



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

ASİ TELEMİNDE VİTALİTE BULGUSU OLARAK
P-SELEKTİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Dr. Erol BADUROĞLU

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2011



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

ASİ TELEMİNDE VİTALİTE BULGUSU OLARAK
P-SELEKTİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Dr. Erol BADUROĞLU

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Recep FEDAKAR

BURSA-2011

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Giriş	1
Ası ve vital reaksiyon	5
Vitalite ve yara yaş tespitinin tarihçesi	9
Yara iyileşmesinin safhaları	9
Gereç ve Yöntem	16
Bulgular	19
Tartışma ve Sonuç	29
Kaynaklar	33
Ekler	39
Teşekkür	43
Özgeçmiş	44

ÖZET

Çalışmamızda son yıllarda yara yaşı tayinine yönelik araştırmalarda üzerinde çalışılan ve bir hücre adhezyon molekülü olan P-selektinin asılarda vitalite bulgusu açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda otopsileri Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesinde yapılan olgulardan alınan cilt örnekleri immunohistokimyasal olarak P-selektin ile boyanarak boyanma yüzdesi ve pozitifliği açısından değerlendirilmiştir. 25 ası olgusunun boynundaki telem ve çevresinden alınan cilt örneği çalışma grubunu, teleme uzak boyun bölgesinden alınan cilt örneği 1. kontrol grubunu, 24 ası dışı nedenle ölenlerin boyun bölgesinden alınan cilt örneği 2. kontrol grubunu oluşturmuştur.

Çalışma grubundaki olguların %40'ı +2, 1. kontrol grubundaki olguların %60'ı +3, 2. kontrol grubundaki olguların %91,6'sı +2 ve +3 derecede boyandı. Çalışma grubu içerisindeki olguların 16'sının (%64) boyanma yüzdesi %40-60 arasında, 1. kontrol grubundaki olguların 23'ünde (%92) boyanma yüzdesi %40-80 arasında, 2. kontrol grubundaki olguların 22'sinde (%91,6) boyanma yüzdesi %30-60 arasında izlendi. 1. kontrol grubunda boyanma pozitifliği ($p=0.018$) ve boyanma yüzdesi ($p=0.017$) çalışma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak şekilde yüksek bulundu. 1. kontrol grubunda boyanma yüzdesi ($p=0.021$) 2. kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturacak şekilde yüksek bulundu.

Ası olgularında tip (tam/yarım, tipik/atipik), ekimoz veya kırık varlığı boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Sonuç olarak çalışmamızda ası teleminde P-selektin ile vitalite arasında pozitif korelasyon kurulamamakla birlikte farklı yaralanma türlerinde

daha geniş olgu serileri ve daha kapsamlı faktörlerin sorgulanması ile yapılacak çalışmaların faydalı olacağı kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Ası, vitalite, P-selektin.

SUMMARY

The Research of Presence of P-selectin as Vitality Sign in Hanging Ligature

In our study, it is aimed to evaluate P-selectin, which is a cell adhesion molecule and recently studied on determination of wound age, as vitality sign in hanging ligature.

In our study; skin samples taken from the cases autopsied by the Morgue Departments of the Bursa branch of the Turkish Council of Forensic Medicine were investigated immunohistochemically in terms of the percentage and the positivity stained with P-selectin.

The study group is formed with the skin samples of ligature and around of 25 hanging cases; as well as the first control group is formed with the skin samples of distant neck region of ligature of the same cases. The second control group is formed with the skin samples of the neck area of 24 deaths different from hanging.

40% of the cases in the study group +2; 60% of the cases in the first control group +3; 91.6% of the cases in the second control group +2 and +3 level were stained. 16 (64%) cases in the study group the percentage of staining were observed between 40-60%. 23 (92%) cases in the first control group the percentage of staining were observed between 40-80%. 22 (91.6%) cases in the second control group the percentage of staining were observed between 30-60%. In the first control group positivity of staining ($p = 0.018$) and percentage of staining ($p = 0.017$) were higher than the study group and the percentage of staining ($p = 0.021$) were higher than the second control group to form a statistically significant difference.

In the cases of hangings; it is not found any statistically significant difference in the positivity of stain and the percentage of stain according to the type of hanging (full/ half, typical/atypical) or the presence of ecchymosis or fracture ($p > 0.05$).

In conclusion; in our study there is no positive correlation between P-selectin and vitality in ligature of hanging; moreover, it may be beneficial for further studies about different injury types with a larger case series with more comprehensive factor examination.

Key words: Hanging, vitality, P-selectin.

GİRİŞ

Vital reaksiyonlar ve yara yaşı tayini adli tıbbı en çok ilgilendiren konulardan biridir. Yara ile ölüm arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yara yaşı veya yara canlılığını tespit etmek zorunludur. Adli Tıp uzmanı vital reaksiyonu agonal veya supravital reaksiyondan ve postmortem değişikliklerden ayırt edebilmelidir. Minimal yaşam durumunda gözlenen agonal değişiklikler supravital reaksiyon varlığını düşündürebilir. Bu sorunlar için sıradan ve kolay anlaşılabilir yaklaşımlar uygulanmalıdır (1).

Vital reaksiyonlar hücre ve dokuların kimyasal, termik, mekanik etkiye cevabıdır. Vital belirtiler yaşayan organizmanın ve/veya onun çevresinin doğal işlevleri olarak tanımlanmaktadır. Fizyolojik süreçler vital belirtilerin ortaya çıkmasında yer alabilir.

Vital reaksiyonların gelişmesi çok hızlı olup direkt ölümcül travmalardan sonra bile dolaşım ve solunum sistemi aracılığı ile meydana gelebilir. Çünkü büyük fonksiyonel sistemler ölümden sonra da kısa süre için devam etmektedir. Vital reaksiyon agoni döneminin uzunluğuna bağlı olduğu kadar organizmayı çevreleyen koşullara da bağlıdır (2). Postmortem dönemde yapılan travmatizasyon ile vital reaksiyonlar meydana gelmez (1). Tablo-1'de değişik organ sistemlerinin vital reaksiyonları gösterilmektedir.

Olay yeri incelemesi ile aşağıdaki vital belirtiler elde edilebilir:

Kurbanın kan havuzundaki ayak izleri hareket kapasite bilgisinin elde edilmesini sağlar. Bu durumda olay yerindeki kanlı ayak izleri ile kanlı çorap veya ayakkabı taban izleri karşılaştırılır.

Arteriel pulsasyon dalgasının neden olduğu kan fışkırma izi duvarda görülebilir. Bu izler olay esnasında kurban vücudunda var olan fonksiyonel döngüyü gösterir.

Tablo-1: Değişik organ sistemlerinin vital reaksiyonları (1).

Dolaşım sistemi	Kan akması Peteşiyal kanama Embolizm (Hava, yağ, doku, kemik iliği, yabancı cisim)
Solunum sistemi	Aspirasyon Alveolo-kapiller gaz difüzyonu Pnömoderma
Gastrointestinal sistem	Yutma Gastrik içeriğin peristaltik transportu Absorpsiyon
Endokrin glandlar	Agonokimyasal stress reaksiyonu
Sinir sistemi	Kazayağı benzeri yapı Mukus ve salyanın sekresyonu Parasempatik sinir sistemi

Tipik aktif ve pasif savunma yaralanmaları ön kolda, elde ve parmakların lateral ve iç yüzünde olup, bu yaraların saptanması saldırıya uğrayan kişinin savunma yeteneğini göstermektedir.

Kazayağı; yangında alev nedeni ile göz kenarında meydana gelen kırışıklıklara verilen ad olup istemsiz kasların kasılması ile meydana gelir. Alevden etkilenen şahsın yüzünde kazayağının girintileri arasında kahverengi-kırmızı kösele benzeri kuruma alanları meydana gelir. Bu bulgu vital reaksiyon belirtileri arasında sayılmaktadır.

Adliye intikal eden ölümlerde görülen ekimoz vitalite açısından çok önemlidir. Ekimoz; vasküler dokunun hasarından sonra bir bölgede çıplak gözle görülebilen renk değişikliğine neden olan çevre dokuya kan ekstrevasiyonudur. Temel olarak travma ile bazen de bir hastalık süreci olarak spontan olarak meydana gelir (3). Cilt rengi koyu olanlarda ekimozların gözden kaçmaması için daha dikkatli olmak gereklidir. Ekimozları yara yaşı yönünden değerlendirirken lokalizasyonu da dikkate alınmalıdır. Örneğin; kalça kasları arasındaki ekimozlar etkilenmeden sonraki 1-2 gün görünmeyebilir iken kemik gibi çıkıntılı yüzeylerde ve gevşek dokunun olduğu

yerlerde şişme ile birlikte çok hızlı bir şekilde ortaya çıkabilir. Büyük ekimozların kaybolmaları küçük olanlardan daha uzun sürebilir. Ekimozların gelişimi ve kayboluşu kişinin yaş ve sağlık durumu ile de ilişkilidir. Ekimozlar yaşlılarda daha uzun sürede kaybolur. Ekimozların rengi uzun süre kırmızı, mavi ve mor renkte kalabilir. Sarı renk değişimi yaralanmadan en az birkaç gün sonra başlar ve genellikle 1 hafta kadar sürer. Yeşil rengi ise değerlendirmek güçtür. Çünkü mavi ve sarının bir kombinasyonunu yansıtabilir. Derin yaralanmaların ortaya çıkması için 12-24 saat geçmesi gerekebilir. Ekimoz gelişiminde mikroskobik olarak en erken görülen değişim ödemdir. Bu evre hücreyel olmayan eksudatif fazdır ve lökosit reaksiyonu ile devam eder. Lökosit reaksiyonu en erken 20-30 dakika içinde tespit edilmiştir. Ama en son gözlemler 1-24 saat arasında bir zaman aralığı göstermektedir. Subkutan hemorajilerde polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) ilk akımının olaydan yaklaşık 4 saat sonra görüldüğü bildirilmiştir. Eritrositler cilt veya beyin yaralanmalarında makrofajlar içerisinde yaralanmadan 15-17 saat sonra görülür iken akciğerlerde 30 dakika içerisinde görülür hale geldiği saptanmıştır. Hemosiderin yüklü makrofajlar cilt ve subkutanöz dokuda yaralanmadan 24-48 saat sonra, sıklıkla da 4-8 gün içerisinde görülür. Beyinde makrofajlar içerisindeki hemosiderin 3-4 gün sonra, sıklıkla da 5-15 gün arasında görülür. Hemosiderinin subdural hematomlarda 5 gün sonra, akciğerlerde ise en erken 17 saat sonra görüldüğü bildirilmiştir. Postmortem dönemde hematoidin (bilirubin) cilt ve subkutanöz dokuda 9 gün, beyin hemorajilerinde 12 gün sonra bulunmuştur.

Adli tıpçılar postmortem yaralanmaların tipik görünüşünü tanırlar. Bunlar sarımsı kahverengi, kansız görünümde olup vital reaksiyon göstermezler. Travma ile ölüm arasında geçen intervale bağlı olarak yaralanmalarda kan ekstrevasyonu (taze olduğu zaman kırmızı, mor, mavi) çıplak gözle görülebilir iken yaralanmaya cevap olarak meydana gelen doku reaksiyonu mikroskobik olarak tespit edilebilir. Ancak pek çok durumda ölümden sonra hasar görmüş damarlardan kaçan kan ölümden önce yaralanma nedeni ile meydana gelmiş olan bir ekimoz görüntüsü verebilir. Bu durum bölge çok vasküler olduğunda problem oluşturduğundan otopsilerde

dikkatli olunmalıdır (3). Özellikle bir durum olan elle boğma gibi asfiksili ölümlerde boyun yapılarının yanlış değerlendirilebileceği akılda tutulmalıdır. Kesilmiş damarlardan kanama, postmortem disseksiyon veya evisserasyon esnasında damarların çekilmesi ile yumuşak doku ve organlarda kan toplanabilir. Bu durum yanlışlıkla gerçek ekimoz sanılmasına neden olur. Boyunda servikal vertebra anterior yapılarının disseksiyonu yapılırken kan ekstrasvazasyonu meydana gelebilir. Bu artefaktlar Prinsloo-Gordon etkisi olarak tanımlanmıştır (4). Ayrıca bazı suda boğulma vakalarında boğulma esnasında zorlu boyun hareketleri ile bu artefaktlar meydana gelebilir. Bu nedenle anterior boyun yapılarında görülen ekimozlar her zaman boyuna bir darbe anlamına gelmez (3, 5). Artefaktif kanamalardan kaçınmak için anterior yapıların çıkarılması ve incelenmesinden önce kafatası, göğüs ve abdomenin açılarak kanın akışının sağlanması ve boyun yapılarında kansızlaştırılma önerilmektedir. Pratik alanda karşılaşılan diğer bir güçlük resusitasyon esnasında damarlar içerisindeki kanın aralıklı ve zorlamalı bir şekilde harekete geçirilmesi sonucu damarlardan dokulara ekstrasvaze olmasıdır. Bu da gerçek ekimoz ile artefaktların ayırımını zorlaştırmaktadır. Bundan dolayı resusitasyon bölgelerindeki yaraların değerlendirilmesinde dikkatli olunmalıdır. Bu alanlar yüz, boyun ve göğüştür. Özellikle yüz ve boyuna basıncın olduğu elle boğma gibi durumlarda parmak ucu ekimozları ile birlikte tırnak abrazyonlarının olması sorunlar ortaya çıkarmaktadır (3). Çürüme evresinde hemoglobinin ürünlerinin bozulması ile ekimozlar daha yoğun ve daha yaygın olmaktadır. Gerçekten ilk muayenede görülemeyen ekimozlar postmortem incelemeden 1-2 gün sonra ortaya çıkabilir veya başlangıçtan daha belirgin olabilir. Bunun iyi bir örneği yakalama işaretlerini gösteren parmak tipi ekimozlardır. Çürümenin başlangıcı ile vücut rengi ve ekimozların görünüşü değişebilir. Bu nedenle ekimozların doğru olarak değerlendirilmeleri zorlaşabilir. İmmunolojik metotlar glikoforin A'nın yararlılığını göstermiştir. Bu kırmızı kan hücre membranının bir elemanı olup gerçek ekimoz ve çürümeye bağlı renk değişikliği arasında ayırıcı marker olarak kullanılır (6).

Yüz cildi ve mukozaların konjesyonlu kanamaları olan peteşi ve ekimozların vitalite için değerlendirilmesinde Bockholdt ve ark. (7) peteşiyal

kanama ve ekimozların boyun ve toraks kompresyonunda yüzde, göz kapaklarında ve konjunktivalarda görülebildiğini, ayrıca postmortem bir fenomen olarak da yüz aşağı veya yüzüstü pozisyonda kalma ile oluşabildiğini bildirmişlerdir. Cilt ve yüz mukoza membranlarından peteşiyal kanamaya neden olan kan çıkışı intravasküler basıncın artışı ile transvasküler basınç gradientinin artışı (içeriden dışarıya) sonucu meydana gelir. Postmortem dönemde başın vücuttan daha aşağıda kalması ile meydana gelen konjesyon ve renk değişimlerinin ekimoz olarak yanlış değerlendirilme olasılığı vardır. Temel olarak aynı mekanizma vibices (noktalanma şeklinde meydana gelen kanamalar) içinde geçerlidir.

Ası ve Vital Reaksiyon

Telemin varlığı tek başına canlı asının kanıtı değil, kişinin boynuna ip uygulandığını gösteren bir bulgudur. Ölü bir kişinin boynuna bağ uygulanması halinde bile telem ve hatta subkutan dokularda bir miktar kanama oluşabileceği bilinmektedir (8). Telem ve altındaki subkutan dokuda hafif bir ekimozun varlığı canlı asının kanıtı değildir, ölü bir kişinin asılması ile de meydana gelebilir (9). Asıda, cilt altı yumuşak dokuları ve kaslarda ekimoz, hyoid kemik ve tiroid kıkırdağında ekimozlu kırık araştırılması temel ve kritik bir işlemdir. Teleme uyan bölgelerde belirgin ekimozun varlığı canlı asının kesin ve spesifik bulgusudur. Asıda ekimoz olgudan olguya değişik derecelerde bulunur. Bazı olgularda ise güçlkle saptanabilir ya da hiç bulunmaz. Bu tip olgular özellikle ölümün ani olarak nörojenik bir mekanizma ile meydana geldiğini düşündürse de, çoğu kez adli soruşturma bulguları olmaksızın ölümün asiya bağlı olduğunun kesin olarak kanıtlanması güçtür. Asılarda indirekt gerilme veya direkt kompresyona bağlı olarak meydana gelen dahili boyun yaralanmalarında oluşan boyun iskelet fraktürleri ile birlikte görülen yumuşak doku hemorajileri vitalite bulgusu olarak kabul edilir. Hyoid kemik boynuzu ve tiroid kıkırdak ucunda kırık saptanması değerli bir bulgu olmakla birlikte, olguların çoğunda (%60'ından fazla) rastlanılmamaktadır. Yaşlılarda tiroid kıkırdak kalsifiye olduğu ve hyoid kemik

daha sert bir yapıya sahip olduğu için daha sık oranda kırık görülürken, çocuklarda kırıklara seyrek rastlanmaktadır. Bu kırıkların etrafındaki dokularda kanama şeklindeki vital reaksiyonların sanıldığından az oranda bulunduğu, bu tip kırıkların genellikle ası zamanının uzaması ile postmortem dönemde olduğu bildirilmiştir. Asıda disseke edilen cilt ışığa tutulup incelenecek olursa telemin iç yüzü parlak, şeffaf olarak görülür. Buna "gümüşlü hat" denilir. Ancak vital bir bulgu değildir (8). Atipik asılarda telem izinın yukarısında konjesyona bağlı kanamalar ve siyanozun görülmesi vital belirtilerdendir (2). Ölen kişinin can çekişme esnasında el ve ayaklarının etrafındaki duvar, kapı, kolon gibi yerlere çarpmasına bağlı olarak buralarda izler, döküntüler meydana gelebilir. Bu bulgular canlı asıyı destekleyici önemli bir kanıt olarak kabul edilir. Telemin bulunduğu bölgede bazen sıyrık ve ekimozlarda görülebilir. Bazen kişi can çekişme esnasında kendini ipten kurtarmak için çabalarken boyunda tırnak izleri oluşabilir. Telemin kenarında veya birkaç sıralı telemeler arasında hiperemik bir çizginin bulunması kesin olmamakla birlikte özellikle canlı asıyı düşündüren önemli bir işarettir.

Asıda karotis arterin intimasında yırtılma, adventisyasında hematoma görülebilir. "Amussat işareti" olarak tanımlanan bu bulgu canlı asının kanıtı olarak kabul edilmektedir. Ancak, asılarla ilgili olarak yapılan birçok otopsi araştırmasında gerçekte bu bulguya çok nadiren rastlandığı bildirilmiş olup, ası açısından fazla bir önemi bulunmamaktadır. Çok nadir de olsa, özellikle yüksekte kendini bırakma şeklindeki olgularda intimada yırtık meydana gelebileceği bilinmektedir.

Madea ve Grellner'in (2) bildirdiğine göre; Kerde ve Heuschkel asılarda postmortem 2-6 gün içerisinde ipin 2 sarmalı olduğunda arada kanama, her iki klavikulada periost altında ve musculus sternocleidomastoideusun klavikula ile birleşim yerinde kanamanın fazlalığı, tiroid üst boynuzunda kırılma ve kanama, canlı iken asılmaya bağlı parasempatik sistemin aşırı aktivasyonu ve her iki ağız köşesinden alt dudak ortaya salya akması, karotid intimasında yırtılma, cildin yırtılması, larengeal bölgede yırtılma görüldüğünü bildirmiştir.

Premortem asılarda omurganın lomber bölgesinde görülen Simon's kanamaları vitalite belirtisi olabilir. Oluşma mekanizması vücudun özellikle de spinal omurganın bu bölümünün yerçekimi etkisine bağlı olarak traksiyonudur. Bu kanamalar asfiksili vakalarda agonal konvulsiyonlara ve omurganın lumbosakral bölgesinin zorlu hareketlerine bağlı olarak da meydana gelebilir. Nikolić ve ark.'nın (8) yaptığı bir çalışmada Simon's kanamalarını ası, boğulma, elektrik çarpması, karbonmonoksit zehirlenmesi, künt travma, hipotermi, ilaç suistimali ile doğal ölüm tanısı konulan toplam 647 kişiden 249'unda gördüğünü, bu nedenle de, bu kanamaların asıya spesifik olmadığını bildirmiştir.

Asının ölümden önce mi sonra mı olduğunun ayırımı için olay yeri incelemesinde kişinin kendini asıp asamayacağı konusu araştırılmalıdır. Örneğin, tam asıda olay yerinde etrafta masa, tabure gibi yardımcı gereçlerin bulunmaması halinde şayet bu gereçler olay yerine daha önce gelen kişiler tarafından uzaklaştırılmamış ise cinayet yönünden güçlü bir kanıttır. İntihar notu ve yakınlarından alınan anamnez önemli ipuçları sağlar. Ölü lekelerinin ası ile uyumlu olup olmadığı araştırılmalıdır.

Ası olgularının otopsisinde ölüme yol açacak künt kafa travması, künt göğüs-batın travması, zehirlenmeler gibi başka bir neden saptanabilir. Özellikle ası süsü verilmiş bağla ya da elle boğma olgularında cesette tespit edilecek bulgularla ölümün asıya bağlı olup olmadığının ayırımı çok güçtür. Bu durumda, ölen kişinin vücudunda farklı lokalizasyonlarda travmatik bulgular saptanması dikkate değer bir bulgudur. Bazen, ölen kişinin daha önce bir kavga sonucunda yaralanması ya da başka bir yöntemle kendini yaralamasına bağlı olarak travmatik izlerin oluşabileceği; kendisi tarafından letal doza yakın; hatta daha fazla miktarda toksik madde almış olabileceği hususu göz ardı edilmemelidir. Telem altındaki yumuşak dokularda ekimoz araştırılmalı, gerektiğinde bu dokular histolojik ve immunohistokimyasal yöntemler ile incelenmelidir. İnceleme sonuçlarının negatif oluşu, ölümün asıya bağlı olma olasılığını ortadan kaldırmaz.

Dışarıdan herhangi ekimoz, sıyrık gibi belirti bulunmamasına rağmen Magnetik Rezonans (MR) gibi modern radyolojik tetkikler ile kafa, göğüs,

batın ve organ içi kanamalar gösterilebilir. Bu nedenle Yen ve ark. (10) boyundaki daha derindeki hemorajileri göstermek için klasik muayeneye ek olarak boynun MR ile incelenme yapılmasını önermişlerdir.

Boyun kompresyonunda solunum rezistansında artış meydana gelir. Bu durum stridor ile karakterizedir. PCO_2 yükselmesi ile solunum hızlanır, hiperpne ve taşipneye neden olur. Bu da akciğere akut olarak fazla hava girmesine ve sonuçta interstisyel amfizeme neden olur. Solunumun artması ile respiratuvar kaslarda morfolojik değişiklikler (subfasial kanamalar) meydana gelir. Boyun kompresyonu veya boğulma nedeni ile meydana gelen akut akciğer amfizemi vital belirti olarak değerlendirilir.

Bazı yazarlar (11-15) uzamış asfiksili ölümlerde alveoler hücrelerde ve makrofajlarda gözlenen pulmoner giant hücre formasyonunu bir adaptasyon olarak yorumlanmaktadır. Adaptasyon 15-30 dakika içerisinde oluşabilir. Vital reaksiyonun bulguları ve asfiksiye bağlı ölüm mekanizmasının ek kanıtları dikkatle yorumlanmalıdır. Daha fazla vakaların olduğu çalışmalarda giant hücre formasyonunun uzamış asfiksi olguları ile sınırlı olmadığı, enfeksiyon, duman inhalasyonu, aspirasyon gibi diğer nedenlerle de olabileceğine dikkat çekilmiştir. İmmunohistokimyasal çalışmalar bu hücre popülasyonlarının (makrofaj, giant hücreler, kök hücreler) kısmen şok, akut ve kronik inflamatuvar durumlarında görüldüğünü ortaya çıkarmıştır.

Vitaliteyi ve yara yaşını tespit etmek için bütün vakalarda aşağıda belirtilen 3 önemli nokta dikkate alınmalıdır. Bunlar;

1-Morfolojik ve/veya biyokimyasal bulgular ile yaşama zamanı ilişkisinin araştırılması,

2-Postmortem interval ışığında kanıtların değerlendirilmesi, interval esnasında sıcaklıktaki değişmelerin dikkate alınması,

3-Agonal ve supravital değişikliklerin vital reaksiyonlardan ayırt edilmesidir.

Vitalite ve Yara Yaşı Tespitinin Tarihçesi

Yaralarda canlılık sorunu ilk defa Walcher ve Orsos (16) tarafından tartışılmıştır. Bu yazarlar kendi tecrübelerini ve literatür çalışmalarını gözden geçirmişlerdir. Bilimsel deney araştırmalarına (özellikle cilde ait yaralarda) ise 1965 yılında ilk defa Raekallio başladı. Raekallio (17) yeni bir metot olan enzim histokimyası sundu. Yara yaşı tayinine yeni bilgiler katıldı. Birkaç yıl sonra Berg ve arkadaşları yara kenarlarında vitalite bulgusu veren biyokimyasal metotlar ile özellikle de serotonin ve histamini araştırdılar. Sonraki 10 yıl içerisinde immunolojik ve immunohistolojik bilimsel araştırmalar hızlı gelişim gösterdi. Immunohistolojik tekniklerin kullanılması, başlangıçta Eisenmenger ve arkadaşları ile Oehmichen ve arkadaşları olmak üzere adli patologlar tarafından yara yaşının araştırılmasında yeni alanlar açtı. Sonraki 10 yıl içerisinde bazal immunolojik bilgiler ve immunohistokimyasal uygulamalar ile karakterize bilimsel gelişim Almanya'da (18-24), İspanya'da (25–27) ve Japonya'da (28, 29) gelişti.

Bazı yazarlar asılarda yüksek postmortem tiroglobulin seviyelerini (30), zorlu nefes almaya bağlı mekanik asfiksili vakalarda pulmoner surfaktan agregatlarının histolojik tespitini (31), pnömomediastinum ve boyun yumuşak doku amfizemini, ani ölüm ile uzun agoni sonrası ölümü ayırmada değişik vücut kompartmanlardaki adrenalin ve noradrenalin gibi stress hormon seviyelerinin karşılaştırılmasını (32, 33) önermişlerdir.

Yara İyileşmesinin Safhaları

Yara terimi doku yapısının devamlılığının bozulması anlamına gelmektedir. Yara iyileşmesi birbiri peşi sıra devam eden inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon fazlarından meydana gelen biyolojik bir süreçtir (34).

Yara iyileşmesinin birbirini izleyen ve kesin sınırlarla ayırt edilemeyen farklı dönemleri vardır (35).

A- İltihabi Dönem (1-3 gün)

Vasküler Reaksiyon: Yaralanmayı takiben yara bölgesinde kan akımını azaltmak ve hemostazı sağlamak amacıyla yaklaşık 5-10 dakika kadar sürebilen geçici bir vazokonstrüksiyon olur. Bunu daha kalıcı bir vazodilatasyon takip eder. Kan komponentleri yara bölgesine ekstravaze olur. Çoğu araştırmacı ilk vazodilatasyon ve erken permeabilite artışından başlıca mast hücrelerinden salınan histaminin sorumlu olduğuna inanmaktadır.

Hemostatik Reaksiyon: Trombositlerin aktivasyonu, tromboplastin salınımı ve ekstrensek pıhtılaşma mekanizmasının aktivasyonu ile trombositler yüzeylere yapışarak tıkaç oluştururlar. İntrensek mekanizmanın da aktivasyonu ile fibrin pıhtısı oluşur.

Hücre Reaksiyonu: Önemli hücresel elemanlar (PMNL, monositler, makrofajlar) periferik kandaki miktarları ile orantılı ve eş zamanlı olarak yara bölgesine gelirler. Başlangıçta PMNL'ler dominanttır, yaralanmanın beşinci gününden itibaren monositler hakim duruma geçerek pek çok kemotaktik madde ve sitokinleri salgırlar. Makrofajlar ise fibroblast ve endotelyal hücre proliferasyonunu stimule ederler.

B- Proliferasyon Dönemi (10-14 gün)

Epitel ve bağ dokusu onarımı ile karakterizedir. Epitelizasyon, mobilizasyon, migrasyon, mitoz ve selüler dejenerasyon safhalarını içerir. Keratinositler, fibronektin, kollejenazlar, plazminojen aktivatörü, nötral proteazlar ve tip IV kollajen üreterek epitelizasyon sürecine yardım eder. Küçük yaralarda ve sıyrıklarda epitelizasyon 2-3 günde tamamlanır. Epitelizasyon ile kapanmayan yaralarda gelişen granülasyon dokusu hidrate kollajen, glikoprotein ve glikozaminoglikan matriksi içerisindeki inflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve yeni damarlardan oluşur. Sentezlenen kollajen ise yara iyileşmesinin bu safhadaki en önemli komponentlerinden birisidir.

C- Reorganizasyon Dönemi (bir kaç ay)

Hücre aktivitesinin azaldığı, fibroblastların kaybolmaya başlayarak kollajenöz dokunun hakim olduğu dönemdir.

İmmunhistokimyasal gelişmeler sayesinde yara iyileşmesi ve yara yaş tayininde pek çok marker tanımlanmıştır. Bunlardan vitalite ilişkili olanları (30 dakikadan az yaşam süresi) Tablo-2’de gösterilmektedir (36).

Tablo-2: Vitalite tanısında 30 dakikadan kısa yaşam süresi olan vakalarda tespit edilen markerler (36).

Süre	Tespit edilen marker
Dakikalar içinde	TGF- β 1, IL-8, P-selektin
5-15 dakika	Histamin, Serotonin
10 dakika	bFGF, Defensin 3
10-20 dakika	TGF-a,IL-1 β ,TNF-a,IL-6, Fibronektin, Kathepsin A,B,D
10-30 dakika	Proteinaz inhibitörleri (α 1-Antikimotripsin, α 1- Antitripsin, α 2-Makroglobulin)
20-30 dakika	Nötrofil, Granulosit

TGF- β 1: transforming growth faktör beta 1, **IL-8:** interlökin 8, **bFGF:** basic fibroblast growth faktör, **IL-1 β :** interlökin 1 beta, **TNF-a:** tümör nekroz faktör-alfa, **IL-6:** interlökin 6.

İnflamasyon olayında kan damarları, reaksiyonun merkezini oluşturur. İnflamatuvar cevabın olduğu vaskülerize bağ dokusu içinde, damar içi lokalizasyonlu plazma ve kan elemanları; damar dışındaki bağ dokusu içinde ise hücresel komponent ile ekstraselüler ara madde bulunur. Damar duvarını döşeyen endotel hücresi de inflamasyon olayının önemli bir elemanıdır. Damar duvarında endotel hücrelerinin komşuluğundaki bazal membranın yapısında ise adeziv glikoproteinler ve proteoglikanlar vardır (37).

Hücre adhezyon molekülleri immün ve inflamatuvar olayların ana mediatörleridir. Bu moleküller trombozis (38), embriyogenezis (39, 40), hücre büyümesi ve diferansasyonu (41), immün ve inflamatuvar hücrelerin inflamasyon bölgesine migrasyonu, allerjik reaksiyon (42), immün yanıtın başlatılması ve yayılması, ekstraselüler matriksten hücreye bilgi akışı, kanser

metastazı ile yara iyileşmesinde (43-45), renal ve hepatik hastalık, vaskülit, artrit gibi patolojik durumlarda, iskemik reperfüzyon durumlarında (46, 47), multiple skleroz hastalığında (48) rol oynayan moleküllerdir.

Hücre adhezyonunda rol oynayan moleküllerden bazıları VLA-4 gibi $\beta 1$ (Very Late Antigen Proteins, VLA) integrin, CD11a/CD18 (LFA-1), CD11b/CD18 (Mac1/Mo1), CD11c/CD18 (p150, 90) gibi $\beta 2$ (Lymphocyte Function Association, LFA) integrin, glikoprotein IIb/IIIa gibi $\beta 3$ (sitoadhezinler) integrinler, E, N ve P cadherin, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule), PECAM- 1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule- 1) gibi İmmunglobulin Süperaille grubu üyeleri, E, P ve L selektindir. Çalışmamız gereği hücre adhezyon moleküllerinden selektinler ve bunlardan sadece P-selektin hakkında ayrıntılı bilgi vereceğiz.

Selektin terimi lektin bölgesinin fonksiyonel öneminden ve bu moleküllerin fonksiyonel selektivitesinden kaynaklanmaktadır. Selektinler divalant katyon (kalsiyum) bağımlı glikoproteinlerdir. Kalsiyum varlığında hücrelerin spesifik oligosakkaritlerini tanıyarak onları başka bir hücreye bağlarlar. Lökositler L-selektin, aktive plateletler P-selektin, aktive olmuş endotelial hücreler P ve E selektin salgırlar. Yapısal seviyede P, E ve L-selektin arasındaki farklılık SCR'lerin (short consensus repeat units) sayısının farklılığından kaynaklanmaktadır. P-selektin 9, E selektin 6, L selektin 2 adet SCR içermektedir (49, 50). Her bir selektinin hücre yüzey glikokonjugatlar ile lektin domainlerin Ca^{+} bağımlı etkileşimleri nedeni ile gerçekleşen vasküler yüzeylere lökosit yuvarlanmasında rolleri vardır.

Bütün selektinler terminal komponentleri $\alpha 2$ -3-linked sialic asid ve $\alpha 1$ -3-linked fukoz içeren glikanları düşük afinite ile bağlarlar. Bu glikanlar sialyl Lewis x (sLex) determinantları (Neu Ac α 2-3 Gal α 1-4 [Fuc α 1-3] GlcNAc α 1-R) olarak betimlenmektedir (51-54). Buradaki NeuAc; N-asetil nöraminik asit, Gal; galaktoz, Fuc; fukoz, GlcNAc; N-asetil glukozamin anlamına gelmektedir. sLex bağlarının kristal yapısı P ve E selektinin lektin domainlerine bağlanarak fukoz, tek bir Ca^{2+} iyonu ve kalsiyum koordineli bazı aminoasitler arasında bir ağ etkileşimini ortaya çıkarır. Bu durum

fukozile olmuş glikanların Ca bağımlı doğasını açıklamaktadır. Hayvan modellerindeki lektin çalışmaları onların inflamasyon, immun cevap, hemostaz, yara iyileşmesi, ateroskleroz, tromboz, organ transplant rejeksiyonu, artrit, orak hücreli anemi ve tümör metastazı gibi yan hastalıklardaki rollerini ortaya koymuştur (55).

P-selektin; CD62P, LECAM-3 (leukocyte-endothelial adhesion molecule 3), GMP140 (granule membrane protein 140 kDa), PADGEM (platelet activation dependent granule-external membrane) isimleri ile de anılmaktadır (56,57). Yaklaşık 140 kDa ağırlığında integral α -granül membran glikoproteinidir. Ekstrasellüler bölge N-terminal C-tip lektin içermektedir. Ardından sıra ile EGF domaini ve 9 CCP (complement control protein) domaini bulunmaktadır (58). Alternatif bölünmeler 7. CCP domainin ortaya çıkmasına veya P-selektinin soluble sekrete halinin kodlanmasına yol açar. Ekstrasellüler formları 48 nm uzunluğunda çubuk şeklindedir (59). L ve E selektine benzemeyen kısa stoplazmik domainindeki serin, treonin, tirozin ve histidin rezidüleri fosfarile olduğunda platelet aktivasyonu meydana gelir (60). P-selektini kodlayan genler 50 Kb den büyük olup 1q21-q24 lokalizasyonunda bulunmaktadır (61, 62). P-selektin plateletlerin α -granüllerinde ve endotel hücrelerinin Weibel-Palade cisimciklerinde bulunur. Monosit ve nötrofillerin yuvarlanmasına ve adhezyonuna aracılık eder. Normalde böbrekte çok düşük düzeyde salgılanır. Kapiller, venöz ve arteriyel endotelyal alanda bazen tespit edilebilir. McEver ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada P-selektinin küçük ven ve venüllerde bulunduğu küçük arter, arteriol ve çok nadiren kapillerlerde dağılımının ise yamalı biçimde olduğu tespit edilmiştir (63). Steinhoff ve Wilhelmi (56) P-selektinin normal kalplerin myokard arteriollerinde bazal olarak ifade edildiğini belirtmişlerdir.

En iyi karakterize edilmiş glikoprotein ligandı lökositlerden salınan P-selektin glikoprotein ligandı (PSGL-1, CD162) dir (64). Biyokimyasal olarak disülfid bağlı 2 adet 120 Kda subünitten meydana gelir (51). Aslında PSGL-1 yanlış bir isimlendirmedir. Çünkü E ve L selektinide P selektine benzer bir afinite ile bağlar (65). PSGL-1 bir transmembran homodimerik protein olup

nötrofillerin mikrovillileri üzerinde lokalizedir (66). Serin ve treonin rezidüleri üzerindeki multiple O-glikanları kendine çeker (67, 49).

Antikor bloke edici ve genetik çalışmaları lökositlerdeki P ve L selektin için dominant ligandın PSGL-1 olduğunu göstermiştir. Sentetik glikosulfopeptitli çalışmalar P selektinin PSGL-1 aminoterminal bölgesine bağlanmasının stereospesifik yapıda tirozin sülfat rezidüleri, bitişik peptid determinantları, fukoz, galaktoz ve sialik rezidülerin tanınması vasıtası ile olduğunu göstermiştir (68, 69). Yüksek afiniteli bir P-selektin bağlanması O-glikan içeren SLeX ve PSGL-1'in aniyonik N-terminali içinde bir veya daha fazla tirozin sülfat kalıntısı gerektirmektedir (70).

Adhezyon molekülleri vasküler endotel hücrelerinden salınmakta olup lökositlerin inflamasyon yerine olan migrasyonunun düzenlenmesinde gereklidir. Endotelyal selektinler E ve P selektin olup damar duvarı boyunca lökositlerin yuvarlanmasının başlamasına aracılık eder. İnflamasyon olmadığında ya çok düşüktür ya da bulunmazlar. Ancak inflamatuvar bir stimulusa karşı upregüle olurlar.

Mekanik stimulus gibi prooksidan ajanlar, anafilatoksinler, nöropeptitler ve bakteriyel ürünler de mast hücrelerini aktif hale getirir. İskemi, reperfüzyon, sepsis ve anafilaksi durumlarında oksidanlar, anafilatoksinler, nöropeptitler ve bakteriyel ürünler salgılanır. Bunlar mast hücre degranülasyonu ve ardından gelen lökosit adhezyonundan sorumludurlar. Endotelyal hücrelerin stimülasyonunda dakikalar içerisinde luminal hücre yüzeylerinde P-selektinin degranülasyonu meydana gelir (71). Proinflamatuvar sitokinlerin ortaya çıkışı ile endotel hücrelerinde adhezyon moleküllerinin up regülasyonu gerçekleşir.

Aktive endotel hücrelerine lökosit adhezyonu çok aşamalı, birbiri peşi sıra devam eden işlemlerdir. Burada sırası ile tutunma, yuvarlanma, sıkı adhezyon ve transmigrasyon aşamaları bulunmaktadır. Her bir aşama lökositler ile endotel hücre yüzeyindeki farklı adhezyon molekülleri arasında etkileşimleri gerektirmektedir.

Adli amaçla uygulanan bir otopsi kapsamında araştırılması ve yanıtlanması gereken sorulardan biri de ceset üzerinde saptanan travmatik

lezyonların ölümden önce mi, yoksa sonra mı oluşmuş olduklarının belirlenmesidir. Aksi halde ölümün nedeni hakkında büyük yanılgılara düşülmesi söz konusu olabilir.

Ası sonucu meydana gelmiş ölümlerde de genellikle kovuşturmayı sürdüren adli makamlarca sorulan ve otopside elde edilen bulgular ışığında kesinlikle yanıtlanması gereken sorulardan biri de, özellikle olayın nedeni açısından yol açacağı büyük değişiklikler göz önüne alındığında olayın canlı ası olup olmadığının saptanmasıdır.

Ası telemine ölümünden önce oluştuğunun saptanmasında başvuru morfolojik makroskopik vital bulguların yeterli olmadığı bazı durumlar ile disseksiyon esnasında meydana gelebilecek yanıltıcı postmortem artefaktlar ve başlamış çürüme gibi sağlıklı bir değerlendirmeyi oldukça güçleştirecek değişikliklerin söz konusu olduğu olgularda, vital bulguların kanıtlanmasında, biyokimyasal, histokimyasal, immunohistokimyasal yöntemlerin desteğine de başvurulması kuşkusuz büyük yarar sağlayacaktır (26).

Bu araştırmada amacımız ası olgularında kişinin canlı iken mi asıldığı, yoksa öldükten sonra mı asıldığı sorusunun cevaplanmasında damar endotel hücrelerindeki P-selektin boyanmasına bakılarak P-selektinin vitalite bulgusu olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesine otopsi yapılması için getirilen 49 olgu üzerinde yapılmıştır. Çalışma grubumuz ası nedeni ile getirilmiş 25 olgunun boyun bölgesindeki ası izi ile birlikte sınırdaki sağlam deriden alınan örneklerden oluşmaktadır. 2 adet kontrol grubu oluşturulmuştur. 1. kontrol grubumuzu çalışma grubu olgularının boyun bölgesinde ası izinin 5 cm aşağı kısmındaki boyun cildinin sağlam bölgesinden alınan 25 adet cilt örneği, 2. kontrol grubumuzu ası dışındaki diğer nedenlerden ölenlerin boyun bölgesindeki sağlam cilt dokularından alınan örnekler oluşturmuştur. Her iki grupta da çürüme dışlama kriteri olarak kabul edilmiştir. Alınan boyun cilt örnekleri histolojik inceleme yapılincaya kadar formaldehite konularak saklanmıştır.

Çalışmada kullanılan örneklerin alınabilmesi için ölen kişinin yakınlarından Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurul Başkanlığının 21/04/2009 tarih ve 2009-7/15 nolu onayı ile kabul edilen aydınlatılmış gönüllü onam formu ve İstanbul Adli Tıp Kurumu Başkanlığı'nın 13/05/2009 tarih ve 316 nolu onayı ile izni alınmıştır.

P-selektin (Novocastra, Mouse Monoclonal antibody) ekspresyonu immunohistokimyasal olarak avidin-biotin kompleksi immunperoksidaz metodu ile gösterildi. %10'luk tamponlu formalin tespiti uygulanmış dokuların parafin bloklarından, poli-L-lizini lama 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler etüv içinde 50-55°C'de bir gece bekletildi. Etüvden çıkarıldıktan sonra 20 dakika ksilende deparafinize edildi. Ksilenden çıkan preparatlar absolü alkolde 10 dakika, %96'lık alkolde 5 dakika bekletildi. Ardından 5 dakika çeşme suyunda yıkandı ve 10 dakika distile suda bekletildi. %10'luk sitrat buffer içine alınan dokular, mikrodalga fırında 800 W'da 5 dakika, 400 W'da 15 dakika kaynatıldı. Mikrodalga fırından çıkarılan dokular, oda sıcaklığında 20 dakika soğutulmaya bırakıldı. Distile su ile yıkanan dokular, Fosfat Buffer Salin (PBS) içinde 10 dakika bekletildi. Preparatlar mapeye dizilip, üzerlerine protein blokaaj damlatıldı ve 5-10 dakika

bekletildi. Lamlar silkelenip üzerlerindeki dokulara primer P-selektin antikoru damlatıldı ve inkübasyon süresi bitinceye kadar (1 saat) beklenildi. Lamlar bu süre bitiminde akarsu ile yıkandı, distile suda çalkalandı ve PBS içinde 10 dakika bekletildi. Preparatlar tekrar mape üzerine alınıp, dokular üzerine biotin damlatıldı. 15 dakika beklenildi. Lamlar şalelere alınıp akarsuda yıkandı ve distile suda çalkalandı. PBS içinde 10 dakika bekletildi. Tekrar mape üzerine dizilen lamların üzerine streptoavidin damlatılıp 15 dakika beklenildi. Daha sonra lamlar tekrar şaleye alınıp, önce akarsuda sonra distile suda yıkandı ve PBS de 10 dakika bekletildi. Son aşama olan kromojen safhasına geçildi. Dokular üzerine 1-2 damla Diaminobenzidin (DAB) kromojen damlatıldı ve çıplak gözle, kahverengi renk değişimi saptanıncaya kadar 5-10 dakika bekletildi. Kesitler çeşme suyunda yıkandı. Harris Hematoksilende 1 dakika bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkandı. %0,4'lük amonyaklı suda 10 saniye bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkandı. Sırasıyla %96'lık ve absolü alkol aşamalarından geçirilerek kesitler oda sıcaklığında kurutuldu. Net görünüm için ksilene daldırılıp çıkarıldıktan sonra lamlar Canada balsamı damlatılarak değerlendirme için lamel ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak dokunun kendisi kullanıldı. İmmünreaktivitenin belirlenmesinde, hücre nükleuslarında kahverengi boyanma temel alındı. İmmünohistokimyasal boyanmanın yoğunluğu ve yaygınlığı semi kantitatif metot ile değerlendirildi. Boyanma yoğunluğuna göre olgular 0 ile +3 arasında dört grupta toplandı (0=boyanma yok, +1=düşük derecede boyanma, +2=orta derecede boyanma, +3= kuvvetli derecede boyanma). Boyanma yaygınlığı damar endotellerinin boyanmasına göre yüzde olarak değerlendirildi.

Çalışmanın analizleri SPSS 13.0 (Chicago, IL.) programında yapıldı. Kesikli değer alan değişkenler sayı ve yüzde ile sürekli değer alan değişkenler ortalama, standart hata, medyan, minimum ve maksimum değerleri ile birlikte verildi. Sürekli değer alan değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile sınanmış olup test sonucuna göre gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılıma uygunluk gösteren değişkenler için ANOVA (tek yönlü varyans analizi), normal dağılıma uygunluk göstermeyen

değişkenler için Kruskal Wallis testi ve alt grup analizlerde yine grupların ikişerli karşılaştırmalarında Mann Whitney-u testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında ki kare testi kullanıldı. Çalışmada $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Aynı kişilerden oluşan çalışma ve 1. kontrol grubumuzdaki olgularımızın tamamında ölüm nedeni olarak asiya bağlı mekanik asfiksi belirtilmiştir. 2. kontrol grubunu oluşturan olgularımızın 10'unun doğal ölüm nedenleri sonucu öldüğü tespit edilmiş olup ölüm nedeni olarak 6'sında myokart infarktüsü, 2'sinde koroner arter hastalığı, 2'sinde kalp yetmezliği rapor edilmiştir. Olguların 12 tanesi zorlamalı ölüm olup 3 yüksekten düşme, 2 iş kazası, 1 darp, 2 ateşli silah mermi çekirdeği, 1 av tüfeği saçma taneleri, 1 kesici delici alet ile yaralanma, 1 tarım ilacı zehirlenmesi ve 1'inde suda boğulma sonucu öldüğü rapor edilmiştir. 2 olgumuzun ölüm nedeni ise kendinde mevcut bulunan ancak otopside tespit edilemeyen dahili bir hastalığa bağlı gelişen solunum ve dolaşım yetmezliği sonucu öldüğünün kabul edilmesinin uygun olduğu şeklinde rapor edilmiştir.

Çalışma ve 1. kontrol grubumuzda 21 erkek ve 4 kadın mevcuttu. Bu gruptaki vakaların yaşları 16-85 (48.84 ± 20.42) arasında idi. 2. kontrol grubumuzda 19 erkek ve 5 kadın mevcuttu. Bu vakaların yaşları 8-89 (46.04 ± 21.36) arasında idi. Çalışma ve 1. kontrol grubu ile 2. kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.877$). Benzer şekilde çalışma ve 1. kontrol grubu ile 2. kontrol grubunun yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.941$).

Çalışma grubu vakalarımızda asiye bağlı epidermiste sıyrılmaya ve alttaki damar lümenlerinde bası nedeni ile tıkanma meydana gelmiş olduğundan boyanma pozitifliği ve yüzdesi açısından değerlendirme asiye bağlı bitişik sağlam cilt dokusunda yapıldı. Damar lümen endotel hücrelerinin P-selektin boyanma yüzdesi ve pozitifliğinin semikantitatif olarak değerlendirilmesi 2 patolog tarafından yapıldı.

Boyanma dereceleri çalışma ve her iki kontrol grubunda +1 (Şekil-1) +2 (Şekil-2), +3 (Şekil-3) olarak izlendi. Boyanma yüzdesi çalışma grubunda %10-80, 1. kontrol grubunda %20-90, 2. kontrol grubunda %30-80 arasında

değişen değerlerde izlendi. Boyanma yüzdeleri Şekil-4-12 arasında gösterilmiştir. Çalışma grubu ile 1. ve 2. kontrol grubundaki boyanma dereceleri ile boyanma yüzdeleri Tablo-3'de gösterilmiştir.

Tablo-3: Çalışma grubu ile 1. ve 2. kontrol grubundaki boyanma dereceleri ile boyanma yüzdeleri.

Boyanma		Çalışma grubu n (%)	1. kontrol grubu n (%)	2. kontrol grubu n (%)
Derece	+1	8 (%32,0)	3 (%12,0)	2 (%8,4)
	+2	10 (%40,0)	7 (%28,0)	11 (%45,8)
	+3	7 (%28,0)	15 (%60,0)	11 (%45,8)
Yüzde	%10	1 (%4,0)	0 (%0)	0 (%0)
	%20	1 (%4,0)	1 (%4,0)	0 (%0)
	%30	3 (%12,0)	0 (%0)	5 (%20,8)
	%40	6 (%24,0)	4 (%16,0)	3 (%12,5)
	%50	6 (%24,0)	5 (%20,0)	8 (%33,3)
	%60	4 (%16,0)	5 (%20,0)	6 (%25,0)
	%70	2 (%8,0)	3 (%12,0)	1 (%4,2)
	%80	2 (%8,0)	6 (%24,0)	1 (%4,2)
	%90	0 (%0)	1 (%4,0)	0 (%0)

Kruskal-Wallis testi ile her üç grubun karşılaştırılması sonucunda gruplar arasında boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırası ile $p=0.038$, $p=0.024$).

Mann-Whitney testi ile çalışma grubu ve 1. kontrol grubu arasında boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından 1. kontrol grubunda fazla olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (sırası ile $p=0.018$, $p=0.017$). Çalışma grubu ile 2. kontrol grubu arasında boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile $p=0.060$, $p=0.783$). 1. kontrol grubu ile 2. kontrol grubu arasında boyanma pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmayıp ($p=0.461$) boyanma yüzdesi açısından anlamlı farklılık saptandı ($p=0.021$).

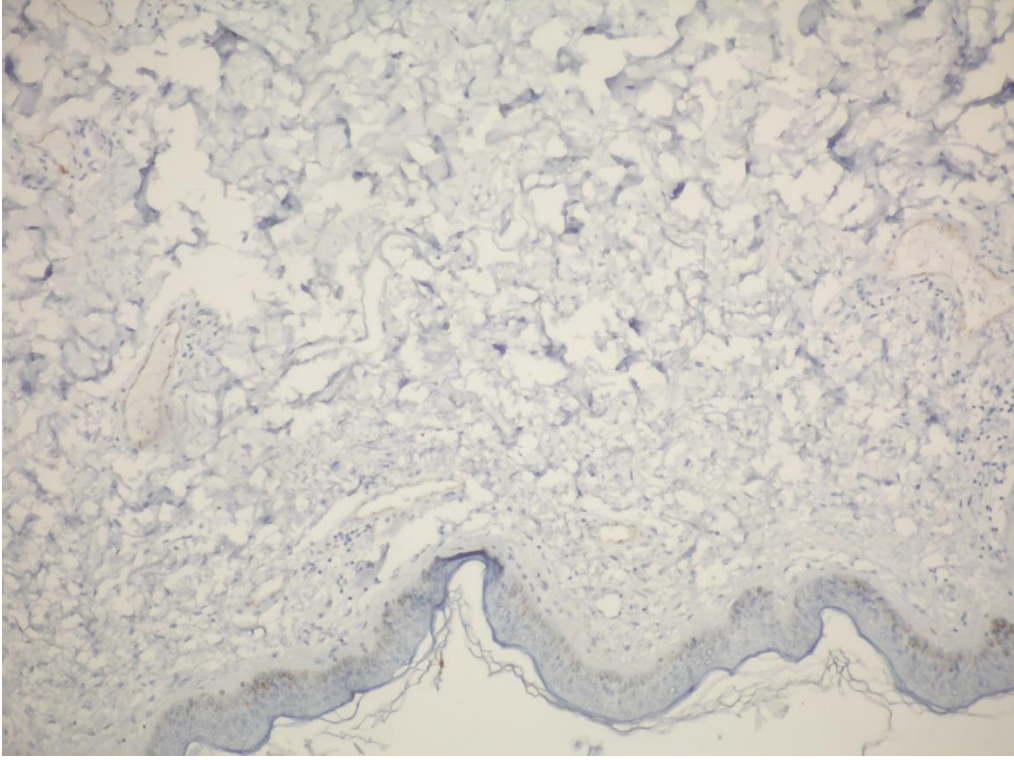
Çalışma ve 1. kontrol grubunu oluşturan ası vakalarının %96'sında (n=24/25) ası bölgesine uyan bölgede hyoid kemik ve tiroid kartilaj çevresinde ekimoz bulundu. 2. kontrol grubumuzda ise ekimoz saptanmadı. Ekimoz varlığı açısından çalışma ve 1. kontrol grubunu oluşturan vakalar ile 2. kontrol grubunu oluşturan vakalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$, $\chi^2=65.575$). Ekimoz saptanan (n=24/49) ve saptanmayan (n=25/49) vakalarımız arasında boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.400$).

Çalışma ve 1. kontrol grubunu oluşturan ası vakalarının %72'sinde (n=18/25) ası bölgesine uyan bölgede hyoid kemik ve tiroid kartilajın en az birinde kırık bulundu. 2. kontrol grubumuzda ise hyoid kemik ve tiroid kartilajda kırık hiç saptanmadı. Kırık varlığı açısından çalışma ve 1. kontrol grubu ile 2. kontrol grubunu oluşturan vakalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$). Kırık saptanan (n=18/49) ve saptanmayan (n=31/49) vakalarımız arasında boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.620$).

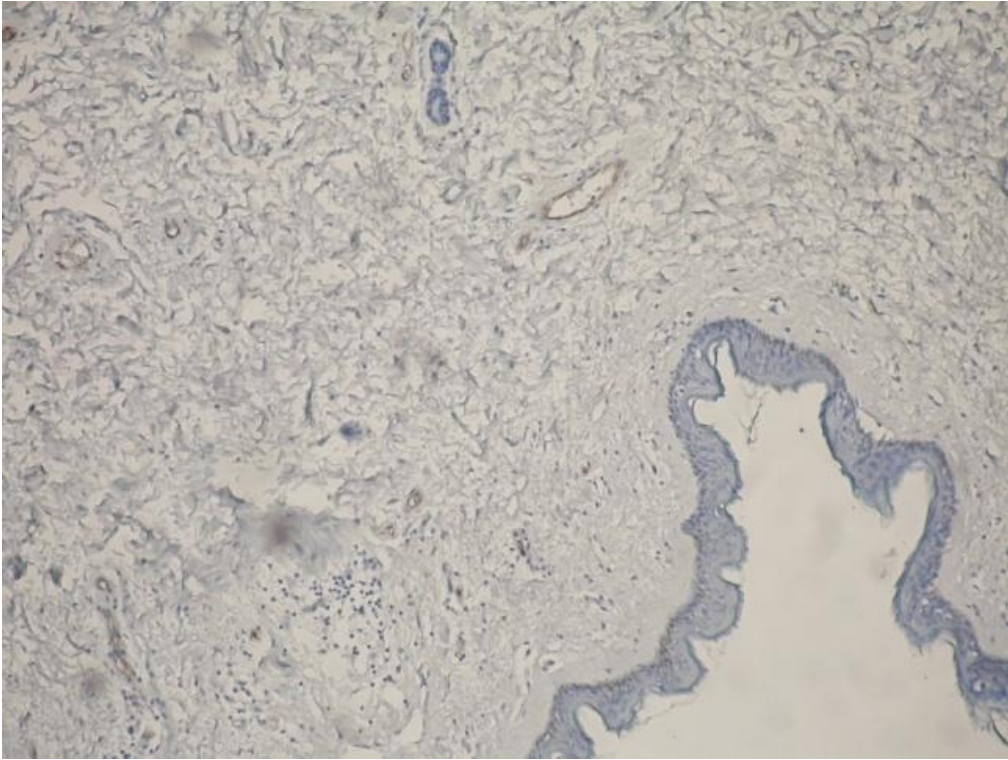
Olay yeri inceleme tutaklarına ve otopsi evraklarına göre ası vakalarının %84'ünde (n=21/25) ası ipi olarak kullanılan materyal tespit edilebildi. Ası materyallerinin incelenmesi sonucu vakaların %85,7'sinde (n=18/21) ip, %4,8'inde (n=1/21) kemer, %4,8'inde (n=1/21) atkı, %4,8'inde (n=1/21) kablonun kullanılmış olduğu saptandı. Vakaların %16'sında (4/25) asıda kullanılan materyal olay yeri inceleme tutanaklarında ve otopside tespit edilemedi.

Ası vakalarına ait olay yeri inceleme tutanaklarında asıların %64'ünün (n=16/25) tam veya yarım ası olarak sınıflandırılmış olduğu, %36'sının ise ası tipinin belirtilmediği görüldü. Sınıflandırılmış ası vakalarının ½'si tam ası olarak değerlendirildi. Tam (n=8/25) ve yarım ası (n=8/25) olduğu bilinen ası gruplarını oluşturan vakalar arasında boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.330$).

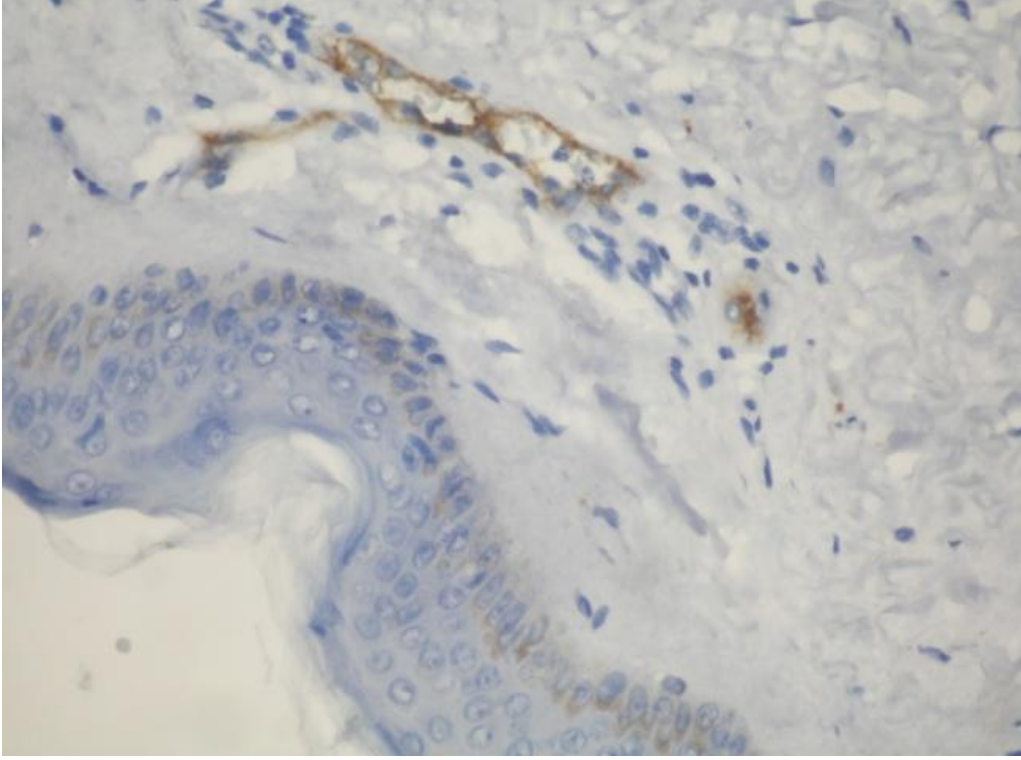
Ası vakalarına ait olay yeri inceleme tutaklarına ve otopsi evraklarına göre asıların %64'ünün (n=16/25) tipik, %36'sının atipik ası (n=9/25) olduğu tespit edildi. Tipik (n=16/25) ve atipik ası (n=9/25) olduğu bilinen ası gruplarını oluşturan vakalar arasında boyanma pozitifliği ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0.926).



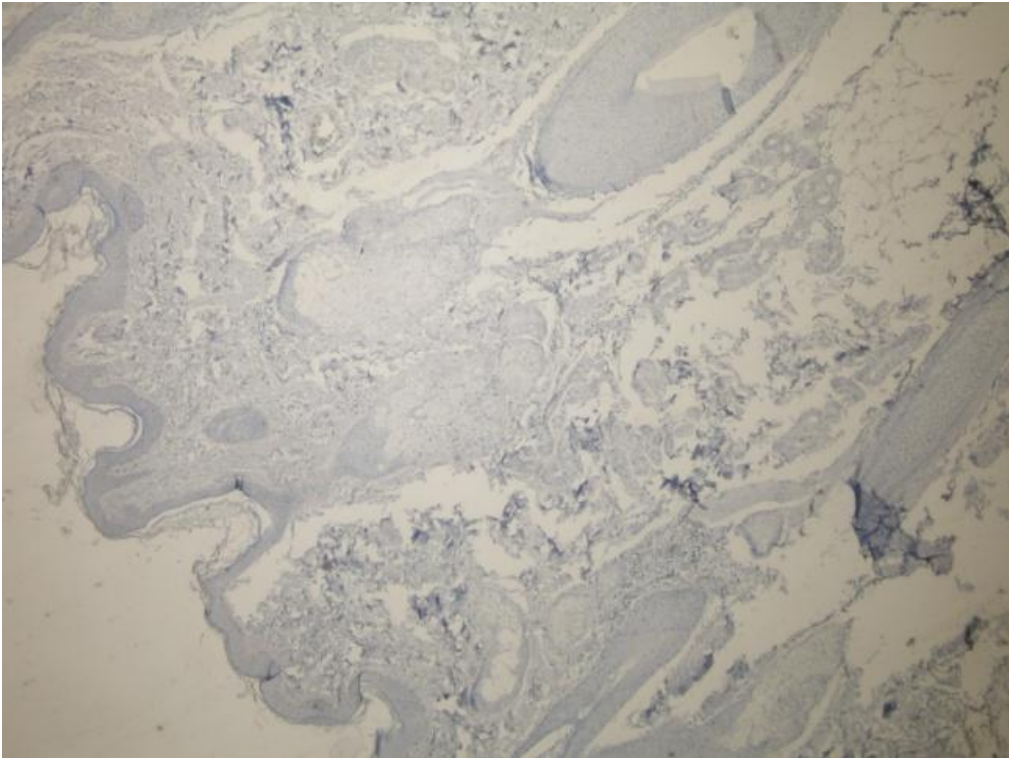
Şekil-1: +1 boyanma pozitifliği (P-selektin X100).



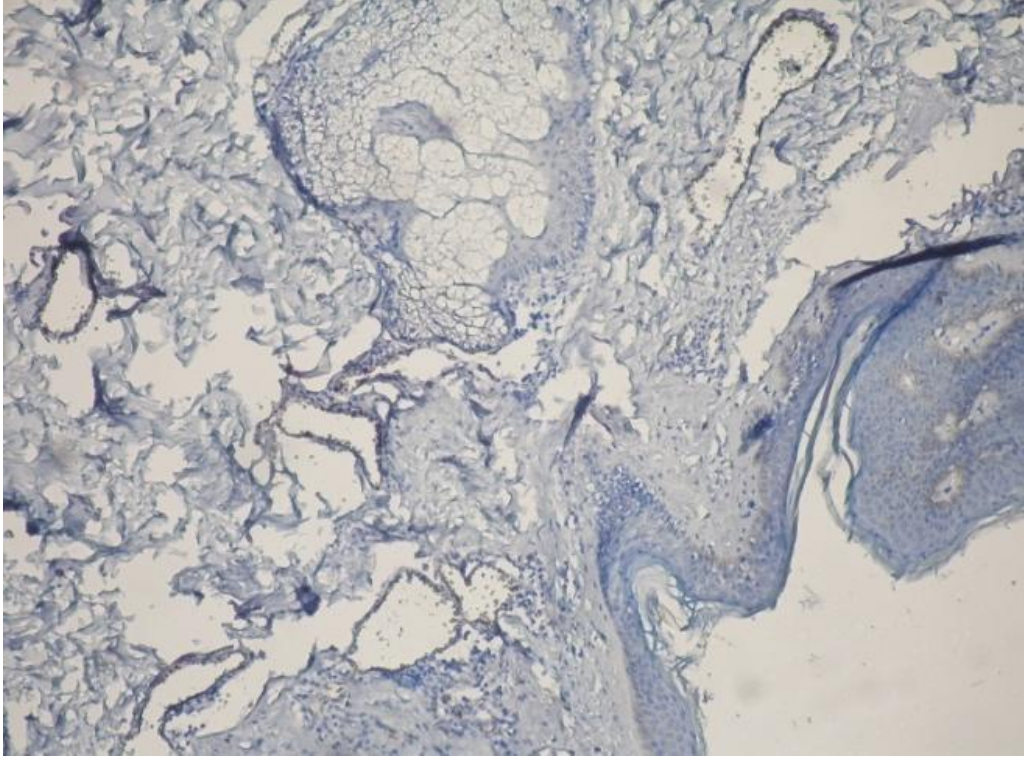
Şekil-2: +2 boyanma pozitifliği (P-selektin X100).



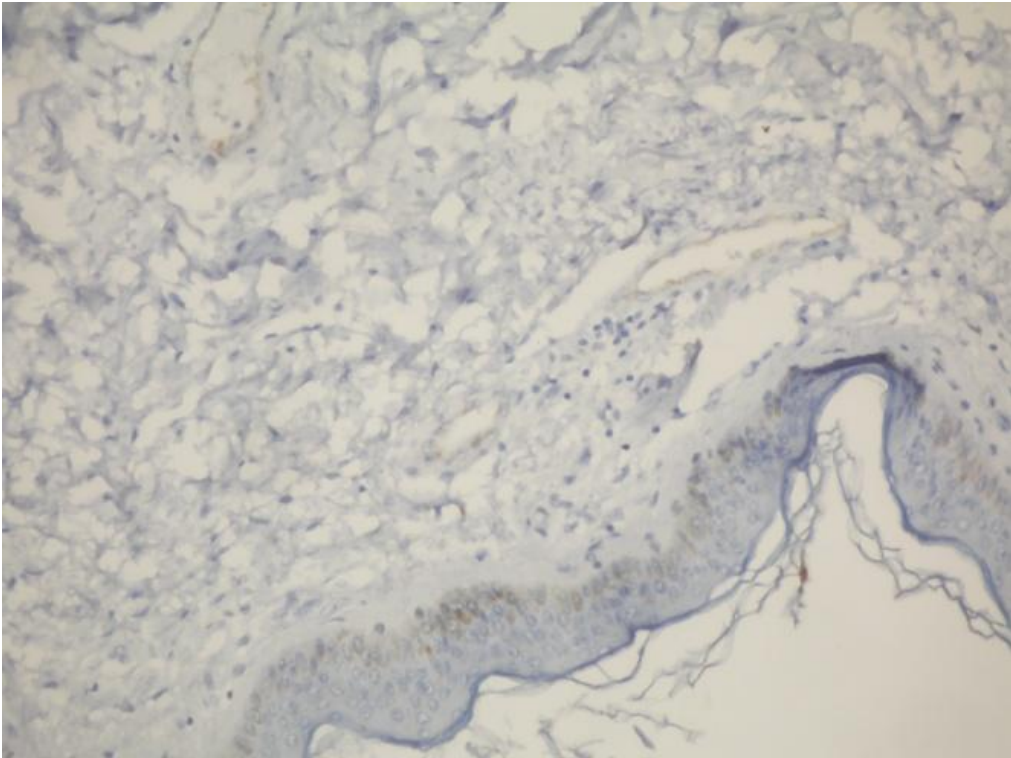
Şekil-3: +3 boyanma pozitifliği (P-selektin X400).



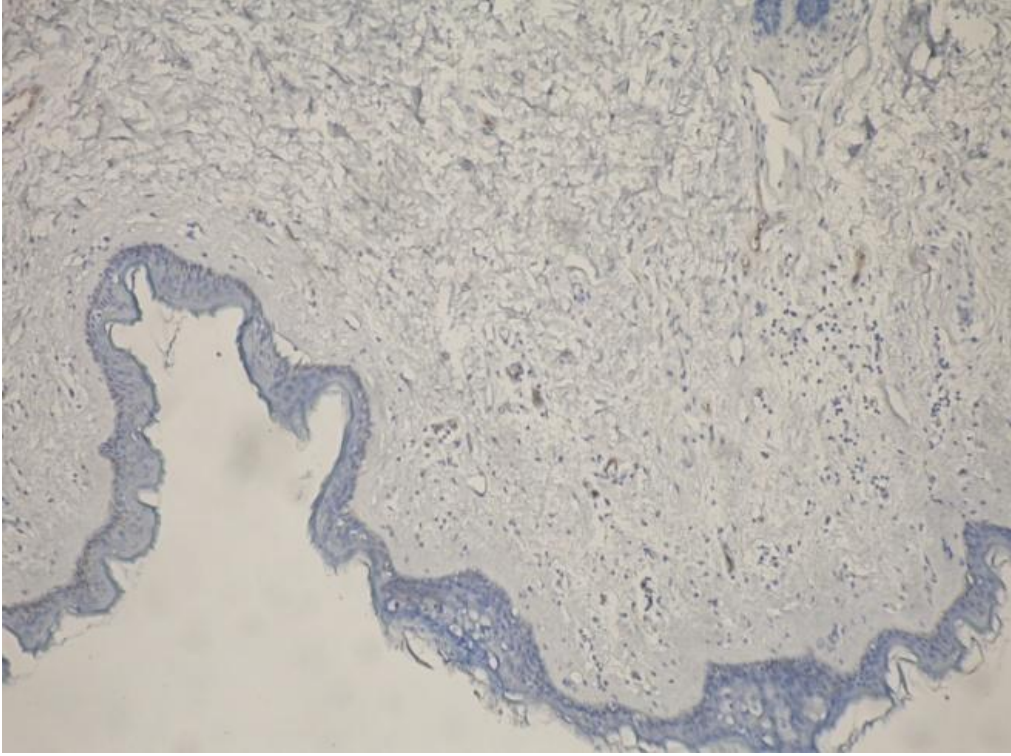
Şekil-4: %10 boyanma yüzdesi (P-selektin X400).



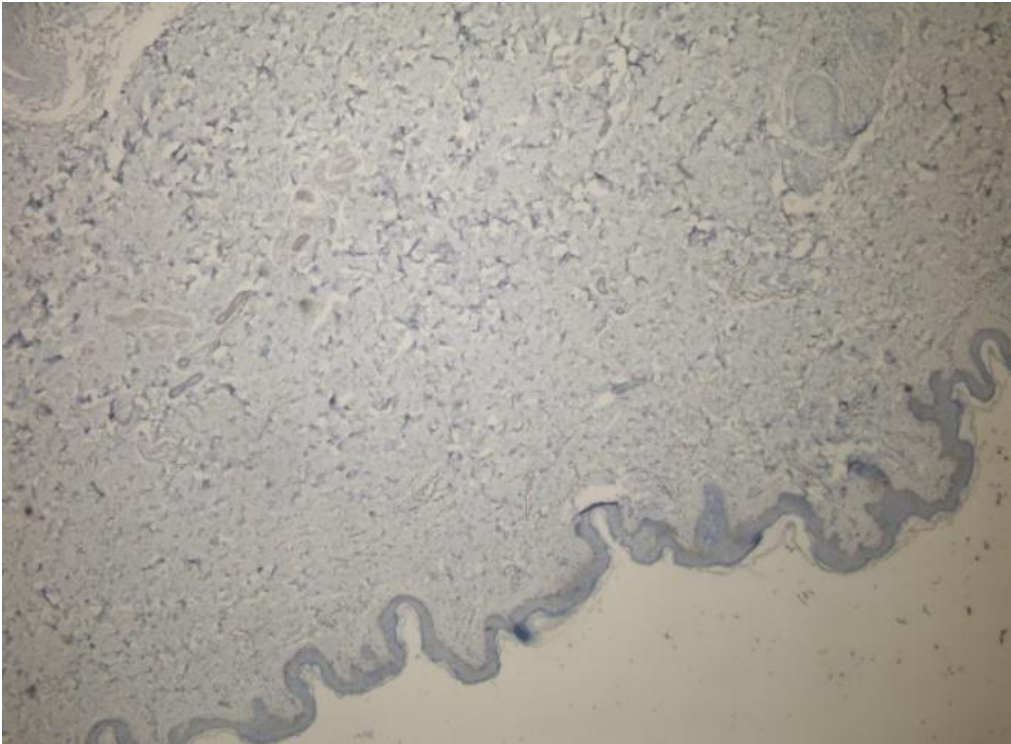
Şekil-5: %20 boyanma yüzdesi (P-selektin X100).



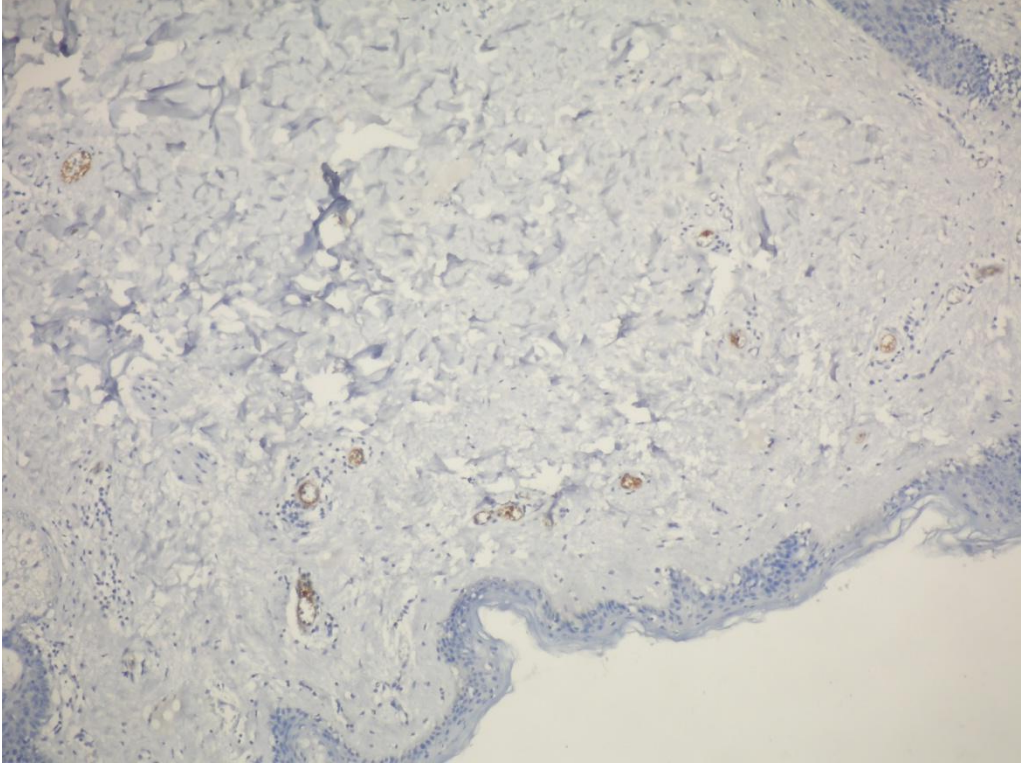
Şekil-6: %30 boyanma yüzdesi (P-selektin X200).



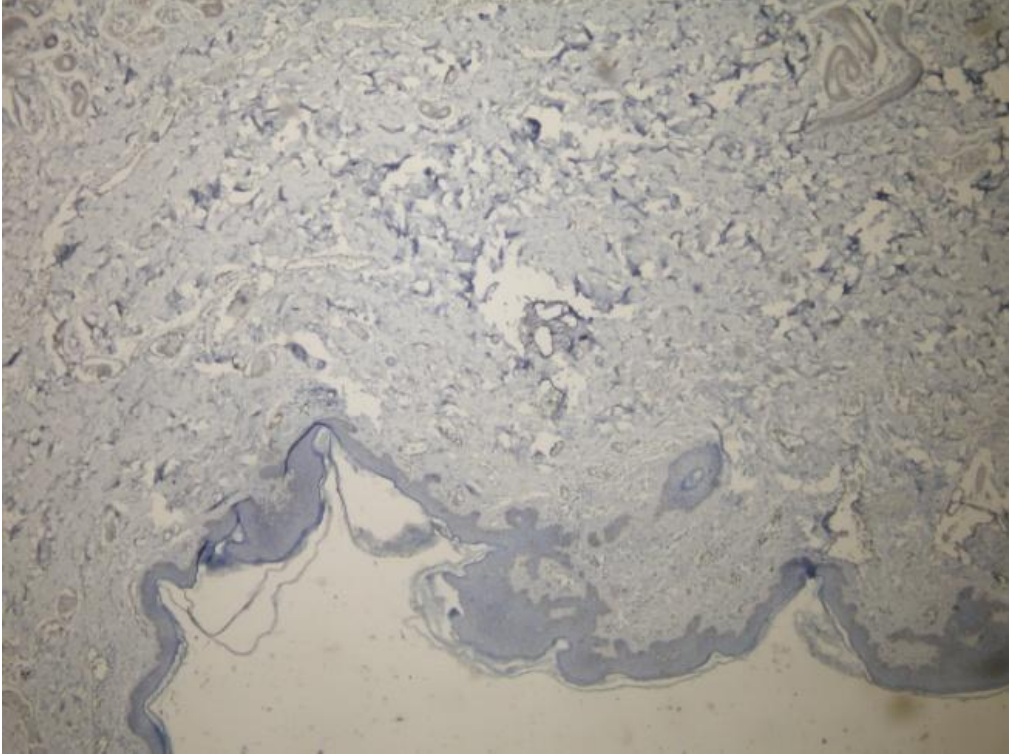
Şekil-7: %40 boyanma yüzdesi (P-selektin X100).



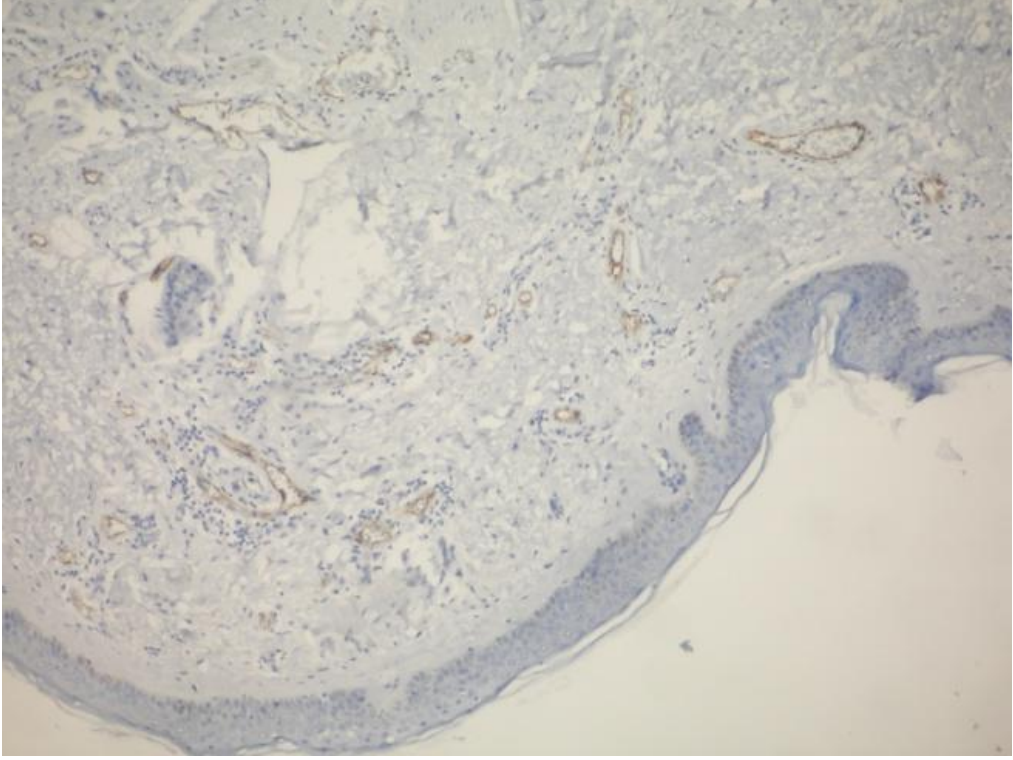
Şekil-8: %50 boyanma yüzdesi (P-selektin X40).



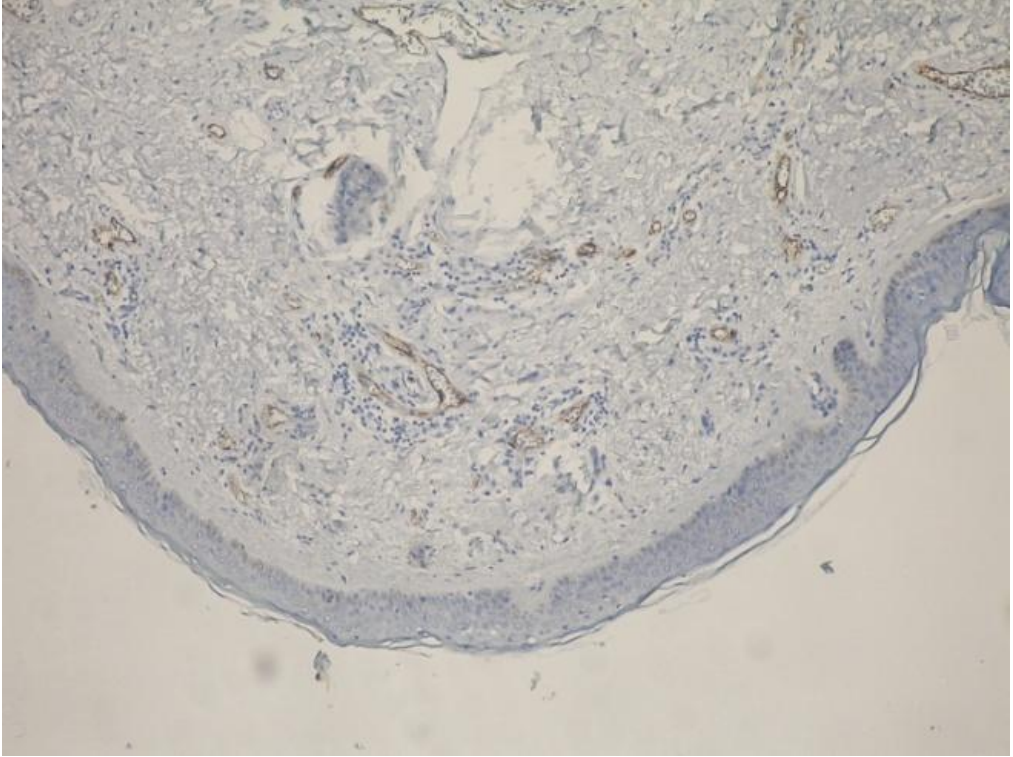
Şekil-9: %60 boyanma yüzdesi (P-selektin X100).



Şekil-10: %70 boyanma yüzdesi (P-selektin X40).



Şekil-11: %80 boyanma yüzdesi (P-selektin X100).



Şekil-12: %90 boyanma yüzdesi (P-selektin X100).

TARTIŞMA VE SONUÇ

P-selektin hakkında literatürde yayınlanmış çalışmaların çoğu P-selektinin yaralanmadan sonra ortaya çıkış zamanı ve yara iyileşmesindeki rolleri hakkındadır (72-75). P-selektinin vitalite bulgusu olarak kullanılabilmesine yönelik çalışmalar az sayıdadır.

Madea ve Grellner (2) canlılık deneyiminde lokal reaksiyonu ilk gözlemlendiği zaman yaşama periyodunun uzun veya kısa olabileceğini, agoniye kadar meydana gelen lokal reaksiyonların ve zamanın incelenmesinin gerekli olduğunu bildirmiştir. Doku hasarını ve reaksiyon seyrini etkileyen olası faktörler olarak stimulusun türü ve yoğunluğu, değişikliğin genişliği ve şiddeti, etkilenen dokunun türü, kanama süresi (şok ile dolaşan periferel kanın azalması) gibi lokal, herediter faktörler, yaş, cinsiyet, beslenme durumu, eşlik eden hastalıklar, endokrin ve vejetatif etkiler gibi genel, ilaç, ısıtma ve soğutma gibi egzojen pek çok faktörlerin bulunduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda doku reaksiyon hızını etkileyebilecek faktörlerden yaş ve cinsiyet açısından çalışma, 1. kontrol grubu ve 2. kontrol grubu arasında homojenite saptanmıştır. Ancak diğer faktörler göz önüne alınmamıştır.

Dressler ve ark. (76) cilt yaralarında adhezyon moleküllerinin salınımını araştırdığı çalışmasında yaralanmış cildin endotel hücrelerinin %54'ünde pozitif boyanmalar tespit edilmesine karşın, yaralanmamış cildin yalnızca %16'sında reaksiyon izlemiştir. İmmunohistokimyasal patern istatistiksel olarak farklılık göstermiş olup P-selektin en erken 3 dakika, en geç 7 saat sonra gözlenmiştir.

Dressler ve ark. (23) diğer bir çalışmasında P-selektinin antemortemde yaralanmış ciltte orta veya güçlü olarak, yaralanmamış ciltte düşük olarak salındığı, yaralanmış ve yaralanmamış cildin P ve E selektinin immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun semikantitatif olarak değerlendirilmesinde istatistiksel anlamlı farklılık gözlemlendiğini bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada yara alanının altında ve çevresinde selektinlerin immunohistokimyasal reaksiyonlarında yaralanmamış cilde göre daha fazla

ekspresyon izlendiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmalarda ölümün yaralanmadan kısa süre sonra meydana geldiği durumlarda ICAM-1, VCAM-1 ile P ve E-selektinin yara yaşını tespit etmede fayda sağlayabileceği kararına varılmıştır.

Weis ve Bohnert (77) yanık şoku ile hemorajik şokta akciğerlerde adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu araştırmıştır. Bu çalışmada genel olarak vasküler yapıların P-selektin ve von Willebrand faktörüne karşı antikolar ile boyanması yanık şokundan ölen kurbanlarda hemorajik şoktan ölenlerden daha güçlü olarak bulunmuştur. Bu çalışma sonuçları yanık şokunda inflamatuvar cevabın erken fazında bile P-selektinin önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Wyss ve ark. (78) konjunktival hemorajileri mikroskopik (Confocal laser scanning) ve immunohistokimyasal yöntemlerle araştırmış ve P-selektinin artmış ekspresyonunun yaşam esnasında meydana gelen hemorajiler ile postmortem artefaktların arasında ayırım kriteri olarak kullanılabileceği kanaatine varmıştır.

Çalışmamızda 1. kontrol grubundaki olgularda sağlam cilt bölgesi altındaki damar endotel hücrelerinde P-selektin salınımının çalışma grubundan daha fazla artmış olduğu bulunmuştur. Sağlam bölgedeki P-selektin varlığının artmasının nedeni, o bölgede ası nedeni ile kanın staza uğrayarak göllenmesi, basıya uğramış damar içerisindeki kanın çevre dokuya sızması ve hücre ölümüne kadar geçen dönem içerisinde bu bölgedeki damar lümeni endotel hücrelerinden salınan mediatörler olabilir. 1. kontrol grubu ile 2. kontrol grubu arasında sağlam cilt altındaki damar lümenlerinin endotel hücrelerinin P-selektin ile boyanma yüzdesinin 1. kontrol grubunda fazla olacak şekilde yüksek bulunması bu hipotezi desteklemektedir.

2. kontrol grubumuzda damar lümeni endotel hücrelerinde yaralanma meydana gelmemiş olmasına rağmen gözlenen bir miktar boyanma bize yapılacak çalışmalarda bulguların hemen vitalite lehine değerlendirme yapılmaması gerektiğini ve varsa yaralanma bölgesi ile çevresindeki sağlam dokularda da P-selektin boyanmasının araştırılarak karşılaştırılma yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

1. kontrol grubunda çalışma grubuna göre boyanma yüzdesi açısından P-selektin boyanmasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde gözlenen artmış boyanmanın izlenmesi Dressler'in P-selektinin vitalite bulgusu olarak değerlendirmede kullanılabileceği görüşünü desteklemekte birlikte bunun tam aksi yönde sonuçları olan çalışma da mevcuttur. Ortiz-Rey ve ark. (79) 45 insize cilt yarasını P-selektin ve CD31 boyaları ile immunohistokimyasal olarak boyamışlardır. Bu çalışmada postmortem ve vital dönemde alınan cilt örneklerinde hem yara kenarında hem karşı tarafta P-selektin ve CD31 boyanmasına bakılmış, P-selektin/CD31 indeksi hesaplanmıştır. Bulunan oranlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak P-selektin/CD31 immünreaktivitesinin vitalite tanısında yararlı olmadığı, P-selektinin vitalitenin spesifik markeri olarak düşünülmemeyeceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca P-selektin postmortem yaralarda da tespit edilmiştir.

Duda ve ark.'nın domuz kalbinde yaptıkları bir çalışmada P-selektin ekspresyonu iskemi/reperfüzyonda 15 dakika içerisinde görülürken yalnızca iskemi oluşan kalplerde gözlenmemiştir. Bu çalışma endotel reperfüzyon yaralanmasının bir örneği olarak değerlendirilmiştir (80). Bizim çalışmamızda ası telem bölgesinde reperfüzyon gerçekleşmediğinden reperfüzyonun vitalite açısından önemi değerlendirilememiştir. Bu nedenle yapılacak çalışmalarda iskemi meydana gelmiş yaralanma bölgelerinde reperfüzyonun sonradan gerçekleşip gerçekleşmediği göz önüne alınmalı ve iskemik yaralanmanın gerçekleştiği yaralanma yeri çevresindeki sağlam dokulardan da örnek alınmalıdır.

Ortiz ve ark. (81) immunohistokimyasal olarak fibronektin ve tenascini boyayarak yaptıkları çalışmalarda, yaralanmalarda birkaç dakika içinde ortaya çıktığı bildirilen fibronektinin vital yaralarda yara kenarından bitişik dermise doğru genişleyen boyanmış ağ yapısı şeklinde gözlendiğini bildirilmişlerdir. Sonuç olarak açık bir şekilde gözlenen fibronektin boyanmasının vitalite açısından yararlı olabileceğini ancak bu metodun düşük sensitivitesinin olduğunu bildirmişlerdir.

Vitalite tanısında kullanılan immunohistokimyasal yöntemlerin uygulanma güçlüğü, sensitivite, spesivite ve her zaman ulaşılama problemleri bulunmaktadır. Ayrıca dokunun fiksasyonu, antijeni ve antikoru elde etme zorlukları olabileceği gibi semikantitatif değerlendirmelerde subjektif kalabilir. Bu nedenle bir olgu değerlendirileceği zaman birden fazla marker ile analiz ve sadece pozitif reaksiyonların düşünülmesi önerilmektedir (82).

Çalışmamızın dezavantajları vitalite tanısı için yalnızca tek bir immunohistokimyasal boyama yapılması, olgu sayısının nispeten az olması, doku reaksiyonlarını etkileyebilecek faktörlerin sadece bir kısmının göz önüne alınabilmesi ve P-selektin boyanma pozitifliği ve yüzdesi açısından farklı yaralanma türleri arasında karşılaştırma yapılamamış olmasıdır. Ayrıca boyanma pozitifliği ölçülebilir objektif esasa dayanmakla beraber boyanma yüzdeleri subjektif olabilmekte ve değerlendirmeyi yapan patoloğa göre farklılık gösterebilmektedir.

Sonuç olarak her ne kadar P-selektinin ası telemine vitalitenin araştırılmasında pozitif korelasyon kurulamamakla birlikte farklı yaralanma türlerinde daha geniş olgu serileri ve daha kapsamlı faktörlerin sorgulanması ile yapılacak çalışmaların faydalı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Oehmichen M. Vitality and time course of wounds. *Forensic Sci Int* 2004;144:221-31.
2. Madea B, Grellner W. Vitale Reaktionen Teil 1. *Rechtsmedizin* 2002;12:378–394.
3. Vanezis P. Interpreting bruises at necropsy. *J Clin Pathol* 2001;54:348-55.
4. Prinsloo I, Gordon I. Post-mortem dissection artefacts of the neck and their differentiation from ante-mortem bruises. *S Afr Med J* 1951;25:358–61.
5. Carter N, Ali F, Green MA. Problems in the interpretation of hemorrhage into neck musculature in cases of drowning. *Am J Forensic Med Pathol* 1998;19:223-5.
6. Kibayashi K, Hamada K, Honjyo K, Tsunenari S. Differentiation between bruises and putrefactive discolorations of the skin by immunological analysis of glycophorin A. *Forensic Sci Int* 1993;61:111-7.
7. Bockholdt B, Maxeiner H, Hegenbarth W. Factors and circumstances influencing the development of hemorrhages in livor mortis. *Forensic Sci Int* 2005;149:133-7.
8. Nikolić S, Zivković V, Juković F, Babić D, Stanojkovski G. Simon's bleedings: a possible mechanism of appearance and forensic importance--a prospective autopsy study. *Int J Legal Med* 2009;123:293-7.
9. Koç S, Özasan A. Genel olarak asfiksiler, ası boğulma, tıka-tıkanma. Soysal Z, Çakalır C (editörler). *Adli Tıp. Cilt 1. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi;1999. 405-58.*
10. Yen K, Vock P, Christe A, Scheurer E, Plattner T, Schön C, Aghayev E, Jackowski C, Beutler V, Thali MJ, Dirnhofer R. Clinical forensic radiology in strangulation victims: forensic expertise based on magnetic resonance imaging (MRI) findings. *Int J Legal Med* 2007;121:115-23.
11. Grellner W, Madea B. Role of pulmonary macrophages and giant cells in fatal asphyxia—comment on “Is the appearance of macrophages in pulmonary tissue related to time of asphyxia?” *Forensic Sci Int* 2002;127:243–44.
12. Grellner W, Madea B. Immunohistochemical characterization of alveolar macrophages and pulmonary giant cells in fatal asphyxia. *Forensic Sci Int* 1996;79:205-13.
13. Vacchiano G, D’Armiento F, Torino R. Is the appearance of macrophages in pulmonary tissue related to time of asphyxia? *Forensic Sci Int* 2001;115:9–14.
14. Betz P, Beier G, Eisenmenger W. Pulmonary giant cells and traumatic asphyxia. *Int J Legal Med* 1994;106:258-61.

15. Betz P, Nerlich A, Penning R, Eisenmenger W. Pulmonary giant cells and their significance for the diagnosis of asphyxiation. *Int J Legal Med.* 1993;106:156-9.
16. Walcher K. Über vitale Reaktionen. *Dtsch Z. Gesamte Gerichtl Med* 1930;15:16–57.
17. Raekallio J. Estimation of the age of injuries by histochemical and biochemical methods. *Z. Rechtsmedizin* 1973;73:83-102.
18. Betz P, Nerlich A, Wilske J, Tübel J, Wiest I, Penning R, Eisenmenger W. The time-dependent rearrangement of the epithelial basement membrane in human skin wounds-immunohistochemical localization of collagen IV and VII. *Int J Legal Med* 1992;105:93-7.
19. Betz P, Nerlich A, Wilske J, Tübel J, Wiest I, Penning R, Eisenmenger W. Immunohistochemical localization of fibronectin as a tool for the age determination of human skin wounds. *Int J Legal Med* 1992;105:21-6.
20. Betz P, Nerlich A, Wilske J, Tübel J, Wiest I, Penning R, Eisenmenger W. Time-dependent pericellular expression of collagen type IV, laminin, and heparan sulfate proteoglycan in myofibroblasts. *Int J Legal Med* 1992;105:169-72.
21. Fieguth A, Kleemann WJ, Tröger HD. Immunohistochemical examination of skin wounds with antibodies against alpha-1-antichymotrypsin, alpha-2-macroglobulin and lysozyme. *Int J Legal Med* 1994;107:29-33.
22. Dressler J, Bachmann L, Kasper M, Hauck J.G, Muller E. Time dependence of the expression of ICAM-1 (CD 54) in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1997;110:299–304.
23. Dressler J, Bachmann L, Koch R, Müller E. Enhanced expression of selectins in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1998;112:39–44.
24. Grellner W, Dimmeler S, Madea B, Immunohistochemical detection of fibronectin in postmortem incised wounds of porcine skin. *Forensic Sci Int* 1998;97: 109–16.
25. Hernández-Cueto C, Lorente JA, Pedal I, Villanueva E, Zimmer G, Girela E, Miltner E. Cathepsin D as a vitality marker in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1993;106:145-7.
26. Hernández-Cueto C, Vieira DN, Girela E, Marques E, Villanueva E, Sá FO. Diagnostic ability of D-dimer in the establishment of the vitality of wounds. *Forensic Sci Int* 1995;76:141–9.
27. Ortiz-Rey JA, Suárez-Peñaranda JM, Muñoz-Barús JI, Alvarez C, San Miguel P, Rodríguez-Calvo MS, Concheiro-Carro L. Expression of fibronectin and tenascin as a demonstration of vital reaction in rat skin and muscle. *Int J Legal Med* 2003;117:356-60.
28. Ohshima T. Forensic wound examination. *Forensic Sci Int* 2000;113: 153–164.
29. Sato Y, Ohshima T. The expression of mRNA of proinflammatory cytokines during skin wound healing in mice: a preliminary study for forensic wound age estimation (II). *Int J Legal Med* 2000;113:140-5.
30. Senol E, Demirel B, Akar T, Gülbahar O, Bakar C, Bukan N. The analysis of hormones and enzymes extracted from endocrine glands

- of the neck region in deaths due to hanging. *Am J Forensic Med Pathol* 2008;29:49-54.
31. Zhu BL, Ishida K, Fujita MQ, Maeda H. Immunohistochemical investigation of a pulmonary surfactant in fatal mechanical asphyxia. *Int J Legal Med* 2000;113:268-71.
 32. Wilke N, Janssen H, Fahrenhorst C, Hecker H, Manns MP, Brabant EG, Tröger HD, Breitmeier D. Postmortem determination of concentrations of stress hormones in various body fluids--is there a dependency between adrenaline/noradrenaline quotient, cause of death and agony time? *Int J Legal Med* 2007;121:385-94.
 33. Biliakov AM. Significance of the quantitative cerebrospinal fluid content of catecholamines in the diagnosis of asphyxia in hanging. *Lik Sprava* 2002;5-6:41-3.
 34. Kondo T. Timing of skin wounds. *Legal Medicine* 2007;9:109–114.
 35. Polat O, İnanıcı MA, Aksoy M.E. Vital reaksiyonlar/yara iyileşmesi. Polat O, İnanıcı M.A, Aksoy M.E (editörler). *Adli Tıp Ders Kitabı*. İstanbul: Alemdar Ofset; 1997. 170-2.
 36. Madea B, Grellner W. Vitale Reaktionen Teil 2. *Rechtsmedizin* 2003;13:32–48.
 37. Eken A, Çakmak SK. Adezyon molekülleri ve deri hastalıklarındaki rolü. *Türkiye Klinikleri Dermatol* 2003;13:183-96.
 38. Falanga A, Marchetti M. Oncology. In: O'Shaughnessy D, Makris M, Lillicrap D (eds). *Practical hemostasis and thrombosis*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2005. 190-200.
 39. Bloor DJ, Metcalfe AD, Rutherford A, Brison DR, Kimber SJ. Expression of cell adhesion molecules during human preimplantation embryo development. *Mol Hum Reprod* 2002;8:237-45.
 40. Campbell S, Swann HR, Seif MW, Kimber SJ, Aplin JD. Cell adhesion molecules on the oocyte and preimplantation human embryo. *Hum Reprod* 1995;10:1571-8.
 41. Taneyhill LA. To adhere or not to adhere: the role of Cadherins in neural crest development. *Cell Adh Migr* 2008;2:223-30.
 42. Bochner B.S. Adhesion molecules in allergic disease. New York: Marcel Dekker Inc; 1997.
 43. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules--Part 1. *N Engl J Med* 1996; 334:1526-9.
 44. Fukuda M. Roles of mucin-type O-glycans in cell adhesion. *Biochim Biophys Acta* 2002;1573:394-405.
 45. Taçyıldız N, Çavdar AO. Adezyon molekülleri ve metastaz. *Ankara Tıp Mecmuası*. 1995;48:199-214.
 46. Etzioni A. Adhesion molecules-Their role in health and disease. *Pediatric Research* 1996;39:191-8.
 47. Brady HR. Leukocyte adhesion molecules and kidney diseases. *Kidney Int* 1994;45:1285-300.
 48. Ergüler G, Demir N, Demir R. Adezyon Moleküllerinin Yapısal Özellikleri ve Fonksiyonları. *T Klin J Med Sci* 2002;22:313-27.


49. Jutila MA. The selectin family. In: Lee AG (ed). Biomembranes a multi-volume treatise volume 3 receptors of cell adhesion and cellular recognition. Greenwich: Jai Press Inc; 1996. 183-204.
50. Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc Biol* 1994;55:662-75.
51. McEver RP. P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1). In: Ley K (ed). Progress in inflammation research adhesion molecules adhesion molecules: function and inhibition. Berlin: Birkhäuser Verlag AG; 2007. 3-25.
52. Vestweber D, Blanks JE. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev* 1999;79:181-213.
53. Lowe JB. Glycan-dependent leukocyte adhesion and recruitment in inflammation. *Curr Opin Cell Biol* 2003;15:531-8.
54. Barker JN. Leukocyte trafficking in skin diseases. In: Barker J, McGrath J (eds). Cell adhesion and migration in skin disease. Australia: CRC Press; 2001. 163-9.
55. McEver RP. Selectins: lectins that initiate cell adhesion under flow. *Curr Opin Cell Biol* 2002;14:581-6.
56. Steinhoff G. Cell Adhesion molecules in organ transplantation. 2nd edition. Hannover: R.G. Landes Company; 1998.
57. Cruse JM, Lewis RE. Molecules, Cells, and tissues of the immune Response. In: Cruse JM, Lewis RE (eds). Atlas of immunology. 2nd edition. USA: CRC Press; 2004. 25-104.
58. Johnston GI, Cook RG, McEver RP. Cloning of GMP-140, a granule membrane protein of platelets and endothelium: sequence similarity to proteins involved in cell adhesion and inflammation. *Cell* 1989;56:1033-44.
59. Ushiyama S, Laue TM, Moore KL, Erickson HP, McEver RP. Structural and functional characterization of monomeric soluble P-selectin and comparison with membrane P-selectin. *J Biol Chem* 1993;268:15229-37.
60. Crovello CS, Furie BC, Furie B. Histidine phosphorylation of P-selectin upon stimulation of human platelets: a novel pathway for activation-dependent signal transduction. *Cell* 1995; 82:279-86.
61. Isacke CM, Horton MA. P-selectin. In: Isacke CM, Horton MA (eds). The adhesion molecule factsbook. 2nd edition. Trowbridge: Academic Press; 2000. 220-22.
62. Timothy MC, Harlan JM. Adhesion molecules. *Blood* 1994; 84:2068-101.
63. McEver RP, Beckstead JH, Moore KL, Marshall-Carlson L, Bainton DF. GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* 1989;84:92-9.
64. McEver RP, Cummings RD. Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. *J Clin Invest* 1997;100:485-492.

65. Ley K. The Microcirculation in Inflammation. In: Tuma RF, Duran WN, Ley K (eds). Handbook of physiology: Microcirculation. 2nd edition. USA: Academic Press; 2008. 387-448.
66. Moore KL, Patel KD, Bruehl RE, et al. P-selectin glycoprotein ligand-1 mediates rolling of human neutrophils on P-selectin. *J Cell Biol* 1995;128:661-71.
67. D'Andrea G, Bafunno V, Del Vecchio L, et al. A beta3 Asp217-->Val substitution in a patient with variant Glanzmann Thrombasthenia severely affects integrin alphaIIb beta3 functions. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008;19:657-62.
68. Leppänen A, Mehta P, Ouyang YB, et al. A novel glycosulfopeptide binds to P-selectin and inhibits leukocyte adhesion to P-selectin. *J Biol Chem* 1999;274:24838-48.
69. Leppänen A, White SP, Helin J, McEver RP, Cummings RD. Binding of glycosulfopeptides to P-selectin requires stereospecific contributions of individual tyrosine sulfate and sugar residues. *J Biol Chem* 2000;275:39569-78.
70. Somers WS, Tang J, Shaw GD, Camphausen RT. Insights into the Molecular Basis of Leukocyte Tethering and Rolling Revealed by Structures of P- and E-Selectin Bound to SLe^X and PSGL-1. *Cell* 2000;103:467-79.
71. Jones DA, Abbassi O, McIntire LV, McEver RP, Smith CW. P-selectin mediates neutrophil rolling on histamine-stimulated endothelial cells. *Biophys J* 1993;65:1560-9.
72. Frenette PS, Mayadas TN, Rayburn H, Hynes RO, Wagner DD. Susceptibility to infection and altered hematopoiesis in mice deficient in both P- and E-selectins. *Cell* 1996;84:563-74.
73. Hidalgo A, Ma S, Peired AJ, Weiss LA, Cunningham-Rundles C, Frenette PS. Insights into leukocyte adhesion deficiency type 2 from a novel mutation in the GDP-fucose transporter gene. *Blood* 2003;101:1705-12.
74. Kirveskari J, Helintö M, Moilanen JA, Paavonen T, Tervo TM, Renkonen R. Hydrocortisone reduced in vivo, inflammation-induced slow rolling of leukocytes and their extravasation into human conjunctiva. *Blood* 2002;100:2203-7.
75. Quarmby S, Kumar P, Kumar S. Radiation-induced normal tissue injury: role of adhesion molecules in leukocyte-endothelial cell interactions. *Int J Cancer* 1999;82:385-95.
76. Dressler J, Bachmann L, Strejc P, Koch R, Müller E. Expression of adhesion molecules in skin wounds: diagnostic value in legal medicine. *Forensic Sci Int* 2000;113:173-6.
77. Weis A, Bohnert M. Expression patterns of adhesion molecules P-selectin, von Willebrand factor and PECAM-1 in lungs: a comparative study in cases of burn shock and hemorrhagic shock. *Forensic Sci Int* 2008;175:102-6.
78. Wyss A, Lasczkowski G. Vitality and age of conjunctival petechiae: the expression of P-selectin. *Forensic Sci Int* 2008;178:30-3.

79. Ortiz-Rey JA, Suárez-Peñaranda JM, San Miguel P, Muñoz JI, Rodríguez-Calvo MS, Concheiro L. Immunohistochemical analysis of P-Selectin as a possible marker of vitality in human cutaneous wounds. *J Forensic Leg Med* 2008;15:368-72.
80. Duda M, Czarnowska E, Kurzelewski M, Konior A, Beresewicz A. Ischemic preconditioning prevents endothelial dysfunction, P-selectin expression, and neutrophil adhesion by preventing endothelin and O₂-generation in the post-ischemic guinea-pig heart. *J Physiol Pharmacol* 2006;57:553-69.
81. Ortiz-Rey JA, Suárez-Peñaranda JM, Da Silva EA, et al. Immunohistochemical detection of fibronectin and tenascin in incised human skin injuries. *Forensic Sci Int* 2002;126:118-22.
82. Betz P. Immunohistochemical parameters for the age estimation of human skin wounds. A review. *Am J Forensic Med Pathol* 1995;16:203-9.

EKLER

EK 1: Aydınlatılmış Onam Örneği.

	UÜ-SK TIBBİ ARAŞTIRMALARA KATILIM İÇİN AYDINLATILMIŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU		
	Dok.Kodu : FR-HYH-07	İlk Yay.Tarihi : 15 Mart 2006	Sayfa 1 / 4
	Rev. No : 02	Rev.Tarihi : 04 Nisan 2008	

LÜTFEN BU DÖKÜMANI DİKKATLİCE OKUMAK İÇİN ZAMAN AYIRINIZ

Sayın.....

Sizi, nedeni ile ölmüş olan yakınınızdan (.....) aşağıda belirtilen Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı tarafından yürütülen "**Ası teleminde vitalite bulgusu olarak P-selektin varlığının araştırılması**" başlıklı çalışma amacı ile bilgilendirmek ve bu çalışmaya davet etmek istiyorum. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın niçin yapıldığını, nasıl yapılacağını ve bu araştırmanın gönüllü katılımcılara getireceği olası faydaları, riskleri ve rahatsızlıklarını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. İsterseniz bu bilgileri aileniz, yakınlarınız ve/veya doktorunuzla tartışınız. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz. Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde, gerekli yerleri siz, doktorunuz ve kuruluş görevlisi bir tanık tarafından doldurulan bu formun bir kopyası saklamanız için size verilecektir.

Araştırmaya onam vermek tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya onam verip vermeme ve bir anda ölmüş olan yakınınızı çalışmadan çıkarma hakkına sahipsiniz. Her iki durumda da bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır.

Araştırma Sorumlusu
Dr. Erol BADUROĞLU

Araştırma Sorumlusu
Doç. Dr. Recep FEDAKAR

1- YAPILACAK ARAŞTIRMANIN

1.1- BAŞLIĞI:Ası teleminde vitalite bulgusu olarak P-selektin varlığının araştırılması

1.2- İÇERİK VE AMACI:

Bu çalışmada Adalet Bakanlığı Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesine ası nedeni ile getirilen kişilerin boynundaki ası izinin bulunduğu cilt bölgesinde vitalite bulgusu olarak P-selectin varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışma araştırma amaçlıdır.

1.3- İZLENECEK OLAN YÖNTEM VE YAPILACAK İŞLEMLER:

Çalışmanın Başlığı: Ası teleminde vitalite bulgusu olarak P-selektin varlığının araştırılması

Çalışmanın Kod Numarası:

Bu doküman Uludağ Üniversitesi Rektörlüğü'ne aittir. Başkaları tarafından kullanılamaz ve çoğaltılamaz.



UÜ-SK TIBBİ ARAŞTIRMALARA KATILIM İÇİN AYDINLATILMIŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Dok.Kodu	: FR-HYH-07	İlk Yay.Tarihi	: 15 Mart 2006	Sayfa 2 / 4
Rev. No	: 02	Rev.Tarihi	: 04 Nisan 2008	

Çalışma Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesine getirilen olgular üzerinde yapılacaktır. Çalışma grubu ası nedeni ile boynunda ası izi olanlar, kontrol grubu ise ası dışındaki diğer nedenlerden ölenlerin boyun bölgesindeki sağlam cilt dokularından oluşacaktır. Her iki grupta da çürüme dışlama kriteridir. Alınan boyun cilt örnekleri formaldehite konularak saklanacak, parafinize edilen cilt örnekleri üreticinin talimatlarına uygun olarak P-selectin immunhistokimya boyası ile boyanarak ışık mikroskopu altında incelenecektir.

Boyun cilt örnekleri 1 defa alınacak olup, otopsi esnasındaki geçen kesi hattından 1x1 cm.lik örnek alınacağı için otopsi sonrasındaki dikme işlemi ile ek bir dikme uygulanmayacak ve otopsi işlemine ait dikiş izleri dışında görünüme bir değişiklik meydana getirmeyecektir.

2- YAPILACAK ARAŞTIRMANIN:

2.1- SÜRESİ: 1 yıl

2.2- KATILMASI BEKLENEN OLGU SAYISI: 50

2.3- ÇALIŞMADAN BEKLENEN OLASI FAYDALAR: Kişinin canlı olarak asılıp asılmadığı hususunda ek bilgi vermesi beklenmektedir.

2.4- ÇALIŞMANIN GETİREBİLECEĞİ EK RİSK VE RAHATSIZLIKLAR: Yok

3- KATILMA VE ÇIKMA:

Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya onam verip vermemeye hakkına sahiptir. Ayrıca sorumlu araştırmacı gerek duyarsa sizin yakınınızı çalışma dışı bırakabilir. Ölmüş olan yakınınızın çalışmaya katılmama, çalışmadan çıkma veya çıkarılma durumlarında bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır.

4- MASRAFLAR :


Sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir.

5- GİZLİLİK:

Bu çalışmadan elde edilen bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacak ve kimlik bilgileriniz kesinlikle gizli tutulacaktır.

Ben,, [olgu yakını adı,soyadı
Kendi el yazısı ile] yukarıdaki metni okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. Çalışma hakkında soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın

Çalışmanın Başlığı: Ası telemide vitalite bulgusu olarak P-selektin varlığının araştırılması

	UÜ-SK TIBBİ ARAŞTIRMALARA KATILIM İÇİN AYDINLATILMIŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU		
	Dok.Kodu : FR-HYH-07	İlk Yay.Tarihi : 15 Mart 2006	Sayfa 3 / 4
Rev. No : 02	Rev.Tarihi : 04 Nisan 2008		

muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı. Bu çalışmayı istediğim zaman ve herhangi bir neden belirtmek zorunda kalmadan bırakabileceğimi ve bıraktığım zaman tedavimi üstlenenlerin herhangi bir ters tutumu ile karşılaşmayacağımı anladım.

Bu koşullarda söz konusu Klinik Araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı (çocuğumun / vasimin bu çalışmaya katılmasını) kabul ediyorum.

Olgu yakını (Kendi el yazısı ile)

Adı-Soyadı:

İmzası :

Adresi:

(varsa Telefon No, Faks No):

Tarih (gün/ay/yıl) :/...../.....

Velayet veya Vesayet Altında Bulunanlar İçin

Veli veya Vasisinin (Kendi el yazısı ile)

Adı-Soyadı :

İmzası :

Adresi:

(varsa Telefon No, Faks No):

Tarih (gün/ay/yıl) :/...../.....

Açıklamaları Yapan Araştırmacının (Doktorun)

Adı-Soyadı :Erol BADUROĞLU

İmzası :

Tarih (gün/ay/yıl) :/...../.....

Çalışmanın Başlığı: Ası telemde vitalite bulgusu olarak P-selektin varlığının araştırılması



**UÜ-SK TIBBİ ARAŞTIRMALARA KATILIM İÇİN
AYDINLATILMIŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU**

Dok.Kodu	: FR-HYH-07	İlk Yay.Tarihi	: 15 Mart 2006	Sayfa
Rev. No	: 02	Rev.Tarihi	: 04 Nisan 2008	4 / 4

Onay Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin

Adı-Soyadı:.....

İmzası:.....

Görevi:.....

Tarih (gün/ay/yıl) :/...../.....

Bu çalışma U.Ü. Tıp Fakültesi "Tıbbi Araştırma Etik Kurulu" tarafından onaylanmıştır.

Onay Tarihi:

Onay No:

Not: Bu formun bir kopyası gönüllüde kalacak, diğer kopyası ise hasta dosyasında "onamlar" separatorü altına yerleştirilecektir. Hasta dosyası veya protokol numarası olmayan sağlıklı gönüllülerden alınacak onam formunun bir kopyası mutlaka sorumlu araştırmacı tarafından saklanacaktır.

Çalışmanın Başlığı: Ası teleminde vitalite bulgusu olarak P-selektin varlığının araştırılması

Bu doküman Uludağ Üniversitesi Rektörlüğü'ne aittir. Başkaları tarafından kullanılamaz ve çoğaltılamaz.

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimim süresince yakın ilgi ve desteklerini esirgemeyen, mesleki tecrübe ve bilgilerinden her zaman yararlanma olanağı bulduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Atınç ÇOLTU, Prof. Dr. Dilek DURAK ve Nursel TÖRKMEN'e, tezimin hazırlanmasında büyük ilgi ve katkıları olan Doç. Dr. Recep FEDAKAR'a en derin saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Adli Tıp Anabilim Dalı çalışma arkadaşlarından Dr. Selçuk ÇETİN ve Dr. Ertuđrul GÖK'e, tezime Patoloji Anabilim Dalı olarak katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Őaduman BALABAN ADIM ve Dr. İbrahim ŐEHİTOđLU'na çok teşekkür ederim.

Dr. Erol BADUROğLU

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Zonguldak'ta doğdum. İlk ve orta ve lise öğrenimimi Gökçebey'de okudum. 1993 yılında başladığım Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2000 yılında mezun oldum. 2000-2006 yılları arasında Zonguldak ili Devrek ve Gökçebey ilçelerinde köy ve merkez Sağlık Ocaklarında pratisyen hekim olarak çalıştım. 2006 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen bu bölümde eğitime devam etmekteyim.