

244727

T.C.
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
Adli Tıp Anabilim Dalı

sn

POSTMORTEM İNTERVAL
BELİRLENMESİNDE LÖKOSİT
DEĞİŞİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

T 44727


(Uzmanlık Tezi)

Dr. Halis DOKGÖZ

İSTANBUL, 1999

T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖNSÖZ

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı'nda asistanlık eğitimim sürecinde bilgi ve deneyimleri ile yaşamın öznel ve nesnel gerçekliğinde birlikte çalışabilme olanağı bulduğum sevgili hocam Prof. Dr. Şebnem Korur Fincancı'ya,

Bu süreçte, medikal ve paramedikal bilgi ve deneyimlerini paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Erdem Akkay'a,

Tezimin oluşumunun her aşamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam Doç. Dr. İmdat Elmas'a,

Asistanlığım boyunca birikimlerinden yararlandığım sevgili hocam Doç. Dr. Şevki Sözen'e,

Çalışmada yardımlarını esirgemeyen Hematoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Günçağ Dinçol'a ve mikroskopi değerlendirmelerinde yardımcı olan Uz. Dr. Hüseyin Keskin'e,

Tez boyunca her türlü olanak ve kolaylığı gösteren Klinik Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Ahmet Sivas'a,

Asistanlık eğitimimde özveriyle her koşulda paylaşımcılığını esirgemeyen ve tezimin her aşamasında yol gösterici ve yardımcı olan Uz. Dr. Nadir Arıcan'a,

Eğitimim süresince birlikte çalıştığım uzman ve asistan arkadaşlarıma,

Özveriyle yaşamı paylaştığımız sevgili eşim Uz. Dr. Birsen Dokgöz'e teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Halis Dokgöz

KISALTMALAR

AST	<i>Glutamik Oksalik Transaminaz</i>
ATP	<i>Adenozin Trifosfat</i>
BOS	<i>Beyin Omurilik Sıvısı</i>
C ₃	<i>Kompleman-3</i>
DNA	<i>Deoksiribonükleik Asit</i>
DOPAC	<i>3,4-Dihidroksi Fenil Asetikasit</i>
GOT	<i>Glutamik Oksaloasetik Transaminaz</i>
GPT	<i>Glutamik Piruvik Transaminaz</i>
HE	<i>Hematoksilen Eozin</i>
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>
KHDC	<i>Kan Hücreleri Değişim Cetveli</i>
LH	<i>Laktik Dehidrojenaz</i>
PAS	<i>Periodik Asit Shift</i>
PM	<i>Postmortem</i>
PMİ	<i>Postmortem İnterval</i>
3-MT	<i>3-Metoksitiramin</i>

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
TARİHÇE.....	2
GENEL BİLGİLER.....	3-19
1.1. Fiziksel Değişimler.....	4-8
1.2. Biyokimyasal Değişimler	8-14
1.3. Histolojik Laboratuvar İncelemeleri.....	14-17
1.4. Biyolojik incelemeler.....	17-19
GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
BULGULAR.....	21-29
TARTIŞMA.....	30-34
SONUÇ.....	35
ÖZET.....	36
KAYNAKLAR.....	37-41

GİRİŞ VE AMAÇ

Ceza ve hukuk davalarında, adli tıp tarafından yanıtlanması istenen önemli sorularından biri de ölüm zamanının belirlenmesidir. Mahkemelerce, ölüm zamanının olabildiğince kesin ve dar bir zaman dilimi olarak tayini istenmekle birlikte ölüm zamanının postmortem(PM) değişimlerden yararlanılarak belirlenmesi ve bu değişimlerin pek çok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermesi, ölüm zamanının kesin bir zaman dilimi olarak verilmesini güçleştirmektedir.

Adli tıpta ölüm zamanının belirlenmesine yönelik birçok yöntem geliştirilmesine karşın hiçbiri tek başına yeterli olmamaktadır. Bu nedenle mevcut yöntemlerin birçoğu bir arada kullanılmakta ve mümkün olan en iyi tahmin yapılmaya çalışılmaktadır. Ayrıca, olay yerinin incelenmesi ve olguya ilişkin adli soruşturmada elde edilen bulguların da değerlendirilmesi önemlidir.

PM süreçte, otoliz ve putrefaksiyon sonucu kanın şekilli elemanlarında da değişiklikler oluşmaktadır. Bu çalışmada, lökositlerin total ve diferansiyel sayıları ve oluşan morfolojik değişikliklerin PM süreçle ilişkisi incelenmiş, mevcut literatür bilgileri de gözden geçirilerek, postmortem interval(PMI) belirlenmesinde kullanılabilirliği araştırılmıştır.

TARİHÇE

Adli tıp ve hukuk sisteminin önemli sorunlarından birini oluşturan PMİ'i kesin olarak belirleyecek bir yöntem henüz geliştirilememiş olmakla birlikte fiziksel ve biyokimyasal değişimlerden yola çıkarak pek çok araştırma yapılmış ve kullanılabilirlikleri irdelenmiştir.

Ölüm zamanının saptanmasında ilk önce fiziksel değişimlerin kullanılabilirliği araştırılmıştır. Dr. John Davey 1839 yılında PM ısı ölçümü, Hoffman 1876 yılında ölü katılığını değerlendirerek ölüm zamanı ile ilgili çalışmalar yapmışlardır(27,33). Takip eden yıllarda PM diğer fiziksel değişimler araştırılmış ve bu değişimler birlikte değerlendirilerek ölüm zamanı belirlenmeye çalışılmıştır. 1925 yılından sonra biyokimyasal değişimlere göre ölüm zamanı tayinine yönelik çalışmalar başlamıştır(50).

Kanda özellikle nötrofillerdeki PM otolitik değişiklikler 1950'de Fitting ve 1952'de Lennert tarafından araştırılmıştır. Periferik kan, kemik iliği ve lenfatik doku hücrelerindeki PM otoliz ve putrefaksiyona bağlı değişimlerle ilgili olarak Werner (1954), Ricci(1957), Janssen(1958), Jetter ve Lyle(1959), Schmidt(1965), Camps(1968), Parikh, Reddy ve Bhaskar(1970), Van der Oever(1976) ve Knight(1985) çeşitli çalışmalarını yayınlamışlardır(5,29). 1993 yılında Babapulle ve arkadaşları lökositlerin total ve diferansiyel sayıları ve hücrelerin morfolojik ve nükleer değişikliklerinden yola çıkarak PMİ belirlemeye yönelik çalışmalar yapmışlardır(5).

Son dönemde periferik sinir ve kas dokusunun PM elektriksel uyarılabilirlikleri ve çeşitli dokularda flow sitometrik DNA incelemeleri ile PMİ tayinine yönelik çalışmalar yayınlanmıştır(7,9,48).

Günümüzde ise PMİ belirlenmesinde fiziksel, biyokimyasal ve biyolojik değişimler ile olay yeri incelemesi ve adli soruşturmada elde edilen bulguların birlikte değerlendirilmesinin en uygun yaklaşım olacağı görüşü ağırlık kazanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1. POSTMORTEM İNTERVAL BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Postmortem interval tayinine yönelik birçok araştırma yapılmasına karşın, bu araştırmaların bir kısmı adli tıp uygulamalarında değersiz bulunurken, bir kısmı ancak belirli koşullarda uygulama alanı bulabilmiştir. Bazen birkaç yöntemin birlikte kullanılması, PMİ tahmininde hata payını azaltmaktadır. PMİ tahminine yönelik araştırmaların yoğunlaştığı alanlar ve uygulanan yöntemler aşağıdaki gibi gruplandırılabilir.

1.1. FİZİKSEL DEĞİŞİMLER

1.1.1. Ölü soğuması (Algor mortis)

1.1.2. Sıvı kaybı (Dehidratasyon)

1.1.3. Ölü lekeleri (Livor mortis)

1.1.4. Ölü katılığı (Rigor mortis)

1.1.5. Dekompozisyon

a)Otoliz

b)Çürüme (Putrefaksiyon)

c)Diğer formlar

-Mumyalaşma (Mamifikasyon)

-Sabunlaşma (Saponifikasyon)

-Maserasyon

1.2. BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER

1.2.1. Vitröz sıvı incelemeleri

1.2.2. Serebrospinal sıvı incelemeleri

1.2.3. Diğer vücut sıvı incelemeleri

1.2.4. Kan incelemeleri

1.2.5. DNA incelemeleri

1.3. HİSTOLOJİK LABORATUVAR İNCELEMELERİ

1.3.1. Kan hücrelerinin incelenmesi

1.3.2. Diğer doku hücrelerinin incelenmesi

1.4. BİYOLOJİK İNCELEMELER

1.4.1. Entomolojik incelemeler

1.4.2. Periferik sinir ve kas dokusunun elektriksel uyarılabilirliği

1.4.3. Mide içeriğinin incelenmesi

1.4.4. Sperm canlılığının incelenmesi

1.4.5. Kıl ve tırnak incelemeleri

1.1. FİZİKSEL DEĞİŞİMLER

1.1.1. Ölü soğuması(Algor mortis): Yaşayan bedende, üretilen ısı ile çevresel ısı arasında bir denge vardır. Ölümle birlikte, ısı üretim fonksiyonu sona erer ve vücut ısı kaybetmeye başlar. Isı kaybı başlıca radyasyon, konveksiyon, kondüksiyon ve vaporizasyon yoluyla olmaktadır(21). Beden soğuması, PM süreyle orantılı olarak çevre ısısına ulaşınca kadar devam eder. Ancak bu soğuma inorganik cisimlerdeki gibi hiperbol şeklinde olmayıp, başlangıcında plato gösteren sigmoid tarzdadır(34). Vücudun dış yüzeyinin iç kısımlarına oranla daha hızlı soğuması ve çevresel faktörlerden daha fazla etkilenmesi nedeniyle, rektal, ağız, burun ve kulaktan ısı ölçümüyle PMİ tayini daha yaygın olarak kullanılmaktadır(33,47). Daha doğru bir değerlendirme yapabilmek amacı ile vücudun farklı bölgelerinden kayıt yapan ve bilgisayar desteği ile bu ölçümlerin ortalamasını veren yöntemler geliştirilmiştir(45). Henssge'nin nomogramları, hata payının dikkate alınması koşuluyla kullanışlıdır(32). Ayrıca, vücut bütünlüğünü bozmadan visseral ısı ölçümüne olanak veren mikrodalga termografi sistemi geliştirilmiştir(1).

Beden ısısına dayalı interval tahmininde, değerlendirmede zorluklara ve hatalara neden olan bazı sorunlar vardır. Bu sorunlardan biri ölüm anındaki ısının farklılıklar göstermesidir. Konjestif kalp yetmezliği, masif kanama ve sekonder şokta vücut ısısı ölüm anında normalin altında olabilirken, bazı enfeksiyonlar, striknin zehirlenmesi, pons kanaması, sıcak ve güneş çarpması gibi ölümlerde ısı artabilir. Sepsis gibi fulminan enfeksiyonlarda ise ısı PM döneminde artmaya devam edebilir(17,21,34). Hutchins, 20 erişkin hastada rektal yolla ısı ölçümü yapmış ve PM başlangıç dönemindeki ısı artışının doku ve bakteri metabolizmasının devamlılığı sonucu olduğunu saptamıştır(28). Diğer bir sorun ise ölüm ile ölçümlerin yapıldığı an arasında geçen sürede, çevre ısısında bilinmeyen değişimlerin olmasıdır(45,47). Tüm bu olumsuzluklara karşın, PM ısı kaybına dayalı PMİ tayini çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Çoğunlukla güvenilirliği artırmak için diğer yöntemlerle kombine edilmektedir.

1.1.2. Sıvı kaybı(Dehidratasyon): Cesedin bulunduğu ortama ait nem, ısı ve hava sirkülasyonu gibi çevresel faktörlerin yanında, kişinin yaş, cinsiyet ve cilt yapısının özelliklerine bağlı olarak su kaybı oluşmakta ve bunun sonucu cesetin ağırlığı azalmaktadır. Vücut ağırlığındaki kayıp özellikle yenidoğan bebeklerde çok belirgin olup günde ortalama 18-20gr/kg civarındadır. Bebeğin doğumdaki ağırlığı biliniyorsa kilo kaybından yola çıkarak PMİ tahmin edilebilmektedir(3,22,61).

Sıvı kaybı ile vücutta lokal değişiklikler oluşmaktadır. Özellikle cildin nemli ve ince olduğu skrotum ve dudak mukozası gibi bölgelerde ve travmaya bağlı cilt bütünlüğü bozulan bölgelerde parşömenleşme meydana gelmektedir. Bu değişimin yaklaşık PM 30 dakika ile 5-6 saat içinde olduğu bilinmektedir(4,32).

1.1.3. Ölü lekeleri (lividite, hipostaz): Ölümden sonra kan, yerçekiminin etkisiyle cesedin yatış pozisyonuna uygun olarak yere yakın kısımlarındaki kapiller ve venöz damarlarda pasif olarak birikir(14,17,29). PM hipostazın belirginleşme zamanı ve genişliği; dolaşımdaki kan volümü, koagülasyon oranı, fibrinolizin konsantrasyonu ve indirgenmiş hemoglobin düzeyine bağlı olarak değişmektedir(21). Histolojik olarak iç organlar ve derideki kan damarlarının genişlemesi ile belirginleşen hipostazi, pıhtılaşma ve hemoliz izlemektedir(29). Optimal koşullarda ölümden ortalama 3 saat sonra hemoliz oluşmaya başlar ve ortaya çıkan hemoglobin ve deriveleri önce damar endotelini, sonra tüm damar duvar katlarını boyar. Aynı zamanda sıvı halde bulunan ve hemoglobini açıkta olan kan aktif selektif permeabilite özelliklerini yitirmiş damar duvarından dışarı çıkmaktadır(34).

Bu durum gerçekleşikten sonra ölü lekeleri sabitleşmekte ve pozisyona bağlı olarak yerini değiştirmemektedir. Bunun yaklaşık ölümden 15-20 saat sonraki döneme rastladığı bildirilmektedir(3,61). Ölü lekeleri dekompozisyonla birlikte özelliklerini kaybetmektedir(32). Ölü lekeleri, renk değişikliğine neden olan travmatik ve patolojik lezyonlardan, morfolojik incelemede vital reaktif değişikliklerin görülmeşi ile ayırdedilebilmektedir(13,29,34).

Ölü lekelerinde görülen renk değişimi indirgenmiş hemoglobin düzeyine bağlıdır. Ayrıca ölüm nedenine bağlı olarak spesifik renk değişimleri olabilmektedir. Karbonmonoksit intoksikasyonunda kiraz pembesi, soğukta kalan cesetlerde ve siyanür zehirlenmesinde parlak pembe, klorat, nitrat ve anilin zehirlenmelerinde kahverengi, konjestif yetmezlik ve hipoksi sonucu siyaha yakın koyu mor ve etkenin *klostridiyum perfiringes* olduğu septik düşüklüklerde ciltte bronz renk değişimi ortaya çıkmaktadır(13,17,29,32,34). Ölü lekelerinin oluşum zamanı, yaygınlığı, kalıcı niteliğe ulaşma derecesi ve renk değişimi temel alınarak, PMİ hakkında ancak kaba bir tahmin yapılabileceği ve diğer inceleme yöntemlerine gereksinim olduğu bildirilmektedir.

1.1.4. Ölü katılığı(Rigor mortis): Ölümünden sonraki primer kas gevşemesini, kaslardaki sertleşme(ölü katılığı) izler ve bu durum çürümeye kadar devam eder(17). Ölü katılığının oluşmasına yol açan başlıca neden; ölümle birlikte enerji temin eden mekanizmaların durması sonucu, sarkoplazmada Adenozin trifosfatın(ATP) yeniden sentez edilememesi, ATP'nin varlığına bağlı olan aktin-miyozin ayrılmasının gerçekleşmemesidir(21). Ölü katılığının ortaya çıkış hızı, yaygınlığı ve süresini etkileyen başlıca faktörler; çevre sıcaklığı ve ölümden önceki kas aktivitesi, ölüm nedeni ve vücut yapısıdır(3,21,61). Optimal koşullarda ölü katılığı ortalama 3-6 saatte başlar. Öncelikle katılık küçük ve çok çalışan kas gruplarında başlar. Tüm vücut kaslarına yaklaşık olarak 6-12 saatte yerleşmesi beklenir ve 18-36 saatte çürümenin etkisiyle katılık çözülmeye başlar(34). Lizozomal enzimlerin kas proteinlerinin moleküler özelliklerini bozmasına kadar bu kontraksiyon devam etmektedir(61).

Donma, sıcak katılığı ve kadeverik spazm gibi durumlar ölü katılığı ile karışmaktadır(34). Subjektif değerlendirmenin ön planda olması, etkilendiği faktörlerin çeşitli olması PMİ tayinindeki değerini azaltmaktadır.

1.1.5. Dekompozisyon: Otoliz ve çürüme olmak üzere iki süreci içerir.

a)Otoliz: Hücre ve organların intraselüler enzimlerin etkisiyle aseptik kimyasal bir süreçte yıkılmasıdır(17). Otoliz, histomorfolojik olarak canlı yapıların intravital veya PM yıkılması, biyokimyasal olarak ise metabolik dengenin bozulması ile oluşmaktadır. PM otoliz iki aşamada oluşur. İlk aşamada glikometabolik sürecin devamında bir laktik asit konsantrasyonu artışı olur ve pH değeri düşer. İkinci aşamada, PM 48 saatte proteoliz oluşur, aerobik koşullar altında proteinin oksidatif yıkımı ile CO₂ ve NH₃ açığa çıkar ve pH artarak alkali bir duruma neden olur(29). Otolitik süreç, organların hücresel farklılığı, enzim içerikleri ve pH değişiklikleri ile birlikte ısı, hava nemi ve çevresel etkenler gibi değişik faktörlere bağlıdır. İleri otoliz 37-40 °C arasındaki ısıda oluşur. En hızlı otolize uğrayan doku sürrenal bezler, pankreas ve mide duvarı iken, karaciğer, kalp ve böbrek hücrelerinde orta hızda ve fibroblastlar gibi az miktarda lizozom ve hidrolitik enzim içeren dokularda ise yavaş olmaktadır. En dirençli doku testisteki sperm hücreleridir(14,61). Histomorfolojik olarak karaciğer hücre kenarları ve sitoplazmasında 2-4 günde otolitik bir değişim görülür. Nukleusta destrüksiyon ile hücre morfolojisinde solukluk PMİ'in 4 günden fazla olduğunu gösterir. Hepatik kordların görünmemesi, hepatositlerin büzüşmesi ve dalgalı değişimi otolizin değişik tipleri olarak değerlendirilmektedir(70). Böbreklerdeki ilk otolitik

değişikliklerin sekretuvar epitelde olduğu izlenmiştir. Glomerül, endotel ve mezenkimal hücrelerde hızlı otolitik değişiklikler görülür. Proksimal tübül epitelinde dakikalar içinde şişme ve lümende daralma görülür. Distal tübüllerde PM değişimler 2 saatten önce oluşur. Toplayıcı tübülde ilk otolitik değişimler PM 8 saatten sonra başlar. PM 24 saatte distal tübül epitelinde veziküler değişiklikler, 48 saatten sonra proksimal tübül lümeninde amorf asidofilik madde, bazal membranda parçalanma ve PAS(+) madde çökmesi olur. PM ilk 24 saatte nükleer membranda hiperkromatozis, karyolizis ve karyoreksis görülür. Kalpte PM ilk 6 saatte ışık mikroskobu ile değişiklikler saptanamamaktadır. 6-12 saatte kas hücrelerinin nükleusunda piknoz ve hiperkromatizm, 12-18 saatte kalp kas fibrillerinde fragmentasyon, 18-24 saatte nükleer piknoz ve fragmentasyon, 24-48 saatte diffüz fragmentasyon izlenir. PM 3 günden sonra kas fibrillerinde lizis ile homojenizasyon, transvers ve longitudinal yapıda kaybolma ve deformasyon, 6. günde fibrillerde deformasyon ve homojenizasyon olup 15. günde yalnızca koroner damarlar görülmektedir(29).

Otolizin oluşum zamanının organ ve dokulara göre farklılıklar göstermesi ve PM sürece bağlı olarak otoliz gelişim derecesinin değişmesi, PMİ tahmininde kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

b)Çürüme: Dekompozisyonun ileri bir aşaması olan çürüme, bakteri ve fermantasyon yoluyla oluşur. Ölümden sonra gastrointestinal kanaldaki bakteriyel flora vasküler sistem yoluyla tüm vücudu kuşatır ve çürümeye neden olur(17). Bakterilerin ürettikleri proteolitik ve diğer enzimlerin etkisiyle dokular gaz, likit ve tuzlara dönüşür. Çürüyen dokularda 3 temel değişiklik ortaya çıkar. Bunlar dokulardaki renk değişiklikleri, gazların oluşumu ve dokuların likefaksiyonudur(21,46). Çürümenin erken evrelerinde damarların içinde hemoliz olur ve bunun sonucunda hemoglobinin ve derivelinin renklerine bağlı olarak renk değişiklikleri meydana gelir. Barsaklarda üreyen bakterilerin açığa çıkardığı sülfür, hemoglobininle birleşerek sülfhemoglobin oluşturur ve dokularda yeşil-sarı, yeşil-mavi, yeşil-siyah renk değişikliğine neden olur. En erken dış değişiklik sağ iliak fossada yeşil renkli görünüm olup optimal koşullarda ilk 24 saat içinde görülmektedir(21).

Çürüme sırasında dokularda hidrojen sülfür, hidrojen fosfor, metan, CO₂, amonyak ve hidrojen gibi gazlar oluşmaktadır. Çürümeyle ortaya çıkan kokuya bu gazlardan bazıları ve merkaptanlar neden olmaktadır. Oluşan gazlar, karnın erken distansiyonuna yol açarlar. Subkutan dokuda gaz oluşumuyla yüz, dış genital organlar ve bütün vücutta yaygın şişlikler izlenir. Derideki büllerin ruptürü ile deskuamasyon başlar ve solid organlarda gaz kabarcıkları görülür. Organlar içerdikleri kas ve fibröz doku miktarına göre değişik yumuşama ve erime

gösterirler. Göz küreleri erken dönemde likefiye olur. Kapsüllü organlar, parankimatöz dokulara göre çürümeye daha dirençlidirler. Beyin, mide ve ince barsak çabuk, karaciğer ve dalak daha geç, uterus ve prostat ise en geç çürüyen organlardır(21,29).

Çürümenin başlama zamanı ve hızını; cesedin bulunduğu ortamın ısısı, nemi, hava akımı, bireyin yaşı, beslenme durumu, dokuların hidrasyonu ve ölüm nedeni gibi faktörler etkilemektedir. Sabunlaşma, mumyalaşma durumunda ve aseptik intrauterin ölümlerde maserasyona uğramış bebekte çürüme, cesedin bir bölümünde veya tamamında durabilir. 15,5-21 °C'lik atmosferik ısı altında, çürümeye bağlı erken değişiklikler ölümden sonra 36-48 saat içinde görülmektedir(21). Dokulardaki gaz oluşumu 1 haftanın sonunda ortaya çıkar ve birkaç hafta sonra karın duvarı patlayarak açılır. Birkaç ay içinde ise yumuşak dokular kaybolur ve sadece iskelet kalır. İskeletin parçalanması yıllarca sürebilmektedir. Yazarlar arasında ortak bir görüş birliği olmamakla birlikte çürümenin 24-48 saatte başladığı, 24-36 ile 48-70 saat arasında batında yeşil-mavi renk oluştuğu, 36-72 ile 120-144 saatte cesedin şiştiği ve krepitasyon alınmaya başladığı, 4-7 günden sonra ise epidermolizisin oluştuğu bildirilmektedir(3,61).

1.2. BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER:

1.2.1. Vitröz sıvı incelemeleri: Göz içinde vitröz sıvının çok iyi korunmuş olması, kontaminasyon ve PM kimyasal değişimlerin oldukça yavaş gelişmesi ve kolaylıkla elde edilebilmesi nedeniyle vitröz sıvı PMİ tahmininde sık kullanılmaktadır. Vitröz elektrolitler, glikoz ve üre nitrojeninin rutin incelemelerinin ölüm nedeni ve ölüm zamanının belirlenmesinde yardımcı olduğu belirtilmektedir. Vitröz sıvı incelemelerinde, kullanılan analitik yöntemlere bağlı olarak bulunan değerlerde farklılıklar olabilmektedir. Geniş bir araştırma grubunda yapılan çalışmada kullanılan teknolojik yöntemler iki göz arasındaki kimyasal değerlerin birbirinden farklı olabileceğini göstermiştir(10). Balasooriya ve arkadaşları; ölümden sonra aynı zamanda bir bireyin her iki gözünden elde edilen vitröz sıvının analizinde K^+ , Na^+ ve/veya ürat konsantrasyonunda gözler arasında farklılıklar olduğunu göstermişlerdir. Önceden bildirilmeyen bu bulguların ölüm zamanının belirlenmesinde elektrolitlerin ölçümünün kullanılmasını sınırlandıracağı belirtilmiştir(6). PMİ tahmini için, vitröz sıvıda araştırılan maddelerin başlıcaları aşağıda sıralanmıştır;

-Glikoz: Vitröz sıvı glikoz düzeyi serumdakinin yarısı kadardır ve diyabetik olmayanlarda PM süreç uzadıkça glikoz düzeyi sürekli düşmektedir. Vitröz glikoz düzeyi ölümden sonra birkaç saat içinde sıfıra doğru düşmektedir(34). Vitröz sıvı glikoz değerlerinin,

vücut ısısı ile birlikte değerlendirildiği çalışmalarda, PMİ'nin belirlenmesinde ilk 8 saat içinde %95'lik bir doğruluk oranının olduğu saptanmıştır(10).

15 ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise vitröz sıvı glikoz düzeyi ile PMİ arasında oldukça önemsiz bir korelasyonun olduğu belirtilmektedir(15).

-Laktik asit: Araştırmacılar ölümden sonra 20 saatte vitröz sıvı laktik asit konsantrasyonunun 80-160 mg/dl'den 210-260 mg/dl'ye kadar yükseldiğini belirlemişlerdir(10). PM laktik asit artışının diğer bulgularla birlikte değerlendirildiğinde interval tayininde yardımcı olabileceği belirtilmektedir(15).

-Prüvik asit, Askorbik asit, Hyaluronik asit: Prüvik asit konsantrasyonunun ölümden sonra 10 saatte hızla 2-3 mg/dl'den 0,1-0,2 mg/dl'ye düştüğü belirlenmiştir.

Vücutta en yüksek askorbik asit konsantrasyonunun gözde olduğu ve PM döneminde değerinde oldukça yavaş bir şekilde azalma olduğu saptanmıştır.

Hyaluronik asit konsantrasyonunun cinsiyetlere göre değişiklik gösterdiği bildirilmektedir(10).

-Üre Nitrojen: Çalışmalarda vitröz sıvıda ölüm sonrası önemsiz bir yükseliş gösterdiği saptanmıştır.

-Kreatinin: Çalışmalarda vitröz sıvı kreatinin konsantrasyonunun kan değerlerini yansıttığı ve serum değerlerine göre önemsenmeyecek kadar daha düşük olduğu belirlenmiştir.

-Amonyak: Vitröz sıvıda ilk 24 saatte PMİ belirlenmesinde kullanılabilir. Yüksek veya düşük değerler ölüm nedeni ve/veya çevresel ısı değişiklikleri ile ilişkilidir.

-Aminoasitler: Vitröz sıvıda serbest aminoasitlerin artmasının, ölümden sonra ilk 24 saatte PMİ'nin belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir(10).

-Kreatin: Vitröz sıvı kreatin seviyesi ile PMİ arasında tatmin edici bir korelasyonun olduğu($r=0.84$, $p<0.001$) ve ölüm zamanı tayininde diğer medikolegal parametreler ile birlikte kullanıldığında yararlı olduğu belirtilmektedir(52).

-Glutamin: Karaciğer yetmezliği ile ilişkili olduğundan interval belirlenmesinde anlamlı değildir(10).

-Oksipürinler: Hipoksantin, AMP'nin degradasyonu ile oluşur ve antemortem hipoksiye bağlı olarak yükselebilir(43,59). Uzamış hipoksi olgularında konsantrasyonunun arttığı rapor edilmiştir. Hipoksantin, uzamış serebral hipoksida bir gösterge olarak önerilmekte ve örneğin ani bebek ölümünde bir gösterge olarak kullanılabilir(43). Hipoksantin'in yaşam sürecinin durmasından sonrada artış göstermesi nedeniyle antemortem

hipoksi olmayan olgularda PMİ tahmininde kullanılabileceği de bildirilmiş; PMİ ile vitröz hipoksantin değeri arasında K^+ 'a göre daha yüksek korelasyonun olduğu rapor edilmiştir(43,59). Ragnum ve arkadaşları, vitröz sıvıdaki hipoksantin değerinin ölümden sonraki ilk 24 saatte K^+ 'dan daha güvenilir olduğunu ve K^+ ve hipoksantin değerlerinin oldukça lineer arttığını, K^+ ve hipoksantin değerlerinin birlikte kullanılması durumunda her koşulda daha doğru sonuçlar alınacağını belirtmişlerdir(26,60).

Gardner ve arkadaşları HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) yöntemi ile vitröz sıvıda pürin, primidin ve nükleozid konsantrasyonunu ve PM zaman ile ısının etkisini araştırmışlardır. Tavuk cesetlerinde 0-192 saatte, 6-20 °C'lik ısı örneklerindeki vitröz sıvıda inosin, hipoksantin, ksantin, ürik asit, urasil ve timin konsantrasyonlarında önemli bir etkisinin olduğu görülmüştür. Isı ile PM zaman arasında bu bileşenler için anlamlı ilişki bulunmuştur. Yine domuzlarda ve koyunlarda yapılan çalışmalarda ilk 24 saatte hipoksantin konsantrasyonunda artma saptanmıştır(20).

-Elektrolitler: Çeşitli araştırmalarda erken haftalarda her gözde aynı oranda ve benzer elektrolit düzeyleri saptandığı bildirilmesine karşın, Balasooriya ve arkadaşları çalışmalarında gözler arasında bireysel iyon konsantrasyonu farkı olduğunu ortaya çıkarmışlardır(6).

Na^+ düzeyi erken PM dönemde göreceli değişiklik göstermekle birlikte, normal serum konsantrasyon değerlerine benzerlik göstermektedir(12).

Ca^{++} düzeyinde artma saptanması diğer bulgularla birlikte değerlendirildiğinde PMİ belirlenmesine yardımcıdır(10).

PMİ tayininde objektif kimyasal yöntemlerle vitröz sıvı K^+ tayini geniş şekilde kullanılmaktadır(24,39,65).

Vitröz K^+ düzeyini örnek alım tekniği, kullanılan aletler, çevresel ısı gibi dış faktörlerin yanı sıra bireyin yaşı, terminal olay süresi ve nitrojen retansiyonunun olup olmaması gibi faktörlerin etkilediği ortaya konmuştur(11,39).

Ölümden sonra vitröz sıvı K^+ değerlerinin ölçümüyle ilk 24 saatte ± 10 saatlik, ilk 48 saatte ± 20 saatlik ve ilk 72 saatte ± 30 saatlik bir hata payı ile PMİ'nin belirlenebileceği belirtilmektedir(17).

Stephens ve arkadaşlarının 1427 olgu üzerinde yaptıkları çalışmada vitröz K^+ değerlerinin belirlenmesi ile intervalin olguların %95'inde ± 20 saatlik hata ile belirlenebildiği ve interval tayininde K^+ kullanımının yardımcı bir yöntem olduğu vurgulanmıştır(66).

Madea ve arkadaşları, rastgele örnekleme yöntemi ile 100 olguda vitröz K^+ değerlerini ölçüp, Sturner denklemi($PMİ: 7,14 \times K^+$ konsantrasyonu-39,1) ve Madea denklemini

(PMİ:5,26 x K⁺ konsantrasyonu-30,9) kullanarak PMİ tahminindeki doğruluğunu karşılaştırmışlardır. Vitröz K⁺ değerinin, Sturner denkleminde oldukça düz eğim gösterdiği ve ölüm zamanının %95 güvenlik aralığının daha geniş, Madea denkleminde ise vitröz K⁺ değerinin dik bir eğim gösterdiği ve PM 100 saatte ±20 saatlik bir güvenilirliği olduğu belirtilmektedir(42).

Lange ve arkadaşlarının çalışmalarında 6 orijinal veri, 790 olgunun analiziyle irdelenmiş ve vitröz sıvı K⁺ düzeyi ile PMİ arasındaki ilişkinin tamamen lineer olmadığı ve K⁺ fonksiyonundaki rezidüel değişikliklerin sabit kalmadığı belirlenmiştir. Veriler kombine edilerek tek bir eğri kaybı ve %95 güvenilirlikle bantlar oluşturularak vitröz K⁺ artmasının kısa PMİ için kullanılabileceği belirtilmektedir(38).

Bray, dekapitasyonun hemen ardından koyun başlarında vitröz sıvı kimyasına soğumanın etkilerini araştırmış ve gözlerdeki soğumanın yüksek orandaki K⁺ ve Mg⁺⁺ konsantrasyonunu azalttığını, ısı artması ile birlikte erime ve K⁺ ile Mg⁺⁺ düzeylerinde ani bir artış olduğunu, diğer elektrolitlerin etkilenmediğini belirlemiştir(8).

1.2.2. Beyin omurilik sıvısı incelemeleri(BOS): BOS incelemeleri ile PMİ belirlenmesine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

BOS'da PMİ ile doğru orantılı olarak amonyakta artma olduğu ve bu durumun ölümden sonra ilk 24 saatte PMİ belirlenmesinde diğer bulgularla birlikte değerlendirildiğinde anlamlı olduğu bildirilmektedir(10).

BOS'da aminoasitler, kreatinin ve oksipürinlerin(özellikle hipoksantin) PM düzenli bir artış gösterdikleri ve PMİ tayininde kullanılabileceği belirtilmektedir(10).

Kimyasal yöntemlerle putamende yapılan araştırmalarda dopaminerjik metabolit olan 3-MT(3-Metoksitiramin) birikimi olduğunun saptanması üzerine PMİ tayininde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Sparks ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 3-MT düzeylerini ölüm nedeni ve ilaçların etkilediğini, putamende 3-MT düzeyi ve vitröz sıvı K⁺ düzeylerinin ölçümlerinin karşılaştırılması ile PMİ tayininin daha doğru sonuçlar verdiğini saptamışlardır(65).

Endo ve arkadaşları ası yoluyla intihar eden veya iskemik kalp hastalığına bağlı ölen olguların BOS'larında, metabolitlerden DOPAC(3,4-dihidroksi fenil asetik asit)'in PMİ için paralel bir artış gösterdiği ve PMİ tayininde BOS DOPAC düzeylerinin kullanılabileceğini belirtmişlerdir(18).

Platt ve arkadaşları BOS'da PM lenfositlerin aşırı artış gösterdiğini (pleositozis), tiplendirilebilir hücrelerin mononükleer ve %60-70 lenfosit ve % 20-40 makrofajlardan oluştuğunu, PM süre 12 saati geçtiğinde hücrelerde vakuolizasyon izlendiği ve belirlenemez duruma geldiğini, daha ileri çalışmaların gerekli olduğunu belirtmişlerdir(10,26).

1.2.3. Diğer vücut sıvı incelemeleri: Perikardiyal sıvı ve gözyaşı gibi diğer vücut sıvılarında da PMİ ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.

Perikardiyal sıvılarda yapılan çalışmalarda PM dönem ile glikoz, laktik asit ve kolesterol konsantrasyonları arasında negatif bir korelasyon olduğu, nonprotein nitrojen, aminoasitler, GOT(glutamik oksaloasetik transaminaz) ve GPT(glutamik pruvik transaminaz) gibi bazı enzim konsantrasyonları arasında anlamlı korelasyonların bulunduğu bildirilmekle birlikte PMİ için diğer inceleme yöntemlerine gereksinim olduğu belirtilmektedir(26).

Demiroğlu ve arkadaşlarının ölüm zamanı bilinen 25 olguda gözyaşı pH düzeylerini ölçmüşler ve normalde 7,2 olan gözyaşı pH'ının ölümden sonra 5'e düştüğü ve zaman geçtikçe alkaliye kaydığı, ölüm süresi ile gözyaşı pH'sı arasında ± 14 saatlik hata payı bulunduğunu belirlemişlerdir. pH 5 bulunduğunda ölümün ilk 18 saat içinde olabileceği belirtilmektedir(16).

Yiğitsubay ve arkadaşları 42 olguda PM 1-14 saatler arasında gözyaşı ve kan pH değerlerini karşılaştırmış ve gözyaşı pH'ının ölümden hemen sonra 5,2'ye düştüğünü, ilk 12 saate hızla alkaliye kayarak bu artışın 32 saatte maksimum 8'e yükselerek sabitleştiğini, kan pH'sının ise 5,7'ye düştüğü ve giderek artarak 7,5'a çıktığını saptamışlardır. PMİ belirlenmesine yönelik gözyaşı pH'ında $\pm 8,92$ saatlik, kan pH'ında ise $\pm 9,048$ saatlik bir hata payının olduğunu belirtmektedirler(71).

Sinovyal sıvıda da proteoglikanlar ve yıkımı ile oluşan değişikliklerin PMİ belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir(10).

1.2.4. Kan incelemeleri: PMİ belirlenmesine yönelik olarak kanda pekçok madde incelenmiştir. PM biyokimyasal incelemelerin değerlendirilmesinde örneklerin alınma zamanı, örneğin kaynağı, alınma biçimi ve kullanılan analitik yöntem önemlidir.

PMİ tahmini için kanda araştırılan başlıca maddeler aşağıda tanımlanmıştır;

-Glikoz: PM glikolizisin 12,8 mg/dl/saat oranında oluştuğu ve kanda yüksek bir glikoz konsantrasyonu olduğu saptanmıştır.

-Laktik asit: Premortem plazma ve eritrositlerde çok küçük miktardaki laktik asitin, ölümden 12-24 saat sonra normal antemortem konsantrasyon değerinin 50-75 kat bir artış gösterdiği bildirilmektedir.

-Nonprotein nitrojen: Erken PM döneminde artması nedeniyle PMİ tayininde kullanılabileceği belirtilmektedir.

-Amonyak: PMİ tahmininde ilk 24 saatte kan ve vitröz sıvı değerlerinin birlikte değerlendirilmesiyle anlamlı sonuçlar ortaya çıkmaktadır(10,26).

-Amino asitler: PM ilk 10 saatte değerler 14mg/dl'nin altındadır ancak, PM süre 48 saati geçtiğinde 30mg/dl'ye yükselmektedir.

-Kolesterol, lipid ve protein: Konsantrasyonlarının antemortem ve PM değerleri arasında oldukça az değişiklik saptanmıştır.

-Alkalin fosfataz: PM 10,5 saatte düzeyinin 1,15-5,3 VÜ arttığı belirtilmektedir. Fosfoglukomutazın çevresel faktörlerden etkilenmekle birlikte antemortem ve PM değerleri arasında değişiklikler olduğu ve PMİ tayininde kullanılabileceği belirtilmektedir.

-Amilaz: PM 2. günde en yüksek düzeye ulaştığı, AST(glutamik oksalik transaminaz) ve LH(laktik dehidrogenaz) enzimlerinin lineer olarak ilk 60 saatte yükseldiği belirtilmektedir.

-Elektrolitler: PM 12 saatte Na⁺ konsantrasyonunun arttığı, 12 saatten sonra ise düştüğü ve bu düşüşün bireysel farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir. PM ve antemortem örneklerin serum Ca⁺⁺ konsantrasyonu benzerlikler göstermektedir(26).

PMİ tayininde plazma klorid değerlerinde yüksek korelasyonda lineer bir ilişki olduğu ve plazma değerlerinde azalma olduğu belirlenmiştir(56).

Ölümden sonra K⁺ hücreleri terkettiğinden ilk 1-2 saatte serum K⁺ konsantrasyonunda hızlı bir artış olmaktadır. PMİ tayininde eritrositlerde K⁺ kaybının invitro ölçümünün kullanılabileceği ve 0-120 saatlik PM döneminde eritrosit su içeriği ve K⁺ konsantrasyonu arasında doğrudan ve lineer bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir(54,55).

Plazma Na⁺ ve K⁺ konsantrasyonlarının fotometrik tesbiti ile PM 6-96 saatlik dönemde PMİ'in logaritması ile plazma Na⁺/K⁺ değerlerinin logaritması arasında yüksek korelasyonlu lineer ve ters ilişkinin olduğu ve daha önce literatürlerde bildirilmeyen bu ilişkinin PMİ belirlenmesinde basit ve potansiyel bir değeri olduğu bildirilmektedir(53).

-Kompleman: PMİ tayininde komplemanın 3.komponentinin(C₃) spontan ayrıldığı immünoelektroforezle çalışılmış ve PMİ ile C₃ ayrılma yüzdesi arasında pozitif bir korelasyonun olduğu saptanmıştır. Spontan ayrılma ile PMİ arasındaki ilişkinin ısıya bağımlı olduğu belirtilmektedir(35,36).

-Hormonlar: PMİ belirlenmesine yönelik kortizol, adrenalin, noradrenalin, tiroksin, TSH ve insülin gibi hormonlar üzerinde yapılan çalışmalarda premortem hormon değerlerinin bilinmemesi nedeniyle ve kişisel faktörlerden etkilendiğinden anlamlı ilişkiler saptanmamıştır(26).

-Hidrojen iyon konsantrasyonu: PM döneminde pH'da düşme oranı kanın elde edildiği yere göre değişiklik göstermektedir. Ekstremitelerden elde edilen kan pH'ı, sol ventrikülden elde edilenden daha yüksektir. Ölümünden sonra ilk 5 saatte antemortem asit baz düzeyi ile eşdeğerdir. Ölüm anında 7 ölçülen pH, 20 saat sonra yaklaşık 5,5 değerine kadar düşmektedir(10).

-Kanın donma derecesi: Canlıda kanın donma noktası kriyoskopi ile saptanır ve ortalama $-0,56^{\circ}\text{C}$ 'dır. Cesette PM olayları ilerledikçe serumda iyonlar ve elektrolit yoğunluğu artmakta ve donma derecesi düşmektedir. Araştırmalarda donma derecesindeki düşüşün $0,10^{\circ}\text{C/gün}$ oranında olduğu bildirilmektedir(4). Uygulanması oldukça güç ve zor olduğu belirtilen bu yöntemin PMİ tayininde kesin sonuçlar vermediği belirtilmektedir(22).

1.2.5. DNA incelemeleri: PM periyodun araştırılmasında çeşitli dokularda deoksiribonükleik asit(DNA) degradasyonunun flow sitometrik değerlendirilmesiyle ilgili çalışmalar yapılmıştır(7). Di Nunno ve arkadaşlarının çalışmasında dalak dokusunda DNA degradasyonunun flow sitometrik değerlendirmede 72 saatten sonra anlamlı olmadığı, dalak hücrelerinde çok hızlı bozulma eğiliminde olduğu belirtilmektedir(48).

Cina'nın yaptığı çalışmada PMİ'nin tayininde fiziksel değişimlerin yanında bir seri otopside dalak dokusunda DNA degradasyonuna ait verilerin orta PM periyodun belirlenmesinde yararlı olduğu belirtilmektedir(9).

1.3. HİSTOLOJİK LABORATUVAR İNCELEMELERİ

1.3.1. Kan hücrelerinin incelenmesi: Kan, kan hücreleri ile bu hücrelerin içerisinde yüzdüğü plazma adı verilen iki kısımdan oluşur. PM süreçte kan, vasküler sistemde hareketsiz kalmakta ve şekilli elemanlar ile plazma tabakalar şeklinde ayrılmakta ve çökmektedir. Özellikle kalp boşluklarında, büyük arter ve ven lümenlerinde PM pıhtı veya aleka denilen kitleler oluşmaktadır. Bu kitle içinde bulunduğu boşluğun şeklini almakta ama tam olarak dolduramamaktadır(3,61).

Ölümünden yaklaşık 3 saat sonra kanda hemoliz başlamakta ve 24 saat içinde tamamlanmaktadır. Ancak ölüm nedenine bağlı olarak bu süreler değişebilmektedir.

Eritrositlerin erimesi sonucu açığa çıkan hemoglobin seruma geçerek serum ve damar cidarının boyanmasına neden olmakta ve damar permabilitesinin artması ile birlikte transüstasyon gerçekleşmektedir. Fibrinolitik aktivite ve asidoz gibi bir dizi biyokimyasal değişikliğin olduğu ve bu durumun PMİ tayininde kullanılabileceği belirtilmektedir(26).

PM süreçte kandaki değişik hücresel elemanların otolize oldukça dirençli olduğu ve bu durumun PMİ tayininde kullanılabileceği belirtilmektedir(26). Total ve farklılaşmış lökositlerin sayımı, hücrelerdeki farklılaşmış dejenerasyon ve hücre morfolojisi gibi parametrelerin kullanımı ile ölüm zamanı tahmini yapılabileceği belirtilmektedir(5).

Lökositler, kanın sürekli hücreleri olmayıp dokulara göç ederek çok yönlü fonksiyonlarını yerine getirirler. Sitoplazmalarındaki granüllerin türüne ve nukleusların şekline göre iki grup lökosit hücresi vardır(19,30). Bunlar;

1. Granülositler (Polimorfonükleer lökositler)
 - a) Nötrofiller
 - b) Eozinofiller
 - c) Bazofiller
2. Agranülositler (Mononükleer lökositler)
 - a) Lenfositler
 - b) Monositler

Erişkin insandaki lökositlerin sayısı 6000-10000/ μ L arasındadır. Yeni doğanda lökosit değeri 15000-25000/ μ L arasında olup, erişkin düzeyi ancak 12 yaşında oluşmaktadır. Bireyin yaşına bağlı olarak, lökositlerde bazı kalitatif değişiklikler meydana gelmektedir. Yenidoğanda nötrofiller en fazla sayıda iken, 2. haftada lenfositler lökositlerin %60'ını oluşturmakta ve erişkin lökosit yüzdesine ancak 14-15 yaşlarında ulaşılmaktadır(30,69).

-Nötrofiller: Dolaşımdaki lökositlerin %60-70'ini oluştururlar ve 12-15 μ m çapında olup, nukleusları ince kromatin iplikleri ile bağlanan 3-5 lob (genellikle 3 lob) içermektedir. Anaerobik ortamlarda yaşamlarını sürdürmeleri, bu hücrelere oldukça avantajlı bir durum sağlamaktadır. Nötrofillerin yaşam süreleri oldukça kısadır, dolaşımda yarı ömürleri 6-7 saattir. Sonra bağ dokusuna geçerler ve 1-4 gün yaşamlarını sürdürürler. Ağır enfeksiyonlarda bu yaşam süresi birkaç saat daha kısa olmaktadır(30,69).

-Eozinofiller: Dolaşımdaki lökositlerin %2-4'ünü oluştururlar ve 12-15 μ m çapında olup nukleusları genellikle 2 lobludur. Eozin ile boyanan ve sayıları 200 kadar olan büyük ve refraktil granüller içerirler(68). Granüller 0,5 μ m uzunlukta ve 0,3-1 μ m kalınlıkta boyutlara sahiptir.

Kan dolaşımında yaşamları 4-8 saat, dokularda ise 4-5 gün kadardır(25). Eozinofiller parazitoz ve allerjik reaksiyonlarda artış göstermektedir(69).

-Bazofiller: Dolaşımdaki lökositlerin %0,4-1'ini oluştururlar, 12-15µm çapında olup nukleuslarındaki kromatin yapısı diğer granüositlerinkine benzerse de; daha az yoğun yapı gösterirler. Nukleus loblanması düzensizdir ve bazofilik boyanan granüller nedeniyle seçilmesi güçtür. Bazofilik spesifik granüller 0,5µm çapındadır ve histamin ve heparin içermektedirler.

Kan dolaşımında yaşamları 4-8 saat, dokularda ise 4-5 gün kadardır. Derinin aşırı duyarlılık reaksiyonunda bazofillerde artış gözlenir(25,30).

-Lenfositler: Dolaşımdaki lökositlerin %20-30'unu oluştururlar ve küçük, orta ve büyük boy olmak üzere 3 gruba ayrılırlar. Ortalama büyüklükleri 6-18µm çapındadır. Büyük boy lenfositler, spesifik antijenlerle uyarılarak T ve B lenfositlere farklılaşırlar. Küçük boy lenfositler dolaşım kanında yüksek oranda bulunur ve nukleusları yuvarlak ve kromatinden zengin olduğu için koyu boyanırlar(30,68).

Lenfositlerin yaşam süreleri farklılık gösterir. Duktus torasikustan her 24 saat içinde kana karışan total lenfosit sayısı, genellikle herhangi bir zamanda kan dolaşımında bulunan total lenfosit sayısının birkaç katıdır. Radyoaktif lenfosit kullanılarak yapılan araştırmalar, lenfositlerin hemen hepsinin diyapedez ile geriye dokulara geçtiğini, sonra tekrar lenfaya ve oradan da tekrar kana geçtiğini göstermiştir. Bu hücrelerin çoğu 100-300 günlük veya bazı durumlarda yıllarla ölçülen bir yaşam süresine sahiptir(25).

-Monositler: Kemik iliği kaynaklı agranüositlerdir. Dolaşımdaki lökositlerin %3-8'ini oluşturur ve 12-20µm çapında olup, lökositlerin en büyükleridir. Nukleusları oval, at nalı veya böbrek şeklindedir ve genellikle bir kenara itilmiş olarak yerleşiktir(19). Kromatinin çok ince filamentöz yapıda olması nukleusun daha soluk boyanmasına neden olur ve büyük boy lenfositlerden ayrımını sağlar. Monositlerin sitoplazması bazofiliktir ve çok küçük çaplı azürofilik granüller içerir.

Monositlerin kandaki yarı ömürleri 12-100 saat kadardır ve daha sonra bağ dokusuna geçerler. Bağ dokusuna geçtikten sonra tekrar kana dönüp dönmedikleri bilinmemektedir(2,30). Dokuya geçtikten sonra şişip daha büyük hacimdeki doku makrofajlarına dönüşerek aylarca hatta yıllarca yaşayabileceği belirtilmektedir(19,25).

Kemik iliğinde direkt hücresel değişikliğe yönelik olarak Reddy ve Bhaskar 1970 yılında bir çalışma yapmıştır. Babapulle ve arkadaşları 1990 yılında yaptıkları çalışmada PM lökositlerdeki hücresel değişiklikler ile ölüm zamanı arasında güvenilir bir korelasyonun

olduğunu belirtmişlerdir. Bu hipotezin temelinde altta yatan başka bir hipotez bulunmaktadır. Kişinin ölümü ile birlikte O₂ yetersizliği, CO₂ birikimi, pH değişiklikleri ve toksik ürünlerin birikimine bağlı olarak hücre içinde irreversibl değişiklikler oluşmaktadır. Bu ise hücrenel değişime ve sonunda hücrenel ölüme yol açmaktadır. Değişim lökosit, eritrosit ve trombositlerde oluşmaktadır. Lökositlerin nukleuslarında piknoz, karyoreksis ve karyolizis gibi değişiklikler oluşmaktadır(5).

Babapulle ve arkadaşlarının 200 hasta(kontrol grubu) ve 30 ölüm zamanı bilinen cesetten(olgu grubu) aldıkları kanda yaptıkları çalışmada total lökosit sayımı ve materyalden yayma yaparak lökositlerdeki nukleer, sitoplazmik ve morfolojik değişiklikleri üçer saatlik intervallerle 144 saat boyunca incelemişlerdir. Kadavra kanında, kontrol grubu kanına göre dejeneratif hücrenel değişikliklerin daha erken ve hızlı olduğunu saptamışlardır. Hücrelerdeki dejeneratif değişikliklerin ölümden sonra 6 saat içinde görülmeye başladığı, 36-84 saatlik PMİ döneminde PMİ için kullanılabilir olduğu belirtilmektedir. Bu dejenerasyonun nötrofillerde hızlı olduğu, lenfositlerde çok yavaş ve eozinofil ve monositlerde ise ikisinin arasında bir sürede olduğu bildirilmektedir(5).

Kadavra kanında saptanabilen total lökosit sayısının 84 saat sonunda sıfır değerine indiği, ilk önce eozinofil ve monositlerin 60 saatte, nötrofillerin 66 saatte ve en sonunda lenfositlerin 84 saatte kaybolduğu ve bu sonuçların 36-84 saatlik PMİ'nin hesaplanmasında kullanılabileceği belirtilmektedir(5).

1.3.2. Diğer doku hücrelerinin incelenmesi: Schnabel ve arkadaşları, bir olgu üzerinden yola çıkarak menstrüasyon zamanı bilindiğinde menstrüel siklus döneminde uterus mukoz membranının histolojik incelenmesi ile ölüm zamanının saptanabileceğini belirlemişlerdir(63). Ayrıca aort endotelial hücrelerin organ kültürlerinde, aorttaki endotelial hücrelerdeki değişikliklere dayalı PMİ tayinine yönelik çalışmalar yapılmıştır(72).

1.4. BİYOLOJİK İNCELEMELER

1.4.1. Entomolojik incelemeler; dış ortamda kalmış çürümekte olan cesetlerde PMİ'nin hesaplanmasında, böceklerin ve bunların larvalarının geçirdiği aşamalardan yararlanma ilkesine dayanmaktadır. Cesette saptanan böcek türlerinin görülme sırası ve o sırada bulunan örneklerin yaşı gibi faktörler önem taşımaktadır(31). PMİ tayininde ısı, nem, basınç, hava ve besin durumu, bitki örtüsü ve diğer iklim koşulları gibi faktörlerin yanısıra sinek türlerinin çeşidi cesedin çürüme hızını ve gelişimini etkilemektedir(49,64). *Sarcosaprophagous* grubu

insektlerin farklı türlerinin ardarda cesede ulaşma programı ve farklı türlere ait döllerin gelişim basamaklarının incelenmesiyle, ölümden sonra ilk ayda PMİ'nin hesaplanabileceği belirtilmektedir(62). Kulshrestha ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, entomolojik incelemelerin PMİ tayininde diğer yöntemlerle birlikte değerlendirilmesi ile anlamlı sonuçlar elde edildiğini saptamışlardır(37).

1.4.2. Periferik sinir ve kas dokusunun elektriksel uyarılabilirliği: Dokuların PM döneminde gösterdikleri elektriksel direnç değişikliklerini belirlemeye yönelik olarak sıçan gastrik duvarında PM 24 saat boyunca doku direnci ölçülmüş ve zamana bağlı olarak dirençte lineer bir düşüş olduğu belirlenmiştir(57,58).

Ölümden sonra, sinirlerdeki metabolik aktivasyonun tedrici olarak kesilmesi ile sinir iletiminin azalma eğilimi arasındaki ilişki sıçan siyatik siniri üzerinde elektriksel uyarı ile yapılan deneylerle araştırılmıştır. Kronaksinde ilk 90 dakikada lineer bir artış olduğu saptanmıştır(67). Ayrıca, rektal ısı ve mutlak refrakter periyot birlikte değerlendirildiğinde ölüm zamanının tahmininde güvenilirliğin arttığı belirtilmiştir(44).

İskelet kaslarının elektriksel uyarılabilirliğindeki PM değişimleri hayvan ve insanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarla araştırılmıştır. Kas yanıtı, subjektif ve objektif yöntemlerle değerlendirilerek, erken PMİ tahmininde bir adli tıp yöntemi olarak değerli olduğu belirlenmiştir(40,41).

1.4.3. Mide içeriğinin incelenmesi: Kişinin son yemek yediği zaman belirlenebilirse, besinlerin sindirilme derecesi incelenerek postmortem interval tahmin edilmeye çalışılabilir(21). Midenin boşalmasını midenin motilitesi, mide içeriğinin yoğunluğu, osmotik basıncı ve duodenumun özellikleri etkilemektedir. Ayrıca besinlerin karbonhidrat, protein ve yağ içerikleri ile sıvı veya katı durumda olmaları sindirime etkilidir. Bu nedenle mide içeriğinin incelenmesi çoğu kez anlamlı bulunmamaktadır(17,32,34).

1.4.4. Sperm canlılığının incelenmesi: Spermin ölüm sonrası yaşama yeteneği ve PMİ belirlenmesinde kullanılabilirliği boğa testislerinde yapılan deneysel çalışmalarda araştırılmış, PM 2-168 saatlik bir dönemde epididimlerde spermlerin yaşayabildiği belirlenmiştir. Epididimdeki spermin canlılığını çevresel ısı ve PM süreç etkilemektedir. Spermlerin motilite, morfoloji ve histokimyasal görünümündeki PM değişimlerin bazı araştırmacılar tarafından PMİ tayininde kullanılabileceği belirtilmektedir(26,29).

1.4.5. Kıl ve tırnak incelemeleri: Kıl ortalama olarak saatte 0,021mm, günde ise 0,40-0,50mm uzamaktadır. Ölümden sonra kıllarda uzama olmadığından ölen kişinin son traş olduğu gün ve saatin bilinmesi halinde, tek başına anlamlı olmamakla birlikte PMİ belirlenmesinde kullanılabilceği belirtilmektedir.

Tırnaklar ortalama günde 0,10mm uzamaktadır. Ölümden sonra tırnaklar uzamadığından ölen kişinin tırnağını kestiği zamanın bilinmesi durumunda tırnak uzunluğuna göre PMİ'in tayin edilebileceği ancak tek başına anlamlı olmadığı belirtilmektedir(4,22,51).



GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarına başvuran, herhangi bir onkolojik, hematolojik ve enfeksiyöz hastalığı olmayan 20-60 yaşları arasındaki 40 olgu ile fakültemiz Acil Cerrahi Kliniğine ölü olarak getirilen veya klinikte ölen 20-60 yaşları arasındaki koşulları uygun, buzdolabına konmamış 10 olgudan alınan kan örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir.

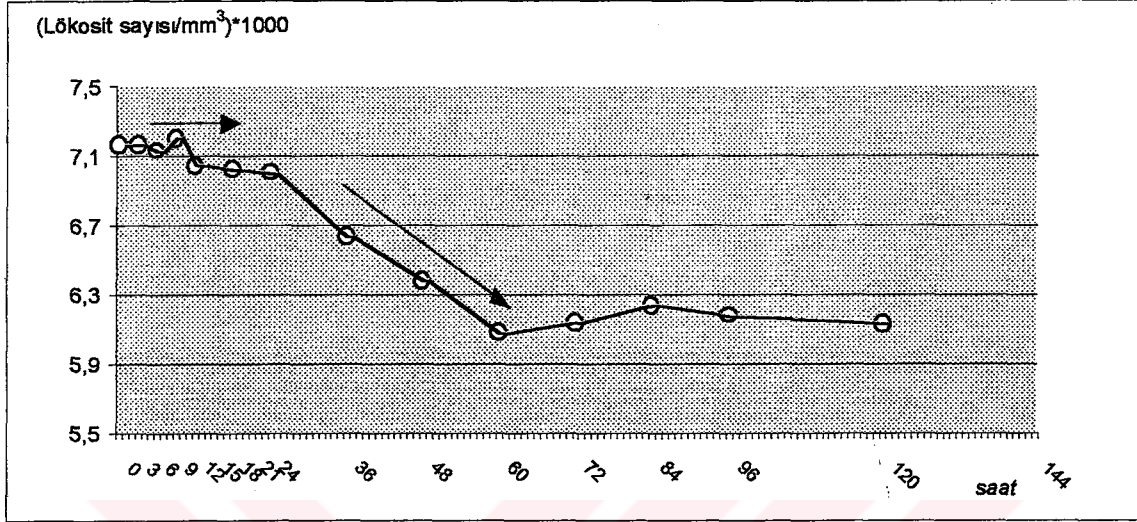
Seçilen 40 canlı olgudan aydınlatılmış onamları alındıktan sonra vena mediana cubitiden 2ml kan alındı. Alınan kanlar ağzı lastik kapakla kaplı %10'luk 0,2 ml antikoagülan EDTA K₃ içeren steril cam tüp içine kondu ve örnekler etiketlenip numaralandırılarak 15 dakika içinde biyokimya laboratuvarına taşındı. Örneklerden 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 ve 120. saatlerde bir alt örnek alınarak ABX MİCROS kan sayım aracında total ve diferansiyel lökosit sayımı yapıldı. Ayrıca materyalden eş zamanlı olarak periferik yayma preparatları hazırlanarak, 5 dakika May Grunveltli boya içinde ve 1'e 1,5 oranında taze hazırlanmış saf su ile sulandırılmış Giemsa ile boyandı ve 15 dakika bekletildikten sonra taze hazırlanan saf su ile temizlenerek kurumaya bırakıldı. Örnekler oda ısısında bekletildi. Acil Cerrahi kliniğine ölü olarak getirilen veya klinikte ölen ölüm zamanı bilinen 10 olgunun yakınlarından aydınlatılmış onam alınarak, cesetlerin buzdolabına konulmasından önce aynı interval içinde vena jugularis internadan 2 ml kan alınıp aynı işlemler tekrarlandı.

Hazırlanan periferik yayma preparatları ışık mikroskobu ile 100 büyütmede, yaklaşık 100 hücre içeren 1x2 cm'lik bir alanda incelendi. Lökositlerdeki nükleer ve sitoplazmik morfolojik değişiklikler kaydedildi. Boyanan örnekler ve inceleme bulguları İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji Kliniğinde uzman hekimler tarafından konsülte edilerek kontrol edildi.

Elde edilen lökositlerin total ve diferansiyel sayılarına ilişkin veriler, tablo ve grafiklerle gösterilerek sonuçlar tartışıldı.

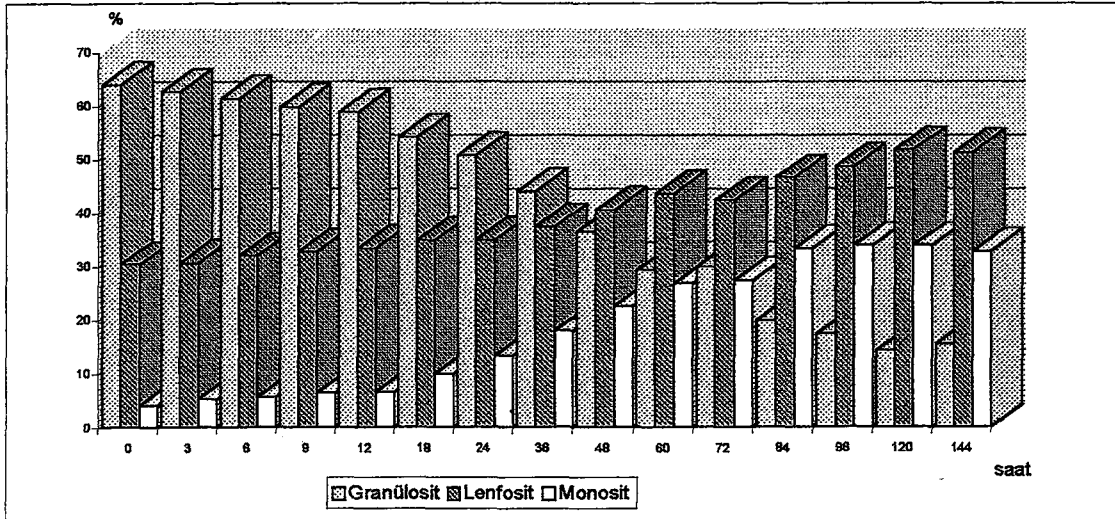
BULGULAR

Grafik 1. Kontrol grubunda 120 saatlik intervalde total lökosit sayısal değişimi.



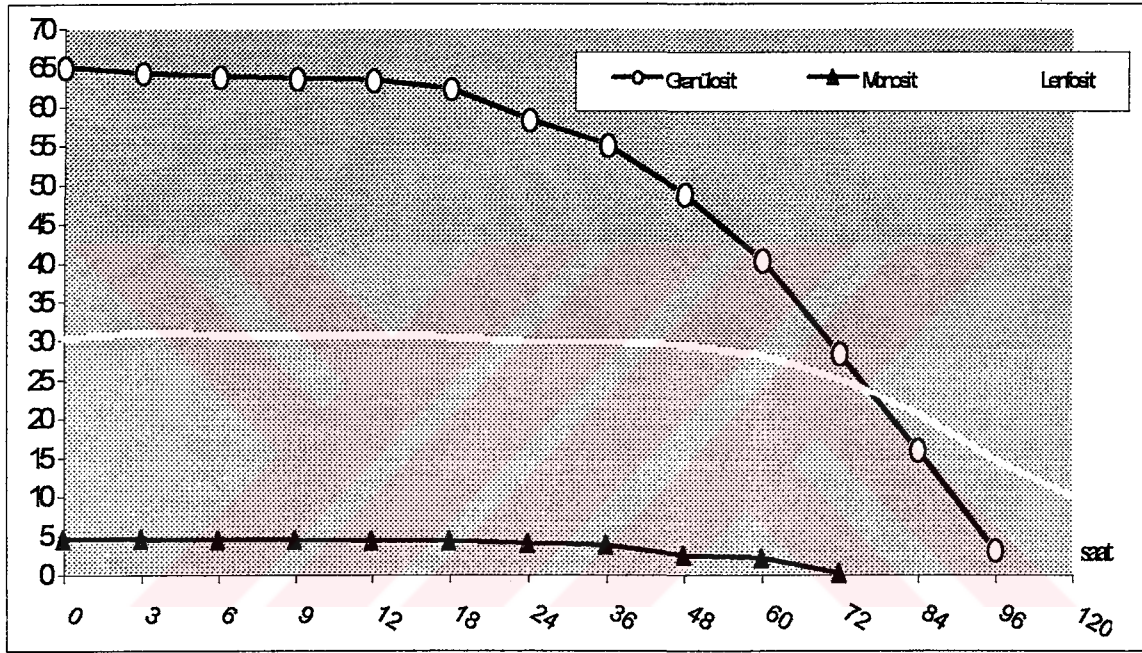
120 saatlik intervalde kan sayım aracında kontrol grubu kan örneklerinde total lökosit sayılarının ortalama değerleri incelendiğinde; koleksiyondan sonraki ilk 24 saatte belirgin olmayan, 24-60 saatlik dönemde ise oldukça belirgin bir azalmanın olduğu izlenmiştir. 60-84 saatlik dönemdeki hafif bir yükselmeyi, 120. saate kadar hafif bir düşüş izlemiştir.

Grafik 2. Kontrol grubunda 120 saatlik intervalde diferansiyel lökosit sayılarının ortalama değişimi.



120 saatlik intervalde kontrol grubunun kan örneklerinin kan sayım aracında diferansiyel lökosit sayılarının ortalama değerleri incelendiğinde; granülosit, lenfosit ve monositlerin ilk 24 saatte göreceli olarak sabit düzeyde seyrettiği ve belirgin değişimlerin 24 saatten sonra başladığı, ilk 24 saatten 120 saate kadar olan intervalde granülositlerde hızlı bir azalmanın olduğu, lenfosit ve monosit yüzdelerinde ise artma olduğu saptanmıştır.

Grafik 3. Kontrol grubu periferik yayma birim alandaki diferansiyel lökosit değişimleri.



120 saatlik intervalde, kontrol grubundan hazırlanan periferik yayma preparatlarında birim alandaki tanımlanabilen granülosit, lenfosit ve monosit sayıları değerlendirildiğinde; granülositlerin ilk 24 saatte sabit bir seyir gösterdiği daha sonra 96. Saate kadar azalarak, 96 saatten sonra ise artık tanımlanamadığı belirlenmiştir. Lenfositlerin ilk 60 saatte sabit bir seyir gösterdiği ve sonra giderek azalmakla birlikte, 120 saat ve sonrasında da tanımlanabildiği saptanmıştır. Monositler ise, ilk 36 saatte sabit kalırken daha sonra giderek azaldığı ve 72 saatten sonra monositlerin tanımlanamadığı görülmüştür.

Tablo 1. Olgu ve kontrol grubunda periferik yayma birim alanda lökosit morfolojisindeki değişimler.

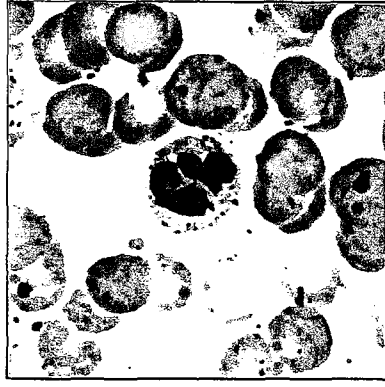
Granülositler	Nötrofil	
		<i>Normal</i>
	<i>Piknoz</i>	>6
	<i>Sitoplazmik ve nukleer vakuolizasyon</i>	>12
	<i>Nükleer fragmantasyon</i>	>18
	<i>Disintegrasyon</i>	48-96
	Eozinofil	
	<i>Normal</i>	0-6
	<i>Piknoz</i>	>6
	<i>Sitoplazmik ve nukleer vakuolizasyon</i>	>12
	<i>Nükleer fragmantasyon</i>	>18
	<i>Disintegrasyon</i>	48-72
	Bazofil	
	<i>Değerlendirmeye alınmadı</i>	
Agranülositler	Monosit	
	<i>Normal</i>	0-6
	<i>Piknoz</i>	>6
	<i>Sitoplazmik ve nukleer vakuolizasyon</i>	>12
	<i>Nükleer fragmantasyon</i>	>24
	<i>Disintegrasyon</i>	48-72
	Lenfosit	
	<i>Normal</i>	0-24
	<i>Nükleer şişme, sitoplazma hücre membranında belirsizlik..</i>	>24
	<i>Piknoz</i>	>36
	<i>Nükleer fragmantasyon</i>	>72
	<i>Disintegrasyon</i>	96-

Kontrol grubu ve olgu grubundan elde edilen kan örneklerinden hazırlanan periferik yaymalar değerlendirildiğinde; gruplar arasında morfolojik değişimlerin benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

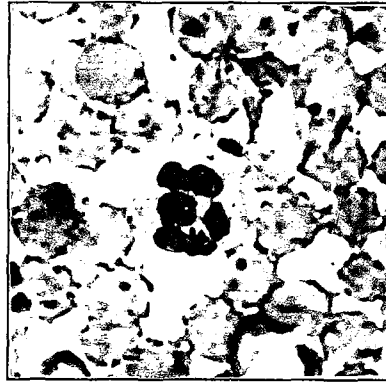
Granülositer seriden nötrofillerde dejenerasyonun 6. saatten sonra başladığı ve 96. saate kadar tanımlanabildiği; eozinofillerde de benzer şekilde 6. saatte dejenerasyon başladığı ve 72. saatten sonra tanımlanamadığı saptanmıştır. Granülositer seriden bazofiller ise periferik yayma incelemelerinde çok nadir olarak görüldüğünden değerlendirmeye alınmamıştır.

Agranülositer seriden monositlerde 6. saatte dejeneratif değişimlerin başladığı, 72. saatten sonra ise monositlerin artık izlenemediği; lenfositlerde ise ilk 24 saatte morfolojik değişimin olmadığı, dejenerasyonun 24. saatten sonra başladığı ve 120. saat ve sonrasında da hala tanımlanabilen lenfositler olduğu belirlenmiştir.

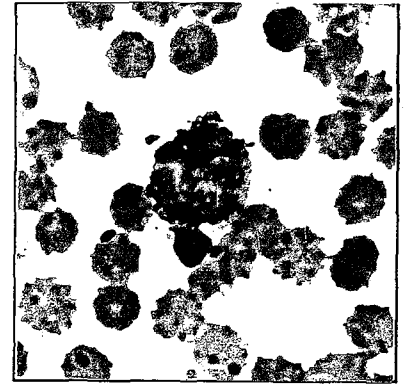
Resim 1. Nötrofillerde saptanan morfolojik dejeneratif değişimler.



a.



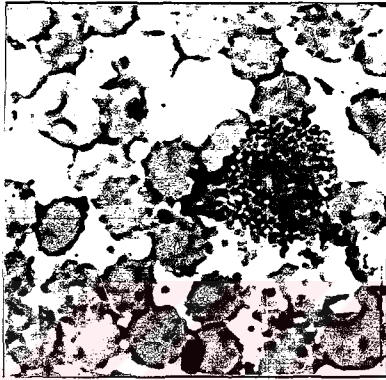
b.



c.



d.

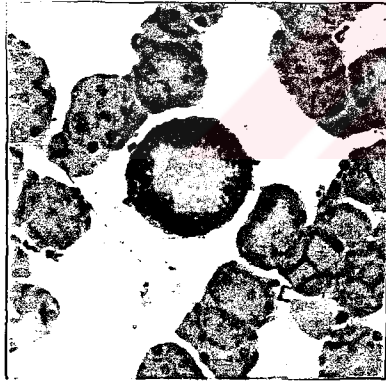


e.

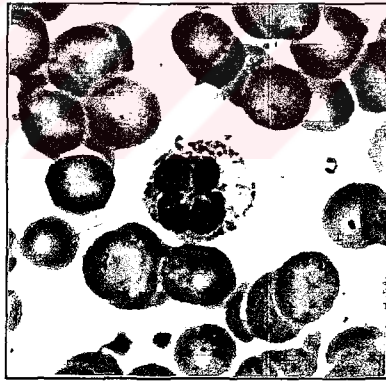
- a. *Normal*
- b. *Piknoz*
- c. *Sitoplazmik ve nükleer vakuolizasyon*
- d. *Nükleer fragmentasyon*
- e. *Disintegrasyon*

(HE, x 1000)

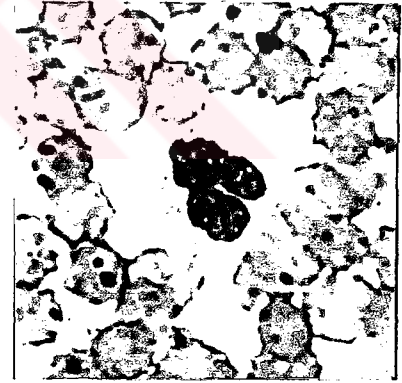
Resim 2. Eozinofillerde saptanan morfolojik dejeneratif değişimler.



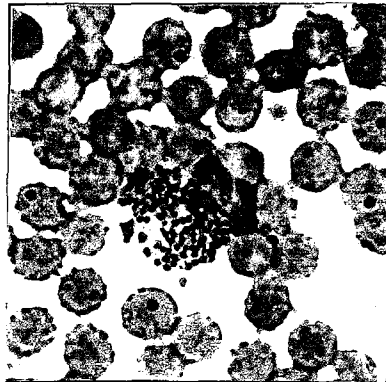
a.



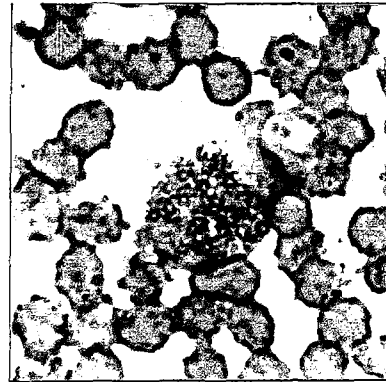
b.



c.



d.

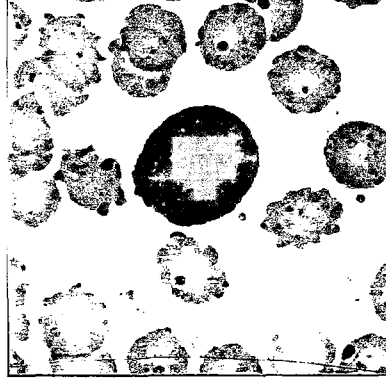


e.

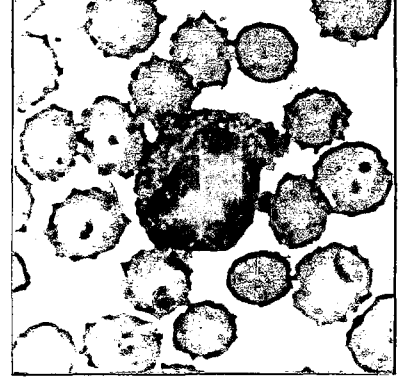
Resim 3. Monositlerde saptanan morfolojik dejeneratif değişimler.



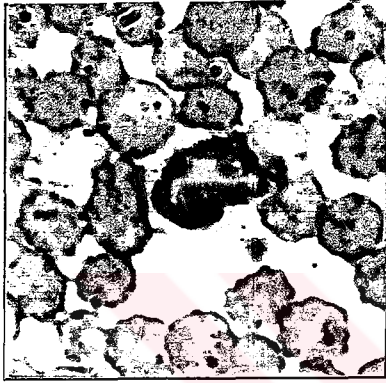
a.



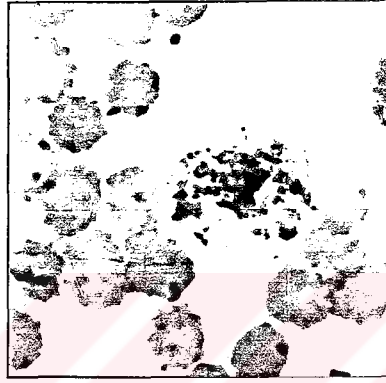
b.



c.



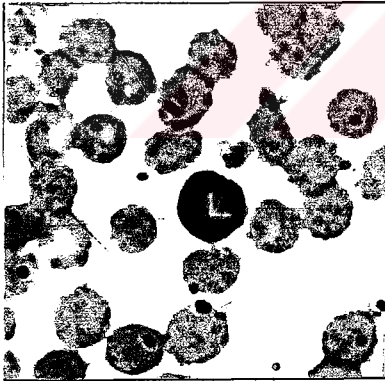
d.



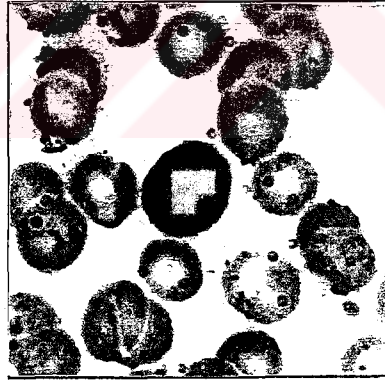
e.

- a. *Normal*
 - b. *Piknoz*
 - c. *Sitoplazmik ve nükleer vakuolizasyon*
 - d. *Nükleer fragmentasyon*
 - e. *Disintegrasyon*
- (HE,x 1000)

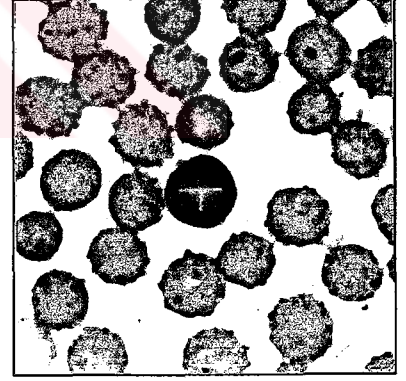
Resim 4. Lenfositlerde saptanan morfolojik dejeneratif değişimler.



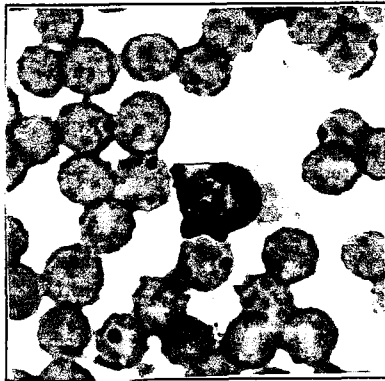
a.



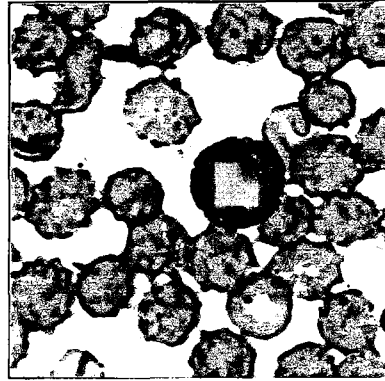
b.



c.



d.



e.

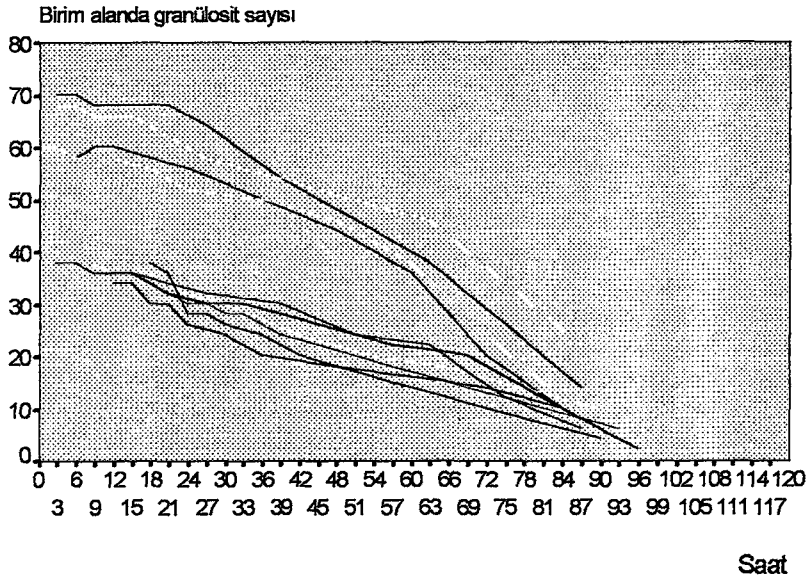
- a. *Normal*
 - b. *Nükleer şişme, sitoplazma hücre membranında belirsizlik*
 - c. *Piknoz*
 - d. *Nükleer fragmentasyon*
 - e. *Disintegrasyon*
- (HE,x 1000)

Tablo 2. Olgu grubunda PM 120 saatlik intervalde diferansiyel lökositlerin sayısal değişimleri.

		0	3	6	9	12	18	24	36	48	60	72	84	96	120
	G	44	43	42	41	40	36	31	25	21	18	13	11	9	9
+12	M	5	8	8	9	9	10	13	15	19	20	21	20	22	20
	L	51	49	50	50	51	54	56	60	60	62	66	69	69	71
	G	53	54	53	53	53	51	48	37	31	23	18	14	13	11
+18	M	7	11	11	11	12	10	11	16	19	19	21	19	20	20
	L	40	35	36	36	35	39	41	47	50	58	61	67	67	69
	G	40	40	38	38	36	36	33	24	22	19	18	13	13	9
+9	M	5	7	6	6	7	7	9	13	14	13	13	16	16	20
	L	55	53	56	56	57	57	58	63	64	68	69	71	71	71
	G	49	51	52	53	52	49	45	35	29	21	20	18	18	16
+3	M	7	8	7	6	7	8	10	17	20	21	22	24	24	24
	L	44	39	41	41	41	43	45	48	51	58	58	58	58	60
	G	60	61	60	60	57	56	48	35	27	20	18	15	14	10
+21	M	8	8	8	8	8	10	16	27	33	34	35	35	36	38
	L	32	31	32	32	35	34	36	38	40	46	47	50	50	52
	G	69	68	66	66	67	63	55	38	32	28	24	18	16	12
+3	M	4	5	6	6	7	10	14	24	27	27	28	28	28	30
	L	27	27	28	28	26	27	31	38	41	45	48	54	56	58
	G	59	58	60	57	56	54	48	40	40	36	32	30	29	26
+6	M	8	9	7	8	8	8	9	11	11	13	16	18	18	21
	L	33	33	33	35	36	38	43	49	49	51	52	52	53	53
	G	62	61	60	61	60	55	45	22	22	15	13	14	13	13
0	M	5	7	7	6	7	8	12	28	28	25	26	26	27	27
	L	33	32	33	33	33	37	43	50	50	60	61	60	60	60
	G	72	70	68	69	67	63	59	41	41	33	25	21	17	16
+3	M	5	6	6	7	7	8	12	23	23	23	25	25	26	27
	L	23	24	26	24	26	29	29	36	36	44	50	54	57	57
	G	61	59	59	58	57	55	49	40	37	30	32	18	18	15
0	M	3	6	6	6	6	8	12	18	21	25	24	24	24	26
	L	36	35	35	36	37	37	39	42	42	45	54	58	58	59

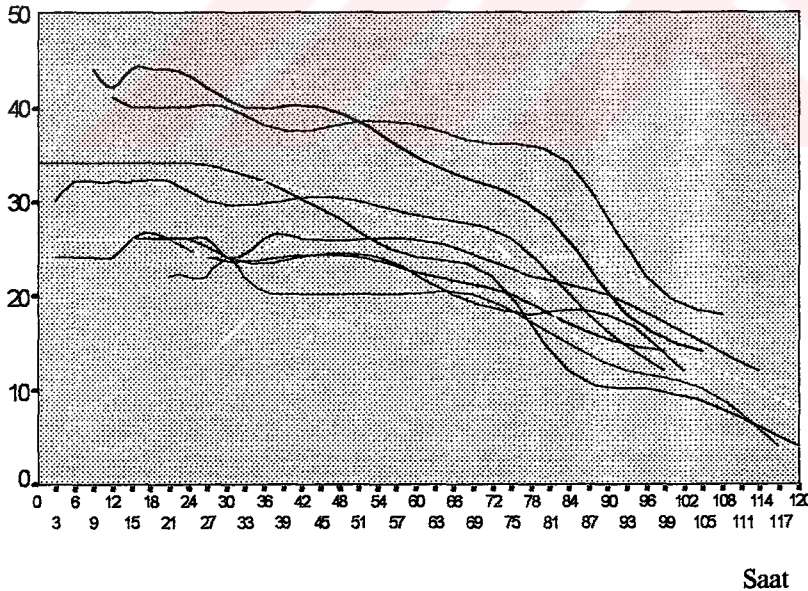
Olgu grubu kan örneklerinin, PM 120 saatlik dönemde, kan sayım aracı ile diferansiyel lökosit sayıları değerlendirildiğinde; granülosit, lenfosit ve monositler PM ilk 18 saatlik dönemde göreceli olarak sabit seyrederken, 24 saatten sonra 120 saate kadar granülositlerde azalma, lenfosit ve monositlerde ise bir artmanın olduğu belirlenmiştir.

Grafik 5. Olgu grubu periferik yayma birim alandaki granülosit değişimi.



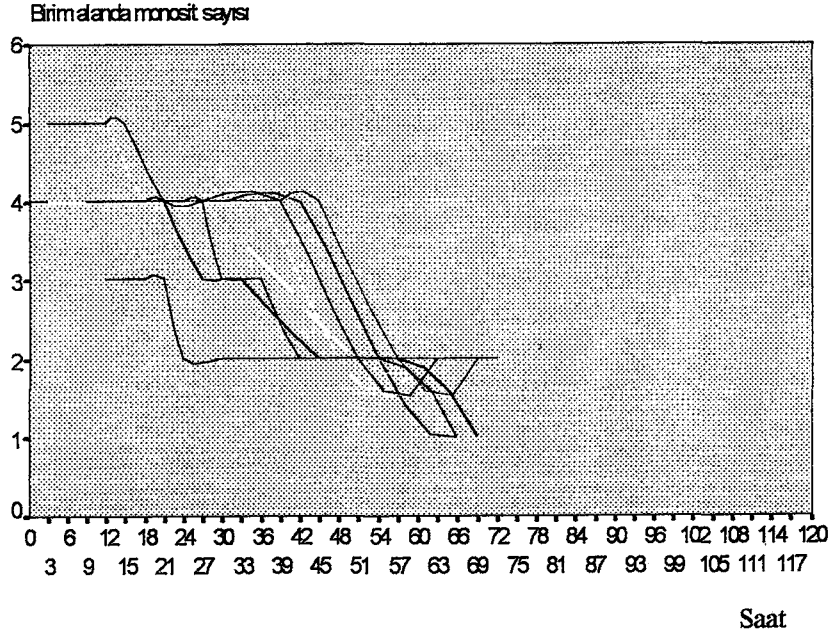
120 saatlik intervalde ölüm zamanı bilinen 10 olgunun periferik yaymalarında birim alanda tanımlanabilen granülosit sayıları değerlendirildiğinde; ilk 18-24 saatte göreceli olarak sabit bir dönemin ardından bir azalmanın olduğu ve tanımlanabilen granülositlerin en son 96 saatte izlendiği saptanmıştır.

Grafik 6. Olgu grubu periferik yayma birim alandaki lenfosit değişimleri.



120 saatlik intervalde ölüm zamanı bilinen 10 olgunun periferik yaymalarında birim alanda tanımlanabilen lenfosit sayıları genel olarak değerlendirildiğinde; ilk 66 saatlik dönemde zamanla ilişkili göreceli bir azalma olmakla birlikte, bu saatten sonra azalmanın çok daha belirgin olduğu ve 120 saatlik dönemde hala tanımlanabilen lenfositlerin olduğu izlenmiştir.

Grafik 7. Olgu grubu periferik yayma birim alandaki monosit değişimleri.



Ölüm zamanı bilinen 10 olgunun periferik yaymalarında birim alanda 120 saatlik intervalde tanımlanabilen monositlerin sayıları değerlendirildiğinde; ilk 18 saatlik sabit dönemin ardından azalmanın görüldüğü, 18-48 saatlik dönemde yaklaşık aynı düzeyde seyrettiği ve takiben hızlı bir düşüşle birlikte 72. saatten sonra izlenmediği saptanmıştır.

TARTIŞMA

Ölüm zamanı veya PMİ'in saptanması, adli olaylarda büyük önem taşımaktadır. Adli tıpta ölüm zamanını belirlemeye yönelik olarak birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde aranan iki temel özellik, güvenilirlikleri ve olay yerinde uygulanabilir olmalarına ilişkindir. Uygulanan yöntemin güvenilirliği en düşük hata payı ile PMİ tayininin yapılabilmesine bağlıdır. Hata payının azaltılması ise ancak birkaç yöntemin birlikte kullanılması ve yorumlanması ile mümkün olabilmektedir. Hiçbir yöntem tek başına yeterli güvenilirlikte sonuç vermemektedir. Güvenilirlik kadar önemli olan diğer bir faktör ise basit ve invaziv olmayan, diğer bir tanımlamayla vücut bütünlüğünü bozmayan yöntemlerin seçilmesidir.

PM döneminde kan alınması, olay yerinde birkaç dakika gibi kısa bir sürede gerçekleştirilebilen kolay uygulanabilen bir yöntemdir. Asıl sorun, kan analizinden hareketle güvenilir bir yöntemin geliştirilmesidir. Kanın şekilli elemanlarının otolize oldukça dirençli olması, PMİ tayininde kullanılabilirliğini araştırmaya yönelik çalışmalarını başlatmıştır(5,29).

Babapulle ve ark, 30 buzdolabına konulmamış kadavra kanında ve sistematik bir hastalığı olmayan 200 olgudan elde ettiği kanda lökositlerin total ve diferansiyel sayıları ve morfolojik değişimlerini 3'er saatlik intervale 144 saat izlemiştir(5).

Bu çalışmada ise buzdolabına konmamış 10 kadavra(olgu grubu) ve sistematik bir hastalığı olmayan 40 canlı olgudan(kontrol grubu) kan alınarak; 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 ve 120 saatlik intervalde lökositlerin total ve diferansiyel sayıları ve eş zamanlı yapılan periferik yaymalarındaki morfolojik dejeneratif değişimler izlendi.

Babapulle ve ark, kontrol grubu olgularında total lökosit sayısının koleksiyondan sonra 24 saat kadar sabit kaldığı ve daha sonra 144 saate kadar sayının giderek azaldığını saptamıştır(5). Çalışmamızda ise ilk 24 saatte kan sayım aracında çalışılarak elde edilen total lökosit sayısında göreceli olarak sabit bir dönemin ardından belirgin bir azalmanın olduğu ve bu azalmanın 60.saatte en düşük düzeye ulaştığı, 60. saatten sonra ise hafif bir yükselme olmakla birlikte sayısal olarak göreceli sabit bir seyir gösterdiği izlendi(Grafik 1).

Babapulle ve ark, kontrol grubundaki çalışmada, diferansiyel lökosit sayısının koleksiyondan sonra 20-24 saat göreceli olarak sabit kaldığı ve ardından eozinofiller ve monositlerde hızlı bir düşme olduğu, 72. saatte tamamen kaybolduğu; nötrofiller 20-24 saat sabit kalırken 36 saat sonra hızlı bir azalma gözlemlendiği; lenfositlerde ise düşüşün daha zayıf olduğu ve 144 saate kadar saptanabildiği; lenfosit, eozinofil ve monositler arasında kabaca paralellik gösteren bir azalmanın olduğu belirtilmektedir(5).

Çalışmamızda, kontrol grubu diferansiyel lökosit sayısının kan sayım aracı ile değerlendirilmesinde, granülosit, lenfosit ve monositlerin ilk 24 saatte sabit kaldığı, granülositlerde bu sabit dönemden sonra azalma, lenfosit ve monositlerde ise bir artış olduğu belirlendi(Grafik 2). Lökosit total sayısında bir azalma izlenirken lenfosit ve monositlerdeki bu artışın doğru olup olmadığı, hazırlanan periferik yaymaların birim alandaki diferansiyel sayıları incelenerek değerlendirildi. Birim alan incelenmesinde, granülositlerin 18-24 saat sabit kaldığı ve daha sonra giderek bir azalma gösterdiği, olguların çoğunda 84. saatten sonra yaymalarda tanımlanabilen granülositlerden nötrofillerin izlenmediği, bazı olgularda 96. saatte de nadiren nötrofillerin izlendiği, monositlerin ise ilk 24-36 saatte sabit kaldığı ve giderek azalma gösterdiği ve en son olarak 72. saatte izlenebildiği, lenfositlerin ise 60. saate kadar yaklaşık sabit bir dönemin ardından azalma göstermekle birlikte 120. saatte de hala tanımlanabilen lenfositlerin olduğu saptandı(Grafik 3).

Babapulle ve ark, kontrol grubunda yaptıkları çalışmada, morfolojik değişimleri incelemiş ve ilk 6 saatte hücrelerde morfolojik bir değişim tanımlamamışlardır. 6-72 saatlik dönemde normal ve anormal hücrelerden oluşan hücreler tanımlanırken, 72 saatten sonra hücrelerin tümünün anormal olduğu ve hücrelerin tanımlanabilmesinin zor olduğunu belirtmişlerdir. Ardışık hücresel değişikliklerden göreceli hızlı değişikliklerin erken olarak nötrofillerde, küçük ve yavaş değişikliklerin lenfositlerde izlendiği belirtilmektedir.

-Nötrofillerin koleksiyondan sonra 3-9 saatte normal olarak tanımlandığı, hücre ve nukleusda erken kontrakte değişimlerin ve piknozun ilk 6 saatten sonra izlendiği ve bu değişimlerin 60. saate kadar belirlendiği, 12. saatte nükleer ve sitoplazmik vakuolizasyonun başladığı, 24. saatte nükleer fragmantasyonun görülmeye başladığı, 48. saatten itibaren disintegrasyonun saptandığı ve 144. saate kadar izlendiği belirtilmektedir(5). Çalışmamızda nötrofillerde 6. saatten sonra piknotik değişimlerin başladığı, 12. saatten sonra vakuolizasyon, 18. saatten sonra nükleer fragmantasyon ve 48. saatten sonra disintegrasyonun başladığı görülmüş ve en son olarak 96. saatte izlenmiştir(Resim 1).

-Eozinofillerin ilk 3 saatte normal olarak izlendiği, 12 saatten sonra hücre membranında bozukluk oluştuğu, 18. saatten sonra nükleer şekil bozukluğu, 21. saatten sonra ise nukleusun kontrakte olduğu, tanımlanabilen eozinofillerin 66. saatten sonra olası olmadığı belirtilmektedir(5). Çalışmamızda ilk 3 saatte eozinofiller normal olarak izlenmiş, 6. saatten sonra piknoz, 12. saatten sonra vakuolizasyon, 18. saatten sonra nükleer fragmantasyon ve 48. saatten sonra disintegrasyonun başladığı gözlenmiş ve 60. saatten sonra tanımlanabilen eozinofillere nadiren 72. saatte de rastlanmıştır(Resim 2).

-Bazofiller, örneklerin toplanmasından sonraki ilk 3 saat içindeki dönemde bile nadiren görüldüğü için değerlendirmeye alınmamıştır.

-Monositlerin, ilk 3 saatte normal oldukları, 24. saatten sonra stoplazmik granülasyon ve nükleer fragmentasyonun başladığı, 66.saatten sonra tanımlanabilen monositlerin izlenemediği belirtilmektedir(5). Çalışmamızda monositlerde 6. saatten sonra piknotik değişimlerin başladığı, 12. saatten sonra vakuolizasyon, 24. saatten sonra nükleer fragmentasyon ve 48. saatten sonra disintegrasyonun görüldüğü saptanmış ve en son olarak 60. saatte izlenmiştir(Resim 3).

-Lenfositlerde ise 36. saatte nükleer şişme, sitoplazma ve hücre membranında belirsizliğin başladığı, 144. saatte piknoz ve nükleer fragmentasyonun hala izlendiği belirtilmektedir(5). Çalışmamızda 24. saatten sonra nükleer şişme, stoplazma hücre membranında belirsizlik, 36. saatten sonra piknoz ve 84. saatten sonra nükleer fragmentasyon ve disintegrasyonun izlendiği ve 120. saatte hala tanımlanabilen lenfositlerin izlendiği saptanmıştır(Resim 4, Tablo 1).

Bu değerlendirmeler gözönüne alındığında postmortem süreçte hücelerde (lenfosit, monosit, nötrofil, eozinofil) başlayan dejeneratif değişimlerin başlama zamanından yola çıkarak, farklı zaman birimlerinde dar bir aralıkta PMİ'in yaklaşık tahmin edilmesi mümkün olabilmektedir. PMİ'in değerlendirilmesi için bu çalışmadan elde edilen verilerle oluşturulan KHDC'ne göre;

- PM sürecinde tüm hücrelerin normal morfoloji göstermesi PMİ'in ilk 6 saatte,
- nötrofil, eozinofil ve monositlerde piknoz saptanırken, lenfositlerin normal morfoloji göstermesi 6-24 saatte,
- nötrofil, eozinofil ve monositlerde stoplazmik ve nükleer vakuolizasyon saptanırken, lenfositlerin normal morfoloji göstermesi 12-24 saatte,
- nötrofil ve eozinofillerde nükleer fragmentasyon saptanırken, monosit ve lenfositlerin normal morfoloji göstermesi 18-24 saatte olduğunu,
- monositlerde nükleer fragmentasyon, lenfositlerde nükleer şişme ve stoplazma hücre membranında belirsizlik saptanması ilk 24 saati geçtiğini,
- monositlerde nükleer fragmentasyon, lenfositlerde nükleer şişme ve stoplazma hücre membranında belirsizlik ile birlikte lenfositlerde piknoz saptanması ilk 36 saati geçtiğini,
- nötrofil, eozinofil ve monositlerde disintegrasyon, lenfositlerde piknoz saptanması ilk 48 saati geçtiğini,

-nötrofil, eozinofil ve monositlerde disintegrasyon, lenfositlerde nükleer fragmentasyon saptanması 48-72 saatte,

-nötrofillerde disintegrasyon, lenfositlerde nükleer fragmentasyon saptanırken, eozinofil ve monositlerin tanımlanamaması 72-96 saatte olduğunu,

-nötrofillerin tanımlanamaması, lenfositlerde disintegrasyon saptanması 96 saati geçtiğini göstermektedir. Elde edilen verilerin KHDC'ne uyarlanması ile ortaya çıkan sonuçların diğer çalışmalarda sunulan değerlerle de uyumlu olması bu cetveldən PMİ için yararlanılabileceğini düşündürmektedir. Bu cetveli geliştirmek için değişik koşullarda çalışılacak kanlardan elde edilecek sonuçların da yeniden değerlendirilmesi ve ortam ve ceset özelliklerine göre belirlenecek değişkenlere uygun cetveller hazırlanması yararlı olacaktır.

Babapulle ve ark, olgu grubunda total lökosit sayısının 36. saatte azalma gösterdiği, diferansiyel lökosit sayısında bir azalma ve lenfositlerin 60. saatten sonra tanımlanmasında güçlükler olduğu, 84. saatten sonra ise tanımlanamadığını belirtmektedirler(5). Çalışmamızda olguların tümünde total lökosit sayısında ilk 24 saatte göreceli olarak sabit bir dönem izlenirken, 24. saatten sonra olgular arasında birbirine paralellik göstermeyen bir azalmanın olduğu izlenmiştir(Grafik 3). Olgu grubunda kan örneklerinin PM 120 saatlik dönemde, kan sayım aracı ile diferansiyel lökosit sayıları değerlendirildiğinde; granülosit, monosit ve lenfositler PM ilk 18 saatlik dönemde göreceli olarak sabit seyrederken, 24 saatten sonra 120 saate kadar granülositlerde azalma, monosit ve lenfositlerde bir artışın olduğu izlenmiştir. Ancak, elde edilen diferansiyel lökositlerin sayısal değerleri, eş zamanlı total lökosit sayıları ile birlikte değerlendirildiğinde, beklenenin aksine serilerde zamanla sayısal olarak bir artışın olduğu gözlenmektedir(Tablo 2).

Diferansiyel lökosit sayılarının ilk 24 saatte kan sayım aracı ile değerlendirilebileceği, bu saatten sonra hazırlanan eş zamanlı periferik yayma preparatlarının ışık mikroskopunda incelenmesi ile değerlendirilmesi daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bu nedenle olgu grubunda periferik yayma preparatlarında birim alandaki granülosit, monosit ve lenfosit sayıları değerlendirildiğinde;

-granülositler; yaklaşık 18-24 saatlik bir göreceli dönemin ardından bir azalmanın olduğu ve olguların çoğunda tanımlanabilen granülositlerin en son olarak 96. saatte saptandığı (Grafik 5),

-lenfositler; ilk 66-72 saatlik bir dönemde lenfositlerde bir azalma izlenmekle birlikte bu saatten sonra azalmanın daha belirgin olduğu ve 120. saatten sonra hala tanımlanabilen lenfositlerin varolduğu(Grafik 6),

-monositler; ilk 18 saatte sabit bir dönemin ardından bir azalmanın olduğu ve 48. saate kadar sabit bir dönemin ardından tekrar düştüğü ve en son olarak 72. saate tanımlanabilen monositlerin saptanabildiği belirlenmiştir(Grafik 7).

Babapulle ve ark, olguların morfolojik değişimlerini incelemiş ve morfolojik değişimlerin kontrol grubu örneklerine çok benzediğini, 84. saatten sonra hücrelerin belirlenemediğini belirtmektedirler(5). Çalışmamızda olgu grubu ve kontrol grubunda yapılan morfolojik değişimlerin incelenmesinde, her iki grubun morfolojik değişimlerinin birbirine benzediğini ancak tanımlanabilir hücrelerin 84. saatten çok daha geç süreçte, hatta 120. saate kadar tanımlanabilen lenfositlerin varlığı izlenmiştir. Bununla birlikte kadavra kanında, kontrol grubuna göre dejeneratif hücrel değişimlerin daha erken ve hızlı olduğu saptandı(Tablo 2).

Yapılan değerlendirmelerde; kadavra kanında saptanabilen total lökosit sayısının 84 saat sonunda 0'a indiği, ilk eozinofil ve monositlerin kaybolduğu(60 saat), bunu nötrofillerin izlediği(66 saat) ve en sonunda lenfositlerin kaybolduğu(84 saat), dolayısıyla lökositlerdeki hücrel değişikliklerin ölüm zamanı tayininde PM 36-84 saatlik dönemde PMİ belirlenmesinde kullanılabilceğini belirtmektedirler(5).

Greendyke ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, diferansiyel lökosit sayımı manuel teknik ve kan sayım aracı kullanımı ile 100 ve 500 hücre sayılarak karşılaştırılmış ve yöntemler arasında anlamlı bir korelasyonun olduğu($p<0,001$) saptanmıştır(23). Ancak, bulgularımız ilk 24 saatten sonra otolitik sürecin hızlanması ile hücrelerde morfolojik değişimlerin başlaması, diferansiyel lökosit sayıları belirlenirken kan sayım aracının hücreleri hatalı değerlendirmesine yol açacağını düşündürmektedir. Dolayısıyla ilk 24 saatten sonra PMİ belirlenmesinde total ve diferansiyel lökosit sayıları değerlendirilirken hazırlanan periferik yayma preparatlarının ışık mikroskopunda değerlendirilmesi daha güvenilir ve doğru sonuçların elde edilmesini sağlayacak bir yaklaşım olacaktır.

SONUÇ

PMİ'nin belirlenmesine yönelik olarak elde edilen bulgular değerlendirildiğinde;

1) Koleksiyondan sonra ilk 24 saatte total lökosit sayılarında hafif bir düşüş, 60. saate kadar belirgin bir azalma, 120. saate kadar ise sabit bir seyir gösterdiği belirlenmiştir.

2) Hücrelerdeki otolize bağlı dejenerasyonun ilerlemesi, kan sayım aracı ile yapılan değerlendirmelerde yanlıya yol açtığından, koleksiyon sonrası 24. saatten itibaren, kan sayım aracı yerine eş zamanlı hazırlanan periferik yayma preparatlarının ışık mikroskobu ile değerlendirilmesi daha doğru sonuçlar vermektedir.

3) Işık mikroskobu ile yapılan değerlendirmede granülosit, monosit ve lenfositlerdeki sayısal azalmanın gösterilebilmesi için birim alandaki sayısal değişimi izlemek daha doğru bir sonuç vermektedir. Bu yöntemle yapılan değerlendirmede, granülositlerin 18-24 saat sabit kaldığı ve giderek azaldığı, 96. saate kadar hala tanımlanabilen granülositlerin olduğu; monositlerin ilk 24-36 saat sabit kaldığı ve giderek azaldığı, son olarak 72. saate hala tanımlanabilen monositlerin izlendiği; lenfositler ise 60. saate kadar sabit kaldığı ve sonra giderek azaldığı ve en son olarak 120. saate hala tanımlanabilen lenfositlerin olduğu belirlenmiştir.

4) Lökositlerdeki morfolojik dejeneratif değişimler değerlendirildiğinde; piknotik değişimlerin nötrofil, eozinofil ve monositlerde 6. saat, lenfositlerde ise 24. saatten sonra başladığı; nükleer fragmentasyonun nötrofillerde ve eozinofillerde 18. saat, monositlerde 24. saat, lenfositlerde ise 72. saatten itibaren izlendiği; nötrofillerin 96. saat, eozinofil ve monositlerin 72. saatten sonra tanımlanamadığı, 120. saatten sonra ise hala tanımlanabilen lenfositlerin olduğu belirlenmiştir.

5) Dejeneratif değişimler gözönüne alındığında PM süreçte hücelerde dejeneratif değişimlerin başlama zamanından yola çıkarak, kullanılacak KHDC ile farklı zaman birimlerinde dar bir aralıkta PMİ'nin yaklaşık belirlenmesi mümkün olabilmektedir.

Bu nedenle PM döneme bağlı olarak lökositlerde görülen morfolojik dejeneratif değişikliklerin değerlendirilmesi, PMİ tahmininde önemli bir yere sahiptir.

PMİ belirlenmesinde, lökositlerdeki total ve diferansiyel sayılar ile dejeneratif morfolojik değişimlerin birlikte değerlendirilmesi özellikle 0-120 saatlik dönemde oldukça yararlı sonuçlar vermektedir. PMİ belirlenmesine yönelik diğer yöntemler ile kombine edilmesi bu yöntemin güvenilirliğini artıracaktır.

ÖZET

Ölümlle sonuçlanan adli olaylarda ölüm zamanının belirlenmesi adli tıp ve hukuk sisteminin önemli sorunlarından biridir. Postmortem interval(PMİ)'i kesin olarak belirleyecek bir yöntem henüz geliştirilememiş olmakla birlikte fiziksel, biyokimyasal ve biyolojik değişimlerden yola çıkarak pekçok araştırma yapılmış ve kullanılabilirlikleri irdelenmiştir.

Bu çalışmada postmortem(PM) lökositlerdeki total, diferansiyel sayı ve morfolojik dejeneratif değişimler ile ölüm zamanı arasındaki ilişki incelenerek, PMİ'in belirlenmesindeki kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla sistemik hastalığı olmayan 40 canlı ve ölüm zamanı bilinen 10 oğudan kan alınarak 0-120 saatlik dönemde belirli aralıklarla lökositlerdeki total ve diferansiyel sayıları ile morfolojik dejeneratif değişimler incelenmiştir.

Piknotik değişimlerin nötrofil, eozinofil ve monositlerde 6. saat, lenfositlerde ise 24. saatten sonra başladığı; nükleer fragmantasyonun nötrofillerde ve eozinofillerde 18.saat, monositlerde 24.saat, lenfositlerde ise 72. saatten itibaren izlendiği; nötrofillerin 96. saat, eozinofil ve monositlerin 72. saatten sonra tanımlanamadığı, 120. saatten sonra ise hala tanımlanabilen lenfositlerin olduğu belirlenmiştir.

PMİ belirlenmesinde, lökositlerdeki total ve diferansiyel sayılar ile dejeneratif morfolojik değişimlerin birlikte değerlendirilmesi özellikle 0-120 saatlik dönemde oldukça yararlı sonuçlar vermektedir. PMİ belirlenmesine yönelik diğer yöntemler ile kombine edilmesi bu yöntemin güvenilirliğini artıracaktır.

KAYNAKLAR

1. Al-Alousi L, Anderson R.A., Land D.V.: A non-invasive method for postmortem temperature measurements using a microwave probe. *Forensic Sci Int* 64:35-46 (1994).
2. Alpdođan T.B.: Temel İç Hastalıkları. Ed İliin G. Güneş Kitabevi s.1252-1260 (1996).
3. Alper B., Azmak D., ekin N., Gülmen M.K., Koç S., Salaçin S.: Adli otopsi ve adli patoloji, Birinci Basamak İçin Adli Tıp El Kitabı. TTB Yayınları, Polat Matbaası, Ankara s.36-48 (1999).
4. Ayka M.: Adli Tıp. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul s.28-59. (1993).
5. Babapulle C.J., Jayasundera N.P.K.: Cellular Changes and Time Since Death. *Med Sci Law* 33(3):213-222 (1993).
6. Balasooriya B.A.W., St-Hill C.A., Williams A.R.: The Biochemistry of Vitreos Humour. A Comparative Study of The Potassium, Sodium and Urate Concentrations in The Eyes at Identical Time Intervals After Death. *Forensic Sci Int* 26:85-91 (1984).
7. Bar W., Kratzer A., Machler M., Schmid W.: Postmortem Stability of DNA. *Forensic Sci Int* 39:59-70 (1988).
8. Bray M.: The effect of chilling, freezing and rewarming on the postmortem chemistry of vitreous humor. *J Forensic Sci* 29(2):404-411 (1984).
9. Cina S.J.: Flow cytometric evaluation of DNA degradation: a predictor of postmortem interval? *Am J Forensic Med Pathol* 15(4):300-302 (1994).
10. Coe J.I.: Postmortem chemistry update, emphasis on forensic application. *Am J Forensic Med Pathol* 14(2):91-117 (1993).
11. Coe J.I.: Vitreous potassium as a measure of the postmortem interval: An historical review and critical evaluation. *Forensic Sci Int* 42:201-213 (1989).
12. Coe J.I., Apple F.S.: Variations in vitreous humour chemical values as a result of instrumentation. *J Forensic Sci* 30(3):828-835 (1985).
13. akalır C.: Post-mortem interval. 1. Adli Bilimler Kongresi, 12-15 Nisan Adana . Kongre Kitabı s.36-42 (1994).
14. Damjanov I., Linder J. Forensic pathology in: Anderson's Pathology. 10th ed Mosby-Year Book Inc, Saint Louis pp. 80-82 (1996).
15. De Letter E.A., Piette M.H.A.: Can routinely combined analysis of glucose and lactate in vitreous humour be useful in current forensic practice? *Am J Forensic Med Pathol* 19(4):335-342 (1998).

16. Demiroğlu U., Esen A.N., Kolusayın Ö., Őenocak M.Ő., Albek E.: GzyaŐı PH llmesi ile lm zamanı tayini. Adli Tıp dergisi 8:103-108 (1992).
17. Dominick J., Vincent J.M.: Forensic Pathology. CRC Press, Florida pp. 21-42 (1993).
18. Endo T., Hara S., Kuriwa F., Kano S.: Postmortem changes in levels of monoamine metabolites in human cerebrospinal fluid. Forensic Sci Int 44:61-68 (1990).
19. Ganong W.F.: Review of Medical Physiology. 6th ed Prentice-Hall International Inc, San Francisco pp.469-473 (1993).
20. Gardiner E.E., Newberry R.C., Keng J.: Postmortem time and storage temperature affect the concentrations of hypoxanthine, other prines, pyrimidines, and ncleosides in avian and porcine vitreous humour. Pediatr Res 26(6):639-642 (1989).
21. Gordon I., Shapiro H.A., Berson S.D.: Forensic Medicine A Guide to Principles. Third ed, Churchill Livingstone Edinburgh pp1-62 (1988).
22. Gk Ő.: Adli Tıp. 6.bası, Filiz kitabevi, İstanbul s.8-11 (1991).
23. Greendyke R.M., Kanter D.R., DeBoover L., Savage L., Van Gelder S.: A comparison of differential white blood cell counts using manual technic and the coulter S-Plus IV. Am J Clin Pathol 84(3):348-350 (1985).
24. Gresham G.A., Turner A.F.: Post-mortem Procedures(An Illustrated Textbook). Wolfe Medical Publications Ltd, London pp.121-144 (1979).
25. Guyton A.C.: Textbook of Medical Physiology. 7th ed W.B. Saunders Company pp.73-78 (1986).
26. Henssge C., Knight B., Krompecher T., Madea B., Nokes L.: The Estimation of the Death in the Early Postmortem Period. Edward Arnold , London pp.168-239 (1995).
27. Henssge C., Madea B., Gallenkemper E.: Death time estimation in case work. II.integration of different methods. Forensic Sci Int 39:77-87 (1988).
28. Hutchins G.M.: Body temperature is elevated in the early postmortem period. Hum Pathol 16:560-561 (1985).
29. Janssen W.: Postmortem changes(histothanatology) in Janssen W. ed Forensic Histopathology. Berlin Springer-Verlag pp13-53 (1984).
30. Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O.: Temel Histoloji 7.baskı. ev. ed. Aytekin Y. BariŐ Kitabevi İstanbul s.271-295 (1993).
31. Kashyap V.K., Pillay V.V.: Entomology and postmortem interval. Adli Tıp Dergisi 6:173-179 (1990).

32. Knight B.: Simpson's Forensic Medicine. 10th ed, Edward Arnold, London pp.33-51 (1991).
33. Knight B.: The evolution of methods for estimating the time of death from body temperature. *Forensic Sci Int* 36:47-55 (1988).
34. Knight B.: Forensic Pathology. 2th ed, Oxford University Press, Inc., New York pp.55-94 (1996).
35. Kominato Y., Harada S., Yamazaki K., Misawa S.: Estimation of postmortem interval based on the third component of complement(C₃) cleavage. *J Forensic Sci* 33(2):404-409 (1988).
36. Kominato Y., Kumada K., Yamazaki K., Misawa S.: Estimation postmortem interval using kinetic analysis of the third component of complement(C₃) cleavage. *J Forensic Sci* 34(1):207-217 (1989).
37. Kulshrestha P., Chandra H.: Time since death, an entomological study on corpses. *Am J Forensic Med Pathol* 8(3):233-238 (1987).
38. Lange N., Swearer S., Sturner W.Q.: Human postmortem interval estimation from vitreous potassium; an analysis of original data from six different studies. *Forensic Sci Int* 66:159-174 (1994).
39. Lucas J.J.G., Romero J.L., Ramos H.M., Arufe M.I, Vizcaya M.A.: Precision of estimating time of death by vitreous potassium-comparison of various equations. *Forensic Sci Int* 56:137-145 (1992).
40. Madea B.: Letter to the editor. Comments on "Nerve conduction as a means of estimating early postmortem interval" by K.J. Straton, A.Busuttil and M.A.Glasby. *Int J Leg Med* 105:301-302 (1993).
41. Madea B., Henssge C.: Electrical excitability of skeletal muscle postmortem in casework. *Forensic Sci Int* 47:207-227 (1990).
42. Madea B., Herrmann N., Henbge C.: Precision of estimating the time since death by vitreous potassium-comparison of two different equations. *Forensic Sci Int* 46:277-284 (1990).
43. Madea B., Kaferstein H., Hermann N., Sticht G.: Hypoxanthine in vitreous humor and cerebrospinal fluid a marker of postmortem interval and prolonged(vital) hypoxia? Remarks also on hypoxanthine in SIDS. *Forensic Sci Int* 65:19-31 (1994).
44. McDowall K.L., Lenihan D.V., Busuttil A., Glasby M.A.: The use of absolute refractory period in the estimation of early postmortem interval. *Forensic Sci Int* 91:163-170 (1998).

45. Morgan C., Nokes L.D.M., Williams J.H., Knight B.H.: Estimation of the postmortem period by multiplsite temperature measurements and the use of a new algorithm. *Forensic Sci Int* 39:89-95 (1988).
46. Moritz A.R., Morris R.C.: *Handbook of Legal Medicine*. Third ed, The C.V. Mosby Company pp.14-17 (1970).
47. Nokes L.D.M., Flint T., Williams J.H., Knight B.H.: The application of eight reported temperature-based algorithms to calculate the postmortem interval *54:109-125* (1992).
48. Nunzio R., Nunno D., Costantinides F., Bernasconi P., Bottin C., Melato M.: Is flow cytometric evaluation of DNA degradation a reliable method to investigate the early postmortem period? *Am J Forensic Med Pathol* 19(1):50-53 (1998).
49. Nuorteva P.: *Forensic Medicine*(Tedeschi C.G., Eckert L.G., Tedeschi L.G.). 8th ed, W.B.Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto pp.1072-1095 (1977).
50. Özen C.:*Adli Tıp: Dünyada ve Türkiye’de 1850 yılından sonra Tıp Dallarındaki İlerlemenin Tarihi*. Ed. Unat E.K. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları s.14-15 (1988).
51. Özen C.: *Kısa Adli Tıp Ders Kitabı*. İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları, Sermet Matbaası, İstanbul s.29-44 (1976).
52. Piette M.: The effect of the post-mortem interval on the level of creatine in vitreous humour. *Med Sci Law* 29 (1):47-54 (1989).
53. Querido D.: Double logarithmic, linear relationship between plasma sodium/potassium concentration ratio and postmortem interval during the 6-96h postmortem period in rats. *Forensic Sci Int* 44:125-134 (1990).
54. Querido D.: Invitro loss of potassium from erythrocytes during the 0-108h postmortem period in rats: relationship between potassium loss and postmortem interval. *Forensic Sci Int* 51:111-123 (1991).
55. Querido D.: Linear rate of change in the product of erythrocyte water content and potassium concentration during the 0-120h postmortem period in the rat. *Forensic Sci Int* 38:101-112 (1988).
56. Querido D.: Linearization of the relationship between postmortem plasma chloride concentration and postmortem interval in rats. *Forensic Sci Int* 45:117-128 (1990).
57. Querido D.: Postmortem changes in electrical resistance of the gastric wall during the early postmortem period in rats. *Forensic Sci Int* 53:81-92 (1992).
58. Querido D.: Postmortem changes in resistivity of the anterior abdominal wall during the early postmortem period in rats. *Forensic Sci Int* 60:163-177 (1993).

59. Rognum T.O., Hauge S., Qyasaeter S., Saugstad Q.D.: A new biochemical method for estimation of postmortem time. *Forensic Sci Int* 51:139-146 (1991).
60. Ross A.J., Paul A.H., Brett G.S.: Determination of postmortem interval by sampling vitreous humour. *Am J Forensic Med Pathol* 18(2):158-162 (1997).
61. Salaçin S.: Adli Tıp Ders Notu. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Adana s.20-32 (1996).
62. Savran B., Koç S., Çetin G., Kolusayın Ö.: Adli entomoloji. *Adli Tıp Dergisi* 10:143-152 (1994).
63. Schnabel A., Neis P., Bratzke H.: Cycles of the uterus mucous membranes and estimation of time of death. *Int J Legal Med* 110:31-32 (1997).
64. Schoenly K., Griest K., Rhine S.: An experimental field protocol for investigating the postmortem interval using multidisciplinary indicators. *J Forensic Sci* 36 (5):1395-1415 (1991).
65. Sparks D.L., Oeltgen P.R., Kryscio R.J., Hunsaker J.C.: Comparison of chemical methods for determining postmortem interval. *J Forensic Sci* 34(1):197-206 (1989).
66. Stephens R.J., Richards R.G.: Vitreous humor chemistry: the use of potassium concentration for the prediction of the postmortem interval. *J Forensic Sci* 32(2):503-509 (1987).
67. Stratton K.J., Busuttill A., Glasby M.A.: Nerve conduction as a means of estimating early postmortem interval. *Int J Legal Med* 105:69-74 (1992).
68. Vander A.J., Sherman J.H., Luciano D.S.: *Human Physiology The Mechanisms of Body Function*. 6th ed McGraw-Hill, Inc. North America pp400-403 (1994). (Vander)
69. Wyngaarden J.B., Smith L.G., Bennett J.C.: *Cecil Textbook of Medicine*. 19th ed, W.B. Saunders Com., Philadelphia pp817-822 (1992).
70. Yamamoto K., Yamamoto Y., Matsumoto H., Hayase T., Ojima K., Matsubayashi K., Añiru H.: 2. Unusual post-mortem autolytic change in the liver: wavy transformation of hepatocytes. *Med Sci Law* 37(3):256-259 (1997).
71. Yiğitsubay U., Altuğ M.: Gözyaşı pH'ı, kan pH'ı ve biyokimyasal tetkiklerin ölçülmesi ile ölüm zamanı tayini. 7. Ulusal Adli Tıp Günleri, Antalya, 241-244 (1993).
72. Yu Q.C., Mergner W.J., Vigorito R.D., Resau J.H.: Postmortem viability and early changes in organ culture of human and rabbit aortic endothelial cells. *Pathobiology* 58:138-145 (1990).