

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI



**KARBONMONOKSİT ZEHİRLENME MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
NETRİN-1 VE ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. FADİME TONÇ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi SEMİH PETEKKAYA

Çanakkale/2025

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

KARBONMONOKSİT ZEHİRLENME MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
NETRİN-1 VE ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. FADİME TONÇ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi SEMİH PETEKKAYA

Çanakkale /2025

Bu tez, Ç.O.M.Ü. BAP Koordinasyon Birimi tarafından
TTU 2024-4887 nolu proje olarak desteklenmiştir.

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Adli Tıp uzmanlık çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından Dr. Fadime TONÇ 'un Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17/11/2025

TEZ KONU BAŞLIĞI

Karbonmonoksit Zehirlenme Modeli Oluşturulan Ratlarda Netrin-1 ve Antioksidan Enzim Düzeyinin Değerlendirilmesi

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi SEMİH PETEKKAYA

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı

İmzası

Doç. Dr. ESİN AKGÜL KALKAN

Dr. Öğr. Üyesi SEMİH PETEKKAYA

Dr. Öğr. Üyesi NAİLE ESRA SAKA

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve Fakülte Yönetim Kurulunun / / tarih ve / / sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Dekan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, engin bilgi ve deneyimlerini her zaman paylaşan, uzmanlık eğitimimde yol gösterici olan ve tez süresince desteğini esirgemeyen tez danışmanım, kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Semih PETEKKAYA'ya; uzmanlık eğitimimde tüm içtenliği ile tecrübelerini sunan, uzmanlık eğitimimde emeği geçen ve Adli Tıp hekimliğine olan tutkumu arttıran sayın hocam Doç. Dr. Esin AKGÜL KALKAN'a,

Tez sürecimdeki desteklerinden ötürü Tıp Eğitimi Anabilim Dalı'ndan sayın Doç. Dr. Çetin TORAMAN 'a,

Tez sürecimdeki emeklerinden ve desteklerinden ötürü bölüm arkadaşlarıma ve ÇOMÜDAM çalışanlarına,

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum saygıdeğer hekim arkadaşlarım ve diğer tüm sağlık çalışanı büyüklerime ve arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca bana daima güvenen, her zaman yanımda olan ve her konuda sabırla destek olup fedakârlıklarını esirgemeyen canım aileme,

Hayatı paylaşmaktan büyük keyif aldığım, aile olmaktan gurur duyduğum kıymetli eşim Serhat'a

En içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Fadime TONÇ

ÖZET

KARBONMONOKSİT ZEHİRLENME MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA NETRİN-1 VE ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş ve Amaç: Karbonmonoksit zehirlenmesi, zehirli gaz inhalasyonundan kaynaklanmakta olup nörotoksik etkilere neden olmaktadır. Adli Tıp pratiğinde kullanılan COHb düzeyinin ölçümü, ölüm nedenini belirlemede yetersiz kalmaktadır ve daha spesifik yeni biyokimyasal belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda, netrin-1 proteinin postmortem süreçte tanı koymada etkinliğini belirlemeyi amaçladık.

Materyal-Metod: Çalışmamızda, 33 adet Wistar Albino ratlar kontrol ve deney grubu olarak 2 gruba ayrıldı. Toksik gaza maruz bırakılmayan 9 adet sıçan kontrol grubunu oluşturmaktadır. Deney grubu ise yüksek doz CO'e maruz bırakılarak ölümü gerçekleşen 24 adet sıçandan oluşturmaktadır. Gruplar; 0., 3. ve 6. saatlerde postmortem bulgular açısından incelenmek üzere 3 gruba ayrıldı ve kan, beyin/beyincik örnekleri alındı. Örnekler netrin-1 proteini ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz antioksidan enzim parametreleri kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda, serum katalaz enzim düzeylerinde; postmortem 3. saat kontrol grubuna göre 3. saat deney grubunda anlamlı artış izlendi ($p<0,05$). Serum süperoksit dismutazın; 3. saat deney ile kontrol grupları ve 0. saat deney ile kontrol grupları arasında anlamlı farklılık olmasa da deney gruplarındaki enzim düzeylerinde belirgin artış gözlemlendi. 3. saat deney ve 6. saat deney gruplarında 0. saat kontrol grubuna göre anlamlı artış izlendi ($p<0,05$). Netrin-1 proteini ve glutatyon peroksidaz enzim düzeylerinde, deney ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç: CO zehirlenmelerindeki otopsi uygulamalarında, ölüm zamanı tayini ve orijin tayini açısından Netrin-1, SOD, CAT ve GPX antioksidan belirteçlerinden serum katalaz ve serum süperoksit dismutaz enzim düzeyleri alternatif olarak kullanılabilirken antioksidan ve nöroprotektif özelliklere sahip

Netrin-1 proteininin etkinliği ve uygulanabilirliği hususunda daha geniş kapsamlı postmortem analiz çalışmalarına gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Karbonmonoksit, zehirlenme, netrin-1, postmortem, antioksidan



ABSTRACT

EVALUATION OF NETRIN-1 AND ANTIOXIDANT ENZYME LEVELS IN RATS WITH CARBON MONOXIDE POISONING MODEL

Introduction and Purpose: Carbon monoxide poisoning results from the inhalation of toxic gases and causes neurotoxic effects. The measurement of COHb levels used in forensic medicine practice is insufficient to determine the cause of death, and more specific new biochemical markers are needed. In our study, we aimed to determine the effectiveness of the netrin-1 protein in diagnosis during the postmortem process.

Material-Method: This study was conducted on 33 Wistar Albino rats, divided into control and experimental groups. The control group (n=9) consisted of rats not exposed to toxic gas, while the experimental group (n=24) consisted of rats that died after exposure to a high concentration of CO gas for 30 minutes. Both groups were subdivided into 0-, 3-, and 6-hour postmortem intervals for evaluation. Blood and brain/cerebellum samples were collected and analyzed for Netrin-1 protein and the antioxidant enzyme parameters superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx).

Findings: In our study, serum catalase levels in the 3-hour experimental group showed a significant increase compared to the 3-hour control group ($p<0.05$). Although serum SOD levels showed a noticeable elevation in both 3-hour and 6-hour experimental groups compared to controls, these differences were not statistically significant ($p>0.05$). However, when compared to the 0-hour control group, both 3-hour and 6-hour experimental groups demonstrated a significant increase ($p<0.05$). There were no significant differences between the groups in Netrin-1 or GPx levels.

Conclusion: In forensic autopsy applications of CO poisoning, serum catalase and superoxide dismutase enzyme levels may serve as alternative markers for

estimating time or cause of death. However, the diagnostic and neuroprotective potential of Netrin-1 protein requires further comprehensive postmortem studies.

Keywords: Carbon monoxide, poisoning, netrin-1, postmortem, antioxidant



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER	ix
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. TOKSİKOLOJİ	2
2.1.1. Toksikoloji ile İlgili Genel Kavramlar.....	2
2.1.2. Toksikolojinin Tarihçesi	2
2.1.3. Toksikoloji Biliminin Alt Dalları.....	3
2.2. ADLİ TOKSİKOLOJİ	4
2.2.1. Adli Toksikolojinin Tarihçesi	4
2.2.2. Postmortem Adli Toksikoloji	5
2.2.3. Adli Toksikolojik Analizlerde Kullanılan Başlıca Yöntemler	6
2.3. ADLİ TIP'TA ZEHİRLENMELER	8
2.3.1. Poliklinik Olgularında Zehirlenmeler ve Adli Tıp.....	8
2.3.2. Adli Tıpta Zehirlenmelerin Sınıflandırılması	10
2.3.3. Zehirlenme Olgularında Otopsi Sırasında Örnek Alımı ve Dikkat Edilecek Hususlar...	11
2.3.4. Asfiksi Kavramı ve Asfiktik Zehirlenmeler.....	13
2.3.5. Asfiksilerin Etyolojik Sınıflandırılması.....	13
2.4. KARBONMONOKSİT ZEHİRLENMESİ	15
2.4.1. Karbonmonoksit Zehirlenmesinde Antemortem Bulgular.....	15
2.4.2. Karbonmonoksit Zehirlenmesinde Postmortem Bulgular.....	17
2.5. NETRİN-1 PROTEİNİ	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Deney Grupları	21
3.2. İstatistiksel Analiz	28
4. BULGULAR	29
4.1. Postmortem Makroskobik Bulgular	29
4.2. Postmortem Alınan Örneklerin Analizleri	29
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
7. KAYNAKÇA	70

KISALTMALAR VE SİMGELER

BAP: Bilimsel Araştırma Projeleri

ÇOMÜ: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

CO: Karbonmonoksit

COHB: Karboksihemoglobin

NTN: Netrin

CAT: Katalaz

SOD: Süperoksit dismutaz

GPX: Glutatyon peroksidaz İTK:

İnce tabaka kromatografisi

CEDİA: Cloned enzym donor immuno assey (Klonlanmış enzim donörü immünolojik testi)

ELİSA: Enzyme-linked immunosorbent assay (Enzim bağlı immünosorbent testi) EMIT:

Enzyme Multiplied Immunoassay Technique (Enzimle Çoğaltılmış İmmünoassay Tekniği)

FPIA: Fluorescence Polarization Immunoassay (Floresan Polarizasyon İmmünoassay)

RIA: Radyoimmunoassay

TLC: Thin Layer Chromatography (İnce Tabaka Kromatografisi) NMR:

Nuclear Manyetik Rezonans

IR spektroskopisi: İnfrared spektroskopisi UV

spektroskopisi: Ultraviyole spektroskopisi

AAS: Atomik absorpsiyon spektroskopisi

HS/GC: Gaz kromatografisi

GC/MS: Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi

HPLC: High performance liquid chromatography (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi)

LC: Likit kromatografisi

MS: Kütle spektroskopisi

LCS/MS/MS: Sıvı kromatografi/yüksek çözünürlüklü quadropole-orbitrap kütle spektroskopisi (LC/Q-TOF /MS)

GKS: Glaskow koma skalası

CPR: Kardiyopulmoner resüsitasyon

CPK: Kreatin fosfokinaz
LDH: Laktat dehidrogenaz
ALT: Alanin trifosfat
TCK: Türk Ceza Kanunu
BTM: Basit tıbbi müdahale
BT: Bilgisayarlı tomografi
MR: Manyetik rezonans
UZEM: Ulusal Zehir Merkezi
COX: sitokrom c oksidaz
COMb: Karboksimiyoglobin
NO: Nitrik oksit
CMK: Ceza Muhakemesi Kanunu
DAPK: Death-associated protein kinase (Ölümle ilişkili protein kinaz)
VEGF: Vasküler endoteyal büyüme faktörü
KBB: Kan beyin bariyeri
TNF α : Tümör nekroz faktörü alfa SD:
Serbestlik derecesi
TBARSÇ: Tiyobarbitürik asitle reaktif maddelerin
GSSG: Oksitlenmiş glutatyonun
GSH: İndirgenmiş glutatyonun

ŞEKİLLER

Şekil 1. Eliza ölçüm cihazı 1	7
Şekil 2. Eliza ölçüm cihazı 2	7
Şekil 3. Kolorimetrik Ölçüm Cihazı	7
Şekil 4. Deney grupları ve hayvan barınakları	21
Şekil 5. Deney düzeneği	23
Şekil 6. tüpünden deney kabinine kontrollü gaz geçişini sağlayan aparat	24
Şekil 7. Barometre	24
Şekil 8. Santrifüj cihazı	24
Şekil 9. -80 santigrat derece soğutucu	25
Şekil 10. Heparin	25
Şekil 11. Yüksek doz anestezi ile sakrifikasyon	26
Şekil 12. Kalp diseksiyonu ile kalp kanı alınması	26
Şekil 13. Deney protokolü gerçekleştirilen hayvanlardan beyin ve beyincik dokusu eldesi için yapılan cilt/cilt altı diseksiyonu	27
Şekil 14. Deney protokolü gerçekleştirilen hayvanlardan beyin ve beyincik dokusunun eldesi	27
Şekil 15. Beyin ve beyincik dokusu	28
Şekil 16. Santrifüj sonrası kan örneklerinden elde edilen serum örnekleri	28
Şekil 17-18. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi	31
Şekil 19-20. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi	33
Şekil 21-22. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi	37

Şekil 23-24. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi	39
Şekil 25-26. Glutatyon peroksidaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi	41
Şekil 27-28. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi	46
Şekil 29-30. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi	49



TABLÖLAR

Tablo 1. Toksikolojik analiz için alınan bazı biyolojik materyaller	5
Tablo 2. Saklama koşulları.....	12
Tablo 3. Kandaki COHb düzeyine göre klinik bulgular.....	16
Tablo 4. Normal dağılım testi.....	29
Tablo 5. Netrin-1 Proteini Serum Analiz Sonuçları.....	30
Tablo 6-7. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi	31
Tablo 8. Netrin-1 Proteini Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları.....	32
Tablo 9-10. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi.....	33
Tablo 11. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi.....	34
Tablo 12-13-14-15. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi.....	35
Tablo 16. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi	38
Tablo 17-18. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi	39
Tablo 19. Glutasyon peroksidaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi.....	40
Tablo 20-21. Glutasyon peroksidaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi.....	41
Tablo 22. Glutasyon Peroksidaz Enzimi Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları	42

Tablo 23. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi.....	43
Tablo 24-25-26-27. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi	44
Tablo 28. Süperoksit Dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi	47
Tablo 29-30-31-32. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi	48



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Adli toksikoloji, zehirlenmelerin neden olduğu fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkileri ve bu zehirli maddelerin organizmadaki değişimleri, toksik dozları, tedavileri, analizleri, standardizasyonlarının yapılması gibi konuları kapsamaktadır (1). Adli toksikoloji, otopsi uygulamalarında, cesetten elde edilen vücut sıvılarından ve dokulardan veya canlıdan alınmış kan, idrar, mide içeriği gibi materyalden toksik madde varlığının ve bu toksik maddenin meydana getirdiği etkilerin saptanmasına yönelik çalışır (2). Adli toksikolojik analizler, ölçülebilir veriler sunmasıyla, ortaya çıkan sonuçlara göre olayların orijininin belirlenmesiyle ve elde edilen hassas veriler sayesinde adli olayların kesin ayrımının yapılması konularıyla önemli bir yol gösterici olmaktadır (3).

Adli toksikolojinin çalışma alanlarından biri olan karbonmonoksit (CO) zehirlenmesi; özellikle kış aylarında, kapalı alanlardaki soba, şöfen vs. gibi ısıtma sistemlerinin doğru çalışmamasıyla, maden ocaklarında yeterli havalandırma sistemlerinin olmaması ve yangın gibi doğal afetlerde oluşan dumanın inhalasyonu ile oluşan kimyasal asfiksilerden biridir (4). Karbonmonoksit, hidrokarbon içeren yakıtların tam yanmaması nedeniyle oluşan, renksiz, kokusuz, tatsız, iritan olmayan bir gazdır ve sessiz katil olarak bilinmektedir (5). CO zehirlenmesinin belirtileri nonspesifiktir ve koma gelişene kadar baş ağrısından başka bir bulgu bulunmayabilir (4). CO zehirlenmesiyle ölüm gerçekleşmiş olan olgularda, ölüm nedeninin tayini için spesifik bir makroskobik bulgu veya biyokimyasal belirteç yoktur (6). Postmortem ölü lekelerinin parlak kırmızı renk alması ve kanda tespit edilen karboksihemoglobin (CO-Hb) düzeyi yol gösterici olsa bile bu bulgular CO toksisitesine spesifik değildir (7).

CO zehirlenme olgularında, oluşan zehirlenme bulgularının her insanda farklılık göstermesi, alınan toksik gaz miktarıyla gelişen bulguların orantılı olmaması, kanda oluşan COHb düzeyinin zehirlenme miktarıyla korele olmaması ve ayrıca farklı mekanizmaların da toksisitede yer aldığı düşünüldüğünden daha spesifik belirteçler bulmaya yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (6). Karbonmonoksit toksisitesine maruz kalmış klinik vakalarda, oksidatif strese karşı koruma sağlayan, nörogenez ve anjiyogenez süreçlerinde rolü olan Netrin-1(Ntn) proteinin tanı koyma ve tedavi takibinde kullanılabileceği gösterilmiştir (8). Çeşitli nedenlerle ölüm gerçekleşmiş olgularda, postmortem süreçte de netrin-1 düzeyinin oksidatif hasarla doğru orantılı

değişim gösterdiği ve özellikle nöronal yapıların hayatta kalmasında önemli rolü olduğu ortaya konmuştur (9).

Embriyonik gelişim sırasında, aksonal göçe rehberlik yapan, netrin protein ailesinin prototipik üyesi Netrin-1 proteini, vasküler rejenerasyon, otofaji, apoptozis ve nöroinflamasyon gibi süreçleri düzenleyerek nöroprotektif bir rol üstlenir (10). Karbonmonoksitin oksidan/antioksidan düzeyinde dengesizlik oluşturduğu ve oluşan oksidatif stresin kimyasal asfiksiye ve metabolik düzensizliklerle ölüme neden olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konduğundan, planladığımız deneysel hayvan deneyi modelinde, postmortem süreçteki farklı zaman dilimlerinde netrin-1 protein düzeyinin ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz(CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX) antioksidan enzim düzeyleriyle birlikte ölüm nedeni tayini ve postmortem interval süreçlerde kullanılabilirliğini tespiti amaçlanmıştır (11).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TOKSİKOLOJİ

2.1.1. Toksikoloji ile İlgili Genel Kavramlar

Canlılar üzerinde, öngörülemeyen, beklenmeyen, geçici veya kalıcı zarar meydana getirebilen, hayati tehlikeye ve ölüme neden olabilen maddeler zehir olarak tanımlanır (12). Toksikoloji, bu etkileri oluşturan zehre maruz kalınması durumunda, zehrin tanımlanması, zehirlenme mekanizmasının araştırılması ve aydınlatılması, meydana gelebilecek etkilerin ve zararın öngörülerek önlenmesi gibi çalışmaların yürütüldüğü bir bilim dalıdır (12,13).

Tıbbi toksikolojide etkiler, olguların büyük bir çoğunluğunda kaza, intihar ve madde bağımlılığı gibi yollarla, toksinlere akut veya kronik maruziyet sonucu ortaya çıkmaktadır (14).

2.1.2. Toksikolojinin Tarihçesi

Toksikoloji, bir bilim dalı olarak gelişmeden önce, zehirler ve zehirlenmelerle ilgili bilgiler çok eski dönemlere kadar uzanır (15). Antik çağda yapılan arkeolojik kazılar, insanların bazı bitkilerden zehirli maddeler elde edip bunları avcılıkta ve

düşmanlara karşı savunmada kullandıklarını göstermektedir (16,17). Zehirli maddelerin tüketilmesiyle zehirlenmeler ve ölümler yaşandığı da bilinmektedir (18-20). Türkiye’de deli bal, haşhaş bitkisinden elde edilen afyon, baldıran otu, adamotu, bazı mantar türleri, depolanmış gıdalardaki arsenik ile örümcek, yılan ve akrep zehirleri yıllardır zehirlenmelere ve ölümlere yol açmaktadır (21-24). Bu maddeler bazen intihar amacıyla da kullanılmıştır (25). Zehirli bir yılanla intihar eden Kleopatra (M.Ö. 69-30) ve baldıran otu içerek hayatını kaybeden Sokrates (M.Ö. 470–400) bu duruma örnek olarak gösterilebilir (19,25,26).

2.1.3. Toksikoloji Biliminin Alt Dalları

Klinik Toksikoloji: İlaç, kimyasal, radyolojik ve biyolojik ajanlara maruziyet sonucu gelişen akut ve kronik zehirlenmelerin tanı, takip, değerlendirme, tedavi ve önlenmesiyle ilgilenen toksikoloji alt dalıdır (14,27).

Analitik Toksikoloji: Kan, idrar, doku, saç, ter, oral sıvı, tırnak veya mekonyum gibi biyolojik örneklerde zehir ve metabolitlerinin taranması, tanımlanması ve miktar tayini üzerine çalışır. Bu amaçla gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ve sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC-MS) gibi ileri analiz yöntemleri kullanılır (12,28).

Adli Toksikoloji: Zehirli maddelerin vücutta oluşturduğu etkileri, toksik dozları, analiz ve tedavi süreçlerini hukuki bağlamda değerlendirir. Postmortem adli toksikoloji, otopsiyle ölüm nedeninin belirlenmesini kapsar (18). Otopside kan, idrar, safra, vitreus sıvısı ve iç organlardan biyolojik örneklerin toplanması ve saklanması adli bilirkişinin sorumluluğundadır (12). Zehirlenmeye bağlı ölümlerde bu analizler adli süreç için kritik önemdedir (12,29).

Genetik ve Biyokimyasal Toksikoloji: Zehirlerin moleküler düzeydeki etkilerini ve antidotlara yönelik tedavi yaklaşımlarını inceler (18).

Farmasötik Toksikoloji: Tedavi amacıyla kullanılan ilaçların özellikle doz aşımı gibi durumlarda ortaya çıkabilecek toksik etkilerini değerlendirir (20,30).

Diğer Alt Dallar: İmmünotoksikoloji, Çevre Toksikolojisi, Ekonomik Toksikoloji, Gıda Toksikolojisi, Tanımlayıcı Toksikoloji, Ekotoksikoloji, Endüstri Toksikolojisi, Mesleki Toksikoloji, Psikotoksikoloji (21).

2.2. ADLİ TOKSİKOLOJİ

Adli toksikoloji, toksikoloji biliminin prensiplerini ve çalışmalarını, hukuk alanına ve yargı sistemi çerçevesine göre uygulayan, adli bilimlerin önemli bölümlerinden birini oluşturan multidisipliner bir bilim alanıdır (14). Herhangi bir adli olguda, örneğin; intihar, cinayet, hırsızlık, gasp, cinsel saldırı, yasadışı madde kullanımı, yasadışı madde bulundurma, ilaç intoksikasyonları, kronik zehirlenmeler, patlamalar, yangınlar, ev ve iş yeri kazaları, trafik kazaları, işyeri madde testleri vb. birçok konuda adli bilimlerin bir alt kolu olan adli toksikoloji biliminden yararlanılır (12,31).

Adli toksikoloji uygulamalarında, adli tabip, patolog, toksikolog, kimyacı, farmakolog, biyolog, pratisyen hekim ve acil tıp uzmanı arasında disiplinler arası iş birliği yapılmaktadır (4). Adli toksikolojinin alanı içinde dört ana disiplin yer almaktadır: 1. Postmortem Toksikoloji, 2. İnsan Performans/Davranış Toksikolojisi, 3. Adli Amaçlı Madde İncelemeleri (madde-ilaç, bitkisel ve hayvansal zehirler, metalik zehirler, vb.), 4. Doping Kontrolü (12). Klinik toksikoloji ve adli toksikoloji benzer olsa da ikisi arasındaki fark yargı unsurudur (32).

2.2.1. Adli Toksikolojinin Tarihçesi

Adli tıbbın tarihçesinde en eski kayıtlar antik mısırdaki geçmekte olup hekim ve baş yargıç görevleri yürütmüş olan Imhotep, adli tıbbi hekim olarak tarihe geçmiştir (33-36). Modern toksikolojinin kurucusu olarak bilinen İspanyol asıllı Orfila (1787-1853), zehirlenmeler ve kullanılan zehirlerin ilk analiz çalışmalarını yapmıştır (37). Orfila, arsenik nedeniyle ölen bir kişiye, otopsi yaparak zehirlerin belirli organlar üzerindeki etkilerini, doku hasarlarını tanımlamış, kimyasal ve biyolojik analizler yaparak ve bu kimyasal analizi yasal bir delil olarak kullanılabileceğini göstererek adli toksikolojinin temellerini atmıştır (38,39). Paracelsus (M.S. 1493-1541) ise, "terapötik doz", "toksik doz" ve "antidot" kavramlarını toksikoloji prensiplerine eklemiştir (40,41).

2.2.2. Postmortem Adli Toksikoloji

Suç unsuru taşıyan cinayet, intihar, kaza gibi adli olaylarda veya sebebi şüpheli olan doğal görünümlü ölümlerde adli otopsi yapılması şartı 5271 sayılı Ceza Muhakemeleri Kanunu'nda (CMK) maddelerine göre düzenlenmiştir (42). Temel aşamalarıyla otopside; iç muayene aşamasında, 3 boşluk açılarak bütün organlar çıkarılır (42). Otopside alınan dokular (cilt-deri, kemik, kas), iç organlar (kalp/damarlar, akciğer, böbrek, beyin ve karaciğer) ve biyolojik sıvılar, tam kan, çürümüş cesetlerden abdominal boşluktan alınan çürüme sıvısı, idrar veya mesane yıkama sıvısı, mide içeriği, kusmuk, safra, göz içi sıvısı (vitreus humor), serebrospinal sıvı, saç, tırnak, dişler, cilt ve cilt sürüntüleri, mekonyum, entomolojik numuneler (larva, pupa veya erişkin böcekler) örnekleri adli toksikolojik incelemede kullanılır (43,44). Alınan bu örneklerin makroskobik ve mikroskobik incelenmesi otopsinin postmortem toksikoloji ayağını oluşturmaktadır (45,46).

Postmortem Adli Toksikoloji; toksik kimyasalların, vücut sıvılarında ve vücut dokularındaki varlığını ve miktarını araştırarak, elde edilen bulgulara göre ölüm nedeninin belirlenmesini sağlar (47,48).

Adli toksikolog; örneğin nereden alındığını, karaciğer, akciğer, iskelet kası gibi biyolojik dokuların ölümden ne kadar süre sonra toplandığını, ölüm ile örnek alımı arasındaki sürede vücudun nasıl muhafaza edildiğini, vücutta dekompozisyon (çürüme) oluşup oluşmadığını ve antemortem ya da perimortem döneme ait klinik bilgilerin neler olduğunu değerlendirir (49-53).

Tablo 1 . Toksikolojik analiz için alınan bazı biyolojik materyaller (54).

Doku/Organ	Miktar	Analiz Edilebilecek Zehirler
Beyin	25–100 g	Alkol ve diğer uçucu zehirler
Karaciğer	25–100 g	Birçok toksik madde
Böbrek	25–50 g	Metaller (Hg, Cd gibi), sülfonamidler
Kan (Kalp)	25–30 ml	Alkol, CO, CN, antidepresanlar, trankilizanlar
Kan (Femoral ven)	10 ml	Alkol, CO, CN, antidepresanlar, trankilizanlar
Vitreus humor	Hepsi	Alkol, benzodiazepinler, narkotikler
Safra	Hepsi	Morfin, metadon, glutetimid ve diğer ilaçlar
İdrar	Hepsi	Metaller ve uyku ilaçları gibi birçok ilaç
Mide içeriği	Hepsi	Zehirlenmeden veya ölümden kısa bir süre önce alınan zehirler
Akciğer	25–200 g	İnhalasyon zehirleri

2.2.3. Adli Toksikolojik Analizlerde Kullanılan Başlıca Yöntemler

Ölüm nedeninin belirlenmesinde, toksikolojik çalışmalarda analitik kimya teknikleri kullanılır (55). Bu analitik kimya teknikleri başlıca; biyolojik örneklerdeki (kan, idrar, saç, mide içeriği vb.) toksik maddelerin, immünoassay (ELISA, EMIT, FPIA, RIA) ve ince tabaka kromatografisi (TLC) gibi tarama yöntemleriyle araştırılmasına dayanmaktadır (56). Doğrulama çalışmaları ve kantitatif analizlerde ise gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ve sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) gibi yöntemlerle yüksek duyarlılık ve seçicilikle toksik maddeler tespit edilmektedir (57). Ayrıca, bazı özel durumlarda ise elektroforez, NMR ve IR spektroskopisi gibi ileri yöntemler yapı aydınlatma veya küçük iyonik bileşiklerin analizi için uygulanabilmektedir (58).

Örnekte bulunan bileşenlerin (atom, iyon, molekül) tayinine kalitatif (nitel) analiz, bileşenin miktar veya derişiminin tayinine de kantitatif (nicel) analiz denir (55). Toksikolojide kullanılan analiz yöntemleri şu şekilde sınıflandırılır: Kalitatif ölçümler: Kimyasal renk testleri, İTK (İnce Tabaka Kromatografisi); Yarı kantitatif ölçümler: CEDIA (Cloned Enzyme Donor Immunoassay); Kantitatif ölçümler: Kromatografik yöntemler (ör. GC, HPLC) (51).

Bu çalışmada, Netrin-1 için ELISA testi kullanılmıştır. Sıçan Ntn-1 antikoru kaplanmış olan kitlere, numunelerin eklenmesi ve netrin-1/netrin-1 antikor bağlanmasının gerçekleşmesi prensibiyle çalışmaktadır. Daha sonra eklenen çeşitli substrat çözeltileri, Ntn-1 miktarıyla orantılı olacak şekilde renk değışiklikleri oluşturur ve tepkime sonrası 450 nanometre absorbansta ölçüm yapılmaktadır. Katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri için kolorimetrik testler kullanılmıştır. Bu kolorimetrik testlerde her bir enzime özgü tepkimeye girecek radikaller kullanılarak 405, 505 ve 340 nanometredeki absorbanlarda ölçümler yapılmaktadır (59-61).

Toksikoloji laboratuvarında, numunenin özelliği göz önüne alınarak, sıvı ise; spesifik hacim ölçümü ve protein çöktürülmesi, katı ise; Spesifik kütle ölçümüyle tamponda homojenleştirme işlemleri yapılır daha sonra veri toplama aşaması için; İmmünoassay (elisa vb.), Spektrofotometri, Kromatografi ve Kütle Spektrometrisi işlemleri yapılır (51).



Şekil 1. Eliza ölçüm cihazı 1

Microplate reader: Bio-Tek EI X 800



Şekil 2. Eliza ölçüm cihazı 2

Auto strip washer: Bio-Tek EI X 50



Şekil 3. Kolorimetrik Ölçüm Cihazı

Mindry-BS400

Bu yöntemler ölçüm şekli itibari ile genel olarak spektroskopik ve kromatografik yöntemler olarak iki ana başlık altında incelenir. Başlıca, spektroskopik inceleme, ışının madde ile etkileşimini, kromatografik inceleme ise; bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde birbirinden ayrılması ve saflaştırılması işlemlerinin yapıldığı analiz yöntemleridir (62).

Spektroskopik Yöntemler; 1. Ultraviyole spektroskopisi (UV spektroskopisi), 2. İnfrared spektroskopisi (IR spektroskopisi), 3. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), 4. Co-oximeter, 5. CEDIA (Cloned enzym donor immuno assey. (63) (64) (65)

Kromatografik Yöntemler; 1. İnce tabaka kromatografisi (İTK) yöntemi, 2. Gaz kromatografisi (HS/GC) yöntemi, 3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS), 4. HPLC (High performance liquid chromatography), 5. Likit kromatografisi-Kütle spektrometresi (LC-MS), 6. Sıvı Kromatografi/Yüksek Çözünürlüklü Quadrupole-Orbitrap Kütle Spektrometre (LCS/MS/MS) (63-65).

Adli toksikoloji laboratuvarlarının, olguların analizinde kullanılan yöntemlerin validasyonu, Uluslararası Standardizasyon Kuruluşu tarafından onaylanmış olan 17025 veya 15189 standartlarına uygunluğu (akreditasyonu) zorunludur (2,14).

2.3. ADLİ TIPTA ZEHİRLENMELER

2.3.1. Poliklinik Olgularında Zehirlenmeler ve Adli Tıp

Adli tıp pratiğinde zehirlenme ile başvuran olgularda, öncelikle muayene ve tetkikler adli olgu kapsamına uygun şekilde yapılarak olayın oluş şekli ve zehirlenmeye sebep olabileceğinden şüphelenilen madde sorgulanmalı, uygun ve yeterli miktarda kan ve/veya diğeri gerekli vücut sıvıları alınarak laboratuvar testleri yapılmalı ve bu örnekler uygun koşullarda saklanılmalıdır. (12) (66)

Adli tıp uygulamalarında, Türk Ceza Kanunu'nda (TCK) Tanımlanan Yaralama Suçlarının Adli Tıp Açısından Değerlendirilmesi Rehberi ile zehirlenmelerin; Basit tıbbi müdahale (BTM) ile giderilebilecek nitelikteki zehirlenme olguları ve Yaşamsal tehlike oluşturan zehirlenme olguları olarak standardizasyonu yapılmıştır:

Basit tıbbi müdahale ile giderilebilecek nitelikteki zehirlenme olguları:

- Semptomatik tedavi ile düzeltilebilen,
 - Gözlem süresince herhangi bir komplikasyon gelişmeyen,
 - Gastrik lavaj ve aktif kömür dışında tedavi gereksinimi olmayan olgulardır.
-

Yaşamsal tehlike oluşturan zehirlenme olguları:

- 1) Dozaj: Toksik dozun bilindiği ve güvenilir kaynaklarla desteklendiği durumlarda, kandaki madde düzeyinin bu toksik sınırdan bulunması.
 - 2) Glasgow Koma Skalası: Skorun 8 ve altında olması yaşamı tehdit eden bir durumun göstergesidir; ancak 9 ve üzerindeki değerler her zaman olumsuz bir bulgu olarak değerlendirilmemelidir.
 - 3) Entübasyon endikasyonu: Hastada entübasyon gerekliliğini doğuran klinik bulguların varlığı.
 - 4) Kardiyopulmoner resüsitasyonun yapılması ve ileri yaşam desteği kapsamında kalp–akciğer–beyin dolaşımının yeniden sağlanması için girişim uygulanması.
 - 5) Diyaliz, hemoperfüzyon, hemofiltrasyon, plazmaferezin tedavide kullanılması.
 - 6) Metabolik değerlendirme ise:
 - Nedeni açıklanamayan anyon açıklığı yüksekliği veya belirgin metabolik asidoz varlığında intoksikasyon olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır.
 - pH değerinin 7,2'nin altında olması,
 - pCO₂ düzeyinin 45 mmHg'nin üzerinde bulunması,
 - Potasyum düzeyinin 6,4 mEq/L'den fazla veya 2 mEq/L'nin altında olması.
 - 7) Konvülsiyonlar: Hastada nöbet aktivitesinin görülmesi.
 - 8) Kan basıncı: Sistolik arter basıncının 80 mmHg'nin altına düşmesi.
 - 9) Ritim bozuklukları: Olayla ilişkili olarak sinüs ritmi dışında bir ritim saptanan ya da blok gelişen hastalar.
-

CO zehirlenmelerine özel yaşamsal tehlike kriterleri:

- Bilinç bozukluğu olması,
 - COHb'in %20'den fazla olması,
 - Hiperbarik oksijene gerek duyulması,
 - 4 saatten uzun süre oksijen tedavisi gerekliliği,
 - Spesifik BT ya da MR bulguları, beyin dışı organ bulguları; rabdomyoliz (CPK, LDH, ALT yükselmesi), miyokart enfarktüsü (67-69).
-

2.3.2. Adli Tıpta Zehirlenmelerin Sınıflandırılması

Ulusal Zehir Merkezi (UZEM) verilerine göre ülkemizde en sık karşılaşılan akut zehirlenme nedenleri sırasıyla; ilaçlar (analjezikler, antidepresanlar, antihistaminikler, antihipertansifler vb.), tarım ilaçları (organofosfatlar, karbamatlar, piretrinler), ev içi kimyasallar (çamaşır suyu, lavabo açıcı, deterjanlar vb.), zehirli gazlar (karbonmonoksit, boğucu gazlar), diğer kimyasallar, bitki ve besinler (mantar, deli bal vb.) ile zehirli hayvan sokmalarıdır (akrep, yılan, örümcek, arı) (49).

İlaç zehirlenmeleri, reçetesiz ilaç kullanımı, alkol kötüye kullanımı ve uyuşturucu madde alımı ile oluşan zehirlenmeler adli nitelikli ölümlerdir. Genellikle intihar, eğlence ya da sedasyon amacıyla alınan ilaçların dağılımı, olayın orijini hakkında bilgi verir (70,71).

Tarım ilaçları arasında yer alan pestisitler, özellikle organofosfatlar, kolinerjik aktivasyonu artırarak ciddi semptomlara yol açar; maruziyet sonrası ölüm genellikle 5 dakika ile 24 saat arasında, solunum felci nedeniyle gerçekleşir (43,72).

Ev içi kimyasallar, temizlik ürünleri, kozmetikler, piller ve cıvalı termometre gibi maddeler, sıklıkla kaza orijinli zehirlenmelere neden olmaktadır (44).

Karbonmonoksit ve boğucu gazlar: Temel olarak havada bulunan duman ve benzeri hava kirletici ve çevrede bulunan motor egzozları, kömür dumanı, kurşun, kükürtdioksit gazı, karbonmonoksit gazı vs. gibi eksik yanmalarıyla oluşan yanma ürünleri, çevresel zehirlenme etmenleri arasındadır ve toplumda çok sık karşılaşılan olgulardandır (73).

Karbonmonoksit, hemoglobin ve diğer hem molekülüne bağlanarak doku hipoksisi ve oksidatif strese neden olarak mitokondriyal solunum, hücresel enerji kullanımı, inflamasyon ve özellikle beyin ve kalpte serbest radikal üretimi üzerindeki pleiotropik etkileri oluşturur (74).

Bitki ve besin kaynaklı zehirlenmeler, şifalı bitkiler, gıda takviyeleri, sporcu ürünleri, mantarlar ve botulismus toksini içeren konservelerle ilişkilidir. Belirtiler hafif gastrointestinal semptomlardan çoklu organ disfonksiyonuna kadar değişebilir (45,75).

Zehirli hayvan sokmaları (yılan, örümcek, arı, akrep vb.) lokal etkiler (ödem, nekroz) yanında sistemik etkiler (taşikardi, deliryum, akut böbrek yetmezliği, koagülopati) oluşturabilir ve bireyin fizyolojik durumuna bağlı olarak 6–48 saat içinde ölümle sonuçlanabilir (46).

2.3.3. Zehirlenme Olgularında Otopsi Sırasında Örnek Alımı ve Dikkat Edilecek Hususlar

Zehirlenmenin tanısında; olayın hikâyesi, klinik gözlem ve muayene, ölüm gerçekleşmişse otopsi işlemi ve son olarak alınan örneklerin laboratuvar analizlerinin yapılması basamakları yer almaktadır (76). Toksik maddeye ne kadar sürede ve ne kadar miktarda maruz kalındığı, bu toksik maddenin zehirlenmeye ve ölüme sebep olup olmadığı olayın çözümüne katkı sağlamaktadır (12).

Karbonmonoksit, siyanür, kükürtdioksit ve karbondioksit gibi toksik gaz zehirlenmelerinde cilt, kan ve dokular genellikle açık pembe renkte görülürken; potasyum klorat ve anilin zehirlenmelerinde bu renk kahverengidir (47). Korozyif madde alımına bağlı intiharlarda ağız ve dudak çevresinde lezyonlar bulunabilir. İç beden muayenesinde, siyanür zehirlenmesini düşündürecek şekilde bağırsaklardan acıbadem kokusu alınabilir (48). Ayrıca alkol, fenol, krozol, eter ve kloroform gibi maddelerin karakteristik kokuları tanı sürecine ipucu verebilir. Ancak bu bulgular yalnızca ön tanı açısından yol göstericidir; zehirlenmenin kesin tanısı için yetersizdir (48).

Postmortem toksikolojik araştırmalarda, otoliz, çürüme ve postmortem redistribüsyon (yeniden dağılım) durumları oluşabileceğinden analizlerde bunlara dikkat edilmesi gerekmektedir (12,77).

Numunelerin Tablo 2’de belirtilen uygun koşullarda en az 6 ay süre ile -15 °C ve altında saklanması gerekir. Adli olgularda, muhafaza edilen numunelere, şahit numune denir (78). Özellikle zehirlenme şüphesi ile takip ve tedavisi yapılan adli olgularda ilk başvuruda alınan biyolojik örneklerden şahit numunenin gerektiğinde adli tıbbi amaçlarla kullanılmak üzere belirli bir süre saklanması gerekmektedir (78).

Ceza Muhakemesi Kanunu’nun (CMK) 75-82. Maddelerinde, şüpheli, sanık veya diğer kişilerin beden muayeneleri, vücuttan örnek alınması, moleküler genetik incelemeler, fizik kimliğin tespiti konularını ve bu işlemlerle ilgili usuller Ceza Muhakemesinde Beden Muayenesi, Genetik İncelemeler ve Fizik Kimliğin Tespiti

Hakkında Yönetmelik'te yer almaktadır (79). CMK'nun bu maddelerindeki hükümler, ceza soruşturmalarında delil elde edilme sürecini, bu süreçte kişilik haklarının nasıl korunacağını, şüpheli, sanık ya da üçüncü kişilerden beden muayenesi, biyolojik örnek alma, kimlik tespiti, arama ve el koyma işlemleri gibi müdahalelerin hangi şartlarla ve nasıl yapılabileceğini, gizli tanık ve gizli soruşturmacı kavramlarını kapsamaktadır (79).

Tablo 2. Saklama koşulları (80).

DELİL	DURUM	KONUM	TOPLAMA VE SAKLAMA KOŞULLARI
KAN	Sıvı (Venöz kan)	Mağdur/Şüpheli	Tek kullanımlık enjektör ile EDTA'lı 5 ml'lik tüplere topla. 2-8 °C'de muhafaza et.
	Sıvı	Dış Ortam	Pamuklu kumaş üzerine transfer et. Açık havada kurut. 15.5-24 °C'de muhafaza et.
	Pıhtı	Giysi	a. Pıhtıyı test tüpüne topla. 2-8 °C'de sakla. b. Pamuklu kumaşa üzerine transfer et. Açık havada kurut.
	Islak	Giysi-Objeye	Açık havada kurut. Kâğıt torba ile pakette. 15.5-24 °C'de muhafaza et.
	Islak	Su	Numuneyi şırınga ile topla. Numuneyi plastik kaplara yerleştir. 2-8 °C'de muhafaza et.
KURU KAN	Kabuk	Mağdur/Şüpheli Objeye-Dış Ortam	Kabuğu kâğıt pakete koy. Objelerin diğer kısımlarından kontrol numunesi al.
	Leke	Silah	Ögeyi doğrudan topla.
	Leke	Giysi Küçük Objeye	Tüm ögeyi topla. 15.5-24 °C'de muhafaza et.
SEMEN	Sıvı	Mağdur/Şüpheli	a. Sıvı semeni enjektör ile tüpün içine topla. b. Pamuklu kumaş üzerine transfer et. Açık havada kurut. 15.5-24 °C'de sakla.
	Sıvı	Objeye-Dış Ortam	a. Numuneyi cinsel saldırı kiti ile topla. b. Numuneyi steril pamuk swab ile topla. Buzdolabında 2-8 °C'de muhafaza et.
	Islak	Giysi	Açık havada kurut. Giysileri ayrı ayrı pakette.
	Kuru Leke	Giysi-Küçük Objeye	Olduğu gibi topla. Ayrı pakette.
SAÇ	Köklü (DNA analizi)	Mağdur/Şüpheli Dış Ortam	Temiz penis ile çekilmeden topla. 10-15 tel saç kök dokusu ile kâğıt zarfla topla. 15.5-24 °C'de muhafaza et.
	Köksüz (Toksikolojik analiz)	Mağdur/Şüpheli	Saç dibine en yakın mesafeden kurşun kalem kalınlığında saçı kesin ve kâğıt zarflara yerleştir.
İDRAR	Kontrol Num. (Sıvı)	Mağdur/Şüpheli	Temiz penis ile çekilmiş (en az 10-15 tel saç) Plastik tüplere topla. -10 °C'de muhafaza et.
SALYA	Kuru	Mağdur	Numuneyi steril pamuk swab ile topla. 15.5-24 °C'de muhafaza et.
DOKU, ORGAN KEMİK	Taze	Embriyo-Fetus-Yenidoğan	Bütün olarak soğuk zincir içine yerleştir. Buzdolabında 2-8 °C'de muhafaza et.

Toksikolojik incelemelerin önemli bir kısmını boğucu gazlarla meydana gelen, toksik gazların, özellikle de karbonmonoksit gazının sebep olduğu asfiktik zehirlenmeler oluşturmaktadır (81).

2.3.4. Asfiksi Kavramı ve Asfiktik Zehirlenmeler

Asfiksi “havasızlık”, “oksijen azlığı” ya da “oksijen yokluğu” anlamlarına gelmekte olup vücuda yetersiz oksijen sağlanmasıyla karakterize bir durumdur (82).

Atmosfer havasında O₂ oranı %18-21 arasındadır ve bu oranın %12-16’ya düşmesi ciddi kinik semptomlara, %5’e inmesi ise ani bilinç kaybı ve ölüme yol açar (81).

Asfiksi olgularında postmortem tanıda, dış muayenede; elle boğmalarda boyunda tırnak izlerine bağlı yarım ay şeklinde sıyrıklar ve ekimozlar, ası vakalarında ise telem (sillon), suda boğulmalarda ağızda köpük bulunması tipik bulgulardır. İç muayenede ise ödem, hiperemi, peteşiler ve seröz boşluklarda sıvı birikimi gözlenir (83-85).

2.3.5. Asfiksilerin Etyolojik Sınıflandırılması

1. Ası: Bir ucu sabit bir noktaya bağlı, diğer ucu ilmik şeklinde boyuna sarılmış bir bağın, vücudun kendi ağırlığı ile boynu sıkıştırması sonucu solunum yoluna, damar ve sinirlere basısıyla beyin iskemisi, omurilik yaralanmasına neden olması veya karotid sinüse basıyla vagal inhibisyona bağlı refleks kalp durmasına neden olmasıyla ölümün meydana gelmesidir (86,87).

2. Boğma: Kemer, atkı, kravat, elektrik kablosu ve tel gibi her türlü bağ ya da ip kullanılarak boyuna düğüm atılmasıyla oluşan asfiksiyi tanımlar. Otopsi bulgusu olarak; boyunda cilt altı ve kas dokularında ekimozlar oluşabilir (88). Çeşitli yöntemlerle boğma eylemi gerçekleşebilir: Elle boğma, bağla boğma, boyun kilidi ve boyun kısıkaçı ile boğma, Otoerotik (seksüel) şeklinde olabilir (88).

3. Tıkama-tıkanma: Solunum mekanik olarak kapanması, karın ve göğüsün sıkışması veya solunan havada oksijen bulunmayışı ile meydana gelen asfiksilerdir (81). Bunlar; ağız ve burun kapanması, solunum yollarında yabancı cisim ile tıkanma, karın-göğüs basısı, diri gömülme, havasız yerde kapalı kalma, pozisyonel (postüral) şeklinde olabilir (89).

4. Kimyasal Asfiksiler: Havagazı, bütan gazı vb. ajanlar veya lağım, derin kuyu, bodrum, tekne gibi ortamlardaki karbondioksit, metan ve hidrojen sülfür gazları solumaya bağlı ölümler, vücutta yetersiz oksijen tedarikine neden olur ve otopside spesifik bir bulguya rastlanmaz (90). Postmortem toksikolojik analizlerde

karboksihemoglobin, sülfhemoglobin ve sülfomethemoglobin bakılmasına karşın tanı koymada yetersiz kalmaktadırlar (91,92).

4.a. Karbonmonoksit zehirlenmesi: Karbon bazlı yakıtların ve maddelerin eksik yanmasının bir ürünü olan karbonmonoksit (CO) gazı, boğucu gazlar arasında, kimyasal asfiksiyle birçok klinik semptoma ve ölüme neden olabilen ajanların başında gelmektedir (12,93). Özellikle sanayi ülkelerinde iş kazası nedenli ölümcül zehirlenmelerde, kömür vb. yakıt olarak karbon kaynaklı ürünlerin kullanıldığı bölgelerde soba, baca zehirlenmelerinde, yangın, patlama gibi doğal afetlerde açığa çıkan dumanın solunmasıyla gerçekleşen zehirlenmelerde karşılaşılmaktadır (12).

4.b. Siyanür zehirlenmesi: Siyanür MetHb'ye bağlanarak detoksifiye edildiğinden, toksisiteyi değerlendirirken kurbanın kanındaki MetHb konsantrasyonuna dikkat edilmeli ve yangın kurbanlarından şüphelenildiğinde COHb, siyanür ve MetHb ölçülmelidir (12).

4.c. Azot zehirlenmesi: Ölüm genellikle çevresel ve alveoler oksijen konsantrasyonlarının yer değiştirmesi ve azalması nedeniyle meydana gelir (94,95).

4.e. Nitrojen Zehirlenmesi: Otomobil egzoz gazı inhalasyonu durumunda, nitrojen oksidin solunması methemoglobin (MetHb) üretimine yol açmaktadır (94).

Diğer bir sınıflandırma şu şekildedir:

Anoksik/hipoksik tip asfiksi; Solunan havada ortamdaki oksijenin yetersizliği veya solunum yollarının tıkanması, göğsün bası altında kalmasıyla oluşan mekanik kısıtlanma gibi nedenlerle solunum kaslarının olumsuz etkilenmesi ve oksijenin akciğerlere ulaşmasında sorun olmasıdır (96).

Anemik tip asfiksi; Kanın oksijen taşıma kapasitesindeki azalma sonucu meydana gelmekte olan bu asfiksi tipinde, özellikle karbonmonoksit (CO) zehirlenmesi vakalarında meydana gelmektedir (97). Kimyasal olarak oksijene göre karbonmonoksitin hemoglobine bağlanma eğiliminin yaklaşık 200 kat fazla olmasıyla oksijenin taşınması kısıtlanmaktadır (97). Bir diğer örnekte; havadan %20 daha ağır olan sülfür gazının, tabana yakın yerlerde birikerek kuyu gibi ortamlarda zehirlenmelere neden olmaktadır (98).

Histotoksik tip (dokulardaki oksidatif olayların engellenmesine sonucu meydana gelen asfiksiler); Oksijen ile elde edilen enerjinin hücresel düzeydeki süreçlerde sorun olmasıdır (97). Örneğin; siyanür, karbonmonoksit veya karbondioksit zehirlenmesi gibi olaylarda enzimatik yollarda sorun olması ve metabolizmanın etkilenmesidir (97).

2.4. KARBONMONOKSİT ZEHİRLENMESİ

Hidrokarbon bazlı yakıtların ve maddelerin eksik yanmasının bir ürünü olan karbonmonoksit (CO) gazı, boğucu gazlar arasında, kimyasal afiksiyle birçok klinik semptoma ve ölüme neden olabilen ajanların başında gelmektedir (12). Özellikle sanayi ülkelerinde iş kazası nedeni ölümcül zehirlenmelerde, yakıt olarak karbon kaynaklı ürünlerin kullanıldığı soba zehirlenmelerinde, yangın, patlama gibi doğal afetlerde gerçekleşen zehirlenmelerde karşılaşılmaktadır (12). CO havadan ağır bir gaz olup, iyi havalandırılan kapalı ortamlarda bile hızlı bir şekilde birikebilir (99,100).

2.4.1. Karbonmonoksit Zehirlenmesinde Antemortem Bulgular

Hafif maruziyette en erken belirtiler mide bulantısı, kusma ve baş dönmesi olmakla birlikte devam eden maruziyette taşikardi, taşipne, güçsüzlük ve ataksi görülürken daha şiddetli CO zehirlenmelerinde senkop, nöbetler, hipotansiyon, koma ve ölüm görülebilmektedir (101,102).

CO zehirlenmelerinde mortalite nedeni çoğunlukla nörolojik sekeller ve ventriküler disritmiye bağlı kardiyak arrest olduğu belirtilmektedir (103). Kaslardaki miyoglobine olan afinitesi oksijenden 17 kez fazla olup, miyoglobin ile birleşerek karboksimiyoglobin (COMb) oluşur (81). Karboksi miyoglobin ve karboksihemoglobin oluşmasıyla kronik dönemde; rabdomiyoliz, çoklu organ yetmezliği, intravasküler koagülasyon defekti, gecikmiş nöropsikiyatrik komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır (81).

CO toksisitesinde asıl mekanizma, inhale edilen CO gazı hızla alveoler kapiller memrandan geçmekte ve karboksihemoglobin oluşumuna bağlı doku hipoksisi-iskemi ve hücresel düzeyde doğrudan CO aracılı oksidatif stresin oluşmasıdır (104). Karbonmonoksit (CO), eritrosit oksijen taşınmasında ciddi bir sınırlamaya neden olarak doku oksijen dengesini bozmaktadır (105).

CO zehirlenmesinde COHb düzeylerinin yüksekliği, zehirlenme şiddeti ve klinik semptomlarla Tablo 3'te belirtilen şekilde çoğunlukla korelasyon gösterse de COHb düzeyleri ile klinik bulgular ve prognoz arasında ilişki kesin tanı koymada veya maruziyetin düzeyini kesin olarak göstermede yetersiz kalmakta ve sağlıklı sonuçlar vermemektedir (73).

Tablo 3. Kandaki COHb düzeyine göre klinik bulgular

Kandaki COHb düzeyi	Maruziyet Süresi	Semptom ve bulgular
%0-10	Belirsiz	Semptom yok
%10-20	Belirsiz	Hafif baş ağrısı, cilt yüzeyinde damarlarda genişleme, bulantı, yorgunluk, taşipne, duygusal dengesizlik, konfüzyon, sakarlık
%21-30	5-6 saat	Şakakta zonklayıcı ağrı, efor dispnesi, anjina, görme duyusunda değişiklikler, tehlike anında tepki vermede zayıflık, güç kaybı, duyularda zayıflama
%31-40	4-5 saat	Şiddetli baş ağrısı, bulanık görme, kollaps, güçsüzlük, baş dönmesi, bulantı, vişne kırmızı renk cilt ve dudakların kiraz kırmızısı renk alması, sersemlik, kusma, karar almada yetersizlik, senkop, solunum ve nabız sayısında artış
%41-50	3-4 saat	Bayılma, bilinç değişiklikleri, unutkanlık, taşikardi, taşipne
%51-60	2-3 saat	Nöbetler, koma, belirgin asidoz, takipne, taşikardi, Cheyne-Stokes solunumu, konvülsiyon ve koma
%60-70	2 saat	Muhtemelen ölüm
%70-80	1-2 dakika	Solunumun baskılanması, nabızda zayıflama, solunum yetmezliği, ölüm.

Hücresel düzeyde, özellikle oksidatif mekanizmalarda görevli olan mitokondrinin oksidasyonu indükleyici etkisiyle ve antioksidan mekanizmalarda görevli olan mitokondriyal sitokrom c oksidazın (COX) antioksidan metabolizmasının inaktivasyonu ile akut CO zehirlenmelerinde ölümcül hücre hasarı meydana gelmektedir (105).

CO çözünmüş halde, doğrudan elektron taşıma sisteminin son enzimi olan sitokrom-a3 (Kompleks IV) gibi, sitokrom oksidaz enzimleriyle etkileşime girerek sitokrom c oksidaza bağlanır, hücresel solunumu inhibe eder ve oksidatif adenozin trifosfat (ATP) üretimini bozar (106,107). COHb seviyesi zamanla düşse bile sitokrom c oksidazın aktivitesinin normale dönmesi zaman alarak COHb'nin hücresel solunum inhibisyonunu uzun süre devam ederek geç nörolojik hasarlar oluşmasına neden olur (108,109). Sitozolik hem ve hem oksijenaz-1 seviyelerini yükselten CO, inflamatuvar sürecin de başlamasına sebep olur (106,107). Ayrıca CO, plateletlerdeki hem proteinlerine bağlanarak nitrik oksit (NO) üretimini artırır ve oluşan NO'dan türeyen peroksinitrit bileşikleri, mitokondri işlevini bozar ve dokularda hipoksiyi şiddetlendirir (109).

Bu süreçte lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve apoptoz meydana gelir (106). Endotel hücrelerinde ksantin dehidrogenazlarla reaksiyona giren proteazlar, ksantin oksidaz açığa çıkartır ve oksidatif stresi azaltan endojen mekanizmalar ksantin oksidaz nedeniyle inhibe olur (106,107).

Miyelin bazik protein ve lipid peroksidasyon metabolitleri birlikte reaksiyona girerek lenfositik immünolojik cevabı başlatarak artan mikroglia aktivasyonu ve aktivitesi nöronal sistemde bozulmalara sebep olur ve sonuç olarak oksidatif stres, nekroz ve apoptoz beyin hipoksisi zemininde gelişir (106-109).

2.4.2. Karbonmonoksit Zehirlenmesinde Postmortem Bulgular

Ölüm gerçekleşmiş CO zehirlenmelerinde; spesifik bir otopsi bulgusu yoktur (63). Vücut yüzeyleri ve dokular kiraz kırmızısı şeklinde renklenmesi karakteristik bir görünüm alarak ölü lekelerinin parlak kırmızı renkte olması tanı için çok yararlı olsa da başkaca zehirli gaz toksikasyonlarında da kiraz kırmızısı bu renk oluşmaktadır (110,111).

Özellikle koyu tenli cesetlerde, konjonktivalarda, tırnak yataklarında ve dudak mukozasında, yüksek CO satürasyonlarında açık pembe renk değişikliği oluşmakta ancak örneğin, bu renk değişikliği anemik olgularda ve yaşlılarda hemoglobin miktarının azalması nedeniyle aynı renk değişikliği görülmemektedir (110).

Ayrıca, soğuğa maruz kalma, donma ve siyanür zehirlenmesinde de açık pembe ölü lekeleri görülebileceğinden tanı koymada yol gösterici olsa da yetersiz kalmaktadır (112). Bu CO zehirlenmesine bağlı renk değişikliği genellikle %30'u aşan COHb konsantrasyonlarında görülmeye başlanmaktadır (113).

İç muayenede bütün iç organlar, mukozalar ve seröz yapılar, damar iç yüzeyleri açık pembe renkli görünümde olup, perikard, saçlı deri altı, meninksler, beyin dokusu içinde peteşiler görülmektedir (82,88,114).

Kan akıcı özellik kazanmakta, kanın rengi açık ortamda bir yüzeye yayılıp bekletildiğinde veya sulandırıldığında karmen kırmızısı (ödem karmine) rengine dönmektedir (82,88,114).

Toksik gaza en fazla solunum yollarının ve akciğerlerin maruz kalması nedeniyle akciğerler şiş, ödemli, açık kırmızı renkte olup, çok sayıda subplevral kanama odakları içermektedir ve akciğer kesitlerinden bol miktarda köpüklü, kanlı ödem sıvısı geldiği gözlenmektedir (82,88,114).

Akut maruziyette, özellikle globus pallidusta, altta yatan nekroza bağı olarak bilateral simetrik hipoatenüasyon şeklinde görülmekte ve bu görüntü MR'da T2 ağırlıklı, FLAIR ve DW sekanslarında sinyal artışı olarak görülmektedir (115).

Kronik maruziyette, beyin dokularında subakut infarkt ve kortikal atrofi, bazal ganglionlar çevresinde miyelin solukluğu, gliosis ve mikrogial proliferasyon, serebral beyaz madde demiyelinizasyonu ve yıkımı görülebilmekte ve en fazla pariyeto-okspital bölgenin etkilendiği çalışmalarda gösterilmiştir (116-120).

CO zehirlenmesiyle ölüm sonrası yapılan histopatolojik incelemelerde; sentrum semiovale ve interhemisferik komissürde çok sayıda küçük nekroz odakları, derin beyaz cevherde demiyelinizasyon görüldüğü kayıtlıdır (118-123).

Yapılan çalışmalarda, ölümle sonuçlanan CO zehirlenme olgularında bildirilen en düşük COHb seviyesinin %33.6 gözleendiği ve ölümün sıklıkla %40-49 COHb seviyesinde bulunduğı, bazı olgularda ölümüne sebep gösterilebilecek herhangi bir patolojik veya travmatik neden saptanmamış olsa dahi akciğer ya da kalp hastalığı morbiditesi olan olgularda ve yaşlılarda %25 gibi düzeylerde ölümün gerçekleşebileceğı ve CO'e olan duyarlılıklarının bireylerde değışken olabileceğı, COHb düzeyinin %20 seviyesini aştığı düzeylerde görülen ani ölümlerde ciddi aterosklerozun eşlik ettiğı bildirilmiştir (124).

Postmortem intervali uzun olan vakalarda, alınan bir numunelerde çürümeye bağı ölüm sonrası CO oluşumu görüldüğü, bunun sebebinin hemoglobin ve miyogloblin gibi hem-proteinlerinin bozulmasının sonucu olduğı, şiddetli çürüme gelişmiş durumlarda CO ölçümü için vücut boşluğu sıvılarını kullanılmasının yanlış sonuçlar verebileceğı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (125,126).

Adli toksikolojik analizler, ölçülebilir veriler sunması, sonuçlara göre olayların orijininin belirlenmesi, elde edilen hassas veriler sayesinde adli olayların kesin ayrımının yapılması açısından karbonmonoksit zehirlenme vakalarında yol gösterici olmakta ve bu zehirlenmelerin oksidan/ antioksidan düzeyinde dengesizliklere, çeşitli metabolik düzensizliklere ve oksidatif stres sonucu kimyasal asfiksiye neden olduğı bilinmektedir. Bu nedenle antioksidan ve nöroprotektif bir protein olan Netrin-1 düzeyinin, zehirlenme olgularında tanı, tedavi ve otopsi sırasında orijin tayini için kullanılabilir bir parametre olduğunu göstermeye çalıştık.

2.5. NETRİN-1 PROTEİNİ

Dört klasik akson rehberlik protein ailesi; Netrin, Ephrin, Slit ve Semaforin olarak tanımlanmıştır (8). Akson rehberlik protein ailesi, genel anlamda olgun sinir sisteminin oluşumu ve özellikle akson hedeflemeyi kontrol etme yetenekleri olduğu iyi bilinmektedir. Bu dört klasik akson yönlendirme ailesi proteini arasında Netrin-1, akson uzantısını teşvik etme konusunda en güçlü kemo-çekici yeteneğe sahiptir (127).

Nörogenez ve anjiyogenez için önemli bir protein olan netrin-1, intrauterin dönemde, endojen netrin-1, beyindeki hücrelerde nöronal gelişim sırasında aksonal büyümeyi, aksonal yönelimi ve nöronal göçü indüklemektedir (127).

Gelişmekte olan merkezi sinir sistemindeki hücreler ve aksonlarda görev almaktadır. Ayrıca nöronların hayatta kalmasında da önemli bir rol oynar (9). Yapılan çalışmalarda serebral iskemi sonrası iyileşme için gerekli olan anjiyogenezde netrin-1 proteinin görev aldığı belirlenmiştir (8).

Periferik sinir sisteminde Netrin-1 reseptörleri Schwann hücrelerinde, duyuşal nöronların hücre gövdelerinde ve hem motor hem de duyuşal nöronların aksonlarında eksprese edildiği, yapılan son çalışmalarda Netrin-1'in periferik sinir rejenerasyonunu, Schwann hücresi çoğalmasını ve göçünü desteklemede olumlu bir rol oynadığını gösterilmiştir (127).

Netrin-1 endotel hücreleri için bir hayatta kalma faktörüdür ve bağlandığında apoptotik sinyal eylemi serin/ treonin kinaz DAPK (ölümle ilişkili protein kinaz) inhibe edilir ve ardından EC apoptoz engellenir. Netrin-1, EC apoptozunu inhibe ederek ve vasküler düz kas hücreleri arasındaki yapışmayı sağlayarak anjiyogenezi teşvik eder (128).

Netrin-1 damarların vasküloendotelial growth faktör (VEGF) ile reaksiyonunu güçlendirerek, enfarktüs bölgesinde, kanın arttırılması, iskemik dokularda besleme ve prognozu iyileştirmede görevli olduğu, mikrovasküler endotel hücrelerinin çoğalmasını ve yeni arter benzeri damar oluşumunu destekleyebileceği ortaya çıkmıştır ve bu nedenle bazı araştırmacılar netrin-1'in aynı zamanda pro-anjiyogenik bir faktör olduğunu öne sürmüştür (8,128).

Netrin-1, pro-inflamatuar mediatörlerin serum seviyelerini azaltmakta ve bağıışıklık hücrelerinin merkezi sinir sistemine girişini sınırlayan kan-beyin bariyerini stabilize eder (129,130).

Nöroenflamasyon sırasında, pozitif kemoatraktanların, inhibitör kılavuz ipuçlarının uygun olmayan lökosit göçünü kontrol etmekte, inflamasyon aracılı doku hasarını azaltmakta ve ayrıca aksonal göçün hem kemorepulsif hem de kemoatraktif sinyallerin entegrasyonuna dayandığı, gelişmekte olan MSS'de tanımlanan iki işlevli bir kılavuz molekülü olarak işlev görmektedir (129).

Bu bilgiler ışığında netrin-1'in, lökosit göçünü inhibe ederek ve doku hasarını azaltarak nöroinflamasyonu baskıladığı, endotel düzeyinde antioksidan olarak görev aldığı, nöroenez ve anjiyogeneze, periferik ve merkezi sinir sisteminde rejenerasyonunda hücre çoğalması ve göçünü teşvik ettiği, iskemi/reperfüzyon hayvan modellerinde rekombinant netrin-1'in uygulanmasının organ fonksiyonunu iyileştirdiği, inflamatuvar sitokin ve kemokin üretimini baskıladığı ve deoksijenasyon durumlarında kan beyin bariyeri bütünlüğünü koruduğu ortaya konmuştur (131,132).

Karbonmonoksit zehirlenmesi ile başvuran olgularda da netrin-1 düzeyinin, önemli ölçüde yükseldiğini, oksidatif stres artışı ve endojen serbest oksijen radikallerini içeren inflamatuvar süreçlerde, antioksidan ve antienflamatuvar olarak netrin-1 düzeyinin bir stres belirteci olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (133).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, Çanakkale Üniversitesi Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÇOMÜDAM) üzerinden temin edilen 44 (33 adet asıl + 11 adet yedek) adet 3-4 aylık 300-350 g ağırlığında, Wistar cinsi dişi sıçanlar (ratlar) kullanılmıştır. Hayvanların bakımı ve deneysel çalışma süreci de ÇOMÜDAM' da gerçekleştirilmiştir.

ÇOMÜDAM' da çalışma süresi boyunca sıçanlar uygun kafeslerde tutularak, 21±2°C'lik oda sıcaklığında, %50 nem oranında, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsünde, ad-libitum olarak standart yem ile beslendi.



Şekil 4. Deney grupları ve hayvan barınakları.

Çalışmamız; 5199 numaralı “Hayvanları Koruma Kanunu” (24.06.2004), Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından hazırlanan “Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik” (13.12.2011-28141) ve Helsinki Bildirgesi’nin deney hayvanları ile ilgili maddelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamız, 02.03.2024 tarihli Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu toplantısında, 2024/02-03 karar numarası ile onaylanmıştır. Yürüttüğümüz çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’nin TTU 2024-4887 nolu onayı ile mali olarak desteklenmiştir.

3.1. Deney Grupları

ÇOMÜDAM’ dan temin edilen 33 adet sağlıklı wistar albino dişi sıçan, randomize olarak kontrol grubu (Grup 1) ve deney grubu (Grup 2) olarak 2 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu; toksik gazı maruz bırakılmayan 9 adet sıçandan oluşturmaktadır. Kontrol grubu, yüksek doz anestezi kullanılarak kurban edildi. Deney grubu ise; 30 dk boyunca, kapalı sistem içerisinde yüksek doz CO₂’e maruz bırakılarak zehirlenme nedeniyle ölümü gerçekleştirilen 24 adet sıçandan oluşturmaktadır. Kontrol ve deney

grubu kendi aralarında; 0., 3. ve 6. saatlerde postmortem bulgular açısından jncelenmek üzere 3 gruba ayrıldı ve postmortem kan ve doku örnekleri alındı.

Kontrol grubu deney süresince CO gazına maruz bırakılmadı ve standart koşullarda takip yapıldı. Kontrol grubundaki ratlara işlem öncesinde 7 mg/kg ksilazin hidroklorid ve 70 mg/kg ketamin hidroklorür intraperitoneal uygulama yapılarak anestezileri sağlandı ve ardından dekapite edildi. Dekapitasyonun hemen sonrası postmortem 0. saat kabul edildi.

Kontrol grubu içinde ölüm gerçekleşmiş olan rastgele 3 adet rattan; 0. saatte postmortem bulguların incelenmesi için kalp kanı ve beyin/beyincik doku örnekleri alındı. Geriye kalan ratlardan rastgele 3 adet rat postmortem erken bulguların incelenmesi için, 0. saatten itibaren 3 saat bekletildi, ratlardan kalp kanı ve beyin/beyincik doku örnekleri alındı. Geriye kalan 3 adet rat ise; postmortem geç bulguların incelenmesi için, 0. saatten itibaren 6 saat bekletildi, kalp kanı ve beyin/beyincik doku örnekleri alındı.

Deney grubundan rastgele 8 adet rat seçildi. Sıçanlar kapalı sistem içerisinde CO gazına, 1 atmosfer basınç altında 30 dakika maruz bırakıldı. 30. dakikanın sonu, postmortem 0. saat olarak kabul edildi. 30. dakikanın sonunda ölüm gerçekleşmiş olan 8 adet rattan; 0. saatte postmortem bulguların incelenmesi için kalp kanı ve beyin/beyincik doku örnekleri alındı.

Deney grubundan rastgele 8 adet rat seçildi. Sıçanlar kapalı sistem içerisinde CO gazına 30 dakika maruz bırakıldı. 30. dakikanın sonu, postmortem 0. saat olarak kabul edildi. 30. dakikanın sonunda ölüm gerçekleşmiş olan 8 adet rat 3 saat boyunca postmortem erken bulguların oluşması için deney kabininden çıkarılarak oda şartlarında bekletildi. 3. saatte oluşan postmortem bulguların incelenmesi için kalp kanı ve beyin/beyincik doku örnekleri alındı.

Deney grubundan geriye kalan 8 adet rat, kapalı sistem içerisinde CO gazına 30 dakika maruz bırakıldı. CO gazına maruziyetten hemen öncesinde, postmortem dönemde kan örneklerinde pıhtılaşma gelişeceği ve kalp kanı örneğinin yetersiz olacağı öngörüldüğünden 6. saat grubu 8 ratın her birine 500 Ü/kg olacak şekilde 0,05 ml (250 ünite) Heparin enjekte edildi. CO gazına maruz bırakılmak üzere deney kabinine alınan ratlar 30 dakika boyunca bekletildi. 30. dakikanın sonu, postmortem 0. saat olarak kabul edildi. 30. dakikanın sonunda ölüm gerçekleşmiş olan 8 adet rat 6

saat boyunca postmortem geç bulguların oluşması için deney kabinden çıkarılarak oda şartlarında bekletildi. 6. saatte oluşan postmortem bulguların incelenmesi için kalp kanı ve beyin/beyincik doku örnekleri alındı.

Bütün ratlardan Netrin-1 ve antioksidan enzim (SOD, CAT, GPX) düzeylerinin incelenmesi için kan ve beyin/beyincik doku örnekleri alındı. Bu amaçla tüm ratlara kalp diseksiyonu yapılarak sarı kapaklı tüpe kalpten 2 cc'lik kan örnekleri alındı. Ardından tüpler 3000rpm ile 10 dakika boyunca santrifüj edilerek serum kısmı elde edildi. Serum rnekleri eppendorf tüplere alınarak analiz sürecine kadar -80 santigrad derece soğutucuda muhafaza edildi. Beyin ve beyincik dokusu ise kafatası açılarak alındı ve inceleme aşamasına kadar formolde saklandı.



şekil 5. Deney düzeneği

10 Lt CO gazı içeren tp ve barometre ile basınç kontrolü yapılan kapalı deney kabini sistemi



Şekil 6. CO tüpünden deney kabineine kontrollü gaz geçişini sağlayan aparat



Şekil 7. Barometre

Deney kabininin 1 atmosfer basınç düzeyinde sabit tutulmasını sağlamaktadır.



Şekil 8. Santrifüj cihazı

Kan örneklerinin 3000 devirde 10 dk santrifüj edilip serum kısmının elde edilmesini sağlamaktadır.



Şekil 9. -80 santigrad derece soğutucu



Şekil 10. Heparin

6. saat deney grubuna, postmortem dönemde pıhtılaşma gelişmesi sebebiyle kalp kanı örneklerinin yetersiz olacağı öngörüldüğünden heparin enjeksiyonun yapılmıştır.



Şekil 11. Yüksek doz anestezi ile sakrifikasyon

Kontrol gruplarında postmortem bulgularının tespiti için deney öncesinde 7 mg/kg ksilazin hidroklorid ve 70 mg/kg ketamin hidroklorür intraperitoneal uygulama yapılarak sakrifikasyonları gerçekleştirildi.



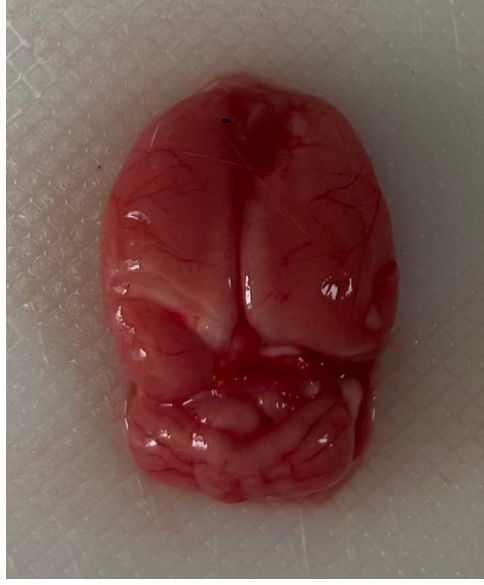
Şekil 12. Kalp diseksiyonu ile kalp kanı alınması



Şekil 13. Deney protokolü gerçekleştirilen hayvanlardan beyin ve beyincik dokusu eldesi için yapılan cilt/cilt altı diseksiyonu



Şekil 14. Deney protokolü gerçekleştirilen hayvanlardan beyin ve beyincik dokusunun eldesi



Şekil 15. Beyin ve beyincik dokusu



Şekil 16. Santrifüj sonrası kan örneklerinden elde edilen serum örnekleri

3.2. İstatiksel Analiz

Tanımlayıcı istatistikler; yüzde, aritmetik ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler olarak hesaplandı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uymayan veriler için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri uygulandı. Normal dağılıma uyan veriler ise Bağımsız Örneklem T-Testi ve Tek Yönlü ANOVA ile analiz edildi. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Araştırmada elde edilen verilerin analizi JAMOVİ Open Statistical Software programı kullanılarak yapıldı.

Eliza testleri bio-tek el x 800, microplate reader cihazı ve bio-tek el x 50, auto strip washer ile, kalorimetrik testler ise mindry-bs400, kolorimetrik ölçüm cihazı ile ölçüm yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Postmortem Makroskopik Bulgular

Deney grubunda, CO gazına maruz bırakılıp ölüm gerçekleşmiş olan her bir ratın 0. saatte dış muayenesinde; gözlerde opaklaşma, göz küresinde çökme ve rigor mortis bulguları meydana geldi. Kontrol grubunda, yine aynı şekilde yüksek doz anestezi madde sonrası dekapite edilen ratlarda da gözlerde opaklaşma, göz küresinde çökme ve rigor mortis ölüm bulguları meydana geldi.

4.2. Postmortem Alınan Örneklerin Analizleri

Elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Beyin ve beyincik dokusunda, Süperoksit dismutaz enzim düzeyi analizleri normal dağılıma uyan tek çoklu parametrik veri olduğu için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile post hoc Bonferroni testi, ikili karşılaştırmalarda ise t testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan diğer parametreler ise Kruskal- Wallis H ile nonparametrik Dunn-Bonferroni testi kullanıldı. Eliza testleri bio-tek el x 800, microplate reader cihazı ve bio-tek el x 50, auto strip washer ile, kalorimetrik testler ise mindry-bs400, kolorimetrik ölçüm cihazı ile ölçüm yapıldı.

Tablo 4: Normal dağılım testi

Değişken	Kolmogorov– Smirnov İstatistiği	SD	Anlamlılık (p)	Shapiro– Wilk İstatistiği	SD	Anlamlılık (p)
Netrin-1 doku	,251	31	<,001	,599	31	<,001
Netrin-1 serum	,371	31	<,001	,446	31	<,001
SOD doku	,096	31	,200*	,964	31	,366
CAT doku	,212	31	,001	,718	31	<,001
GPX serum	,244	31	<,001	,817	31	<,001
SOD serum	,211	31	<,001	,858	31	<,001
CAT serum	,138	31	,137	,920	31	,023

SD: Serbestlik derecesi

200*: Gerçek anlamlılığın alt sınırıdır.

a. Netrin-1 Proteinini Serum Analiz Sonuçları:

Tablo 5: Netrin-1 Proteinini Serum Analiz Sonuçları

Numune	Deney Hayvanı	Result(ng/L)
0. Saat Deney Grubu	1	620,33
	2	683,36
	3	2631,00
	4	676,60
	5	542,55
	6	693,56
	7	523,32
	8	612,78
3. Saat Deney grubu	1	769,23
	2	706,11
	3	897,63
	4	578,77
	5	535,43
	6	676,60
	7	491,60
	8	652,06
6. Saat Deney Grubu	1	600,99
	2	696,97
	3	Yetersiz numune
	4	551,77
	5	507,35
	6	516,31
	7	424,29
	8	649,85

0. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

0. Saat Kontrol Grubu	1	602,06
	2	950,73
	3	3271,20
3. Saat Kontrol Grubu	1	784,78
	2	576,67
	3	632,28
6. Saat Kontrol Grubu	1	606,34
	2	629,01
	3	711,86

0. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

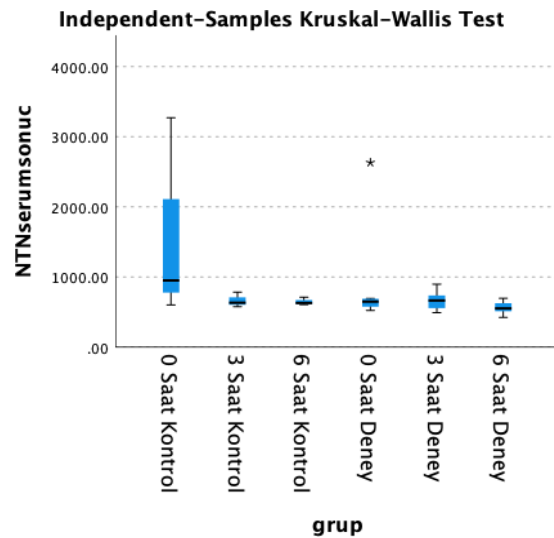
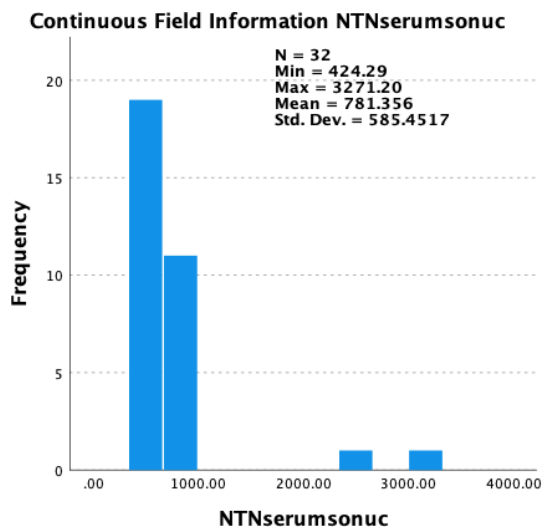
Tablo 6. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

No	Null Hipotez (H ₀)	Test	Anlamlılık (p)
1	Netrin-1 serum değişkeninin dağılımı grup kategorilerine göre aynıdır.	Bağımsız Örneklem Kruskal-Wallis Testi	,299

Tablo 7. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Serum Netrin-1 Protein Düzeyi						
Gruplar	Postmortem İnterval	Min	Max	Ort.	S.S.	Kruskal-Wallis H
Grup1 (Kontrol) Grup2 (Deney) Total:32	0. saat 3. saat 6. saat	424.29	3271.20	781.356	585.4517	0,299

Kruskal-Wallis testine göre serum örneklerindeki Netrin-1 proteini düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0,05$). 0. Saat deney grubundaki Netrin-1 düzeyi ile 0. saat kontrol grubundaki Netrin-1 düzeyi arasında farklılık olsa da fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 17-Şekil 18. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

b. Netrin-1 Proteini Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları:

Tablo 8. Netrin-1 Proteini Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları

Numune	Deney Hayvanı	Result(ng/L)
0. Saat Deney Grubu	1	858,41
	2	914,31
	3	1129,79
	4	1687,02
	5	1329,31
	6	1300,31
	7	1419,69
	8	1350,87
3. Saat Deney grubu	1	1548,97
	2	1329,31
	3	1271,61
	4	4251,71
	5	1141,19
	6	1182,96
	7	1338,53
	8	1380,39
6. Saat Deney Grubu	1	1385,08
	2	1109,97
	3	1371,03
	4	536,44
	5	691,28
	6	584,03
	7	1524,32
	8	1221,01

0. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

0. Saat Kontrol Grubu	1	1317,06
	2	1262,61
	3	1327,77
3. Saat Kontrol Grubu	1	1603,85
	2	1162,71
	3	1101,53
6. Saat Kontrol Grubu	1	1448,31
	2	920,77
	3	1361,71

0. Saat Kontrol Grubu: Toksik gazı maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Kontrol Grubu: Toksik gazı maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Kontrol Grubu: Toksik gazı maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Netrin-1 protein düzeyi analizi yapılan grup

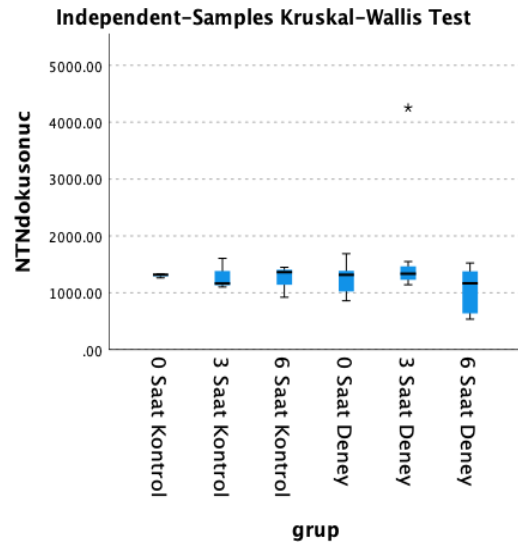
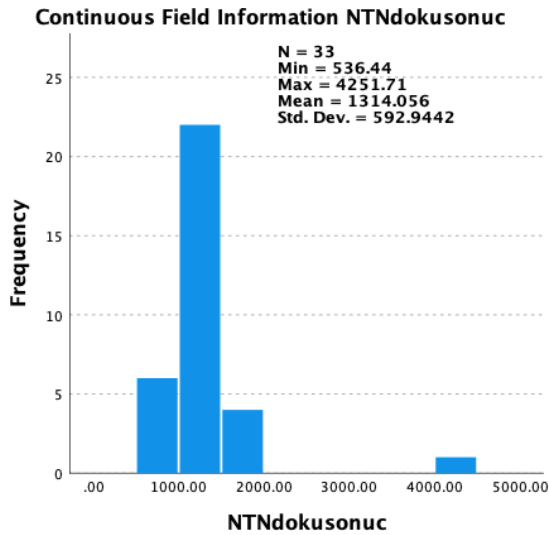
Tablo 9. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

No	Null Hipotez (H_0)	Test	Anlamlılık (p)
2	Netrin-1 doku değişkeninin dağılımı grup kategorilerine göre aynıdır.	Bağımsız Örneklem Kruskal-Wallis Testi	,772

Tablo 10. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Doku Netrin-1 Protein Düzeyi						
Gruplar	Postmortem İnterval	Min	Max	Ort.	S.S.	Kruskal-Wallis H
Grup1 (Kontrol)	0. saat	536.44	4251.71	1314.056	592.9442	0,772
Grup2 (Deney)	3. saat					
	6. saat					
Total:33						

Kruskal-Wallis testine göre beyin ve beyincik dokusu örneklerindeki Netrin-1 proteini düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0,05$). 3. Saat deney grubundaki Netrin-1 düzeyi ile 6. saat deney grubundaki Netrin-1 düzeyi arasında farklılık olsa da fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 19-Şekil 20. Netrin-1 proteininin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

c. Katalaz Enzimi Serum Analiz Sonuçları:

Tablo 11. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Numune	Deney Hayvanı	Result(ng/L)
0. Saat Deney Grubu	1	308,48
	2	278,94
	3	463,72
	4	312,12
	5	332,43
	6	858,47
	7	338,71
	8	645,86
3. Saat Deney grubu	1	1256,02
	2	1191,33
	3	902,29
	4	927,91
	5	1241,94
	6	1143,86
	7	1377,31
	8	Yetersiz Numune
6. Saat Deney Grubu	1	1322,59
	2	703,20
	3	Yetersiz Numune
	4	796,42
	5	1014,61
	6	1253,13
	7	1246,35
	8	733,01

0. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Katalaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Katalaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Katalaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

0. Saat Kontrol Grubu	1	72,15
	2	53,57
	3	207,47
3. Saat Kontrol Grubu	1	420,17
	2	149,23
	3	653,82
6. Saat Kontrol Grubu	1	1263,97
	2	878,72
	3	1216,81

0. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Katalaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Katalaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Katalaz düzeyi analizi yapılan grup

Tablo 12. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

No	Null Hipotez (H ₀)	Test	Anlamlılık (p)
3	Katalaz serum değişkeninin dağılımı, grup kategorileri arasında aynıdır.	Bağımsız Örneklem Kruskal-Wallis Testi	<.001

Tablo 13. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Katalaz Serum Kruskal-Wallis Testi	
Toplam N	31
Test İstatistiği	22.896 ¹
Serbestlik Derecesi	5
Anlamlılık (2 yönlü)	<.001

Tablo 14. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

İkili Gruplar	Test İstatistiği	Std. Hata	Std. Test İstatistiği	Anlamlılık (Sig.)
0. Saat Kontrol–3. Saat Kontrol	-6.333	7.424	-0.853	0.394
0. Saat Kontrol–0. Saat Deney	-7.042	6.155	-1.144	0.253
0. Saat Kontrol–6. Saat Deney	-18.952	6.274	-3.021	0.003
0. Saat Kontrol–6. Saat Kontrol	-21.333	7.424	-2.874	0.004
0. Saat Kontrol–6. Saat Deney	-21.667	6.274	-3.453	< 0.001
0. Saat Deney–0. Saat Kontrol	-0.708	6.155	-0.115	0.908
0. Saat Deney–6. Saat Deney	-12.619	6.274	-2.011	0.044
3. Saat Kontrol–6. Saat Kontrol	-15.000	7.424	-2.021	0.043
3. Saat Kontrol–3 Saat Deney	-15.333	6.274	-2.444	0.015
0. Saat Deney–6. Saat Kontrol	-11.911	4.706	-2.531	0.011
0. Saat Deney–6 Saat Deney	14.292	6.155	2.322	0.020
0. Saat Deney–3. Saat Deney	-14.625	4.706	-3.108	0.002
6. Saat Deney–6. Saat Kontrol	2.381	6.274	0.379	0.704
6. Saat Deney–3. Saat Deney	2.714	4.860	0.559	0.577
6. Saat Kontrol–3. Saat Deney	-0.333	6.274	-0.053	0.958

Tablo 15. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Serum Katalaz Enzim Düzeyi						
Gruplar	Postmortem İnterval	Min.	Max.	Ort.	S.S.	Kruskal-Wallis H
Grup1 (Kontrol)	0. saat	53.57	1377.31	760.149	426.9369	<0.01
Grup2 (Deney)	3. saat					
Total:31	6. saat					

Kruskal-Wallis testine göre serum örneklerindeki Katalaz Enzim düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında, postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark vardır. ($p<0,05$).

Grupları kendi arasında kıyasladığımız zaman;

1-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 6. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

2-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılmayan postmortem 6. saat kontrol grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

3-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 3. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

4-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 3. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 6. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

5-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 3. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılmayan postmortem 6. saat kontrol grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

6-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 3. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 3. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

7-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 3. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

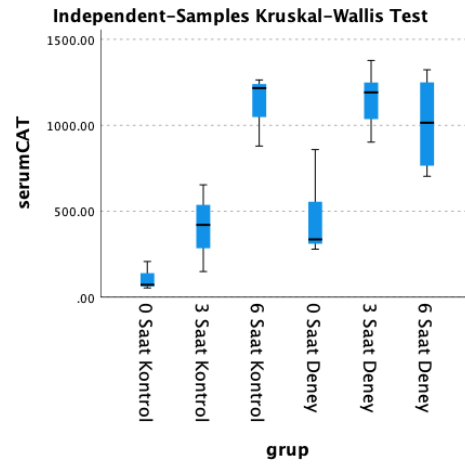
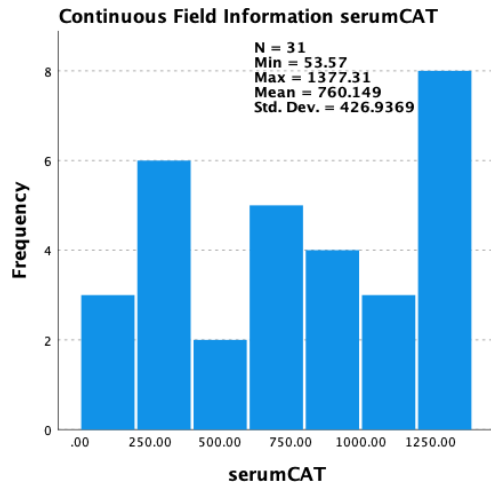
8-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan

postmortem 3. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

9-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılan postmortem 0. saat deney grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 6. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi zamana bağlı olarak artış saptanmış olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir. ($p<0,05$). 10-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 6. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 0. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

11-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılan postmortem 0. saat deney grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 3. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

12-) 0. saat kontrol ve 3. saat kontrol grupları arasında ve ayrıca 0. saat kontrol ve 0. Saat deney gruplarındaki Katalaz enzim düzeyi arasında farklılık olsa da fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 21-Şekil 22. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

d. Katalaz Enzimi Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları:

Tablo 16. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Numune	Deney Hayvanı	Result(ng/L)
0. Saat Deney Grubu	1	251,55
	2	2448,66
	3	492,74
	4	2217,80
	5	0,00
	6	2045,27
	7	1759,76
	8	2740,72
3. Saat Deney grubu	1	1229,74
	2	1052,48
	3	0,00
	4	515,30
	5	1708,18
	6	389,87
	7	1373,54
	8	856,86
6. Saat Deney Grubu	1	5930,42
	2	53,79
	3	0,00
	4	1402,47
	5	0,00
	6	768,69
	7	0,00
	8	0,00

0. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Katalaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Katalaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Katalaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

0. Saat Kontrol Grubu	1	1953,77
	2	0,00
	3	1433,11
3. Saat Kontrol Grubu	1	666,34
	2	575,99
	3	1531,10
6. Saat Kontrol Grubu	1	468,97
	2	868,43
	3	7587,67

0. Saat Kontrol Grubu: Toksik gazı maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Katalaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Kontrol Grubu: Toksik gazı maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Katalaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Kontrol Grubu: Toksik gazı maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Katalaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

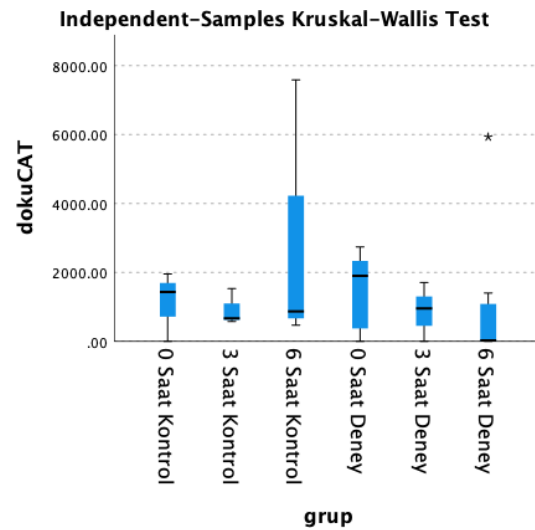
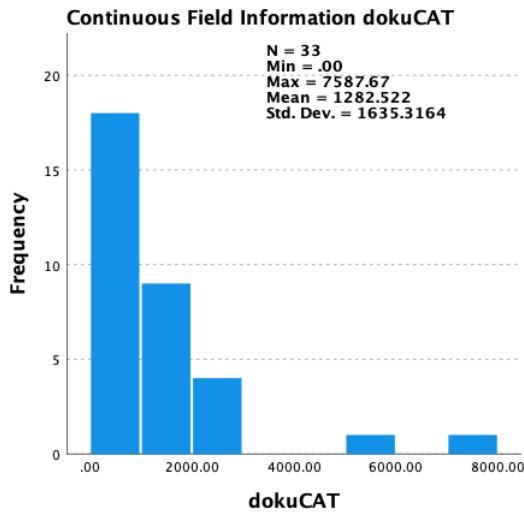
Tablo 17. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Sıra	Sıfır Hipotezi (H_0)	Test	Anlamlılık (Sig.)
4	Katalaz doku değişkeninin dağılımı, grup kategorileri arasında aynıdır.	Bağımsız Örneklemler Kruskal-Wallis Testi	0.494

Tablo 18. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Doku Katalaz Enzim Düzeyi						
Gruplar	Postmortem İnterval	Min.	Max.	Ort.	S.S.	Kruskal-Wallis H
Grup 1 (Kontrol)	0. saat	00	7587.67	1282.522	1635.3164	0,494
Grup 2 (Deney)	3. saat					
Total:33	6. saat					

Kruskal-Wallis testine göre beyin ve beyincik dokusu örneklerindeki katalaz enzim düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0,05$). 6. Saat deney grubundaki katalaz enzim düzeyi ile 6. Saat kontrol grubundaki katalaz enzim düzeyi arasında farklılık olsa da fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 23-Şekil 24. Katalaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

e. Glutasyon Peroksidaz Serum Analiz Sonuçları:

Tablo 19. Glutasyon peroksidaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Numune	Deney Hayvanı	Result(ng/L)
0. Saat Deney Grubu	1	419,22
	2	109,56
	3	882,74
	4	166,03
	5	185,73
	6	138,58
	7	655,38
	8	273,61
3. Saat Deney grubu	1	242,49
	2	140,25
	3	639,03
	4	196,23
	5	190,66
	6	72,45
	7	154,19
	8	Yetersiz Numune
6. Saat Deney Grubu	1	863,56
	2	83,26
	3	Yetersiz Numune
	4	76,11
	5	244,24
	6	654,81
	7	985,29
	8	636,67

0. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Glutasyon peroksidaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Glutasyon peroksidaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Glutasyon peroksidaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

0. Saat Kontrol Grubu	1	144,34
	2	81,73
	3	64,19
3. Saat Kontrol Grubu	1	59,49
	2	778,47
	3	79,71
6. Saat Kontrol Grubu	1	396,97
	2	192,03
	3	277,64

0. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Glutasyon peroksidaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Glutasyon peroksidaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Glutasyon peroksidaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

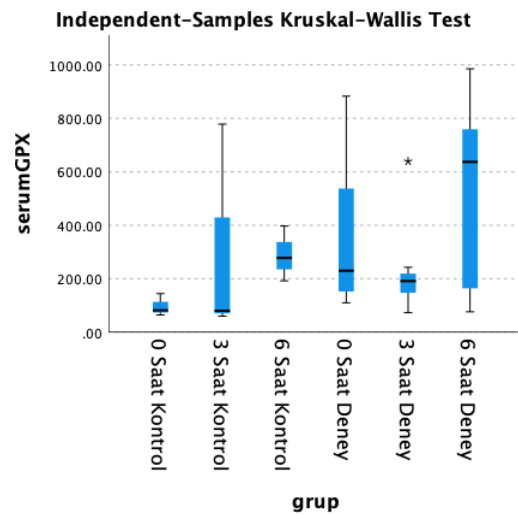
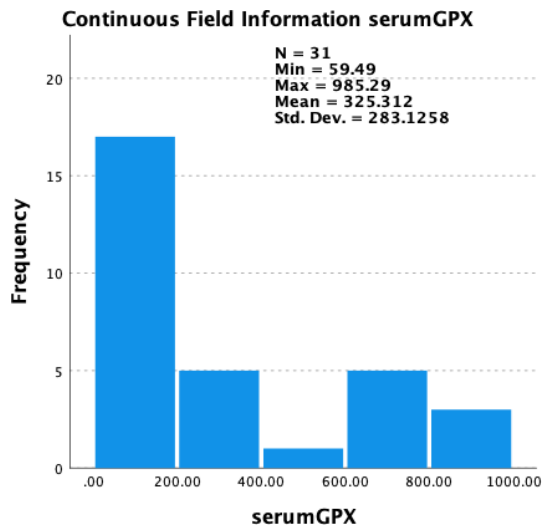
Tablo 20. Glutasyon peroksidaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Sıra	Sıfır Hipotezi (H_0)	Test	Anlamlılık (Sig.)
5	Glutasyon peroksidaz serum değişkeninin dağılımı, grup kategorileri arasında aynıdır.	Bağımsız Örneklemeler Kruskal-Wallis Testi	0.247

Tablo 21. Glutasyon peroksidaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Serum Glutasyon peroksidaz enzim Düzeyi						
Gruplar	Postmortem İnterval	Min	Max	Ort.	S.S.	Kruskal-Wallis H
Grup 1 (Kontrol) Grup 2 (Deney)	0. saat 3. saat 6. saat	59.49	985.29	325.312	283.1258	0,247
Total:31						

Kruskal-Wallis testine göre serum örneklerindeki glutasyon peroksidaz enzim düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0,05$). 3. Saat deney grubundaki glutasyon peroksidaz düzeyi ile 3. Saat kontrol grubundaki glutasyon peroksidaz düzeyi arasında farklılık olsa da fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 25-Şekil 26. Glutasyon peroksidaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

f. Glutasyon Peroksidaz Enzimi Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları:

Tablo 22. Glutasyon Peroksidaz Enzimi Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları

Numune	Result(ng/L)
0. saat Deney Grubu	0,00
3. saat Deney Grubu	0,00
6. saat Deney Grubu	0,00
0. saat Kontrol Grubu	0,00
3. saat Kontrol Grubu	0,00
6. saat Kontrol Grubu	0,00

Alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin hiçbirinde glutasyon peroksidaz enzimi saptanmadığı için istatistiksel analizi yapılmamıştır.

g. Süperoksit Dismutaz Enzimi Serum Analiz Sonuçları:

Tablo 23. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Numune	Deney Hayvanı	Result(ng/L)
0. Saat Deney Grubu	1	456,04
	2	486,93
	3	283,38
	4	449,01
	5	285,66
	6	387,34
	7	317,83
	8	344,52
3. Saat Deney grubu	1	482,49
	2	503,98
	3	480,20
	4	442,11
	5	467,01
	6	483,62
	7	501,13
	8	Yetersiz Numune
6. Saat Deney Grubu	1	456,16
	2	490,85
	3	Yetersiz Numune
	4	535,98
	5	521,18
	6	524,25
	7	507,31
	8	516,33

0. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Süperoksit dismutaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

0. Saat Kontrol Grubu	1	260,71
	2	254,64
	3	243,20
3. Saat Kontrol Grubu	1	395,62
	2	409,96
	3	440,92
6. Saat Kontrol Grubu	1	509,90
	2	532,59
	3	460,16

0. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte serum örnekleri alınarak Süperoksit Dismutaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte serum örnekleri alınarak Süperoksit dismutaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte serum örnekleri alınarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

Tablo 24. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Sıra	Sıfır Hipotezi (H_0)	Test	Anlamlılık (Sig.)
6	Süperoksit dismutaz serum değişkeninin dağılımı, grup kategorileri arasında aynıdır.	Bağımsız Örneklem Kruskal-Wallis Testi	<.001

Tablo 25. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Süperoksit Dismutaz Serum Kruskal-Wallis Testi	
Toplam N	31
Test İstatistiği	22.586 ¹
Serbestlik Derecesi	5
Anlamlılık (2 yönlü)	<.001

Tablo 26. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Örneklem 1–Örneklem 2	Test İstatistiği	Std. Hata	Std. Test İstatistiği	Anlamlılık (p)
0. Saat Kontrol–0. Saat Deney	-7.750	6.155	-1.259	0.208
0. Saat Kontrol–3. Saat Kontrol	-8.000	7.424	-1.078	0.281
0. Saat Kontrol–3. Saat Deney	-17.000	6.274	-2.710	0.007
0. Saat Kontrol–6. Saat Kontrol	-22.000	7.424	-2.963	0.003
0. Saat Kontrol–6. Saat Deney	-23.286	6.274	-3.711	< 0.001
0. Saat Deney–3. Saat Kontrol	0.250	6.155	0.041	0.968
0. Saat Deney–3. Saat Deney	-9.250	4.706	-1.966	0.049
0. Saat Deney–6. Saat Kontrol	14.250	6.155	2.315	0.021
0. Saat Deney–6. Saat Deney	-15.536	4.706	-3.302	< 0.001
3. Saat Kontrol–3. Saat Deney	-9.000	6.274	-1.434	0.151
3. Saat Kontrol–6. Saat Kontrol	-14.000	7.424	-1.886	0.059
3 Saat Kontrol–6. Saat Deney	-15.286	6.274	-2.436	0.015
3. Saat Deney–6. Saat Kontrol	5.000	6.274	0.797	0.425
3. Saat Deney–6. Saat Deney	-6.286	4.860	-1.293	0.196
6. Saat Kontrol–6. Saat Deney	-1.286	6.274	-0.205	0.838

Tablo 27. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

Serum Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyi						
Gruplar	Postmortem Interval	Min.	Max.	Ort.	S.S.	Kruskal-Wallis H
Grup 1 (Kontrol) Grup 2 (Deney) Total:31	0. saat 3. saat 6. saat	243.20	535.98	433.258	90.9692	<0.01

Kruskal-Wallis testine göre serum örneklerindeki Katalaz Enzim düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında, postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark vardır. ($p<0,05$).

Grupları kendi arasında kıyasladığımız zaman;

1-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 3. saat deney grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

2-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılmayan postmortem 6. saat kontrol grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

3-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 6. saat deney grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

4-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılan postmortem 0. saat deney grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 3. saat deney grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

5-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 6. saat kontrol grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 0. saat deney grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

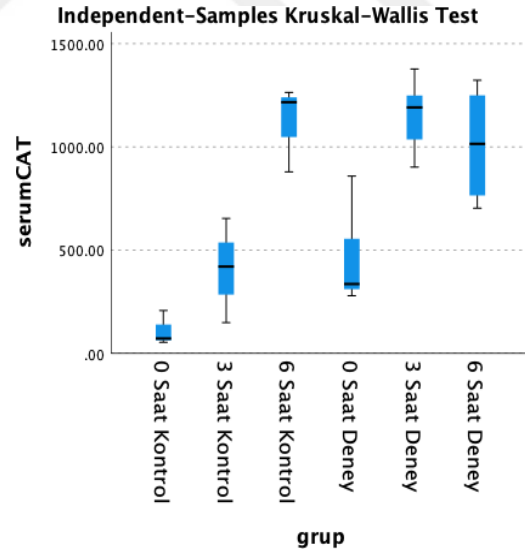
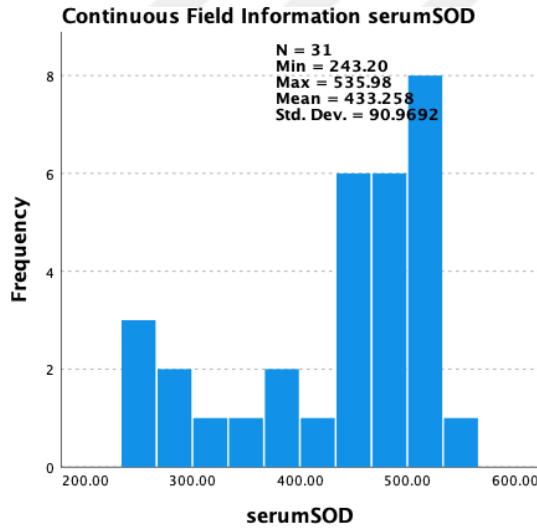
6-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılan postmortem 0. saat deney grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz

bırakılan postmortem 6. saat deney grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

7-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 3. saat kontrol grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılmayan postmortem 6. saat kontrol grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

8-) Karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 3. saat kontrol grubundaki serum Süperoksit dismutaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 6. saat deney grubundaki Süperoksit dismutaz düzeyi arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır. ($p<0,05$).

9-) 0. saat kontrol ve 0. saat deney grupları arasında ve ayrıca 3. saat kontrol ve 3. Saat deney gruplarındaki süperoksit dismutaz enzim düzeyi arasında farklılık olsa da fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 27-Şekil 28. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan serum örneklerinin istatistiksel analizi

h. Süperoksit Dismutaz Enzimi Beyin ve Beyincik Dokusu Analiz Sonuçları:

Tablo 28. Süperoksit Dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Numune	Deney Hayvanı	Result (ng/L)
0. Saat Deney Grubu	1	480,58
	2	542,62
	3	575,96
	4	521,71
	5	511,52
	6	588,08
	7	571,46
	8	521,74
3. Saat Deney grubu	1	551,36
	2	546,07
	3	539,55
	4	514,11
	5	586,47
	6	583,23
	7	512,70
	8	410,76
6. Saat Deney Grubu	1	563,36
	2	636,28
	3	621,98
	4	467,43
	5	572,65
	6	607,19
	7	602,81
	8	620,78

0. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Süperoksit Dismutaz Enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Deney Grubu: CO gazına maruz bırakılarak ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

0. Saat Kontrol Grubu	1	604,60
	2	602,44
	3	564,60
3. Saat Kontrol Grubu	1	529,54
	2	611,64
	3	472,07
6. Saat Kontrol Grubu	1	584,59
	2	505,31
	3	616,91

0. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 0. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

3. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 3. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

6. Saat Kontrol Grubu: Toksik gaza maruz bırakılmadan ölümü gerçekleştirilen ve postmortem 6. saatte beyin ve beyincik dokusu çıkarılarak Süperoksit Dismutaz enzim düzeyi analizi yapılan grup

Tablo 29. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Varyans Kaynağı	Kareler Toplamı (Sum of Squares)	Serbestlik Derecesi (df)	Kareler Ortalaması (Mean Square)	F Değeri (F)	Anlamlılık (Sig.)
Gruplar Arası	19996.756	5	3999.351	1.561	0.205
Gruplar İçi	69160.890	27	2561.514		
Toplam	89157.647	32			

Tablo 30. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

(I) Grup	(J) Grup	Ortalama Farkı (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık (Sig.)	%95 Güven Aralığı – Alt Sınır	%95 Güven Aralığı – Üst Sınır
0. Saat Kontrol	3. Saat Kontrol	52.80	41.32	1.000	-80.24	185.83
	6. Saat Kontrol	21.61	41.32	1.000	-111.43	154.65
	0. Saat Deney	51.34	34.26	1.000	-58.97	161.65
	3. Saat Deney	60.02	34.26	1.000	-50.29	170.33
	6. Saat Deney	3.99	34.26	1.000	-106.32	114.30
3. Saat Kontrol	6. Saat Kontrol	-31.19	41.32	1.000	-164.23	101.86
	0. Saat Deney	-1.46	34.26	1.000	-111.77	108.85
	3. Saat Deney	7.22	34.26	1.000	-103.09	117.53
	6. Saat Deney	-48.81	34.26	1.000	-159.12	61.50
6. Saat Kontrol	0. Saat Deney	29.73	34.26	1.000	-80.58	140.04
	3. Saat Deney	38.41	34.26	1.000	-71.90	148.75
	6. Saat Deney	-17.62	34.26	1.000	-127.93	92.69
0. Saat Deney	3. Saat Deney	8.68	25.31	1.000	-72.77	90.15
	6. Saat Deney	-47.35	25.31	1.000	-128.83	34.12
3. Saat Deney	6. Saat Deney	-56.03	25.31	0.532	-137.50	25.44
	0. Saat Kontrol	-60.02	34.26	1.000	-170.33	50.29
	3. Saat Kontrol	-7.22	34.26	1.000	-117.53	103.09
	6. Saat Kontrol	-38.41	34.26	1.000	-148.75	71.91
	0. Saat Kontrol	-3.99	34.26	1.000	-114.30	106.32
6. Saat Deney	3. Saat Kontrol	48.81	34.26	1.000	-61.49	159.11
	6. Saat Kontrol	17.62	34.26	1.000	-92.69	127.93
	0. Saat Deney	47.35	25.31	1.000	-34.12	128.83
	3. Saat Deney	56.03	25.31	0.532	-25.44	137.50

Anova testine göre gruplar arasında ve gruplar arasındaki ikili (post hoc Bonferroni testi) karşılaştırmalarında beyin ve beyincik dokusu örneklerindeki Süperoksit dismutaz enzim düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0,05$).

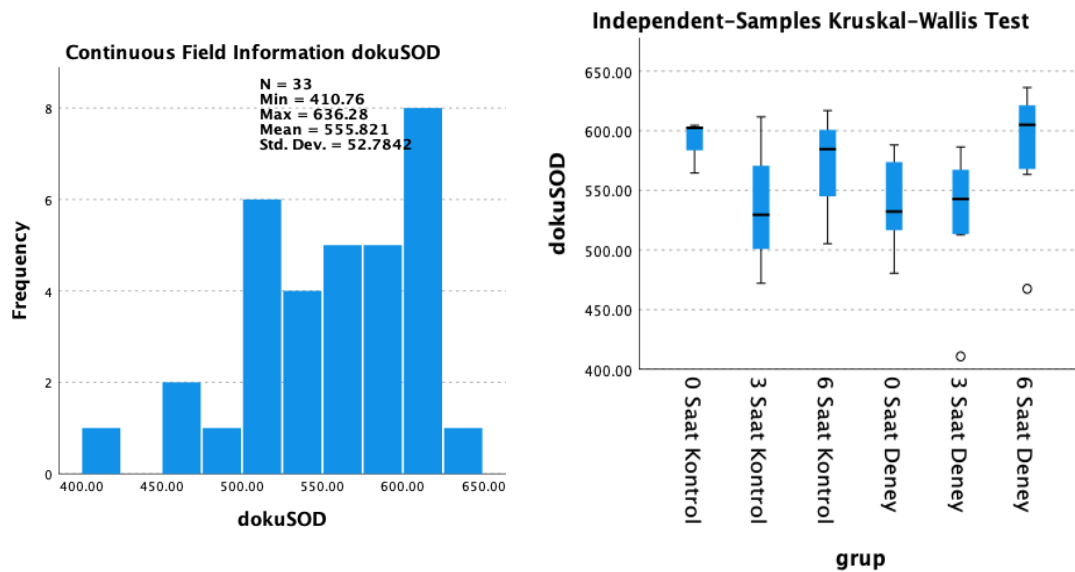
Tablo 31. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Sıra	Sıfır Hipotezi (H_0)	Test	Anlamlılık (Sig.)
7	Süperoksit dismutaz doku değişkeninin dağılımı, grup kategorileri arasında aynıdır.	Bağımsız Örnekler Kruskal-Wallis Testi	.156

Tablo 32. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

Doku Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyi						
Gruplar	Postmortem İnterval	Min.	Max.	Ort.	S.S.	Kruskal-Wallis H
Grup 1 (Kontrol)	0. saat	410.76	636.28	555.821	52.7842	0,156
Grup 2 (Deney)	3. saat					
	6. saat					
Total:33						

Kruskal-Wallis testine göre beyin ve beyincik dokusu örneklerindeki Süperoksit dismutaz enzim düzeylerinin, deney ve kontrol grupları arasında postmortem 0., 3. ve 6. saat açısından anlamlı fark yoktur. ($p>0,05$). 6. Saat deney ve 3. saat deney grubundaki Süperoksit dismutaz enzim düzeyi, gruplar arasında farklılık gösterse de fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 29-Şekil 30. Süperoksit dismutaz enziminin, deney ve kontrol grubundaki ratlardan alınan beyin ve beyincik dokusu örneklerinin istatistiksel analizi

5. TARTIŞMA

Adli toksikolojinin genel olarak mortalitesi en yüksek ve en sık karşılaşılan zehirlenmelerinden biri olan CO zehirlenmelerinde, postmortem dönemde otopsi ile orijin tayininde spesifik bir belirtecin ve analiz yönteminin olmaması yeni çalışmaların yapılmasının ve yeni biyokimyasal belirteçlerin bulunmasının gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır (133). Klinik toksikolojide CO zehirlenmesinin düzeyinin ve adli toksikolojide ölüm nedeninin doğru ve eksiksiz şekilde ortaya konmasında pek çok toksikolojik analiz yöntemi çalışılmış ve denenmiş olsa da henüz standart bir belirteç veya analiz yöntemi ortaya konmamıştır (6).

İnsandan doku, kan, vücut sıvısı gibi otopsi materyali elde etmek ve bunlar üzerinde çalışma yapmanın pratik güçlüğü ve etik nedenlerle çalışmalar kısıtlıdır. Bu analizler kliniğe başvuran yaşayan olgularda kolaylıkla yapılabilmekte ancak postmortem süreçte interval uzadıkça örnek almakta zorluklar ortaya çıkmaktadır ve otopsi materyallerinden yapılan çalışmalar bu nedenlerle literatürde çok az sayıda bulunmaktadır (134).

İnsandan alınan örneklerin çalışılmasının güçlüğü nedeniyle araştırmacılar, deney hayvanları üzerinde CO zehirlenme modeli oluşturarak, CO dozunun dokular üzerindeki etkilerini araştırmışlar ancak yine de araştırmacıların postmortem intervaldeki değişimler ve dekompozisyon gelişen durumlarda ölüm nedeni belirleme üzerindeki çalışmaları sınırlı sayıda yer almaktadır (135). Biz de çalışmamızda, çalışmanın daha etkin ve hızlı sonuç vermesi amacıyla sıçanlar üzerinde CO modeli oluşturarak, sıçanların CO zehirli gazı ile ölümünü gerçekleştirdik ve postmortem süreçte belirli aralıkta örnekler alarak çalışmamızı yaptık.

Deneyisel hayvan modellerinde, özellikle ratlarda, postmortem süreçte özellikle beyin dokusunda meydana gelen değişiklikler zamana bağlı olarak oldukça hızlı ilerlemekte, beynin yüksek metabolik aktivitesi ve oksijene bağımlı yapısıyla, özellikle toksik gaz maruziyeti sonrası ölüm bulguları hızla gelişerek otolitik değişimler meydana gelmektedir (136).

Makroskobik olarak postmortem bulgular değerlendirildiğinde, ölüm sonrası ilk 48 saat içerisinde rat kadavralarında gözlerde opaklaşma, göz küresinde çökme ve iç organlarda elastikiyet kaybı ve renk değişiklikleri görülmektedir (137). Bizim

çalışmamızda da bu bulgular gelişerek postmortem intervalin (PMI) tahmini açısından yol gösterici olmuştur. Bizim çalışmamızda, oda sıcaklığında bekletilen ratlarda postmortem süreçte ilk 30 dakikada gözlerde opaklaşma, ilk 1-2 saat içinde göz renginde grileşme, göz küresinde çökme, eklem ve kaslarda rigor mortis bulguları meydana geldi. Oda sıcaklığında bekletilen örneklerde otoliz çok daha hızlı ilerlemektedir (138). Biz de çalışmamızda gerçek zamanlı oluşacak postmortem süreci simüle etmek amacıyla ratları oda sıcaklığında beklettik ve ölüm bulgularının postmortem erken dönemdeki bu değişimlerin benzer koşullar olması nedeniyle bizim çalışmamızda da 0. saatte sıçanlarda gelişen makroskopik bulgular literatürle uyumlu şekilde gözlerde opaklaşma gerçekleşmiş ancak rigor mortis henüz gerçekleşmemiştir. Yine aynı şekilde literatürle uyumlu şekilde postmortem 3. saate göz kürelerinde çökme, rigor mortis bulgusu ve iç organlarda elastikiyet kaybı belirginleşmiştir. Deneyin doğru bir şekilde sonuç vermesi ve postmortem bulguların hızla oluşması için her bir rat CO uygulanan deney kabininden, gaz maruziyetinin 30. dakikasında çıkarıldı ve ölümün 0. saati kabul edildi.

Postmortem intervalin 0. saatindeki ölüm bulguları için oda şartlarında beklemeden örnekler alındı. Postmortem intervalin 3. saatindeki ve 6. saatindeki bulgularının tespiti için ise; 2 gruba ayrılan ratlar bu sürelerde oda sıcaklığında bekletildi. 3. ve 6. saatin sonunda örnekler alınarak gerçek ortam şartları sağlanmış oldu.

Postmortem dönemde, toksikolojik değişimleri moleküler boyutta inceleyen çalışmalar da kısıtlıdır ve son yıllarda, postmortem dönemde protein yapılarına yönelik yapılan moleküler düzeydeki analizlerde, proteolitik parçalanma ürünlerinin zamana duyarlı olarak değişimleri saptanmıştır (138). Bizim çalışmamızda da antioksidan bir protein özelliğinde olan netrin-1 proteininin postmortem intervaldeki zamana karşı değişimini inceledik. Deney hayvanları kullanılarak yürütülen çalışmalarda ölüm zamanının belirlenmesi için protein temelli biyobelirteçlerin değerlendirilmesinin yanı sıra antioksidan enzim düzeylerinin de yapılan çalışmalarda yol gösterici oldukları gösterilmiştir (139). Bizim çalışmamızda da süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim düzeylerini moleküler çalışmalarla tespit ederek enzimlerin oksidatif hasarda artış gösterdiğini ve antioksidan etkinlik gösterdiğini tespit ettik.

Yaptığımız çalışmada serumdaki süperoksit dismutaz enziminin deney gruplarındaki medyan değerlerinin 0. saatte 365,38, 3. saatte 482,49 6. saatte 516,33

olduğu, kontrol gruplarında ise medyan değerlerinin 0. saatte 254,64, 3. saatte 409,96 ve 6. saatte 509,90 olduğu saptanarak, deney gruplarında serum süperoksit dismutaz enzim değerlerinin CO maruziyeti ile kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptandı.

Serumdaki glutatyon peroksidaz enziminin deney gruplarındaki medyan değerlerinin 0. saatte 224,98, 3. saatte 190,66, 6. saatte 440,18 olduğu, kontrol gruplarında ise medyan değerlerinin 0. saatte 81,73, 3. saatte 79,71 ve 6. saatte 277,64 olduğu saptanarak, deney gruplarında serum glutatyon peroksidaz enzim değerlerinin CO maruziyeti ile kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptandı.

Serumdaki katalaz enziminin deney gruplarındaki medyan değerlerinin 0. saatte 335,75, 3. saatte 1143,86, 6. saatte 1014,61 olduğu, kontrol gruplarında ise medyan değerlerinin 0. saatte 72,15 ve 3. saatte 420,17 olduğu saptanarak, deney gruplarında serum katalaz enzim değerlerinin CO maruziyeti ile kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptandı.

Özellikle beyin dokusunda ve nöronal yapılarda hipoksik hasar oluşturulan deney modellerinde, ölüm zamanı tahmini (postmortem interval PMI) ve ölüm nedeni orijini için moleküler düzeyde; asimetrik dimetiltarjinin (ADMA), malondialdehit, yüksek duyarlıklı kardiyak troponin, endotelin-1, total antioksidan kapasitesi, kurkumin ve kaveolin-1 gibi moleküller ile çalışmalar yapılmıştır (140). Biz de çalışmamızda CO'nin merkezi sinir sistemi üzerindeki toksisitesinin anlaşılması için deneysel hayvan modeli oluşturarak postmortem değişimlerin zamanlamasını ve morfolojik karakteristiklerini, postmortem orijin tayinini ve toksikolojik analizlerle, insanlarda meydana gelen benzer süreçlerin otopsi uygulamalarına uyarlanabilirliği inceledik.

Yapılan çalışmalar, akut karbon monoksit (CO) zehirlenmesiyle oluşan merkezi sinir sistemi (MSS) hasarının altında yatan mekanizmaların, apoptozis, anormal inflamatuvar yanıtlar, hipoksi ve iskemi/reperfüzyon gibi faktörlerle oluştuğunu, CO zehirlenmesinin moleküler mekanizmalarının reaktif oksijen türleri, serbest radikaller ve nöronal nitrik oksit tarafından oluşturulan oksidatif hasarın meydana getirdiğini göstermiştir (141). Daha önce yapılan çalışmalarda CO zehirlenmesi sonrası postmortem interval ile ilgili çalışma bulunmamakla birlikte bizim çalışmamızda, araştırdığımız antioksidan enzimlerin uygulanan toksik dozdaki CO gazının oluşturduğu hasara karşı metabolik yanıt verdiği, bu yanıtın özellikle postmortem 3.

saat intervalinde maksimum düzeyde olduğu, 6. saat intervalinde de yükselmiş olduğunu saptadık.

Çalışmalar, antioksidan enzimlerin serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak ve doku hasarını önlemede özellikle beyin dokusu gibi hipoksiye duyarlı organlarda görev aldıklarını göstermişlerdir (142). Biz de çalışmamıza özellikle beyin dokusunu dahil ederek reaktif oksijen radikallerinin nöronlardaki hücresel düzeydeki hasarını saptadık.

Rat modellerinde yapılan çalışmalarda da CO zehirlenmesinde reaktif oksijen türlerinin, yaygın nöronal ölüm, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtla karakterize bir süreci başlattığı, CO'nun özellikle hemoglobin ile güçlü bağ kurarak oksijen taşınmasını engellediği ve aynı zamanda sitokrom oksidaz gibi mitokondriyal enzimleri inhibe ederek hücresel enerji üretimini sekteye uğrattığı gösterilmiştir (143). Bizim çalışmamızda da özellikle Süperoksit dismutaz enziminin, CO'in neden olduğu oksidatif hasar sonucu ortaya çıkan süperoksit radikalının detoksifikasyonunu yaparak reaktif moleküllerin dönüştürülmesinde görev aldığını ve bunun sonucunda antioksidan etkili olan bu enzimin hasarın boyutuyla korelasyon göstererek yükseldiğini gösterdik. Diğer çalışmalarda da reaktif oksijen radikallerin glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz gibi enzimatik savunma bileşenleri tarafından indirgenme reaksiyonları ile hücre için zararsız hale getirildiği belirtilmektedir (142,144). Biz de çalışmamızda özellikle bu detoksifikasyon mekanizmasında görev alan antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimlerini çalışarak CO'in neden olduğu oksidatif hasarda katalaz enziminin özellikle 0. saate göre 3.saatte, postmortem süreyle korelasyon göstererek yükseldiğini saptadık.

Hücresel hasar mekanizmalarından etkilenen en önemli yapısal proteinlerden biri de hemoglobindir (145). Oksijen bağlanması sırasında CO molekülünün bağlanmasıyla karboksihemoglobin oluşur ve O₂ moleküllerinin daha sıkı tutulmasına ve dokulara bırakılmasının zorlaşmasına neden olur (146,147). Toksikolojik çalışmalarda rutinde bakılan kan karboksihemoglobinin düzeyinin kesin sonuç vermede yetersiz olması nedeniyle biz de çalışmamızda, CO zehirlenme modeli oluşturarak zehirlenmelerde kullanılan karboksihemoglobine alternatif olarak kan dokusundan bakılabilen, toksik gaz maruziyeti sonrası tanı ve tedavi takibinde daha önce yaşayan olgularda çalışılmış olan Netrin-1 molekülünü postmortem dönemde

ölüm nedenini belirlemede kullanılabilirliğini çalıştık. Netrin-1 proteinin, CO gazı uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla yükseldiğini saptadık. Netrin-1 düzeylerinin CO uygulanmayan gruplara kıyasla, CO uygulanan gruplarda yükseldiği saptamış olsak bile postmortem interval sürelerinde anlamlı farklılık olmadığını, bunun sebebinin canlılık bulguları olmayan postmortem süreçte protein özellikteki Netrin-1'in işlev yeteneğinin azalmış olabileceğini ve ayrıca belirteçlerden farklı olarak protein ekspresyon süresinin akut dönemde yansımamasının sonuçları etkilediğini düşünmekteyiz.

Özellikle protein ve DNA yapısı üzerindeki bozulmalar hücrel hasarın başlangıcını oluşturur ve bu hasarların onarılmasında enzimatik savunma sistemlerinden olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX) en önemlileri arasındadır (148,149). Biz de çalışmamızda özellikle bu üç antioksidan düzeylerinin, netrin-1 proteinine göre daha doğru sonuçlar verdiğini saptadık. Bu antioksidan savunma enzimleri ROS'u nötralize ettiği süreçte toksik maddeye, UV ışına veya hücrel toksin birikimine maruz kalırsa yalnızca mitokondriyal disfonksiyona değil, aynı zamanda hücrel düzeyde enerji yetersizliği ve apoptotik mekanizmaların tetiklenmesine yol açarak hücrel hasara zemin hazırlamaktadırlar (150,151). Bizim de çalışmamızda, CO'nin neden olduğu oksidatif hasar mekanizmalarında görev alan antioksidan enzimlerin, hücrel düzeyde hasar oluşturan toksik dozdaki CO maruziyetiyle yükseldiğini ve hücrel hasarı önlemede görev aldığını saptadık.

Thom ve ark. yaptığı çalışmada, CO zehirlenmesinin patofizyolojisinin yalnızca hipoksi ile sınırlı kalmadığını, nörotoksik etkiler de içerdiğini göstermiştir. (152) CO maruziyeti sonrası santral sinir sisteminde lipid peroksidasyonu, nitrik oksit üretimi ve inflamatuvar yanıtların tetiklenerek gecikmiş nörolojik sekellerin gelişebildiğini göstermişlerdir (152). Bizim çalışmamızda da aynı zamanda antiinflamatuvar özellikteki Netrin-1 proteinin, CO sonrası kontrol grubuna kıyasla yükselmesinin antiinflamatuvar süreçlerin de zehirlenme mekanizmasında etkili olduğunu göstermektedir.

Düşük doz CO'nun bazı hücrel sinyaller üzerinden anti-inflamatuvar etki oluşturabildiği de bilinmekle birlikte toksik dozlarda mitokondriyal ROS üretimi belirgin şekilde arttırmakta ve hücrel bütünlüğü tehdit etmektedir (153). Sonuç olarak, karbonmonoksit zehirlenmesi yalnızca oksijen taşıma kapasitesinin azalmasıyla değil,

aynı zamanda mitokondriyal ROS üretimi ve oksidatif stres mekanizmaları üzerinden de ciddi biyokimyasal hasarlara yol açtığı bilinmektedir (154). Biz de çalışmamızda, postmortem dönemde, serumdan bakılan katalaz ve süperoksit dismutaz antioksidan enzim aktivitelerinin; CO gazı uygulanmayan kontrol grupları ile CO gazına maruz bırakılan deney grupları arasında, anlamlı fark olduğunu, karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılan deney grubundaki sıçanların antioksidan enzim aktivitelerinin maruz bırakılan toksikasyon düzeyi ile korelasyon göstererek yükseldiğini saptadık.

Çalışmamızda, literatürle uyumlu şekilde antioksidan bir enzim olan katalazın, oksidatif strese görev aldığı ve CO zehirlenmesinin hipoksik hasar ve moleküler düzeyde doku oksijenlenmesi mekanizmalarında oksidatif strese neden olduğunu saptadık. Katalaz enzimi, hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürerek reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize eden temel antioksidan enzimlerden biridir (155).

Zhang ve ark. sıçanlar üzerinde karbonmonoksit hipoksisi ve sonrasında doku reoksijenizasyonu yaparak sıçanların beyinlerinde kısmen indirgenmiş oksijen türlerinin (PROS) üretimini oluşturmuşlardır. Reoksijenasyonun ardından, ön beyin mitokondrilerinde hidrojen peroksitin (H_2O_2) artış gösterdiği belirlenmiş ve CO sonrası hızlı oksidatif stresle birlikte serbest oksijen radikallerinden koruyucu mekanizmalarda çalışan antioksidan bir enzim olan katalazın, savunma mekanizmasının bozulduğunu ve bu durumun, hücre lipid peroksidasyonunu, DNA hasarı oluşturarak ve nöronal/apoptotik yıkımı hızlandırarak hücrel hasara yol açtığını göstermişlerdir (156). Bizim çalışmamızda da, öldürücü dozdaki karbonmonoksitin, hipoksisi nedeniyle ve çeşitli reaktif oksijen radikallerinin olduğu hücrel hasar neticesinde antioksidan etkinlik için yükseldiğini, özellikle 0. saatteki kontrol grubu ve 0. saatteki deney gruplarındaki serum Katalaz enzim düzeyleri arasında anlamlı farklılık oluşmasa da toksik gaza maruz bırakılan ratlarda serum katalaz düzeyinin belirgin yükseldiğini saptadık. Bunun nedeninin kullanılan rat sayısının az olması nedeniyle olduğunu ve daha fazla deney hayvanından alınan materyallerle yapılacak olan çalışmada, ölçülen katalaz enzim düzeylerinde farklılık olacağını ve ayrıca CO maruziyeti sonrası deneyde kullanılan hayvanların canlı kalması durumunda farkın anlamlı olacağını düşünmekteyiz.

Yine benzer şekilde toksik gaza maruz bırakılmayan postmortem 0. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan

postmortem 3. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark olduğunu, her ne kadar ölüm başlangıcı olan 0. saat ve postmortem 3. saat arasında interval farkı olsa da kontrol grubuna göre deney grubundaki katalaz aktivitesi arasında anlamlı fark olduğunu ve deney grubunda katalaz aktivitesinin yükseldiğini saptadık. Yine aynı şekilde gruplar arasında postmortem interval farkı olsa da 0. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile 6. saat deney grubundaki serum Katalaz düzeyi arasında da anlamlı fark olduğu ve CO gazına maruz kalan sıçanlarda katalaz aktivitesinin arttığını saptadık.

Meyer ve ark. çalışmasında, CO kentsel kirliliğini simüle ederek uzun süreli CO maruziyetinin, iskemi-reperfüzyon kaynaklı miyokardiyal hasara neden olduğu, bu hasarın antioksidan metabolizmayı etkilediğini, anoksi-reoksijenasyon protokolü sırasında sağlam izole kardiyomiyositlerde sarkomer uzunluğunu kısalttığını ve bunun sonucunda da antioksidan enzimlerden olan katalaz enziminin aktivitesinin azalarak CO'in verdiği hasarı arttırdığını göstermişlerdir (157). Bizim çalışmamızda çalışılan dokular, kronik maruziyet olmadan bile özellikle merkezi sinir sistemi üzerinde çalıştığımız kan doku materyallerinde CO'nun oluşturduğu oksijen taşıma aksaklığının doku iskemisine katkısı olduğunu saptadık.

Doğan ve ark. yaptığı hayvan deneyi çalışmasında karbondioksit ve karbonmonoksit maruz bırakılan sıçanlarda oksidan ve antioksidan parametrelerin değişimlerine bakılmışlardır. Karbonmonoksit uygulamasının antioksidan savunma sistemi elemanları olan GSH, SOD ve CAT düzeylerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmaya neden olduğu ve karbonmonoksit maruz kalan beyin dokusunda hasar olduğu ortaya konmuştur (6). Bu çalışmada, bizim çalışmamızdan farklı olarak CO dozları daha düşük uygulanarak yapılmış olup biz de çalışmamızda CO'ı daha düşük dozlarda uygulamamız halinde benzer sonuçları elde edebileceğimizi düşünmekteyiz. CO düzeyi lethal dozda olsa bile bizim uyguladığımız CO yoğunluğunun çok daha yüksek olması ve uygulanan sürenin bu çalışmadaki gibi 15 dakika yerine 30 dakika olması neticesinde antioksidan enzimlerin aktivitesinde ters yönde farklılık oluşması muhtemeldir. Ayrıca çalışmamızda Doğan ve ark. yaptığı çalışmadan farklı olarak postmortem interval kıyaslaması yapmamızdan ötürü ölüm gerçekleşmiş olan ratlarda enzim aktivitelerinin 3. saatte en yüksek seviyesinde olduğu, 6. saatte süre ile orantılı olarak azaldığı ancak CO uygulanmayan gruba kıyasla CO uygulanan iki grubun da enzim aktivitelerinin yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda özellikle 3. saat intervalinde oluşan bulgularda, kontrol ve deney grupları arasındaki kıyaslamada, karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılan deney grubundaki sıçanların serum Katalaz düzeylerinin, CO uygulanmayan 3. saat kontrol grubuna göre aralarında anlamlı fark olduğunu ve CO uygulanan 3. saat deney grubunda enzim aktivitesinin yüksek olduğunu saptadık.

Benzer şekilde, 3. saat kontrol ve 6. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında, anlamlı fark olduğunu ve CO uygulanan sıçanlarda katalaz aktivitesinin yüksek olduğunu saptadık. Postmortem süreçte ilk 3 saate katalazın daha etkin olduğunu ve ilk 3 saatte yapılan otopsi uygulamalarında katalazın orijin ve süre tayininde kullanılabilirliğini saptadık.

Oksidatif stres yoluyla doku hasarına neden olan CO zehirlenmesinde, kurkumin isimli antioksidan maddenin koruyucu etkisini araştırmak için sıçanlar üzerinde deney yapan Doğan ve ark., CO zehirlenmesine maruz bırakılan sıçanlardan Hipokampal dokular çıkararak analizler yapmışlardır. Dokular üzerinde yapılan bu çalışmada, katalaz aktivitesinin CO maruziyetiyle azaldığını saptamışlardır (158). Bizim çalışmamızda ise; karbonmonoksit toksik gazına maruz bırakılmayan postmortem 3. saat kontrol grubundaki serum Katalaz düzeyi ile karbonmonoksit gazına maruz bırakılan postmortem 3. saat deney grubundaki Katalaz düzeyi arasında anlamlı fark olduğunu, deney grubundaki katalaz aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptadık. Bu farklılığın Doğan ve ark. uyguladığı CO gazının bizim çalışmamızda uygulanan CO gaz yoğunluğuna ve uygulama süresine kıyasla çok daha düşük olmasından ötürü olduğunu düşünmekteyiz.

Yaptığımız çalışmada, özellikle CO'e maruz bırakılan 3. ve 6. saat deney gruplarında katalaz düzeylerindeki değişim dikkat çekici bulunmuştur. Bu bulgu, CO'nun neden olduğu hipoksi ve oksidatif stresin katalaz gibi antioksidan savunma enzimlerini doğru orantılı olarak etkilediğini göstermektedir.

Erdoğan ve ark. yaptığı çalışmada, CO maruziyeti sonrası özellikle süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz aktivitelerinde aynı yönlü değişiklikler olduğu rapor edilmiştir (159). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde bu üç enzimde aynı yönlü aktivite farkı gözlenmiştir.

Daha önce yapılan hayvan deneylerinde CO maruziyetinin beyinde lipid peroksidasyonunu artırdığı ve buna karşılık antioksidan savunma sisteminin (SOD, GPx, katalaz) adaptif yanıt verdiği gösterilmiştir (159,160). Yurtseven ve ark., sıçanlarda CO zehirlenmesi sonrası katalaz ve SOD aktivitelerinde belirgin artış

saptamış, bunun oksidatif hasarı sınırlamaya yönelik kompensatuar bir mekanizma olabileceğini bildirmiştir (161). Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde antioksidan enzim düzeylerinde belirgin artış saptadık.

Benzer şekilde, Choi ve ark. iskemik beyin hasarı modellerinde katalaz düzeylerinin erken dönemde arttığını, daha sonraki süreçte ise tükendiğini rapor etmiştir(155). Bizim çalışmamızda, 0. saat kontrol grubu ile 3. ve 6. saat deney grupları arasındaki anlamlı fark, bu dinamik adaptif süreci desteklemektedir. Özellikle 3. saat zaman aralığında daha yüksek seviyelerde olan Katalaz enzim düzeyinin, 6. saatte azaldığını saptadık.

Bununla birlikte, kontrol gruplarında da zamanla katalaz düzeylerinde anlamlı artış izlenmiştir. Bu durum postmortem biyokimyasal süreçlerle, doku otolizine bağlı serbest radikal üretiminin artışıyla ilişkili olabilir. Daha önce yapılan çalışmalar, ölüm sonrası biyokimyasal parametrelerde zamanla anlamlı artış meydana gelebildiğini göstermiştir (47). Dolayısıyla bulgularımız yalnızca CO maruziyetine değil, postmortem biyolojik süreçlerdeki enzimatik değişimlere de işaret etmektedir.

Katalaz düzeylerindeki artışın patofizyolojik önemi de dikkate alındığında antioksidan savunmanın ilk aşamada aktive olması, oksidatif dengenin korunmasına yönelik fizyolojik bir yanıt oluşturması, çalışmamızdaki belirgin katalaz düzeyi artışının literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir (162). Ancak aşırı CO maruziyeti, bu sistemleri tüketerek ilerleyen dönemde antioksidan kapasitenin azalmasına neden olabilir (163). Bu durum, literatürde kronik hipoksi ve oksidatif stres modellerinde de benzer şekilde rapor edilmiştir (152). Bizim çalışmamız, akut CO maruziyetini kapsamakta olup kronik CO maruziyetinde de anlamlı sonuçlar elde edeceğimizi düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sınırlılıkları arasında, bu çalışmalardaki bulguların oluşmamasının sebebinin yalnızca 6 saatlik kısa süreli postmortem dönemin incelenmiş olması gösterilebilir. Daha uzun süreli takiplerde yapılacak analizler, santral sinir sistemindeki lipid peroksidasyonunun etkilenmesi gösterilerek hücresel düzeyde gecikmiş nörolojik sekellerin oluşabileceği saptanabilir ve bu çalışmalar katalaz aktivitesinin seyrini daha net ortaya koyabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma, CO zehirlenmesi sonrası serum katalaz düzeylerinde anlamlı değişiklikler olduğunu ve CO ile katalazın korelasyon göstererek yükseldiğini, daha uzun postmortem intervallerde ise yaşamsal aktivitenin azalmasıyla enzim aktivitesinin düşeceğini göstermektedir. Bulgularımız, CO'ın neden olduğu oksidatif

stresin antioksidan savunma mekanizmaları üzerindeki etkilerini desteklemekte ve katalazın potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Glutasyon, hücrel redoks homeostazının korunmasında kritik rol oynayan tripeptid yapısında bir antioksidandır. Hücre içi antioksidan kapasitenin yaklaşık %90'ını oluşturan glutasyon, reaktif oksijen türlerini (ROS) doğrudan detoksifiye etmenin yanı sıra glutasyon peroksidaz (GPx) ve glutasyon redüktaz (GR) enzimleri aracılığıyla oksidatif stresi sınırlamaktadır (164,165). Bu çalışmada, sıçanlarda karbonmonoksit (CO) zehirlenme modeli oluşturularak serum ve beyin/beyincik dokularında glutasyon (GSH) düzeyleri postmortem 0., 3. ve 6. saatlerde incelenmiştir ve deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak her ne kadar anlamlı fark olmasa da CO zehirlenmesiyle ölen sıçanlardaki serum glutasyon peroksidaz seviyelerinin, 3. saat kontrol grubuna göre, 3. saat deney grubundaki sıçanlarda daha yüksek olduğunu saptadık. Bulgular, CO maruziyetinin erken postmortem dönemde glutasyon düzeylerinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığını ancak 6. saat intervalinde glutasyon seviyelerindeki artışın daha uzun süre sonundaki analizlerde anlamlı farklılık oluşabileceğini göstermektedir.

Yurtseven ve ark. yaptığı hayvan deneyi çalışmasında, CO zehirlenmesinde oksidatif stres belirteçlerinin (lipid peroksidasyonu, malondialdehit düzeyi, protein karbonilleri) arttığını, buna karşılık antioksidan sistemlerde (GSH, SOD, katalaz) farklı yönlerde değişiklikler görülebildiğini ve özellikle glutasyon peroksidaz aktivitesinin CO zehirlenmesi ile artış gösterdiğini bildirmiştir (161). Bizim çalışmamızda da glutasyon peroksidaz seviyelerinde CO uygulanmayan kontrol gruplarına kıyasla CO uygulanan gruplarda belirgin artış gösterdiğini saptadık.

Patel ve ark. sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada, %0,01'lik ve %0,05'lik CO'ya 15 dakika boyunca maruziyetten sonra sıçan kalplerindeki ventriküllerde glutasyon içeriğinin değişimini araştırmışlardır (139). Ventriküllerdeki glutasyon içeriğinin, maruziyetten 90 dakika sonra %0'lık CO kontrol gruplarına kıyasla sırasıyla %76 ve %84 oranında azaldığını saptamışlardır. Bu bulgular ile CO kardiyotoksitesinde oksidatif stresin bir rolü olduğunu, antioksidan bir enzim olan glutasyon peroksidazın, glutasyonu kullanarak bu tepkimeler sonucu tükendiğini ve glutasyon peroksidazın oksidatif strese rol aldığını saptamışlardır (139). Bizim çalışmamızda uygulanan CO yoğunluğu ve uygulama süresinin daha fazla olmasının deneyin sonuçlarını etkilediğini ve lethal dozlardaki CO'nın glutasyon peroksidaz seviyelerinde; 0. saatte medyan

değerinin kontrol grubunda 81,73, deney grubunda 229,67 olduğunu, 3. saatte medyan değerlerin kontrol grubunda 79,71 ve deney grubunda 154,19 olduğunu ve 6 saatte medyan değerlerin kontrol grubunda 277,64, deney grubunda 654,81 olduğunu saptayarak artışa neden olduğunu gösterdik. Canlılık aktivitesinin olmamasının moleküler tükenmeye katkıda bulunduğunu düşünmektayız.

Thom ve ark., beyinde oksidatif strese neden olduğu bilinen CO'ya maruz kalan sıçanlar üzerinde, oksitlenmiş proteinlerin, tiyobarbitürik asitle reaktif maddelerin (TBARS), oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) ve indirgenmiş glutatyonun (GSH) plazma seviyelerinde iki kat artışın olduğu göstermişlerdir. Bu değişikliklerin karboksihemoglobin kaynaklı hipoksik stresle ilişkili olduklarını, GSH ve GSSG yükselmelerinin nitrik oksit kaynaklı oksidanları içerdiğini, nitrik oksit kaynaklı oksidanların vasküler kompartımandaki CO aracılı oksidatif strese dahil olduğunu ve çeşitli bileşiklerin yükselmelerinin beyin hasarını hızlandırması muhtemel CO maruziyetlerini belirlemede yararlı kullanılabileceğini saptamışlardır (152). Bu çok aşamalı hücresel düzeydeki CO hasarının çeşitli mekanizmalarla kompensatuar olarak çalıştığını ve bizim çalışmamızda da gösterdiğimiz şekilde antioksidan enzim aktivitelerinde artışa neden olduğunu göstermektedir.

Dickinson ve ark. göre, glutatyon metabolizmasının hızlı bir şekilde uyum sağlayabileceği, erken dönemde glutatyon düzeylerinin, artan ROS'a karşı hızla yeniden sentezlenerek dengeyi koruyabileceğini vurgulamıştır (162). Yaptığımız çalışmada, 6. saat deney grubundaki artışın, 3. saat deney grubundaki artışa göre daha yüksek olmasının bu adaptasyon cevabında zamanla artış olduğunu göstermektedir.

Madea ve ark., ölüm sonrası biyokimyasal süreçler (otoliz, enzimatik parçalanma) glutatyon ölçümlerini etkilemiş olabileceğini ve postmortem biyokimyanın sonuçları dikkatle yorumlamak gerektiğini vurgulamıştır (47). Bizim çalışmamızda da glutatyon peroksidaz metabolizmasının postmortem süreçlerden etkilenmiş olabileceği ve bu sebeple aktivitesinde belirgin artış ve kontrol grubuna göre anlamlı fark olmamasının sebebinin portmortem otoliz ve enzimatik parçalanma nedenlerine bağlı olabileceğini düşünmektayız.

Chan ve ark., farelerde hipoksik-iskemik beyin hasarı sonrası GSH düzeylerinde anlamlı düşüş gözlemiştir (163). Bu deneysel modelde bizim çalışmamıza kıyasla

hipoksik hasar daha minimal düzeydedir ve daha şiddetli oksidatif stres oluşması durumunda glutatyon peroksidaz aktivitesinin belirgin yükseleceğini düşünmekteyiz.

Bizim çalışmamızda kontrol ve deney grupları arasında anlamlı fark olmamasını, kullanılan CO dozunun, maruziyet süresinin veya postmortem interval süresinin kısa zaman diliminde çalışılması gibi farklardan olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda örneklem sayısının kısıtlı olması ve ölçümün yalnızca glutatyon metabolizmasındaki total glutatyon düzeyi üzerinden değerlendirilmesi; oksitlenmiş glutatyonun ölçülmemesi gibi kısıtlılıklar nedeniyle istatistiksel anlamlı farklılık oluşmayabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada karbonmonoksit (CO) maruz bırakılan ratlarda postmortem serum süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerindeki değişiklikler incelendi ve çalışmamız hem CO'ı maruz kalan hem de maruz kalmayan gruplarda postmortem zaman ilerledikçe SOD düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış meydana geldiğini göstermektedir. Özellikle CO maruziyetinden sonraki 3. ve 6. saatlerde SOD düzeylerinde ortaya çıkan farklılıklar, CO'ın oksidatif stres mekanizmaları üzerindeki etkisini desteklemektedir.

SOD enzimi süperoksit radikallerini hidrojen peroksite dönüştürerek oksidatif hasara karşı ilk savunma hattında görev yapmaktadır ve çalışmamızda da saptadığımız üzere, CO maruziyeti sonrası SOD düzeylerinde ortaya çıkan değişiklikler, literatürde bildirilen oksidatif stres artışı ile uyumludur. Nitekim Lee ve ark., CO'ya maruz bırakılan farelerde beyin dokusunda SOD ve katalaz düzeylerinde anlamlı artış saptamışlardı (164). Benzer şekilde Wang ve ark., akut CO zehirlenmesi sonrası sıçanlarda oksidatif stres belirteçlerinin arttığını ve antioksidan savunma sisteminin bu duruma yanıt verdiğini rapor etmişlerdir (165).

Çalışmamızda kontrol grubundaki 0. ve 6. saatler arasında anlamlı farklılık bulunması, postmortem biyokimyasal değişikliklerin dikkate alınması gerektiğini, SOD aktivitesinde toksik gaz maruziyeti olmasa bile postmortem süreçte değişiklik gösterebileceğini saptadık. Klys ve ark., postmortem biyokimyasal parametrelerin zamana bağlı olarak değiştiğini, özellikle oksidatif stres belirteçlerinin ölüm sonrası stabil olmadığını bildirmiştir. Bu durum, çalışmamızdaki bulgularla paralellik göstermektedir (166).

Ayrıca Huang ve ark., CO maruziyeti sonrası artan oksidatif stresin apoptotik yolları aktive ettiğini ve bu durumun özellikle ilerleyen saatlerde daha belirgin olduğunu rapor etmiştir. Bu veriler, bizim çalışmamızda özellikle 3. ve 6. saatlerde gözlenen anlamlı farklılıkları desteklemektedir (167).

Yıldız ve ark., ağır sigara içenler, hafif sigara içenler, pasif içiciler ve sigara içmeyenler üzerinde yaptığı çalışmada, eritrositlerdeki SOD, CAT ve GPX enzim miktarlarına bakmışlardır ve antioksidan aktivite ile sigara içme miktarı ile kıyaslama yapmışlardır. Eritrositlerdeki SOD ve CAT aktivitelerinin sigara içme miktarıyla azaldığını, GPX miktarının ise pasif sigara içenlerde yükseldiğini göstermişlerdir. Sigara içenlerde artan oksidatif stresin, dumanda bulunan serbest radikallerin etkisiyle antioksidan sistemi çalışarak azalmasına neden olduğunu ve dumanda bulunan CO'nin serbest radikal oluşumunu tetiklediğini göstermişlerdir (168). Biz de çalışmamızda, her 3 deney grubunda da kontrol grubuna göre serbest radikal oluşumuna sebep olan CO'nin SOD seviyelerinde artışa neden olduğunu saptadık. Ancak bizim çalışmamızda uygulanan CO miktarının lethal dozda olması nedeniyle SOD enzim düzeyinde dramatik artış olduğunu düşünmekteyiz.

Okşak ve ark. pasif sigara içimine maruz kalan hastalar üzerinde yaptığı çalışmada, kapiller kan SOD, GSPx ve GSRx (Glutasyon redüktaz) enzimlerinin antioksidan savunmada görev aldığı ve sigara içimiyle bu antioksidan ifadenin azaldığını saptamışlardır (169). Bizim çalışmamızda CO uygulanmayan gruba göre CO'e maruz kalan gruplarda SOD enzim aktivitesinin artış gösterdiğini, bu artışın lethal dozdaki toksik gaz maruziyetinde kompensatuar görev alan SOD'nin görev aldığını göstermektedir. Çalışmamızda akut CO maruziyetini incelediğimiz için anlamlı farklılık oluşmadığını, kronik maruziyetteki analizlerin anlamlı farklılık oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Karbonmonoksit toksisitesinin hücresel düzeyde en önemli etkilerinden biri hipoksiye bağlı oksidatif stres gelişimi olması nedeniyle mitokondriyal sitokrom oksidaz enzimine bağlanması oksijen kullanımını engelleyerek ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına yol açarak hücrede lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı ile sonuçlanmasına sebep olmaktadır (160). SOD enzimi, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit'e dönüştürerek antioksidan savunmada kritik rol oynar ve CO maruziyeti sonrası SOD düzeylerindeki değişim, organizmanın oksidatif stres yanıtının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (168). Bizim çalışmamızda da,

literatürle uyumlu şekilde, kontrol grubuna kıyasla deney gruplarında 3. ve 6. saat aralıklarında SOD düzeylerinde anlamlı farklılık bulunması, zamanla artış gösterdiğini ölüm sonrası biyokimyasal analizlerde dikkate alınması gerektiğini vurgulamaktayız.

Deney gruplarının kendi aralarındaki kıyaslamada, özellikle 0. saat ile 3. ve 6. saatler arasında anlamlı fark tespit edilmiştir. Bu sonuç, CO maruziyeti sonrası oksidatif stresin zamanla arttığını ve SOD düzeylerinin oksidatif strese bağlı olarak değişim gösterdiğini düşündürmektedir. Nitekim, Thom ve ark. yaptıkları bir çalışmada, CO maruziyeti sonrası artan serbest radikal üretiminin endotel hasarına ve inflamatuvar yanıtın tetiklenmesine yol açtığını bildirmişlerdir (160).

Çalışmamızda CO'ya maruz kalan 0. saat kontrol grubu ile 3. saat deney grubu arasında anlamlı fark saptanması, maruziyetin oksidatif stres üzerindeki akut etkisini göstermektedir. Ancak 0. saat deney grubu ile 0. saat kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmaması, ölümün hemen ardından yapılan ölçümlerde oksidatif stresin biyokimyasal yansımasının sınırlı olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu, Prockop ve ark. yaptığı çalışmada, CO maruziyetinin erken dönemde biyokimyasal belirteçlerde net bir farklılık yaratmadığını, ancak ilerleyen saatlerde farkların belirginleştiğini bildiren sonucuya uyumludur (170).

Bulgularımız ayrıca, kontrol grubundaki 3. ve 6. saatler ile deney grubundaki aynı saatlerin karşılaştırılmasında, her iki durumda da anlamlı farklılıkların bulunduğunu göstermektedir. Bu sonuç, postmortem süreçte CO maruziyeti ile oksidatif stresin sinerjistik etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Yani CO maruziyeti ile ölüm gerçekleşmiş olgularda, orijin tayininin postmortem SOD analizleri ile desteklenmesi daha kesin sonuçlara varılacağını göstermektedir.

CO toksik gazına maruziyette antioksidan enzim aktivite analizlerinin yanı sıra, esas olarak merkezi sinir sistemi gelişiminde akson kılavuzluğu ve hücre göçünü düzenleyen bir kılavuz protein olan ve son yıllarda inflamasyon, anjiyogenez, hücre hayatta kalımı ve doku onarımında da antioksidan etki göstererek önemli bir düzenleyici olarak görev alan Netrin-1 proteinini, biz de deneysel hayvan modelimizde çalışarak postmortem süreçteki değişimlerini saptadık (171,172).

Kokulu ve ark. akut CO zehirlenmesinden sonra acil servise başvuran yaşayan olgularda yaptığı çalışmada, gecikmiş nörolojik sekel (DNS) geliştirme riski olan hastaların erken teşhisini yapmayı amaçlamış ve bunun için acil servise başvuruda hastalardaki serum netrin-1 düzeylerini ölçerek 6 hafta boyunca DNS açısından takip ederek düşük serum netrin-1 düzeylerinin DNS gelişimi ile anlamlı şekilde ilişkilendirildiğini saptamışlardır (173).

Bizim çalışmamızda; özellikle 0. saat deney grubundaki Netrin-1 düzeylerinin, 0. saat kontrol grubuna göre belirgin düşüş göstermesi, literatürle uyum göstermektedir. Ancak deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Bunun sebebinin postmortem süreçteki dekompanzasyon etkinin protein yapılarını bozmasıyla analiz sonuçlarını etkilediğini, protein gen ekspresyon süresinin sonuçları etkilediğini düşünmekteyiz. Beyin/beyincik dokularındaki Netrin-1 protein düzeyleri postmortem 0., 3. ve 6. saatlerde değerlendirildi ve deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Gruplar arasında anlama fark olmasa bile değerlerin zamanla azalma eğiliminde olduğunu, bu azalmanın canlı dokularda ölçülen protein düzeyleriyle postmortem ölçülen protein düzeyleri arasında farktan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Xie ve ark. göre, iskemik beyin hasarı oluşturulan deneysel çalışmalarda, Netrin-1'in iskemik beyin hasarında nöroprotektif etki gösterebildiğini, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu baskılayarak doku hasarını azalttığını ortaya koymuştur (174). Benzer şekilde Tang ve ark. da iskemik beyin hasarı sonrası deney hayvanlarında Netrin-1 düzeylerinin nöroprotektif etkisinin olduğunu ve hücre yenilenmesine katkıda bulunduğunu göstermiştir (175). Beyin dokusunda bu etkilere sahip olan nöroprotektif görevdeki Netrin-1 proteinini biz de çalışmamızda, her ne kadar farklılık anlamlı düzeye ulaşmasa da karbonmonoksit zehirlenmesiyle ölen deney grubundaki sıçanlarda, beyin ve beyincik dokularındaki Netrin-1 seviyelerinin, 0. saat kontrol grubuna göre 0. saat deney grubundaki sıçanlarda yüksek olduğunu gösterdik. Bunun nedenini nöroprotektif özellikteki Netrin-1'in hücresel koruma mekanizmasında görev almasından ötürü olduğunu düşünmekteyiz.

Nguyen ve ark. yaptığı kardiyak iskemi-reperfüzyon modelinde de Netrin-1 düzeylerinin artış gösterdiği ve inflamatuvar yanıtı modüle ettiği rapor edilmiştir (176). Bizim çalışmamızda da CO maruziyeti sonrası oksidatif hasarın neden olduğu iskemik sürecin hasara katkı yapmasının sonucu olarak nöroprotektif Netrin-1'in hücresel

yenilenmede görev alarak beyin ve beyincik dokularındaki Netrin-1 seviyelerinin, 0. saat kontrol grubuna göre 0. saat deney grubundaki sıçanlarda yüksek olduğunu saptadık.

Ziegon ve ark., deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) farelerine netrin-1 uygulaması ile, sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu teşvik ettiğini, Furtado ve ark. ise, bu ekspresyonların neticesinde kan beyin bariyeri (KBB) bütünlüğünün korunduğu ve beyinde nöro infiltrasyonu önlemek için hem KBB'de hem de bağışıklık hücreleri üzerinde Netrin-1 proteininin etki etmesinin muhtemel olduğunu göstermişlerdir (177,178). Biz de çalışmamıza beyin ve beyincik dokularını dahil ederek özellikle nöron hasarında artış gösteren Netrin-1'in literatürle uyumlu şekilde yükseldiğini saptadık.

Xia ve ark., iskemi/reperfüzyon hayvan modellerinde rekombinant netrin-1'in uygulanması organ fonksiyonunu iyileştirdiğini, lökosit infiltrasyonunu azalttığı ve sitokin ve kemokin üretimini baskıladığını belirlenmiştir. Deneysel modellerinde netrin-1'in, fokal serebral enfarktüs sonrasında nöron kaybını kurtardığı, ayrıca lökosit infiltrasyonunu ve KBB'nin bozulmasını azaltarak, deneysel olarak oluşturulan ensefalopatide hastalık şiddetini azalttığı ortaya konmuştur (179, 180). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde deney grubunda özellikle 3. saatte Netrin-1 proteininin artış gösterdiğini saptadık.

Zang ve ark. yaptığı çalışmada, akut dönemde (ilk 1–6 saat), CO'ya maruz kalan ratların beyinde, özellikle hipokampus ve kortekste piknotik nükleuslu hücreler ve eosinofilik nöronlar izlendiğini, CO'nun hem nekrotik hem de apoptotik hücre ölümüne yol açtığını göstermişlerdir (156). Bizim çalışmamızda da özellikle postmortem akut süreçte Netrin-1'in yükseldiği ancak postmortem 3. saat ve postmortem 6. saatlerde beyin ve beyincik dokusundaki Netrin-1 düzeyleri arasındaki kıyaslamada, 6. saat netrin-1 seviyelerinin 3. saate göre düşük olduğunu, zamanla Netrin-1 aktivitesinin azaldığını saptadık.

Thom ve ark., ratların subakut–gecikmiş dönemde (3–21 gün) beyin hücrelerinde; mikrogliyal aktivasyonla birlikte inflamatuvar yanıtı güçlendiren sitokin fırtınaları gözlenmişlerdir. Bu değişimlerin, CO'nun sadece hipoksik değil, aynı zamanda immünolojik ve inflamatuvar etkilerle de gecikmiş nöropatolojiye neden olduğu sonucuna varmışlardır (160). Biz de çalışmamızda deney gruplarına uyguladığımız

lethal dozdaki CO'nin oksidatif hasar mekanizmalarının yanında inflamatuvar süreci tetiklediğini, Netrin-1 proteininin bu süreçte yükselerek hücrel hasara cevap oluşturduğunu saptadık.

Bizim çalışmamızda da karbonmonoksit zehirlenmesiyle ölen deney grubunu ve karbonmonoksit verilmeden ölen kontrol grubunu; postmortem dönemde serum ve beyin/beyincik dokusu kullanarak yaptığımız Netrin-1 analizleri ile kıyasladığımızda; Netrin-1 düzeylerinde değişiklik beklenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ancak her ne kadar fark anlamlı seviyede olmasa da CO zehirlenmesine maruz kalan sıçanlarda, CO zehirlenmesine maruz kalmayan gruba göre yüksek Netrin-1 seviyelerinin olduğunu saptadık. İstatistiksel olarak anlamlı fark olmamasının birkaç nedeni olabilir. Öncelikle Netrin-1'in daha çok kronik inflamatuvar süreçlerde ve vasküler patolojilerde belirgin rol oynadığı bildirilmiştir.

Metwally ve ark.'nın akut CO zehirlenmesi geçirmiş 30 kişi, kronik CO'e maruz kalmış 30 kişi ve 30 sağlıklı kişi üzerinde yaptığı çalışmada; kronik vakalarda serum Netrin-1 ve serum Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA) seviyelerinin COHb seviyeleri ile korelasyon gösterdiği, akut maruziyette de hem ADMA hem de Netrin-1 seviyesinin akut CO zehirlenmesinin ciddiyetini değerlendirmede iyi bir gösterge olacağını göstermişlerdi (181). Biz de çalışmamızda ise, 6. saatlerdeki beyin ve beyincik dokusundaki Netrin-1 düzeylerinin azalmasının sebebinin yaşayan olgularda değil ölüm sonrası süreçte değerlendirilmiş olmasıyla düşük saptandığını düşünmekteyiz.

Gedikli ve ark.'nın CO zehirlenmesi nedeniyle gelen hastalarda; ilk başvuru'daki 0. saat serum netrin-1 seviyelerinin, sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, ayrıca 4. saat alınan serum netrin-1 düzeyleriyle 0. saat netrin-1 düzeyleri arasında anlamlı fark olduğunu saptamışlar ve CO zehirlenmesi olan hastalarda netrin-1 düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olması, netrin-1'in bir stres belirteci olarak yükseldiğini göstermekte olduğunu saptamışlardır (133). Bizim çalışmamızda da postmortem olarak değerlendirilen netrin-1 düzeylerinin 3. saat intervalinde artış gösterdiği ancak CO gazına maruz bırakılan yaşayan olgulardan farklı olarak zaman geçtikçe azalma eğiliminde olduğunu saptadık.

Dolayısıyla akut CO maruziyeti sonrası postmortem dönemde, çalışmamızın deneysel olarak maksimum 6 saatlik intervalinde belirgin bir yanıt gelişmemiş olabilir.

Ayrıca örneklem büyüklüğünün sınırlı olması istatistiksel gücü azaltmış olabilir. Bu bulgular, Netrin-1'in akut hipoksik koşullarda erken dönem biyobelirteç olarak sınırlı bir değer taşıyabileceğini düşündürmektedir. Ancak, daha uzun süreli postmortem intervallerde ve daha düşük dozdaki daha uzun süreli CO maruziyetinde ve daha geniş örneklemelerde yapılacak çalışmalar, Netrin-1'in potansiyel rolünü daha net ortaya koyabilir. Bunun yanında, beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi diğer biyolojik örneklerde yapılacak analizler de merkezi sinir sistemine özgü değişimleri daha iyi yansıtabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma Netrin-1'in karbonmonoksit zehirlenmesinde postmortem olarak daha kısa intervallerde anlamlı bir biyobelirteç olmadığını ortaya koymuştur. Ancak literatürde farklı patofizyolojik süreçlerde inflamasyonu ve doku yanıtını düzenlediği bildirilen Netrin-1'in, CO zehirlenmesi sonrası geç dönem etkilerde rol oynayabileceği düşünülmektedir.

CO'nin hipoksik, inflamatuvar ve immünolojik süreçlerdeki rolleri dikkate alındığında, bu çalışma, ölümcül dozlardaki karbonmonoksit maruziyetinde serum SOD düzeylerinin, postmortem süre uzadıkça istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiğini, yine benzer şekilde serum katalaz aktivitesinin de artış göstererek postmortem süreçte kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Bulgularımız hem toksikoloji hem de adli tıp alanında CO zehirlenmelerinin biyokimyasal belirteçlerle desteklenmesi gerektiğini ve postmortem interval faktörünün dikkate alınarak SOD ve katalaz gibi antioksidan enzim ölçümlerinin kullanılabileceğine işaret etmektedir.

Çalışmamızın genel olarak kısıtlılıklarından biri kullandığımız hayvan sayısının az olmasıdır. Deney grupları ve kontrol grupları arasındaki sayı eşitsizliği deney hayvanı sayısının kısıtlılığındandır. Uyguladığımız CO yoğunluk yüzdeleri ve uygulama süreleri literatürde yapılan çalışmalardaki miktarlar gözetilerek belirlenmiştir. Ancak yine de çalışmamızda farklı yoğunluk ve sürede uygulama yapılmadığı için, CO'nin beklediğimiz öldürücü düzeyinin ve antioksidan enzim/protein pik düzeylerinin hangi yoğunluk ve sürede ortaya çıkmaya başladığı konusu müphemdir ve bu çalışmanın kısıtlılıklarındandır. Aynı zamanda postmortem erken ve geç dönem zaman aralıkları literatürde yapılan çalışmalardaki süreler gözetilerek belirlenmiştir. Ancak daha uzun veya daha kısa postmortem intervallerde çalışmanın yapılabilirliği uygulanabilirliği de çalışılmalıdır ve bu çalışmanın kısıtlılıklarındandır. Çalışmamızda literatüre benzer analiz yöntemleri kullanılmış olsa da kan gazı analiz çalışmamız mümkün olmadığı için

COHb düzeyleri ile diğer belirteçler arasında kıyaslama yapılamamıştır ve bu da çalışmanın bir diğer kısıtlılığıdır. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde kan, beyin ve beyincik dokularından örnek aldık ancak daha fazla doku ve organdan alınan örneklerden elde edilen antioksidan düzeylerinin postmortem interval hakkında daha fazla bilgi verebileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda kolorimetrik ve elisa yöntemlerini kullanmayı tercih ettik. Bunların haricinde histopatolojik ve immünohistokimyasal analiz yöntemlerini ve gen düzeyindeki incelemeleri de kullanarak daha geniş çerçevede çalışmamızı gerçekleştirebilirdik.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın postmortem erken dönem olan 3. saat serum katalaz değerleri, deney grubu CO uygulanan ve kontrol grubu CO uygulanmayan grup arasında anlamlı bir fark göstererek postmortem interval ve otopside orijin tayininde kullanılabilirliğini göstermiştir. Ölüm zamanı olan 0. saat ve postmortem geç dönem olan 6. saat serum katalaz değerleri, deney gruplarında kontrol grubuna göre yüksek aktivitede ölçülse de fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır. Yine aynı şekilde postmortem erken dönem olan 3. saat serum GPX değerleri, deney grubu CO uygulanan ve kontrol grubu CO uygulanmayan grup arasında anlamlı bir fark göstermese de CO uygulanan grupta daha yüksek GPX aktivitesi saptanması otopside orijin tayininde kullanılabilirliğini göstermiştir. Bir diğer bulgu olan serum SOD analizleri, ölüm zamanını gösteren 0. saat deney grubu ile postmortem geç dönem olan 6. saat deney grubu arasında anlamlı fark göstermiştir. Bu bulgular, postmortem geç dönemde serum SOD aktivitesinin artması postmortem interval tahmininde kullanılabilirliğini ortaya koymuştur. Diğer dönemlerde de gruplar arasında farklılık gösterse de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Deneyimizde çalıştığımız antioksidan ve nöroprotektif özellikteki Netrin-1 proteini postmortem erken dönem olan 0. saat kontrol grubu ile postmortem geç dönem olan 0. saat deney grubu arasındaki Netrin-1 düzeyleri arasında farklılık olsa da fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır.

CO zehirlenme modeli çalışmamızda, otopsi uygulamalarında, ölüm zamanı tayini ve orijin tayini açısından günümüzde kullanılan COHb analizine alternatif olabilecek Netrin-1, SOD, CAT ve GPX antioksidan belirteçleri postmortem 0., 3. ve 6. saatlerde analizleri yapılmıştır. Genel olarak bulgular incelendiğinde, postmortem daha geç dönem 6. saat gruplarında postmortem daha erken dönem gruplarına grubuna göre daha fazla anlamlı sonuçlar elde edilmiş olsa da her iki dönemde de postmortem interval uzadıkça antioksidan aktivitenin artış gösterdiğini saptadık. Literatürde, postmortem dönemde kanda ve dokuda bakılan bir belirtecin araştırıldığı çalışma tespit edilmemiş olup, bu noktada tıp literatürüne katkı sağlayacağımızı düşünüyoruz. Umut vaat eden antioksidan ve nöroprotektif Netrin-1 proteininin adli tıp ve otopsi uygulamaları ile ilgili daha fazla ve geniş kapsamlı araştırmalara gereksinim vardır.

7. KAYNAKÇA

1. Peters FT, Wissenbach DK, Busardo FP, Marchei E, Pichini S. Method Development in Forensic Toxicology. *Curr Pharm* 2017, 23(36):5455-5467.
2. Drummer OH. Forensic toxicology. 2010, Cilt 100, 579-603.
3. Smith MP, Bluth MH. Forensic Toxicology: An Introduction. *Clin Lab Med*. 2016, 36(4):753-759.
4. Koç S, Özasan A. Karbonmonoksit zehirlenmesi. *Adli Tıp Kitabı*. Cilt 1. İstanbul, 1999: 445-52.
5. Koçyiğit A, Eke BC. Karbonmonoksit Zehirlenmelerinde Postmortem Değişiklikler. 722-735, Ankara, *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University.*, 2021, Cilt 45(3).
6. Doğan M. Karbondioksit ve karbonmonoksit maruz bırakılan sıçanlarda biyokimyasal ve moleküler genetik parametrelerin değişimi. *Uzmanlık Tezi*, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya, 2015.
7. Vural N, Yücesoy C., Kahraman RD. Karbonmonoksit Akut ve Kronik Maruziyetin Spektrofotometrik Yöntemlerle Tayini. 112-115, *Adli Tıp Bülteni*, 1996, Cilt 1(3).
8. Ding Q, Liao SJ, Yu J. Axon guidance factor netrin-1 and its receptors regulate angiogenesis after cerebral ischemia. *Neurosci Bull*. 2014, 30(4):683-91.
9. Fan Y, Shen F, Chen Y, Hao Q, Liu W, Su H, Young WL, Yang GY. Overexpression of netrin-1 induces neovascularization in the adult mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008, 28(9):1543-51.
10. Barallobre MJ, Pascual M, Del Río JA, Soriano E. The Netrin family of guidance factors: emphasis on Netrin-1 signalling. *Brain Res Brain Res Rev*. 2005, 49(1):22-47.
11. Tuna G., Dere E., Mohammed A., Post-Mortem Changes in Acetylcholinesterase, Na⁺/K⁺-ATPase, Phosphofructokinase, Glutathione Peroxidase, Catalase, and Superoxide Dismutase Activities in Rats Exposed to Toluene. *The Bulletin of Legal Medici*. 2023, 28,1.
12. Mercan S, Türkmen Z. *Adli Toksikoloji, Temel Kavramlar ve Prensipler*. 2023.
13. George DJ. *Poisons, An Introduction for Forensic Investigators*. Crc Press.2017.
14. Peters FT, Maurer HH, Musshoff F. Forensic toxicology. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2011, 400(1):7-8.
15. Aggrawal A. Toxicology, History of. In *Encycl. Forensic Leg. Med*. Elsevier, Oxford. 2015, 588-60.
16. Nepovimova E, Kuca K. The history of poisoning: from ancient times until modern ERA. *Arch Toxicol*. 2019, 93(1):11-24.
17. Eckert WG. Historical aspects of poisoning and toxicology. *Am J Forensic Med Pathol*. 1981, 2(3):261-4.
18. Polat O, İnanıcı MA, Aksoy ME. Zehirlenmeler. *Adli Tıp Ders Kitabı, Nobel Tıp Kitapevleri*, İstanbul, 1997, 267-91.
19. Güner U. Toksikoloji. *Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi*. 2014, 2.186-189.
20. Gümüşçü A. Zehirler ve Tarihçe Kullanımı. *Ziraat Mühendisliği*. 2011, 356, 34-39.
21. Aksel G, Kavalcı C, Kılıçlı E, Fındık M, Kavalcı G. Deli bal zehirlenmesi: Olgu Sunumu. 2014, 3, 790, 1-4.
22. Nalbant T. Arsenik Zehirlenmesi. *Türkiye Klinikleri Pediatric Emergency-Special Topics*. 2021, 3.142-147.

23. Yüksel B, Eroğlu A, Kayaaltı Z, Söylemezoglu T. Arsenic toxicity and its analysis in biological samples. *Journal of Forensic Medicine*, 2015, 29, 179-186.
24. Zhang YW, Zhao L, Jiang YM. Advances in the application of clinical toxicology in the treatment of acute poisoning. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2020, Chinese, 38(1):58-62.
25. Tansey T. The history of toxicology: the long and short of it. *Hum Exp ve* 12(6):459-61.
26. Hayes AW, Dixon D. Cornerstones of Toxicology. *Toxicol Pathol*. 2017, 45(1):57-63.
27. Hendrickson RG, Bania TC, Baum CR, Greenberg MI, Joldersma KB, Keehbauch JN. The 2021 Core Content of Medical Toxicology. *J Med Toxicol*. 2021,17(4):425-436.
28. Cirulli V, Yebra M. Netrins: beyond the brain. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007, 8(4):296-306
29. Erenler AK, Yardan T, Baydin A, et al. Heart-type fatty acid-binding protein as a potential biomarker of acute carbon monoxide poisoning. *Am J Emerg Med*. 2013;31(8):1165–69.
30. Balcı Y, Gürpınar K, Kara E, Savran, B. Muğla’da adli otopsi yapılan intoksikasyon nedeni ölümünün değerlendirilmesi. *Journal Of Forensic Medicine*, 2020, 34, 1.
31. Aşirdizer, M. Adli Bilimler ve Adli Tıbbın Tarihçesi. 2021.
32. Negrusz A, Cooper G. Clarke's analytical forensic toxicology. Pharmaceutical press. 2013. 1-3.
33. Al-Waheeb S, Al-Kandary N, Algerian K. Forensic autopsy practice in the Middle East: comparisons with the west. *Journal of forensic and legal medicine*, 2015, 32, 4-9.
34. Shehata M. History of legal (forensic) medicine. *Journal Of The International Society For The History Of Islamic Medicine (JISHIM)*, 2008, 116.
35. Gurdal F, Asirdizer M, Aker RG, Korkut S, Gocer Y, Kucukibrahimoglu EE, Ince CH. Review of detection frequency and type of synthetic cannabinoids in herbal compounds analyzed by Istanbul Narcotic Department of the Council of Forensic. 2013, 20(6), 667-672.
36. Coley NG. Alfred Swaine Taylor, MD, (1806-1880): forensic toxicologist. *Med Hist*. 1991, 35(4):409-27.
37. Gossel TA. Principles of clinical toxicology. Crc.Press.2018.
38. Michaleas SN, Veskoukis AS, Samonis G, Pantos C, Androutsos G, Karamanou M. Mathieu Joseph Bonaventure Orfila (1787-1853): The Founder of Modern Toxicology. *Maedica (Bucur)*. 2022 Jun, 17(2):532-537.
39. Watson KD. Poisoning Crimes and Forensic Toxicology Since the 18th Century. *Acad Forensic Pathol*. 2020, 10(1):35-46.
40. Oguz P, Cem U. History of forensic medicine in Turkey. *Leg Med*, 2009, 11(3):107-10.
41. Flanagan R, Rooney C, Griffiths C. Fatal poisoning in childhood, England, Wales 1968–2000. *Forensic Sci Int* 2005, 148:121-9.
42. Ersoy G, Toprak S. Güncel durumu ile hukuki ve tıbbi açıdan otopsi süreci. 1. Basamakta Adli Tıp. 2009, 140.
43. Rankin J, Wright C, Lind T. Cross sectional survey of parents' experience and views of the postmortem examination. *BMJ*. 2002, 324(7341):816-8.
44. Shkrum MJ, Ramsay DA. Forensic Pathology of Trauma Humana Press Totowa. New Jersey, 2007, 295-357, 1-22.

45. Nashelsky MB, Lawrence CH. Accuracy of cause of death determination without forensic autopsy examination. *Am J Forensic Med Pathol*. 2003, 24(4):313-9.
46. Gill JR. Practical toxicology for the forensic pathologist. *Forensic pathology reviews*, 2005, 243-269.
47. Madea B, Musshoff F. Postmortem toxicology. *Forensic Sci Int*. 2004, 142(2-3):71-3.
48. Karadeniz H, Birincioğlu İ, Zazoğlu S, Ketenci, HÇ. Siyanür zehirlenmesi ile meydana gelen ölümlerde toksikolojik analizin önemi: Olgu sunumu. *Journal of Forensic Medicine*, 2017, 31, 2.
49. Elmas İ, Ersoy G. Adli olgulardan biyolojik örnek alınması ve moleküler genetik incelemelerde yasal boyut. *Klinik Gelişim. Adli Tıp Özel Sayısı*. 2009, 113., 22:111.
50. Launiainen T, Ojanpera I. Drug concentrations in post-mortem femoral blood compared with therapeutic concentrations in plasma. *Drug Test Anal*. 2014, 6(4):308-16.
51. İzci A, Dağlıoğlu N, Acar K, Kurtuluş D. Postmortem toksikolojik analizlerde saptanan eroin metabolit ve yan ürünlerinin incelenmesi. *Adli Tıp Bülteni*. 2004.
52. Caplan YH, Levine B. Vitreous humor in the evaluation of postmortem blood ethanol concentrations. *J Anal Toxicol*. 1990, 14(5):305-7.
53. Skopp G. Preanalytic aspects in postmortem toxicology. *Forensic Sci Int*. 2004, 142(2-3):75-100.
54. Küme T, Can İÖ, Şişman AR. Klinik laboratuvarlarda adli örnek işlemleri. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 2009, 7(3), 101-13.
55. Yoladı FB, Palabıyık Yücelik ŞS. Toksikoloji Alanında Metabolomik Çalışmalar ve Önemi: Geleneksel Derleme. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 2023, 12(1).
56. Maurer HH. "Analytical toxicology: where are we heading?" *Journal of Laboratory and Clinical*, 46(3):241-247.
57. Levine B. *Principles of Forensic Toxicology*. 5th ed. Springer, 2020.
58. Karch SB. *Karch's Pathology of Drug Abuse*. 6th, 2016.
59. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 1976, 70(1), 158-169.
60. Prohaska JR, Oh SH, Hoekstra WG, Ganther HE. Glutathione peroxidase: inhibition by cyanide and release of selenium. *Biochemical and biophysical research communications*, 1977, 74(1), 64-71.
61. Kraus RJ, Ganther HE. Reaction of cyanide with glutathione peroxidase. *Biochemical and biophysical research communications*, 96(3), 1980, 1116-1122.
62. Battal D. Adli toksikoloji analizlerinde biyolojik örnek ve analitik yöntem, 2012, 44-53.
63. Smith ML, Vorce SP, Holler JM, Shimomura E, Magluido J, Jacobs AJ, Huestis MA. Modern instrumental methods in forensic toxicology. *J Anal Toxicol*. 2007, 31(5), 237-253.
64. Flanagan RJ, Connally G, Evans JM. Analytical toxicology: guidelines for sample collection postmortem. *Toxicol Rev*. 2005, 24(1):63-71.
65. Dinis Oliveira RJ, Carvalho F, Duarte JA, Remiao F, Marques A, Santos A, Magalhaes T. Collection of biological samples in forensic toxicology. *Toxicol Mech Methods*. 2010, 20(7):363-414.
66. Damar G, Arif Garbioğlu A, Üzün İ. Zehirlenmeye Bağlı Ölümlere Adli Tıbbi Bakış: Retrospektif Özgün Araştırma. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. 2024.
67. www.atk.gov.tr/tckyalaralama24-11-15.pdf. Türk Ceza Kanunu'nda Tanımlanan Yaralama Suçlarının Adli Tıp Açısından Değerlendirilmesi. Erişim tarihi: 02.06.2025.

68. Çetin, G. Türk Ceza Kanunu Açısından Yaralanmalar. Yeni Yasalar Çerçevesinde Hekimlerin Hukuki ve Cezai Sorumluluğu, Tıbbi Malpraktis ve Adli Raporların Düzenlenmesi, Sempozyum Dizisi, (48), 104-119.
69. Yavuz MF, Yavuz MS. Adli rapor standardizasyonu ve adli raporlarda görülen eksiklikler. Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci 2006, 2:28-33.
70. Henssge C, Madea B. Estimation of the time since death in the early post-mortem period. Forensic Sci Int. 2004 Sep 10, 144(2-3):167-75.
71. Ergün Y. Klinik farmakoloji: Türkiye açısından geleceğe yönelik bir perspektif. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 27(4), 2018, 459-482.
72. Koçak A, Şenol E, Kök HO, Aktaş EÖ. Organofosfat (tamaron) zehirlenmesi sonrasında gelişen nöropati. Türkiye Klinikleri Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences, 2005, 2(3), 109-112.
73. Gozubuyuk AA, Dag H, Kaçar A, Karakurt Y, Arica V. Epidemiology, pathophysiology, clinical evaluation, and treatment of carbon monoxide poisoning in child, infant, and fetus. North Clin Istanbul 2017, 4:100.
74. Chenoweth JA, Albertson TE, Greer MR. Carbon Monoxide Poisoning. Critical care clinics, 37(3), 2021, 657-672.
75. Türkmen Z, Türkdoğan S, Mercan S, Açikkol M. Bitkisel ürünlerin ve gıda destek ürünlerinin içeriklerinin adli ve hukuki boyutu. Adli Tıp Bülteni, 2014, 19(1), 38-48.
76. Işık C, Öztuna Ş. Adli Toksikoloji, Klinik, Nöropsikiyatrik ve Postmortem Değerlendirme. 2024, 3-6.
77. Karadayı B, Kolusayın MÖ, Kaya A, Karadayı Ş. Acil tedavi birimlerinde adli olgudan biyolojik materyal alınması ve gönderilmesi. Marmara Medical Journal. 2013, 26:111-117.
78. Öztürk, HKA, Güngör AY, Dereli AK. Postmortem Adli Tıbbi İncelemelerde Şahit Kan Numunesinin Önemi: Metanol İntoksikasyonu. Adli Tıp Bülteni, 2023, 28(1), 101-104.
79. Ceza Muhakemesi Kanunu. Kanun Numarası:5271, Kabul Tarihi: 12.10.2004, Yayımlandığı Resmî Gazete Tarihi: 01.06.2005, Yayımlandığı Resmî Gazete Sayısı: 25611.
80. Ballou S, Stolorow M, Taylor M, Bamberger PS, Brown L, Brown R, Stoiloff S. Technical Working Group on Biological Evidence Preservation. The Biological Evidence Preservation Handbook: Best Practices for Evidence Handlers, 2013.
81. Demirci Ş. Asfiksi türleri ve asfiksi olgularında ölü muayenesi. Birinci Basamakta Adli Tıp. Koc S, Can M. Eds, İstanbul, 2010, 38-56.
82. DiMaio VJ, DiMaio D. Asphyxia. Forensic pathology, Crc press, 2001.
83. Balzo GD, Pelletti G, Raniero D, Farinelli A, Uberti A, Vermiglio E, Molteni G, Nocini R, Gobbo S, Taus F, Eccher A, Luchini C, Brunelli M. Forensic value of soft tissue detachments from the hyoid bone in death due to strangulation asphyxia. Advances in Clinical and Experimental Medicine, 2025, 34(3), 327-335.
84. Balcı Y, Teyin M. Asfiksiden Kurtulanlarda Hayati Tehlike Değerlendirmesi. Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences, 2004, 1(2), 84-92.
85. Çelik B, Öztürk D, Gürz S. Travmatik asfiksi. Journal of Experimental and Clinical Medicine, 2012, 29(2), 163-165.
86. Yıldırım M, Sivri S. Ası olgularının adli-tıbbi açıdan incelenmesi. J Clin Exp Invest, 2015, 6(4).
87. Sarı H, Yavuz MS, Asirdizer M. Otoerotik aktivite sırasında meydana gelen bir ölüm olayının mediko-legal değerlendirilmesi. Journal of Forensic Medicine, 2002, 16(1), 56-62.

88. Dolinak D, Matshes E, Lew EO. Forensic Pathology. Principles and Practice. Boston, 2005:201-226.
89. Pelletti G, Galante N, Franceschetti L, Berti L, Mazzotti MC, Zoia R, Pelotti S. Forensic issues in autoerotic deaths: A 44-year systematic review and a case series from the legal medicine institutes of Bologna and Milan, Italy, International Journal of Legal Medicine, 2025, 139(2), 779-794.
90. Borron SW, Bebart VS. Asphyxiants. Asphyxiants. Emergency Medicine Clinics, 2015, 33(1), 89-115.
91. Rossi R, De-Giorgio F, Grassi VM, Pascali VL, Lancia M. An unusual suicide: asphyxia by methane gas. Am J Forensic Med Pathol. 2013, 34(2):83-5.
92. Gross A, Klys M. Suicide by propane-butane inhalation: a case report and literature review. Archiwum Medycyny Sadowej i Kryminologii, 2002, 52(1), 37-42.
93. Rose JJ, Wang L, Xu Q, McTiernan CF, Shiva S, Tejero J, Gladwin MT. Carbon monoxide poisoning: pathogenesis, management, and future directions of therapy. American journal of respiratory and critical care medicine, 2017, 195(5), 596- 606.
94. Lo Faro AF, Pirani F, Paratore A, Tagliabracci A, Busardò FP. Fatal inhalation of nitrogen inside a closed environment: Toxicological issues about the cause of death. Forensic science international, 2019, 302, 109871.
95. Karadeniz H, Boz H, Ketenci HÇ. Sıra Dışı Bir Kaza ile Meydana Gelen ve Ölümle Sonuçlanan Alüminyum Fosfit Zehirlenmesi: Olgu Sunumu. Adli Tıp Bülteni, 2018, 129-132.
96. Büyük Y, Aslıyüksek H, Eke M, Bulut RE, Gürpınar SS. Boğucu Gaz Soluma Yoluyla İntihar Olgu Sunumu. Adli Tıp Bülteni, 2005, 10(3), 100-104.
97. Özdemirel RÖ, Kömür İ, Başpınar B, Demir M, Yılmaz S. Çürümeye Başlamış Bir Cesette Hidrojen Sülfür ile İntiharın Tespiti. Adli Tıp Bülteni, 2016, 21(2), 126-129.
98. Karapirli M, Akçan R, Keten A, Akduman B, Gökmen A, Renklidağ T, Yöndem M. Buzdolabında mahsur kalmaya bağlı çoklu ölüm. Adli Tıp Dergisi, 2012, 26(1), 62-67.
99. Widdop B. Analysis of carbon monoxide. Annals of clinical biochemistry, 2022, 39(4), 378-391.
100. Karapirli M, Kandemir E, Akyol S, Kantarci MN, Kaya M, Akyol O. Forensic and clinical carbon monoxide (CO) poisonings in Turkey: A detailed analysis. Journal of forensic and legal medicine, 2023, 20(2), 95-101.
101. Omaye ST. Metabolic modulation of carbon monoxide toxicity. Toxicology, 2002, 180(2), 139-150.
102. Turan AA, Pakiş I, Arıcan N, Karayel F, Şam B, Kavas G, Öz B. Karbonmonoksit Zehirlenmeleri Sonrası Geç Dönem Nöropatolojik Değişiklikler İki Olgu Sunumu. Adli Tıp Bülteni, 2003, 8(2), 53-57.
103. Kandiş H, Katırcı Y, Karapolat BS. Karbonmonoksit zehirlenmesi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 2009, 11(3), 54-60.
104. Guzman JA. Carbon monoxide poisoning. Critical care clinics, 2012, 28(4), 537-548.
105. Miró O, Alonso JR., Casademont J, Jarreta D, Urbano Márquez A, Cardellach F. Oxidative damage on lymphocyte membranes is increased in patients suffering from acute carbon monoxide poisoning. Toxicol Letter. 1999, 110(3):219-23.
106. Tritapepe L, Macchiarelli G, Rocco M, Functional and ultrastructural evidence of myocardial stunning after acute carbon monoxide poisoning. Critical care medicine, 1998, 26(4), 797-801.

107. Lapresle J, Fardeau M. The central nervous system and carbon monoxide poisoning II. Anatomical study of brain lesions following intoxication with carbon monoxide (22 cases). *Progress in brain research*, 1967, 24, 31-74.
108. Smith G, Sharp GR. Treatment of carbon-monoxide poisoning with oxygen under pressure. *The Lancet*, 1960, 276(7156), 905-906.
109. Weaver LK. Carbon monoxide poisoning. *New England Journal of Medicine*, 2009, 360(12), 1217-1225.
110. Bugelli V, Tarozzi I, Manetti AC, Stefanelli F, Di Paolo M, Chericoni S. Four cases of sodium nitrite suicidal ingestion: A new trend and a relevant Forensic Pathology and Toxicology challenge. *Legal Medicine*, Tokyo, 2022, 59:102146.
111. Azmak, AD. Postmortem Toksikolojik Analiz. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgical Medical Sciences*, 2(46), 2006, 49-52.
112. Du TS., Mengxi MM, Ye Tu CY, Jin KD, Chen SW, Liu NG, Xie JH, Shen YW. Research Progress of Metabolomics in Forensic Pathology. *Fa yi xue za zhi*, 2020, 36(3), 347-353.
113. Tursun S, Alpcan A, Şanlı C, Kabalcı M. Karbonmonoksit zehirlenmesi. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 2017, 9(4), 203-206.
114. Saukko, P, Knight, B. Knight's forensic pathology. CRC press. 2015.
115. Lo CP, Chen SY, Lee KW, Chen WL, Chen CY, Hsueh CJ, Huang GS. Brain injury after acute carbon monoxide poisoning: early and late complications. *American Journal of Roentgenology*, 2007, 189(4).
116. Chang KH, Han MH, Kim HS, Wie B., Han MC. Delayed encephalopathy after acute carbon monoxide intoxication: MR imaging features and distribution of cerebral white matter lesions. *Radiology*, 1992, 117-122.
117. Roohi F, Kula RW, Mehta N. Twenty-nine years after carbon monoxide intoxication. *Clin Neurol Neurosurg*, 2001, 92-95.
118. Ernst A, Zibrak JD. Carbon monoxide poisoning. *N Engl J Med*, 1998: 1603-1608.
119. Uemura K, Harada K, Sadamitsu D, Tsuruta R, Takahashi M, Aki T, Yasuhara M, Maekawa T, Yoshida K. Apoptotic and necrotic brain lesions in a fatal case of carbon monoxide poisoning. *Forensic Sci Int*. 2001, 213-219.
120. Sohn YH, Jeong Y, Kim HS, Im JH, Kim JS. The brain lesion responsible for parkinsonism after carbon monoxide poisoning. *Archives of Neurology*, 2000, 57(8), 1214-1218.
121. Schochet SS. Exogenous toxic-metabolic diseases including vitamin deficiency. *Textbook of neuropathology*. 1997.
122. Auer RN, Sutherland GR. Hypoxia and related conditions. *Greenfield's neuropathology*, 2002, 1, 233-80.
123. Porter SS, Hopkins RO, Weaver LK, Bigler ED, Blatter DD. Corpus callosum atrophy and neuropsychological outcome following carbon monoxide poisoning. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 2002, 195-204.
124. Cantürk N, Başbulut AZ, Cantürk G, Dağalp R. Ankara'da 2002-2006 yılları arasında karbonmonoksit zehirlenmeleri otopsi olgularının değerlendirilmesi. *Adli Tıp Dergisi*, 2008, 22(1), 25-30.
125. Kojima T, Yashiki M, Okamoto I, Noda J, Une I, Miyazaki T, Chikasue F. Postmortem formation of carbon monoxide in blood and body cavity fluids of rats drowned and kept immersed in fresh water. 1984, *Hiroshima journal of medical sciences*, 33(4), 591-594.
126. Kinoshita H, Türkan H, Vucinic S, Naqvi S, Bedair R, Rezaee R, Tsatsakis A. Carbon monoxide poisoning. *Toxicology Reports*, 2020, 7, 169-173.

127. Dun XP, Parkinson DB. Role of Netrin-1 Signaling in Nerve Regeneration. *International journal of molecular sciences*, 2017, 18(3), 491.
128. Ivelik K, Koylu R, Akinci E, Cander B, Dundar ZD, Koylu O, Gumus H. Determination of netrin-1 levels in patients that applied to emergency department with stroke and its effects on survival for 6 months. *Journal of Emergency Medicine*, 2014.
129. Mulero P, Córdova C, Hernández M, Martín R, Gutiérrez B, Muñoz JC, Redondo N, Gallardo I, Téllez N, Nieto ML. Netrin-1 and multiple sclerosis: a new biomarker for neuroinflammation? *Eur J Neurol*. 2017, 24(9):1108-1115.
130. Kizmaz M, Marakoğlu, Kiyıcı A, Ay E. Plasma netrin-1 levels significantly increase in smokers. *Clin Biochem*. 2016, 49(10-11):832-4.
131. Mutz C, Mirakaj V, Vagts DA, Westermann P., Waibler K., König K., Iber T., Nöldge Schomburg G., Rosenberger P. The neuronal guidance protein netrin-1 reduces alveolar inflammation in a porcine model of acute lung injury. *Critical care*, 2010, 14(5), R189.
132. Zheng ML, Ma Z, Wang LJ, Fan Y, Feng CA, Zhou JP, Li ZM, Liu CX. Lentivirus-mediated overexpression of netrin-1/DCC co-expression promotes axonal regeneration and functional recovery in spinal cord injury via the inhibition of the NgR1-RhoA-ROCK signaling pathway. *Translational Neuroscience*, 2025, 16(1).
133. Gedikli U, Emektar E, Corbacioglu SK, Dagar S., Uzunosmanoglu H, Ozdogan S, Cevik Y. Determination of netrin-1 levels and its relationship with neurotoxicity in carbon monoxide poisoning. *Hum Exp Toxicol*. 2019, 38(5):561-566.
134. Ruan Q. Neuropathological changes following carbon monoxide intoxication. *J Neurol Sci*. 2015, 349(1-2):149-156.
135. Slemko J. Postmortem findings in fatal carbon monoxide poisoning. *Am J Forensic Med Pathol*. 2006, 27(1):45-49.
136. de Miguel R, Vallejo R, Kegler K. Onset and progression of postmortem histological changes in the CNS of rat tissues. *Front Vet Sci*. 2024.
137. Boonmayaphan P, Masupa B. Postmortem macroscopic changes in rats under rat house conditions. *Journal Animal Science*. 2022, 15(1).
138. Smith J, Brown L. Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the postmortem interval: review. *Vet Pathol*. 2016, 236, 53(2):221.
139. Patel AP, John Moody A, Handy RD, Robert Sneyd J. Carbon monoxide exposure in rat heart: glutathione depletion is prevented by antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003, 302(2):392-6.
140. Akyol S, Erdogan S, Idiz N, Celik S, Kaya M, Ucar F, Dane S, Akyol O. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in carbon monoxide toxicity: an in-depth analysis. *Redox Rep*. 2014, 19(5):180-9.
141. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological Reviews*, 2014, 94(3), 909-950.
142. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: Role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2011, 15(6), 1583-1606.
143. Valk M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007, 39(1), 44-84.
144. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, 2009, 417(1), 1-13.
145. Perutz MF. Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin: haem-haem interaction and the problem of allostery. *Nature*, 1970, 228(5273), 726-734.

146. Henry ER, Mozzarelli A, Viappiani C, Bettati S, Eaton WA. Oxygen binding and allosteric control in hemoglobin: A model with shifting populations. *Biophys J*. 2021, 120(8):1450–64.
147. Piantadosi CA. Carbon monoxide poisoning. *New England Journal of Medicine*, 2002, 347(14), 1054–1055.
148. Sies H. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 2015, 4, 180–183.
149. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci*. 2004, 61(2):192-208.
150. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014(1), 360438.
151. Brand MD. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 2016, 100, 14–31.
152. Thom SR, Kang M, Fisher D, Ischiropoulos H. Release of glutathione from erythrocytes and other markers of oxidative stress in carbon monoxide poisoning. *J Appl Physiol*, 1997, 82(5):1424-32.
153. Zuckerbraun BS. Carbon monoxide-induced mitochondrial ROS generation mediates cellular signaling. *J Biol Chem*, 2007, 282(30), 21369–21378.
154. Szabo C. Carbon monoxide: a pleiotropic redox modulator of cell death and survival. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44(2), 209–221.
155. Choi JH. Antioxidant enzymes in ischemic brain injury: role of catalase and superoxide dismutase. *J Neurosci Res*. 2010, 88(5):961-969.
156. Zhang J, Piantadosi CA. Mitochondrial oxidative stress after carbon monoxide hypoxia in the rat brain. *J Clin Invest*. 1992, 90(4):1193-9.
157. Meyer G, André L, Tanguy S, Boissiere J, Farah C, Lopez-Lauri F, Gayraud S, Richard S, Boucher F, Cazorla O, Obert P, Reboul C. Simulated urban carbon monoxide air pollution exacerbates rat heart ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2010, 298(5).
158. Doğan G, Kayır S, Ayaz E, Özcan O, Ekici A. Curcumin as a Potential Therapeutic Agent for Mitigating Carbon Monoxide Poisoning: Evidence from an Experimental Rat Study. *Med Sci Monit*. 2024, 19.
159. Erdoğan H, The effect of carbon monoxide poisoning on oxidative stress in rat brain. *Neurochem Res*. 2006, 31(5):579-583.
160. Thom SR, Bhopale VM, Fisher D, Zhang J, Gimotty P. Delayed neuropathology after carbon monoxide poisoning is immune-mediated. *Proc Natl Acad Sci*, 2004, 101(37):13660–13665.
161. Yurtseven A. Effects of carbon monoxide on antioxidant enzymes in rat tissues. *Toxicology*. 2006, 219(1-3):1-7.
162. Dickinson DA, Forman HJ. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol*. 2002, 64(5-6):1019-1026.
163. Chan PH. Role of glutathione in neuronal survival after hypoxic-ischemic injury. *Ann Neurol*. 2010, 68(3):377-386.
164. Lee CH. Antioxidant response after carbon monoxide poisoning in mice. *Free Radic Biol Med*. 2012, 53(5):991-1002.
165. Wang Y. Oxidative stress in acute carbon monoxide poisoning rats. *Hum Exp Toxicol*. 2014, 33(5):518-29.
166. Klys M. Postmortem changes in oxidative stress biomarkers. *Forensic Sci Int*. 2013, 226(1-3):38-44.

167. Huang CC. Oxidative stress and apoptosis in carbon monoxide intoxication. *Neurotoxicology*. 2010, 31(6):626-32.
168. Yıldız L, Kayaoğlu N, Aksoy H. The changes of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes of active and passive smokers. 2002.
169. Okşak N, Karakılıç AZ. Pasif sigara içimine maruz kalan pnömonili çocuklarda antioksidan enzim aktiviteleri, kapiller kan oksijen saturasyonu ve laktik asit değerleri. *Genel Tıp Dergisi*, 2018, 28(1), 1-5.
170. Prockop LD, Chichkova RI. Carbon monoxide intoxication: an updated review. *J Neurol Sci*. 2007, 262(1-2):122-30.
171. Mehlen P, Mazelin L. Netrin-1 and DCC: dependence receptors and cancer. *Cell Death Differ*. 2003 ve 10(1):103-112.
172. Zengin EN, Kayir S, Dogan G, et al. Neuroprotective effects of amantadine for experimental acute carbon monoxide poisoning. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022;26(19):6919–27
173. Kokulu K, Mutlu H, Sert ET. Serum netrin-1 levels at presentation and delayed neurological sequelae in unintentional carbon monoxide poisoning. *Clin Toxicol (Phila)*. 2020, 58(12):1313-1319.
174. Xie H. Netrin-1 protects against ischemic brain injury via suppression of apoptosis and inflammation. *Brain Res*. 2017, 1668:21-28.
175. Tang S. Netrin-1 attenuates neuroinflammation and promotes functional recovery after experimental stroke in rats. *Brain Behav Immun*. 2017, 64:212-223.
176. Nguyen A, Cai H. Netrin-1 induces angiogenesis via a DCC-dependent ERK1/2-eNOS feed-forward mechanism. *Proc Natl Acad Sci*. 2006, 103(17):6530-6535.
177. Ziegler L, Schlegel M. Netrin-1: A Modulator of Macrophage Driven Acute and Chronic Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2021, 23(1):275.
178. Furtado J, Geraldo LH, Leser FS, Bartkowiak B, Poulet M, Park H, Robinson M, Pibouin Fragner L, Eichmann A, Boyé K. Interplay between Netrin-1 and Norrin controls arteriovenous zonation of blood-retina barrier integrity. *Proc Natl Acad Sci*, 2024.
179. Xia X, Hu Z, Wang S, Yin K. Netrin-1: An emerging player in inflammatory diseases. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2022, 64:46-56.
180. Dogruyol S, Akbas I, Tekin E, Dogruyol MT. Carbon monoxide intoxication in geriatric patients: How important are lactate values at admission? *Hum Exp Toxicol*. 2020;39(6):848–54
181. Metwally E, Hassan O, Madboly A. Serum Netrin-1 and Asymmetric Dimethylarginine as Biomarkers of Acute and Chronic Carbon Monoxide Poisoning. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 2021, 29(1), 1-16.