

SIÇANLARDA DOKU ELEMENT SEVİYELERİ VE POSTMORTEM İNTERVAL

Kamil Hakan DOĞAN, Gürsel GÜNAYDIN, Şerafettin DEMİRCİ

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı, KONYA

ÖZET

Amaç: Bu deneysel çalışmanın amacı, farklı dokulardaki element seviyelerinin postmortem süreç ile ilişkisini ve postmortem interval saptanmasındaki kullanılabilirliğini araştırmaktır. **Gereç ve yöntem:** Bu amaçla, 52 adet üç aylık Sprague-Dawley cinsi erkek sıçana servikal dislokasyon uygulandıktan sonra 4'ü hemen diseke edildi. Diğer 48 sıçan ise, cesedin kaldığı ortam ısısının doku element seviyelerine etkisinin araştırılması amacıyla iki gruba ayrıldı. Gruplardan biri 4 °C'de, diğeri 18±2 °C'de bekletildi. Daha sonra her iki ısıda bekletilen sıçanlardan; 6., 12., 24., 48., 72. ve 96. saatlerde 4'er sıçan diseke edildi. Her sıçandan beyin, miyokard, karaciğer, böbrek ve iskelet kası örnekleri alındı. Örnekler, mikrodalga yakma yöntemiyle analize hazır hale getirilerek, ICP-AES cihazında element düzeyleri ölçüldü. Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S ve Zn elementlerine ait değerler, istatistiksel olarak Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney testleri ile değerlendirildi. **Bulgular:** Tüm dokularda, her iki ısıdaki bulgular ortak olarak değerlendirildiğinde; Fe, K, Na, Ca ve Cu'nun birden çok dokuda 4 °C ve 18±2 °C'lerde anlamlı değişim gösterdiği saptandı. **Sonuç:** Postmortem interval saptanmasında doku element seviyelerinin güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilirliğinin, daha geniş serilerde yapılacak deneysel çalışmalar ve otopsi materyalinde yapılacak analizler ile ortaya çıkartılması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Adli tıp, ölüm, elementler, element analizi, postmortem interval

Selçuk Tıp Derg 2007; 23: 57-67

SUMMARY

Tissue element levels in rats and postmortem interval

Aim: The aim of this experimental study is to determine the relationship of the element levels in different tissues and the postmortem process and the reliability of this relationship in the determination of postmortem interval. **Material and method:** For this purpose, 52 three-month-old male Sprague-Dawley rats were sacrificed by cervical dislocation and four of them were separated for dissection. On the other hand, remaining 48 rats were divided into two groups for the purpose of investigating surrounding temperature the corps existed to the tissue element levels. One of the groups was kept at 4 °C and the other at 18±2 °C. Just after sacrifice, separated four rats were dissected. Then the dissection was made at 6., 12., 24., 48., 72. and 96. hours four rats each among the groups kept in both temperatures. Brain, myocardium, liver, kidney and skeletal muscle samples

Haberleşme Adresi : **Dr. Kamil Hakan DOĞAN**

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Adli Tıp AD, KONYA

e-posta: doktor2000@e-kolay.net

Geliş Tarihi: 27.10.2006

Yayına Kabul Tarihi: 29.12.2006

were taken from each rat. Element levels were determined by ICP-AES in the samples which were prepared for analysing with microwave digestion method. The values acquired for Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S and Zn were statistically evaluated by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. **Results:** When the findings of both temperatures were evaluated together in all tissues, it was determined that Fe, K, Na, Ca and Cu showed significant changes in more than one tissue at 4 °C and 18±2 °C. **Conclusion:** It was concluded that, the availability of tissue element levels as a reliable method in the determination of postmortem interval needs to be revealed by experimental studies that will be done on wider series and the analyses on the autopsy material.

Key words: Forensic medicine, death, elements, elemental analysis, postmortem interval

Ölüm zamanının saptanması, adli tıpta özellikle kuşkulu ve doğal olmayan ölümlerde önem taşımaktadır. Adli makamlarca ölüm zamanı; pek çok adli ölüm olayında önem kazanmakta ve hekimden olabildiğince kesin ve dar bir zaman dilimi belirlenmesi istenmektedir. Ancak, bilim ve teknolojiye tüm gelişmelere rağmen, hala ölümden sonra geçen süreyi tam olarak tespit etmeye yarayan bir yöntem geliştirilememiştir.

Ölüm zamanı belirlenmesinde kullanılan kimyasal yöntemler bazı prensiplere dayanır. Bunlardan biri, Fick yasasına göre ölümden sonra hücre membranlarında meydana gelen otoliz sonucu, doku ve organlar arasındaki difüzyon farkı nedeniyle sıvı ve elektrolit geçişidir (1). Otoliz, bakterilerin katılımı olmaksızın, postmortem fermentatif olayları içerir (2). Ölümden yaklaşık 4 dakika sonra başlar. Vücudumuzdaki hücreler oksijenden mahrum kalınca, kandaki karbondioksit miktarı artar, pH düşer, artık maddeler artar ve bunlar da hücreyi zedeler. Hücresel enzimler (lipazlar, proteazlar, amilazlar vs) hücreyi iyice eritirler ve hücreden dışarı besin değeri yüksek sıvılar açığa çıkar (3). Otoliz, kimyasal enzimatik bir süreç olduğu için, ısının artışı ile hızlanır, ısının azalması ile yavaşlar ve dondurma ya da enzimlerin inaktivasyonu ile durur (4).

Postmortem otoliz ve sonrasında gelişen pütrefaksiyon sonucu, doku ve organ bütünlüklerinin bozulmasıyla, önce intrasölüler ve ekstrasölüler alanlar arasında, ardından farklı dokular arasında sıvı ve element geçişleri meydana gelir. Bu değişimler, otoliz ve pütrefaksiyonu hızlandıran; ortam ısısı, nem ve

bakteri konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilirlir.

Bu çalışmada, sıçanlarda farklı dokulardaki element seviyelerinin postmortem süreç ile ilişkisi incelenmiş ve ölüm zamanının saptanmasındaki kullanılabilirliği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Deney hayvanı olarak, biyomedikal araştırmalarda kullanılan başlıca tür olması, boyutlarının küçüklüğü ve bakımının kolaylığı nedeniyle sıçan tercih edildi. Bu amaçla, Selçuk Üniversitesi Deneyel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (SÜDAM)'nde, SÜDAM tarafından hazırlanmış standart sıçan pellet yemi ve çeşme suyu ile ad libitum beslenen 52 adet, ortalama ağırlıkları 210±10 gr olan, üç aylık Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Sıçanlara, uygun yöntemle servikal dislokasyon işlemi yapıldı (5). Servikal dislokasyon uygulanan sıçanlardan 4'ü hemen (0. saat) di-seke edildi. Diğer 48 sıçan ise, cesedin kaldığı ortam ısısının doku element seviyelerine etkisinin araştırılması amacıyla iki gruba ayrıldı. Birinci grup buzdolabında (4 °C), ikinci grup ise oda sıcaklığında (18±2 °C) bekletildi.

Doku Örneklerinin Alınması

6., 12., 24., 48., 72. ve 96. saatlerde, her iki ısıda bekletilen sıçan gruplarından 4'er adetine diseksiyon uygulandı. Sağ beyin hemisferinin tamamı, kalbin sağ ve sol ventrikülleri ile interventriküler septumu içine alan bölümü, karaciğerin median (önde olması ve boyutu-

Tablo 1. Standart referans madde analiz sonuçları (SRM-NIST 1577b sığır karaciğeri)

Element	ICP-AES Dalga boyu (nm)	A Ortalama ölçüm değeri (µg/g) (n=10)	B Sertifikalı içerik (µg/g)	(A/B) x 100
Ca	396.847	113	116	97
Cu	327.395	158	160	98
Fe	238.204	192	184	104
K	766.491	9495	9940	96
Mg	279.553	605	601	101
Na	589.592	2340	2420	97
P	213.618	10864	11000	99
S	181.972	7510	7850	96
Zn	213.857	131	127	103

nun büyüklüğü nedeniyle) lobu, sol böbreğin tamamı ve sağ uyluk ön ve iç kısımdaki kaslardan örnekler alındı.

Tüm örneklerin yaklaşık 0.4-0.6 gr olmaları için, örnekler hassas terazi ile tartıldı. Biyolojik örneklerde element seviyeleri ile ilgili yapılan çalışmalarda belirtildiği şekilde, alınan örnekler, daha önceden %10'luk HNO₃'te en az 24 saat bekletilmiş ve distile su ile yıkanmış polipropilen 10 ml'lik dibi konik kapaklı tüplere konuldu ve numaralandı (6,7). Örnekler, analiz edilinceye kadar -20 °C'de saklandı. Bekleme süreleri bir ayı geçmedi.

Örneklerin Analiz İçin Hazırlanması

ICP-AES cihazında yapılacak analiz için, örneklerin içerisinde tortu bulunmayan berrak bir solüsyon haline getirilmesi gerektiğinden, insan, sığır ve sıçan dokularında element analizi ile ilgili yapılan çalışmalarda önerilen "basınçlı mikrodalga fırın ile yaş yakma yöntemi" tercih edildi (8-12). Örnekler tartılarak, XP-1500 Tetraflorometaksil (TFM®, Hoechst) tüplere (CEM Corporation, ABD) yerleştirildi. Her bir tüp içerisine 10 ml %65'lik HNO₃ eklendi. Basınçlı mikrodalga fırın yöntemiyle yakma işlemi (Mars 5, CEM Corporation, ABD), 150 psi basınç ve 180 °C sıcaklıkta yapıldı. İstenilen basınç ve sıcaklığa ulaşıncaya, 10 dakika bu aşamada tutuldu ve ardından soğutma işlemi yapıldı. Tüpler soğuduktan sonra açılarak, içerikleri daha önceden %10'luk HNO₃ ve distile suyla yıkanmış 25

ml'lik balon jojelere aktarıldı. Örnekler, rezistansı 18 Ωcm⁻¹ olan deiyonize su (P.Nix UP 900, Human Corporation, Korea) ile 25 ml'ye tamamlandı.

Balon jojeler 10 dakika çalkalanarak, içeriğinin homojenize olması sağlandı. Daha sonra bu sıvı, daha önceden %10'luk HNO₃'te en az 24 saat bekletilmiş ve distile su ile yıkanmış polipropilen 10 ml'lik dibi konik kapaklı tüplere konuldu ve numaralandı.

Tüm bu örnek hazırlama süreci, analizlerin doğruluğunu test etmek amacıyla standart referans madde (SRM) olarak kullanılan, NIST 1577b (National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg, Maryland, ABD) sığır karaciğeri için de uygulandı. Her biri en az 250 mg olmak üzere, toplam 10 örnek, mikrodalga yöntemiyle aynı şekilde yakılarak analiz için hazır hale getirildi.

ICP-AES Cihazı İle Doku Element Seviyeleri Analizi

ICP-AES (Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry = indüktif eşleşmeli plazma-atomik emisyon spektrometresi) hızlı, hassas, ucuz maliyetli ve aynı anda çok sayıda element analizi yapabilen bir cihaz olması nedeniyle tercih edildi (13,14). Analize başlanmadan önce, ICP-AES cihazı, tekli ve çoklu element solüsyonları (Merck, Darmstadt, Almanya) ile kalibre edildi. Analiz için hazır hale getirilmiş olan örneklerde Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S ve Zn elementlerinin düzeyleri,

Tablo 2. Ölüm sonrası 4 °C ve 18±2 °C’de bekletilen sıçanlarda ortalama beyin element seviyeleri (µg/g, her grupta n=4)

	Isı	Saat							P
		0	6	12	24	48	72	96	
Ca	4 °C	127.2	91.9	132.3	86.9	133.7	78.9	133.4	a.d.
	18±2 °C	127.2	73.8	140.3	213.7	108.1	117.9	164.6	a.d.
Cu	4 °C	3.06	2.46	1.60	2.69	3.63	3.49	3.74	<0.05
	18±2 °C	3.06	1.79	2.99	2.68	3.23	3.53	3.29	a.d.
Fe	4 °C	18.6	17.0	19.4	21.6	39.9	42.7	41.6	<0.05
	18±2 °C	18.6	24.2	18.7	35.8	38.6	46.0	45.7	<0.05
K	4 °C	4155	3900	3629	3810	3640	3423	3344	<0.05
	18±2 °C	4155	3823	3648	3651	3297	3044	2855	<0.05
Mg	4 °C	200	207	201	189	192	194	182	<0.05
	18±2 °C	200	191	185	194	182	183	181	<0.05
Na	4 °C	1178	862	906	1108	1145	1157	1145	a.d.
	18±2 °C	1178	1056	1020	1227	1134	1276	1311	<0.05
P	4 °C	3249	2408	2847	3254	3160	3210	3171	a.d.
	18±2 °C	3249	3203	3072	3497	2886	2953	2893	<0.05
S	4 °C	1792	1952	1587	1788	1868	1883	1723	a.d.
	18±2 °C	1792	1827	1726	1931	2106	1782	1919	a.d.
Zn	4 °C	21.3	20.1	14.0	18.8	15.9	15.2	14.8	a.d.
	18±2 °C	21.3	15.8	17.3	15.5	15.1	16.0	16.3	a.d.

a.d.=anlamli değil

ICP-AES cihazı (Vista AX, Varian Inc., Avustralya) ile ölçüldü ve µg/g cinsinden element seviyeleri tespit edildi.

İstatistiksel Analiz

ICP-AES analizi sonucu elde edilen değerlere, her bir ısı grubu kendi içinde olmak üzere, önce non-parametrik çok sayıda bağımsız evren arasındaki farkları test etmeye yarayan Kruskal-Wallis testi uygulandı. Kruskal-Wallis testi yapıldığında, bir element için $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ise, bağımsız iki evren arasındaki farkları test etmeye yarayan Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi uygulandı.

BULGULAR

Doku element seviyelerini ölçtüğümüz ICP-AES cihazının güvenilirliğini belirlemek için kullandığımız standart referans madde (SRM-NIST 1577b sığır karaciğeri) analiz sonuçları ile SRM sertifikasında yer alan değerler Tablo 1’de verilmiştir. Elde ettiğimiz ortalama değerlerin, sertifikalı içerik değerleri ile $\pm\%4$ ’lük

bir hata payı ile uyumlu olduğu görülmektedir.

ICP-AES cihazında yapılan analizler sonucunda, beyin dokusu örneklerinden elde edilen değerler tablo 2’de, miyokard dokusundan elde edilen değerler tablo 3’te, karaciğer dokusundan elde edilen değerler tablo 4’te, böbrek dokusundan elde edilen değerler tablo 5’te, iskelet kasından elde edilen değerler tablo 6’da verilmiştir.

Analizi yapılan dokuz elementten, doku seviyeleri her iki ısı koşulunda ve daha güvenilir olması açısından en az iki dokuda istatistiksel olarak anlamlı değişim gösteren elementlerin postmortem interval (PMI) tayini için kullanılabileceği düşünüldü. Elde edilen veriler ortak olarak değerlendirildiğinde; Fe, Na, K, Ca ve Cu’nin birden çok dokuda 4 °C ve 18±2 °C’lerde anlamlı değişim gösterdiği saptandı.

Demir

Beyin: 4 °C’de 48, 72 ve 96. saatlerde; 0, 6, 12 ve 24. saatlere göre arttığı, 18±2 °C’de 24,

Tablo 3. Ölüm sonrası 4 °C ve 18±2 °C’de bekletilen sıçanlarda ortalama miyokard element seviyeleri (µg/g, her grupta n=4)

	Isı	Saat							P
		0	6	12	24	48	72	96	
Ca	4 °C	59.5	42.2	38.5	68.4	66.4	74.4	70.6	<0.05
	18±2 °C	59.5	43.5	52.7	59.7	61.1	71.8	102.7	<0.05
Cu	4 °C	8.66	7.89	10.03	9.17	5.89	6.16	5.70	<0.05
	18±2 °C	8.66	8.89	9.90	6.51	6.17	5.85	6.59	<0.05
Fe	4 °C	95.3	46.6	71.0	69.2	90.6	91.8	94.9	<0.05
	18±2 °C	95.3	74.1	83.4	92.6	98.2	89.8	105.4	a.d.
K	4 °C	3347	2771	2992	2902	2959	2973	2673	<0.05
	18±2 °C	3347	3056	2956	3139	2841	3065	3092	a.d.
Mg	4 °C	249	231	239	242	231	237	221	a.d.
	18±2 °C	249	238	240	240	221	231	216	<0.05
Na	4 °C	1027	837	1044	1117	1193	1201	1365	<0.05
	18±2 °C	1027	1000	1069	1279	1100	1187	1165	<0.05
P	4 °C	2335	2111	2349	2362	2268	2307	2205	a.d.
	18±2 °C	2335	2314	2302	2416	2221	2289	2203	a.d.
S	4 °C	3133	2949	3114	3176	3071	2930	2779	<0.05
	18±2 °C	3133	3164	3042	3032	3047	2866	2706	<0.05
Zn	4 °C	22.2	16.4	35.5	23.8	21.6	20.1	20.0	a.d.
	18±2 °C	22.2	24.1	20.0	20.7	19.2	23.3	19.7	a.d.

a.d.=anlamli değil

Tablo 4. Ölüm sonrası 4 °C ve 18±2 °C’de bekletilen sıçanlarda ortalama karaciğer element seviyeleri (µg/g, her grupta n=4)

	Isı	Saat							P
		0	6	12	24	48	72	96	
Ca	4 °C	62.5	62.6	53.9	68.9	69.6	80.8	75.0	<0.05
	18±2 °C	62.5	50.9	71.2	77.2	76.7	97.7	126.1	<0.05
Cu	4 °C	4.58	3.64	5.45	3.51	5.58	5.72	4.86	a.d.
	18±2 °C	4.58	4.98	4.61	4.03	4.82	4.95	5.35	a.d.
Fe	4 °C	122.4	131.0	184.9	163.0	189.8	172.4	219.7	<0.05
	18±2 °C	122.4	201.8	145.3	155.7	164.4	149.1	153.5	<0.05
K	4 °C	3461	2952	3036	2856	2759	2787	2857	<0.05
	18±2 °C	3461	3240	2834	2923	2735	2878	2942	<0.05
Mg	4 °C	212	216	219	217	203	218	222	a.d.
	18±2 °C	212	217	217	214	204	223	232	<0.05
Na	4 °C	836	1029	903	961	940	928	979	a.d.
	18±2 °C	836	844	1006	1011	905	966	983	<0.05
P	4 °C	2842	2805	2773	2666	2519	2730	2910	a.d.
	18±2 °C	2842	2953	2728	2666	2587	2893	2872	a.d.
S	4 °C	2485	2364	2613	2421	2374	2421	2554	a.d.
	18±2 °C	2485	2814	2371	2289	2375	2442	2338	a.d.
Zn	4 °C	29.0	26.0	27.0	25.3	22.6	24.4	27.6	a.d.
	18±2 °C	29.0	34.8	24.2	27.5	23.9	25.5	27.1	a.d.

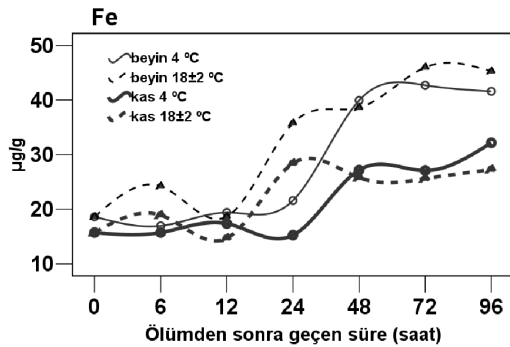
a.d.=anlamli değil

Tablo 5. Ölüm sonrası 4 °C ve 18±2 °C'de bekletilen sıçanlarda ortalama böbrek element seviyeleri (µg/g, her grupta n=4)

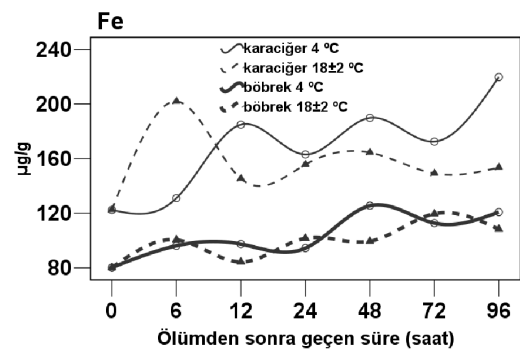
	İsi	Saat							P
		0	6	12	24	48	72	96	
Ca	4 °C	83.0	83.3	72.5	88.9	109.4	117.5	101.0	a.d.
	18±2 °C	83.0	65.0	92.6	94.1	143.8	204.0	186.5	<0.05
Cu	4 °C	13.06	11.57	14.51	12.42	7.30	7.70	7.21	<0.05
	18±2 °C	13.06	12.76	11.69	4.87	6.99	7.27	5.89	<0.05
Fe	4 °C	80.1	96.1	97.3	94.4	125.5	112.7	120.8	<0.05
	18±2 °C	80.2	100.0	84.1	101.0	99.0	119.0	108.0	<0.05
K	4 °C	2943	2675	2716	2775	2691	2845	2932	<0.05
	18±2 °C	2943	2750	2723	2895	2785	2881	3090	a.d.
Mg	4 °C	227	222	214	219	230	240	229	a.d.
	18±2 °C	227	218	222	225	258	290	265	<0.05
Na	4 °C	1649	1463	1414	1429	1131	1160	1274	<0.05
	18±2 °C	1649	1538	1397	1394	1109	1118	1082	<0.05
P	4 °C	2698	2725	2641	2586	2425	2658	2695	a.d.
	18±2 °C	2698	2804	2659	2665	2616	2663	2787	a.d.
S	4 °C	2387	2475	2350	2351	2244	2351	2360	a.d.
	18±2 °C	2387	2522	2357	2461	2301	2183	2244	<0.05
Zn	4 °C	26.0	21.6	32.9	21.6	20.8	23.1	22.9	a.d.
	18±2 °C	26.0	28.6	22.7	21.0	23.7	20.6	23.5	a.d.

a.d.=anlamlı değil

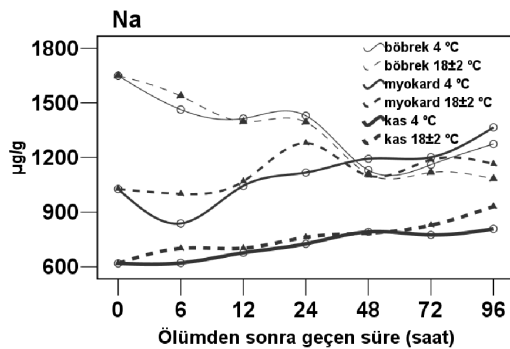
Şekil 1. Beyin ve iskelet kasında 4 °C ve 18±2 °C'lerde ortalama Fe değişimleri



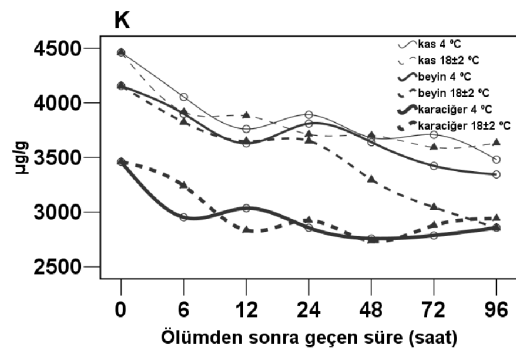
Şekil 2. Karaciğer ve böbrekte 4 °C ve 18±2 °C'lerde ortalama Fe değişimleri



Şekil 3. Miyokard, böbrek ve iskelet kasında 4 °C ve 18±2 °C'lerde ortalama Na değişimleri



Şekil 4. Beyin, karaciğer ve iskelet kasında 4 °C ve 18±2 °C'lerde ortalama K değişimleri



Tablo 6. Ölüm sonrası 4 °C ve 18±2 °C’de bekletilen sıçanlarda ortalama iskelet kası element seviyeleri (µg/g, her grupta n=4)

	Isı	Saat							P
		0	6	12	24	48	72	96	
Ca	4 °C	76.9	59.2	64.6	60.1	94.9	67.3	62.9	a.d.
	18±2 °C	76.9	69.9	63.2	77.3	63.9	67.6	76.5	a.d.
Cu	4 °C	0.56	0.69	0.14	0.39	0.99	1.03	0.55	a.d.
	18±2 °C	0.56	0.63	0.31	0.83	1.02	1.00	1.12	a.d.
Fe	4 °C	15.7	15.7	17.4	15.2	27.2	27.1	32.2	<0.05
	18±2 °C	15.2	18.9	14.7	28.4	25.8	25.6	27.3	<0.05
K	4 °C	4461	4054	3761	3891	3682	3708	3481	<0.05
	18±2 °C	4461	3916	3881	3712	3702	3593	3632	<0.05
Mg	4 °C	316	262	293	297	263	296	290	a.d.
	18±2 °C	316	317	299	297	292	303	307	a.d.
Na	4 °C	618.4	620.6	676.7	725.8	791.7	775.0	808.1	<0.05
	18±2 °C	618.4	700.6	701.8	761.9	784.8	827.9	930.8	<0.05
P	4 °C	2317	2068	2137	2173	2081	2123	2073	a.d.
	18±2 °C	2317	2278	2166	2095	2173	2135	2091	a.d.
S	4 °C	2687	2418	2586	2642	2361	2586	2584	a.d.
	18±2 °C	2687	2789	2630	2573	2651	2600	2606	a.d.
Zn	4 °C	15.5	13.1	13.0	12.2	15.0	13.1	14.1	a.d.
	18±2 °C	15.5	19.4	14.5	13.1	13.7	12.9	13.9	a.d.

a.d.=anlamli değil

48, 72 ve 96. saatlerde; 0, 6 ve 12. saatlere göre arttığı tespit edildi (Tablo 2, Şekil 1).

İskelet kası: 4 °C’de 48 ve 72. saatlerde; 0 ve 6. saatlere göre, 96. saatte; 0, 6, 12 ve 24. saatlere göre arttığı, 18±2 °C’de 24, 48, 72 ve 96. saatlerde; 0, 6 ve 12. saatlere göre arttığı tespit edildi (Tablo 6, Şekil 1).

Karaciğer: 4 °C’de 48. saatte; 0. saate göre, 96. saatte; 0 ve 6. saatlere göre arttığı, 18±2 °C’de 6. saatte; 0. saate göre arttığı, 12 ve 24. saatlerde; 6. saate göre azaldığı tespit edildi (Tablo 4, Şekil 2).

Böbrek: 4 °C’de 48. saatte; 0, 6, 12 ve 24. saatlere göre, 72 saatte; 0. saate göre, 96. saatte; 0, 6 ve 24. saatlere göre arttığı, 18±2 °C’de 24, 72 ve 96. saatlerde; 0 ve 12. saate göre arttığı tespit edildi (Tablo 5, Şekil 2).

Sodyum

Miyokard: 4 °C’de 96. saatte; 0. saate göre, 48, 72 ve 96. saatlerde; 6. saate göre, 48 ve

96. saatlerde; 12. saate göre arttığı, 18±2 °C’de 24. saatte; 6 ve 12. saatlere göre arttığı tespit edildi (Tablo 3, Şekil 3).

Böbrek: 4 °C’de 48 ve 72. saatlerde; 0, 6, 12 ve 24. saatlere göre, 96. saatte; 0 ve 6. saatlere göre azaldığı, 18±2 °C’de 48, 72 ve 96. saatlerde; 0, 6, 12 ve 24. saatlere göre azaldığı tespit edildi (Tablo 5, Şekil 3).

İskelet kası: 4 °C’de 48 ve 96. saatlerde; 0, 6 ve 12. saatlere göre arttığı, 18±2 °C’de 48. saatte; 0 ve 12. saate göre, 72. saatte; 0, 6 ve 12. saatlere göre, 96. saatte; 0, 6, 12 ve 24. saatlere göre arttığı tespit edildi (Tablo 6, Şekil 3).

Potasyum

Beyin: 4 °C’de 48 ve 72. saatlerde; 0, 6 ve 24. saatlere göre, 12. saatte; 0 ve 6. saatlere göre, 96. saatte; 0, 6, 24 ve 48. saatlere göre azaldığı, 18±2 °C’de 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde; 0. saate göre, 48, 72 ve 96. saatlerde; 6, 12 ve 24. saatlere göre azal-

diği tespit edildi (Tablo 6, Şekil 4).

İskelet kası: 4 °C'de 12 ve 24. saatlerde; 0. saate göre, 48 ve 72. saatlerde; 0 ve 6. saatlere göre, 96. saatte; 0, 6, 12 ve 24 saatlere göre azaldığı, 18±2 °C'de 12. saatte; 0. saate göre, 24. saatte; 0 ve 12. saate göre, 48. saatte; 0. saate göre, 72. saatte; 6. saate göre, 96. saatte; 0 ve 6. saatlere göre azaldığı tespit edildi (Tablo 2, Şekil 4).

Kalsiyum

Miyokard: 4 °C'de 6 ve 12. saatlerde; 0. saate göre azaldığı, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde; 6 ve 12. saatlere göre arttığı, 18±2 °C'de 6. saatte; 0. saate göre azaldığı, 96. saatte; 0, 24 ve 48. saatlere göre, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde; 6 ve 12. saate göre arttığı tespit edildi (Tablo 3, Şekil 5).

Karaciğer: 4 °C'de 72 ve 96. saatlerde; 0 ve 6. saatlere göre, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde; 12. saate göre arttığı, 18±2 °C'de 96. saatte; 0, 6, 12 ve 24. saatlere göre, 72. saatte; 0 ve 6. saatlere göre, 24 ve 48. saatlerde; 6. saate göre arttığı dokularında arttığı tespit edildi (Tablo 4, Şekil 5).

Bakır

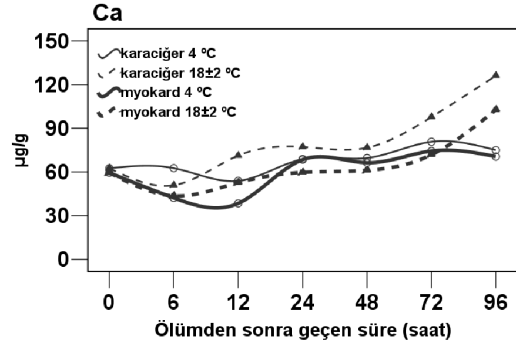
Miyokard: 4 °C'de 48. ve 72. saatlerde; 12 ve 24. saatlere göre, 96. saatte; 0, 12 ve 24. saatlere göre azaldığı, 18±2 °C'de 48 ve 72. saatlerde; 6 ve 12. saatlere göre, 24. saatte; 12. saate göre azaldığı tespit edildi (Tablo 3, Şekil 6).

Böbrek: 4 °C'de 72. saatte; 12. saate göre, 96. saatte; 0 ve 12. saate göre azaldığı, 18±2 °C'de 24, 48, 72 ve 96. saatlerde; 0, 6 ve 12. saatlere göre azaldığı tespit edildi (Tablo 5, Şekil 6).

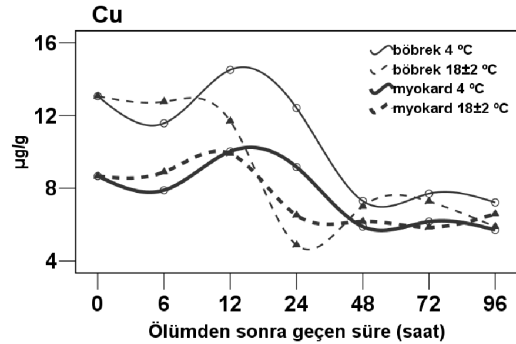
TARTIŞMA

Ölümden sonra geçen zamanın saptanması için bugüne kadar geliştirilmiş olan yöntemlerden hiçbirisi, kesin sonuç vermemektedir. Bu yüzden, ölüm zamanı saptanmasında birkaç yöntem birarada kullanılarak, güvenilirliğin artırılmasına çalışılmaktadır.

Şekil 5. Miyokard, böbrek ve iskelet kasında 4 °C ve 18±2 °C'lerde ortalama Na değişimleri



Şekil 6. Beyin, karaciğer ve iskelet kasında 4 °C ve 18±2 °C'lerde ortalama K değişimleri



Ölüm zamanı saptanmasında, teknolojinin ilerlemesine bağlı olarak gelişen farklı analiz yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar yapılmaktadır. Bunların başında; vitröz sıvı (15-17), beyin omurilik sıvısı (18,19), kan (17,20), perikardiyal sıvı (21), sinovyal sıvı (22) ve gözyaşı sıvısı (23) gibi vücut sıvılarındaki kimyasal analizler gelmektedir.

Vücut sıvıları dışında, doku ve organlarda ise, karaciğerde; laktat ve malat dehidrogenaz enzim düzeyleri (24), beyin, akciğer, kalp, karaciğer ve böbrek örneklerinde; vasküler endotelial büyüme faktörü düzeyleri (25), kalpte; Troponin I düzeyleri (26), kasta; kreatinin konsantrasyonu (27,28), akciğer ve kas dokusunda; kalmodulin bağlayıcı protein değişimleri (29) postmortem interval saptanması amacıyla incelenmiştir.

Yukarıda bahsedilen yöntemlerden; vitröz sıvı, beyin omurilik sıvısı, kan, perikardiyal sıvı

ve sinovyal sıvı gibi vücut sıvılarının kullanıldığı çalışmalarda, element seviyelerindeki değişimler geniş yer tutmaktadır. Ancak yapılan literatür taramasında; PMI saptanmasına yönelik, doku element seviyelerinin ölçülmesine dayalı, deneysel ya da otopsi vakaları üzerinde yapılmış bir çalışmaya rastlanılmadı. Bu durum, çalışmamızdan elde ettiğimiz bulguları değerlendirmemizi güçleştirdi.

Sadece Iyengar (30), doku element seviyelerindeki biyolojik varyasyonların araştırılması amacıyla otopside alınan örneklerde, postmortem element değişimlerini araştırmak için bir çalışma yapmıştır. Yaptığı çalışmada, farklı ısılarda 1-3 gün beklettiği sıçanlardan aldığı karaciğer örneklerinde, postmortem element seviyelerindeki değişimleri karşılaştırmıştır. Çalışmasında, 1. günden sonra bazı elementlerin konsantrasyonlarında değişim olduğunu, ancak bu durumun cesedin soğukta saklanmasıyla azalabileceğini, soğukta saklamanın postmortem olayları durdurmadığını, sadece yavaşlattığını belirtmiştir. Yaptığımız çalışmada, 4 °C'de bekletilen sıçanların doku element seviyelerinde, postmortem intervalin artması ile anlamlı değişimler görülmesi, Iyengar'ın bulgularıyla uyumludur.

Yine aynı çalışmada (30), 25-28 °C'de bekletilen sıçanların karaciğerlerinde, Ca'un 1. günde artma, 2. günde hafif azalma, 3. günde artış gösterdiği, total potasyumun 1 ve 2. günlerde azalma, 3. günde artış gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmamızda, 18±2 °C'de bekletilen sıçanların karaciğerlerinde Ca seviyelerindeki değişim (Şekil 5) ile 4 °C ve 18±2 °C'lerde bekletilen sıçan karaciğerlerinde elde ettiğimiz ortalama potasyum değerlerindeki değişimler Iyengar'ın çalışması ile uyumludur (Şekil 4).

Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn ve Al'un beyinde dağılımlarının homojen olmadığı belirtilmiştir (6). Cockell ve ark. (31) ise, sıçan karaciğerlerinde yaptıkları analizlerde, karaciğerin farklı bölgelerinden alınan örneklerdeki element seviyelerinin birbirleriyle uyumlu olduğunu, karaciğerin herhangi bir bölgesinden alınacak örneğin, tüm karaciğer dokusunun ele-

ment konsantrasyonunu yansıtacağını bildirmişlerdir. Dolayısıyla, postmortem interval saptanması amaçlı bir çalışmada örnek alınacağı zaman, organ ya da dokunun farklı bölgelerde, farklı özellikler gösterip göstermediğinin bilinmesi ve bu durumun göz önüne alınması gereklidir. Çalışmamızda, tüm sıçanlardan alınan dokuların aynı bölgelerden olmasına dikkat edildiğinden, analiz sonuçlarımızda, doku içi farklılıklar olmadığı söylenebilir.

Yaşın artmasıyla birlikte, doku element seviyelerinde değişimler meydana gelebilir. Takahashi ve ark. (8), sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, farklı yaş grupları incelendiğinde, karaciğerde bazı element düzeylerinin sabit kaldığı; bazılarının yaşla birlikte arttığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda, tüm sıçanların üç aylık olması nedeniyle, yaşa bağlı farklılık olmasından söz edilemez. Benes ve ark. (32), 54 erkek, 16 kadın otopsi vakasından elde ettikleri karaciğer, böbrek ve kemik örneklerinde yaptıkları analizlerde, her iki cinsiyetten elde edilen doku örneklerinde esansiyel ya da toksik eser element seviyeleri açısından anlamlı farklar bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan tüm sıçanlar erkek olduğu için, cinsiyete bağlı fark ortaya çıkması söz konusu değildir. PMI saptanmasında doku element seviyelerinin kullanılabilmesi için, belirli popülasyonlarda, yaş ve cinsiyetlere göre referans değerlerin tespit edilmesi gerekir. Bu amaçla yapılmış çalışmalarda ki problem, farklı teknik ve istatistiksel yöntemlerin kullanılması nedeniyle, çok farklı değerlerin elde edilmesidir (33). Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde yaşayan kişilerde doku element seviyeleri referans değerlerinin BioReVa isimli bir bilgisayar programı geliştirilerek ortaya konulabileceği belirtilmektedir (34).

Çalışmamızda, tüm örnekler dokuz elementin miktarları yönünden incelenmesine karşın, ölçümler sonucunda sadece bazı elementler için PMI ile anlamlı değişimler görülmektedir. Ölüm sonrasında, genel olarak Fe'in miktarı; beyin, karaciğer, böbrek ve iskelet kasında artma göstermektedir. Sodyum;

böbrekte azalma, miyokard ve kasta artma gösterirken, potasyum; beyin, karaciğer ve iskelet kası dokusunda azalma, kalsiyum; miyokard ve karaciğerde artma, bakır; miyokard ve böbrekte azalma göstermektedir.

İncelediğimiz beş dokudan, iskelet kasının vücut boşluklarındaki organlara nazaran, komşu dokuların element içeriğinden daha az etkilenmesi nedeniyle, bu dokuda görülen anlamlı Fe, K ve Na değişimleri, PMİ saptanması amacıyla yapılacak araştırmalar için öne çıkabilir.

Özellikle çalışmamızda PMİ ile anlamlı değişimler gösteren elementler üzerinde yoğunlaşarak, daha geniş serilerde yapılacak deneysel çalışmalar ve otopsi materyalinde ya-

pılacak analizler, doku element seviyelerinin, ölüm zamanı saptanmasında kullanımının güvenilir bir yöntem olarak uygulamaya konulup konulamayacağını ortaya çıkarabilecektir.

Teşekkür

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 05102009). Ayrıca, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (SÜDAM) imkanları kullanılarak ve SÜDAM Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra yapılmıştır (SÜDAM Proje No:2004/38, SÜDAM Deney Hayvanları Etik Kurulu Karar No:2004/38).

KAYNAKLAR

1. Madea B. Is there recent progress in the estimation of the postmortem interval by means of thanatochemistry? *Forensic Sci Int.* 2005; 16;151(2-3):139-49.
2. Çakalır C. Post-mortem interval. I. Adli Bilimler Kongresi; 12-15 Nisan 1994; Adana. Kongre Kitabı. 36-42.
3. Vass AA, Barshick SA, Sega G, Caton J, Skeen JT, Love JC, Synstelién JA. Decomposition chemistry of human remains: a new methodology for determining the postmortem interval. *J Forensic Sci.* 2002. 47(3):542-53.
4. DiMaio DJ, DiMaio VJM. *Forensic pathology*. Florida: CRC Press; 1993. p. 21-42.
5. American Veterinary Medical Association. 2000 Report of the AVMA panel on euthanasia. *J Am Vet Med Assoc.* 2001. 1;218(5):669-96.
6. Bush VJ, Moyer TP, Batts KP, Parisi JE. Essential and toxic element concentrations in fresh and formalin-fixed human autopsy tissues. *Clin Chem.* 1995. 41(2):284-94.
7. Rahil-Khazen R, Bolann BJ, Myking A, Ulvik RJ. Multi-element analysis of trace element levels in human autopsy tissues by using inductively coupled atomic emission spectrometry technique (ICP-AES). *J Trace Elem Med Biol.* 2002; 16(1):15-25.
8. Takahashi S, Takahashi I, Sato H, Kubota Y, Yoshida S, Muramatsu Y. Determination of major and trace elements in the liver of Wistar rats by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry and mass spectrometry. *Lab Anim.* 2000. 34(1):97-105.
9. Tarohda T, Yamamoto M, Amamo R. Regional distribution of manganese, iron, copper, and zinc in the rat brain during development. *Anal Bioanal Chem.* 2004. 380(2):240-6.
10. Somogyi G, Jenei E, Szokol J, Buris L, Buris L Jr, Nagy D, Pap L. Distribution of inorganic elements in human autopsy tissue. *Pharmazie.* 2000. 55(3):239-42.
11. Cominos X, Athanaselis S, Dona A, Koutselinis A. Analysis of total mercury in human tissues prepared by microwave decomposition using a hydride generator system coupled to an atomic absorption spectrometer. *Forensic Sci Int.* 2001. 15;118(1):43-7.
12. Lopez Alonso M, Prieto Montana F, Miranda M, Castillo C, Hernandez J, Luis Benedito J. Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *Biometals.* 2004. 17(4):389-97.

13. Subramanian KS, Meranger JC. Simultaneous determination of 20 elements in some human kidney and liver autopsy samples by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry. *Sci Total Environ.* 1982. 24(2):147-57.
14. Lalchev M, Ionov I, Daskalova N. Application of inductively coupled plasma atomic emission spectrometry in forensic science. *J Ana At Spectrom.* 1997;12(1):21-4.
15. Munoz JI, Suarez-Penaranda JM, Otero XL, Rodriguez-Calvo MS, Costas E, Miguens X, Concheiro L. A new perspective in the estimation of postmortem interval (PMI) based on vitreous. *J Forensic Sci.* 2001. 46(2):209-14.
16. James RA, Hoadley PA, Sampson BG. Determination of postmortem interval by sampling vitreous humor. *Am J Forensic Med Pathol.* 1997. 18(2):158-62.
17. Coe JI. Postmortem chemistry update: Emphasis on forensic application. *Am J Forensic Med Pathol.* 1993. 14(2):91-117. Review.
18. Endo T, Hara S, Kuriwa F, Kano S. Postmortem changes in the levels of monoamine metabolites in human cerebrospinal fluid. *Forensic Sci Int.* 1990. 44(1):61-8.
19. Wyler D, Marty W, Bar W. Correlation between the post-mortem cell content of cerebrospinal fluid and time of death. *Int J Legal Med.* 1994;106(4):194-9.
20. Querido D. Linearization of the relationship between postmortem plasma chloride concentration and postmortem interval in rats. *Forensic Sci Int.* 1990. 45(1-2):117-28.
21. Balasooriya BA, St Hill CA, Williams AR. The biochemical changes in pericardial fluid after death. An investigation of the relationship between the time since death and the rise or fall in electrolyte and enzyme concentrations and their possible usefulness in determining the time of death. *Forensic Sci Int.* 1984. 26(2):93-102.
22. Madea B, Kreuser C, Banaschak S. Postmortem biochemical examination of synovial fluid—a preliminary study. *Forensic Sci Int.* 2001. 15;118(1):29-35.
23. Demiroğlu U, Esen AN, Kolusayın Ö, Şenocak MŞ, Albek E. Gözyaşı pH ölçülmesi ile ölüm zamanı tayini. *Adli Tıp Dergisi.* 1992;8(1-4):103-8.
24. Gos T, Raszeja S. Postmortem activity of lactate and malate dehydrogenase in human liver in relation to time after death. *Int J Legal Med.* 1993;106(1):25-9.
25. Thaik-Oo M, Tanaka E, Tsuchiya T, Kominato Y, Honda K, Yamazaki K, Misawa S. Estimation of post-mortem interval from hypoxic inducible levels of vascular endothelial growth factor. *J Forensic Sci.* 2002. 47(1):186-9.
26. Sabucedo AJ, Furton KG. Estimation of postmortem interval using the protein marker cardiac Troponin I. *Forensic Sci Int.* 2003. 24;134(1):11-6.
27. Gallois-Montbrun FG, Barres DR, Durigon M. Post-mortem interval estimation by biochemical determination in birds muscle. *Forensic Sci Int.* 1988. 37(3):189-92.
28. Brion F, Marc B, Launay F, Gailledreau J, Durigon M. Postmortem interval estimation by creatinine levels in human psoas muscle. *Forensic Sci Int.* 1991. 52(1):113-20.
29. Kang S, Kassam N, Gauthier ML, O'Day DH. Post-mortem changes in calmodulin binding proteins in muscle and lung. *Forensic Sci Int.* 2003. 28;131(2-3):140-7.
30. Iyengar GV. Post mortem changes of the elemental composition of autopsy specimens: Variations of K, Na, Mg, Ca, Cl, Fe, Zn, Cu, Mn and Rb in rat liver. *Sci Total Environ.* 1980;15(3):217-36.
31. Cockell KA, Fischer PW, Belonje B. Elemental composition of anatomically distinct regions of rat liver. *Biol Trace Elem Res.* 1999. 70(3):251-63.
32. Benes B, Jakubec K, Smid J, Spevackova V. Determination of thirty-two elements in human autopsy tissue. *Biol Trace Elem Res.* 2000. 75(1-3):195-203.
33. Versieck J. Trace elements in human body fluids and tissues. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1985;22(2):97-184.
34. Iversen BS, Sabbioni E, Fortaner S, Pietra R, Nicolotti A. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the EU. XII. Development of BioReVa program for statistical treatment. *Sci Total Environ.* 2003. 20;302(1-3):1-12.