



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**KEMİK DOKUDAN ÖLÜM ZAMANI TAHMİNİNDE LUMİNOL VE
ULTRAVİYOLE FLORESANS YÖNTEMİ KULLANIMI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İlayda ŞAM

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Nadir ARICAN

YARDIMCI TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Özge ÜNLÜTÜRK

İSTANBUL

2024



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**KEMİK DOKUDAN ÖLÜM ZAMANI TAHMİNİNDE LUMİNOL VE
ULTRAVİYOLE FLORESANS YÖNTEMİ KULLANIMI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İlayda ŞAM

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Nadir ARICAN

YARDIMCI TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Özge ÜNLÜTÜRK

İSTANBUL

2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana yol gösteren, bilgi birikimiyle beni zenginleştiren ve her daim destek olan danışman hocam, Ana Bilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Nadir ARICAN'a; tezimin her aşamasında büyük emekleri geçen, kıymetli fikirleriyle beni yönlendiren ve manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen yardımcı tez danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Özge ÜNLÜTÜRK'e,

Tez araştırmamın gerçekleştirilmesine imkân tanıyan Adli Tıp Kurumu Başkanlığı'na, Morg İhtisas Dairesi, Kemik ve Diş İnceleme Şubesi'ndeki uzman, asistan ve teknisyenlere, başta Aybars TÜRKER olmak üzere Biyoloji İhtisas Dairesi'ndeki tüm ekibe, tezimin deneyini yapabilmem için bana destek sağlayan Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden Prof. Dr. Seyhan ALTUN ve Moleküler Biyolog Tamer GÜMÜŞ'e, örneklerimin fotoğraflandırılmasında yardımcı olan Attila DUR'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca beni aydınlatan, bilgileriyle bana yol gösteren kıymetli hocalarım Prof. Dr. İmdat ELMAS, Prof. Dr. Nevzat ALKAN, Prof. Dr. Sadık TOPRAK ve Prof. Dr. Ayşen Ufuk SEZGİN'e; asistanlığım süresince birlikte çalışma şansına sahip olduğum, tecrübelerini hiçbir şekilde benden eksik etmeyen Uzm. Dr. Cüneyt Destan CENGER, Öğr. Gör. Dr. Mehmet Ali MALKOÇ ve Uzm. Dr. Birgül TÜZÜN'e,

Onları tanıdığım için kendimi çok şanslı hissettiğim arkadaşlarım Dr. Z. Asucan ŞENBAŞ, Dr. İrem KILIÇ HYSENİ, Dr. Aybike AVGÖREN KAPOĞLU, Dr. Emel TEZCAN, Dr. Elif Hilal FERTELLİOĞLU, Dr. Yusuf KALEM, Dr. Oğuz Can ERTAŞ, Dr. Melis Begüm KAPTANOĞLU ARI, Dr. Murat Bahadır EYİĞÜN, Dr. Kübra DURMUŞ, Dr. Halime GEÇGİL AHAT, Dr. Adil Han DOĞAN ve Dr. Melek ATALAY'a, kürsümüzün vazgeçilmezleri Uzm. Hem. Dilber ERDOĞDU DEMİRAL, Doç. Dr. Nurcan ORHAN, Gülay ÇİL, Emine ÖZKURT ve İnci TAN'a,

Bu süreçte beni her zaman destekleyen, koşulsuz sevgisiyle bana güç veren annem ve kardeşime,

Her anımda yanımda olan, bana inanan, her adımda desteğini hissettiğim sevgili eşime,

Hayatımın en güzel hediyesi canım kızım Ayşe'me,

Teşekkür ederim

Dr. İlayda ŞAM
Ağustos 2024

İÇİNDEKİLER TABLOSU

TEŞEKKÜR	I
KISALTMALAR/SEMBOLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
ÖZET	1
ABSTRACT	2
I. GİRİŞ ve AMAÇ	3
II. GENEL BİLGİLER.....	6
A. Ölüm ve Ölüm Kavramı;.....	6
B. Postmortem İnterval;	6
C. Erken Dönemde Postmortem İnterval Tahmini;.....	7
1. Ölü Lekeleri (Livor Mortis);	7
2. Ölü Katılığı (Rigor Mortis);	8
3. Ölü Soğuması (Algor Mortis);	8
4. Supra-vital Reaksiyonlar;	9
5. Biyokimyasal Parametreler;	10
D. Geç Dönemde Postmortem İnterval Tahmini;	10
E. Dekompozisyon;.....	10
1. Taze Evre;.....	11
2. Otoliz;.....	11
3. Pütrefaksiyon;.....	11
4. Şişme Evresi;.....	12
5. Aktif Çürüme Evresi;	12
6. İleri Çürüme Evresi;	12
7. İskeletleşme;.....	13
F. Kemik Dokudan Ölüm Zamanı Tahmini;.....	13
1. Kemik Doku Özellikleri;.....	13
2. Kemik Spesifik Yöntemler;.....	15
3. Analitik Yöntemler	16
a. Kemik Sitrat İçeriği;.....	16
b. Kemik Nitrojen İçeriği;	16
c. Kemik Aminoasit İçeriği	16
d. Kemik Kollajen İçeriği.....	17
e. Kemik Lipid İçeriği;.....	17
f. Benzidin Reaksiyonu.....	17
4. Radyokarbon (C-14) Analizi	17

5. Radyoizotop Analizleri.....	18
G. Kemik Dokudan Ölüm Zamanı Tahmininde Luminol Kullanımı;.....	18
H. Kemik Dokudan Ölüm Zamanı Tahmininde Ultraviyole Floresans Yöntemi;	22
III. GEREÇ ve YÖNTEM	25
A. Örnek Toplanması	25
B. Ultraviyole Floresans Yöntemi	27
1. Kemiklerin Fotoğraflanması	27
2. Mavi Floresans Alanın Değerlendirilmesi;	28
C. Luminol Yöntemi	31
1. Luminol Solüsyonunun Hazırlanması.....	31
2. Kemik Tozlarının Hazırlanması	31
3. Luminometre	33
4. Kemilüminesans Ölçümü	33
D. İstatistiksel Analiz	33
IV. BULGULAR	34
A. Luminometre Ölçümü Sonuçları.....	35
B. UV Floresans Yöntemi Sonuçları.....	37
V. TARTIŞMA	42
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR.....	52

KISALTMALAR/SEMBOLLER LİSTESİ

UV: Ultraviyole

PMI: Postmortem İnterval

RK-S: Renk Kodu-Sterzik

RK-Ç: Renk Kodu-Çalışma



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada değerlendirilen olguların PMI göre sınıflandırılması

Tablo 2. Çalışmada değerlendirilen olguların tafonomik koşullarına göre sınıflandırılması

Tablo 3. Luminometrik değerlerin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Tablo 4. Luminometrik değerlerin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Tablo 5. UV Floresans (Renk Kodu-Sterzik) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Tablo 6. UV Floresans (Renk Kodu-Sterzik) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Tablo 7. UV Floresans (Renk Kodu-Çalışma) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Tablo 8. UV Floresans (Renk Kodu-Çalışma) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Kemik yapısı

Şekil 2. Ölümden sonra geçen yıllara göre kemiklerdeki değişiklikler

Şekil 3. Kemiklerden kesit elde etmek için kullanılan elektrikli testere

Şekil 4. Kemikten DNA tespiti için pencere açılması

Şekil 5. Adalet Bakanlığı, İstanbul Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesi, Kemik ve Diş İnceleme Şubesi'ndeki kemik pencereleri

Şekil 6. *Soldan sağa*; Aynı kemiğe ait doğal, otomatik modda ve gün ışığı modunda çekilmiş fotoğrafları (Otomatik ve gün ışığı modunda yapılan çekimlerde 365 nm UV ışık yansıtılmıştır)

Şekil 7. Adobe Photoshop 2024 programı ile kemik analizi basamakları

Şekil 8. Kemik tozları elde etmek kullanılan Dremel 3000 cihazı

Şekil 9. ThermoFisher Scientific Fluoroskan FL Microplate Fluorometre ve Luminometre ve 96'lı microplate (Kültür Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'ndan destek alınmıştır.)

Şekil 10. Sırasıyla ölüm zamanı 2023 ve 2015 yılı olan iki olguya ait kemilüminesans ışımaları

Şekil 11. Luminometrik değerlere ait korelasyon eğrisi

Şekil 12. UV Floresans (Renk Kodu-Sterzik) değerlere ait korelasyon eğrisi

Şekil 13. UV Floresans (Renk Kodu-Çalışma) değerlere ait korelasyon eğrisi

ÖZET

Kemik Dokudan Ölüm Zamanı Tahmininde Luminol ve Ultraviyole Floresans Yöntemi Kullanımı

Amaç: Kemiklerden ölüm zamanı tahmininde günümüzde adli tıp uygulamalarında morfolojik değerlendirmeler uygulanmaktadır. Elde edilen uzun postmortem interval aralıkları ve çevresel faktörlerin etkisi nedeniyle morfolojik değerlendirmeler her zaman doğru sonuçlar vermemektedir. Bu çalışmada iskelet kalıntılarından ölüm zamanı tahmininde luminol ve ultraviyole floresans analizlerinin uygulanabilirliği ve adli tıp rutininde kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Adli Tıp Kurumu, Morg İhtisas Dairesi, Kemik ve Diş İnceleme Şubesi ve Biyoloji İhtisas Dairesi'ne gönderilen ölüm zamanı belli olgulardan elde edilen kemik kesitleri ilk olarak ultraviyole ışık ile incelenmiştir. Daha sonrasında aynı olgulara ait kemiklerden, kemik tozları oluşturularak luminol solüsyonu ile Luminometre cihazı ile kemilüminesans ölçümü yapılmıştır.

Bulgular: Luminometre ile ölçülen kemilüminesans değerleri ile hiçbir PMI aralığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. UV floresans değerlendirmesinde, PMI 0-10 yıl arası olan olgular diğer PMI gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. PMI <30 yıl ve >30 yıl olan olguların karşılaştırılmasında, <30 yıl altı grupta UV floresans ile anlamlı ilişki bulunmuştur.

Sonuç: Kemiklerden luminol ile kemilüminesans elde edilebileceği ancak sıcaklık, nem, gömü koşulları gibi çevresel faktörlerin etkisinin çok yüksek olması nedeniyle sonuçların güvenilir olmadığı anlaşılmıştır. UV floresans metodunun kemik dokudan ölüm zamanı tahmininde kullanılabileceği ancak yanlış pozitif sonuçlar nedeniyle tek başına sonuç vermekte yetersiz olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ölüm zamanı, postmortem interval, luminol, ultraviyole ışık, floresans, kemilüminesans, luminometre.

ABSTRACT

Use of Luminol and Ultraviolet Fluorescence Methods for Estimation of Time of Death from Bone Tissue

Objective: Morphological evaluations are currently used in forensic applications to estimate time of death from bones. Morphological assessments are not always accurate due to the long postmortem intervals and the influence of environmental factors. The aim of this study was to evaluate the applicability of luminol and ultraviolet fluorescence analyses in the estimation of time of death from skeletal remains and their usability in forensic medicine routine.

Method: Bone sections obtained from the cases with known time-of-death sent to the Council of Forensic Medicine, Morgue Specialization Department, Bone and Dental Examination Branch and Biology Specialization Department were examined with ultraviolet light. Afterwards, bone powders were formed from the bones and chemiluminescence was measured with luminol solution using a luminometer.

Results: There was no statistically significant correlation between chemiluminescence values measured by luminometer and any PMI range. In the evaluation of UV fluorescence, cases with PMI between 0-10 years were found to be statistically significant compared to other PMI groups. In the comparison of cases with PMI <30 years and >30 years, a significant correlation with UV fluorescence was found within the <30 years group.

Conclusion: It is understood that chemiluminescence can be obtained from bones with luminol, but the results are not reliable due to the high influence of environmental factors such as temperature, humidity and burial conditions. It was found that UV fluorescence method can be used to estimate the time of death from bone tissue, but it is insufficient to give results alone due to false positive results.

Keywords: Time of death, postmortem interval, luminol, ultraviolet light, fluorescence, chemiluminescence, luminometer.

I. GİRİŞ ve AMAÇ

Postmortem aralığın (PMI) tahmini, adli soruşturmalarda olayın aydınlatılmasında önemli temel sorulardandır. Ölüm ile cesedin bulunması arasında geçen sürenin belirlenmesi, kayıp kişiler listesinden kimlik tespiti için olası adayların daraltılmasına ve kişilerin dışlanmasına olanak tanıyan bir zaman çizelgesi sağlamak açısından kritik bir değere sahiptir. Çeşitli biyolojik, fiziksel ve kimyasal yöntemler, erken postmortem dönemde ölüm için makul bir zaman çerçevesi sağlamaktadır. Ancak ceset ileri derecede çürümüş veya tamamen iskeletleşmiş olduğunda, çürüme ve ölüm sonrası değişim oranındaki muazzam değişkenlik bu tahmini zorlaştırmaktadır (1).

Erken postmortem dönemde postmortem interval değerlendirmesine ölü katılığı, ölü lekeleri ile ölü soğuması, kasların elektriksel stimülasyonu gibi yöntemlerin izole bir şekilde ya da çoklu metodolojik yaklaşımlar içinde kullanılması güvenilir olarak tanıtılmıştır (2). Ölümden sonra zaman ilerledikçe ortam şartlarının da etkisiyle dekompozisyon süreci başlamaktadır. Dekompozisyon otoliz ve çürümeden oluşan bir süreçtir. Otoliz, hücre içi enzimlerin yardımıyla hücre ve organların aseptik kimyasal yıkım süreçlerini ifade etmektedir. Çürüme çevre koşullarına göre değişmektedir. Ölümden sonraki 36-48.saatte batın sağ alt kadranda yeşil renkli renk değişimi ile başlamaktadır (3) Dekompozisyon süreci sıcaklık, nem, toprak tipi gibi çevresel faktörlerin dışında cesedin kapalı veya açık alanda bulunması, bulunduğu ortamdaki bitki örtüsü, leş yiyenlerin bulunup bulunmaması gibi faktörlerden etkilenmektedir (4). Mann ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada, dekompozisyonu etkileyen en önemli etkenler sırasıyla sıcaklık, böcekler ve gömülme/derinlik olarak tanımlanmıştır (5).

Cesetten yumuşak doku kaybı iskeletleşme olarak adlandırılmaktadır. İskeletleşme oranı yumuşak dokuda olduğu gibi cesedin gömülmüş olup olmaması, gömü derinliği, sıcaklık, nem ve böcekler ile daha büyük leş yiyicilerin erişimi gibi birçok faktöre bağlıdır (6). Açık alanda bulunan cesetlerde genellikle 1 yıl içinde iskeletleşme gözlenmektedir. 2 yıl sonra kemikler yumuşak dokulardan tamamen arınır. Yaz aylarında yumuşak doku kaybının önemli bir kısmı kurt istilası ve hayvanlardan kaynaklanmaktadır. Bazı koşullarda, cesedin birkaç hafta içinde tamamen iskeletleşebildiği görülmüştür. Gömülü halde bulunan ceset söz konusu olduğunda, iskeletleşme için gereken süre esasen toprağın bileşimine bağlıdır. Normal koşullar altında, genellikle su geçirgen, havalandırılmış bir toprakta 1 ila 2 m derinlikte, iskeletleşmenin

tamamlanması için yaklaşık 5-7 yıl gerekir, ancak daha uzun süreler de gözlemlenebilmektedir. Daha sıcak iklimlerde, iskeletleşme için gereken süre normalde daha kısadır. Bununla birlikte, son birkaç yılda yapılan kazıların sonuçları, 5-7 yıllık gömme sürelerinden sonra bile bazı cesetlerin ve giysilerin genellikle iyi korunmuş olduğunu göstermektedir; bazı koşullarda gastrointestinal sistem dahil tüm iç organların hala bozulmadığı tespit edilmiştir (7).

Günümüzde adli tıp uygulamalarında iskelet kalıntıları ile karşılaşıldığında ölüm zamanı tahmini yaparken kemiklerin makroskobik durumuna göre morfolojik bir değerlendirme yapılmaktadır. Kemiklerin yağlı dokuda bulunması ölümün daha yakın bir zamanda gerçekleştiğini gösterirken, daha kırılğan yapıda gözüken kemikler ölümün üzerinden uzun bir süre geçtiğini göstermektedir. Ancak bu değişimler kemik türüne göre değişiklik göstermektedir.

Makroskobik değişiklikler ve korunma derecesine ilişkin gözlemler faydalı bilgiler sağlayabilse de araştırmalar ve vaka çalışmaları, ölümden sonra geçen süreyi yalnızca morfolojiye dayanarak kesin olarak tahmin etmenin doğasında var olan zorluğu ortaya koymuştur. Birçok değişken doku korunmasını etkileyebilir ve genellikle adli vakalarda bu değişkenlerin en azından bir kısmı bilinmemektedir. Bazı iskeletleşmiş vakalarda, on yıllar hatta yüzyıllar öncesine ait kalıntıları, adli açıdan ilgi çekici olan nispeten yeni bireylere ait olanlardan ayırt etmek için morfolojik göstergeleri kullanmak mümkün olmamaktadır (8).

Yine de, tahminlerin çoğu morfolojik temellere dayanılarak yapılmaya devam etse de, insan iskelet materyalinde ölüm sonrası olan süreyi tahmin etmek amacıyla güvenilir, doğru, kolay uygulanabilir, tekrarlanabilir ve uygun maliyetli bir yöntem ihtiyacı duyulmaktadır.

Çalışmanın araştırma sorusu “Kemik dokular incelenerek yapılan postmortem interval değerlendirmesinde luminol ve ultraviyole floresans ile doğru sonuçlara ulaşmak mümkün mü?” şeklinde belirlenmiştir. Çalışmada Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesi, Kemik ve Diş İnceleme Şubesi ve Biyoloji İhtisas Dairesi’ne gönderilmiş kemiklerden artan kemikler luminol reaksiyonu ve ultraviyole floresans yöntemi ile değerlendirilmiştir. Kemiklerden elde edilen kemik tozlarına uygulanan luminol sonrasında yoğunluğu analiz edilmiştir. Ultraviyole floresans yönteminde ise kemik yüzeylerine UV ışık yansıtılarak ışınma kapsamı değerlendirilmiştir. Her iki yöntem ile ölüm zamanı arasındaki ilişki incelenmiştir.

Luminol ve Ultraviyole floresans yöntemi uzun yıllardır iskelet kalıntılarından ölüm zamanı tahmini için kullanılmak üzere çalışmalar yapılan ancak hala rutine girememiş iki yöntemdir. Luminol günümüzde olay yeri incelemelerinde kan ve kan ürünlerinin tespiti için kullanılan kimyasal bir maddedir. Luminol ile kemik dokudan ölüm zamanı tahmininde; kemik kesitlerinden elde edilen kemik tozlarına hazırlanan luminol solüsyonu ilave edilerek kemilüminesans ölçümü yapılması prensibine bağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda çeşitli yıllara ait farklı kemiklerden alınan örnekler değerlendirilmiştir. İncelemelerde luminolün postmortem interval tahmini açısından faydalı olduğu ve ancak ek çalışmalara gerek olduğu görülmüştür. Postmortem interval tahmininde ultraviyole ışığın kullanılması Knight tarafından 1969 yılında bahsedilmiştir. Kemik kesitlerine yansıtılan ultraviyole ışığın kemik yüzeyinde mavi beyaz ışıma yaptığı bu sonucun da ölümün kısa bir süre önce gerçekleştiğinin göstergesi olduğu düşünülmüştür (9). Bu yöntemin ölüm zamanı tahmininde faydalı olabileceği gösterilse de yapılan çalışmalar yetersiz kalmaktadır (10). Sterzik ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada ölüm zamanı bilinen kemikler ultraviyole ve kızılötesi ışık ile değerlendirilmiş olup kemiklerin optik davranışları hakkında bilgiler edinilmiştir. Sonuç olarak kemik floresansının ölüm zamanı açısından doğru sonuçlar vereceği öngörülmüştür (11).

Günlük adli tıp rutininde makroskobik özelliklere dayanarak yapılan iskeletten postmortem interval tahmini ile her koşulda güvenilir ve doğru sonuca ulaşmak mümkün olmamaktadır. Bu durum da analitik, tekrar edilebilen, uygun maliyetli ve kolay uygulanabilen yeni yöntemlere ihtiyaç doğurmuştur. Bu çalışmada, luminol ve ultraviyole floresans yöntemlerinin kemik dokudan ölüm zamanı tahmininde kullanımı, verdiği sonuçların güvenilirlikleri, birbirlerine olan üstünlükleri, birlikte ve birbirlerinden ayrı bir şekilde değerlendirilmesi hedeflenmektedir. Bu çalışmanın bir diğer amacı yöntemlerin adli tıp rutininde yer alıp alamayacağının tespit edilmesi aynı zamanda da morfolojik değerlendirmelere kıyasla ölüm zamanı tahmininde daha dar bir aralık sağlayıp sağlayamayacağının incelenmesidir. Bu tezde, farklı tafonomik koşullardaki iskeletlerden elde edilen farklı kemikler üzerinde Luminol reaksiyonu ve UV-floresans analizi yapılarak adli ve tarihi kemiklerin ayrımı ve kimliklendirmeye katkı sağlamak amacıyla kantitatif ve objektif bir teknik oluşturmak hedeflenmiştir.

II. GENEL BİLGİLER

A. Ölüm ve Ölüm Kavramı;

Ölüm kavramına ve tanımlanma biçimlerine ilişkin felsefi, dini ve kültürel farklılıklar, konuya ilişkin tartışmaları oldukça karmaşık hale getirmektedir. Tıp ve teknolojideki ilerlemeler, iflas eden organların desteklenmesini, onarılmasını veya değiştirilmesini mümkün kılarak, yaşam ve ölüme ilişkin yaygın olarak kabul edilen kavramlara meydan okumaktadır. Ölüm biyolojik ve fizyolojik işlevlerin sona erdiği, dolayısıyla canlı olma durumundan ölü olma durumuna geçildiği süreç olarak tanımlanabilmektedir (12). 19.yüzyıla kadar ölüm hakkında yeterli bilimsel bir tanım yapılmamıştır. Emanuelle Fodere “somatik ölüm” kavramını ortaya çıkarmıştır. Somatik ölüm, merkezi sinir sistemi, dolaşım ile solunum fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kaybı olarak tanımlanmaktadır. Bu temel fonksiyonlardan herhangi birinin kaybı, diğerlerinin de kısa bir süre sonra kaybına yol açabilmektedir. Somatik ölüm tanımı, yasal olarak kabul edilen ölüm tanımıdır. Bir kişinin hukuki varlığı canlı doğumuyla başlayıp somatik ölüm tanımıyla sona ermektedir. Somatik ölüm sonrasında beyin sapının işlevini yitirmesi sonucunda tüm organ ve dokuların yaşamsal işlevlerini kaybetmesi kaçınılmaz olacaktır. Bu süreç “hücrel ölüm” şeklinde tanımlanmaktadır (13).

Beyin ölümü tanımı, insan için hayati önem taşıyan bölge olan beyin sapındaki dolaşım ve solunum merkezinin işlevsiz hale geldiği ve organ ve doku nakline ihtiyaç duyan hastalara bu organ ve dokuların nakledilmesini mümkün kılmak amacıyla geliştirilmiştir (14).

B. Postmortem İnterval;

Postmortem interval ölüm anı ile cesedin incelenmesi arasında geçen süre olarak tanımlanabilmektedir. Bu süre adli incelemeler boyunca değerli bilgiler sağlayabilmektedir. PMI tahmini açısından entomolojik değişimler, cesedin soğuma süreci, doku veya vücut sıvılarındaki postmortem biyokimyasal belirteçler (PBM'ler) önem kazanmaktadır (15).

Günlük adli tıp uygulamalarında, özellikle erken dönemde postmortem interval tahmini, temel olarak vücudun soğuma durumuna (algor mortis), ölü lekelerine (livor mortis) ve postmortem kas sertliğine (rigor mortis) dayanmaktadır. Ölüm sonrası gözlenen bu fenomenler çevre sıcaklığı, vücut ağırlığı, giysilerin varlığı, nem veya su varlığı, ilaç ve/veya uyuşturucu kullanımı, altta yatan hastalıklar ve ölüm sonrası aralıkta çevresel özelliklerdeki değişiklikler gibi çok sayıda içsel ve dışsal değişkenden etkilenmektedir (16).

C. Erken Dönemde Postmortem İnterval Tahmini;

Ölüm kademeli olarak gerçekleşmektedir. Kalp atışı ve solunum durduğunda, vücut hücreleri oksijen yetersizliğinden ölmeye başlamaktadır. Beyin dokusundaki oksijen eksik kaldığında, refleksler gibi beyin aktivitesi de durma noktasına gelmektedir. Daha sonrasında dakikalar ile saatler arası değişiklik gösteren bir süreçte kas, doku ve organlardaki hücreler parçalanıp ölmektedir (17). Ölümden sonraki süreç ilerledikçe, cesette bir dizi erken değişiklik meydana gelmektedir. Bu değişiklikler, kaba ve tanınabilir çürüme değişiklikleri başlamadan önce cesedin fiziksel yapısında ve/veya görünümünde bazı farklılıklara yol açmaktadır. Bu gözle görülebilen farklılıklar da postmortem interval tahminlerinde yardımcı olmaktadır (18).

1. Ölü Lekeleri (Livor Mortis);

Postmortem interval belirlemede kullanılan bir gösterge olan ölüm sonrası değişikliklerden biri, livor mortis ya da postmortem hipostaz olarak da bilinen ölü lekeleridir. Ölümün ardından kan dolaşımı durduktan sonra yer çekimi etkisiyle vücudun alt kısımlarındaki küçük damarlara, yani kılcal damarlara kan yavaşça toplanmaya başlamaktadır. Eritrositlerin parçalanmasıyla kan önce kırmızı renk alıp, eritrositlerin deoksijenizasyonu sonrası koyu mor olmak üzere değişmektedir. Kan daha sonrasında damarlardan dokuya yayılarak mor renge boyamaktadır. Ölümden sonra vücudun yere yakın ve baskı görmeyen bölgelerinde, deri renginden farklı olarak koyu mor, bazen de açık kırmızı veya siyaha yakın renklerde geniş alanlar oluşmaktadır (19).

Ölü lekelerinin oluşum zamanı postmortem interval tahmininde kullanılabilmektedir. Ölü lekeleri ölümden en erken 20-30 dakika sonra pembe lekeler şeklinde görülebilmektedir (7). Ölümden sonraki 3-5 saat içerisinde küçük çizgiler şeklinde başlayıp sonrasında bu çizgiler birleşerek plak şeklini almaktadır. Öncelikle vücudun dar bir alanını sonra geniş bir alanını kaplamaktadır. Ölüm sonrası yaklaşık 8-12 saat içerisinde vücut yüzeyini kaplayarak fıkse hale gelmektedir (19). Eğer cesedin pozisyonu ölüm sonrası erken dönemde değiştirilirse kan akışı yer çekimi etkisiyle vücudun aşağıda kalan yeni bölgelerine hareket edecektir. Nispeten daha geç bir postmortem intervalde ise kan akışının bir kısmı yeni alana ilerleyecek olup eski alanda sadece hafif bir mor renkli alan görülecektir. Postmortem interval arttıkça, başparmak basıncı ile renk solması ya da pozisyon değişikliği sonrası kanın yer değiştirmesi gibi durumların gözlenmesi azalacaktır (7,20).

2. Ölü Katılığı (Rigor Mortis);

Ölü sertliği, rigor mortis olarak da bilinen ölü katılığı kasılma ve gevşemeyi kolaylaştırmak için kas içinde bir enerji kaynağı olarak kullanılan adenozin trifosfatın (ATP) tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Ölüm sonrasında ATP artık mevcut olmadığına, kaslardaki aktin ve miyozin filamentleri geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve kaslar sertleşmektedir (21). Ölü katılığı oluşumu da ölü lekeleri gibi kişiye ait çevresel faktörlere göre değişkenlik göstermektedir. Bu durum da ölüm zamanı tahminini zorlaştırmaktadır. Sıcak hava ve kişinin ateşli bir hastalık geçirmiş olması, ölü katılığının başlangıcını hızlandırarak sürecin daha kısa sürmesine yol açacaktır. Ölümden hemen önceki fiziksel aktivite de ölü katılığının daha hızlı başlamasına neden olacaktır. Daha hareketsiz yaşama sahip kişilerin ölümden sonraki ölü katılığı gerçekleşmesi gecikerek daha uzun bir süre devam edecektir (17).

Ölü katılığı ölümden yaklaşık 2-4 (en erken ½-1 saat içerisinde) saat sonra gelişmeye başlamaktadır. Küçük kaslardan başlayan sertleşme yavaşça tüm vücuda yayılmaktadır. En erken 6-8 saat ortalama 10 ile 15 saat içerisinde tamamen gelişerek maksimuma ulaşmaktadır. Ölümden yaklaşık 72 saat sonrasına kadar kademeli olarak dağılmaktadır (19,22). Ölümden sonra gözlenen kas yıkımının ölü katılığının çözülmesine neden olduğu düşünülmektedir (23).

Postmortem interval tahmininde tek başına ölü katılığı değerlendirmesi yapmak yanlış sonuçlara sebep olabilmektedir. Erken postmortem dönemde ölü katılığı tüm vücuda yayılmadan vücudun pozisyonu değiştirildiğinde sertleşme değiştirilen pozisyona göre oluşacaktır. Gelişen katılık kişinin ölüm esnasındaki pozisyonu hakkında yanlış bilgi verebilmektedir. Cesetle ilk karşılaşan kişiler tarafından yapılan muayene esnasında da ölü katılığı bozulabilmektedir. Kas gruplarındaki direnç kırıldığında tekrar sertleşme gerçekleşmeyeceği için yalnızca bu bilgilerle ölüm zamanı tahmininde bulunmak hatalı olmaktadır (19). Doğru değerlendirme yapabilmek adına elde edilen olgulara bütüncül yaklaşmak önem kazanmaktadır.

3. Ölü Soğuması (Algor Mortis);

Ölüm gerçekleştikten sonra kişinin vücut sıcaklığının ortamdaki sıcaklığa ulaşmak için azalmasına ölü soğuması ya da algor mortis denmektedir (19). Ölümle birlikte vücutta tüm fiziksel, kimyasal ve metabolik reaksiyonların kaybolması nedeniyle ısı üretimi durduğundan dolayı ölü soğuması gerçekleşmektedir. Ayrıca dolaşım yoluyla vücut içindeki ısı transferi de

ölümden sonra durmaktadır. Esas olarak kaslarda ve karaciğerde meydana gelen metabolik ısı üretimi aynı şekilde durmaz ve bazı ısı üretimi bir süre daha devam edecektir. Yine de ısı düzenleyici merkez aktif olmadığından, çevre sıcaklığı seviyesine gelene kadar vücut sıcaklığında sürekli bir kayıp olmaktadır (24).

Vücudun soğumasında rol oynayan ve bunun gerçekleşme hızını kolayca etkileyebilecek birçok faktör bulunmaktadır. Kişinin boyutu önemli olmaktadır. Boyutsal olarak daha küçük bireyler aynı koşullarda daha büyük bireylere göre daha hızlı soğuyacaktır. Güneş ışığına, ısıtıcıya maruz kalmak, kişinin kıyafetli olup olmaması, havanın sıcaklığı gibi değişkenler soğuma hızını etkileyebilmektedir (17,18). Ölü soğumasına göre ölüm zamanı değerlendirmesinde bu etkenleri hesaba katmak gereklidir.

Normal şartlar altında koltuk altından yapılan ölçümlerde vücut ısısı ortalama 36 ve 36,5° derece arasında değişmektedir. İç organ ölçümleri ise yaklaşık 0,5 derece daha yüksek olmaktadır. Her ne kadar bu durum birçok değişkenden etkilense de vücut sıcaklığının 24 saat içerisinde ortam sıcaklığına ulaştığı kabul edilmektedir (19). Ölü soğumasından faydalanan postmortem interval tespiti için Henssge Normogramı oluşturulmuştur (25). Bu normogram için derin rektal sıcaklığın ölçülmesi, çevresel sıcaklığın ölçülmesi ya da sıcaklık değişiminin tahmini, vücut kütle indeksinin tahmini, vücut kütle indeksi için düzeltici faktörler gibi çeşitli parametrelere ihtiyaç duyulmaktadır (7,26).

4. Supra-vital Reaksiyonlar;

Supra-vital reaksiyonlar da PMI tahmininde yardımcı bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Madea, postmortem aralığı dolaşımın durması sonrasında dokunun enerji depoları tükenene ve oksijen yetersiz hale gelene kadar aerobik solunum yapmaya devam ettiği latans dönemi, doku işlevinin kaybolduğu ancak sinirlerin elektrikle uyarılması gibi harici uyaranlar kullanılarak yeniden aktive edilebildiği hayatta kalma dönemi, dokunun iyileşme kabiliyetinin tamamen kaybolduğu resüsitasyon dönemi ve supra-vital dönem olmak üzere dört aşamaya ayırmıştır. Supra-vital dönem ise, tam ve geri dönüşü olmayan iskemi sonrasında dokunun hayatta kalma süresi olarak tanımlanmıştır. Bu dönem, resüsitasyon döneminden farklıdır çünkü doku, fonksiyonun iyileşmesine bakılmaksızın uyarılabilir durumdadır (27). Örneğin iskelet kasının resüsitasyon süresi hemen hemen 2 veya 3 saattir, bazı durumlarda supravital süre 20 saate kadar uzayabilmektedir. Benzer şekilde, kalp kaslarının resüsitasyon süresi 3,5 ila 4 dakika iken, supravital süre 2 saat kadar sürebilmektedir (28). Supra-vital reaksiyonların

çevresel faktörlerden etkilendiği bu nedenle PMI tahmininde tek başına güvenilir olmayacağı düşünülmektedir.

5. Biyokimyasal Parametreler;

Biyokimyasal değerlendirme ölümün hemen ardından hücresel ölüm henüz gerçekleşmediğinden anlamlı olmamaktadır. Ancak hücresel ölümün gerçekleşmesi de kanın değerlendirmesini zorlaştırmaktadır. Vitröz sıvı, perikardiyal sıvı, idrar, sinoviyal ve serebrospinal sıvıdan postmortem interval tahmininde biyokimyasal değerlendirmeler yararlı olmuştur. Bununla birlikte, PMI değerlendirmesi yaparken yaş, cinsiyet, biyolojik geçmiş, yaşam tarzı, ölüm nedeni gibi birçok intrinsik ve ekstrinsik faktör incelemeye katılmalıdır (28). Yapılan bir çalışmada değerlendirilen 388 belirteçten sadece birkaç tanesi (sodyum, potasyum, üre ile klorür, hipoksantin, magnezyum ile troponin T gibi) bu hususlar göz önünde bulundurularak yeterli araştırmaya sahip bulunmuştur. Altı tanesinin uygun şekilde araştırıldığı ancak pratik kullanımda uygun olmadığı anlaşılmıştır. Bu arada, 18'inin yetersiz araştırıldığı ve uygulama için uygun olmadığı ve 364 biyokimyasal markörde bilgi eksikliği olduğu tespit edilmiştir (15).

D. Geç Dönemde Postmortem İnterval Tahmini;

Geç postmortem dönem vücut dokularının parçalanmaya başladığı dönem olarak tanımlanmaktadır. Vücut öncelikle dekompozisyon sürecine girerek yeşilimsi renk değişikliği, gaz oluşumuna bağlı şişkinlik ve likefaksiyon nekrozu gibi çeşitli fiziksel değişimlere uğramaktadır. Dekompozisyon sürecini anlamak için öncelikle sıcaklık ve nem, mevsim, coğrafi bölge, arazi türü ve toprak tipi gibi faktörlerin yanı sıra cesedin güneşli veya gölgeli, açık veya kapalı bir yerde bulunma durumu, bitki örtüsü gibi etmenlerin de bilinmesi gerekmektedir (4).

E. Dekompozisyon;

Dekompozisyon süreci normalde taze evre, şişme evresi, aktif çürüme, ileri çürüme ve iskeletleşme aşaması olmak üzere 5 aşamadan oluşmaktadır. Ancak bazen şişme evresi ve aktif çürüme erken çürüme evresi olarak da değerlendirilmektedir (28,29). Dekompozisyon süreci otoliz ile pütrefaksiyon süreçlerinden oluşmaktadır (30).

1. Taze Evre;

Taze evre, otoliz ile ölüm anında başlarken özellikle soğuk havaların olduğu kış aylarında, ölümden sonra 7 güne kadar geç başladığı görülmektedir (28,29). Hücresel yıkım olan otoliz bu aşamada meydana gelerek daha önce bahsedilen değişikliklere yol açmaktadır (29).

2. Otoliz;

Dekompozisyon süreci ölümden hemen sonra otoliz yolu ile başlasa da makroskobik değişiklikler çok daha sonra pütrefaksiyon sırasında meydana gelmektedir (31). Otoliz, ölümden sonra hücrelerden hidrolitik enzimlerin dışarı çıkması nedeniyle oluşan bir süreçtir. Bu süreçte mikroskobik düzeyde değişiklikler oluşmaktadır (32). Otolitik değişiklikler en çok yüksek hücresel enzim konsantrasyonuna sahip pankreas gibi organlarda belirgindir. Buna karşılık, prostat ve fetüs içermeyen uterusun ayrışması daha uzun zaman almaktadır (31,33).

3. Pütrefaksiyon;

Hücresel içeriklerin dışarıya sızması, normalde insan mikrobiyotasında bulunan bakteriler, mantarlar ve protozoa gibi mikropların büyümesine böylece pütrefaksiyon süreci olarak bilinen çevre dokuları bozması için uygun bir ortama da yol açmaktadır (33). Çürüme bakteriyel bir süreç iken ağırlıklı olarak ortam sıcaklığı, altta yatan hastalıklar ve vücut kütle endeksi gibi faktörlerden etkilenir. Bu büyük kimyasal süreç, gazların (hidrojen sülfür, hidrokarbonlar) oluşumu ve amonyak salınımı sonrasında görsel (şişkinlik) ve kokusal (kötü amonyak kokuları) makroskobik özellikler eşlik etmektedir (7). Normalde ölümden birkaç saat içerisinde görülebilen çürüme aşamaları soğuk iklimlerde haftalar sonra görülmeyebilmektedir. Nispeten sabit ortam sıcaklıklarında bile çürümenin ilerleyişi önemli ölçüde değişebilmektedir (34,35).

Çürümenin en erken dış belirtisi, sağ iliak fossa bölgesindeki karın ön duvarı derisinin yeşilimsi renk almasıdır. Karnın bu bölgesinde, yarı katı bağırsak içeriği ve bağırsak bakterileri ile yüklü olan çekum oldukça yüzeysel olarak uzanmaktadır. Ölümden sonra dokuları istila eden bağırsak bakterileri tarafından kolaylaştırılan sülfhemoglobin oluşumu ile derideki bu yeşilimsi renk değişikliği oluşmaktadır. Sağ iliak fossa bölgesindeki bu deri renk değişikliği ölümden yaklaşık 18 saat sonra ortaya çıkmaktadır. Ilıman iklimlerde bu yeşillenme ilk olarak ölümden 2 ila 3 gün sonra ortaya çıkabilmektedir (31).

4. Şişme Evresi;

Bu aşamada organlar ile yumuşak dokuların da dâhil olduğu vücut parçaları, çürüme gazlarının veya çürüme sürecinden kaynaklanan diğer ayrıştırıcı ürünlerin birikmesi nedeniyle şişmektedir. Genellikle karında başlar ve daha sonra yavaş yavaş yüz, göğüsler ile cinsel organlar dâhil diğer kısımları etkilemektedir. Ayrıca kabarcık oluşumu gibi cilt değişiklikleri meydana gelmektedir (36,37). Kan damarlarının ciltte yeşilimsi siyah çizgiler oluşturduğu çürüme haritası-mermerleşme de bu evrede görülmektedir (38). Değişiklikler yavaş yavaş ciltte daha büyük renk değişimine dönüşebilir ve renk değişimi yeşil, kahverengi ve griden siyaha kadar farklı renklerde olabilmektedir (39). Şişkinlik, ölümden sonraki üç gün kadar erken bir dönemde görülebilir ve genellikle karın gazlarının bozulması nedeniyle ölümden sonraki ikinci haftaya kadar zamanla azalmaktadır. Vücut ikinci haftaya kadar siyahımsı yeşil renkte görünür; sonrasında deri kösele benzeri kahverengimsi siyah renkte görünmektedir. Bu aşama genellikle birinci ayın sonuna kadar izlenir ancak bazı şartlarda iki aya kadar uzayabilmektedir (28).

5. Aktif Çürüme Evresi;

Deri bütünlüğünün bozulması ile mikroorganizmalar, eklem bacaklılar ve leş yiyiciler için ekstra erişim noktaları açıldığından çürüme süreci daha hızlı hale gelmektedir. Vücut yüzeyinde parçalanmış bölgeler siyah renkte gözükürken, saç dökülmeleri bu evrede izlenmektedir (40). Yumuşak dokularda likefaksiyon nekrozu oluşabilirken, bazı çevresel durumlarda ekstremitelerde kuruma görülebilmektedir (29).

6. İleri Çürüme Evresi;

Geç çürüme evresi olarak da adlandırılan ileri çürüme evresi, kemiklerin açığa çıkmaya başladığı ve vücudun "çökmüş" bir görünüm aldığı bir aşamadır. Saç (zaten dökülmüş olsa da) ve kıkırdak gibi bozulmaya dirençli dokular bu aşamaya kadar korunmaktadır (31). Kurumuş derinin kaybı da dâhil olmak üzere yumuşak dokunun kaybı, iskelet materyalinin yarısından daha azının açığa çıkmasına neden olmaktadır. Bu aşama genellikle pupa vakalarının varlığının yanı sıra vücut ve giysiler üzerinde küflerin ortaya çıkmasıyla ilişkilidir; bu genellikle ikinci ayda meydana gelmektedir ancak ölümden altı ila dokuz ay sonra da ortaya çıktığı görülmüştür (28).

7. İskeletleşme;

İskeletleşme, yumuşak dokunun kemikten ayrıldığı aşamadır. Tüm yumuşak dokuların kaybolduğu sadece kemik dokunun bulunduğu vakalarda iskeletleşme tamamlanmış, kemiklerin bazı kısımlarının açığa çıktığı durumlar ise kısmi iskeletleşme olarak kabul edilebilmektedir. Sıcak bir ortamda gömülü bir ceset, ılıman bir ortamda açıkta kalan bir ceset ile aynı hızda iskeletleşebilmektedir. Hava sıcaklığı, nem, toprak türü gibi gömü derinliği de iskeletleşmenin ilerleme hızını belirleyen faktörlerdendir (41). Bu aşama ölümden iki ay sonra ortaya çıkmaktadır, ancak genellikle ölümden sonraki iki ila dokuz ay arasında görülmektedir. Çürümenin devam etmesi tüm kemiksi materyalin açığa çıkmasına yol açar, geride sadece bazı yağlı materyaller kalır ya da kuru kemikler açığa çıkar; bu genellikle altı aylık maruziyetten sonra görülmektedir, ancak üçüncü hafta olabilecek kadar erken zaman diliminde meydana geldiği de bildirilmiştir. Bu aşama, gömülü veya kapalı ortamlarda bulunan kalıntılarda yıllarca sürebilmektedir (28).

İskelet aşamasına ulaşıldığında, dekompozisyon süreci önemli ölçüde yavaşlayarak birkaç yıl veya on yıllar sürecektir bir süreçte ilerlemektedir. Kemikler kollajenin mikrobiyal saldırısı, aşınma, ağarma, dökülme, kortikal kemiğin çatlaması (ardından trabeküler kemiğin açığa çıkması), inorganik mineral içeriğinin kaybı ve bitki kökünün istilası süreçlerinden geçecektir (29,42). Bu aşamada kemiklerde oluşan değişikliklerden dolayı postmortem interval tahmini yapmak oldukça zor olmaktadır.

F. Kemik Dokudan Ölüm Zamanı Tahmini;

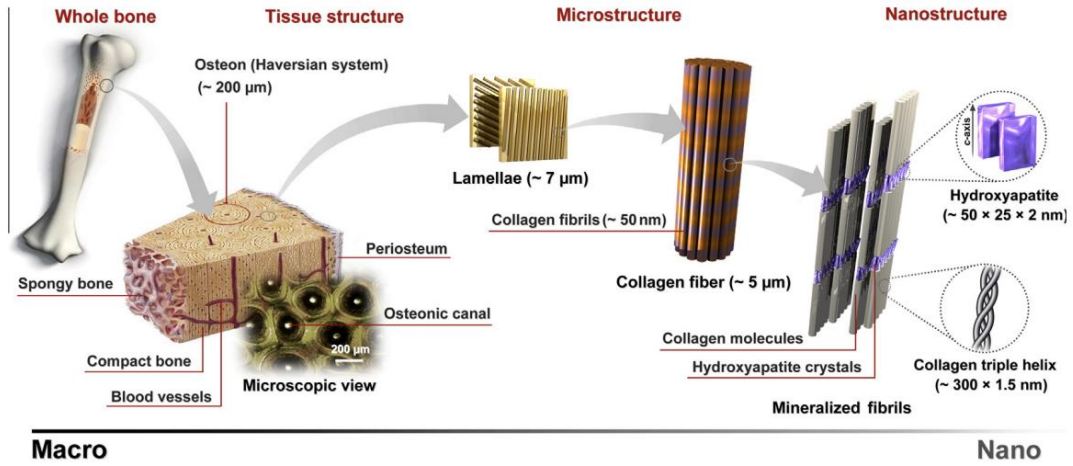
1. Kemik Doku Özellikleri;

İnsan iskeletine ait kemikler hidroksiapatit kristalleri (inorganik matriks) ve kollajen liflerden (organik matriks) oluşmaktadır. Organik matriks kemiklere bükülebilme ve esneklik özellikleri sağlarken inorganik matriks sertlik ve kırılmaya karşı dayanma gücü sağlamaktadır. Organik bileşenin %2'lik kısmını kemik hücreleri yani osteosit, osteoblast ve osteoklastlar oluşturmaktadır. Mezenkimal kök hücrelerinden gelişen osteoblastlar kemikteki matriks sentezinden ve kemik mineralizasyonu görevini üstlenmektedir. Sonrasında osteositlere dönüşmektedirler. Osteoklastlar ise kemik yıkımından sorumludurlar (43,44).

Kemik dokusu genellikle dış kısımda bulunan kompakt doku ve kemik iliğinden oluşmaktadır. Kemiklerin iç yüzeyi endosteum ile kaplı iken eklem bölgeleri hariç geri kalan

tüm yüzeyler beslenmeyi ve onarımı sağlayan periosteum ile kaplanmıştır (45). Kemikler yapısal olarak sınıflandırılmaktadırlar. Kortikal kemik yetişkinlerdeki iskelet sisteminin yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır. Kortikal kemiğin birimi osteon veya Haversian sistemidir. Her bir osteon arteriyoller, venüller, kılcal damarlar ve sinirler içeren merkezi bir Haversian kanalı etrafında düzenlenmiştir. Bir osteon, bu merkezi Haversian kanalının etrafını saran beş ila yedi eş merkezli tübüler lamel halkasından oluşmaktadır. Volkmann kanalları kemiklerin uzun eksenine dik olarak uzanarak dış ve iç yüzeylerini birbirine bağlamaktadır. Aynı zamanda Haversian kanallarına giden ve bu kanallardan gelen kan damarlarını barındırmaktan sorumludurlar. Trabeküler kemik ise mekanik stres eksenleri boyunca hizalanan ve trabekül adı verilen kemik plakalarından oluşan üç boyutlu bir kafesten oluşmaktadır. Kemik iliği trabeküller arası boşluklarda yer almaktadır. Kortikal kemiğin aksine, lameller osteonlar halinde organize olmayıp, bunun yerine trabekülleri oluşturan paralel tabakalar halinde organize olmaktadır (46).

M. Sadat-Shojai et al. / Acta Biomaterialia xxx (2013) xxx–xxx



Şekil 1. Kemik yapısı (Sadat-Sohaji ve ark. çalışmasından alınmıştır) (47)

Kortikal kemik daha yoğun yapıdadır ve trabeküler kemikten daha serttir. Trabeküler kemik ise gözeneklerinin fazla olması nedeniyle yoğunluğu daha azdır ve kortikal kemikten daha elastiktir (48).

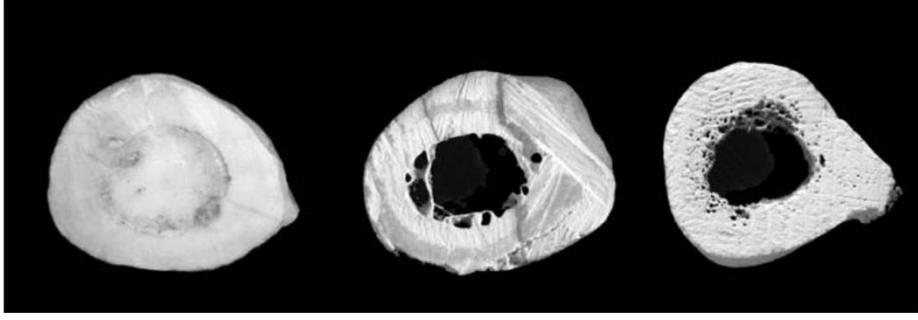
Dekompozisyon sürecinde iskelet de dâhil olmak üzere ceset genellikle bir kuruma sürecinden geçmektedir (49). Ölümünden sonra kemik su kaybederek organik bileşen yavaş yavaş bozulmaya başlamaktadır. Bu kayıplar kemiğin dış kuvvetlere karşı daha kırılgan bir yapıda davranmasına neden olmaktadır. Gözlenen değişimler sıcaklık, toprağın nemi ile güneşten

gelen radyasyon gibi çeşitli çevresel ve yaş, ilaç tedavisi, hastalık gibi bireysel faktörlere bağlıdır. Gömülme, suyun tutulmasına yardımcı olarak kemiğin mekanik davranışında dış kuvvetlere karşı daha yavaş bir geçiş hızına neden olabilmektedir. Bununla birlikte, dehidrasyonla bile, kollajen korunursa, kuru kemik ıslak kemiğe benzer mekanik özellikler sergileyebilir çünkü organik malzeme mekanik özelliklerdeki değişiklikleri stabilize edecektir (50). Dekompozisyon süreçleri kemik türüne göre de değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda femur, tibia gibi büyük kortikal kemiklerin metatars, falanks gibi daha küçük kemiklere göre kemik aşınma sürecinden daha az etkileneceğini göstermiştir. Femur kemiğinin metatarslara kıyasla kemik ayrışma şekilleri ve oranları konusunda daha iyi bilgi verdiğini ve daha net kılavuzlar sağladığını, çünkü femur kemiğinin yoğun yapısından dolayı daha güçlü ve fiziksel hasara karşı dayanıklı olduğunu göstermektedir (51,52). Çevresel koşulların etkisi femur, tibia gibi kemiklerin üzerinde daha az olması nedeniyle ölüm zamanı değerlendirmesi açısından da daha doğru bilgiler sunmaktadır.

2. Kemik Spesifik Yöntemler;

İskeletleşme dekompozisyon sürecinin bir evresi olsa da iskeletleşme ile bu süreç tamamlanmaktadır. Zaman ilerledikçe kemik dokuda yapısal değişiklikler meydana gelmektedir (53). Başlangıçta kemik nispeten taze kalacaktır bu dönemde kan ürünleri hala tanınabilmektedir. Medüller kavitedeki yağ dokusu sıcaklığa maruz kaldığında dışarı çıkarak erken dönemdeki kemik dokusunun yağlı bir yapıda olmasını sağlamaktadır. Bu aşamada kemik doku kendi rengini korumaktadır. Organik bileşenlerin devam eden varlığı kemiğin ağır hissedilmesine neden olmaktadır (54).

Kemik dokuda kahverengi lekeli renk görüntüsü mevcut ise ve kemik hala yağlı bir şekilde hissediliyorsa bu durum ölümün birkaç ay öncesinde gerçekleştiğini göstermektedir. Bu aşamadan sonra yağ ve suyun kaybı nedeniyle kemik mat görüntüye sahip olarak hafifleşmeye başlamaktadır. Zamanla, yoğunluğunu kaybeden kemiğin tazeliği azalır ve bu durum kemiğin kolay bir şekilde kırılabilmesine neden olacaktır. İlk olarak süngerimsi dokuda, ardından da uzun kemiklerin iç kısmında doku kaybı meydana gelecektir. Sonraki dekompozisyon evrelerinde kemik daha da açık bir renk alarak beyaz renkli olmaya başlayacaktır. Sonrasında kemik iyice güçsüzleşir, kırılganlaşır, çatlayarak ağaç kabuğu görüntüsü alarak yüzeyinden dökülecektir (55).



Şekil 2. Ölümden sonra geçen yıllara göre kemiklerdeki değişiklikler (54)

Kemiğin türü ölüm sonrasında gözlenen değişimleri etkilemektedir. Humerus, tibia ve femur gibi yoğun, büyük ve kompakt kemiklerin çürümesi, trabeküler kemik bakımından zengin falanks kemikleri, omurga kemikleri ve kafa iskeleti gibi yüzey alanı/hacim oranının daha büyük olduğu kemiklere göre daha yavaş olmaktadır (54). Bununla birlikte, gençlere ait iskelet kalıntıları yetişkinlerin kemiklerine göre daha kolay parçalandığı görülmüştür (52). Bu morfolojik değişikliklerin tanısal olmak için yetersiz olduğu unutulmamalıdır (9). İskelet kalıntılarının kapalı alanlarda, suda, açık havada veya ormanlık alanda bulunması kemiklerdeki bu sürecin nasıl ilerleyeceğini etkilemektedir. Yine de ölümden bu yana geçen süreye ilişkin her tahmin, tüm metodolojik kısıtlamalarına rağmen makroskobik incelemeyle başlamalıdır (56).

3. Analitik Yöntemler

a. Kemik Sitrat İçeriği; Sitrik asit döngüsünün ana maddesi olan sitrat kemik dokunun %1,5-2'sini oluştururken, insan vücudundaki sitratın %90'ı kemik içeriğinde bulunmaktadır. Hidroksiapetit kristallerinin büyümesini engelleyerek kemiklerin aşırı gelişmesini önlemektedir. Açık alanda bulunan kemik kalıntılarında sitratın yaklaşık olarak 4 hafta boyunca sabit kalacağı, sonrasında doğrusal bir şekilde azalarak yok olacağı düşünülmektedir (57). Çevresel faktörlerden etkilenmediği tahmin edilen bu yöntemin gelecekte güvenilir sonuçlar sağlayacağı düşünülmektedir (58).

b. Kemik Nitrojen İçeriği; Dekompozisyon ilerledikçe proteinin kaybı ile birlikte nitrojen içeriğinin de azaldığı gözlenmiştir. Nitrojenin %2,5'tan fazla olması ölümün 350 yıldan uzun süre önce gerçekleştiğini, %3,5'ten fazla olması ile ölümün 50 yıldan kısa süre önce gerçekleştiğini göstermektedir (9,54). Her ne kadar çevresel faktörlerin bu süreci etkilediği bilinse de bu alandaki çalışma sayısı yetersizdir.

c. Kemik Aminoasit İçeriği; Proteinler aminoasitlerden oluşmaktadır. 20 aminoasit türünden 15 tanesinin kemik dokuda bulunduğu bilinmektedir. Kemiklerdeki aminoasitlere bakarak ölüm zamanı değerlendirilmesi ölümden sonra kemik içeriğindeki

aminoasitlerin zamanla azalmasına dayanmaktadır. Prolin ve hidroksiprolin aminoasitlerinin ölüm zamanı 50 yıldan uzun olan olgularda izlenebileceği düşünülmektedir. Ancak bu alandaki çalışmaların yetersiz olması ve tek başına aminoasit yokluğuna göre analiz yapmanın güvenilir olmaması nedeniyle bu yöntem önerilmemektedir (54,59).

d. Kemik Kollajen İçeriği; Kollajene bağlı ölüm zamanı tahmini kollajen miktarının diğer kemik ürünlere oranlanması prensibine dayanmaktadır. Yapılan çalışmalarda kemik kesitlerinden Co/NCo (Kollajen/ Kollajen olmayan) oranı spektrofotometre ile ölçülmüştür. Ancak bu analizlerin yetersiz olduğu ve verilerin arttırılmasının gerektiği düşünülmektedir (60, 61).

e. Kemik Lipid İçeriği; Berg çalışmasına göre ölümden sonra geçen süre arttıkça kemik içeriğindeki yağ miktarının azaldığı kemik iliğinin yağ doku ile kaplandığı belirtmiştir. Çalışmaya göre kompakt kemikteki iliğin yağ doku ile penetrasyonu ölümden 10 yıl sonra, kemik iliğinin yağ doku ile tamamen kaplanması yaklaşık 30 yıla tekabül etmektedir. Yaklaşık 50 yıl sonra ise yağ doku kalıntıları görülmektedir (62,63).

f. Benzidin Reaksiyonu; Kemik dokudaki kan ürünlerinin tespiti ile gerçekleştirilmektedir. Ölüm zamanı 150 yıla kadar olan kemikleri gösterebilse de benzidinin kanserojen madde olduğu kabul edilerek kullanımının uygun olmadığına karar verilmiştir (54).

4. Radyokarbon (C-14) Analizi

Radyokarbon analizi, tafonomik faktörlerden bağımsız olarak ölümden bu yana geçen süre konusunda önemli bir perspektif sunmaktadır. 1950'den sonra termonükleer cihazların atmosferik testleri troposferde artan C-14 seviyeleri üretmiştir. Bu artmış seviyeler, besin zinciri yoluyla insanlar da dâhil tüm karasal organizmaların sistemine girmiştir. Ülkelerin termonükleer cihazların atmosferik testlerini sonlandırması sonucunda atmosferdeki C-14 seviyeleri 1963 yılında en yüksek seviyeye ulaşmış olup sonrasında kademeli olarak düşmüştür (64).

Radyokarbonun atmosferde 1950'lerden sonra yükselip düşüşü "bomba eğrisi" olarak adlandırılmaktadır (65). Adli olgu olarak düşünülen bir iskeletin radyokarbon analizi bomba eğrisi döneminin karakteristik yüksek seviyelerini ortaya çıkarırsa, kişinin o dönemde hayatta olduğu anlaşılmaktadır. Böylece radyokarbon analizi, kalıntıların eski mi yoksa nispeten yeni mi olduğunu belirlemek için yaklaşım sunmaktadır (64).

Radyokarbon (C-14) analizi, insan kalıntılarının doğum veya ölüm yılını tahmin etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir teknik olmasına karşın yarılanma ömrünün 5730 yıl olması nedeniyle 300 ila 50.000 yıl arasında değişen kemik ve diş örneklerinin tarihlenmesinde en doğru sonuçları vermektedir (65,66). Bu durum, daha kısa yarı ömürlü güvenilir metotlara ihtiyaç duyulmasına sebep olmuştur.

5. Radyoizotop Analizleri

Son dönemlerde, Stronsiyum (Sr) ve Plumbum/Polonyum (Pb/Po) radyoaktif izotopları üzerine yapılan araştırmalar dikkat çekmektedir. Biyolojik ve fiziksel yarılanma ömürlerinin kısa olması, ölüm zamanı tahmininde tercih edilmelerinin ana nedeni olmaktadır. Fiziksel yarılanma ömürlerine bakıldığında Sr'nin 28,1 yıl, Pb'un ise 22,3 yıl olarak belirlenmiştir. Sr biyolojik yarılanma ömrü ise 10 -13 yıl olduğu tespit edilmiştir (55).

1945 sonrasında atom bombası testlerinden sonra özellikle 1963 yılında, Stronsiyum en yüksek seviyelerde atmosfere salınmıştır. Radyoaktif Stronsiyum ise atmosfere salınan yapay bir üründür. Besin zinciri ile çeşitli organizmaları etkilemektedir. Gerçekleştirilen çalışmalarda Stronsiyum ile postmortem interval arasında korelasyon olduğu özellikle 1950 yılından sonraki olgularda Stronsiyumun belirgin miktarda arttığı izlenmektedir. Sr 100 mBq/gCa olduğunda ölümün 1963 yılına çok yakın bir zamanda gerçekleştiği düşünülmektedir (67). Stronsiyum toprağa geçişi yılda 1 cm olarak bilinmektedir. Toprağa gömülü olgularda gömü derinliği genellikle 1,5-2 metre arası olması nedeniyle bazı olgularda kemik içeriğinde Stronsiyum aktivitesi izlenmemektedir (68).

Plumbum ve Polonyum radyoaktif bozunma zinciri sonucunda oluşmaktadır. Stronsiyuma göre avantajı nükleer testlerden etkilenmemeleri ve kişinin hayatı boyunca aynı yoğunlukta kalmalarıdır. Yarılanma ömürlerine bakıldığında Plumbum 22,3 yıl, Polonyum ise 138,4 gün olan belirlenmiştir. Ancak kişinin vücudundaki Plumbum miktarı coğrafi özellikler, kişinin ölüm yaşı, beslenme alışkanlıklarından etkilenmektedir (69).

G. Kemik Dokudan Ölüm Zamanı Tahmininde Luminol Kullanımı;

Luminol, ilk kez 1908 yılında Alman kimyager Heinrich Dietrich Schmitz tarafından ortaya çıkarılmıştır. 1928 yılında ise kemilüminesans özelliği belirlenmiştir. Daha sonrasında luminolün biyolojik sıvılar üzerinde etkinliği değerlendirilerek kanın tespitinde

kullanılabileceği gösterilmiştir (70,71). Weber tarafından luminol için yeni bir formül oluşturulmuştur. Bu yeni formül, luminolün sodyum hidroksit, hidrojen peroksit ve distile su ile karıştırılmasıyla üretilmiştir. Oluşturulan bu solüsyon karanlık ve kuru ortamda saklandığında; normalde birkaç saatlik olan kullanım süresi bu sayede birkaç aya kadar uzamaktadır (72).

Günümüzde luminol hala adli olayların aydınlatılmasında kullanılmaktadır. Kan lekesi olduğu düşünülen bölgeye uygulanan luminol solüsyonu sonucunda karanlık ortamda ışıma ortaya çıkmaktadır. Kan içeriğinde bulunan hemoglobin proteinindeki demir iyonu luminol ve hidrojen peroksit arasındaki kimyasal reaksiyonu başlatıp hızlandırarak bir katalizör gibi davranır. Bu reaksiyon sonucunda kararsız olan 3-aminofalat oluşmaktadır. Bu bileşik kararlı hale geçerken yeşil-mavi renk vermektedir (73).

Luminol, adli tıpta kan izlerini bulmak ve çıplak gözle görülemeyen kan lekelerini tanımlamak amacıyla rutinde kullanılmaktadır. İskeletten postmortem interval tahmini de hemoglobine yüksek afinitesi olan luminolün kemik doku içerisindeki kan ürünlerinin tespit etmesi prensibine dayanmaktadır. Bu afinite, postmortem dönemde kan akışı kesildikten sonra kanın kemik dokuda yüksek mineral içeriği ile güvence altına alınmasıyla gerçekleşmektedir (74). Bu amaçla gerçekleştirilen bir çalışmada ölüm zamanı bilinen ve ölüm zamanına göre 5 gruba ayrılan 80 femur kemiği değerlendirilmiştir. Her kemiğin orta kısmından alınan 30 mg kemik tozuna 0.1 ml'lik Luminol solüsyonu eklenmiştir. Kemilüminesans reaksiyonu karanlık odada izlenmiştir ve kameraya alınmıştır. PMI 1 ay ile 3 yıl arasındaki 20 örnekte ilk birkaç saniye içerisinde yoğun ışıma gözlenmiştir. 15 yıla kadar olan örneklerin %80'inde kemilüminesans çıplak gözle izlenebilmiştir. PMI 80 yıl ve üzeri olan 10 örneğin hiçbirinde ise kemilüminesansa rastlanmamıştır. PMI ile kemilüminesans yoğunluğu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (75). Introna ve ark. tarafından yapılan bu çalışma luminolün ölüm zamanı değerlendirilmesinde uygulanabilirliğinin gösterildiği ilk bilimsel çalışmalardan biridir.

İskelet kalıntılarından postmortem interval tahmini için önerilmekte olan luminol değerlendirmesinin, adli veya tarihi değeri olan kemiklerin ayırımında kolay uygulanabilir ve ekonomik bir metot olduğu düşünülmektedir. Sağlamlığı ve mineral değişim süreci karşısında gösterdiği direnç nedeniyle femur bu çalışmalarda tercih edilen kemiktir (76).

Luminol yöntemi ile kemik dokudan yayılan kemilüminesans değerlendirmesi çıplak gözle yapıldığında yeterince hassas olmaz. Daha hassas sonuçlara ulaşmak adına yapılan bir çalışmada; PMI 15 ile 64 yıl arasında değişen 102 femur kemiği incelenmiştir. Kemiklerden 15 mm x 15 mm kesitler alınmıştır. Kesitlerden elde edilen 30 mg'lık tozlara luminol solüsyonu damlatılmıştır. Daha direkt ve doğru sonuçlara ulaşmak amacıyla luminometre kullanılarak kemilüminesans sayısal olarak ölçülmüştür. Aynı zamanda görsel değerlendirme için 30 mg'lık kemik tozlarına 0.1 ml'lik luminol solüsyonu eklenerek sonuçlar karanlık ortamda analiz edilmiştir. Sonuç olarak, uygun koşullar altında, luminol tekniği ile 0-65 yıl PMI aralığında kemiklerdeki hemoglobinin tespit edilebileceğini ve PMI <20 yıl ve PMI ≥ 20 yıl olan örnekler arasında kemilüminesans yoğunluğunda önemli farklılıklar bulunduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, luminol ile reaksiyondan sonra 10 s, 15 s ve 20 s'de ölçülen kemilüminesans yoğunlukları, azalan logaritmik bir model izleyerek, çalışılan kemiklerde PMI ile anlamlı negatif bir korelasyon gözlenmektedir (77).

Portekiz toplumunun değerlendirilmesi için yapılan bir çalışmada; ölüm zamanı bilinen ve kemik patolojisi bulunmayan yaşları 20 ile 98 arasında değişen her iki cinsiyetten 50 iskelet kalıntısını incelemiş, standardizasyon açısından herhangi bir patolojisi bulunmayan klavikula kemiği seçilmiştir. Elektrikli testere ile alınan kemik kesitleri toz haline getirilerek 50 mg'lık örnekler hazırlandıktan 3 saat içerisinde deneye sokulmuştur. Pozitif kontrol örneği olarak kan, negatif kontrol örneği olarak 19.yüzyıldan kemik tozları kullanılmıştır. Luminol kemilüminesans iki ölçekte puanlanmıştır. Görünür (+) veya görünmez (-) olmak üzere iki değerli bir sınıflandırma sistemi ve görünmez(-) zar zor görünür (+), düşük yoğunlukta görünür (++) , kolayca görünür (+++) ve güçlü bir şekilde görünür (++++) şeklinde olmak üzere kemilüminesans derecesini hesaplayan beş ölçekli bir sistem ile kemilüminesans derecesi ölçülmüştür. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, luminol kemilüminesansın PMI tespitinde kullanılan tek yöntem olarak uygun olmadığını göstermektedir. Portekiz'de zaman aşımı 15 yıl olması nedeniyle bu testin Portekiz toplumu için dengesiz bir test olduğu düşünülmüştür. Yine de luminol kemilüminesansı ekonomik, yorumlanması kolay ve tekrarlanabilir bir teknik olarak değerini doğrulamaktadır ve PMI tespitinde tekniğin değeri dikkate alınmalıdır (74).

2008 yılında yapılan bir çalışmada, kemilüminesans analizinin (CL) kemikler üzerindeki kullanımı, özellikle tarihi ve yakın dönem iskelet kalıntıları arasındaki farkları belirlemedeki etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışmada, farklı zaman dilimlerinden (MS 1-3. yüzyıl, 1878-1902, 1965-1972, 1995-2003), postmortem aralıkları bilinen numuneler üzerinde randomize ve

kör deneyler yapılmıştır. Femur kemiğinden örnekler alınmış olup, kemilüminesans var veya yok olacak şekilde değerlendirilmiştir. Bulgular, kemilüminesans değerlendirmesinin tek yöntem olarak kullanılmasının doğru olmadığını, yöntemin tekrarlanabilir ve uygun maliyetli olmasının postmortem interval değerlendirmesinde yardımcı olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları, ileri tetkiklerin yapılmaması halinde adli açıdan önemli vakaların hatalı bir şekilde ayıklanmasının potansiyel tehlikesini belgelemiştir (78). Her ne kadar luminol yönteminin adli ve tarihi kemiklerin ayrımında uygulanabilirliği gösterilse de deney yöntemi açısından fikir birliği olmaması bu yöntemin rutine girmesini zorlaştırmıştır.

Ramsthaler ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada iskelet kalıntılarından postmortem interval tahmin etmek için pratik olarak uygulanabilir ek yöntemler elde etmek amacıyla, ölüm zamanı bilinen (1 ila yaklaşık 2000 yıl arasında olan) 39 insan ve 5 evcil hayvana ait uzun kemikler, iki yerleşik yöntem -UV floresans ve luminol testi- ve bu bağlamda ilk kez denenen iki tarama testi -Hexagon-OBTI testi ve Combur testi- ile test edilmiştir. Bu deneyde altta yatan hipotez, kemikteki hemoglobin içeriğinin varlığına dayanmaktadır. Diğer çalışmalardan farklı olarak elde edilen kemikler bulunduktan sonra 1-10 yıl boyunca 16-18 derecelik kuru ortamda saklanmıştır. Kemiklerden kesit alırken elde edilen tozlar luminol ve kitlerde kullanılmıştır. Kesitler de UV floresans yöntemi için kullanılmıştır. UV floresans değerlendirmesi için kemiklerden alınan taze kesitler karanlık odada 254 nm ve 366 nm ışık kaynakları eşliğinde incelenmiştir. Gözlenen floresans tam, azalmış ve sıfır floresans olmak üzere tanımlanmıştır. Kitler için pozitif kontrol grubu olarak kan değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, lüminesans eksikliğinin ve düşük UV-floresansının postmortem intervali tahmin etmek ve adli önemi dışlamak için pozitif luminol reaksiyonundan veya güçlü UV-floresansından daha anlamlı olduğu gösterilmiştir. Özellikle pozitif luminol reaksiyonu gösteren vakalar için ek mutlak tarihlendirme yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir. UV floresans testi, kesit üzerindeki yansıma derecesi ile PMI arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiş olup bu yöntemin ölüm zamanı 50 yıldan az olan adli öneme sahip kemikleri dışlamak için uygun olduğunu doğrulamıştır Hexagon-OBTI ve Combur kitleri ise tarihlendirme açısından negatif sonuçlar vermiştir. Bazı yanlış pozitif sonuçlar da gömü şekliyle ilişkilendirilmiştir (79).

Postmortem interval tahmini için değerlendirilen yöntemlerin yeterli sayılamamasının en önemli nedenlerinden biri, çeşitli tafonomik faktörlerin iskeletleşmeye olan etkisidir. Luminol tekniği mevcut yöntemleri tamamlayıcı kolay, ekonomik ve tekrarlanabilen bir yöntem olarak

düşünülse de tafonomik faktörlerin bu süreci nasıl etkilediği hala gizemini korumaktadır. Sıcaklık, nem, toprağın türü, ph gibi çevresel etmenlerin luminol değerlendirmesi üzerindeki etkisi deneysel olarak test edilmiştir. Çalışmada, ölüm zamanı belli ve benzer olan otopsilerden alınmış 30 klavikula kemiği farklı ortamlara gömülmüş olup 12 ay boyunca saklanmıştır. Kemikler eşit şekilde 6 ayrı gruba ayrılmış olup farklı toprak türleri olan topraklara, açık havada ve bir seranın içinde yüzeyel bir şekilde gömülmüştür. 2 klavikula kemiği de farklı derecelerde ve sürelerde kontrollü bir şekilde yakılmıştır. Feth-i kabir işlemi sonrasında her kemikten elde edilen 50 mg'lık kemik tozları beyaz kağıdın üzerine konularak hazırlanan luminol solüsyonları ile değerlendirilmiştir. Karanlık odada iki gözlemci tarafından kemilüminesans incelenmiştir ve fotoğraflanmıştır. Sera ortamında muhafaza edilen kemiklerde en yoğun ışımaya gözlenmiştir. Toprağın ph'ı ve türü de dekompozisyon sürecini hızlandırıp yavaşlatabildiğinden dolayı luminol tepkisi değişmiştir. Hemoglobinin destrüksiyonu nedeniyle yanmış kemiklerde ise herhangi bir ışımaya gözlenmemiştir. Luminol tekniği uygulanırken cesedin bulunduğu bağlamanın her zaman göz önünde bulundurulması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır (80).

H. Kemik Dokudan Ölüm Zamanı Tahmininde Ultraviyole Floresans Yöntemi;

Ultraviyole (UV) ışık, 10-400 nanometre dalga boyları arasında, görünür ışıktan kısa, fakat X ışınlarından uzun elektromanyetik radyasyon olarak tanımlanmaktadır. UV radyasyon güneş ışığında bulunur ve güneşten gelen toplam elektromanyetik radyasyon çıktısının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Güneş, genellikle UV-A, UV-B ile UV-C olmak üzere alt bölümlere ayrılan ultraviyole radyasyonun tam spektrumunun bir kaynağıdır. UV-C ışınları ise en zararlı olanlardır ve atmosfer tarafından neredeyse tamamen emilmektedir. UV-B ışınları, güneş yanığına yol açan zararlı ışınlardır ve canlı organizmalarda DNA ile diğer hücresel yapıların hasar görme riskini arttırmaktadır.

Ultraviyole ışınları birçok alanda kullanılmaktadırlar. Adli tıp alanında ise en yaygın olarak vücut sıvılarının tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. Kıyafetlerde ve yüzeylerde kan lekelerini görüntülemek amacıyla olay yeri incelemesi esnasında ultraviyole ışınlarına başvurulmaktadır. Aynı zamanda imza inceleme, sahte para ve belge analizlerinde de yardımcı olmaktadır.

Kemik kesitlerinden postmortem interval tahmini yapmak amacıyla ultraviyole ışığının kullanımı uzun yıllardır araştırılmaktadır. Bununla birlikte, UV ışığı altında kemik kesitlerinin floresansının gerçek nedeni, kemiklerde tanımlanan renk değişikliği ve floresans yoğunluğunun azalması hala yaygın olarak bilinmemektedir. Uzun dalga boylu UV ışığına maruz kalan taze kemikler açık mavi renkte floresans vermektedir (81). Kemiklerdeki mavi floresansın nedeni olarak kemiklerdeki kollajen molekülü gösterilmektedir. Zaman geçtikçe kemiklerdeki kollajen kaybı ile mavi floresansın yerini sarı ya da kahverengi gibi farklı renklere bırakacağı düşünülmektedir (82). Daha eski materyallerin mavi renge ek olarak sadece kahverengi, sarı veya gri floresans sergilediği düşünülmektedir. Son çalışmalar, ultraviyole ışığın yarattığı görsel olarak değerlendirilen "mavi" ve "sarı" renk izlenimlerinin aslında ölçülebilir derecede farklı dalga boyları yayan iki farklı floresans renk tonunu temsil ettiğini göstermiştir (81).

Yoshino ve ark., gerçekleştirdikleri çalışmada UV floresans yoğunluğunun postmortem interval tahmininde kullanılabileceğini savunmuştur. Ancak floresans renginin, floresans yoğunluğundaki azalma kadar ölüm zamanı değerlendirmesi açısından güvenilir olmadığı sonucuna varılmıştır (81,83).

Floresans görünümünü değerlendirmek için kullanılan net olmayan kavramlar, renk ile floresans yoğunluğu arasındaki farkı dikkate almayan sınıflandırmalar, bu yöntemin adli uygulamalarda net kılavuz görevi görmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, bu yöntemin adli uygulamalardaki potansiyelini değerlendirmek amacıyla, ölüm zamanı bilinen 213 kemikten oluşan geniş bir örneklem seti incelenmiştir. Bu çalışmanın özel amacı, gözlemlenen renk ve yoğunluğa ayrı ayrı odaklanarak, kemik floresansının net bir tanımını kullanarak, yöntemin adli ve tarihi kemik kalıntıları arasında ne ölçüde güvenilir bir ayırım yapabileceğini yeniden araştırmaktır. 213 örneğin 58 tanesi ölüm zamanı 8 ile 60 yıl arası değişen terk edilmiş mezarlıktan toplanan uzun kemiklerdir. Bu kemikler elde edildikten sonra -18 derecede muhafaza edilmiştir. Geri kalan 155 kemik (79 insan kemiği, 76 at kemiği) ise arkeolojik örneklerdir. Kemiklerden 0.5 cmx1 cm'lik kesitler alınmıştır ve kesit yüzeyleri artefaktlardan kaçınmak için zımpara ile temizlenmiştir. Taze kemikleri yumuşak dokudan ayırmak amacıyla dietil eter kullanılmıştır. Deneyde adli yani ölüm zamanı 60 yıldan az olan örneklerde, sarı floresans veren ve PMI 25 yıl olan tek bir vaka gözlemlenmiştir. Olguların yaklaşık %48'inde mavi ve diğer renkleri içeren karışık floresans ve neredeyse aynı oranda (%50) taze kemikte benzer şekilde sadece mavi floresans izlenmiştir. Ölüm zamanı 90-150 yıl olarak belirtilen kemiklerin tüm yüzeyinde mavi floresans önemli ölçüde azalmıştır (sadece %5'i mavi floresans

göstermiştir). Sonuç olarak adli veya tarihi kemikler arasında ayırım yapmak için kemik floresansının pratik kullanımının eleştirel bir şekilde sorgulanması gerektiği gösterilmiştir. Özellikle floresans yoğunluğu ile ölüm zamanı arasında anlamlı korelasyon izlenmemiştir. Kemik floresans renginin değerlendirilmesi, istatistiksel olarak PMI ile ilişkilendirilebilse de, bir kemik buluntusunun adli ya da tarihi değeri olup olmadığını değerlendirmek için tek kriter olarak uygun olmadığı düşünülmüştür. Buna ek olarak tek bir örnek dışında genel olarak sarı floresans sadece 90 yılın üzerinde ölüm zamanına sahip kemikler arasında gözlemlendiği ancak ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir (81).

Bu alanda önemli araştırmalar yapılmış olmasına rağmen iskelet kalıntılarından postmortem intervalin belirlenmesi günümüzde hala adli bilimlerdeki önemli sorunlardan birini oluşturmaktadır. İnşaat çalışmaları, arkeolojik kazılar gibi kemik kalıntılarının rastlantısal olarak ortaya çıkabildiği veya adli soruşturmalarda elde edilen kemikler hakkında bilgi elde edilemediği durumlarda doğru bir şekilde kimliklendirme yapmak önem kazanmaktadır. Makroskobik ve mikroskobik değerlendirmenin yetersiz kaldığı durumlar için pratikte kullanılmak adına hızlı, tekrarlanabilir, düşük maliyetli ve kolay uygulanabilir metotlara ihtiyaç duyulmaktadır. Her ne kadar luminol kemilüminesans ve UV-floresans değerlendirmeleri bu kriterleri karşılarsa da günümüze kadar yapılan çalışmalarda rutin bir metot oluşturulamamıştır.

III. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilerek 27.05.2022 tarih ve 10 sayılı toplantıda görüşülerek etik kurul ilkelerine uygun bulunmuş (İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığının 08.06.2022 tarih ve 913518), Adalet Bakanlığı Adli Tıp Kurumu Başkanlığı tarafından 10.05.2022 tarihli Eğitim ve Bilimsel Araştırmalar Komisyonu'nda tez önerisi görüşülerek aynı tarihli, 21589509/2022/288 sayılı yazı ile onay verilmiştir.

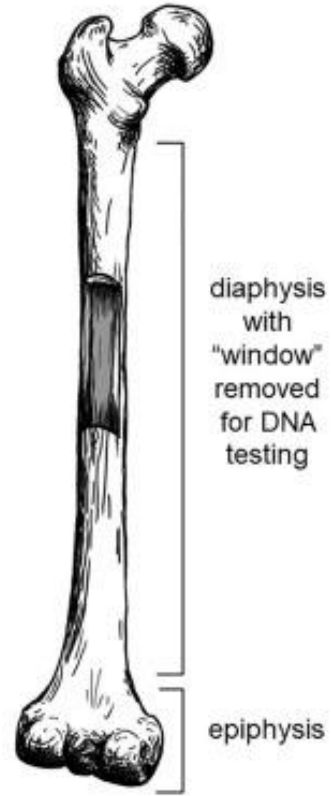
A. Örnek Toplanması

Adalet Bakanlığı İstanbul Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesi, Kemik ve Diş İnceleme Şubesi'ne kimliklendirme ve/veya ölüm zamanı tespiti açısından gönderilen iskelet kalıntıları ve kemik parçalarından DNA incelemesi amacıyla Biyoloji İhtisas Dairesi'ne gönderilmek üzere örnekler alınmaktadır. Kemik ve Diş İnceleme Şubesi'ne gönderilen kemiklerden öncelikli olarak femur, tibia gibi kortikal kemikler tercih edilmektedir. Kemik yüzeyinde bir pencere açılarak kemik örnekleri alınmakta olup tam kat kesi yapılmamaktadır. İnceleme için alınan örneklerden artan kemik parçaları çalışmaya dâhil edilmiştir. Aynı zamanda Biyoloji İhtisas Dairesi'ne nesep tayini için gönderilen feth-i kabir yapılarak elde edilen kemiklerden gerekli incelemeler yapıldıktan sonra artan kemik parçaları çalışmaya katılmıştır.

Adalet Bakanlığı İstanbul Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesi, Kemik ve Diş İnceleme Şubesi ve Biyoloji İhtisas Dairesi'ne inceleme amaçlı gönderilen kemiklerden ölüm zamanı ve kimliği belli, erişkin yaş (>18 yaş) grubunda bulunan olgular tercih edilmiştir. Örnek alımı yapılırken TUR testeresi kullanılmıştır. Her olgu öncesinde ve sonrasında TUR testere başlığı dezenfekte edilmiştir. Femur ve tibia kemiklerinden alınan örnekler kemiğin üst 1/3 kısmından testere ile pencere açılarak alınmıştır. Örneklerin her biri ayrı ayrı numaralandırılmış kutularda, karanlık ortamda ve sabit sıcaklıkta Kemik ve Diş İnceleme Şubesi'nde saklanmıştır.



Şekil 3. Kemiklerden kesit elde etmek için kullanılan elektrikli testere



Şekil 4. Kemikten DNA tespiti için pencere açılması (Ambers ve ark. çalışmasından değiştirilmeden alınmıştır) (92)



Şekil 5. Adalet Bakanlığı, İstanbul Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesi, Kemik ve Diş İnceleme Şubesi'ndeki kemik pencereleri

Türkiye'deki zaman aşımı azami süresinin 30 yıl olduğu dikkate alındığında adli ve tarihi ilgisi olan kemiklerin ayrımını yapabilmek adına çalışmada 0-50 yıl arasında, ölüm zamanı <5 yıl, 5-15 yıl, 15-30 yıl, 30-50 yıl, >50 yıl olmak üzere her 5 yıllık periyotlara dahil en az 10 vakadan alınan örneklerden analiz yapılması planlanmıştır. 2022-2024 yılları arasında toplam 63 kemikten örnek toplanabilmiştir.

Örnek alınan kemik olgularının örnek numaraları, adli tıp numaraları, ölüm tarihleri, doğum tarihleri, cinsiyetleri, hangi kemiklerden örnek alındığı, kemiklerin tafonomik koşulları (suda bulunma, açık alanda ya da gömülü halde bulunması), kemiklerin fotoğrafları kaydedilmiştir. Ölüm zamanı, ölümün gerçekleştiği yıl olarak değerlendirilmiş olup örnek alındığı tarihten çalışmanın gerçekleştirildiği zamana kadar geçen süre ölüm zamanına eklenmiştir.

B. Ultraviyole Floresans Yöntemi

1. Kemiklerin Fotoğraflanması

Ölüm zamanı belli olgulardan elde edilen kemikler fotoğrafları çekilmek üzere hazırlanmıştır. Kemikler tüm yüzeyleri siyah karton ile kaplanmış kutunun ortasına yerleştirilmiştir. Fotoğraf makinesi kemiklerden 30 cm uzaklıkta tripod ile sabitlenmiştir. Ultraviyole ışık kaynağı fotoğraf makinesinin yanında kemiklerden 30 cm uzaklığa yerleştirilerek sabitlenmiş olup 45 derecelik açı ile kemik yüzeylerine yansıtılmıştır. Fotoğraf

makinesi olarak Fujifilm X-T5 Kamera kullanılmıştır. Ayarlar ISO-125, lens açıklığı F-9 olarak ayarlanmıştır. Pozlama uzunluğu ise 3 sn olarak belirlenmiştir. Odaklama her kemik için manuel olarak ayarlandıktan sonra odanın ışıkları kapatılarak fotoğraf çekilmiştir. Kemikler öncelikle ultraviyole ışık yansıtılmadan fotoğraflandırılmıştır. Sonrasında ultraviyole ışık yansıtılarak iki ayrı modda (otomatik mod ve gün ışığı modu) fotoğrafları çekilmiştir. Çalışmada gün ışığı modunda çekilen fotoğraflar kullanılmıştır. Ultraviyole ışık kaynağı olarak 365 nm dalga boylu ışık kullanılmıştır.



Şekil 6. Soldan sağa; Aynı kemiğe ait doğal, otomatik modda ve gün ışığı modunda çekilmiş fotoğrafları. (Otomatik ve gün ışığı modunda yapılan çekimlerde 365 nm UV ışık yansıtılmıştır)

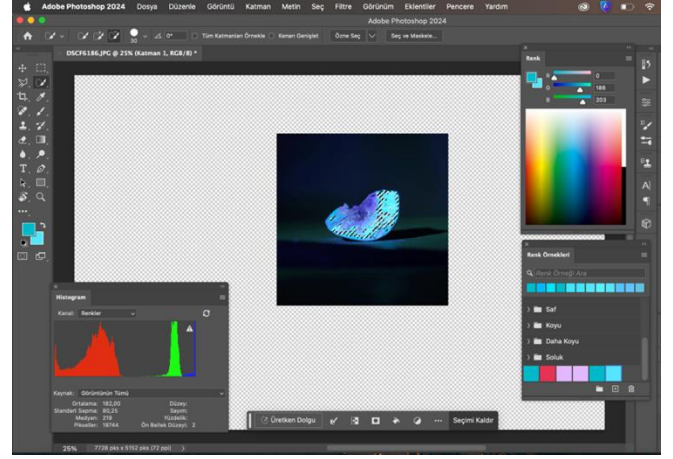
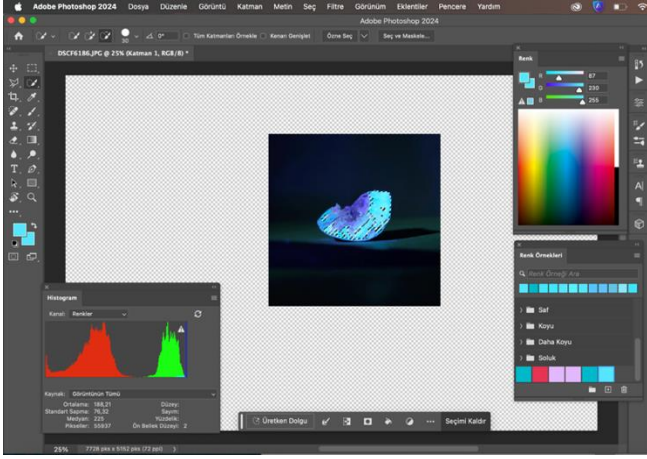
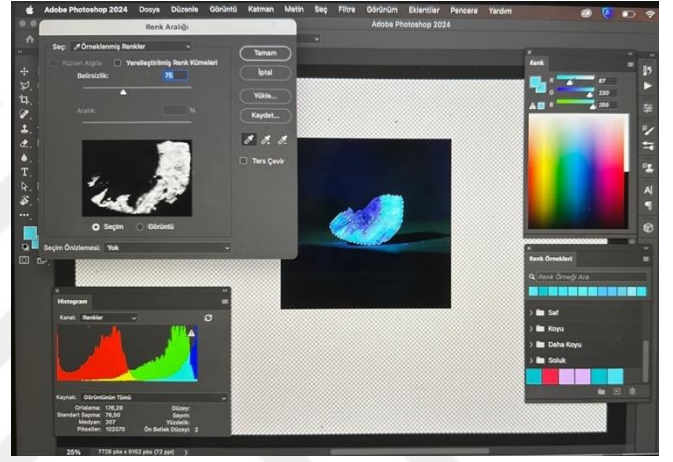
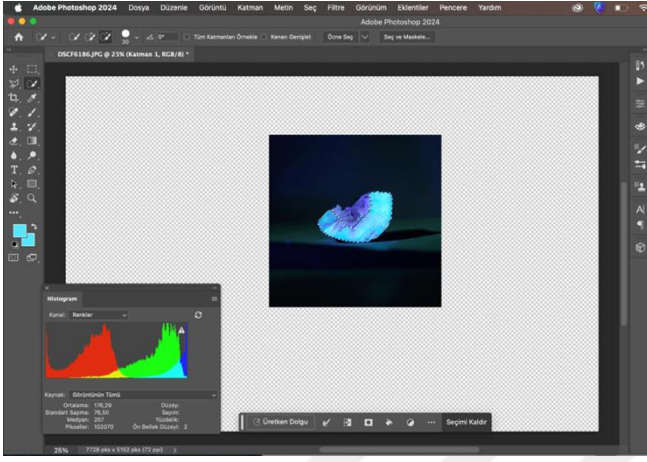
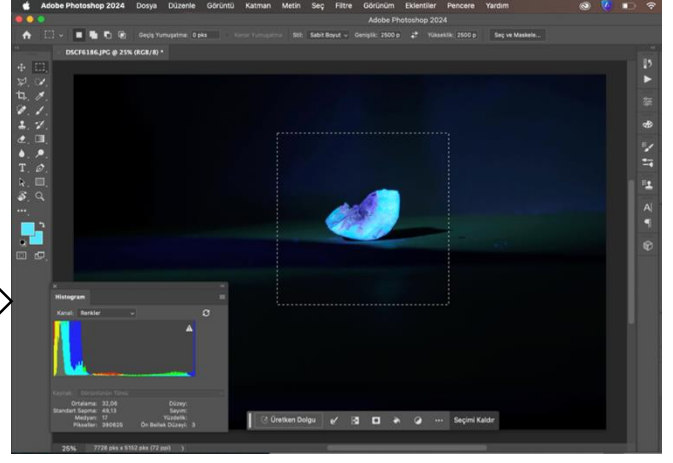
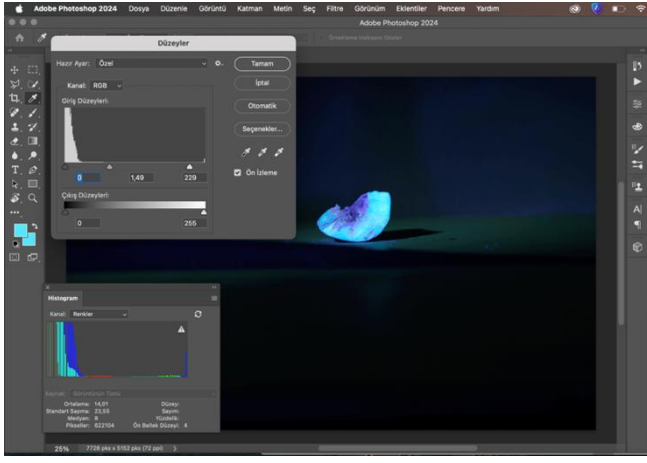
2. Mavi Floresans Alanın Değerlendirilmesi;

Ölüm zamanı tahmininde Ultraviyole Floresans yöntemi kullanımı önceki çalışmalarda kemik yüzeyine yansıtılan UV ışığın yaptığı yansımanın görsel olarak değerlendirmesine dayanmıştır. Sterzik ve ark. tarafından 2016 ve 2017 yıllarında yapılan çalışmalarda kemik yüzeyindeki mavi ışımaya alanının Adobe Photoshop programı ile analiz edilebileceği gösterilmiştir (11,84).

Fotoğrafların değerlendirilmesinde Adobe Photoshop 2024 kullanılmıştır.

- Fotoğraflar yazılıma yüklendikten sonra araçlardan otomatik level ile ayarlanmıştır.
- Seçim aracı ile fotoğraftan 2500x2500 piksellik alan seçilmiştir. Seçilen bölge yeni bir sekmeye kopyalanmıştır.
- “Sihirli değnek” aracı ile kemik yüzeyi seçilerek histogram üzerinden piksel sayısı kaydedilmiştir. Seçim yapılırken sadece kemik doku alınmış olup medüller kanal seçim dışında bırakılmıştır.
- “Damlalık” aracı kullanılarak pozitif örnek olarak belirlenen ölüm zamanı en yakın dönemde olan kemik yüzeyinde yoğunlukta bulunan mavi renk (kırmızı 87, yeşil 230, mavi 255) seçilmiştir. Renk Kodu-Çalışma (RK-Ç) olarak adlandırılmıştır. İncelenen örnekte kaç pikselin aynı mavi floresans rengi gösterdiğini bulmak için "renk aralığı" aracı kullanılmıştır.
- Renk aralığında tolerans 75 olarak belirlenmiştir (Çalışmada tolerans 50, 75, 100 seçilerek değerlendirilmeler yapılmıştır. Tolerans 75 en doğru sonucu gösterdiği izlenmiştir)
- İncelenen örnekte seçilen mavi renk piksel sayısı histogram üzerinden kaydedilmiştir.
- Floresans piksel sayısı ilk adımda hesaplanan toplam örneklem boyutuna bölünerek mavi floresans yüzeyin yüzdesi elde edilmiştir.

Sterzik ve ark. tarafından belirlenen mavi renk (kırmızı 0, yeşil 186, mavi 203) de çalışmada analiz edilmiştir (11). Renk Kodu-Sterzik (RK-S) olarak adlandırılmıştır.



Şekil 7. Adobe Photoshop 2024 programı ile kemik analizi basamakları şematik bir şekilde gösterilmiştir.

C. Luminol Yöntemi

1. Luminol Solüsyonunun Hazırlanması

Luminol solüsyonu hazırlanırken Sigma Aldrich toz luminol kullanılmıştır. Öncelikle Sigma Aldrich websitesinde gösterilen tarife göre solüsyon hazırlanmıştır. 0,1 g Luminol, 10 mL konsantre amonyak içinde çözülmüştür daha sonrasında 100 mL su ile seyreltilmiştir. Kullanmadan önce bu çözeltinin 1 mL'si 4 mL saf su ile seyreltilmiştir. Ardından 0,5 mL %3 H₂O₂ (Hidrojen peroksit) ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu solüsyon pozitif örnek olarak kan üzerinde denenmiştir. Karanlık ortamda yapılan değerlendirme sonucunda kanda kemilüminesans elde edilmiştir. Kemik tozları üzerinde solüsyon denenmiştir ancak kemilüminesans elde edilemediğinden bu tarifle yapılan solüsyonun çalışmada kullanılmasından vazgeçilmiştir.

Daha sonrasında Loci Forensics B.V. markasına ait Lumiscene kiti denenmiştir. Kit içeriğinde 250 ml su bazlı Lumiscene ultra çözeltisi ve H₂O₂ içeren dört adet aktivasyon tableti bulunmaktadır. Aktivasyon tableti çözelti içerisine atıldıktan sonra 5., 10. ve 15.dakikalarda 1 dakika çalkalandıktan sonra Lumiscene solüsyonu hazır hale gelmektedir. Solüsyon karanlık ortamda kan üzerinde denendiğinde pozitif yanıt alınmasına rağmen kemik tozları üzerinde hiçbir kemilüminesans elde edilememiştir.

Üçüncü ve çalışmada kullanılan solüsyon Weber tarafından gerçekleştirilen tarife göre hazırlanmıştır (72). A, B ve C olmak üzere üç ayrı solüsyon oluşturulmuştur. A solüsyonu için 0.354 g toz luminol, 62.5 mL 0.4 mol NaOH (Sodyum hidroksit) ve 437.5 mL saf su karıştırılmıştır. B solüsyonu 8 g NaOH ve 500 mL saf su ile hazırlanmıştır. Son olarak 10 mL %30'luk H₂O₂ ile 490 mL saf sudan oluşan C solüsyonu oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılmak üzere elde edilen nihai solüsyon ise A, B ve C solüsyonunun karıştırılması ile ortaya çıkmıştır. 100 mL'lik nihai solüsyon, her bir solüsyondan (A, B, C) alınan 10 mL'nin 70 mL saf su ile karıştırılmasıyla elde edilmiştir.

2. Kemik Tozlarının Hazırlanması

İlk aşamada kemik tozları Sarabia ve ark. yaptığı çalışmada gösterilen şekilde hazırlanmıştır (77). Kemik parçaları bilyeli kemik kırma makinesinde 10 dakika boyunca çalıştırılarak toz haline getirilmiştir. Ardından üzerlerine Weber'e göre hazırlanan luminol solüsyonu uygulanarak karanlık ortamda kemilüminesans değerlendirilmiştir (72). Ancak hiçbir kemikte ışıma elde edilememiştir.

Daha sonrasında Introna ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışma incelenmiş olup kemik tozu oluşturulurken referans alınmıştır (75). Bilyeli kemik kırma makinesinde 10 dakika boyunca çalıştırılarak toz haline getirilen kemik parçaları daha sonrasında bitki peroksidazlarının olası etkisini önlemek amacıyla 5 dakika süreyle 100°C’de etüvde ısıtılmıştır. Üç ayrı solüsyondan hazırlanan luminol solüsyonu kemik tozları üzerine uygulanarak karanlık odada kemilüminesans incelenmiştir. Değerlendirmeye alınan hiçbir kemikte ışıma gözlenmemiştir. Daha sonrasında kemikler, toz haline getirilmeden önce etüvde 100°C’de 5 dakika boyunca ısıtılmıştır. Ancak sonuç değişmemiştir. Sonrasında çalışmaların çevirisinde bir yanlışlık olduğu düşünülerek 100°C’ye gelene kadar 5 dakika boyunca kemikler hem toz haline getirilmeden önce hem de toz haline getirildikten sonra iki farklı deney şeklinde etüvde ısıtılmıştır. Hiçbir kemik tozunda kemilüminesans gözlenmemiştir.

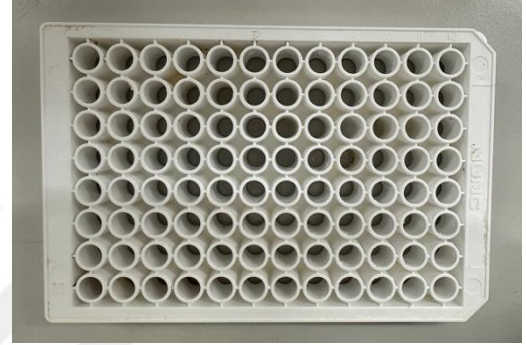
Çalışmada değerlendirilen kemik tozları Dremel 3000 cihazı ile elde edilmiştir. Dremel 3000 cihazı ve 6,4 mm 60 kumlu zımpara ucu kullanılmıştır. Dış etmenlerin olası etkilerinden kaçınmak için kemiklerin dış yüzeyleri dremel ile zımparalanarak temizlenmiştir. Ardından ayrı bir dremel ucu takılarak kemik tozları oluşturulmuştur. Her bir kemik için (hem iç yüzeyi hem de dış yüzeyi) iki ayrı zımpara ucu kullanılmıştır.



Şekil 8. Kemik tozları elde etmek kullanılan Dremel 3000 cihazı

3. Luminometre

Luminometre olarak ThermoFisher Scientific Fluoroskan FL Microplate Fluorometre ve Luminometre cihazı kullanılmıştır. Luminometrik olarak dual ölçüm yapılmıştır. Ölçüm için 96'lı 0,4mL'lik microplate kullanılmıştır.



Şekil 9. ThermoFisher Scientific Fluoroskan FL Microplate Fluorometre ve Luminometre ve 96'lı microplate (Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'ndan destek alınmıştır.)

4. Kemilüminesans Ölçümü

Ölçüm yöntemi olarak Fluorometrik/Luminometrik seçeneklerinden luminometrik ölçüm seçilmiştir. Ölçüm türü olarak “dual” seçilmiştir. Eppendorf tüplerinde yer alan 30 mg'lık kemik tozları üzerine 1 mL hazırlanan luminol solüsyonu eklenmiştir. Tüpler 10 sn boyunca nazikçe çalkalandıktan sonra microplate üzerindeki 96 alandan birine 0,4 mL karışım konulmuştur. 20.saniyede ölçüm için cihaz çalıştırılmış olup 5.saniyede ölçümler gerçekleştirilmiştir. Her kemik için ölçüm tek tek yapılmış olup sonuçlar kaydedilmiştir.

D. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için İstanbul Üniversitesi'nin lisanslı SPSS 28.0 istatistiksel analiz programı kullanılmıştır. Ölüm zamanı için belirlenen gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis analizi gerçekleştirilmiştir. Post-hoc mann-whitney-u ile test edilmiştir. Analiz yapılırken $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

IV. BULGULAR

Çalışmamızda PMI 0-50 yıl arasında her 5 senelik aralıktan 10 örnek olmak üzere 100 olgudan örnek toplanması hedeflenmiştir. Ancak araştırma süresince Adli Tıp Kurumu, Morg İhtisas Dairesi Kemik ve Diş İnceleme Şubesi ve Biyoloji İhtisas Dairesi'ne gelen örneklerin az olması nedeniyle 63 olgudan örnek toplanabilmıştır. Olguların dosyaları incelendikten sonra doğum yılı, ölüm zamanı ve bulunduğu ortam gibi bilgilerdeki eksikliklerden ötürü 58 olgu çalışmaya dâhil edilmiştir. PMI aralıkları 0-10 yıl, 11-20 yıl, 21-30 yıl, >30 yıl olarak belirlenmiştir.

Tablo 1. Çalışmada değerlendirilen olguların PMI göre sınıflandırılması

PMI Grupları	Olgu Sayısı (n)	%
0-10 yıl	26	%45
11-20 yıl	11	%19
21-30 yıl	13	%22
>30 yıl	8	%14

Çalışmada ölüm zamanı belli olan erişkin olgulardan kemik örnekleri toplanmış olup yaş aralığı 18 ile 102 yılları arasında (Ortalama $\pm 54,27$) değişmektedir. Olguların %34'ü kadın (n=20), %66'sı erkektir (n=38). 31 olgudan mezar açma sonrasında kemik örnekleri elde edilmiştir. 5 olguya ait kemik kalıntıları ormanlık alanda tespit edilirken, 1 olgu kuyu içerisinde, bir diğer olgu da dağlık alanda kayalıklar arasında bulunmuştur. Evinde çürümüş halde bulunan olgu ve betona gömülü halde bulunan olgu dışında geri kalan olgular toprağa gömülü halde bulunmuştur.

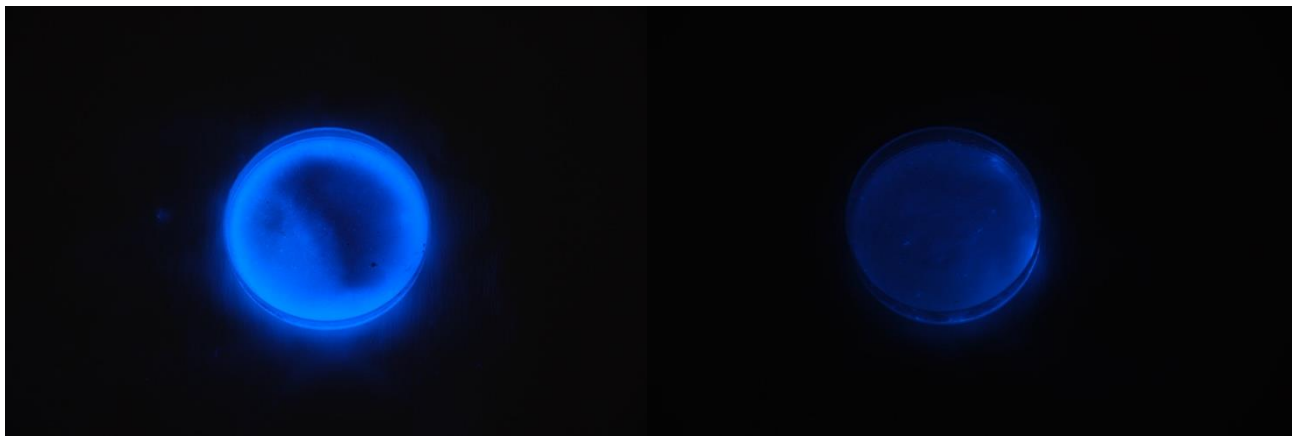
Tablo 2. Çalışmada değerlendirilen olguların tafonomik koşullarına göre sınıflandırılması

Tafonomik Koşullar	Olgu Sayısı (n)	%
Mezar Açma	31	%54
Açık Alanda	6	%10
Kuyu İçerisinde	1	%1,5
Kapalı Alanda	1	%1,5
Gömülü (Toprak ve beton)	19	%33

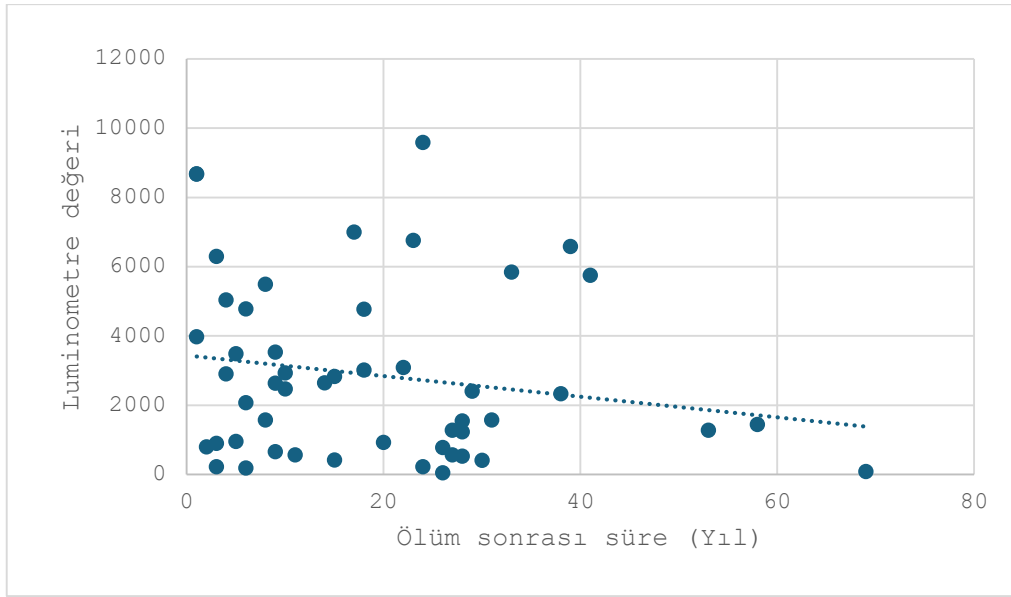
4 olguda kafa iskeleti kemiklerinden örnek alınmıştır. 1 olguda ulna, 2 olguda ise tibia kemiğinden örnek alınmıştır. Geri kalan olgularda kemik örnekleri femur kemiğinden alınmıştır.

A. Luminometre Ölçümü Sonuçları

Kemiklerden elde edilen tozlar üzerine luminol solüsyonu sıkılarak gözlenen ışıma makroskobik olarak değerlendirilmiştir (Şekil 10). Daha sonrasında kemik tozlarına ait kemilüminesans değerleri luminometre cihazıyla ölçülmüştür. 5.saniye sonundaki ölçümlerden elde edilen sayısal değerler kaydedilmiştir.



Şekil 10. Sırasıyla ölüm zamanı 2023 ve 2015 yılı olan iki olguya ait kemilüminesans ışımaları



Şekil 11. Luminometrik değerlere ait korelasyon eğrisi

Luminometrede ölçülen değerler ile ölüm zamanı arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir ($r:-0,18198$).

		Luminometre Değeri			p
		Min-Mak	Ortanca	Ort.±ss	
Ölüm sonrası geçen süre	0-10Yıl	186.7 - 8683	2904.0	3251.3 ± 2518.4	<.376 ^K
	11-20 Yıl	415.4 - 6998	2738.0	2769.7 ± 2260.7	
	21-30 Yıl	51.8 - 9587	1228.0	2189.0 ± 2851.8	
	>30 Yıl	82.8 - 6583	1950.5	3110.8 ± 2530.0	

^K Kruskal-wallis

Tablo 3. Luminometrik değerlerin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Ölümden sonra geçen süreye göre ayrılan gruplar arasında luminometre değerlerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). PMI 0-10 yıl arasında ortalama luminometrik değer 3251.3 olarak tespit edilmiştir. PMI aralıkları incelendiğinde luminometrik değerlerde azalma izlenmiştir. Ancak >30 yıl olan grupta luminometrik değerlerde artış söz konusudur.

		Luminometre Değeri			p
		Min-Mak	Ortanca	Ortalama	
Ölüm sonrası geçen süre	0-30Yıl	51.8 - 9587	2434.5	2859.7	<.958 ^m
	>30 Yıl	82.8 - 6583	1950.5	2958.7	

^m Mann-Whitney u test

Tablo 4. Luminometrik değerlerin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

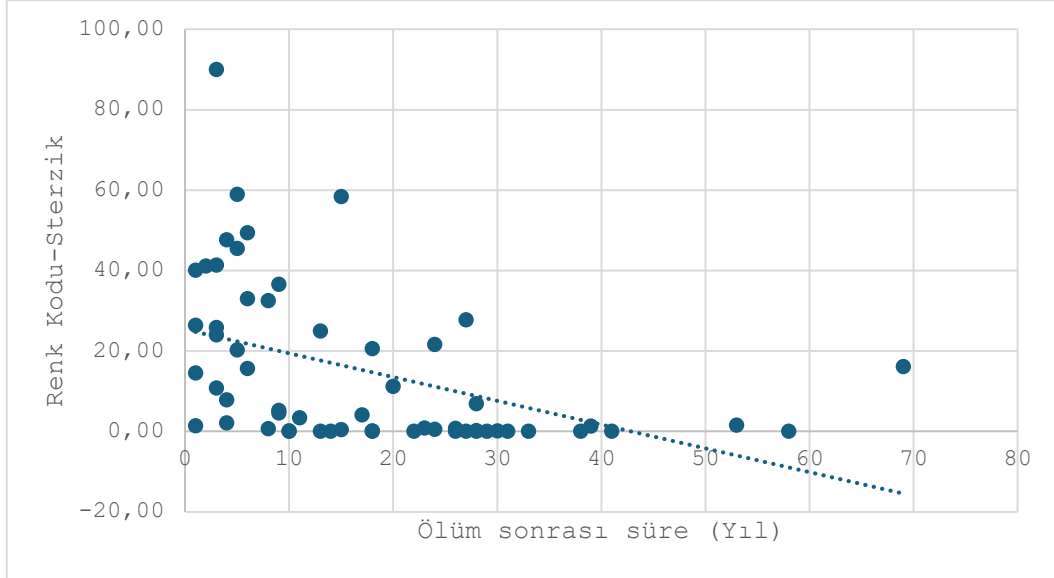
0-30 yıl ve >30 yıl olan olgular karşılaştırıldığında da luminometre ölçüm değerlerine göre anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). En yüksek luminometrik ölçümler PMI 0-30 yıl arası olgularda izlenmiştir. Değerlerin ortalamasına bakıldığında >30 yıl olgularda daha yüksek ölçümler elde edilmiştir.

B. UV Floresans Yöntemi Sonuçları

PMI 0-10 yıl olan olgulara ait kemik örneklerinde 3 olgu hariç tüm kemiklerde mavi renkli ışımaya her iki renk kodunda da %1'in üzerinde izlenmiştir. PMI 11-20 yıl arası olan 11 örnekten (RK-S'ye göre) 5'inde mavi ışımaya yüzdesi %1'in altında izlenmiştir. Bu örneklerden (RK-Ç'ye göre) 6'sında mavi ışımaya yüzdesi %1'in altında izlenmiştir. PMI 21-30 yıl arası olan 13 örnekten (RK-S'ye göre) 10'unda mavi ışımaya yüzdesi %1'in altında izlenmiştir. Aynı örneklerden yapılan değerlendirmelerde (RK-Ç'ye göre) 6'sında mavi ışımaya yüzdesi %1'in altında izlenmiştir. PMI >30 yıl olan 8 olgudan her iki renk koduna göre yapılan değerlendirmelerde sırası ile 5 ve 6 olguda mavi ışımaya yüzdesi %1'in altındadır.

PMI <10 yıl olan olgulara ait kemik örneklerinde mavi renkli ışımaya her iki renk kodunda da %88 oranında %1'in üzerinde izlenmiştir. PMI 11-20 yıl arası olan olgular için (RK-S'ye göre) %55'i %1'in üzerinde mavi ışımaya göstermiştir. Bu örneklerin (RK-Ç'ye göre) %45'inde mavi ışımaya yüzdesi %1'in üzerinde izlenmiştir. PMI 21-30 yıl arası olan örneklerden (RK-S'ye göre) yapılan incelemelere göre %23'ünde mavi ışımaya alanı %1'in üzerinde tespit edilmiştir. Aynı örneklerden yapılan değerlendirmelerde (RK-Ç'ye göre) %54'ünde %1'in üzerinde mavi renkli ışımaya alanı gösterilmiştir. PMI >30 yıl olan örneklerin her iki renk koduna göre (RK-S

ve RK-Ç'ye göre) yapılan değerlendirmede sırasıyla %38'inde ve %25'inde mavi ışık alanı %1'in üzerindedir.



Şekil 12. UV Floresans (Renk Kodu-Sterzik) değerlere ait korelasyon eğrisi

RK-S'ye göre elde edilen değerlerle ölüm zamanı arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir ($r:-0,44533$).

		Renk Kodu (Sterzik)			p
		Min-Mak	Ortanca	Ort.±ss	
Ölüm sonrası geçen süre	0-10Yıl	0.0 - 90.0	24.90	26.0 ± 22.2	<.001 ^K
	11-20 Yıl	0.0 - 58.4	3.41	11.2 ± 18.0	
	21-30 Yıl	0.0 - 27.7	0.21	4.5 ± 9.2	
	>30 Yıl	0.0 - 16.2	0.01	2.4 ± 5.6	

^K Kruskal-wallis / Mann-whitney u test

Tablo 5. UV Floresans (Renk Kodu-Sterzik) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

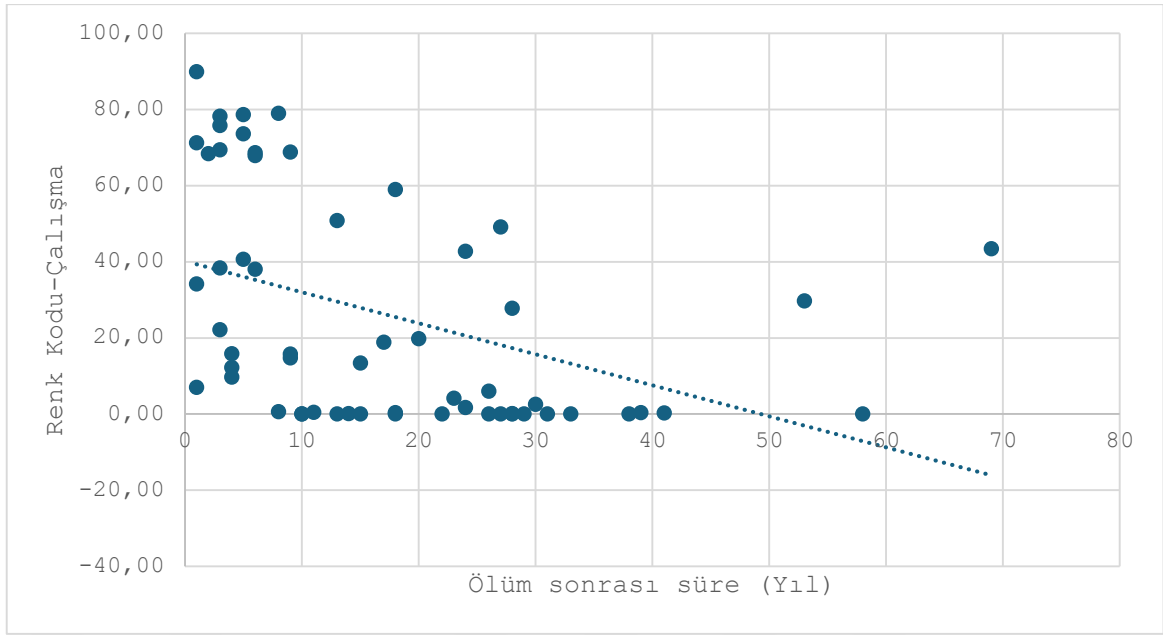
PMI 0-10 yıl olan grupta **RK-S**'ye göre yapılan değerlendirme diğer gruplardan anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksek tespit edilmiştir. PMI 11-20 yıl olan grup >30 yıl olan gruptan **RK-S**'ye göre anlamlı daha yüksektir. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). UV floresans yüzdelerine bakıldığında en yüksek değerler 0-10 yıl aralığında izlenmiştir. PMI 0-10 yıl olan grupta ortalama UV floresans yüzdesi 26.0 olduğu görülmüştür. Ölüm sonrası geçen süre arttıkça, **RK-S**'ye göre gerçekleştirilen UV floresans yüzdelerinde azalma izlenmiştir.

		Renk Kodu (Sterzik)			p
		Min-Mak	Ortanca	Ort.±ss	
Ölüm sonrası geçen süre	0-30Yıl	0.0 - 90.0	7.38	17.1 ± 20.7	<.007 m
	>30 Yıl	0.0 - 16.2	0.01	2.4 ± 5.6	

^m Mann-whitney u test

Tablo 6. UV Floresans (Renk Kodu-Sterzik) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Ölümünden sonra geçen süreye göre ayrılan gruplar arasında **RK-S**'ye yapılan değerlendirme 0-30 yıl arasında, 30 yıldan büyük gruba göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0.05$). PMI 0-30 yıl ve >30 yıl karşılaştırıldığında, yüksek UV floresans yüzdelerinin <30 yıl altı olan grupta olduğu görülmektedir. Bu gruptaki ortalama UV floresans yüzdesi 17.1 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 13. UV Floresans (Renk Kodu-Çalışma) değerlere ait korelasyon eğrisi

RK-Ç'ye göre elde edilen değerlerle ölüm zamanı arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir ($r:-0,41756$).

		Renk Kodu (Çalışma)			p
		Min-Mak	Ortanca	Ort.±ss	
Ölüm sonrası geçen süre	0-10Yıl	0.0 - 90.0	39.52	43.8 ± 30.8	<.001 ^K
	11-20 Yıl	0.0 - 59.0	0.41	14.8 ± 21.4	
	21-30 Yıl	0.0 - 49.1	1.68	10.3 ± 17.5	
	>30 Yıl	0.0 - 43.4	0.12	9.2 ± 17.3	

^K Kruskal-wallis / Mann-whitney u test

Tablo 7. UV Floresans (Renk Kodu-Çalışma) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Çalışmamızda bulunan **RK-Ç**'ye göre yapılan değerlendirme PMI 0-10 yıl olan grupta diğer gruplardan anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksek izlenmiştir. PMI 11-20 yıl, 21-30 yıl ve

>30 yıl olan gruplar arasında **RK-Ç**'de anlamlı farklılık izlenmemiştir ($p>0.05$). UV floresans yüzdelerine bakıldığında en yüksek değerler 0-10 yıl aralığında izlenmiştir. PMI 0-10 yıl olan grupta ortalama UV floresans yüzdesi 43.8 olduğu görülmüştür. Ölüm sonrası geçen süre arttıkça, **RK-Ç**'ye göre gerçekleştirilen UV floresans yüzdelerinde azalma izlenmiştir.

		Renk Kodu (Çalışma)			p
		Min-Mak	Ortanca	Ort.±ss	
Ölüm sonrası geçen süre	0-30 Yıl	0.0 - 90.0	15.8	28.7 ± 30.1	<.028 ^m
	>30 Yıl	0.0 - 43.4	0.12	9.2 ± 17.3	

^m Mann-whitney u test

Tablo 8. UV Floresans (Renk Kodu-Çalışma) değerlerinin ölüm zamanına göre karşılaştırıldığı istatistiksel analiz

Ölümünden sonra geçen süreye göre ayrılan gruplar arasında **RK-Ç**'ye göre 0-30 yıl arasında, 30 yıldan büyük gruba göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0.05$). PMI 0-30 yıl ve >30 yıl karşılaştırıldığında, yüksek UV floresans yüzdelerinin 0-30 yıl olan grupta olduğu görülmektedir. Bu gruptaki ortalama UV floresans değeri %28.7 olarak bulunmuştur.

V. TARTIŞMA

Postmortem intervalin (PMI) doğru bir şekilde tahmin edilmesi, kurbanın kimliği ve ölüm nedeni kadar, ölümle ilgili herhangi bir adli soruşturmanın merkezinde yer alan ve aydınlatılması beklenen temel bir hedeftir. PMI'in belirlenmesi, bir iddianın doğrulanmasına / dışlanmasına ya da bir ölenin perimortem faaliyetlerinin aydınlatılmasına hizmet ederek bir soruşturmayı yönlendirebilmektedir (85). Geleneksel olarak uygulamada, PMI erken postmortem dönemde sıklıkla rigor mortis, livor mortis ve algor mortis gibi göstergeler kullanılarak tespit edilmektedir. Zaman aralığı uzadıkça antropolojik parametreler PMI tahmininde giderek daha yetkin hale gelmiştir (49).

Ölümünden bu yana geçen süre arttıkça değişkenlerin arttığı ve giderek zorlaştığı akılda tutulmalıdır. Tahmin, potansiyel olarak, artı veya eksi dakika aralığıyla başlar daha sonrasında saatlere, günlere, haftalara, aylara ve son olarak da “uzun bir süre”ye kadar ilerlemektedir. Ölümün ne zaman gerçekleştiği sorusuna çok geniş aralıklar vermek adli soruşturmaları açığa kavuşturmak için yeterli olmazken, doğası gereği tahminlerin de kesin olmadığı unutulmamalıdır (18).

Elde edilen kemiklerin günlük adli tıp rutininde ölüm zamanı tahmini yapılırken makroskobik özelliklerine göre değerlendirildiği bilinmektedir. Ölümünden sonra medüller boşluktaki yağ açığa çıktığı için kemik önce yağlı bir görünüm kazanacaktır. Sonrasında kemik, içeriğindeki nemini ve kollajenini kaybetmesi nedeniyle daha kuru bir yapı kazanmaktadır. Bu değişikliklere göre ölümünden sonra geçen süre tahmin edilmektedir (54). Bu değerlendirmenin yetersiz kalması nedeniyle geçmişten günümüze kemiklerden ölüm zamanı tahmin edebilmek için çeşitli yöntemler denenmiş ve kemik doku içeriğindeki maddelerin zamanla kaybının değerlendirildiği çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Sitratın insan vücudunda %90 oranında kemik dokuda bulunması aynı zamanda kemikteki sitrat miktarının 4 hafta sabit kalıp azalacağı bilgisi nedeniyle ölüm zamanı ile kemikteki sitrat arasındaki ilişkinin değerlendirilebileceği düşünülmüştür (57). Sitrat değerlendirmesinin çevresel ve bireysel faktörlerden etkilenip etkilenmediği bilinmediğinden güvenilir sonuçlar elde edilememiştir (86). Kemik organik matriksindeki protein içeriğinin azalması prensibiyle analiz edilen Nitrojen miktarının %2,5 üzerinde olması ölümün 350 yıldan uzun bir zamanda gerçekleştiğini, bu değerin %3,5 üzerinde olması ise ölüm zamanının 50

öncesinde olduğunu göstermektedir. Çevresel faktörlerin etkisi ve yetersiz çalışma sayısı nedeniyle güvenilir bulunmamaktadır (54). Proteinin yapıtaşı olan aminoasitlere bakarak ölümden sonraki süreç ile aralarındaki ilişki değerlendirilmek istenmiştir. Ancak tek başına aminoasit değerlendirmesinin güvenilir olmaması ve yeterli çalışma bulunmaması nedeniyle günlük rutinde kullanılamamaktadır. Benzidin kemiklerdeki kan ve ürünlerini tespit etmektedir. Benzidin reaksiyonundan benzidinin kanserojen olması nedeniyle vazgeçilmiştir (54). Kollajenin ölüm sonrası süreçte zamanla azalması prensibine bağlı olarak ölüm zamanı ile ilişkisi incelenmiştir. Kemiklerdeki kollajen ve kollajen olmayan ürünlerin oranına dayanan çalışmalar da pratik deneyimdeki yetersizlik nedeniyle eksik kalmaktadır (60).

Soruşturmaya neden olan ya da soruşturma sırasında bulunan kemiklerin adli bir olaya ait ya da arkeolojik bir buluntu olup olmadığının değerlendirilmesi ve soruşturmanın bu ayrım sonrasında yönlendirilmesi de önemlidir. Dolayısıyla kemiklerin bu perspektif ile de tarihlenmesi önemlidir. Bu tür araştırmalarda tarihlendirmede kullanılan radyokarbon yöntemi, besin zinciri ile organizmaya alınan C-14'ün zamanla azalmasının ölçülmesi ile ölüm zamanı hakkında bilgi sağlamaktadır. 300 yıl üzeri olgularda daha doğru sonuçlar vermesi ve C-14'ün yarılanma süresinin 5730 yıl olması nedeniyle yeni radyoizotoplara ihtiyaç duyulmuştur (65). Stronsiyum, Plumbum, Polonyum radyoizotoplarının ölçümünü inceleyen çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Radyoaktif Stronsiyum, atmosferik testler sonucu atmosfere yayılmasıyla besin zinciri yoluyla insan vücudunda bağırsaklardan emilip kemik matriksine ulaşmaktadır. Plumbum ve Polonyumun, Stronsiyuma göre avantajı ise atmosferik testlerden etkilenmeyip kemiklerde sabit oranda kalmasıdır. Aynı zamanda Polonyumun yarılanma ömrünün 138,4 gün, Plumbumun ise 22,3 yıl olması bir diğer avantajı olarak değerlendirilmektedir (55). Yapılan çalışmalarda Stronsiyumun 1950'lerden sonraki aktivitesine bakılarak ölüm zamanı tahmini yapılacağı düşünülmüştür. Ancak Stronsiyumun azaldığı durumlarda PMI hakkında yorum yapmak zorlaşmaktadır (67,87). Radyoaktif izotop değerlendirmesi kişinin beslenmesine, yaşına ve yaşadığı ortama bağlı olmaktadır. Ayrıca bu yöntemin maliyetinin yüksek olması nedeniyle çalışmalarda yetersizlikler bulunmaktadır.

Adli tıbbi incelemelerde kemiklerden ölüm zamanı tahmini yapılırken dar aralıklı bir sonuca ulaşmak mümkün olamamaktadır. Bu durum kolay bir şekilde uygulanabilen kısa aralıklı sonuçlara ulaşmayı sağlayan yeni yöntemlere gereksinim doğurmuştur.

Çalışmada ölüm zamanı belli olgulardan alınan kemik kesitlerindem öncesinde ultraviyole ışık ile floresans değerlendirmesi yapılmıştır. Daha sonrasında aynı kemiklerden elde edilen kemik tozlarına luminol solüsyonu uygulanarak elde edilen kemilüminesans derecesi luminometre ile analiz edilmiştir. Her iki yöntemin ölüm zamanı tahmininde uygulanabilirliği incelenmiştir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda floresans özellikleri ile PMI korelasyonu arasında farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Knight ve Lauder ile Berg ve Specht yaptıkları çalışmalarında kemik kesitlerinin tüm yüzeylerinde mavi floresansın varlığı ve farklı renklerin yokluğunun yalnızca 100-150 yıllık bir PMI'ya kadar gözlemlenebileceğini savunmuştur. Aynı zamanda bu yöntemin kullanımının sınırlı olduğu ve diğer testlerle birlikte doğrulayıcı bir gösterge olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca femur, humerus veya tibia dışındaki kemiklerin incelendiği durumlarda, kaburga, kafa iskeleti vb. kemiklerdeki kalınlığın az olması nedeniyle hızlı marjinal değişiklikler kısa sürede tüm kemiği kaplayarak floresans sonuçlarını etkileyecektir (59,88). Facchini ise 366 nm UV ışık kullanarak gerçekleştirdiği çalışmada taze kemiklerde daha yoğun bir ışıma elde etmiştir. Yine de ışımının 300 yıla kadar gözlenebileceğini belirtmiştir (89).

2016 yılında Sterzik ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise kemik kesitlerinin optik davranışları değerlendirilerek UV floresans yöntemine farklı bir bakış açısı sağlanmıştır. Bu çalışmada ölüm zamanı bilinen 30 femur kemiğinden kesitler alınmıştır. 28 kemik örneği altı farklı mezarlıktan toplanmıştır. Kemiklerin ölüm zamanı aralığı 1 ile 49 yıl arasında değişmektedir. Her kemik yumuşak dokudan ve topraktan arındırılarak deney aşamasında artefaktlardan uzaklaştırılmak adına zımpara ile temizlenmiştir. Kemikler 18-20 derece arasında kuru ve karanlık bir ortamda saklanmış olup, bekleme süreci ölüm zamanına eklenmiştir. Deneyde farklı dalga boylarındaki iki farklı ışık kaynağı kullanılmıştır. Adli ışık kaynağı olarak koyu kırmızı renk filtreli 490 nm ışık kullanılmıştır. UV ışık olarak da 365 nm çalışmaya katılmıştır. Kemik kesitleri siyah kumaş kaplı kutu içerisinde fotoğraflanmıştır. Pozitif örnek olarak PMI<14 gün ve negatif örnek olarak PMI>150 yıl olan iki kemik kullanılmıştır ve toplam 30 olgu analiz edilmiştir. Her numune UV ışık altında belirli oranda mavi floresans ve/veya 490 nm ışık altında kırmızı floresans yüzey göstermiştir. PMI ile mavi floresans yüzeyin alansal genişliği arasında anlamlı bir korelasyon ($p = 0,009$) tespit edilmiştir. Mavi floresans yüzeyin zaman içinde azaldığı gösterilmiştir. Çalışmada yalnızca PMI değeri 50 yılın altında olduğu bilinen örnekler bulunduğundan, adli veya tarihi kemiklerde eşik değeri 30

yıl olarak değerlendirilmiştir. PMI <30 yıl olan numunelerin %78,9'u %1'den fazla mavi floresans yüzeyi göstermiştir. Buna karşın, PMI>30 yıl olan örneklerin %54,5'inde mavi floresans yüzey %1'den fazla olduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda floresans yüzeyinin PMI değeri arttıkça lineer olarak azaldığı tespit edilmiştir. Ancak PMI>30 yıl olan örneklerin büyük çoğunluğunda da %1'den fazla gözlenmesi bu yöntemin ölüm zamanı değerlendirmesinde ancak yardımcı yöntem olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür (11).

Sterzik ve ark. tarafından 2017 yılında gerçekleştirilen devam çalışmasında adli araştırmalardaki 50 yıllık eşik değerini aşmak için PMI>50 yıl olan 20 femur kemiği incelenmiştir. Elde edilen kemikler kuru ve karanlık ortamda nispeten sabit sıcaklıkta saklanmıştır. Değerlendirme için her kemikten kesitler alınmıştır. Artefaktları elimine etmek için zımpara kullanılmıştır. 365 nm UV ve 490 nm adli ışık kaynağı ile kemiklerin optik davranışları incelenmiştir. Her kemik fotoğraf kutusu içerisinde ışık kaynakları yansıtılarak fotoğraflanmıştır. Değerlendirilen 20 kemiğin hiçbirinde UV ışık altında mavi floresans izlenmemiştir. 490 nm adli ışık kaynağı altında kırmızı floresans da incelendiğinde iki yöntemin bir arada kullanılmasının PMI açısından en doğru bilgileri verdiği görülmüştür. Bir önceki çalışma ile birlikte değerlendirildiğinde mavi ve kırmızı floresans yüzeylerin varlığının %1'den fazla olması, PMI $\geq$ 50 yılı dışlamak için bir belirteç olarak kabul edilebileceği hatta PMI <30 yıl olması muhtemel olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bununla birlikte, mavi ve kırmızı floresans yüzeylerin %1'den az olması PMI $\geq$ 50 yıl olduğunu gösterirken, PMI <50 yıl olduğunu dışlamanın mümkün olmayacağı düşünülmüştür (84).

Çalışmada UV floresans yöntemi ile yapılan değerlendirme sonucunda 0-10 yıl aralığında bulunan 26 kemiğin 23'ünde her iki renk koduna göre mavi renkli ışımaya gözlenmiştir. Ölüm zamanı ile UV floresans arasında 0-10 yıl olan grupta her iki renk koduna göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmiştir. <30 yıl ve >30 yıl olarak değerlendirildiğinde ise <30 yıl olan olgular ile UV floresans arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca korelasyon analizi yapıldığında her iki renk kodu ile yapılan UV değerlendirilmesinde, ölüm zamanı ile UV floresans yüzdeleri arasında negatif korelasyon izlenmiştir. Her iki renk koduna ait negatif korelasyon değeri benzer saptanmıştır. Sonuçlar Sterzik ve ark. (11) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile uyumlu bulunmuştur. Ölümden sonra geçen süre ilerledikçe mavi renkli ışımaya gösteren kemik sayısında azalma gözlenmiştir. Ancak ölüm zamanı arttıkça mavi renkli ışımaya yüzdesinde bir azalma izlenmemiştir. Bu sonuç, Ramsthaler ve ark. (79) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonucu ile uyuşmamaktadır. PMI 10 yıla kadar olan kemik

yüzeylerinde yüksek oranda mavi renkli ışımaya elde edilmesi bu yöntem için umut verici olarak değerlendirilmiştir (Tablo 5& Tablo 7). Ancak eski dönemlere ait örneklerde de mavi renkli ışımaya izlenmesi bu yöntemin ölüm zamanı değerlendirmesinde tek başına kullanılmasını sınırlandırmaktadır. Kemik yüzeyindeki mavi renkli ışımaya alanının %1'den fazla olması kişinin yakın dönemde öldüğünü göstermemektedir. Sonuç olarak bu yöntem tek başına ölüm zamanı tahmini için yetersiz kalmaktadır.

Hoke ve ark. (81) tarafından, ölüm zamanı belli 213 kemiğin ölüm zamanı ile UV floresans arasındaki ilişki incelenmiştir. Yapılan çalışmada kemik yüzeylerindeki sarı ve mavi renkli floresans incelenmiştir. PMI ile floresans rengi arasında bir korelasyon olduğu ancak PMI ile floresans yoğunluğu arasında korelasyon tespit edilmediği gösterilmiştir. Ölüm zamanı 60 yılın altında olan 1 olgu hariç diğer olgularda sarı floresans izlenmemiştir. Böylece sarı floresans renginin tarihi kemikleri ölüm zamanı değerlendirilmesinde kullanılabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda yalnızca 365 nm dalga boylu UV ışık kullanıldığı, mavi renkli ışımaya alanı ve buna ait yüzdeler değerlendirildiği için Hoke ve ark. (81) tarafından değerlendirilen sarı renkli ışımaya hakkında yorum yapılamamıştır. Aynı zamanda ölüm zamanı 30 yılın üzerinde olan olgu sayısının az olması nedeniyle çalışmanın ilerleyen dönemlerde tekrarlanması uygun görülmüştür.

Aynı kemiklerden elde edilen kemik tozlarına Weber'e (72) göre hazırlanan luminol solüsyonu uygulanmıştır (72). PMI 0-10 yıl, 11-20 yıl, 21-30 yıl ve >30 yıl olan gruplar ile luminometrik değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç izlenmemiştir. İstatistiksel analiz sonucunda, <30 yıl ve >30 yıl olan PMI grupları ile luminometrik ölçümler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Korelasyon analizi yapıldığında ölüm zamanı ile luminometrik değerler arasında negatif korelasyon izlenmiş ancak istatistiksel analiz ile birlikte değerlendirildiğinde anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 3).

Introna ve ark. (75) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ölüm zamanı belli 80 femur kemiğinden elde edilen kemik tozları öncelikle etüvde 100°C'de 5 dakika boyunca ısıtılmıştır. Deney sonucunda kemilüminesans seviyeleri üç dakika boyunca video kamera ile kaydedilmiştir. 1 ay-3 yıl arası değişen 20 kemiğin tümünde güçlü kemilüminesans gözle görülmüştür. 25 yıldan sonraki olgularda kemilüminesans seviyesi zayıflamıştır (75). Çalışmamızda kemik tozları ilk olarak etüvde ısıtılmıştır. Ancak ısıtılan kemiklerde gözle görülür bir kemilüminesans elde edilememiştir. Bu durumun sıcaklığın hemoglobin üzerindeki

negatif etkisi sayesinde gözleendiği düşünölmüştür. Bu nedenle çalışmamızdaki tüm örneklerde herhangi bir ısıtma yöntemi kullanılmamıştır.

Sarabia ve ark. (77) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, ölüm zamanı 15 ile 64 yıl arasında olan 102 kemik örneğinden kemik kırma makinesi ile kemik tozları oluşturulmuştur. Her kemikten kemilüminesans yoğunluğunu tespit etmek amacıyla luminometre ile ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar, uygun koşullar altında, luminol tekniğinin 0-65 yıl PMI aralığında kemikteki hemoglobini tespit edebileceğini ve $PMI < 20$ yıl ve $PMI \geq 20$ yıl olan örnekler arasında kemilüminesans yoğunluğunda önemli farklılıklar bulunduğunu göstermektedir. Ek olarak, luminol ile reaksiyondan sonra 10 s, 15 s ve 20 s'de ölçülen kemilüminesans yoğunlukları, azalan logaritmik bir model izleyerek, çalışılan kemikte PMI ile istatistiksel olarak anlamlı bir ters ilişki göstermiştir (77). Çalışmamızda kemiklerden ilk olarak bilyeli kemik kırma makinesinde kemik tozu elde edilmiştir. Ancak elde edilen bu kemik tozlarından hiçbir olguda kemilüminesans izlenmemiştir. Çalışmada kullanılan bilyeli kemik kırma makinesindeki bilyenin metal olması ve makinenin çalışma esnasında bilyenin ısınarak kemikleri de ısıtması nedeniyle kemik içeriğindeki hemoglobinin denatüre olması sonucu kemilüminesans oluşmadığı düşünölmüştür. Bu çalışmada kemiklerin luminol solüsyonu eklendikten sonra luminometre ile 5.saniyedeki kemilüminesans değerleri ölçölmüştür. Bu ölçümlerde kemilüminesans açısından incelenen yıllar arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Kemik içeriğindeki kan ürünlerinin zamanla azaldığı bilinmektedir. Ancak bu azalmanın hangi durumlardan ne oranda etkilendiği hala bilinmemektedir. Çalışmada gözlenen bu duruma kemiklerin bulunduğu ortama ait çevresel faktörlerin neden olabileceği düşünölmüştür. Aynı zamanda $PMI > 30$ yıl olan olgu sayısının az olmasının da sonucu etkilediği düşünölmektedir. Yine de çalışmamızda 20 olguya ait, luminometre ile belirli aralıklarla yapılan ölçümlerde elde edilen değerlerin, luminol solüsyonu eklendikten sonra gerçekleştirilen ilk ölçümde elde edilen değerlere göre azaldığı görölmüş olup Sarabia ve ark. (77) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Farklı tipteki kemik dokularında luminol değerlendirmesi yapan bir çalışmada, yanlış negatif sonuçların kemik tiplerine göre değişiklik gösterdiği izlenmiştir (90). Bu durumun çalışmamızın sonucunu da etkilediği düşünölmüştür. Çalışmamızda kemik tiplerine göre ayrı bir değerlendirme yapılmamıştır. Her ne kadar femur, tibia gibi kortikal kemikler daha büyük oranda bulunsada çevresel faktörlerin her iki kemik tipini de -trabeküler kemikleri daha fazla

olmak üzere- etkilediği bilindiğinden, bu durum çalışmanın kısıtlılığı olarak düşünülmektedir (51,91).

Tafonomik koşulların, luminol yöntemi ile PMI tahminine etkisini inceleyen bir çalışmada, ölüm zamanı bilinen 30 adet klavikula kemiği 12 ay boyunca farklı tafonomik koşullara maruz bırakılmıştır. Benzer şartlarda gömülü olan kemiklerde benzer kemilüminesans izlenmiştir. Yanmış kemikte kemilüminesans izlenmemiştir. Kapalı alanda bulunan kemiklerdeki kemilüminesans yoğunluğu açık alandakine göre daha yüksek bulunmuştur (80). Çalışmamızda kemiklerin bulunduğu ortamlar kayıt altına alınmıştır ancak tafonomik koşulların etkisi değerlendirilmemiştir. Ölüm zamanı 2019 yılı olan bir olgunun luminometre ile ölçülen kemilüminesans değerinin çok yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dosyası incelendiğinde kemiklerin baraj kenarında suların çekilmesi sonrası bulunduğu, beyin dokunun hala mevcut olduğu izlenmiştir. Bir başka olguda ölüm zamanı 2018 yılı olmasına rağmen kemilüminesans değeri çok düşük olduğu görülmüştür. Dosyasında kemiklerin dağlık alanda iki kaya arasında açık alanda bulunduğu anlaşılmıştır. Yine kemilüminesans değeri ölüm zamanı ile uyumsuz olarak çok yüksek tespit edilen bir olguya ait kalıntıların ev içerisinde, mumyalaşmış bir şekilde bulunduğu görülmüştür. Kemilüminesans değeri çok yüksek olan 15 yıllık bir vakanın dosyası incelendiğinde evinin önünde beton içerisinde gömülü olduğu, kalıntıların bulunduğu esnada beyin dokunun hala korunduğu görülmüştür. Gözlemlenen bu sonuçlar, Ermida ve ark. (80) tarafından gerçekleştirilen çalışmayı destekler niteliktedir.

PMI tahmininde çevresel faktörlerin etkisi göz ardı edilemeyecek kadar büyüktür. Genel gözlemler, en çok etkileyen üç değişkenin sıcaklık, böceklerin erişimi ve gömme derinliği olduğunu göstermektedir (5). Kalıntıların gömülü olduğu toprağın nemi, pH'ı, asidik derecesi gibi çeşitli bulgular da ölüm zamanı değerlendirmesinde etkili olmaktadır. Çalışma, farklı ortamlarda bulunan olgulara ait kemikler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Olguların çoğunluğu mezar açma ve gömülü kemiklerden elde edilmiştir. Ancak kemiklerin bulunduğu koşullar hakkında detaylı bilgi bulunmamaktadır. Bu koşulların çalışmaya dâhil edilememesi sonuçlar hakkında yorum yapmayı sınırlandırmaktadır.

Çalışmada örnek toplama süreci yaklaşık iki yıl sürmüştür. Her ne kadar örnekler karanlık, kuru ve sabit sıcaklıktaki bir ortamda bekletilse de bu bekleme sürecinin kemiklere etkisi bilinmediğinden kısıtlılık olarak değerlendirilmiştir.

Aynı zamanda çalışmamıza dâhil edilen kemikler kemik türünden bağımsız olarak incelenmiştir. Ancak farklı tipteki kemiklerin çevresel değışkenlere karşı dayanıklılığı göz önünde bulundurulduğunda kemiklerdeki ısımanın bu süreçlerden nasıl etkilendiğı bilinmemektedir. Bu da çalışmanın sonucunu ve uygulanabilirliğini sınırlandırmaktadır.



VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında;

- Anlamlı sonuçlar elde edilmiş olsa da kemiklerden ölüm zamanı tahmininde ultraviyole floresansının tek başına uygulanmasının güvenilir olmadığı,
- Kemik dokudan ölüm zamanı tahmininde luminol kemilüminesansının tek başına değerlendirilmesinin uygun olmadığı,
- Kemik dokudan ölüm zamanı değerlendirilirken kalıntıların bulunduğu tafonomik koşulların göz önünde bulundurulması gerektiği tespit edilmiştir.

UV floresans ve Luminol yöntemlerinin gelecekte rutin adli tıp uygulamalarında kullanılabilmesi için ilerideki çalışmalara;

- Her iki yöntem için de değerlendirilen olguların sayısının artırılmasını,
- UV floresans değerlendirmesinde farklı dalga boylarındaki ışıkların çalışmaya katılmasını,
- Tafonomik koşulların etkisi nedeniyle aynı koşullardan (gömülü, açık alanda bulunan, suda bulunan) elde edilen örneklerin çalışmaya dâhil edilmesini ve kendi koşullarına göre değerlendirilmesini,
- Çalışmada değerlendirilen kemiklerin tafonomik koşulları hakkında detaylı bilgi sahibi olunmasını,
- Çalışmada değerlendirilen olguların geçmiş tıbbi kimlikleri ve ölüm sebepleri hakkında bilgi sahibi olunmasını,
- Çalışmanın aynı tipte kemik örnekleri üzerinde gerçekleştirilerek, kemik içeriği nedeniyle gözlenen farklılıkların göz ardı edilmesini önermekteyiz.

KISITLILIKLAR

- Kemiklerin bulunduğu ortam, ortam sıcaklığı, nemi, yağış alıp almaması, gömülü ise gömü koşulları, toprağın türü, nemi, pH'ı gibi özellikler hakkında detaylı bilgi bulunmaması,
- Örnek toplama sürecinin uzun olması ve saklama koşulları her kemik için aynı olsa da bu süreçten etkilenip etkilenmediğinin bilinmemesi,
- PMI >30 yıl olan örnek sayısının azlığı,

- Değerlendirilen ölüm zamanı gruplarında örneklerin sayısının farklı ve az olması,
- Farklı kemik türlerinin (Femur, tibia, ulna, kafa iskeleti kemikleri) aynı koşullar altında değerlendirilmesi kısıtlılık olarak değerlendirilmiştir.



KAYNAKLAR

1. Cardoso HFV, Santos A, Dias R, Garcia C, Pinto M, Sérgio C, et al. Establishing a minimum postmortem interval of human remains in an advanced state of skeletonization using the growth rate of bryophytes and plant roots. *Int J Legal Med.* Eylül 2010;124(5):451-6. doi: 10.1007/s00414-009-0372-5.
2. Nelson EL. Estimation of short-term postmortem interval utilizing core body temperature: a new algorithm. *Forensic Sci Int.* 13 Mart 2000;109(1):31-8. doi: 10.1016/s0379-0738(99)00216-9.
3. Erbaş M. Estimation of Death Time. In: Dogan KH, editor. *New Perspectives for Post-Mortem Examination.* Intechopen; 2023.
4. Buckland PC. *A Manual of Forensic Entomology*, By Kenneth G. V. Smith. . *American Journal of Archaeology.* Nisan 1988;92(2):287.
5. Mann RW, Bass WM, Meadows L. Time since death and decomposition of the human body: variables and observations in case and experimental field studies. *J Forensic Sci.* Ocak 1990;35(1):103-11.
6. Janaway RC, Percival SL and Wilson AS. Decomposition of human remains. In: Percival SL (Ed.) *Microbiology and Aging.* New York: Springer: 2009.p. 313-334.
7. Madea B, Henßge C, Reibe S, Tsokos M. Postmortem Changes and Time since Death. In: Madea B, editor. *Handbook of Forensic Medicine, Second Edition.* Wiley; 2022.
8. Ubelaker DH, Buchholz BA, Stewart JE. Analysis of artificial radiocarbon in different skeletal and dental tissue types to evaluate date of death. *J Forensic Sci.* Mayıs 2006;51(3):484-8. doi: 10.1111/j.1556-4029.2006.00125.x.
9. Knight B. Methods of dating skeletal remains. *Med Sci Law.* Ekim 1969;9(4):247-52. doi: 10.1177/002580246900900408.
10. Lale A, Balseven Odabaşı A, Akçan R, Heybet ER, Tümer AR. Postmortem Interval in Skeletonized Body. *Turkish Journal of Forensic Medicine.* 2016;30(1):71-6.

11. Sterzik V, Jung T, Jellinghaus K, Bohnert M. Estimating the postmortem interval of human skeletal remains by analyzing their optical behavior. *Int J Legal Med.* 1 Kasım 2016;130(6):1557–66.
12. Shemie SD, Hornby L, Baker A, Teitelbaum J, Torrance S, Young K, et al. The International Guidelines for Determination of Death phase 1 participants, in collaboration with the World Health Organization. *International guideline development for the determination of death. Intensive Care Med.* Haziran 2014;40(6):788-97. doi: 10.1007/s00134-014-3242-7.
13. Koç S, Can M. Ölüm Kavramı ve Ölü Muayenesi. In: *Birinci Basamakta Adli Tıp.* İstanbul: İstanbul Tabip Odası Yayınları; 2011. p.18-37.
14. Sarbey B. Definitions of death: brain death and what matters in a person. *J Law Biosci.* 20 Kasım 2016;3(3):743-752. doi: 10.1093/jlb/lsw054.
15. Meurs J, Krap T, Duijst W. Evaluation of postmortem biochemical markers: Completeness of data and assessment of implication in the field. *Sci Justice.* Mart 2019;59(2):177-180. doi: 10.1016/j.scijus.2018.09.002.
16. Stigter H, Krap T, Duijst WLJM. Estimation of the post-mortem interval; added value of mechanical excitability of human skeletal muscle. *J Forensic Leg Med.* Nisan 2024;103:102664. doi: 10.1016/j.jflm.2024.102664.
17. Thomas P. *Forensic Anthropology: The Growing Science of Talking Bones.* New York: Facts on File; 2003.
18. Lee Goff M. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Exp Appl Acarol.* Ekim 2009;49(1-2):21-36. doi: 10.1007/s10493-009-9284-9.
19. Arslan MN, Koç S. Ölüm belirtileri. *Türkiye Klinikleri J Foren Med-Special Topics.* 2016;2:12–9.
20. Romanelli MC, Marrone M, Veneziani A, Gianciotta R, Leonardi S, Beltempo P, Vinci F. Hypostasis and time since death: state of the art in Italy and a novel approach

for an operative instrumental protocol. *Am J Forensic Med Pathol.* Haziran 2015;36(2):99-103. doi: 10.1097/PAF.0000000000000145.

21. Tsokos M, Byard RW. Putrefactive “rigor mortis.” *Forensic Sci Med Pathol.* 2012;8(2).

22. Bashir S, Walia D. Role of rigor mortis in assessment of time since death. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology.* 2020;14(3).

23. Takeichi S, Tokunaga I, Yoshima K, Maeiwa M, Bando Y, Kominami E, et al. Mechanism of postmortem autolysis of skeletal muscle. *Biochem Med. Aralık* 1984;32(3):341-8. doi: 10.1016/0006-2944(84)90040-1.

24. Meshram SK, Waghmare SA, Bhoi SB, Kamle RA, Gupta SS. Estimation of time since death from algor mortis – Still a golden method in the modern era. *Medico-Legal Update.* 2017;17(2).

25. Henssge C. Death time estimation in case work. I. The rectal temperature time of death nomogram. *Forensic Sci Int.* Eylül 1988;38(3-4):209-36. doi: 10.1016/0379-0738(88)90168-5.

26. Henssge C, Madea B. Estimation of the time since death. *Forensic Sci Int.* 17 Ocak 2007;165(2-3):182-4. doi: 10.1016/j.forsciint.2006.05.017.

27. Madea B. Importance of supravitality in forensic medicine. *Forensic Sci Int.* 16 Aralık 1994;69(3):221-41. doi: 10.1016/0379-0738(94)90386-7.

28. Shrestha R, Kanchan T, Krishan K. Methods of Estimation of Time Since Death. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 30 Mayıs 2023.

29. Hau TC, Hamzah NH, Lian HH, Amir Hamzah SPA. Decomposition process and post mortem changes: Review. *Sains Malays.* 2014;43(12).

30. Cockle DL, Bell LS. The environmental variables that impact human decomposition in terrestrially exposed contexts within Canada. *Sci Justice.* Mart 2017;57(2):107-117. doi: 10.1016/j.scijus.2016.11.001.

31. Almulhim AM, Menezes RG. Evaluation of Postmortem Changes. 1 Mayıs 2023. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
32. Shirley NR, Wilson RJ, Jantz LM. Cadaver use at the University of Tennessee's Anthropological Research Facility. Clin Anat. Nisan 2011;24(3):372-80. doi: 10.1002/ca.21154.
33. Zhou C, Byard RW. Factors and processes causing accelerated decomposition in human cadavers - An overview. J Forensic Leg Med. Ocak 2011;18(1):6-9. doi: 10.1016/j.jflm.2010.10.003.
34. Madea B. Methods for determining time of death. Forensic Sci Med Pathol. Aralık 2016;12(4):451-485. doi: 10.1007/s12024-016-9776-y.
35. Madea B. Estimation of the Time Since Death. In: Siegel JA, Saukko PJ, editors. Encyclopedia of Forensic Sciences, Second Edition. Academic Press; 2013. p. 229-238.
36. Dekeirsschietter J, Verheggen FJ, Gohy M, Hubrecht F, Bourguignon L, Lognay G, et al. Cadaveric volatile organic compounds released by decaying pig carcasses (*Sus domesticus* L.) in different biotopes. Forensic Sci Int. 10 Ağustos 2009;189(1-3):46-53. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.03.034.
37. Gebhart FT, Brogdon BG, Zech WD, Thali MJ, Germerott T. Gas at postmortem computed tomography--an evaluation of 73 non-putrefied trauma and non-trauma cases. Forensic Sci Int. 10 Ekim 2012;222(1-3):162-9. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.05.020.
38. Reddy K, Lowenstein EJ. Forensics in dermatology: part I. J Am Acad Dermatol. Mayıs 2011;64(5):801-8; quiz 809-10. doi: 10.1016/j.jaad.2010.05.050.
39. Parsons, HK. The Postmortem Interval: A Systematic Study of Pig Decomposition in West Central Montana. Graduate Student Theses, Dissertations, & Professional Papers. 2009; 1058.
40. Shukrum M, Ramsay D. Forensic pathology of trauma: common problems for the pathologist. 1st ed. Humana. 2007.

41. Pless J, Worrell M, Clark M. Postmortem Changes in Soft Tissues. In: Haglund WD, Sorg MH, editors. *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*. CRC Press; 1996.
42. Vass AA, Smith RR, Thompson CV, Burnett MN, Wolf DA, Synstelien JA, et al. Decompositional odor analysis database. *J Forensic Sci*. Temmuz 2004;49(4):760-9.
43. France DL. *Human and Nonhuman Bone Identification*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press; 2008.
44. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int*. 2015;2015:421746. doi: 10.1155/2015/421746.
45. Çeker D, Erol AS, Küçük GP, editörler. *Adli Antropoloji ve Kimliklendirme, sahada ve laboratuvarında popüler metotlar*. Ankara: Nobel; 2020.
46. Black JD, Tadros BJ. Bone structure: from cortical to calcium. *J. Orthop. Traumatol*. 2020;34:113–119. doi: 10.1016/j.mporth.2020.03.002.
47. Sadat-Shojai M, Khorasani MT, Dinpanah-Khoshdargi E, Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomater*. Ağustos 2013;9(8):7591-621. doi: 10.1016/j.actbio.2013.04.012.
48. Karpiński R, Jaworski Ł, Czubacka P. The Structural and Mechanical Properties of The Bone. *Journal of Technology and Exploitation in Mechanical Engineering*. 2017;3(1): 43-50. doi: 10.35784/jteme.538.
49. Megyesi MS, Nawrocki SP, Haskell NH. Using accumulated degree-days to estimate the postmortem interval from decomposed human remains. *J Forensic Sci*. Mayıs 2005;50(3):618-26.
50. Wescott DJ. Postmortem change in bone biomechanical properties: Loss of plasticity. *Forensic Sci Int*. Temmuz 2019;300:164-69.
51. Janjua MA, Rogers TL. Bone weathering patterns of metatarsal v. femur and the postmortem interval in Southern Ontario. *Forensic Sci Int*. 10 Haziran 2008;178(1):16-23. doi: 10.1016/j.forsciint.2008.01.011.

52. Behrensmeyer AK. Taphonomic and Ecologic Information from Bone Weathering. *Paleobiology*. 6 Ocak 1978;4(2):150-62.
53. Ermida C, Cunha E, Ferreira MT. Dating death: post mortem interval estimation of human skeletal remains. *Antropologia Portuguesa*. 2022;(39):45–72.
54. The Timing of Death. In: Rutty, G.N. (eds) *Essentials of Autopsy Practice*. London: Springer; 2006.p. 189-214
55. Unluturk O. Radioisotope Analyses in Determination of Time Since Death from Skeletal Remains. *The Bulletin of Legal Medicine*. 2016;21(3): 177-82.
56. Unluturk O, Sahin M. The effect of remaining in water in estimation of time since death in skeletal remains. *Medicine Science | International Medical Journal*. 2017;6(1):139-43.
57. Schwarcz HP, Agur K, Jantz LM. A new method for determination of postmortem interval: citrate content of bone. *J Forensic Sci*. Kasım 2010;55(6):1516-22. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01511.
58. Kanz F, Reiter C, Risser DU. Citrate content of bone for time since death estimation: results from burials with different physical characteristics and known PMI. *J Forensic Sci*. Mayıs 2014;59(3):613-20. doi: 10.1111/1556-4029.12341.
59. Knight B, Lauder I. Practical methods of dating skeletal remains: a preliminary study. *Med Sci Law*. Ekim 1967;7(4):205-8. doi: 10.1177/002580246700700408.
60. Jellinghaus K, Urban PK, Hachmann C, Bohnert M, Hotz G, Rosendahl W, et al. Collagen degradation as a possibility to determine the post-mortem interval (PMI) of human bones in a forensic context - A survey. *Leg Med (Tokyo)*. Şubat 2019;36:96-102. doi: 10.1016/j.legalmed.2018.11.009.
61. Boaks A, Siwek D, Mortazavi F. The temporal degradation of bone collagen: A histochemical approach. *Forensic Sci Int*. Temmuz 2014;240:104-10. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.04.008.
62. Berg S. *Methods in Forensic Science*. London: Interscience Publishers; 1962. p.231-252.

63. Howard, S. A preliminary investigation into the estimation of time since death from human skeletal remains by radioisotope and trace element analysis (Dissertation). The University of Western Australia. 2008.
64. Ubelaker DH, Parra RC. Radiocarbon analysis of dental enamel and bone to evaluate date of birth and death: Perspective from the southern hemisphere. *Forensic Sci Int.* 20 Mayıs 2011;208(1-3):103-7. doi: 10.1016/j.forsciint.2010.11.013.
65. Ubelaker DH. Radiocarbon analysis of human remains: a review of forensic applications. *J Forensic Sci.* Kasım 2014;59(6):1466-72. doi: 10.1111/1556-4029.12535.
66. Cook GT, MacKenzie AB. Radioactive isotope analyses of skeletal materials in forensic science: a review of uses and potential uses. *Int J Legal Med.* Temmuz 2014;128(4):685-98. doi: 10.1007/s00414-014-0970-8.
67. Schrag B, Uldin T, Mangin P, Froidevaux P. Dating human skeletal remains using a radiometric method: biogenic versus diagenetic ^{90}Sr and ^{210}Pb in vertebrae. *Forensic Sci Int.* 10 Temmuz 2012;220(1-3):271-8. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.03.014.
68. Neis P, Hille R, Paschke M, Pilwat G, Schnabel A, Niess C, et al. Strontium90 for determination of time since death. *Forensic Sci Int.* 4 Ocak 1999;99(1):47-51. doi: 10.1016/s0379-0738(98)00175-3.
69. Ziad N, Zarki R, Benmansour M, Sayerh T, Laissaoui A. Determination of ^{210}Pb in human skeletal remains from Morocco: Implications for time since death assessment. *J Radioanal Nucl Chem.* 2012;292(1):315-19.
70. Barni F, Lewis SW, Berti A, Miskelly GM, Lago G. Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection. *Talanta.* 15 Mayıs 2007;72(3):896-913. doi: 10.1016/j.talanta.2006.12.045.
71. Menek N, Taşdöven U. Adli Bilimlerde Kriminalistik ve Luminol. *Adli Bilimler Ve Suç Araştırmaları Dergisi.* 2021; 3(1-2): 3-17.
72. Weber K. Die Anwendung der Chemilumineszenz des Luminols in der gerichtlichen Medizin und Toxikologie. I. Der Nachweis von Blutspuren [The use of

chemiluminescence of Luminol in forensic medicine and toxicology. I. Identification of blood stains]. *Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med.* 1966;57(3):410-23.

73. Taşdöven U. *Kriminalistikte Kullanılan Luminolün Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi.* Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi. 2019.

74. Ermida C, Navega D, Cunha E. Luminol chemiluminescence: contribution to postmortem interval determination of skeletonized remains in Portuguese forensic context. *Int J Legal Med.* Temmuz 2017;131(4):1149-1153. doi: 10.1007/s00414-017-1547-0.

75. Introna F Jr, Di Vella G, Campobasso CP. Determination of postmortem interval from old skeletal remains by image analysis of luminol test results. *J Forensic Sci.* Mayıs 1999;44(3):535-8.

76. Creamer JJ, Buck AM. The assaying of haemoglobin using luminol chemiluminescence and its application to the dating of human skeletal remains. *Luminescence.* Eylül-Ekim 2009;24(5):311-6. doi: 10.1002/bio.1110.

77. Sarabia J, Pérez-Martínez C, Hernández Del Rincón JP, Luna A. Study of chemiluminescence measured by luminometry and its application in the estimation of postmortem interval of bone remains. *Leg Med (Tokyo).* 5 Mayıs 2018;33:32-35. doi: 10.1016/j.legalmed.2018.05.001.

78. Ramsthaler F, Kreutz K, Zipp K, Verhoff MA. Dating skeletal remains with luminol-chemiluminescence. Validity, intra- and interobserver error. *Forensic Sci Int.* 30 Mayıs 2009;187(1-3):47-50. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.02.015.

79. Ramsthaler F, Ebach SC, Birngruber CG, Verhoff MA. Postmortem interval of skeletal remains through the detection of intraosseal hemin traces. A comparison of UV-fluorescence, luminol, Hexagon-OBTI®, and Combur® tests. *Forensic Sci Int.* 15 Haziran 2011;209(1-3):59-63. doi: 10.1016/j.forsciint.2010.12.011.

80. Ermida C, Cunha E, Ferreira MT. Luminol and the postmortem interval estimation - influence of taphonomic factors. *Int J Legal Med.* Mayıs 2024;138(3):1109-1116. doi: 10.1007/s00414-023-03132-9.

81. Hoke N, Grigat A, Grupe G, Harbeck M. Reconsideration of bone postmortem interval estimation by UV-induced autofluorescence. *Forensic Sci Int.* 10 Mayıs 2013;228(1-3):176.e1-6. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.03.013.
82. Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd ed. Springer; 2006.
83. Yoshino M, Kimijima T, Miyasaka S, Sato H, Seta S. Microscopical study on estimation of time since death in skeletal remains. *Forensic Sci Int.* Mart 1991;49(2):143-58. doi: 10.1016/0379-0738(91)90074-s.
84. Sterzik V, Jung T, Jellinghaus K, Bohnert M. Estimating the postmortem interval of human skeletal remains by analyzing their optical behavior. *Int J Legal Med.* Kasım 2016;130(6):1557-1566. doi: 10.1007/s00414-016-1395-3.
85. Tibbett M. Blood, guts, gore and soil: decomposition processes in graves and forensic taphonomic applications. In: 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World; 1 – 6 August 2010; Brisbane, Australia.
86. Brown MA, Bunch AW, Froome C, Gerling R, Hennessy S, Ellison J. Citrate Content of Bone as a Measure of Postmortem Interval: An External Validation Study. *J Forensic Sci.* Eylül 2018;63(5):1479-1485. doi: 10.1111/1556-4029.13716.
87. Schrag B, Uldin T, Mangin P, Bochud F, Froidevaux P. Dating human skeletal remains using ⁹⁰Sr and ²¹⁰Pb: case studies. *Forensic Sci Int.* Ocak 2014;234:190.e1-6. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.10.038.
88. Berg S, Specht W. Untersuchungen zur Bestimmung der Liegezeit von Skeletteilen. *Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med.* 1958;47(2).
89. Facchini F, Pettener D. Chemical and physical methods in dating human skeletal remains. *Am J Phys Anthropol.* Temmuz 1977;47(1):65-70. doi: 10.1002/ajpa.1330470112.
90. Caudullo G, Caruso V, Cappella A, Sguazza E, Mazzarelli D, Amadasi A, Cattaneo C. Luminol testing in detecting modern human skeletal remains: a test on different types of bone tissue and a caveat for PMI interpretation. *Int J Legal Med.* Ocak 2017;131(1):287-292. doi: 10.1007/s00414-016-1493-2.

91. Ross AH, Cunningham SL. Time-since-death and bone weathering in a tropical environment. *Forensic Science International*. 2011; 204(1-3): 126–133. doi:10.1016/j.forsciint.2010.05.018
92. Ambers A. Skeletal microstructure, bone diagenesis, optimal sample selection, and pre-processing preparation techniques for DNA testing. *Forensic Genetic Approaches for Identification of Human Skeletal Remains: Challenges, Best Practices, and Emerging Technologies*. 1 Ocak 2023;81–117.

