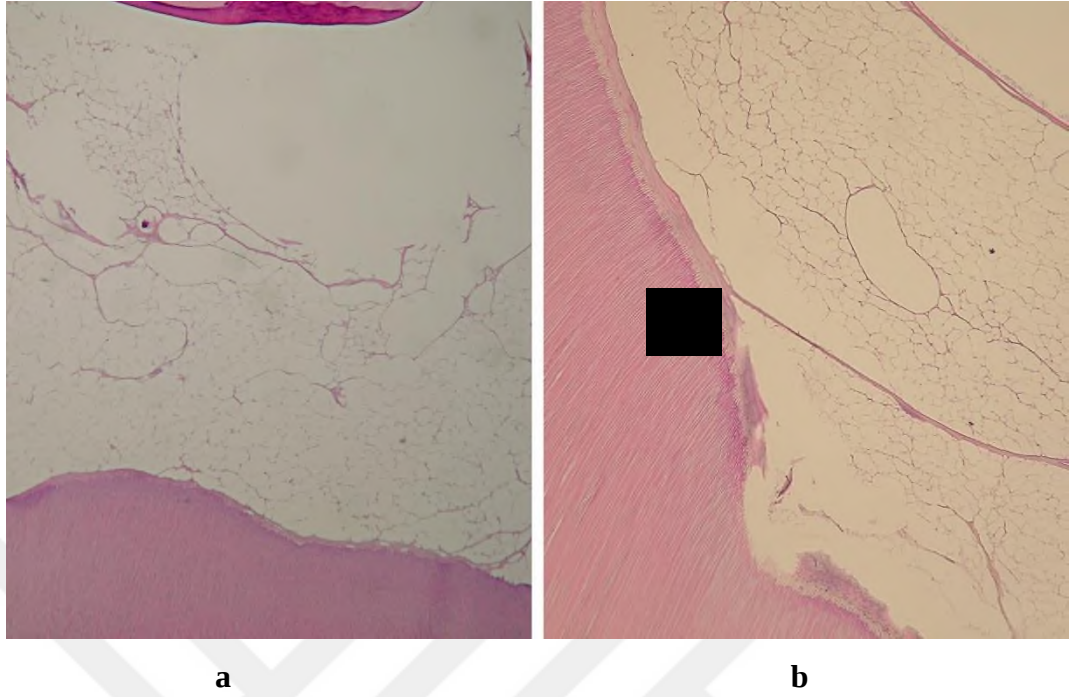
Şekil-8: Endotel hücre morfolojisi bozulmuş kan damarları, derecesi 2+ (siyah ok), H&E, x40, (a), x100 (b)



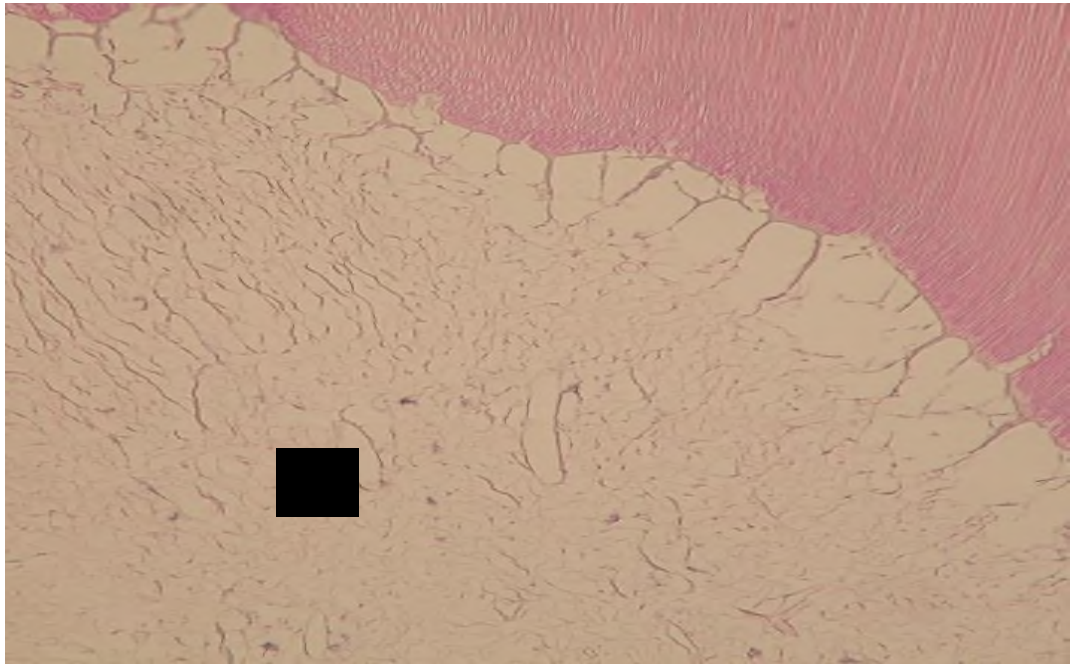
a

b

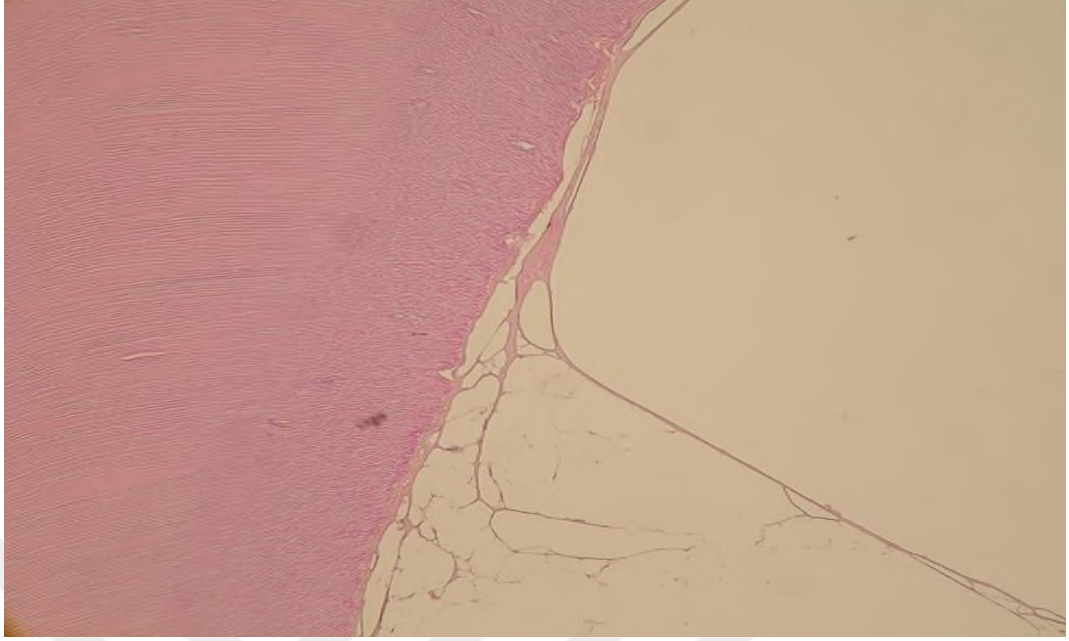
Şekil-9: Sınırları düzenli, bazofilik boyanmış predentin tabaka, derecesi 2+ (siyah ok), H&E, x40 (a), x100 (b)



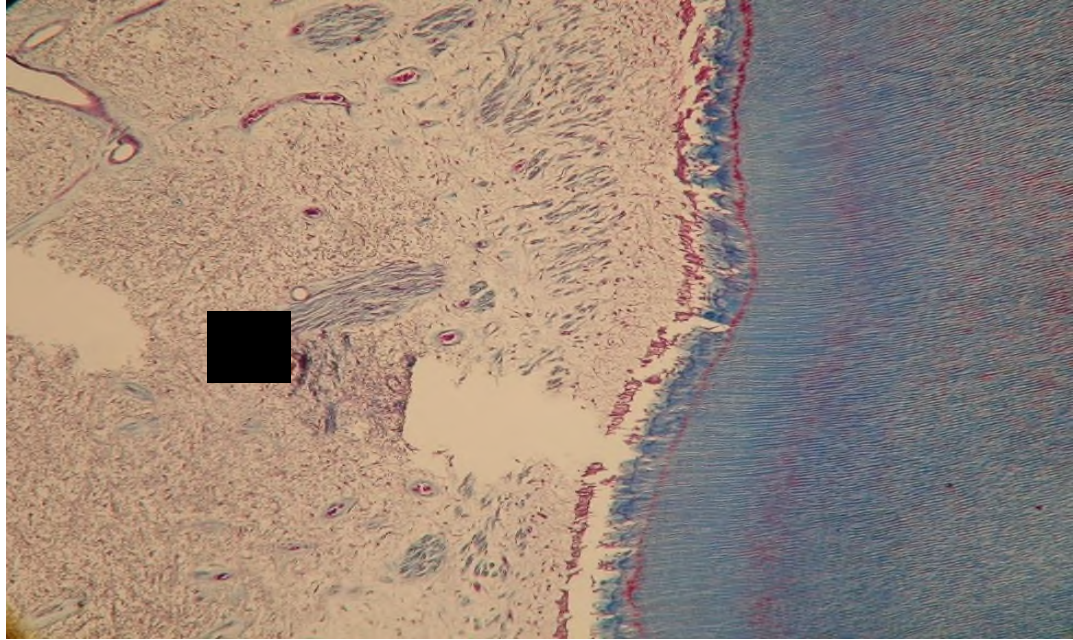
Şekil-10: Hücresel yapı 1+; ekstraselüler matriks 1+, sınırları düzensiz preentin tabaka, derecesi 1+ (siyah ok), H&E, x40 (a), x100 (b)



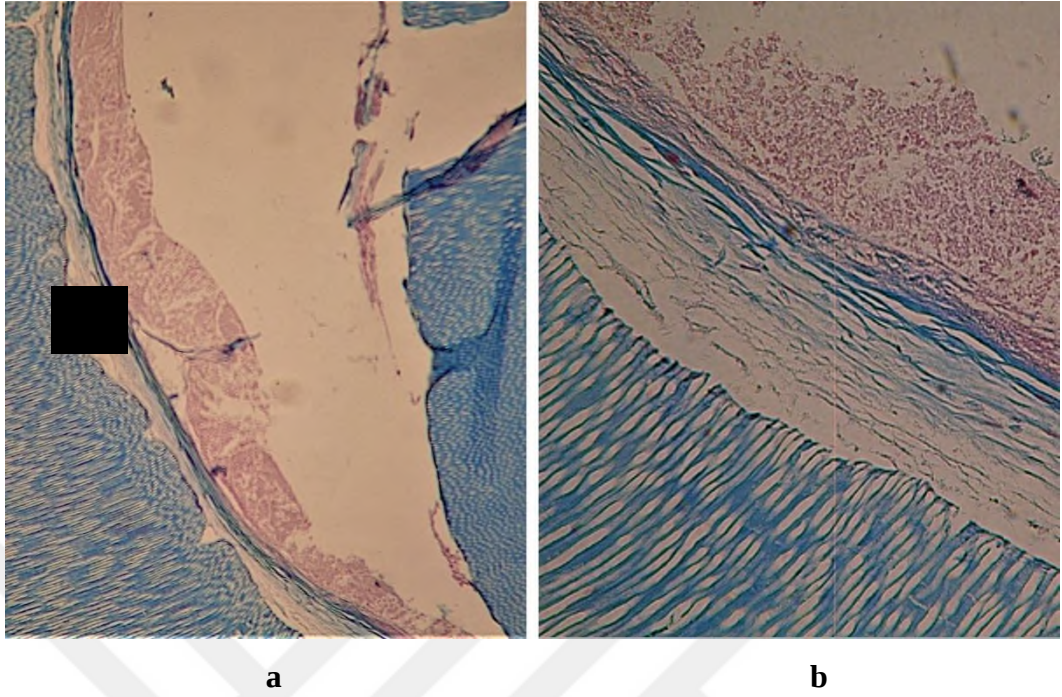
Şekil-11: Silüet şeklinde kan damarları, derecesi +1 (siyah ok), H&E, x100



Şekil-12: Hücresel yapı ayırt edilemiyor, derecesi 0; ekstraselüler matriks kalıntısı hat şeklinde preentin tabakaya çökmüş, derecesi 0; kan damarları seçilemiyor, derecesi 0; preentin tabaka ayırt edilemiyor, derecesi 0, H&E, x100



Şekil-13: Kollajen lifleri ince ve dalgalı, heterojen boyanmış, dağınık patern yok, derecesi 3+ (siyah ok), Masson Trichrom, x100



Şekil-14: Kollajen lifleri ince ve dalgalı görünümünü kaybetmiş, homojen boyanmış, derecesi 2+ (siyah ok), Masson Trichrom, x100 (a), x400 (b)



Şekil-15: Kollajen lifleri kalın hat şeklinde, homojen boyanmış, derecesi 1+ (siyah ok), Masson Trichrom, x100



Şekil-16: Kollajen lifleri izlenmiyor, derecesi 0, Masson Trichrom, x100

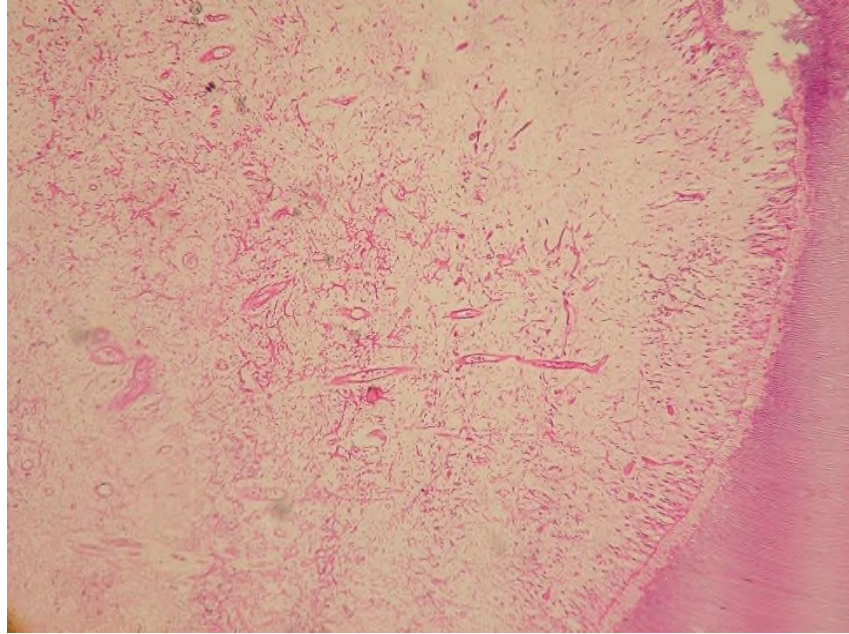
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışma gruplarının genel özellikleri hakkında bilgi vermek amacı ile tanımlayıcı analizler yapılmıştır. Kategorik değişkenlere ilişkin veriler ise n (%) şeklinde verilmektedir. Tekrarlı ölçümler arasındaki karşılaştırma için non-parametrik Friedman testi kullanılmıştır. P değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hesaplamalarda hazır istatistik yazılımı kullanılmıştır (IBM SPSS Statistics 19, SPSS inc., an IBM Co., Somers, NY).

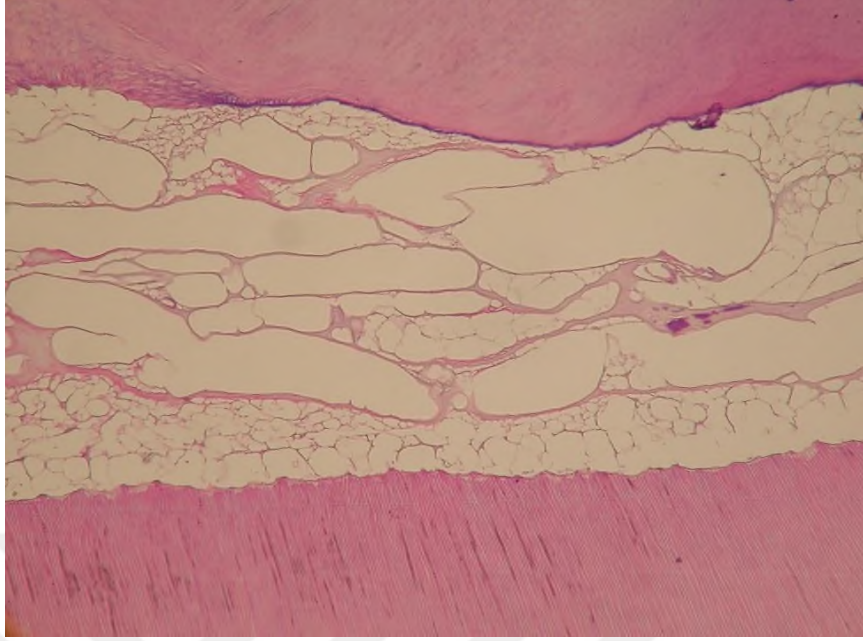
4.BULGULAR

4.1. Hücresel Yapılarda İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular

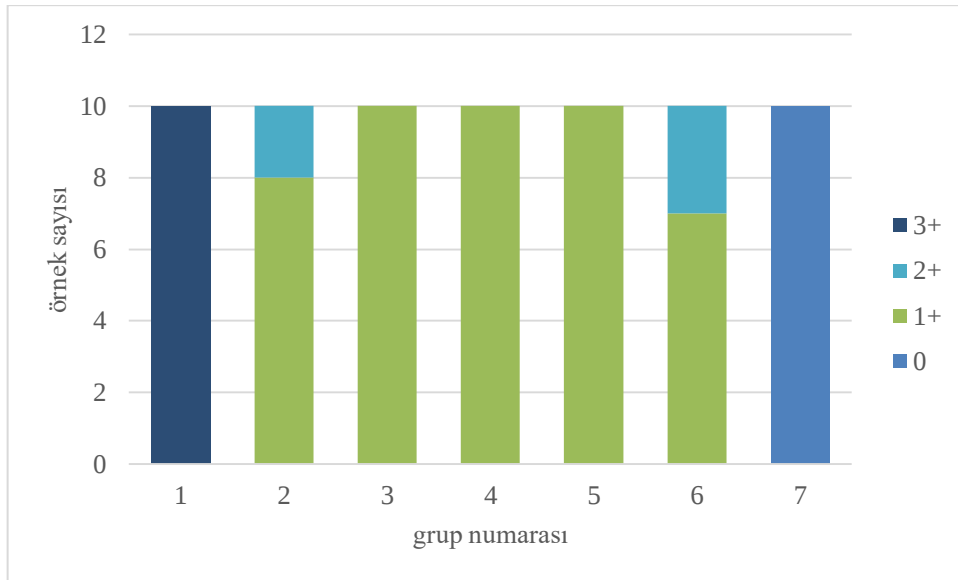
Hücresel yapılarda görülen değişikliklere ışık mikroskobu altında, H&E ile boyanmış, tüm diş örneklerinde bakıldı. Çekim sonrası 0. saat'ten sonra hücre morfolojisinde belirgin bozulma dikkati çekti. Kontrol grubundaki hücresel yapıların mikroskobik görüntü Şekil 17'de, hücresel yapılardaki bozulmayı gösterir mikroskop görüntüsü Şekil 18'de, tüm gruplara ait hücresel yapılarda görülen değişiklikleri gösterir veriler Şekil 19'da verildi. Mikroskobik değerlendirmelerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde; Grup 1 (kontrol grubu) ile Grup 3 ($p=0.016$), Grup 4 ($p=0.016$), Grup 5 ($p=0.016$) ve Grup 7 ($p=0.001$)'de ayrıca Grup 7 ile Grup 2 ($p=0,016$) ve Grup 6 ($0,006$)'da alınan örnekler arasında hücresel yapılarda gözlenen histolojik değişiklikler açısından anlamlı farklılık bulundu. Diğer grupların kendi aralarında yapılan kıyaslamasında istatistiki açıdan anlamlı farklılık bulunmadı Tüm gruplara ait hücresel yapılarda izlenen histolojik değişikliklere göre örnek sayıları ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4'de gösterildi.



Şekil-17: Kontrol grubu (Grup-1), hücresel yapıların görünümü, H&E, x100



Şekil-18: Çekim sonrası 180. gün (Grup-7), hücresel yapı ayırt edilemiyor, H&E, x100



Şekil-19: Hücresel yapılarda görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı

Tablo-4: Hücresel yapılarda görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları

Grup Numarası	Hücresel Yapılarda Görülen Değişiklikler								p*
	0		1+		2+		3+		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
1.Grup	0	0,0	0	0,0	0	0,0	10	100,0	-
2. Grup	0	0,0	8	80,0	2	20,0	0	0,0	0,093
3. Grup	0	0,0	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0,016
4. Grup	0	0,0	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0,016
5. Grup	0	0,0	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0,016
6. Grup	0	0,0	7	70,0	3	30,0	0	0,0	0,203
7. Grup	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,001

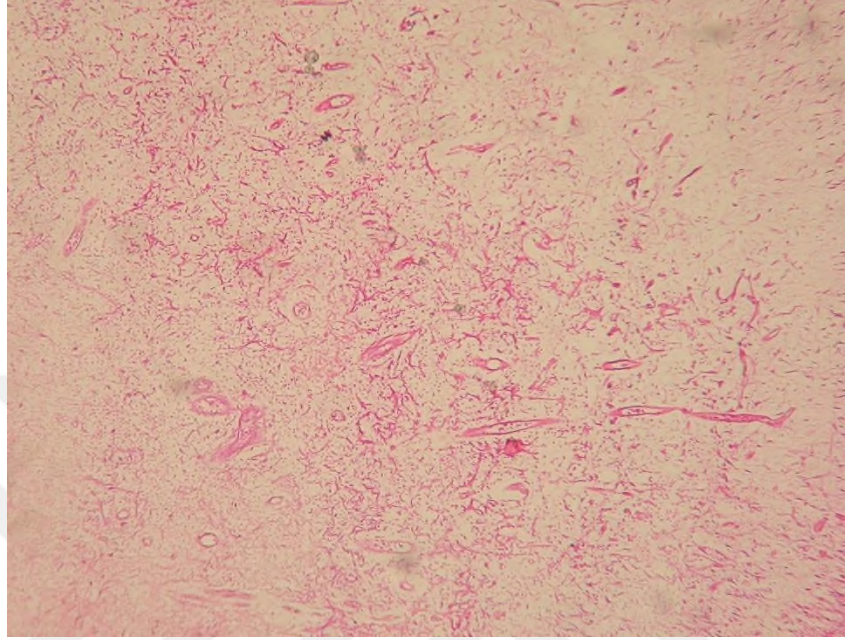
Friedman testi kullanıldı. ($\chi^2=54,815$; $p<0,001$)

* Tüm grupların 1. grup (0. saat) ile karşılaştırılmasından elde edilen değerler.

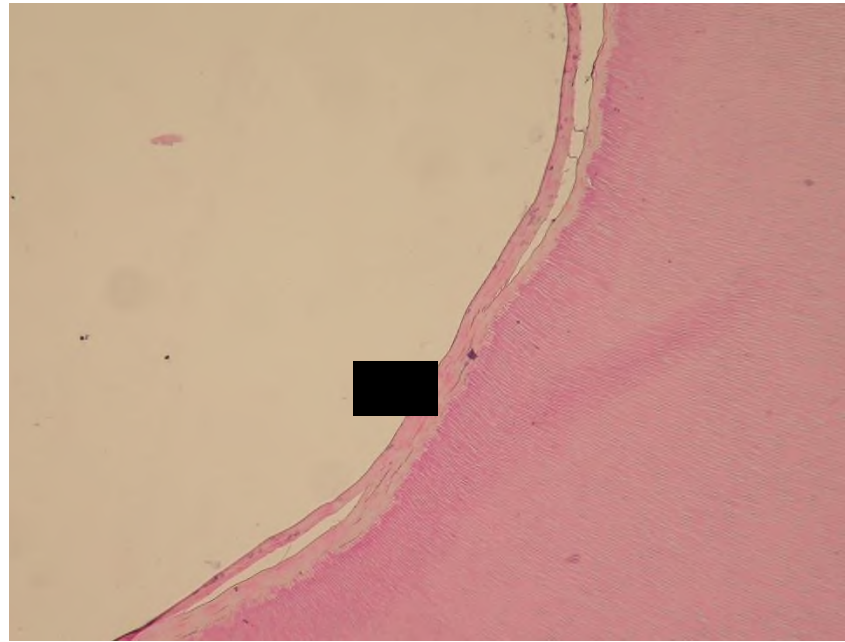
4.2. Ekstraselüler Matriksde İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular

Ekstraselüler matriksde görülen değişikliklere ışık mikroskobu altında, H&E ile boyanmış, tüm diş örneklerinde bakıldı. Kontrol grubundaki ekstraselüler matriks mikroskopik görüntüsü Şekil 20’de gösterildi. Grup 5 (çekim sonrası 60. gün)’den sonra parçalanmış ekstraselüler matriksin predentin tabaka üzerine belirgin şekilde çöktüğü dikkat çekti, predentin tabaka üzerine çökmenin mikroskopik görüntüsü Şekil 21’de, tüm gruplara ait ekstraselüler matriksde görülen değişiklikleri gösterir veriler Şekil 22’de verildi. Mikroskopik değerlendirmelerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde; Grup 1 (kontrol grubu) ile Grup 2 ($p=0.003$), Grup 4 ($p=0.003$), Grup 5 ($p=0.001$), Grup 7 ($p=0.001$)’de alınan örnekler arasında görülen histolojik değişiklikler açısından anlamlı farklılık bulundu, diğer grupların kendi aralarında yapılan kıyaslamasında istatistiki açıdan anlamlı farklılık bulunmadı. Tüm gruplara ait ekstraselüler matriksde

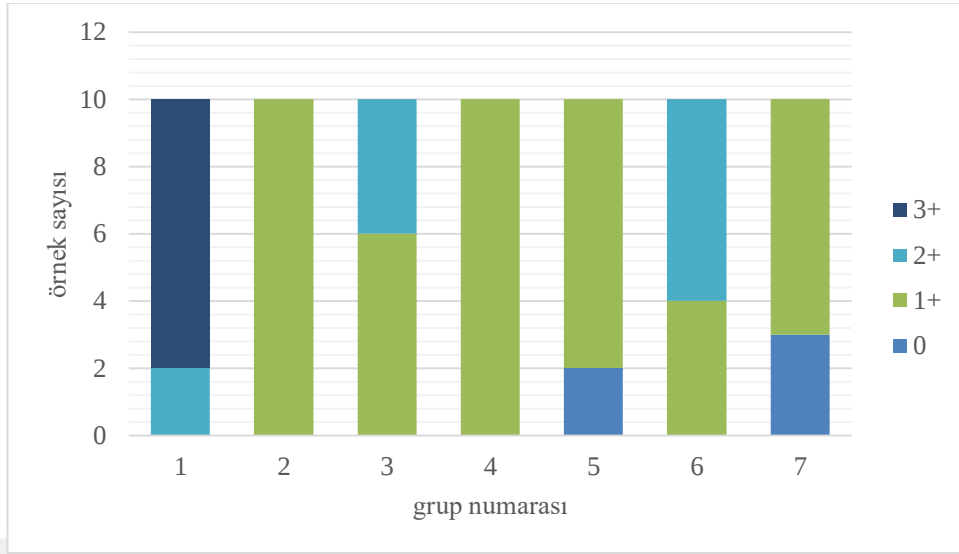
izlenen histolojik değişikliklere göre örnek sayıları ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 5’de gösterildi.



Şekil-20: Kontrol grubu (Grup-1), ekstraselüler matriks görünümü, H&E, x100



Şekil-21: Çekim sonrası 180. gün (Grup-7), ekstraselüler matriks kalıntısı hat şeklinde predentin tabakaya çökmüş (siyah ok), H&E, x100



Şekil-22: Ekstraselüler matriksde görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı

Tablo-5: Ekstraselüler matriksde görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları

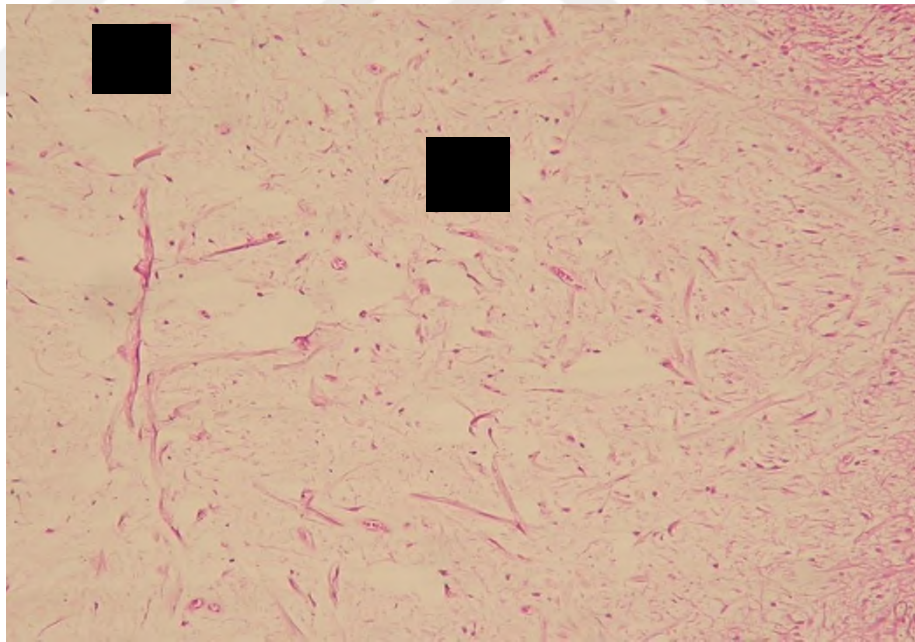
Grup Numarası	Ekstraselüler Matriksde Görülen Değişiklikler								p*
	0		1+		2+		3+		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
1.Grup	0	0,0	0	0,0	2	20,0	8	80,0	-
2. Grup	0	0,0	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0,003
3. Grup	0	0,0	6	60,0	4	40,0	0	0,0	1,0
4. Grup	0	0,0	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0,003
5. Grup	2	20,0	8	80,0	0	0,0	0	0,0	0,001
6. Grup	0	0,0	4	40,0	6	60,0	0	0,0	1,0
7. Grup	3	30,0	7	70,0	0	0,0	0	0,0	0,001

Friedman testi kullanıldı. ($\chi^2=44,217$; $p<0,001$)

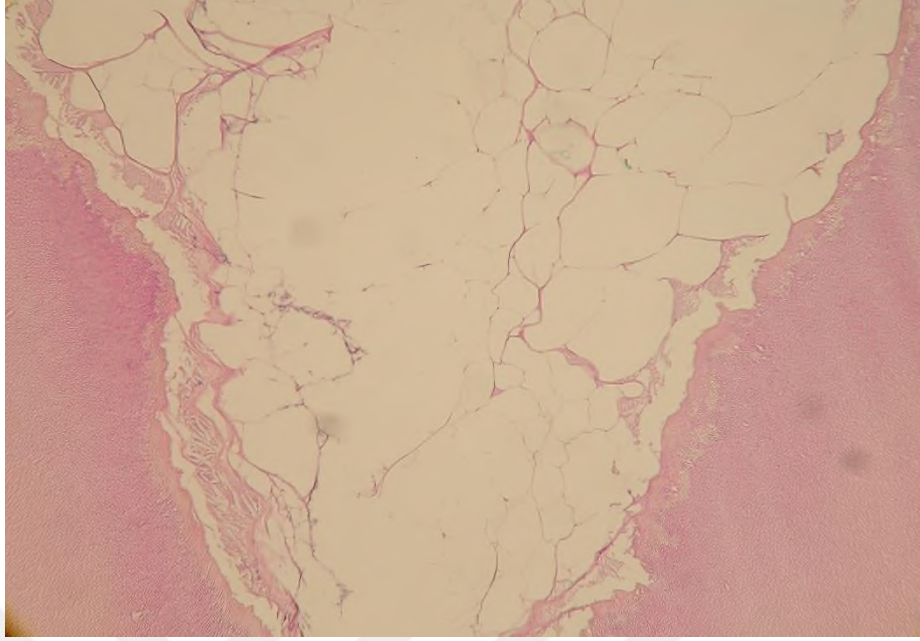
* Tüm grupların 1. grup (0. saat) ile karşılaştırılmasından elde edilen değerler.

4.3. Kan Damarlarında İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular

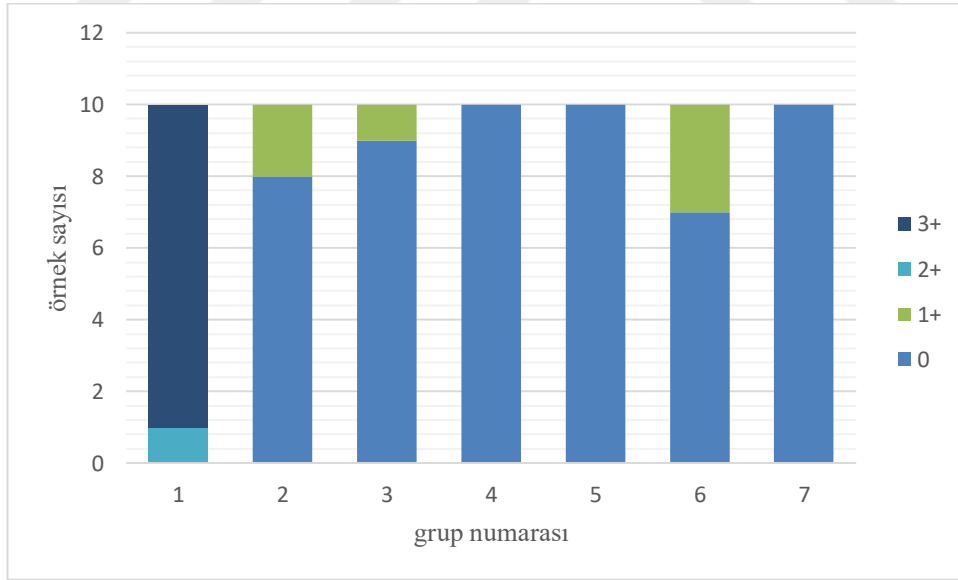
Kan damarlarında görülen değişikliklere ışık mikroskobu altında, H&E ile boyanmış, tüm diğ örneklerinde bakıldı. Kontrol grubundaki kan damarlarının mikroskobik görüntüsü Şekil 23’de gösterildi Grup 2’den itibaren tüm gruplarda kan damarlarının yapısında bozulma izlendi, kan damarlarındaki bozulmayı gösterir mikroskop görüntüsü Şekil 24’de, tüm gruplara ait kan damarlarında görülen değişiklikleri gösterir veriler Şekil 25’de verildi. Mikroskobik değerlendirmelerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde; Grup 1 (kontrol grubu) ile Grup 2 ($p=0.019$), Grup 3 ($p=0.0006$), Grup 4 ($p=0.002$), Grup 5 ($p=0.002$), Grup 7 ($p=0.002$)’de alınan örnekler arasında görülen histolojik değişiklikler açısından anlamlı farklılık bulundu. Diğer grupların kendi aralarında yapılan kıyaslamasında istatistiki açıdan anlamlı farklılık bulunmadı Tüm gruplara ait kan damarlarında izlenen histolojik değişikliklere göre örnek sayıları ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 6’da gösterildi.



Şekil-23: Kontrol grubu (Grup-1) kan damarlarının görünümü (siyah oklar), H&E, x100



Şekil-24: Çekim sonrası 15. gün (Grup-3), kan damarları izlenemiyor, H&E, x100



Şekil-25: Kan damarlarında görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı

Tablo-6: Kan damarlarında görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları

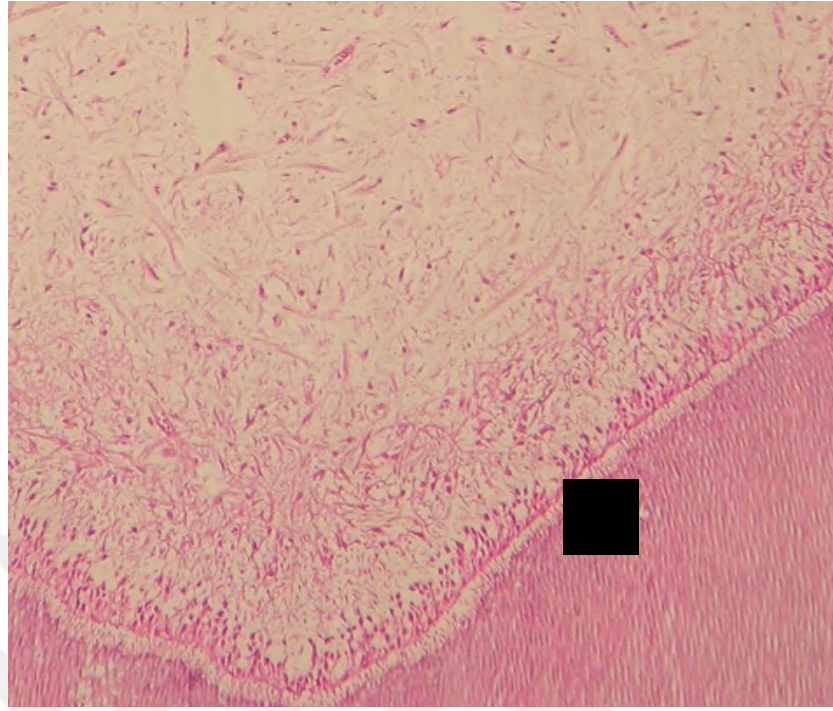
Grup Numarası	Kan Damarlarında Görülen Değişiklikler								p*
	0		1+		2+		3+		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
1.Grup	0	0,0	0	0,0	1	10,0	9	90,0	-
2. Grup	8	80,0	2	20,0	0	0,0	0	0,0	0,019
3. Grup	9	90,0	1	10,0	0	0,0	0	0,0	0,006
4. Grup	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,002
5. Grup	10	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,002
6. Grup	7	70,0	3	30,0	0	0,0	0	0,0	0,056
7. Grup	10	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,002

Friedman testi kullanıldı. ($\chi^2=44,880$; $p<0,001$)

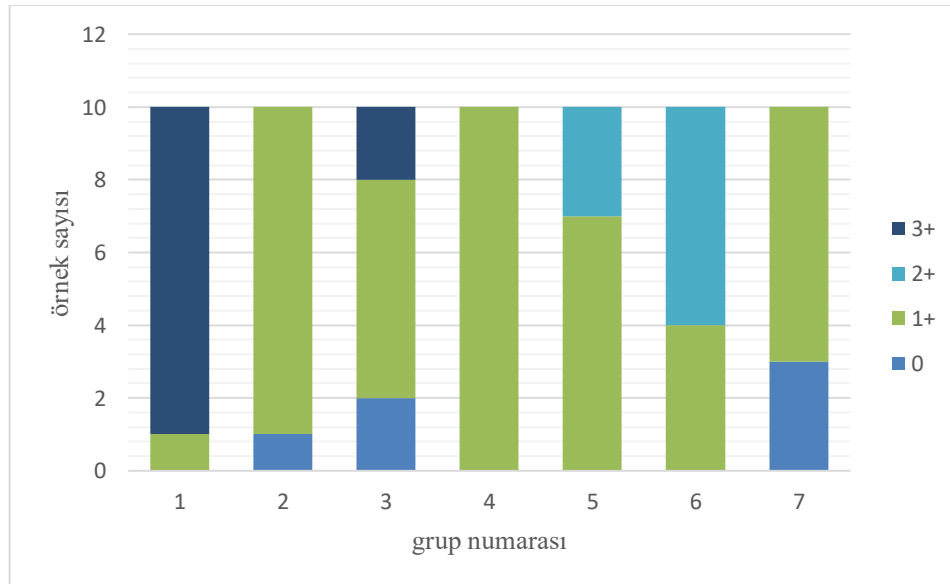
* Tüm grupların 1. grup (0. saat) ile karşılaştırılmasından elde edilen değerler.

4.4. Predentin Tabakada İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular

Predentin tabakada görülen değişikliklere ışık mikroskobu altında, H&E ile boyanmış, tüm diş örneklerinde bakıldı. Kontrol grubundaki predentin tabakanın mikroskopik görüntüsü Şekil 26’da, tüm gruplara ait predentin tabakada görülen değişiklikleri gösterir veriler Şekil 27’de verildi. Mikroskopik değerlendirmelerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde; Grup 1 (kontrol grubu) ile Grup 2 ($p=0.006$), Grup 3 ($p=0.0028$), Grup 4 ($p=0.016$), Grup 7 ($p=0.001$)’de alınan örnekler arasında görülen histolojik değişiklikler açısından anlamlı farklılık bulundu. Diğer grupların kendi aralarında yapılan kıyaslamasında istatistiki açıdan anlamlı farklılık bulunmadı. Tüm gruplara ait predentin tabakada izlenen histolojik değişikliklere göre örnek sayıları ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 7’de gösterildi.



Şekil-26: Kontrol grubu (Grup-1), predentin tabakanın görünümü (siyah ok), H&E, x100



Şekil-27: Predentin tabakada görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı

Tablo-7: Predentin tabakada görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları

Grup Numarası	Predentin Tabakada Görülen Değişiklikler								p*
	0		1+		2+		3+		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
1.Grup	0	0,0	1	10,0	0	0,0	9	90,0	-
2. Grup	1	10,0	9	90,0	0	0,0	0	0,0	0,006
3. Grup	2	20,0	6	60,0	0	0,0	2	20,0	0,028
4. Grup	0	0,0	10	10,0	0	0,0	0	0,0	0,016
5. Grup	0	0,0	7	70,0	3	30,0	0	0,0	0,203
6. Grup	0	0,0	4	40,0	6	60,0	0	0,0	1,0
7. Grup	3	30,0	7	70,0	0	0,0	0	0,0	0,001

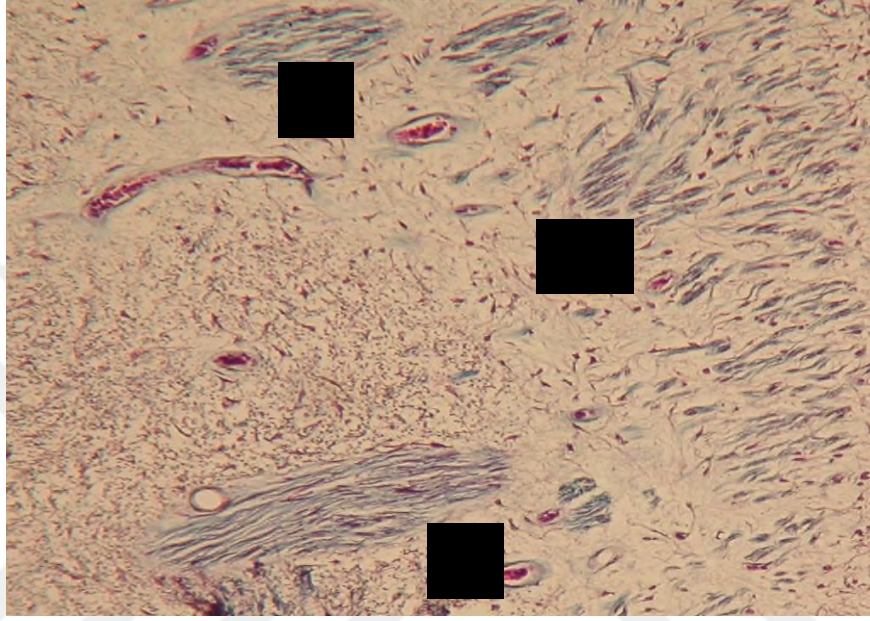
Friedman testi kullanıldı. ($\chi^2=34,045$; $p<0,001$)

* Tüm grupların 1. grup (0. saat) ile karşılaştırılmasından elde edilen değerler.

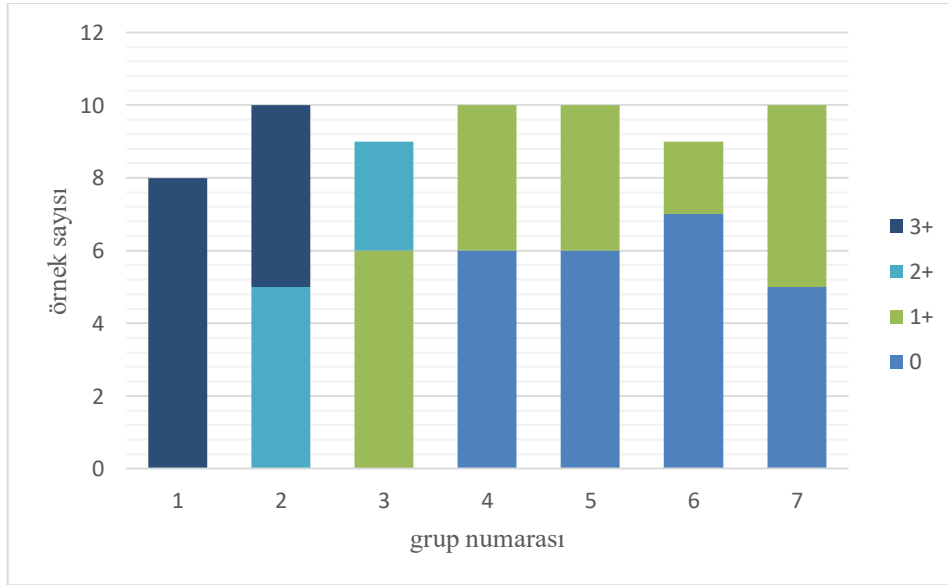
4.5. Kollajen Liflerinde İzlenen Histolojik Değişikliklere Ait Bulgular

Kollajen liflerinde görülen değişikliklere ışık mikroskobu altında, Masson Trichrom ile boyanmış, dört diş hariç tüm diş örneklerine bakıldı. Dört adet diş teknik sebeplerden dolayı inceleme dışı bırakıldı. Kontrol grubunda belirgin ince dalgalı şekilde izlenen kollajen lifleri, Grup 3'den itibaren izlenemedi. Kontrol grubundaki kollajen liflerinin mikroskobik görüntüsü Şekil 28'de, tüm gruplara ait kollajen liflerinde görülen değişiklikleri gösterir veriler Şekil 29'da verildi. Mikroskobik değerlendirmelerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde; Grup 1 (kontrol grubu) ile Grup 4 ($p=0.009$), Grup 5 ($p=0.011$), Grup 6 ($p=0.002$), Grup 7 ($p=0.011$)'de ve Grup 2 ile Grup 4 ($p=0.042$) ve Grup 6 ($p=0.009$)' da alınan örnekler arasında görülen histolojik değişiklikler

açısından anlamlı farklılık bulundu. Diğer grupların kendi aralarında yapılan kıyaslamasında istatistiki açıdan anlamlı farklılık bulunmadı. Tüm gruplara ait kollajen liflerinde izlenen histolojik değişikliklere göre örnek sayıları ve istatistiksel analiz sonuçları Tablo 8’de gösterildi.



Şekil-28: Kontrol grubu (Grup-1) kollajen liflerinin görünümü (siyah oklar), H&E, x100



Şekil-29: Kollajen liflerinde görülen değişikliklerin örnek sayılarına ve grup numaralarına göre dağılımı

Tablo-8: Kollajen liflerinde görülen histolojik değişikliklere göre örnek sayılarının gruplarda dağılımı ve istatistiksel analiz sonuçları

Grup Numarası	Kollajen Liflerinde Görülen Değişiklikler								p*
	0		1+		2+		3+		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
1.Grup	0	0,0	0	0,0	0	0,0	8	100,0	-
2. Grup	0	0,0	0	0,0	5	50,0	5	50,0	1,0
3. Grup	0	0,0	6	66,7	3	33,3	0	00,0	1,0
4. Grup	6	60,0	4	40,0	0	0,0	0	0,0	0,009
5. Grup	6	60,0	4	40,0	0	0,0	0	0,0	0,011
6. Grup	7	77,8	2	22,2	0	0,0	0	0,0	0,002
7. Grup	5	50,0	5	50,0	0	0,0	0	0,0	0,011

Friedman testi kullanıldı. ($\chi^2=36,395$; $p<0,001$)

* Tüm grupların 1. grup (0. saat) ile karşılaştırılmasından elde edilen değerler.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Adli tıp uygulamalarının çok önemli bir kısmını oluşturan ölü muayenesi ve otopsi işleminde, hekimlerin cevaplamaya çalıştığı en önemli sorulardan biri ölümün ne zaman gerçekleştiğidir (1).

Dental pulpa ve diğer dental dokular korunaklı ortamları, sağlam anatomik ve izole yapıları sebebiyle PMI tahmininde araştırmacıya avantaj sunabilir (112, 113). Dental dokuların ayrıca vücudun diğer dokularına kıyasla yanmaya, iskeletleşmeye ve şiddetli çürümeye karşı daha dirençli olduğu da bilinmektedir (114). Bu faktörlerle bile, mevcut yaklaşımlarla ölüm zamanının kesin olarak doğru bir şekilde tahmin edilmesi henüz mümkün değildir (115).

PMI tayininde dental pulpa ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça yeni olup bununla ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. PMI tayinine yönelik dental pulpa üzerinde yapılan çalışmalar DNA ve RNA degradasyonları ile postmortem histolojik değişikliklerin değerlendirilmesine dayanmaktadır. PMI tayininde dişlerin kullanımını açıklayan az sayıda kaynak vardır (6,116).

Carrasco ve arkadaşları, 2017 yılında yapmış oldukları bir pilot çalışmada; dental pulpanın korunaklı ve izole yapısından dolayı dış etkenlere ve postmortem değişikliklere daha dirençli olması sebebiyle, bir diş merkezinde hastalardan elde edilen 3. molar dişlerden 24. saat, 1, 3 ve 6. aylarda ekstrakte ettikleri pulpanın histopatolojik değişikliklerinin PMI ile korelasyonunu değerlendirmişlerdir (6).

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Çetin S. ve arkadaşları yapmış oldukları deneysel çalışmada rat dişlerinin pulpasında görülen postmortem değişiklikleri değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda postmortem 0. saatte alınan örneklerin tamamında predentin tabakanın sınırları belirgin ve düzgün, odontoblastlar homojen dağılımlı ve düzgün bir tabaka halinde dizili, hücreden zengin tabakada bağ dokusu arasında homojen olarak dağılmış çok sayıda hücre ve oval, yuvarlak şekilli hücre nükleusları ve vasküler yapılarda korunmuş endotelial tabaka izlendiği, postmortem 90. güne kadar olan süreçte diğer çalışma gruplarını oluşturan örneklerde progresif olarak

prendentin tabaka sınırlarının düzensizleştiği ve kaybolduğu, odontoblastlarda ve hücreden zengin tabaka elemanlarında homojen dağılımda bozulma, otoliz ve hücre yoğunluklarında azalma, vasküler yapılarda endotelial tabakada otolitik değişiklikler ve vasküler yapıların ayrımının yapılamadığı görülmüş, PMI tayinine yönelik oldukça yeni bir çalışma konusu olan dental pulpada zamana bağlı görülen postmortem progresif histolojik değişikliklerin, diğer yöntemlerle birlikte PMI'nın tespitinde alternatif olarak kullanılabilir bir yöntem olabileceği sonucuna varılmıştır (116).

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nde bu alanda yapılan bir diğer çalışma da Karabulut N. ve arkadaşlarının 60 rat ile yaptıkları bir çalışmadır. Bu çalışmada, ratlar postmortem dönemde açık alanda çürüme sürecine bırakılmış, postmortem intervallerine göre 0. saat, 1. hafta, 2. hafta, 4. hafta, 8. hafta ve 12. hafta olmak üzere gruplara ayrılarak örneklerin dişlerinde bilgisayarlı mikro tomografi (mikro-CT) ile yüzey aşınması ve mine mineral yoğunluğu değerlendirmesi yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda nispeten yeni bir yöntem olan mikro-CT yönteminin PMI tayininde objektif ve kesin parametreler olarak kabul edilebileceği gösterilmiştir (115).

Boy S.C. ve arkadaşları da postmortem pulpada DNA degradasyonu ile PMI arasında korelasyon olup olmadığını değerlendirdikleri çalışmalarında, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Polikliniği'ne başvuran 15-30 yaş arası hastalardan alınan 3. molar dişleri salin çözeltisinde bekletmiş, 24, 48, 72, 120 ve 144. saatlerde incelemeye almışlardır. Dişleri formaldehit ile fikse ettikten sonra, bistüri yardımıyla pulpayı çıkarmışlar, santrifüj tüpüne almışlar, santrifüj işlemleri sonrasında flow sitometri analizi yapmışlardır. Çalışmanın sonuçları, dalak DNA degradasyonu ile PMI tayinine dayanan çalışmalar ile kıyaslanmış, pulpanın korunaklı yapısı nedeniyle dalağa göre daha uzun süreli PMI tahminine imkan sunduğunu belirtmişlerdir (117).

Postmortem diş pulpasındaki odontoblast sayısı ile PMI arasındaki korelasyonu ortaya koymayı amaçlayan çalışmalar da mevcuttur. Vavpotic ve arkadaşları çoğunluğu trafik kazasında hayatını kaybetmiş 32 cesetten, otopsi işlemi sırasında elde ettikleri dişlerle yaptıkları çalışmada, 15 tanesi oda sıcaklığında, 17 tanesi 4°C sıcaklıkta bekleyecek şekilde dişleri iki gruba ayırmışlar, kontrol numune olarak genç bir kişiden lokal anestezi altında aldıkları ve ışık mikroskopu altında incelemek için hazırladıkları 1.

premolar dişi kullanmışlardır. Diş örneklerinin pulpasını ekstrakte ettikten sonra H&E boyası ile boyayıp, ışık mikroskobundan incelemişler, odontoblast tabakasındaki hücreleri sayıp, analiz etmişler ayrıca morfolojik olarak da değerlendirmişlerdir. Bu çalışmanın sonunda ortam sıcaklığının odontoblast parçalanması üzerine önemli bir etkisi olmadığı, postmortem 5. güne kadar ölüm zamanını tahmin etmede odontoblast sayısının ve morfolojik görünüm özelliklerinin kullanılabileceğı ancak daha fazla çalışma ile bunun desteklenmesi gerektiğı sonuçlarına ulaşılmıştır (5).

Çalışmamızı yukarıda da bahsettiğimiz bazı çalışmalarla kıyasladığımızda, Carrasco ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmanın bir takım yöntem farklılıkları içerdiğini görmekteyiz. Carrasco ve arkadaşları, dişlerin çürüme sürecini laboratuvar şartlarında ve sabit koşullarda tamamlamışlar, diş pulpasını kusursuz bir şekilde elde edebilmek için özel bir aparat kullanmışlar ve postmortem 24. saat, 1, 3 ve 6. aylarda görülen histolojik değişiklikleri değerlendirmişlerdir (6). Bizim çalışmamız ise sonuçlarının gerçek hayattaki adli tıp uygulamalarına uyumlu olabilmesi ve arazide bulunmuş bir ceset için PMI tayin yönteminde kullanılabilirliğinin değerlendirebilebilmesi amacıyla, açık hava şartlarında, deney modelimiz çevre koşullarına maruz bırakılarak gerçekleştirildi.

Carrasco ve arkadaşlarının diş pulpasını elde etmek için kullandıkları teknik aparat bizim elimizde bulunmadığından histopatolojik örnekleme öncesinde dişleri dekalsifiye ederek bisturi ile kesilebilir yumuşaklığa gelmesini bekledik. Dekalsifikasyon işleminden önce formaldehit solüsyonunda bekleterek çürüme işlemini durdurmayı amaçlamışsak da, dekalsifikasyon süresinin (yaklaşık 3 hafta) çürüme üzerine olumsuz etkisi olabileceğini düşünmekteyiz. Bu açıdan kullanmış oldukları aparat faydalı olmuş olabilirse de predentin-dentin ilişkisini değerlendirebilmek adına bizim izlediğimiz, diş bütünü ve vertikal olarak kesme yolu daha avantajlıydı.

Ayrıca Carrasco ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmanın sonucunda laboratuvar koşullarında saklanan örneklerde postmortem 6. aya kadar histolojik bulguların değerlendirilebildiğini belirtmişlerse de, biz çalışmamızda çevre koşullarında gerçekleşen çürüme ile laboratuvar şartlarında gerçekleşen çürümenin farklılığının muhtemel bir sonucu olarak 7. günden itibaren dişlerde istatistiki olarak anlamlı

çürümenin olduğunu, 180. günde ise neredeyse hiçbir histolojik bulgunun kalmadığını gördük (6).

Mehendiratta M. ve arkadaşları domuz dişleri ile PMI tayinine yönelik yapmış oldukları çalışmada dişli domuz mandibulalarının bir kısmını toprağın yüzeyel kısmına bir kısmını da derin kısmına gömerek çevre koşullarına maruz bırakmışlar, daha sonra 24 saatlik aralıklarla görülen morfolojik ve histolojik değişiklikleri kaydetmişler, deneylerini 144. saatte tamamlamışlardır (118). Bu çalışma, açık hava şartlarında gerçekleştirilmesi yönüyle bizim çalışmamıza benzerlik gösteriyorsa da toprağa gömülme yönüyle farklı olduğu görüldü. Bizim çalışmamız, modeller toprağa gömülü olmadan gerçekleştirildi. Ayrıca çalışmamızda uzun süreli PMI tahmini amaçlandığından ve kısa süreli PMI tayininde hem daha kesin sonuç veren hem de daha pratik PMI tayini yöntemleri kullanıldığını düşündüğümüzden süreyi dişlerin çekim tarihinden sonra 6 aya kadar uzattık.

Hücrel yapılaraya yönelik yaptığımız değerlendirme hücre yoğunluğu ve çekirdek morfolojisini kapsamaktadır. Carrasco ve arkadaşları çalışmalarında çekirdek yapısının 1. ayda merkezden periferik doğru çekildiğini, çekirdek sayısı açısından da gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu görmüşlerdir (6). Mehendiratta M. ve arkadaşları da çalışmalarında çekirdek morfolojisine yönelik değerlendirme yapmışlar, 48. saatten itibaren karyoreksis ile başlayan bozulma saptamışlar, 144. saate geldiklerinde ise sadece çekirdek kalıntılarına ait fragmanlar görebilmişlerdir (118). Bizim çalışmamızın sonucunda da kontrol grubu ile grup 3, 4, 5 ve 7 arasında bu yönden istatistiki açıdan anlamlı farklılık saptanmışsa da grup 2 ve 6 arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Grup 2’de ve 6’da anlamlı farklılık olmamasını diş sahiplerinin arasındaki bireysel farklılıklara ya da çevre şartlarının etkilerine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Bu konuda daha doğru istatistiki verilere ulaşabilmek için daha geniş örneklem gruplarını içerir çalışmalar yapılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Ekstraselüler matriksi homojenite, vakuolizasyon ve parçalanma özellikleri yönüyle değerlendirdiğimiz çalışmamızda kontrol grubu ile grup 2, 4, 5 ve 7 arasında bu yönden istatistiki açıdan anlamlı farklılık saptanırken grup 3 ve 6 arasında anlamlı farklılık görülmedi. Carrasco ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da ekstraselüler matriks,

benzer parametreler dikkate alınarak değerlendirilmiş, 24. saatte vakuolizasyon görülmemiş, 1. ay itibari ile vakuolizasyon bölgeleri gözlenmeye başlamış, homojenitenin de kısmen kaybolduğu kaydedilmiştir (6). Bizim çalışmamızda da çekim sonrası 7. günü yansıtan 2. grup itibari ile ekstraselüler matrikste homojenitenin parsiyel kaybı tüm dişlerde gözlemlenebiliyordu. İleriki dönemde yapılacak çalışmalarda, çekim sonrası dönemde 0. saatten itibaren daha sık aralıklarla yapılacak ekstraselüler matriks değerlendirmesinin, gerçekleşen morfolojik değişiklikleri daha iyi kaydedebilmek adına faydalı sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda değerlendirilen bir diğer parametre de kan damarlarında izlenen değişimlerdi. 3. grubu oluşturan çekim sonrası 2. haftayı değerlendirdiğimiz dişlerde bir diş hariç hiçbir dişte kan damarları gözlemlenemedi, 4. grup olan çekim sonrası 1. ayı değerlendirdiğimiz dişlerin ise hiçbirinde kan damarı izlenmedi. Carrasco ve arkadaşları da çalışmalarında kan damarlarını 1. aydan itibaren gözlemleyemediklerini kaydetmişlerdir (6). Mehendiratta M. ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada yeni çıkarılmış bir dişin pulpasındaki kan damarlarını H&E ile boyanmış preperatlarda, ışık mikroskobu altında incelemişler ve damarların intakt görünümde olduğunu belirtmişlerdir. 96. saatten itibaren ise kan damarlarının yapısının kısmen intakt hale gelecek şekilde bozulduğunu gözlemlemişler, 144. saatin sonunda ise çürümenin neredeyse tamamlandığını kaydetmişlerdir (118). Biz de yaptığımız mikroskobik incelemede benzer şekilde, yeni çıkarılmış diş pulpasında kan damarlarının endotelinin intakt olduğunu gördük. 0. saatten sonraki ilk değerlendirmemizi yaptığımız 7. günden itibaren de kan damarlarında histolojik bozulmayı tüm gruplarda izleyebildik. Bu durum, kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı farklılık oluşturdu. Çalışmamızda değerlendirilen tüm parametreler içinde, kontrol grubu ile yapılan kıyaslamada en çok anlamlı bulunan ve tüm gruplarda en erken dejenerasyona uğrayan yapının kan damarları olduğunu gördük. Ancak kontrol grubu hariç diğer gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. Bu da, kan damarlarının çekim sonrası dönemde kısa süre içinde ileri derecede bozulduğunu ve PMI tayininde uzun dönemde kullanılabilecek güvenilir bir parametre olmadığını bize düşündürdü.

Bir diğer parametremiz, odontoblastlar ve mineralize dentin arasında yerleşmiş, mineralize olmamış organik matriksten oluşan predentin tabakada gözlemlenen

değişiklikler idi. Predentin tabaka, ışık mikroskopunda, kalsifiye olmuş dentin ile odontoblast hücreleri arasında ince bir bant şeklinde, pulpaya hemen komşu olarak gördüğümüz, henüz kalsifiye olmamış dentindir (119). Predentin tabakanın özellikleri ile PMI arasındaki korelasyonu değerlendiren çalışmalar oldukça sınırlı sayıda olup, Çetin S. ve arkadaşlarının 60 adet rat üzerinde yaptıkları bir çalışma mevcuttur. Postmortem 90. güne kadar ratları beş gruba ayırarak değerlendirdikleri çalışmalarında, kontrol grupları olan 0. saatte inceledikleri dişlerde pulpayı çevreleyen düzgün sınırlı predentin tabakanın yerini 90. günde tamamen düzensizleşmiş predentin tabakasına bıraktığını kaydetmişlerdir (116). Predentin tabakasının dentin tabakasından ayırt edilebilirliği ile eozinofilik/bazofilik boyanma özelliklerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda kontrol grubu ile grup 2, 3, 4 ve 7 arasında bu yönden istatistiki açıdan anlamlı farklılık saptamışsak da grup 5 ve 6 arasında ortaya anlamlı farklılık koyamadık. Bu sonuca dayanarak, predentin tabakanın uzun süreli PMI tahmininde elverişli bir parametre olmadığını, 3 aydan daha kısa olan interval için anlamlı sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz.

Kollajen liflerini değerlendirirken teknik olarak daha iyi inceleme imkanı sunacağını düşündüğümüz Masson Trichrom ile boyadığımız kesitlerde kontrol grubunda izlediğimiz ince dalgalı kollajen liflerinin yerini diğer gruplarda yoğun, kalın kollajen liflerinin aldığını, 7. günden itibaren kollajen liflerinin periferde doğru çekildiğini gördük. Carrasco ve arkadaşlarının çalışmasında da Masson Trichrom boyası ile yaptıkları değerlendirmede postmortem 1. günde kollajen lifleri ince ve dalgalı olduğu, kollajen liflerinin belirli bir düzen olmaksızın doku içinde yayıldığı, 1. ayda kollajen liflerinin yoğun ve dalgalı bir görünüm aldığı, 3. ayda homojen dağılım kazandığı belirtilmiştir (6). Bu sonuçlar bizim çalışmamızla da benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda, kontrol grubu ile grup 4,5,6 ve 7 arasında bu yönden istatistiki açıdan anlamlı farklılık saptamışsak da grup 2 ve 3 arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Çalışmamızdaki 6. grup, kontrol grubu ile yapılan değerlendirmelerde sadece kollajen lifleri yönüyle anlamlı bulunurken diğer parametrelerin hiç birinde istatistiki yönden anlamlı farklılık sergilemediği görüldü. 6. grupta diğer gruplara göre dikkat çeken böyle bir farklılık olmasını iklim şartlarına bağlamaktayız çünkü bu grubun çürümesi, günlük ortalama 20,9°C sıcaklıkta gerçekleşti ki bu da diğer gruplara göre daha soğuk bir

ortamdı. Sabit sıcaklıkta yapılan çalışmaların bu konuda daha anlamlı sonuçlar vereceğini düşünsek de, adli tıp pratiğinde her cesedin aynı, standart çevresel koşullarda bulunmayacağı da bir gerçektir. İleride yapılacak çalışmaların farklı çevresel koşulların diş pulpasına etkisini gösterir nitelikte olmasının faydalı sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz.

Diş pulpasının PMI tayininde kullanılabilirliğini daha iyi anlayabilmek adına daha geniş örneklemlerle yapılacak çalışmalar gerekmektedir. İleride yapılacak çalışmaların diğer PMI tayini yöntemleri ile de desteklenmesi adli bilimlere ışık tutacak sonuçlar almamızı sağlayacaktır.



6.KAYNAKLAR

1. Dokgöz H., 2019, Adli Tıp ve Adli Bilimler, Akademisyen Kitabevi.
2. Ceza Muhakemesi Kanunu, Resmi Gazete Tarihi: 17/12/2004, Sayı:25673, <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.5271.pdf>
3. P. Saukko and B. Knight, 2004, Knight's Forensic Pathology, 3rd ed, Edward Arnold (Publishers) Ltd, London
4. Young S.T. Wells J. D., Hobbs G. R., Bishop C. P., Estimating postmortem interval using RNA degradation and morphological changes in tooth pulp, Forensic Science International 229 (2013) 163.e1–163.e6
5. Vavpotic M, Turk T, Martincic D.S, Balazic J, Characteristics of the number of odontoblasts in human dental pulp post-mortem, Forensic Science International 193 (2009) 122–126
6. Carrasco PA, Brizuela CI, Rodriguez IA, Muñoz S, Godoy ME, Inostroza C, Histological transformations of the dental pulp as possible indicator of post mortem interval: a pilot study, Forensic Sci Int. 2017;279:251-257
7. Jaffe, F. A. 1989. Stomach Contents and The Time of Death. Reexamination of Apersistent Question. Am. J. For. Med. Pathol. 10:525
8. Watson J.W, DNA Degradation As An Indicator of Post-Mortem Interval, University of North Texas, August 2010
9. Arslan M.N., Koç S, Ölüm Belirtileri, Türkiye Klinikleri J Foren Med-Special Topics 2016;2(1)
10. DiMaio D, VJ D. Forensic Pathology. 2001, Boca Raton: CRC Press, United States
11. James JP, Jones R, Karch SB, Manlove J,Simpson's Forensic Medicine, 13th ed, 2011, Hodder & Stoughton Ltd, London
12. Madea B, Estimation of The Time Since Death, 3nd ed, 2016, Boca Raton: CRC Press, United States.

13. Hubig M.et al, Temperature Based Forensic Death Estiamtion: The Standard Model in Experimental Test, Legal Medicine,2015 Sep;17(5):304-5, doi: 10.1016/j.legalmed.2015.08.006. Epub 2015 Aug 28
14. McLay WDS, Clinical Forensic Medicine, 3nd ed, 2009, Cambrigde: Cambridge University Press.
15. Green M. A. and Wright J. C., 1985, Postmortem Interval Estimation From Body Temperature Data Only, For. Sci. Int. 28(1),35-46.
16. Chisholm H.,1911,Jurnal Variation In Body Temperature, Encyclopaedia Britannica, 11 ed. Cambridge University Press, Cambridge, England.
17. Mackowiak, P. A., Wasserman S. S., and Levine M. M., 1992. A Critical Appraisal of 98.6 F, The Upper Limit of The Normal Body Temperature, and Other Legacies of Carl Reinhold August Wunderlich. JAMA 268 (12), 1578-80.
18. Erkol Z, Ölüm Zamanı Tayini, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 5:112-122, 1994
19. John E. Hall, Guyton ve Hall, Tıbbi Fizyoloji, 2017, Onüçüncü Baskı, Güneş Tıp Kitabevi
20. Koç S, Can M, Birinci Basamakta Adli Tıp, 2. Baskı, 2011, Golden Print, İstanbul
21. Mesri M. et al, Accelerated Rigor Motris: A Case Letter, J Res Med Sci.2017 Nov 28;22:126, doi:10.4103/jrms.JRMS_599_17
22. Cantürk G.,Adli Tıp Terimleri Sözlüğü, Sözlük Dergisi 6(4).
23. Hancı H., Adli Tıp ve Adli Bilimler, Seçkin Yayıncılık, 2002; 636-45
24. Matshes E, Lew E.O., Dolinak D, Forensic Pathology: Principles and Practice. 1st ed.,2005, Elsevier Academic Press, London
25. Kocatürk B.K ve ark, Ölüm Zamanı Bilinen 200 Olguda Makroskopik Göz Bulgularının Postmortem İnterval Açısından Değerlendirilmesi Türkiye Klinikleri J Foren Med 2007, 4:102-105.

26. Suzutain T, Ishibashi H, Takatori T, Studies on The Estimation of The Postmortem İnterval, 4. Spontaneous opening and closing of the eyelids after death, Hokkaido Igaku Zasshi 1978;53:1-6.
27. Abraham E. et al, Pigmentation: Postmortem İris Color Change in The Eyes of Sus Scrofa, J Forensic Sci. 2008 May;53(3):626-31. doi: 10.1111/j.1556-4029.2008.00729.
28. Jaafar S, Nokes LDM. Examination of the eye as a means to determine the early postmortem period: A rewiev of the literature. Forensic Sci Int 1994;64:185-9.
29. Costa I. et al, Promissing Blood Derived Biomarkers For Estimation Of The Postmortem İnterval, The Royal Society of Chemistry, 2015, DOI: 10.1039/c5tx00209e
30. Arıcan N. et al, In Vitro Changes of Blood and Postmortem İnterval, Adli Tıp Bülteni, 2000;5(2):83-7, DOI:10.17986/blm.200052414
31. Jiang Z. et al, Estimation of The Postmortem İnterval by Measuring Blood Oksidation Reductionpotential Values, Journal of Forensic Science and Medicine, January 2016, Volume 2, Issue 1, DOI:10.4103/2349-5014.155727..
32. Querido D., Linearization of The Relationship Between Postmortem Plasma Chloride Concentration and Postmortem İnterval In Rats, Forensic Science Internutional 45 (1990) 117-128
33. Querido D., In Vitro Loss of Potassium From Erythrocytes During The 0 - 108 h Postmortem Period In Rats: Relationship Between Potassium Loss And Postmortem İnterval, Forensic Science Internutional, 51 (1991) 111-123
34. Kumar S. et al, Estimation of Postmortem İnterval Using The Data of Insulin Level in The Cadaver's Blood, DatainBrief 7(2016)354–356, doi. org/10.1016/j.dib.2016.02.059
35. Dokgöz H., Postmortem İnterval Değerlendirilmesinde Lökosit Değişimlerinin Değerlendirilmesi, 1999, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi.

36. Thierauf A. et al, Post-mortem Biochemical Investigations of Vitreous Humor Forensic Science International 192 (2009) 78–82, doi:10.1016/j.forsciint.2009.08.001
37. Zilg B.et al, A New Model for The Estimation of Time of Death From Vitreous Potassium Levels Corrected for Age and Temperature, Forensic Science International 254 (2015) 158–166, doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.07.020.
38. Madea B., Musshoff F., Postmortem Biochemistry, Forensic Science International 165 (2007) 165–171, doi:10.1016/j.forsciint.2006.05.023.
39. Coe I.J., Vitreous Potassium As a Measure of The Postmortem Interval: An Historical Review and Critical Evaluation, Forensic Science International 42 (1989) 201- 2131989.
40. Lale A. ve ark, Geçmişten Günümüze Göz İçi Analizi ile Postmortem İnterval Tayini, J For Med 2017;31(1):26-35, doi:10.5505/adlitip.2017.97268.
41. Madea B.et al, References for Determining The Time of Deathby Potassium In Vitreous Humor, Forensic Science International,40 (1989) 231-248.
42. Rognum T.O. et al, Estimation of Time Since Death by Vitreous Humor Hypoxanthine, Potassium, and Ambient Temperature,Forensic Science International 262 (2016) 160–165, doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.03.001
43. Lendoiro E. et al, Applications of Tandem Mass Spectrometry (LC-MSMS) In Estimating The Post-Mortem Interval Using The Biochemistry of The Vitreous Humour,Forensic Science International Volume 223, Issues 1-3, 30 November 2012, Pages 160-164, doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.08.022
44. Madea B. et al, Precision of Estimating The Time Since Death by Vitreous Potassium-Comparison of Two Different Equations,Forensic Science International 46 (1990) 277-284.
45. Balasooriya B.A.W.. et al, The Biochemical Changes In Pericardial Fluid After Death. An Investigation of The Relationship Between The Time Since Death and The Rise or Fall In Electrolyte and Enzyme Concentrations and Their Possible Usefulness In Determining The Time of Death, Forensic Science International, 26 (1984) 93-102

46. Sparks D. L. et al, Comparison of Chemical Methods for Determining postmortem Interval, *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol 34, No 1, Jan. 1989, pp. 197-206
47. Houck M., *Forensic Anthropology*, 1st ed, 2017, Academic Press In An Imprint of Elsevier, London.
48. Odriozola A. et al, mi RNA Analysis In Vitreous Humor to Determine The Time of Death: A Proof- of- Concept Pilot Study, *Int J Legal Med* (2013) 127:573-578, DOI 10.1007/s00414-012-0811-6
49. 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.
50. 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)
51. 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
52. 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
53. Wyler D. et al, Correlation Between The Post-Mortem Cell Content of Cerebrospinal Fluid and Time of Death, *Int J Leg Med* (1994) 106:194-199
54. Finehout E.J., Proteomic Analysis of Cerebrospinal Fluid Changes Related to Postmortem Interval, *Clinical Chemistry* 52:10, 1906-1913 (2006)
55. Li C. et al, MALDI-TOF MS as a Novel Tool For The Estimation of Postmortem Interval in Liver Tissue Samples, *Scientific Reports*, 7: 4887, DOI:10.1038/s41598-017-05216-0

56. Zhang J. et al, Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy With Chemometric on Postmortem Interval Estimation Based on Pericardial Fluids, ScientiFic Reports, (2017) 7:18013, DOI:10.1038/s41598-017-18228-7
57. Gümüş A. ve ark, Evaluation of The Postmortem Glucose and Glycogen Levels in Hepatic, Renal, Muscle and Brain Tissues: Is It Possible to Estimate Postmortem Interval Using These Parameters? J Forensic Sci, January 2016, Vol. 61, No.S1, doi:10.1111/1556-4029.12937
58. Doğan H.K. et al, Postmortem Changes In Element Levels InRat Skeletal Muscle Tissue, Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010;30(4):1332-8
59. Hancı H., Adli Entomoloji, TBB Dergisi, Sayı 49, 2003
60. Açıkgöz N.H., Hancı İ.H, Çetin G., Adli Olaylarda Böceklerden Nasıl Yararlanılır?, Ankara Üniversitesi Hukuk Fakültesi Dergisi, 2002, C51, Sa 3.
61. Singh J. and Sharma B.R, Forensic Entomology: A Supplement to Forensic Death Investigation,JPAFMAT 2008; 8(1). ISSN 0972-5687.
62. Smith G.V.K., AManuel of Forensic Entomology, 1986, Trustees of The British Muuseum (Natural History), London.
63. Byrd H.J., Castner J.L., ForensicEntomology:Utility of Arthropods in Legal Investigations, 2nd ed, 2009, CRC Press, United States
64. Tüzün A ve ark, Postmortem İntervalin Saptanmasında Adli Entemoloji, Türkiye Klinikleri J Foren Med 2007, 4:23-32
65. K. Schoenly and W. Reid, Dynamics of Heterotrophic Succession In Carrion Arthropod Assemblages:Discrete 58ere sor A Continuum of Change?,Oecologia (Berlin) (1987) 73:192-202,
66. Byrd, J. (Ed.), Lord, W., Allen, J., Hawkes, R., Parker, M., Haskell, N., Anderson, G., Forensic Entomology, 2001, Boca Raton: CRC Press, United States.
67. Kökdener M., Ölüm Zamanı Tayininde Adli Entomolojik Delillerin KullanımıGümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2016; 5(3): 105-110

68. Zhu G.H. et al, Development Changes of Cuticular Hydrocarbons In *Chrysomya Rufifacies* Larvae: Potential For Determining Larval Age, Medical and Veterinary Entomology (2006) 20, 438–444, DOI: 10.1111/j.1365-2915.2006.00651.x,
69. Roux O. et al, Ontogenetic Study of Three Calliphoridae of Forensic Importance Through Cuticular Hydrocarbon Analysis, Medical and Veterinary Entomology (2008) 22, 309–317,
70. Pai C.Y. et al, Application of Forensic Entomology to Postmortem Interval Determination of a Burned Human Corpse: A Homicide Case Report from Southern Taiwan, P.C-Y et al, J. Formos Med Assoc, 2007, vol 106, No 9
71. El-Nahass S. et al, Forensic Image Analyses of Skin and Underlying Muscles As a Tool for Postmortem Interval Delimitation Histopathologic Examination, Am J Forensic Med Pathol, Volume 38, Number 2, June 2017, DOI: 10.1097/PAF.0000000000000301.
72. Babapulle C. J. and Jayasundera N. P. K, Cellular Changes and Time Since Death, Med. Sci.Law (1993) Vol. 33, No.3
73. Donaldson A. and Lamont L.I, Evaluation of Morphological Changes In Blood Cells of Human Cadaver for The Estimation of Postmortem Interval, ArticleInMedico-Legal Update 7(2):35-39 April 2007.
74. Findlay A.B., Bone Marrow Changes in The Post Mortem Interval, J. Forens. Sci. Soc. (1977),16,213
75. Kovarik C., Gross and Histologic Postmortem Changes of The Skin, The American Journal of Forensic Medicine and Pathology, Volume 26, Number 4, December 2005, DOI: 10.1097/01.paf.0000188087.18273.d2
76. Jin J., PostmortemChangesof Liver Phosphofructokinase-2 Level In Rats Following Different Causes of Death,Fa Yi Xue Za Zhi.2007 Apr;23(2):84-5, PMID: 17619447.

77. Liu Y., The Relationship Between The Degradation of Actin And ThePostmortemIntervalIn Rats,Fa Yi Xue Za Zhi.2008 Jun;24(3):165-7, 171, PMID: 18709847.
78. Xiao J.H., A Study On The Relationship Between The Degradation of Protein and ThePostmortemInterval,Fa Yi Xue Za Zhi.2005 May;21(2):110-2, PMID: 15931750.
79. 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
80. Lale A. ve ark, İskeletleşmiş Cesetlerde Postmortem İnterval Tayini, J For Med 2016; 6 30 (1):71,76, doi: 10.5505/adlitip.2016.28247
81. 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 İnterval, Forensic Science International98 (1998) 119–126
82. Marcella H., William D. Haglun,1997, Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains, CRC Press LLC, United States.
83. Holley S., Macroscopical Estimation of The Post Mortem İnterval (PMI) and Exclusion of The Forensically Relevant Resting Period-A Comparison of Data Presented in The Literature With Recent Osteological Findings, Arch Kriminol. 2008 May-Jun;221(5-6):175-84
84. Verhoff M.A.,Macroscopic Findings for The Exclusion of A Forensic Relevant Soil Embedded Resting Period in Skeletal Remains--An Approach Based Upon Literature, 2004 Jan-Feb;213(1-2):1-14.
85. Iscan M.Y., Maryan S., The Human Skeleton In Forensic Medicine, 3rd ed., 2013, Charles C Thomas Pub Ltd
86. Schwarcz H.P. et al, A New Method for Determination of Postmortem Interval: Citrate Content of Bone, Forensic Sci, November 2010, Vol. 55, No. 6, doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01511.x

87. Münnich K. O., Die C14-Methode, Potassium-Argon Age of Iron Meteorites. Geodaim. et Cosmochim. Acta 14, S. 40-50. V. Weizsacker, C.F. (1937): Über die Möglichkeit eines dualen β -Zerfalls von Kalium. Phys. Z. 88, S. 623. Weitere Literaturangaben Siehe Aldrich und Wetherill (1958).
88. Erdoğan B., Tanındı O., Uygun D., Türkiye Arkeolojik Yerleşmeleri, ^{14}C Veri Tabanı, Ege Yayınları, Takım ISBN 975-807-003-7, Cilt ISBN: 975-807-075-4 İstanbul, 2004.
89. Handlos P. et al, Bomb Peak: Radiocarbon Dating of Skeletal Remains In Routine Forensic Medical Practice Radiocarbon, Vol 60, Nr 4, 2018, p 1017–1028, DOI:10.1017/RDC.2018.72
90. The value of radiocarbon analysis in determining the forensic interest of humanskeletal remains found in unusual circumstances, H. F.V Cordoso et al, Journal of Forensic and Legal Medicine 19 (2012) 97e100
91. Maclaughlin- Black M.S. et al, Strontium-90 As An Indicator of Time Since Death: A Pilot Investigation, Forensic Science International, Volume 57, Issue 1, November 1992, Pages 51-56, doi.org/10.1016/0379-0738(92)90045-x
92. Schrag P. et al, Dating Human Skeletal Remains Using ^{90}Sr and ^{210}Pb : Case Studies, Forensic Science International 234 (2014) 190.e1–190.e6, doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.10.038
93. Sterzik V. et al, Estimating The Postmortem Interval Skeletal Remains, Int J Legal Med (2016) 130:1557–1566, DOI 10.1007/s00414-016-1395-3
94. Neis P. et al, Strontium90 for Determination of Time Since Death, Forensic Science International, 99 (1999) 47–51.
95. Schrag B. et al, Dating Human Skeletal Remains Using A Radiometric Method: Biogenic Versus Diagenetic ^{90}Sr and ^{210}Pb In Vertebrae, Forensic Science International 220 (2012) 271–278, doi:10.1016/j.forsciint.2012.03.014

96. Swift B. et al, An Estimation Of The Post-Mortem Interval In Human Skeletal Remains: A Radionuclide And Trace Element Approach, *Forensic Science International* 117 (2001) 73-87.
97. Zinka B. et al, Radionuklidanalyse von ^{228}Th und ^{228}Ra Neue Methode zur Liegezeitbestimmung, *Rechtsmedizin* 201121:124–130, DOI 10.1007/s00194-010-0722-0.
98. Introna F., Di Vella G., Campobasso C.P., Determination of Postmortem Interval From Old Skeletal Remains by Image Analysis of Luminol Test Results, *J Forensic Sci* 1999;44(3):535–538.
99. Sterzik V. et al, Estimating The Postmortem Interval of Human Skeletal Remains by Analyzing Their Optical Behavior, *Int J Legal Med* DOI 10.1007/s00414-016-1395-3
100. 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.
101. Querido D. , Postmortem Changes in Abdominal Wall During Resistivity of The Anterior The Early Postmortem Period in Rats, *Forensic Science International* 60 (1993) 163-177.
102. Wehner F. et al, Delimitation of The Time of Death by Immunohistochemical Detection of Calcitonin, *Forensic Science International* 122 (2001) 89-94.
103. Kang S. et al, Post-Mortem Changes In Calmodulin Binding Proteins In Muscle And Lung, *Forensic Science International* 131 (2003) 140-147.
104. 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](https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.02.014).
105. Nogueira-Machado JA, de Oliveira Volpe CM, HMGB-1 As A Target For Inflammation Controlling, *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2012 Sep;6(3):201-9, PMID: 22845335.

106. Gaini S. et al, High Mobility Group Box-1 Protein In Patients With Suspected Community-Acquired Infections And Sepsis: A Prospective Study, *Critical Care* 2007, 11:R32 , doi:10.1186/cc5715.
107. Kikuchi K. et al, HMGB-1: A New Marker for Estimation of The Postmortem Interval, *Experimental and Therapeutic Medicine* 1: 109-111, 2010.
108. Başığit Kılıç G., Karahan A.G., Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması, *GIDA* (2010) 35 (6): 445-452.
109. Li S.Y., Relation Between PMI and FTIR Spectral Changes in Asphyxiated Rat's Liver and Spleen, *Fa Yi Xue Za Zhi.*, 2012 Oct;28(5):321-6.
110. Zhang J. et al, Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectral Prediction of Postmortem Interval From Vitreous Humor Samples, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, doi.org/10.1007/s00216-018-1367-1.
111. 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.
112. Higgins D., Rohrlach A.B., Kaidonis J., Townsend G., Austin J.J. (2015) Differential Nuclear and Mitochondrial DNA Preservation in Post-mortem Teeth With Implications for Forensic and Ancient DNA Studies, *PLoS One* 10:e0126935
113. Jeevan M.B., Kale AD, Angadi PV, Hallikerimath S (2011) Age Estimation by pulp/tooth area ratio in canines: Cameriere's method assessed in an Indian sample using radiovisiography. *Forensic Sci Int* 204:209 e1–209 e5
114. Klima M., Altenburger M.J., Kempf J., Auwärter V., Neukamm M.A. (2016) Determination of Medicinal and Illicit Drugs in Postmortem Dental Hard Tissues and Comparison with Analytical Results for Body Fluids and Hair Samples, *Forensic Sci Int* 265:166–171
115. Akbulut N et al,, 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, *Int J Legal Med*. 2020 Mar;134(2):645-653. doi: 10.1007/s00414-019-02104-2. Epub 2019 Jul 3.

116. Çetin S. ve ark, Dental Pulpada Görülen Postmortem Histolojik Değişikliklerin Değerlendirilmesi: Deneysel Çalışma, Science & Justice, 2 nd International Congress, ITAC 2018,
117. Boy S.C. et al, Flow Cytometric Evaluation of Postmortem Pulp DNA Degradation, Am. J. Forensic Med. Pathol. 24 (2) (2003) 123–127
118. Mehendiratta M., et al, Estimation of Time Elapsed Since The Death From Identification of Morphological and Histological Time-Related Changes in Dental Pulp: An Observational Study From Porcine Teeth, J. Forensic Dent. Sci. 7 (2) (2015) 95.
119. Hargreaves K. M., Seltzer and Bender's Dental Pulp, 2nd edition, Quintessence Publishing Co, Inc