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

POSTMORTEM İNCELEMELERDE İNFRARED SPEKTROSKOPİ TEKNİĞİ İLE EKİMOZ YAŞI TAYİNİ

Dr. Selma ÖZTÜRK

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa Talip ŞENER

ERZURUM-2024

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Adı, Soyadı : Selma ÖZTÜRK

Anabilim Dalı : Adli Tıp Anabilim Dalı

Tez Danışmanı ve Atanma Tarihi: Prof. Dr. Mustafa Talip ŞENER 18.05.2022

Sınav tarihi: 26 / 02 / 2024

Tezin Konusu ve Başlığı: Postmortem İncelemelerde İnfrared Spektroskopi Tekniği İle Ekimoz Yaşı Tayini

Belirlenme Tarihi :18.05.2022

Tezin Niteliği : ☒ Tıpta Uzmanlık Tezi
☐ Klinik Çalışmalar ( ) Prospektif ( ) Retrospektif ( ) Kesitsel
☐ Laboratuvar Çalışmaları ( ) Invitro (Cansız) Çalışmaları ( ) Hayvan Çalışmaları

Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: ☐ Yüz yüze katılım sağlanarak ☒ Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)

II. KARAR

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçenin tezinin, jüri üyelerince "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak;

☒ Kabulüne

1.Tez Sınavı ☐ Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY'nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine)

2.Tez Sınavı ☐ Reddine (TUEY'nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişiğinin kesilmesine)

☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

III. AÇIKLAMALAR

Lütfen, tezin reddi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

IV. JÜRİ ÜYELERİ

	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Ahmet Nezih KÖK	Adli Tıp	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Mustafa Talip ŞENER	Adli Tıp	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Sait ÖZSOY	Adli Tıp	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı	

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 18.05.2022 tarih ve E.2200149062 sayılı yazısı ile "Postmortem İncelemelerde İnfrared Spektroskopi Tekniği İle Ekimoz Yaşı Tayini" konulu tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Selma ÖZTÜRK tarafından çalışılması uygun görülmüştür. Seçilen konu incelenmek üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığınca görüşülmüş ve 02.06.2022 tarih 5 sayılı kararınca çalışma etik kurallara uygun görülmüştür.

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **iv**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
TEŞEKKÜR ..... **viii**
ÖZET ..... **x**
ABSTRACT ..... **xii**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Travma, Tanımı ve Travmanın Adli Tıp Açısından Önemi 3
2.2. Travmatik Yaralar 4
2.3. Künt Travmatik Yaralar 4
2.3.1. Ekimoz 5
2.3.2. Ekimozun Türleri ve Özellikleri 6
2.3.3. Ekimoz Yaşının Tespiti 10
2.3.4. Ekimozun Adli Tıp Açısından Önemi 14
2.4. İnfrared Spektroskopi 15
2.4.1. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) Spektroskopisi 18
2.4.2. ATR-FTIR Spektroskopisi 20
2.4.3. FTIR Spektroskopisinin Avantajları 22
2.4.4. Kemometrik Analiz Metotları 22
2.4.4.1. Gözetimsiz Örüntü Tanımlama Metotları 23
2.4.4.1.1. Temel Bileşen Analizi (PCA) 23
2.4.4.1.2. Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA) 23
2.4.4.2. Gözetimli Örüntü Tanımlama Metotları 24
2.4.4.2.1. SIMCA (Soft Independent Modelling by Class Analogy) 24
2.4.4.2.2. Yapay Sinir Ağları (YSA) 24
2.4.4.2.3. Destek Vektör Makineleri (SVM) 25
3. GEREÇ VE YÖNTEM **26**

3.1. Etik Onay 26
3.2. Örneklerin Elde Edilmesi.....26
3.3. Örneklerin Sınıflandırılması 27
3.4. Örneklerin Histopatolojik İncelenmesi.....28
3.5. Doku Örneklerine Ait Spektrum Datalarının Elde Edilmesi 28
3.6. Kemometrik Analizler 30
3.6.1. Gözetimsiz Kemometrik Analizler 31
3.6.2. Gözetimli Kemometrik Analizler 32
4. BULGULAR.....33
4.1 Histopatolojik Bulgular 34
4.2. ATR-FTIR Spektroskopik Bulgular.....40
5. TARTIŞMA.....51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 60
KAYNAKLAR.....62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Yara iyileşme sürecinin şematik gösterimi 8
Şekil 2. Yara iyileşme sürecinde rol oynayan temel hücreler ve bunların yara iyileşme sürecine etkileri 9
Şekil 3. Elektromanyetik spektrum 16
Şekil 4. Lineer ve lineer olmayan üç atomlu bir molekülün normal titreşim tipleri. . 17
Şekil 5. Enerji seviyesi diagramı 18
Şekil 6. FT-IR spektrometresinin şematik gösterimi 19
Şekil 7. Elektromanyetik spektrum ve İnfrared bölgesinin alt bölgeleri 19
Şekil 8. İlgili fonksiyonel gruplarla birlikte 3.000-800 cm^{-1} dalga sayısında biyomoleküllerin tipik FTIR spektrumları. 20
Şekil 9. ATR-FTIR Spektrometresinin Şematik Gösterimi. 21
Şekil 10. Eksizyon öncesi deri dokularının görüntüsü 27
Şekil 11. Bruker Vertex 70 ATR-FTIR spektrometresi 29
Şekil 12. FT-IR spektrometresi kristali 29
Şekil 13. Kontrol grubuna ait cilt dokusu, normal histomorfolojik görünümde epidermis,deri ekleri ve subepidermal hücreler. 35
Şekil 14. Kontrol gruba ait cilt dokusu. (Pearls Prussian Blue boyası) 36
Şekil 15. YE grubuna ait cit dokusundaki kesitlerde serbest kanama alanları 37
Şekil 16. YE grubuna ait bölgesinden alınan cilt örneği 38
Şekil 17. EE grubuna ait alandan örneklenen cilt dokusunda kahverenkli görülen hemotoidin partikülleri 39
Şekil 18. EE grubuna ait cilt dokusuna ait deri örneği 40
Şekil 19. Kontrol grubuna ait spektrumda elde ettiğimiz majör pikler 41
Şekil 14. Eski Ekimoz grubuna ait spektrumda elde ettiğimiz majör pikler 42
Şekil 20. Yeni Ekimoz grubuna ait spektrumda elde ettiğimiz majör pikler 42
Şekil 21. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Kontrol ile Yeni Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği. 44
Şekil 22. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Eski Ekimoz ile Yeni Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği. 45

Şekil 23. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Kontrol ile Eski Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği. 46
Şekil 24. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Kontrol, Eski Ekimoz ile Yeni Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği. 47
Şekil 25. Kontrol ve Yeni Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği. 48
Şekil 26. Kontrol ve Eski Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği. 48
Şekil 27. Yeni Ekimoz ve Eski Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği. 49
Şekil 28. Kontrol, Yeni Ekimoz ve Eski Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği. 49
Şekil 29. Kontrol, Yeni Ekimoz ve Eski Ekimoz gruplarında eğitici veri setine ait 4000-400 cm^{-1} spektral bölgede SVM ayrım grafiği. 50

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Ekimoz oluşumuna etki eden faktörler 7
Tablo 2. Zamanla ekimozdaki renk değişimin özeti 10
Tablo 3. Otopsi olgularından elde edilen örneklerin sınıflandırılması. 28
Tablo 4. HCA kümelenme sonucuna göre grupların duyarlılık ve özgüllük bileşenlerinin gösterimi. 31
Tablo 5. Grupların dağılımı 33
Tablo 6. Olguların cinsiyete göre dağılımı 33
Tablo 7. Olguların yaş dağılımı 33
Tablo 8. Travma grubunun ekimoz kaynağına göre dağılımı 34
Tablo 9. Travma olgularının süre bakımından dağılımı 34
Tablo 10. Çalışmamızda saptadığımız ve literatürde bahsedilen deri dokusundaki belirgin spektral bantların konumları ve tanımları 43

KISALTMALAR DİZİNİ

µm	: mikrometre
ATR	: Azaltılmış Toplam Yansıma Ünitesi
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
DAYTAM	: Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi
FEW	: Fiber Optik Geçici Dalga
FTIR	: Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi
H&E	: Hematoksilen Eozin
HCA	: Hiyerarşik Kümeleme Analizi
Hz	: Hertz
IR	: Kızılötesi
MIR	: Orta Kızılötesi Bölgesi
nm	: nanometre
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PMI	: Ölüm Sonrası Aralık
SC	: Stratum Korneum
SIMCA	: Soft İndependent Modelling By Class Analogy
SVM	: Destek Vektör Makinesi
YSA	: Yapay Sinir Ağları

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, tez konusunun belirlenmesinde ve çalışmanın yürütülmesinde katkılarını esirgemeyen, tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Mustafa Talip ŞENER'e,

Adli Tıp Anabilim Dalı'nda asistanlık eğitim sürecinde kendisinden çok şey öğrendiğim, tecrübesi ve bilgisi ile yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam ve aynı zamanda Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ahmet Nezih KÖK'e,

Bu çalışmamın başından sonuna kadar gece gündüz demeden bana fikirleriyle ve çabalarıyla yardımcı olan, spektroskopik çalışmalarda destek olup yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Nihal ŞİMŞEK ÖZEK'e,

Tezimin histopatolojik incelemelerinde büyük emeği ve yardımları olan Doç. Dr. Ebru ŞENER'e

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalında asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışma fırsatı bulduğum arkadaşlarıma, değerli hemşiremiz Hayrun TOSUNOĞLU EFE'ye ve tüm personele,

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalında görev alan tez sürecinde yardımlarını esirgemeyen kıymetli arkadaşım Arş. Gör. Dr. Türkan Elif TAŞTAN'a,

Erzurum Adli Tıp Grup Başkanlığında görev alan, tez sürecinde yardımlarını esirgemeyen başta Uzm. Dr. Büşra BAYDEMİR KILINÇ ve Fikret MASATTAŞ olmak üzere tüm personele,

Laboratuvar alanları ve cihazları sağladığı için Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne, (DAYTAM)

Çalışma için gerekli malzemelerin temini konusunda maddi destek sağlayan Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma ve Proje Ofisi'ne (BAP),

Her daim benim mutluluğumu düşünen, varlıklarıyla bana güç veren, maddi-manevi desteklerini hep hissettiğim, canım annem, canım babam, kıymetli ablalarım ve abim olmak üzere aileme,

Ve son olarak; yanımda olduğu için her zaman çok şanslı hissettiğim, zor zamanlarımda sevgisiyle bana güç veren, her zaman beni destekleyen, sevgili eşim Yakup ÖZTÜRK'e, tez sürecinde dünyaya gelen ve hayatıma anlam katan canım oğlum Mehmet Han'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Selma ÖZTÜRK

ÖZET

Postmortem İncelemelerde İnfrared Spektroskopi Tekniği İle Ekimoz Yaşı Tayini

Travmatik ölüm olgularında, künt travmanın bir belirleyicisi olarak ekimoz sıklıkla gözlemlenir. Ölüm, travmatik olayın hemen ardından meydana gelebileceği gibi, daha sonraki saatlerde ya da günlerde de ortaya çıkabilir. Bu nedenle, postmortem incelemelerde ekimozun varlığının tespiti, travmanın gerçekleştiğini göstermenin ötesinde, ekimoz yaşının belirlenmesi, olayın gerçekleştiği zamanı ve hayatta kalma süresini gösteren önemli bir belirteçtir. Özellikle, adli makamlara suç olaylarının kronolojisi hakkında bilgi sağlamak ve neden-sonuç ilişkilerini belirleme konusunda önemli bilgiler sunabilir.

Klinik adli tıp uygulamalarında, ekimozun yaşını belirlemek için yapılmış birçok çalışma mevcuttur; ancak, ekimozun yaşının tespiti çoğu kez zor olup, kesin bir yöntem de bulunmamaktadır. Bu çalışmada, postmortem tanıda ekimoz yaşını daha hızlı, kolay, yüksek doğruluk ve özgüllük sağlayan bir yöntem geliştirmeyi amaçladık. Bu hedef doğrultusunda, 35 olgu üzerinden yapılan postmortem incelemelerde deri dokuları üzerinde histopatolojik inceleme, ATR-FTIR spektroskopik ölçümler ve kemometrik analizler gerçekleştirdik. Çalışma kapsamında travma sonrası ekimoz oluşan ve en fazla 24 saat içerisinde ölüm gerçekleşen olgular yeni ekimoz grubu (YE) olarak; travma sonrasında 24. saatten sonra ölüm gerçekleşen olgulardan alınan deri örnekleri de eski ekimoz grubu (EE) olarak belirlendi. Hiçbir travma bulgusu olmayan olguların cilt doku örnekleri ise kontrol (K) grubunu oluşturmaktadır. Toplamda 35 otopsi olgusundan cilt örnekleri alındı. Bunlardan 7'si EE grubu, 17'si YE grubu, 11'i ise K grubu olarak inceleme için çalışmaya dahil edildi. Elde edilen spektral veriler, kemometrik yöntemlerle elde edilen PCA (Temel Bileşen Analizi) bulgularını desteklemiştir. Hem HCA (Hiyerarşik Kümeleme Analizi) dendrogramları hem de SVM (Destek Vektör Makinesi) ayrım grafiği sonuçlarına göre, her üç grubun da %100 hassasiyet, özgüllük ve doğrulukla birbirinden ayrıldığı gözlemlenmiştir.

Yürütmüş olduğumuz bu tez çalışmasında, postmortem incelemelerde, adli tahkikat bilgileri, ölü muayene, otopsi ve histopatolojik inceleme bulgularının yanında, ATR-FTIR spektroskopisinin ekimozun belirlenmesinde ve ortaya çıkma süresi bakımından eski ya da yeni olup olmadığını ayırt etmede güçlü bir tamamlayıcı yöntem olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Adli tıp, otopsi, travma, yara yaşı, ekimoz, FT-IR Spektroskopisi.

ABSTRACT

Determination of the Age of Bruises with Infrared Spectroscopy Technique in Postmortem Examinations

In cases of traumatic death, ecchymosis is frequently encountered as an important marker of blunt trauma. Death may occur immediately after the trauma or in the following hours or days. Therefore, in postmortem examinations, the detection of the presence of ecchymosis shows that the trauma has occurred, and the determination of the age of ecchymosis is an important finding that can show the time of the event and the duration of survival. In particular, it can provide important information to forensic authorities about the chronology of criminal events and to determine cause-effect relationships.

In clinical forensic medicine practice, there are many studies to determine the age of ecchymosis; however, it is often difficult to determine the age of ecchymosis and there is no certain method. In this study, we aimed to develop a faster, easier, high accuracy and specificity method to determine the age of ecchymosis in postmortem diagnosis. In line with this goal, we performed histopathological examination, ATR-FTIR spectroscopic measurements and chemometric analyses on skin tissues in postmortem examinations of 35 cases. Within the scope of the study, cases in which ecchymosis occurred after trauma and death occurred within 24 hours at most were defined as new ecchymosis group (YE), and skin samples taken from cases in which death occurred after 24 hours after trauma were defined as old ecchymosis group (EE). The skin tissue samples of the cases without any trauma findings constituted the control (C) group. Skin samples were taken from 35 autopsy cases in total. Of these, 7 were included in the EE group, 17 in the YE group and 11 in the K group. The spectral data obtained supported the PCA (Principal Component Analysis) findings obtained by chemometric methods. According to the results of both HCA (Hierarchical Clustering Analysis) dendrograms and SVM (Support Vector Machine) discrimination graphs, it was observed that all three groups were separated from each other with 100% sensitivity, specificity and accuracy.

In this thesis study, we have shown that ATR-FTIR spectroscopy is a powerful complementary method in postmortem examinations, in addition to forensic investigation information, necropsy, autopsy and histopathological examination findings, to determine the ecchymosis and to distinguish whether it is old or new in terms of the time of appearance.

Keywords: Forensic medicine, trauma, wound age, ecchymosis, FT-IR Spectroscopy.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klinik adli tıp uygulamalarında, olası bir künt travmanın objektif bir bulgusu olarak ekimoz karşımıza çıkmaktadır (1). Ekimoz varlığının tespiti, travmanın gerçekleştiğini göstermekle birlikte, olayın meydana geldiği zamanı ve hayatta kalma süresini gösterebilecek adli tıp uygulamalarında önemli bir belirteçtir (2). Özellikle, adli makamlara suç olaylarının kronolojisi hakkında bilgi sağlama ve neden-sonuç ilişkilerini belirleme noktasında önemli bilgiler sağlayabilir.

Literatürde ve adli tıp uygulamalarında, ekimoz yaşının belirlenmesinde, direkt gözlem, fotoğrafik değerlendirme, histopatolojik inceleme gibi çeşitli yöntemler bulunmakla birlikte, ekimozun kesin yaş tayini konusunda bu yöntemler yetersiz kalmaktadır. Ayrıca mevcut yöntemlerden bilhassa histopatolojik incelemeler, elde edilen ve incelenen materyale zarar verebileceğinden, ihtiyaç halinde ileri inceleme yapılmasını engelleyebilir (3,4).

Son yıllarda adli tıp alanında FT-IR (Fourier Transform Infrared) spektrokopisi ile yapılan çalışma sayısı artmıştır (5). FT-IR spektroskopisi, infrared spektroskopi yöntemlerinden biri olup, incelenen materyale zarar vermeden (6), hazırlama süreci gerektirmeyen, kullanıcıdan bağımsız, ucuz, tekrarlanabilen, güvenilir bir yöntemdir. Bu özellikler FT-IR spektroskopisini, kullanım kolaylığı, etkinlik ve fayda maliyet dengesi açısından üstün kılmaktadır (7).

Biz yaptığımız bu tez çalışması ile FT-IR tekniği ile postmortem muayenede saptanan ekimozun yaşını belirlemeyi amaçladık. Çalışmamızda postmortem incelemede gruplar iki şekilde oluşturulmuştur. Birinci grup, ekimoz yara yaşı bilinen travma grubu olup, eski ve yeni ekimoz şeklinde iki alt gruba ayrılmıştır. İkinci grup ise; kontrol grubu olup, bu grubu ise, hiçbir travma bulgusu olmayan olguların cilt doku örnekleri oluşturmaktadır. Çalışma kapsamında toplanan doku örnekleri ile FT-IR spektrumu elde edilmiş, elde edilen spektrumlara kemometrik analiz yöntemleri uygulanarak grupların birbirinden ayrımı tespit edilmeye çalışılmıştır. Ekimoz yaşının ayırt edici doku moleküler kompozisyon değişimleri elde edilmesi halinde; ekimoz

yaşının postmortem tanısında daha hızlı, kolay, doğruluğu ve özgüllüğü yüksek bir yöntem geliştirilmiş olunacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Travma, Tanımı ve Travmanın Adli Tıp Açısından Önemi

Travma, vücutta yapısal ve fizyolojik değişikliklere neden olan mekanik, termal, elektriksel veya kimyasal enerjilerin etkisiyle meydana gelen hasardır (8). Travma, özellikle genç yetişkinlerde meydana gelen yaralanma ve ölümlerin en sık nedenleri arasında yer almaktadır. Hastalıklara nazaran kazalar ve diğer çeşit yaralanmalar, genç erişkinler arasında çok daha fazla sayıda kimsenin ölmesine neden olmaktadır (9,10).

Postmortem incelemelerde bir yaranın yaşını belirlemek zor olabilir (11,12), ancak bu, ölüm ile yara arasındaki ilişkiyi doğru bir şekilde değerlendirmek için belirlenmesi gereken önemli bir konudur (13). Travma sonrası meydana gelen ölüm vakalarında, yaralanmanın kişi hayattayken mi yoksa agonal veya postmortem dönemde mi meydana geldiği ve yaranın oluşmasından sonra mağdurun ne kadar süre hayatta kaldığı gibi sorulara cevap aranmaktadır (4). Birden fazla travmanın olduğu durumlarda, farklı suçlular tarafından gerçekleştirilen yaralanmaların zamanlaması ve sırası belirlenmelidir; çünkü ceza genellikle yaralanmanın ciddiyetine bağlı olarak değişir.

Adli tıp uygulamalarında, postmortem yaralar, suç mahallindeki olayların nasıl geliştiğini anlamaya yardımcı olurken, antemortem yaralar, ölüme yol açan travmaya kadar geçen süre veya daha sonraki olayların açıklanmasına yardımcı olabilir (14). Lezyonların, postmortem değişiklik, tıbbi tedaviye bağlı artefakt ya da travmaya bağlı antemortem yara olup olmadığı değerlendirilmelidir (15). Ayrıca tespit edilen yaralanmanın ölüme neden olduğu düşünülüyorsa, ölümden ne kadar süre önce oluştuğunun belirlenmesi de adli olayların aydınlatılmasında gereklidir (16). Örneğin, el parmak eklemleri üzerindeki yüzeyel sıyrıklar ya da ekimozlar, saldırı veya savunma ile ilgili eylemleri göstermektedir (17). Yara yaşı kesin olarak bilinmese bile belirli bir zamandan önce ya da sonra oluşmuş olmasının belirlenmesi, belirli bir kişinin ölüme yol açan yaralanmadan sorumlu tutulabileceği ya da tutulamayacağı konusunda fikir verebilir. Ölümle sonuçlanmış çocuk istismarı olgularında yaraların

oluş zamanı farklı olabilir. Bu durum deri üzerindeki ekimoz yaşının tespiti ile mümkün olabilir. Bir süre işkence görmüş, dövülmüş, bağlanmış ya da kişinin kaba bir zemin üzerinde sürüklenmiş olduğu olgularda, gövde, kalçalar ve uylukların cilt yüzeyinde farklı büyüklükte ve yaşlarda ekimoz ve lineer sıyrıklar görülebilir (17).

2.2. Travmatik Yaralar

Travma sonucu vücuda zarar veren, deride dokuların yapısını veya bütünlüğünü bozan herhangi bir lezyon genellikle yara olarak adlandırılır. (18). Yaranın değişik özellikleri değerlendirilerek, anatomik lokalizasyonuna, yarayı meydana getiren alete göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Genel olarak künt travmatik yaralar ve penetran yaralar olmak üzere iki temel gruba ayrılmaktadır (10,19).

Künt travmatik yaralar, deri bütünlüğünün korunduğu, kapalı yaralanmalardır. Penetran yaralar ise deri bütünlüğü bozularak, dokular arası ya da vücut boşluklarının içine girilmesi ile oluşan açık yaralanmalardır (10). Klinik adli tıp uygulamalarında karşılaşılan travma olgularını, çoğunlukla künt travmalar oluşturmaktadır (20).

2.3. Künt Travmatik Yaralar

Künt travmatik yaralar, ezici kuvvetin etkisi ile oluşan doku hasarlarıdır. Ağırlığı olan bir cisim aracılığı ile aktif veya pasif olarak meydana gelen (10) tekme, yumruk, kafa atılması gibi darbeler, yüksekten düşme, trafik kazası gibi genel vücut travmaları şeklinde örneklendirilmektedir. Yaralanmanın ciddiyeti hem yaralanmanın mekanizmasına hem de hastanın altta yatan komorbiditelerine göre değişmektedir (21). Künt travmaların, deride oluşturduğu lezyonlar, sıyrık, ekimoz ve laserasyon şeklinde sınıflandırılmaktadır (20).

En yüzeyel yaralanma çeşidi olan sıyrık, çoğu kez çizik veya derin olmayan yara şeklinde tanımlanabilir. Canlılarda sıyrık, dermis tabakasındaki damarlar tarafından salgılanan serum ve hücrelerle kaplanarak üstünde kabuk oluştururken, altında iltihap gelişmektedir. Postmortem olgularda ise meydana gelen sıyrıklarda

kabuklanma görülmez, koyu kırmızı renkli kuru bir yapı görülür ki, bu duruma da parşömenleşme adı verilir (22). Bunun nedeni postmortem yaralanmalarda doku reaksiyonlarının görülmemesidir. Ölüm sonrası geçen zamanın uzaması, deriyi frajil hale getirir. Otopsi sonrasında cesedin yerinin değiştirilmesi gibi işlemler bile deride yaralanma olduğu düşünülen değişikliklere yol açmaktadır (21).

Sıyrık sadece epidermisi etkilemesi nedeniyle genellikle ciddi ve yaşamı tehdit edici bir durum oluşturmaz. Tıbbi açıdan önemsiz görülebilir. Ancak adli tıp açısından, kişinin vücuduyla dış nesneler arasındaki etkileşimden kaynaklanan dinamikleri yansıtmak ve olay yerindeki travma senaryosunu anlamaya yardımcı olmak gibi, olayın nasıl meydana geldiği hususunda ilgili yetkililere olay hakkında önemli bilgiler sağlayabilir (20). Ekimoz hakkında bilgiler ilgili bölümde yer almaktadır.

Künt travmatik yaralanma türlerinden laserasyon, kuvvetin etkisi ile derinin tüm katmanlarının hasara uğramasıdır. Deride olduğu gibi iç organlarda da laserasyonlar meydana gelebilir. Deride meydana gelen laserasyonlar düzensiz olma eğilimindedir ve kenarları aşınmış şekildedir. Laserasyonlar da diğer künt travmatik lezyonlar gibi, meydana getiren alet hakkında fikir oluşturabilir. Genel bir kural olarak uzun ve ince nesneler ile oluşan laserasyonlar, doğrusal kesikler oluşturma eğilimindeyken, düz yüzeyli nesneler ile oluşan laserasyonlar, düzensiz, pürüzlü veya Y şeklinde yırtıklar oluşturma eğilimindedir (23). Laserasyon, kuvvetin etkisiyle yumuşak doku yapılarında tam olmayan ayrışmalara yol açarak ‘doku köprüleri’ adı verilen yapıların oluşumuna neden olmaktadır (21). Doku köprülerinin varlığı, yaralanmanın kesici alet ile olmadığının bir göstergesidir. Laserasyonun derinliği, yırtılmaya neden olan silah veya yüzey tarafından burada birikmiş olabilecek yabancı maddelerin varlığı açısından araştırılmalıdır. Laserasyona neden olan darbe veya darbe açılı olarak verilmişse, vücudun yüzeyine dik olmak yerine, bir taraftaki dokunun altının oyulmuş olduğu görülecektir, bu da darbenin verildiği yönü gösterir (21,24).

2.3.1. Ekimoz

Ekimoz kelimesi, Fransızca "ecchymose" kelimesinden alıntıdır. "Ecchymose" kelimesi ise Eski Yunanca "Ekχýmōsis" kelimesinden türetilmiştir. "Ekχýmōsis"

kelimesi "dışarı sıvı sızması" anlamına gelir (25). Ekimoz, bozulmamış bir epidermisin altında yer alır ve mekanik darbeyle hasar görmüş kan damarlarından sızan ekstravasküler bir kan birikintisinden meydana gelir. Morluk, bere, çürük, ezik ve kontüzyon kelimeleri ile de adlandırılmaktadır. Sıklıkla sıyrıklar veya yırtıklarla bir araya gelse de, saf bir ekimoz, çapı değişmekle birlikte birkaç milimetreden çok daha büyük boyutlara ulaşabilmektedir (26–28).

2.3.2. Ekimozun Türleri ve Özellikleri

Ekimoz, cilt altındaki kapillerlerin ezici travma sonucu yırtılmasıyla kanın doku arasına yayılıp pıhtılaşmasıyla oluşmaktadır (29). Ekimozun oluşabilmesi için kuvvetin cilde etki etmesi, kan basıncının derinin bağ dokusuna sızmasına izin vermesi ve kanamanın deri yüzeyine yakın bir yerden ekstravaze olması gerekmektedir (30). Ezici kuvvetin etkisi ile dokuların içine giren kan zamanla pıhtılaştıktan sonra, vücut onu parçalamak ve çıkarmak için enflamatuar bir tepki başlatır. Sonrasında bölgeye makrofajlar göç ederek, pıhtılaşmış kan hücrelerini fagosite eder ve hemoglobin parçalanır. Hemoglobin, derinin rengini belirleyen baskın kromoforlardan biridir ve görünümü oksidatif durumuna ve derinin derinliğine bağlı olarak değişir (31). Hemoglobin yıkım aşamasında biliverdin, karbon monoksit ve bir demir atomuna dönüştürülür. Demir atomu, altın/koyu sarı tonlu bir pigment olan hemosiderin üretmek için ferritin ile bağlanır. Biliverdin ise kısa bir ömre sahiptir ve hızla eski morluklarla ilişkilendirilen sarı pigment olan bilirubine metabolize olur (32). Işık mikroskobu histolojisi kullanılarak yapılan çalışmalarda sarı renkli bir ekimozun, 65 yaşın altındaki kişilerde olması koşuluyla, 18 saatten daha eski olduğu düşünülmektedir (33). Çocuklarda bir haftadan daha kısa zamanda oluşan ekimozların %50 kadarında kırmızı renklenme görülürken, bir günden büyük ekimozların %25 kadarında sarı renklenme görülmüştür. Işık mikroskobik incelemelerinde 24 ila 48 saat arasında nötrofil-lökosit eksüdası pik yaparken, 12 ila 36 saat arasında makrofaj-lökosit eksüdası maksimum düzeydedir. En yüksek insidansı 48 ila 60 saat arasında olan fibroplazi ve makrofajlarda 48 saatte yükselen ve 72 saatte en yüksek yoğunluğa ulaşan hemosiderin birikintileri oluşturmaktadır (26).

Ekimozun oluşumuna, travmanın şiddeti, travma bölgesi, genetik faktörler, ilaç kullanımı ve cinsiyet gibi faktörler etki etmektedir (Tablo 1). Şiddetli travmalarda ve altında kemik doku olan bölgelere ekimozun boyutuda büyük olabilmektedir. Bağ dokusunun sıkı olmadığı, göz kapağı ve skrotum gibi bölgelerde, kan hızlı yayılır ve ekimoz geniş bir alanı kapsar. Kan pıhtılaşma bozukluğu bulunan bireylerde hafif travmalarla bile büyük boyutlu ekimozlar görülebilmektedir (26,27).

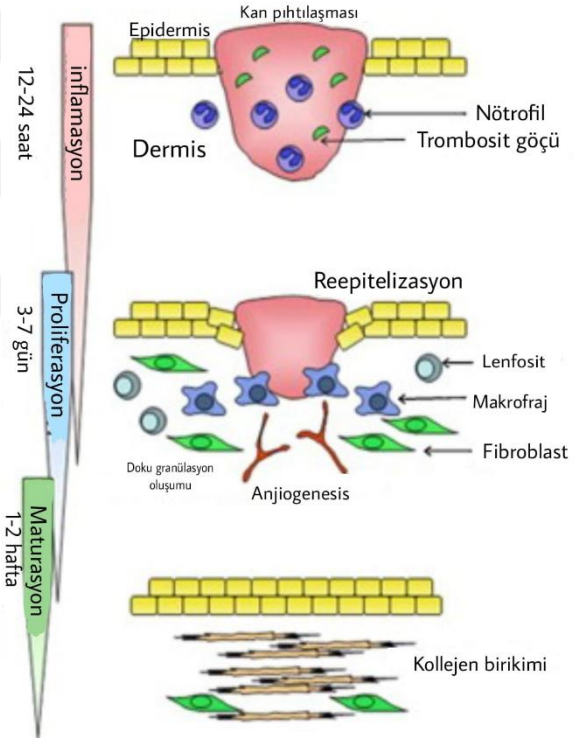
Ekimoz derin veya yüzeyel olmasına, vücuttaki yerine göre, rengine ve şekline göre sınıflandırılmaktadır. Derin ekimozlar, travma sonrası takip eden günlerde görünür hale gelmektedir. Travmanın uygulandığı bölgeye göre dokunun yapısı ve yerçekimininde etkisiyle travma uygulanan yerden başka bir yere göç edebilmektedir. Uyluğun orta bölümündeki derin bir ekimoz daha sonra yerçekiminin etkisiyle dizde ortaya çıkabilir. Saçlı derinin üstüne isabet eden darbeler sonucu ekimoz göz çevresinde görülebilir (22). Travmaya bağlı damar hasarı meydana gelmiş olsa bile kas kitlesi yönünden zengin, kalça gibi bazı bölgelerde, ilk anda gözlenmeyen ekimoz, saatler ya da günler sonra kanın hasarlı dokular arasından diffüzyonu neticesi görülebilir hale gelebilir. Özellikle bu tür ekimozlar derin ekimoz olarak nitelendirilir (10).

Tablo 1. Ekimoz oluşumuna etki eden faktörler (34)

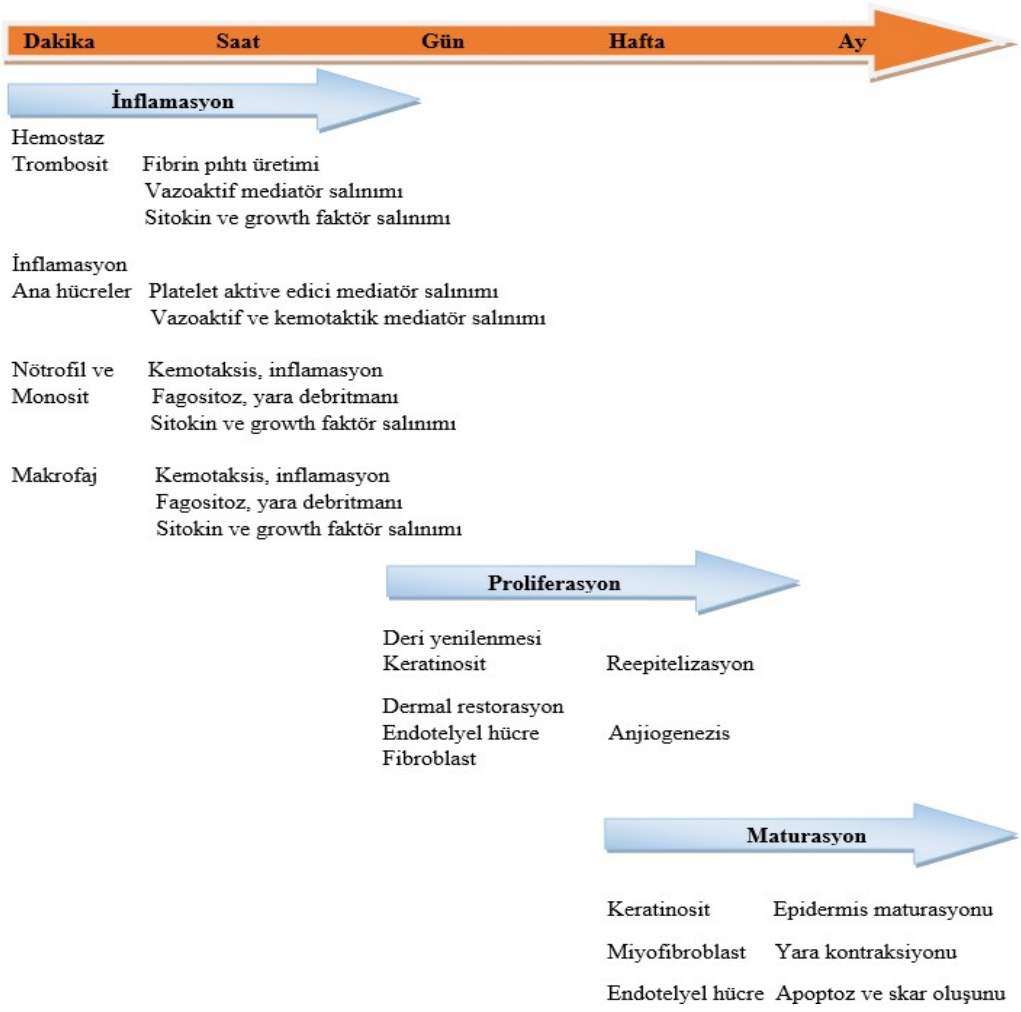
Lokal	Sistemik	Dış
Travma şiddeti	Genetik faktörler	İlaç kullanımı
Travma bölgesi	Yara iyileşme sürecine etki eden hastalıklar	
	Yaş	
	Cinsiyet	

Enflamatuar yanıtta meydana gelen değişimler ekimozun renginde değişimlere neden olmaktadır. Zamanla yeşil-sarı renk değişimleri göstererek ekimotik alan kendiliğinden kaybolur. İyileşme mekanizmasında lenfatik sistem, makrofajlar ve yeniden oluşan epitel hücreleri rol oynamaktadır.

Cilt yara iyileşmesi, çeşitli hücre tiplerinin ve bunların türev moleküllerinin işbirliğini içeren iyi organize edilmiş bir fizyolojik süreçtir (35). Yara iyileşme sürecinde, hücre ve biyokimyasal olayların gelişimi sırasıyla; hemostaz fazı, inflamatuar faz, proliferatif faz ve yeniden şekillenme (veya olgunlaşma fazı) şeklinde gerçekleşmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Yara iyileşme sürecinin şematik gösterimi (16)



Şekil 2. Yara iyileşme sürecinde rol oynayan temel hücreler ve bunların yara iyileşme sürecine etkileri (36)

Ciltte meydana gelen yaralanmanın ardından, Şekil 2'de görüldüğü üzere, iyileşmenin ilk aşaması olan hemostaz fazı hemen devreye girerek kanamayı durdurur. Trombositlerin kollajenle arasındaki arayüzleri trombosit aktivasyonuna yol açar ve böylece onların agregasyonunu destekler. Son olarak trombosit kümeleri trombin tarafından stabil bir pıhtıya dönüşür ve fibrin ağının oluşumuna büyük ölçüde katkıda bulunur. Yara iyileşmesinin ikinci aşaması olan inflamatuar fazda, bakteriler ve kalıntılar yok edilerek, yeni doku oluşumuna ortam hazırlanır. Bu olaylar nötrofillerin ve makrofajların aktivasyonu ile sağlanır. Yara onarımının proliferatif fazında, yara kenarlarının miyofibroblast fonksiyonları yoluyla daralmasını, epitelizasyon olarak da adlandırılan yaranın kaplanmasını içerir (37). Bu arada, taze granülasyon dokusuna yeterli oksijen ve besin sağlamak için yeni bir kan damarı

kompleksinin oluşturulması acilen gereklidir. Yeniden yapılanma aşamasında, inflamatuar fazın yavaş yavaş çözülmesi, kollajen birikmesi ve yaralanan bölgenin taze dokularla tamamen kaplanması ve son olarak skar dokusunun oluşması sağlanır (38).

2.3.3. Ekimoz Yaşının Tespiti

Ekimoz yaşının tespitinde, ekimotik renk değişimleri incelenerek dört renk skalası (kırmızı, mavi-mor, yeşil, sarı-kahverengi) üzerinden bir ölçek belirlenmiştir (Tablo 2). Ancak, ekimozun renk değişimlerinin sırasında genel bir benzerlik görülmüş olsa da, her rengin sırası, zamanlaması ve süresi büyük ölçüde değişkenlik göstermiştir. Ayrıca, her rengin ciltte ne zaman ortaya çıktığı ve ne kadar süre boyunca görünür kaldığı konusunda genel bir fikir birliği oluşmamıştır (39). Direk gözleme dayalı yöntemler kullanılarak, yaralanmanın yaşı hakkında bir fikir verilirken çok dikkatli olunması gerekir. Fotoğraf çalışmaları, aynı kişide bulunan aynı yaş ve etiyolojideki ekimozların mutlaka aynı renkleri göstermediğini veya aynı oranda aynı değişikliklere uğramadığını göstermiştir. Antemortem oluşan bir ekimoz, derinin donukluğu nedeniyle görünmeyebilir, ancak ölümden sonra derinin postmortem değişikliği ile birlikte ekimoz görünür hale gelmektedir (28,31,40–43).

Tablo 2. Zamanla ekimozdaki renk değişimin özeti (44)

Kaynak	**0-24 saat**	**1-3 gün**	**4-7 gün**	**1-2 hafta**	**2 hafta >**
Smith and Fiddes (1955)	Kırmızı, mor/siyah	Sarı	Sarı	Sarı/çözülme	Çözülme
Glaister (1962)	Koyu mavi	Koyu mavi	Yeşil	Sarı	Çözülme
Spitz and Fisher (1974)	Açık mavi/kırmızı	Koyu mor	Koyu mor, yeşilimsi/sarı	Kahverengi	Çözülme
Adelson (1974)	Kırmızı/mavi, mor	Mavi/ kahverengi	Sarı/yeşil	Çözülme	Çözülme
Camps (1976)	Kırmızı, mor, siyah		Yeşil	Sarı	Çözülme
Polson et al (1985)	Kırmızı, koyu kırmızı/siyah		Yeşilimsi	Sarımsı	Çözülme

Klinik adli tıp uygulamalarında, ciltte şişlik ve hassasiyet gibi ek fiziksel faktörlerde dikkate alınarak klinik gözlem yoluyla ekimozların yaşı tahmin edilmeye çalışılmaktadır. Gözlemciler arasındaki tahminlerin doğruluğu üzerine yapılan araştırmalar, bir ekimozda algılanan renklerde gözlemciler arasında son derece büyük farklılıklar göstermiştir. Bu durum hem ekimozların doğrudan incelenmesi hem de yaralanmaların fotoğrafik kayıtlarının gözlemlenmesinde görülmüştür. Gözlem yoluyla ekimoz yaş tayinindeki farklılıklar, daha hassas teknikler olan kalorimetri ve spektroskopi yöntemlere yönlendirmiştir. Kolorimetri, rengi kırmızı, mavi ve yeşil bileşenlerin oranında sınıflandıran kantitatif bir tekniktir. Teorik olarak, bu yöntem, gözlemci renk yorumunun getirdiği farklılıkları önleyebileceği düşünülmüş ise de bu yöntem kullanılırken derinin arka plan renginin kafa karıştırıcı bir değişken olduğu tespit edilmiştir. Yalnızca üç renk değerinin kullanılması da yorumlama yapılırken sınırlama oluşturmuştur (27).

Küçük ekimozlar kolayca iyileştiği için renk değişimini gözlemlemek daha uygun olmakla birlikte büyük hacimli ekimozlarda iyileşme kenar kısımlarda başlamaktadır. Bu durum merkezde taze ekimoz görünümü verebilmektedir. Geniş boyutlardaki ekimoz değerlendirilmesi farklı zamanlarda meydana gelen ekimozları ayırt etmede güçlükler oluşturmaktadır (45).

Ekimoz yaşını, renk değişikliğinden ayırt etmek için yapılan bir çalışmada, eritrosit zarının bir bileşeni olan Glikoforin A kullanılmıştır. Rengi bozulmuş derilerden ekstrakte edilen bir Anti-Glikoforin A serumu kullanılarak, immünolojik yöntemlerle, ölüm sonrası aralıkları 4 saat ila 2,5 ay arasında değişen 27 cesetten örnek toplanılmıştır. 27 cesetten, 18 ekimoz, 8 ölüm sonrası hipostaz ve 7 çürümeye bağlı renk değişikliğinden oluşan deri örnekleri çıkarıldığı, 18 ekimozun 13'ünde (%72,2) immünolojik yöntemlerle Glikoforin A tespit edilmiştir. Glikoforin A'nın ölümden 10 gün sonra ciddi şekilde çürümüş bir vücutta bile tespit edilebildiği, buna karşılık, ölüm sonrası ekimozun veya çürümeye bağlı renk değişimlerinin hiçbirinde Glikoforin A tespit edilmemiştir. Sonuç olarak Glikoforin A'nın yokluğunun her zaman ölüm sonrası kökenli bir cilt rengi değişikliğine işaret etmediğini, ancak pozitif bir Glikoforin A reaksiyonunun ekimoza bağlı bir cilt rengi değişikliğine işaret ettiği sonucuna varılmıştır (46).

Spektrofotometri, belirli bir dalga boyundaki ışığın bir örnek tarafından soğrulmasını veya geçirilmesini ölçen bir tekniktir. Spektrofotometri tekniği ile görünür spektrum boyunca spektrumlar oluşturularak renkler tanımlanır. Genellikle, bir örneğin konsantrasyonunu belirlemek veya bir reaksiyonun ilerlemesini izlemek için kullanılmaktadır. Bohnert ve ark. ölüm sonrası derinin yüzeyine yakın yaralanmaların kırmızı göründüğünü, oysa daha derin ekimozların yaygın olarak mavi renkte olduğunu bulmuşlardır (32). Bu durum, deride algılanan renkleri etkileyen tek faktörün ekimozun yaşı olmadığını düşündürmüştür. Hughes ve ark. ise canlı bireylerde yeni ve daha eski ekimozları ayırt etmek için farklı düzeylerde hemoglobin ve bilirubini kullanmışlardır. Aynı ekimozun birden çok taraması yapılarak yüksek oranda tekrarlanabilir olmasına rağmen, farklı ekimozlar arasında karşılaştırma yapılması zor olmuştur. Bu tekniklerin artan hassasiyetine rağmen, cilt tonu gibi faktörler sınırlandırmaktadır. Aynı ekimozu birden fazla kez ölçerken cildin bir arka plan spektrumunun oluşturulması mümkündür. Ancak aynı kişinin vücudun farklı bölgelerinde veya farklı bireylerde bulunan ekimozların analizinde kısıtlılıklar oluşmuştur. Yaş, cinsiyet, hastalıklar ve steroidler gibi ilaçlar, bir kişinin kanama şeklini ve/veya pıhtı oluşturma yeteneğini, dolayısıyla ekimozun görünümünü etkilemektedir. Stres, aynı zamanda uzamış yara iyileşmesi ile de ilişkilendirilmiştir. Ekimoz bölgesindeki anatomik yerleşim ve doku bileşimi de yaralanmayı etkiler. Derinin kalınlığı, farklı vücut bölümlerinin fonksiyonel gereksinimlerine bağlı olarak 1,5 ila 4,0 mm arasında değişmektedir. Vücudun bazı bölgelerinde diğerlerine göre daha kolay ekimoz oluşur. Yaralanmanın ciddiyeti, iyileşme hızı üzerinde bir etkiye sahip olacaktır. Küçük ekimozlar daha büyük yaralanmalara kıyasla daha kısa iyileşme sürelerine sahiptir. Cildi yaralamak için uygulanan kuvvet, artan kütle ve hız ile hasarlı doku alanında ve derinliğinde bir artışa yol açarak, iyileşme tepkisi üzerinde bir etkiye sahiptir. Bir çürüğün yaşını doğrudan gözlemden veya bir görüntüden belirlemek, bireylerin yaralanmaya verdiği tepkideki farklılıklar ve farklı bireylerin renkleri aynı şekilde algılama yeteneği dâhil olmak üzere bir dizi faktörle alakalıdır (44,47).

Spektrofotometri tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda, ekimozun olduğu yerde normal cilt tonunun kaydedilmesine ihtiyaç olduğu, bu gibi sınırlamalar nedeniyle, bir ekimozun yaşının in vivo olarak yaralanmanın gözlemlenmesi yoluyla

veya fotoğraflar kullanılarak geriye dönük olarak belirlenmesi nedeniyle, öznel ve kesin olmayan sonuçlara neden olduğu görülmüştür (32).

Hiperspektral görüntüleme, özellikle nesnelerin her pikselinde geniş bir spektral bant genişliği ile yüksek çözünürlükte spektral veri toplama yeteneği sağlayan bir görüntüleme tekniğidir. Bu teknik, genellikle birçok spektral bandı kullanarak nesnelerin spektral özelliklerini detaylı bir şekilde inceleyebilme yeteneğiyle karakterizedir. Spektroskopik teknikler örneklenen hacim için yalnızca ortalama kromofor konsantrasyonları sağlar ve ekimozdaki uzaysal kromofor dağılımı hakkında çok az bilgi içerir. Hiperspektral görüntüleme, görüntüleme ve spektroskopinin gücünü birleştirir ve hem spektroskopik hem de mekânsal bilgi sağlayabilir (48).

Yapılan bir çalışmada, '*Norsk Elektro Optik AS*' tarafından geliştirilen bir hiperspektral görüntüleme sistemi, gönüllü bir insanda morarmış derinin zamansal gelişimini ölçmek için kullanılmıştır. Ekimozlar paintball mermileri ile oluşturulmuştur. Kullanılan dalga boyu aralıkları 400 - 1000 nm ve 900 - 1700 nm ve spektral örnekleme aralıkları sırasıyla 3,7 ve 5 nm'dir. İlk sonuçlar, normal deriyle karşılaştırıldığında ekimoz alanlarının iyi bir mekânsal ayrımını göstermiştir. Ekimozların orta bölgesinde beyaz bir noktanın gelişimi görülmüştür. Ortadaki bu beyaz bölgenin cilde çarpan nesnenin şekline benzediği ve darbenin damar hasarına neden olduğu bölgelerde oluştuğu düşünülmüştür. Bu sonuçlar, hiperspektral görüntülemenin insan derisindeki ekimozların zamansal ve mekânsal gelişimini değerlendirmede faydalı olduğunu göstermekle birlikte hala yeni araştırma yöntemine ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir (48).

Araştırmacılar tüm bu özelliklerden faydalanarak ekimoz yaşını tespit edebilecek bir parametre tespit etmeye çalışmışlardır. Yapılan çalışmalara rağmen günümüzde kesin ekimoz yaşını tespit edecek görüş birliği bulunmamaktadır. Bu durum halihazırda, örnek hazırlama süreci gerektirmeyen, kullanıcıdan bağımsız, ucuz, tekrarlanabilen, güvenilir alternatif belirteçler arayışına teşvik etmiştir. Bahsedilen özelliklere sahip olan son yıllarda çalışmalarda sıkça kullanılan alternatif yöntemelerden biri de infrared spektroskopi tekniğidir. Yaptığımız literatür araştırmasında ekimoz yaşının tespiti ile ilgili ***Azaltılmış Total Yansıma Fourier***

Dönüşüm Infrared (ATR-FTIR) Spektroskopisi ile yapılan bir çalışmaya denk gelmedik. Ekimoz yaşının tayininde ayırt edici doku moleküler kompozisyon değişimleri elde edilmesi halinde; ekimoz yaşının postmortem tanısında daha hızlı, kolay, doğruluğu ve özgüllüğü yüksek bir yöntem geliştirilmiş olunacaktır.

2.3.4. Ekimozun Adli Tıp Açısından Önemi

Ekimozlar, adli tıpta öneme sahip olabilecek en yaygın yumuşak doku yaralanmalarıdır. Ekimoz varlığının tespiti, adli olayların soruşturulması, şüpheli ölüm vakalarının incelenmesi ve şiddetli yaralanmaların analizi gibi durumlarda önemlidir. Ekimoz bir travmanın meydana geldiğini gösteren önemli bir bulgudur. Ekimozun boyutu, şekli, rengi ve dağılımı yaralanmanın şiddeti ve karakteri hakkında bilgi vermektedir (49).

Türk Ceza Kanunu'nun 86. maddesinin 3. fıkrasında kasten yaralama suçunun nitelikli şekilleri sıralanmıştır. Nitelikli hallerden biri kasten yaralama suçunun silâhla işlenmesi olarak gösterilmiştir. Bu kanun maddesine göre, suçun silahla yapılması halinde mağdurun şikâyetinin aranmayacağı ve verilecek cezanın yarı oranında artırılacağı belirtilmiştir (50). Türk Ceza Kanunu'nun (TCK) 6. maddesine göre silah; ateşli silahlar, patlayıcı maddeler, saldırı ve savunmada kullanılmak üzere yapılmış her türlü kesici, delici veya bereleyici alet, saldırı ve savunma amacıyla yapılmış olmasa bile fiilen saldırı ve savunmada kullanılmaya elverişli diğer şeyler, yakıcı, aşındırıcı, yaralayıcı, boğucu, zehirleyici, sürekli hastalığa yol açıcı nükleer, radyoaktif, kimyasal, biyolojik maddeler olarak belirtilmiştir (51). Yargılama aşamasında travmanın, TCK 6. maddesine göre silahtan sayılan kesici, delici veya bereleyici aletler ile oluşup oluşmadığı sorulmaktadır. Cilt üzerindeki yara özellikleri incelenerek mekanik travmanın ne tür bir alet ile meydana geldiği ve yara yaşı değerlendirilmektedir (10).

Ölümden hemen sonra uygulanan büyük kuvvet, etkilenen bölgedeki kapiller damarları rüptüre edip, kanın doku boşluğuna sızması nedeniyle ekimoz oluşabilmektedir. Tespit edilen bu lezyonlar ölümden hemen önce oluşan antemortem ekimozların yapısına benzemektedir. Bu durumun ayrımı, ancak travma ile ölüm

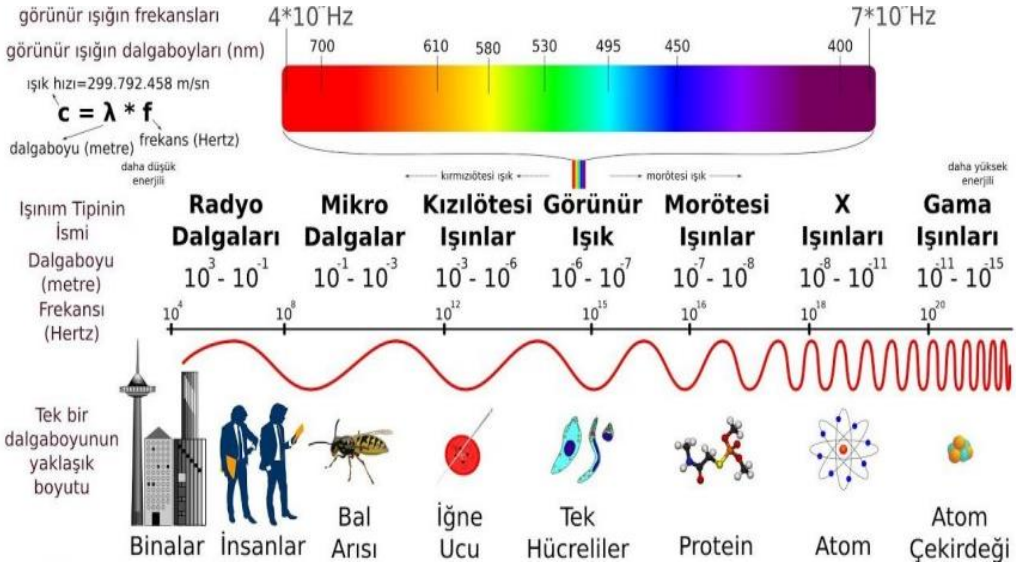
arasında geçen zaman uzarsa histolojik olarak değerlendirilebilir. Bu süre zarfında, dokulardaki biyokimyasal değişiklikler, ekimozların oluşum sürecini etkiler bu ekimozların mikroskopik incelemede ayırt edilebilir hale gelme olasılığı artar (45).

Ekimozun şekli, bazen travmaya neden olan nesne hakkında ipuçları sağlayabilir. Ancak, her zaman ekimozun şekline bakarak aletin doğru bir şekilde belirlenmesi genellikle mümkün değildir. Ekimoz, başlangıçta aletin boyutlarına uygun olabilir, ancak zaman içinde canlı kişilerde genişleyerek aletin orijinal boyutlarını aşabilir. Bu durum, yanlış yorumlara neden olabilir (10). Hasta doğrudan muayene edildiğinde veya geriye dönük olarak fotoğraflar incelendiğinde ekimozun varlığının tespiti, travmanın gerçekleşip gerçekleşmediğini ve yaralanmaların anlatımla tutarlı olup olmadığını araştırmak için yardımcı olabilir. Birden fazla ekimoz varsa, bunların farklı zamanlarda oluşup oluşamayacağını belirlemek de önemlidir (51).

Çocukların fiziksel istismarı durumunda hekimler tarafından en sık gözlemlenen lezyonlar, yumuşak dokuda meydana gelen iç doku kanamaları sonucu oluşan ekimozlardır. Fiziksel istismara maruz kalan çocuklarda, ölümle sonuçlanan vakalarda vücutta farklı iyileşme evrelerinde birçok sıyrık ve ekimozun bulunması, çocuğun sürekli olarak bu tür travmalara maruz kaldığını gösteren önemli ve tanı koydurucu bulgulardan biridir (52).

2.4. İnfrared Spektroskopi

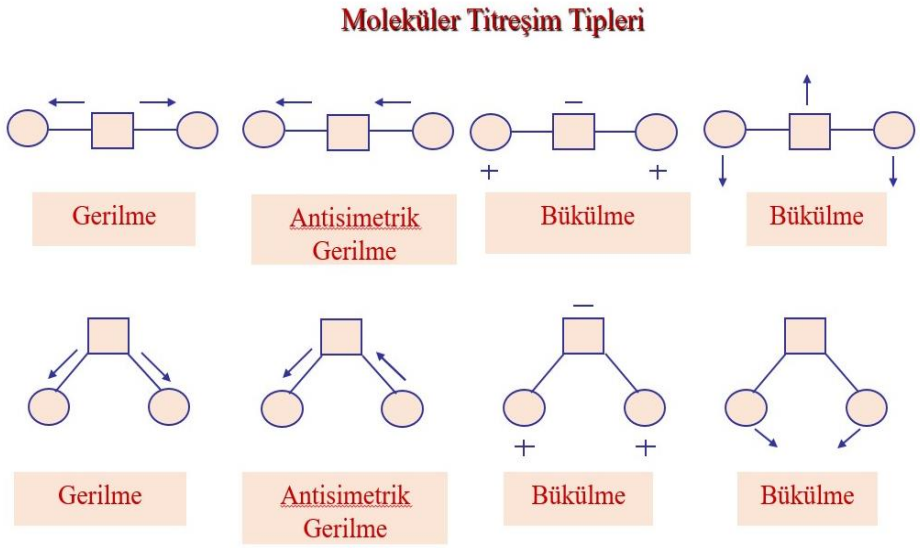
Spektroskopi, elektromanyetik spektrumun (Şekil 3) farklı bölgelerindeki ışık etkileşimini inceleyen bir genel terimdir. Spektroskopi ile ışığın, yansıma, kırılma, elastik saçılma, absorbans, elastik olmayan saçılma ve emisyon yoluyla madde ile etkileşimleri gözlemleyerek, atomlar ve moleküllerle etkileşime giren ışığın dalga boylarını tanımlamak ve miktarını ölçmek mümkündür (53).



Şekil 3. Elektromanyetik spektrum (54)

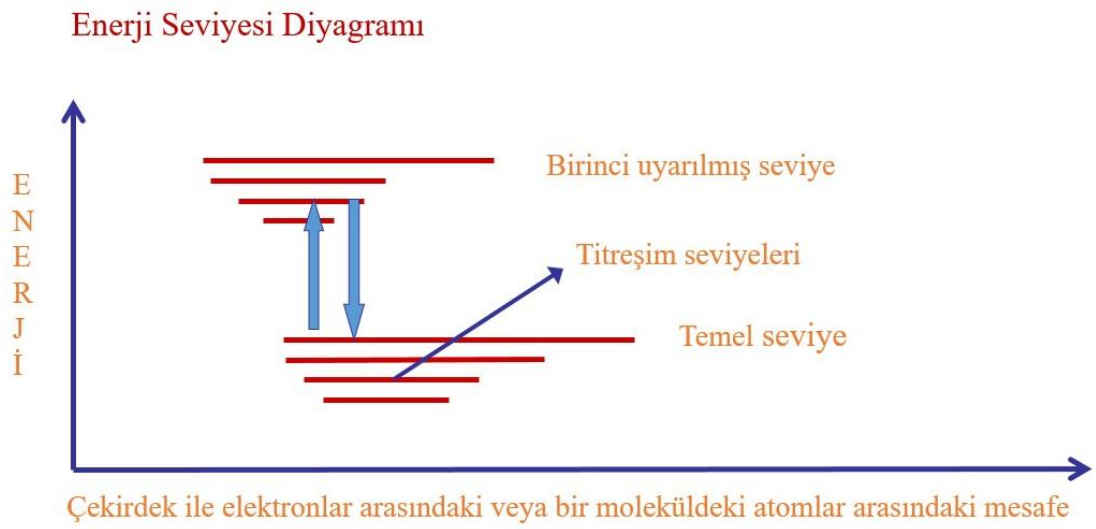
Şekil 3'de gösterildiği üzere, elektromanyetik spektrum, farklı bölge ve alt bölgelere ayrılan temel bir sınıflandırmadır. Dalga boyu genellikle *nanometre* (nm) cinsinden ifade edilirken, frekanslar genellikle *hertz* (Hz) cinsinden ifade edilir.

İnfrared (IR) spektroskopi, bir maddenin kızılötesi bölgedeki elektromanyetik etkileşimini inceleyen bir analitik kimya tekniğidir. Bu yöntem, bir maddenin moleküler yapısını ve kimyasal bağlarını anlamak için kullanılmaktadır. Temel ilke, bir molekülün kızılöte bölgedeki ışığı absorbe etme yeteneğidir. Moleküler yapıdaki atomlar, bağları ve gruplar, bu bölgedeki elektromanyetik radyasyon ile etkileşime girer. Moleküler gruplar, kızılöte bölgedeki belirli dalga boylarında enerjiyi absorbe ederler, bu da spesifik bir absorpsiyon spektrumu oluşturur. Kızılöte bölge, elektromanyetik spektrumun (Şekil 3) görünür ışık bölgesinden daha düşük enerjiye sahiptir. Bu bölge genellikle dalga boyları 0.78 ile 1000 mikrometre arasında değişir. Bu dalga boyları, moleküler titreşim ve dönme seviyeleriyle ilişkilidir. (Şekil 4) (55–57).



Şekil 4. Lineer ve lineer olmayan üç atomlu bir molekülün normal titreşim tipleri. (düzlem içi yer değiştirmeler oklar ile düzlem dışı yer değiştirmeler + / - sembolleri ile temsil edilmiştir.)(yazar tarafından çizilmiştir.)

İnfrared spektroskopi, bir molekülün içindeki atomların bağlarındaki titreşimleri inceleyen bir analitik tekniktir. Bu teknik, moleküler grupların kızılöte bölgedeki belirli dalga boylarında titreşimlerini kullanarak özgün bir kızılöte spektrum oluşturur. Molekülün titreşim seviyeleri arasındaki geçişleri, elektromagnetik spektrumun kızılötesi bölgesinde ışığın soğurulmasına dayanmaktadır. Kızılöte spektrometre, bir numuneden geçen veya bir numuneye yansıtılan kızılöte ışığı ölçer. Elde edilen spektrum, belirli dalga boylarındaki absorpsiyon pikleri veya bantları içerir. Bu absorpsiyon deseni, örnek materyalinin moleküler yapısı hakkında bilgi sağlar. Kızılöte spektroskopide numune hazırlığı, genellikle katı, sıvı veya gaz halindeki örneklerin uygun formda spektrometre ile analiz edilebilmesi için yapılır. Şekil 5'te gösterildiği üzere, kızılöte ışınları absorblayan molekül, temel titreşim düzeyinden uyarılmış titreşim düzeyine geçerek titreşim harekeketi yapar (37, 42).

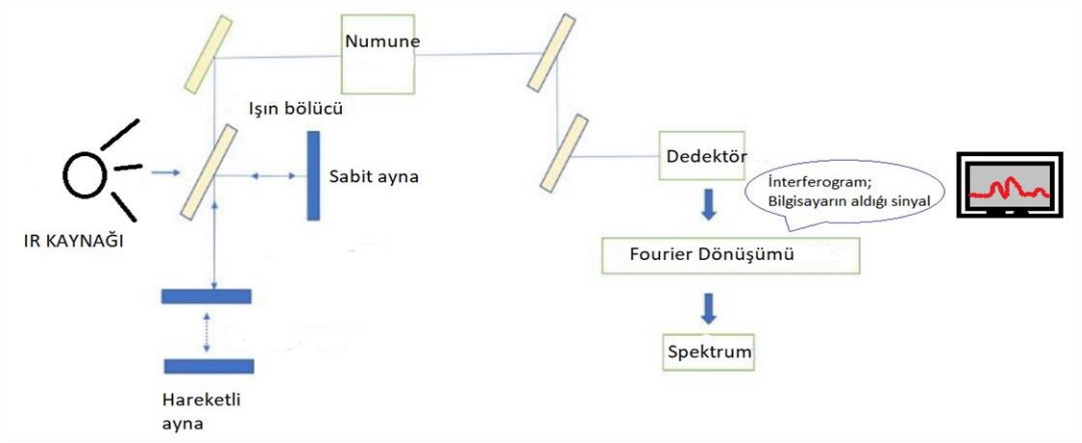


Şekil 5. Enerji seviyesi diagramı (yazar tarafından çizilmiştir.)

2.4.1. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) Spektroskopisi

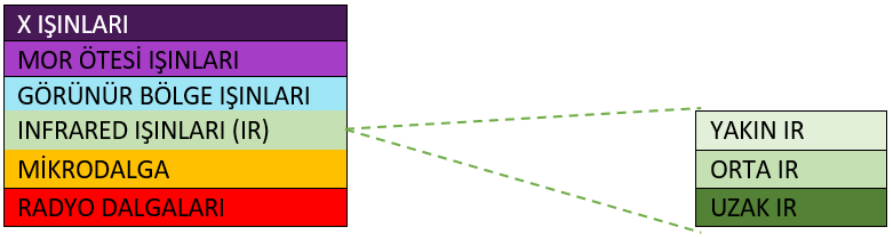
FT-IR spektroskopisi, kızılötesi ışığın bir numune tarafından geçirilmesi veya numuneye yansıtılması sonucu oluşan interferogram verisini Fourier dönüşümü kullanarak analiz eden, tıbbi araştırmalar da dâhil olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılan bir kızılötesi spektroskopi tekniğidir. Kızılötesi ışık bir numuneden geçtiğinde, belirli dalga boyları numunenin moleküler titreşimleri tarafından absorbe edilerek spektrum ortaya çıkarır. Ortaya çıkan spektrum, numunenin moleküler bileşimi ve yapısı hakkında bilgi sağlamaktadır (55).

FT-IR, moleküler bileşim ve yapısal veriler elde etmek amacıyla hücreleri, dokuları ve vücut sıvılarını analiz eden güçlü bir biyomedikal araçtır. Hücrelerde, dokularda ve vücut sıvılarında bulunan moleküler bileşenlerin, özellikle organik bileşenlerin kızılötesi bölgedeki titreşimlerini analiz ederek, bu numunelerin kimyasal yapısı hakkında bilgi sağlar. Bu analiz yöntemi, biyomedikal araştırmalarda ve tıbbi tanıda kullanılır. Örneğin, FT-IR spektroskopisi kanser araştırmalarında, doku patolojisi analizlerinde, biyolojik sıvıların bileşimindeki değişikliklerin izlenmesinde ve ilaç etkileşimlerinin incelenmesinde etkili bir araç olarak kullanılır. Elde edilen spektral veriler, biyolojik numunelerin moleküler içeriği, metabolik durumu ve hastalık durumları hakkında değerli bilgiler sunar (59).



Şekil 6. FT-IR spektrometresinin şematik gösterimi (Kaynak (55)'e göre revize edilmiştir.)

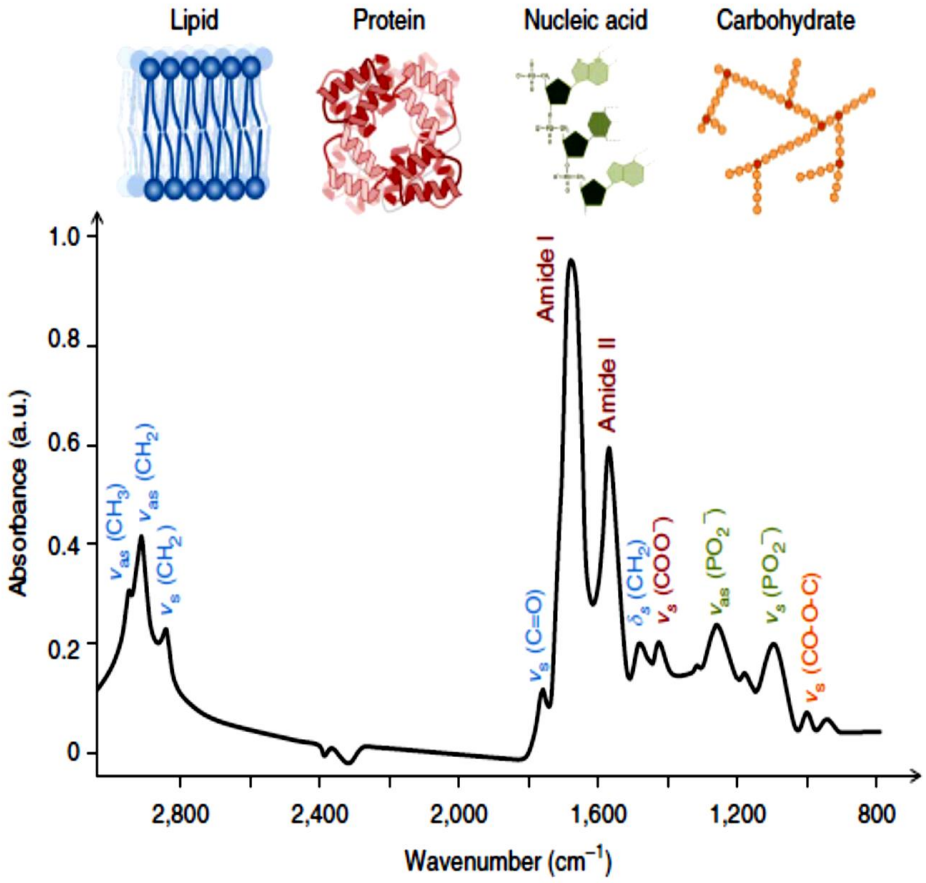
FT-IR spektroskopisi, bir elektromanyetik dalganın, (14.000 cm^{-1} ile 40 cm^{-1}) kızılötesi aralığında, Şekil 7'de gösrerildiği üzere, yakın, orta ve uzak olmak üzere üç alana bölünmüş etkileşimleri incelemektedir (60). Yakın dalga boylu kızılötesi (Near-IR) 14.000 cm^{-1} ile 4.000 cm^{-1} arasını, orta dalga boylu kızılötesi (Middle-IR) 400 cm^{-1} ile 4.000 cm^{-1} arasını ve uzak dalga boylu kızılötesi (Far-IR) 40 cm^{-1} ile 400 cm^{-1} arasını kapsamaktadır. (56).



Şekil 7. Elektromanyetik spektrum ve İnfrared bölgesinin alt bölgeleri (yazar tarafından çizilmiştir.)

Middle-IR enerji aralığı, biyolojik moleküllerin çeşitli titreşim bantlarını içerir. Bu bantlar, özellikle karbonhidratlar, organofosfatlar, fosfolipitler ve proteinler gibi ana biyolojik molekül sınıflarının titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 8). Middle-IR spektrumu, bu moleküllerin yapıları ve bağıl konsantrasyonları hakkında önemli bilgiler sağlar (61). Organik maddenin 3600 cm^{-1}- 1200 cm^{-1} aralığını kapsayan ışık dizisi fonksiyonel gruplar bölgesi, 1200 cm^{-1}-700 cm^{-1} aralığı ise parmak izi bölgesi olarak adlandırılmaktadır. Parmak izi bölgesi olarak adlandırılan 1200 cm^{-1}-

700 cm^{-1} aralığı molekülün yapısal ve bileşim değişikliklerinin incelenmesinde kullanılmaktadır (57).



Şekil 8. İlgili fonksiyonel gruplarla birlikte 3.000-800 cm^{-1} dalga sayısında biyomoleküllerin tipik FTIR spektrumları. ν; esneme titreşimleri, δ; eğilme titreşimleri, s; simetrik titreşimler ve as; asimetrik titreşimler (62).

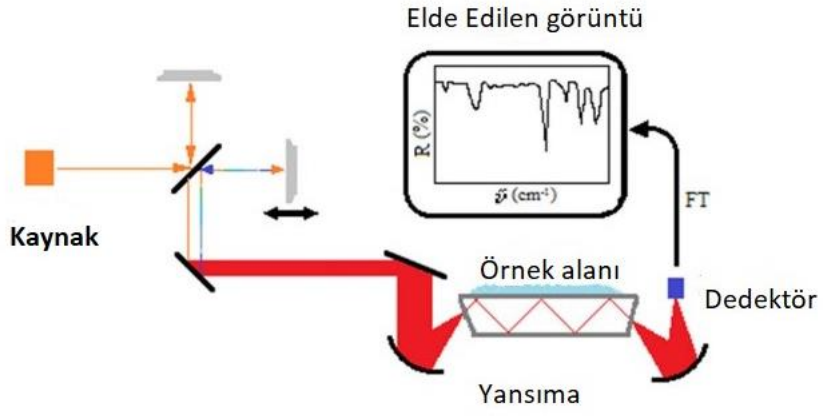
FT-IR spektroskopisinde kızılötesi ışığı modüle etmek için bir interferometre kullanılır. Numune geniş bir kızılötesi frekans aralığına maruz bırakılır ve elde edilen interferogram, Fourier dönüşümü yoluyla bir spektruma dönüştürülür. FT-IR spektrometresi, her dalga boyunda iletilen veya yansıtılan ışığın yoğunluğunu kaydeder (Şekil 6).

2.4.2. ATR-FTIR Spektroskopisi

Azaltılmış Toplam Yansıma (ATR), IR spektroskopide kullanılan bir tekniktir. ATR, örnekle etkileşimde bulunan IR ışığının yansıması ve absorpsiyonu üzerinden

örneklerin spektral bilgilerini elde etmeyi sağlar. Zayıflatılmış Toplam Yansıma'nın (ATR) temel ilkesi, numunenin doğrudan IR ışınlarına maruz kalmadan, bir yansıma öğesi (genellikle örneğin altına yerleştirilen bir kristal) aracılığıyla ışınları hapsedip etkileşime girer ve numunenin absorbe ettiği veya yansıttığı ışığın spektral bilgileri elde edilir (63).

ATR-FTIR spektrometresinde (Şekil 9), IR ışını yüksek kırılma indisine sahip bir kristale, iç yansıma elemanı olarak bilinen bir elemana yönlendirilir. Bu elemanda, ışın bir dizi iç yansıma yapar ve dedektöre ulaşana kadar kristal içinde yol alır. Kristal yüzeyine çarptığında, elektriksel olarak bilinen elektromanyetik ışının geçici dalgası dışarı çıkar ve bu dalga kristal ile numune arasında etkileşime girer. Bu dalga, kristal üzerine yerleştirilen numunenin içine kadar uzanır ve numune, ilgili spektral enerjiyi emdiğinde bu dalga zayıflar. Zayıflayan enerji daha sonra IR ışınına geri iletilir, kristali karşı uçtan terk eder ve dedektöre ulaşarak kızılötesi spektrumu oluşturur (64).



Şekil 9. ATR-FTIR Spektrometresinin Şematik Gösterimi (59).

ATR-FTIR spektroskopisi, biyolojik sistemlerde farklı fonksiyonel molekül gruplarını izlemek için hızlı, hassas ve eş zamanlı bir yöntem olarak kullanılır. Bu tekniğin avantajları arasında küçük numune boyutu, numune hazırlamanın kolaylığı ve numune kalınlığından etkilenmemesi bulunmaktadır (65).

2.4.3. FTIR Spektroskopisinin Avantajları

FTIR spektroskopisi;

- Araştırmacıların numunelerinin bütünlüklerini bozmadan, tahribat oluşturmadan analiz etmelerine olanak tanıyan, tahribatsız bir tekniktir (66),
- Analizinde katı, sıvı ve gaz örnekleri, çok az numune hazırlığı veya hiç numune hazırlığı gerektirmeden kullanılabilmektedir (59),
- Bir optik mikroskopla birleştirildiğinde, FT-IR spektrometreleri çok az miktardaki numunelerin kimyasal ve fiziksel özelliklerini aynı anda kaydedebilir (59),
- Sınırsız veri girişine sahip yüksek hızdaki bilgisayarlara, yapay sinir ağları, çok değişkenli analiz teknikleri, faktör analizleri gibi istatistiksel yöntemleri entegre edilebilir (67),
- Kullanıcılar tarafından özel beceri gerektirmez (58),
- Hızlı, ucuz, hassas ve yüksek verimli analiz imkânı sunar (58),
- Kalibrasyon kaydı, analiz sonuçlarının doğru ve güvenilirdir,
- Az miktarda örnekle kısa sürede sonuç alınabilmektedir.

2.4.4. Kemometrik Analiz Metotları

Biyolojik numunelerin, spektroskopi tekniği ile edilen verilerinin basit veri analizi teknikleriyle yorumlanması sıklıkla zordur. Numune matrisinin karmaşıklığının artmasıyla birlikte, spektroskopik verilerin ayrıştırılması ve bilgi açısından zengin spektroskopik sinyallerden faydalı sonuçlar elde edilmesi için daha karmaşık matematiksel ve istatistiksel veri analizi rutinleri gerekmektedir. Kemometrik analizler çok değişkenli veri setlerini işlemek, paternleri tanımlamak ve anlamak için kullanılmaktadır. Tanımlama ve sınıflandırma çalışmalarında kullanılan istatistiksel yöntemler, gözetimsiz ve gözetimli örüntü tanımlama yöntemleri olmak üzere iki temel gruba ayrılır (68).

2.4.4.1. Gözetimsiz Örüntü Tanımlama Metotları

Gözetimsiz örüntü tanımlama, bir veri setindeki yapıları belirlemek için bir dizi analitik yöntemi kapsayan bir istatistiksel ve matematiksel yaklaşım setidir. Bu yöntemler, veri setindeki ilişkileri, benzerlikleri ve gruplamaları açıklamayı amaçlar ve genellikle veri setinin karmaşıklığından kaynaklanan bilgi kaybını en aza indirgenmesini sağlamaktadır. Bu metodlardan sıkça kullanılan yöntemleri sıralayacak olursak; boyut azaltma yöntemlerinden, Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis - PCA), bir kümeleme analizi yöntemi olan Hiyerarşik Kümeleme (Hierarchical Cluster Analysis-HCA), Regresyon Analizi (Regression Analysis) örnek olarak verilebilir (68).

2.4.4.1.1. Temel Bileşen Analizi (PCA)

PCA çok değişkenli veri setlerindeki değişken sayısını azaltmak ve veri setindeki temel varyansı yakalamak için kullanılan bir istatistiksel yöntemdir. Özellikle yüksek boyutlu veri setlerinde, iki değişken arasındaki ilişkinin ölçümü, boyut azaltma ve verilerin görselleştirilmesi ile veri setindeki karmaşık yapıları daha az sayıda değişkenle temsil etmeyi sağlaması analizin başlıca avantajlarıdır. PCA'nın geniş bir uygulama yelpazesi içinde kullanılmasını destekler. Ancak, PCA'nın doğrusal bir yöntem olması ve veri setindeki dağılımın lineer olması gibi faktörler gibi sınırlamalar da vardır (69).

2.4.4.1.2. Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA)

Hiyerarşik kümeleme analizi, bir veri setindeki gözlemleri veya öğeleri bir hiyerarşi içinde gruplandıran bir kümeleme yöntemidir. Veri setindeki gözlemleri benzerlik veya uzaklık ölçütlerine dayanarak kümelere ayırır ve bu sayede veri setindeki yapıları hiyerarşik bir şekilde görselleştirmeye yardımcı olur. Veri setindeki her gözlem çifti arasındaki benzerlik veya uzaklık hesaplanır ve bir matrise yerleştirilir. Benzerlik veya uzaklık kriteri belirlenir. Bir dendrogram oluşturur. Dendrogram, bu hiyerarşiyi temsil eden bir ağaç diyagramdır ve analizin sonunda

belirli bir küme sayısı seçilebilir. Bu yöntem, özellikle küme sayısının önceden belirlenmediği durumlarda kullanışlıdır (70).

2.4.4.2. Gözetimli Örüntü Tanımlama Metotları

Gözetimli örüntü tanımlama metotları, bu analizlerin içinde spesifik olarak belirlenmiş bir hedefin, etiketin veya sınıfın tahmin edilmesine odaklanan bir yöntemdir. Veriler daha önceden tanımlanmış gruplara göre ayrımı yapılarak, grup sınırları içerisinde daha net bir sınıflandırma yapılmasını sağlamaktadır. Yaygın olarak kullanılan bazı gözetimli örüntü tanımlama metotları, Lineer ayırma analizi (LDA), kısmi en küçük kareler ayırma analizi (PLS-DA), yapay sinir ağları (Artificial Neural Networks, ANN) ve SIMCA (Soft Independent Modeling by Class Analogy) şeklinde sınıflandırılabilirler.

2.4.4.2.1. SIMCA (Soft Independent Modelling by Class Analogy)

Çok değişkenli analizde kullanılan bir kimyasal sınıflandırma yöntemidir. Bu yöntem, bir sınıfın ortalamasını ve varyansını içeren bir model oluşturarak, gözlemleri sınıflandırmak ve sınıflar arasındaki farkları belirlemek için kullanılmaktadır. Özellikle kimyasal ve biyokimyasal veri analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır. SIMCA'nın bir özelliği, "soft" yani yumuşak bir sınıflandırma yöntemi olmasıdır. Her gözlem, sınıf modelleriyle uyumsuzluğunu belirten bir benzerlik skoru alır ve bir kabul eşiği belirlenir. Bu eşik, bir gözlemin bir sınıfa ait olup olmadığını belirlemek için kullanılır (71).

2.4.4.2.2. Yapay Sinir Ağları (YSA)

Kemometrik analizlerde, YSA, spektroskopik veriler, kimyasal bileşenler veya biyokimyasal ölçümler gibi çok değişkenli veri setlerini işlemek ve modeller oluşturmak için kullanılır (56). Genellikle giriş katmanı, gizli katmanlar ve çıkış katmanı olmak üzere üç temel katmandan oluşur. Giriş katmanı, veri setinden gelen özellikleri temsil eder. Gizli katmanlar, bu özellikleri işleyerek karmaşık ilişkileri öğrenir. Çıkış katmanı ise nihai tahminleri üretir. YSA, karmaşık ve non-lineer

ilişkileri modelleme yeteneği ile bilinir. Bu nedenle, veri setlerindeki karmaşıklıkları anlamak ve öğrenmek için kullanılabilir (72). Gözetimli kemometrik analizlerde geniş bir uygulama alanına sahiptir ve özellikle büyük, karmaşık veri setlerindeki desenleri tanımlamak ve tahmin etmek için etkili bir araçtır.

2.4.4.2.3. Destek Vektör Makineleri (SVM)

SVM, veri noktalarını iki veya daha fazla sınıf arasında bir hiperdüzlemle ayırarak sınıflandırma ve regresyon problemleri için kullanılan bir makine öğrenimi algoritmasıdır. Temelde, veri noktalarını iki veya daha fazla sınıf arasında bir hiperdüzlemle ayırmayı amaçlar. Bu hiperdüzlem, iki sınıf arasındaki marjı (mesafeyi) maksimize etmeye çalışır. SVM, destek vektörleri ve çekirdek fonksiyonları gibi kavramları kullanarak bu hiperdüzlemi belirler. Marjı maksimize etme prensibiyle çalışan SVM, sınıfları mümkün olduğunca belirgin bir şekilde ayırmayı amaçlar. Destek vektörleri, sınırlayıcı hiperdüzlemi destekleyen ve marjın oluşturulmasına katkıda bulunan kritik noktalardır. Çekirdek fonksiyonları, çeşitli veri uzaylarında karmaşık hiperdüzlemleri oluşturabilen önemli bir özelliktir. C ve gamma parametreleri, SVM'nin performansını etkileyen kritik ayarlamalardır. Sınıflandırma problemlerinde SVM, destek vektörleri arasındaki marjı maksimize ederek sınıfları ayırırken, regresyon problemlerinde hedef değişkenin tahminlenmesi için kullanılır. Özellikle veri ön işleme adımlarıyla birleştirildiğinde SVM, yüksek boyutlu veri setlerinde etkili ve güvenilir bir performans sergileyebilen güçlü bir gözetimli öğrenme algoritmasıdır (73).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Onay

Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenen TKP-2023-11849 kodlu bu çalışma için, 02.06.2022 tarih ve 431 sayılı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı alınmıştır. 03.08.2022 tarih ve 2022/703 sayılı Adli Tıp Kurumu Başkanlığı Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu onayı alınmıştır. Erzurum Adli Tıp Grup Başkanlığında, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)'da, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarında çalışma gerçekleştirilirken Helsinki Bildirgesi kriterleri göz önünde bulundurulmuştur. Örnekler elde edilirken rutin tespite ait otopsi materyali kullanılmıştır.

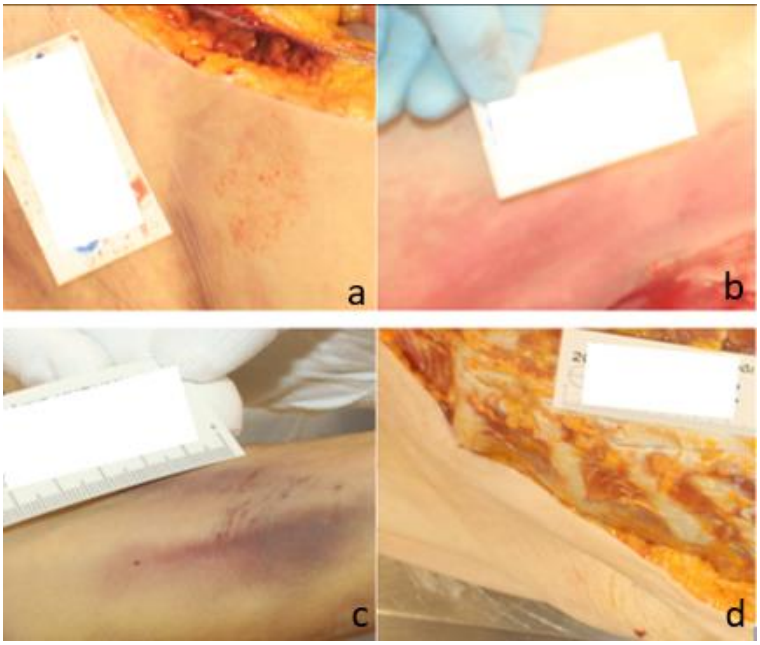
3.2. Örneklerin Elde Edilmesi

Erzurum Adli Tıp Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesi'nce 03.08.2022-02.04.2023 tarihleri arasında otopsileri yapılan olgulardan ekimoz yaşı, adli tahkikat evrakı, hastane kayıtları, tanık ya da aile yakınlarının bilgisi ile tespit edilen 24 olgudan, 1x0.3 cm.lik boyutlarda örnekler alınmıştır. Alınan örnekler sıvı azotta dondurularak DAYTAM'ın ilgili laboratuvarında -80 °C dolapta muhafaza edilmiştir. Çalışma kapsamında örneklerin toplanılması aşamasında, postmortem ekimoz saptandığı halde; travma tarihi tespit edilemeyen, ölüm sonrası zamanı 24 saatlik zaman dilimini geçen ve çürüme bulgusu saptanan olgular, ekimoz üzerinde sıyrık ve laserasyon bulunan olgular, 18 yaş altı ve 65 yaş üstü olgular, el ve ayak tabanında bulunan ekimoz örnekleri, yara iyileşme sürecini etkileyen hastalık varlığı bulunan olgular, çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır.

3.3. Örneklerin Sınıflandırılması

Ekimoz yaşı tespit edilen otopsi olgularından elde edilen örnekler, öncelikle travma grubu ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Travma grubu ise otopside ciltte ekimoz saptanan ve ekimoz yara yaşı kesin olarak bilinen olgulardan seçilmiştir. Travma zamanı, adli tahkikat evrakı, hastane kayıtlarından ve akrabaların ifadelerinden hesaplanmıştır. Kontrol grubunu (K) ise hiçbir travma bulgusu olmayan aynı olgudan alınan cilt doku örnekleri oluşturmuştur. Çalışma grubu aşağıda ayrıntılı olarak tanımlanmıştır.

Çalışma kapsamında travma sonrası ekimoz oluşan ve en fazla 24 saat içerisinde ölüm gerçekleşen olgular yeni ekimoz grubu (YE) olarak; travma sonrasında 24. saatten sonra ölüm gerçekleşen olgulardan alınan deri örnekleri ise eski ekimoz grubu (EE) olarak belirlendi. Çalışma süresince eski ekimoz grubunda en erken 7 günlük ekimoz ve en geç 13 günlük ekimoz olgusu elde edebildik. EE grubunda 1-6 günler arasında olgumuz olmadı. Toplamda ekimoz yaşı bilinen 35 otopsi olgusundan örnek alındı. Bunlardan 7'si EE grubu, 17'si YE grubu, 11'i ise K grubu olarak inceleme için çalışmaya dahil edildi.



Şekil 10. Eksizyon öncesi deri dokularının görüntüsü (a=YE, b=YE, c=EE, d=K)

Tablo 3. Otopsi olgularından elde edilen örneklerin sınıflandırılması.

Kontrol Grubu (K)		Hiçbir travmatik bulgu içermeyen normal deri örnekleri **(**n=11)
Travma Grubu	**Yeni Ekimoz (YE)**	Travma sonrası 24 saat içerisinde ölüm gerçekleşen olgulardan alınan deri örnekleri (n=17)
	Eski Ekimoz (EE)	Travma sonrasında 24. saatten sonra ölüm gerçekleşen olgulardan alınan deri örnekleri (n=7)

(EE: Eski Ekimoz, YE: Yeni Ekimoz, K: Kontrol grubu)

3.4. Örneklerin Histopatolojik İncelenmesi

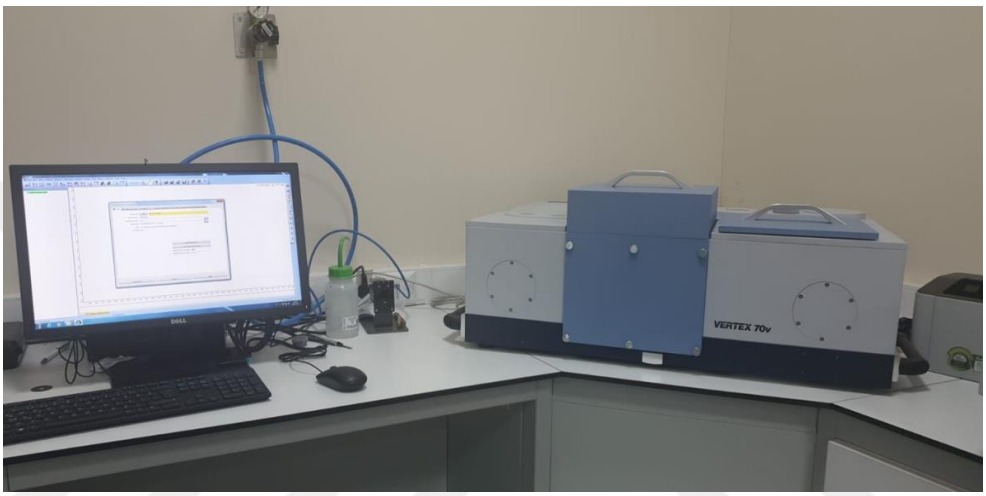
Elde edilen dokular %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Rutin doku takip işlemi sonrası hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Bu kesitler hematoksilen – eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskobunda histopatolojik olarak değerlendirildi. (Olympus BX 51, Tokyo, Japan). Mikrofotoğraflar dijital kamera ile (ZEISS Axiocam HRc) ile çekildi. Kanama alanındaki olası makrofaj infiltrasyonunun miktarının belirlenmesi ve makrofajlarda hemosiderini görselleştirilmesini sağlamak amacıyla histokimyasal olarak Pearls Prussian Blue boyası, boyanın kullanma talimatına uygun olarak yapıldı.

3.5. Doku Örneklerine Ait Spektrum Datalarının Elde Edilmesi

Postmortem incelemelerde eski ekimoz, yeni ekimoz ile ekimoz olmayan (kontrol) gruplar arasındaki biyokimyasal kompozisyondaki farklılıkları ortaya koymak ve bu farklılıklara dayalı tanı metodu geliştirmek amacıyla ***ATR-FTIR*** yöntemi kullanılmıştır. Her gruptaki örneklere ait spektrumlar DAYTAM'da bulunan Bruker Vertex 70 ATR-FTIR spektroskopisi kullanılarak elde edilmiştir. FT-IR spektrometresinin içinde KBr ışın yayıcı ve DLaTGS detektör ve ekipmanında elmas kristal bulunmaktadır. Cihaz, ışın kaynağı, optik sistem ve detektörden oluşmaktadır. Optik sistemde ışın yayıcı, sabit ayna ve hareketli ayna bulunmaktadır (Şekil 3).

Ekimoz ve kontrol gruplarına ait deri örnekleri FT-IR spektroskopi kristalinin (Elmas/ZnSe) üzerine konularak, sabit basınç uygulanmıştır. Spektral veriler 4000-

400 cm^{-1} frekans aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükte ve 50 tarama sayısı ile OPUS 7.5 yazılımı (Bruker Optics, GmbH) kullanılarak toplanmıştır (Şekil 7). Her taramadan sonra deiyonize su ve izopropil alkol içeren, ıslatılmış temizleme mendilleri kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Spektral datalarda havadaki nem ve karbondioksitin katkısını elimine etmek amacıyla, herhangi bir numune yerleştirmeden FT-IR spektrumları arka plan (background) olarak çekilmiş ve söz konusu spektrumlar örnek spektrumlarından otomatik olarak çıkarılmıştır.



Şekil 11. Bruker Vertex 70 ATR-FTIR spektrometresi (DAYTAM)



Şekil 12. FT-IR spektrometresi kristali (ZnSe) (DAYTAM)

- Etiketli olarak sınıflandırılarak -80 derece koşullarında muhafaza edilen doku örnekleri FT-IR inceleme öncesi çözünmesi sağlanarak, şekil 8'de gösterilen FT-IR spektrometresi kristali (ZnSe) üzerine konularak sabit basınç uygulanmıştır.

- 4000-400 cm^{-1} frekans aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükte 50 tarama sayısı ile OPUS 5.5 yazılımı (Bruker Optics) kullanılarak her bir örnek için spektrum elde edilmiştir.
- Doku örneklerine ait spektrumların tamamı sabit basınç ve sürede toplanmıştır.
- Spektrumun doğruluğundan emin olmak için her bir örnekten üç kez spektrum toplanılmıştır.
- Elde edilen spektrumların ortalaması alınarak spektrumlar kalitatif spektral ve kemometrik analizler için kullanılmıştır.
- Ölçümler üzerinde diğer faktörlerin etkisini ortadan kaldırmak amacıyla, her bir örneğin çekiminden sonra su ve pamuk kullanılarak örnek konulan bölge temizliği sağlanmıştır,
- Yine ölçümler üzerinde diğer faktörlerin etkisini ortadan kaldırmak amacıyla cihaza örnek koyulmadan FT-IR spektrumları arka plan olarak çekilip, söz konusu spektrumlar örnek spektrumlardan otomatik olarak çekilmiştir.

3.6. Kemometrik Analizler

Eski ekimoz, yeni ekimoz ve ekimoz olmayan (kontrol) örneklerin, spektral verilere dayalı olarak ayrılıp ayrılmadığını ortaya koymak amacıyla, gözetimsiz (unsupervised) örüntü tanıma yöntemlerinden, ilk önce temel bileşen analizi (PCA) yapılmıştır. PCA skor grafiklerinde elde edilen gruplanma desenleri desteklemek amacıyla hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) uygulanmıştır. Kemometrik analizler öncesi spektrumlar, OPUS 5.5 (OPUS, Bruker Optics, Ettlingen, Germany) yazılımı kullanılarak base-line düzeltmesi (concova rubber band, iteration number :10, baseline point number: 64) ve smoothing (smoothing point: 17) gibi spektral öncül işlemlere tabi tutulmuştur. Tüm kemometrik analizler için Unscrambler X 10.4 (Camo Software, Inc.) programı kullanılmıştır.

3.6.1. Gözetimsiz Kemometrik Analizler

Öncül işlem görmüş spektrumlara, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgede PCA ve HCA analizleri uygulanmıştır. PCA analizinde gruplar arasındaki farklılaşmalar skor grafikleriyle, HCA analizinde ise dendrogram grafikleriyle gösterilmiştir. HCA sonuçlarından yönteme ait duyarlılık, özgüllük ve doğruluk değerleri tablo ve formüller kullanılarak hesaplanmıştır (Tablo 4).

PCA skor grafiğinde, aynı grupta yer alan örnekler birbirine yakın olarak konumlanmaktadır. Farklı gruplardaki örnekler ise eğer aralarında spektral bantlarda farklılık var ise farklı bölgelerde yer almaktadır. Gruplar arasındaki farklılıklar, kantitatif olarak, skor grafiklerinde PC değerleri ile gösterilmektedir. Ayrıca gruplar arasındaki farklılıklar % değer olarak, PC bileşenleri ile ifade edilmektedir.

Duyarlılık, kontrol grubu dışındaki grupların doğru şekilde tanımlanma oranını ifade ederken, özgüllük ise kontrol grubunun doğru bir şekilde ayrılma oranını göstermektedir.

Duyarlılık = (Ax100) / (A+B)

Özgüllük = (Dx100) / (C+D)

Doğruluk = [(A+D) X100] / (A+D+B+C)

Tablo 4. HCA kümelenme sonucuna göre grupların duyarlılık ve özgüllük bileşenlerinin gösterimi.

HCA Kümeleme Sonucu		
Grup Adı	**Pozitif**	**Negatif**
Kontrol	A	B
Yeni Ekimoz Eski Ekimoz	C	D

3.6.2. Gözetimli Kemometrik Analizler

PCA ve HCA dan elde edilen bulguları desteklemek amacıyla Support Vector Machine (SVM) analizi uygulanmıştır. Bu analiz öncesi her gruptan rastgele ikişer örnek çıkartılarak, her grup için öncelikle eğitici veri seti oluşturulmuş ve kalan örnekler ise test veri setine dahil edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma kapsamında 35 olguya ait otopsi sırasında cilt doku örnekleri alındı. Olguların ortalama yaşı 43,91 (Min: 18; Maks: 65) olup, olguların %60 (n=21) erkek, %40 (n=14) kadındı. Örnek alınan olgulardaki ekimoz nedenleri incelendiğinde; %71,4 (n=25) trafik kazası, %2,9 (n=1) darp, %25,7 (n=9) yüksekten düşme kaynaklı idi. Ölüm olguların %48,6 (n=17) travmanın ilk 24 saati içinde; %20,1 (n=7) 24 saat sonra meydana gelmişti (Min: 1 gün; Maks: 13 gün). Örnek toplama süresince, travma ile ölüm arasında 1-6 günlük olguya ulaşılamadı.

Tablo 5. Grupların dağılımı

	%	n
Eski Ekimoz (EE)	20	7
Yeni Ekimoz (YE)	48,6	17
Kontrol Grubu (K)	31,4	11
Toplam	100	35

Tablo 6. Olguların cinsiyete göre dağılımı

	%	n
Kadın	40	14
Erkek	60	21
Toplam	100	35

Tablo 7. Olguların yaş dağılımı

Ortalama	43,91
Ortanca	43
Std. Sapma	16,004
Aralık/Range	47
Minimum	18
Maksimum	65

Tablo 8. Travma grubunun ekimoz kaynağına göre dağılımı

	%	n
Yüksekten Düşme	25,7	5
Darp	2,9	1
Trafik Kazası	71,4	19
Toplam	100	24

Tablo 9. Travma olgularının süre bakımından dağılımı

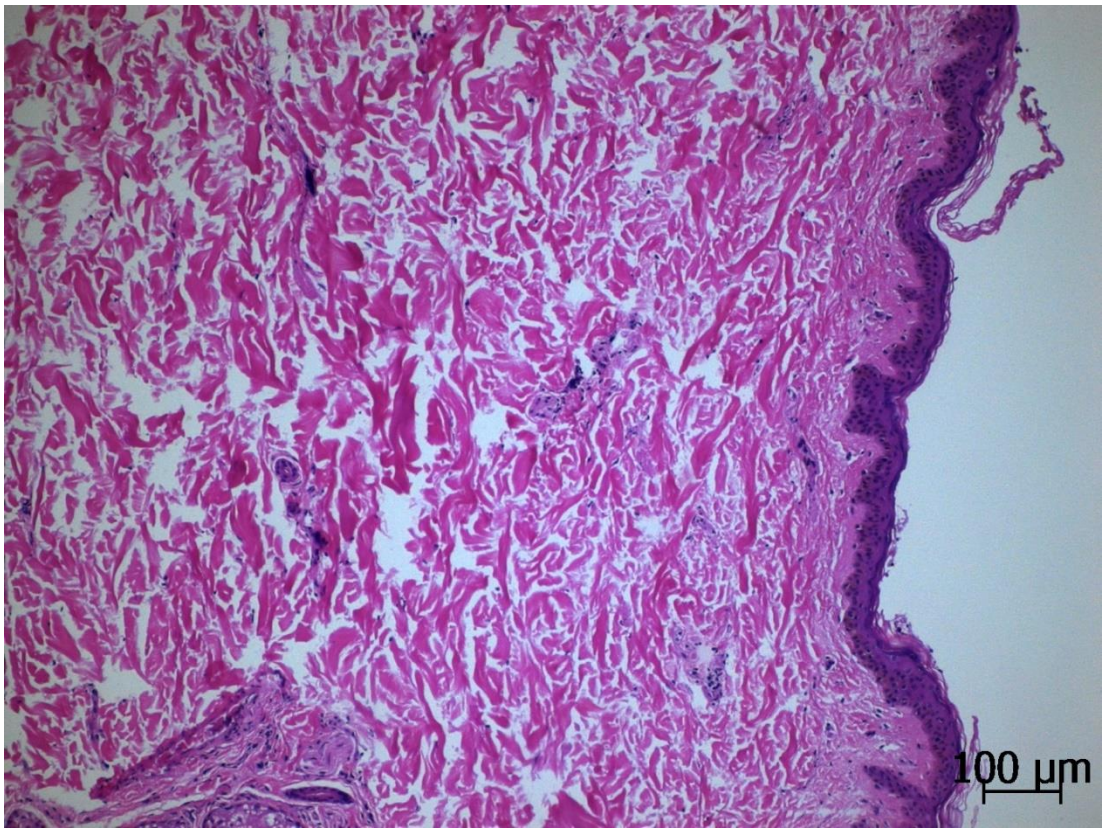
	%	n
24 saat<	70,83	17
7 gün	16,66	4
9 gün	4,16	1
10 gün	4,16	1
13 gün	4,16	1
Toplam	100	24

Bizim tez çalışmamızda otopsi esnasında ekimoz yaşı tespit edilebilen olgulardan, histopatolojik değerlendirmenin yanında ve FT-IR spektroskopik değerlendirme için cilt örnekleri toplanmıştır. Histopatolojik incelememize korole olarak, elde edilen ekimoz cilt örnekleri ATR-FTIR spektrometre ile analiz edilerek ekimoz yaşı tayininde yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Sekiz aylık örnek toplama sürecinde, 1, 7, 9, 10 ve 13 günlük ekimozlara rastlanmış olup 13 günden daha eski ve yedi günden daha yeni ekimoz yaşına sahip ekimoz olgusu denk gelmemiştir.

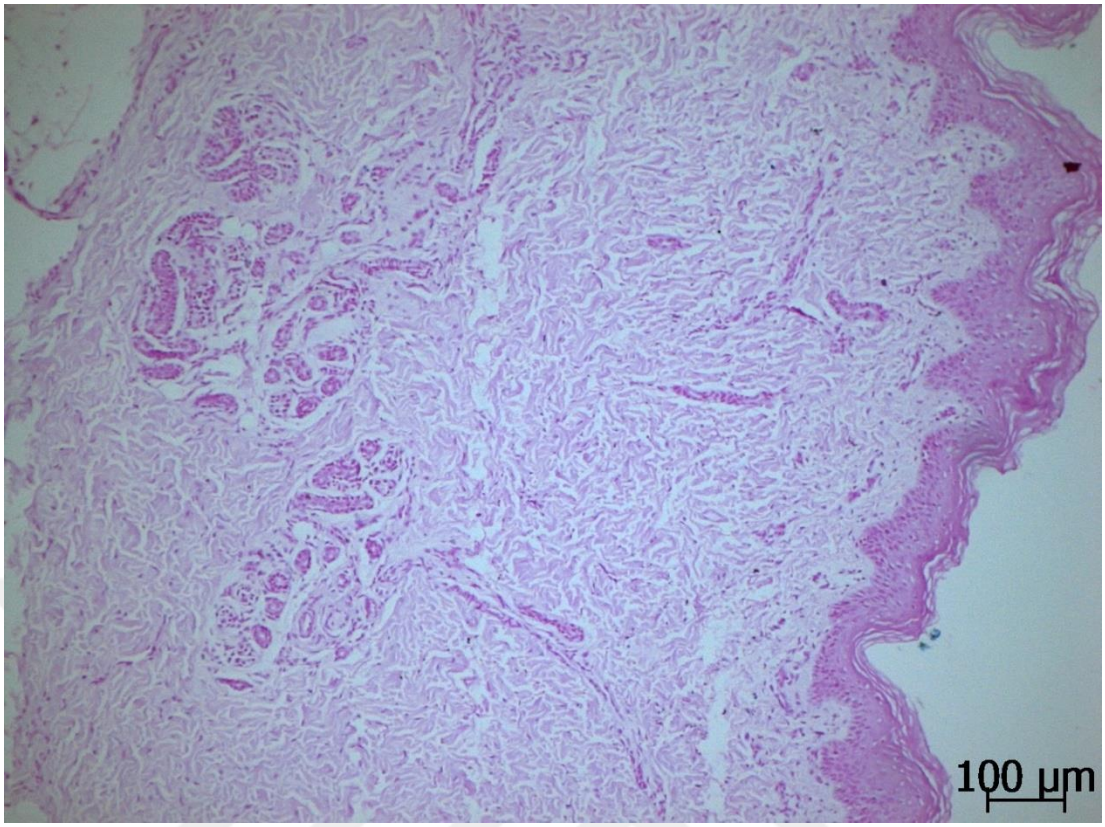
4.1 Histopatolojik Bulgular

Yaptığımız histopatolojik incelemelerde elde ettiğimiz görüntülerden Şekil 13-14'te Kontrol grubuna ait örnekler bulunmaktadır. Normal cilt dokusuna ait histomorfolojik bulgular görülmüştür. Perls Prusya mavisi ile boyanma izlenmemiştir. Şekil 15-16'da travma sonrası 24 saat içerisinde ölüm gerçekleşen cilt örneğinden alınan deri örnekleri yer almaktadır. Şekil 15'te ait cit dokusuna ait kesitlerde serbest

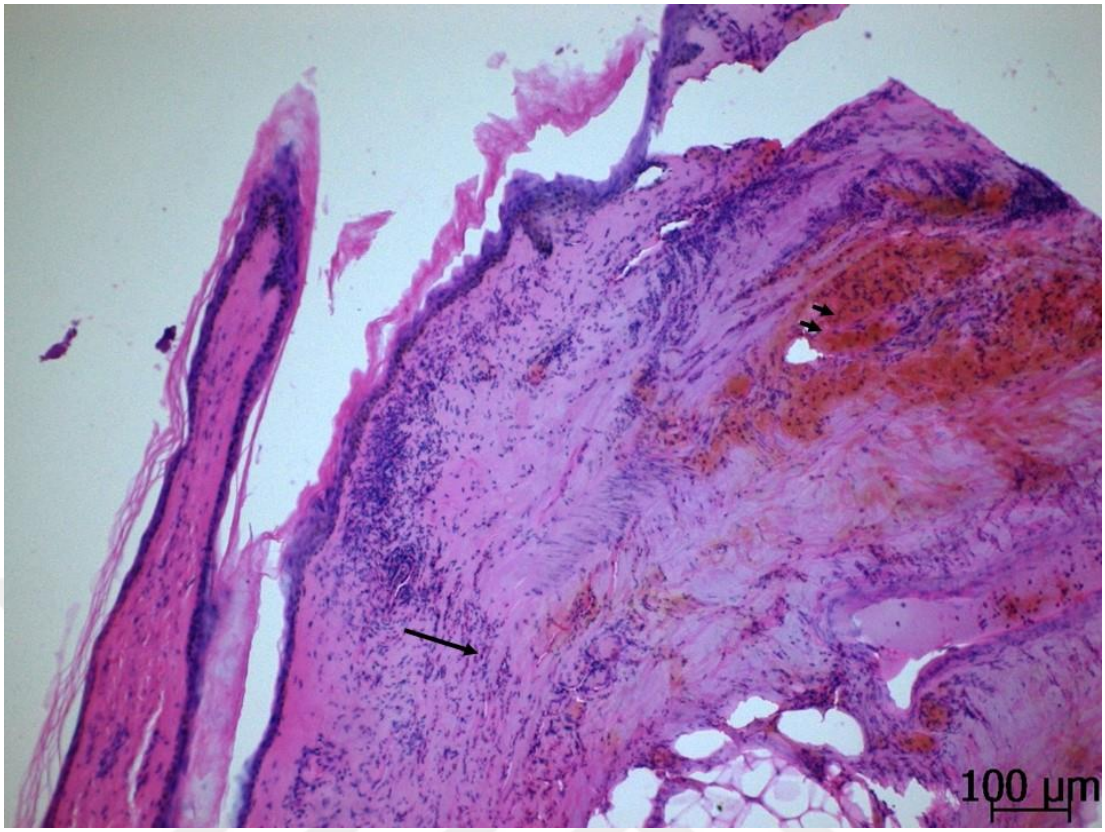
kanama alanları ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu izlenmiştir. Şekil 16'da uygulanan Pearls Prussian Blue boyası ile boyanma izlenmemiştir. Şekil 17-18'de travma sonrasında 24. saatten sonra ölüm gerçekleşen olgulardan alınan deri örnekleri yer almaktadır. Şekil 17'de cilt dokusunda kahverenkli görülen hemotoidin partikülleri (ok) görülmüştür. Şekil 18'de uygulanan Perls Prusya mavisi ile boyanma izlenmemiştir.



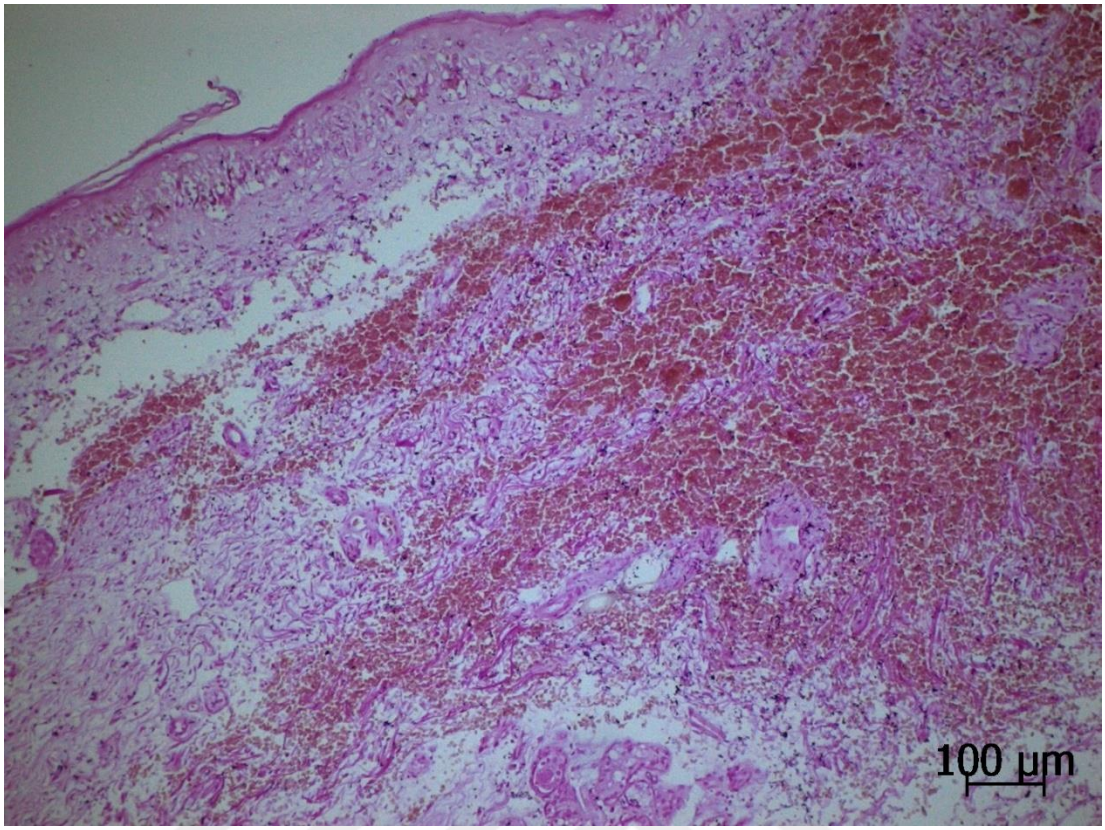
Şekil 13. Kontrol grubuna ait cilt dokusu, normal histomorfolojik görünümde epidermis,deri ekleri ve subepidermal hücreler. (H&E)



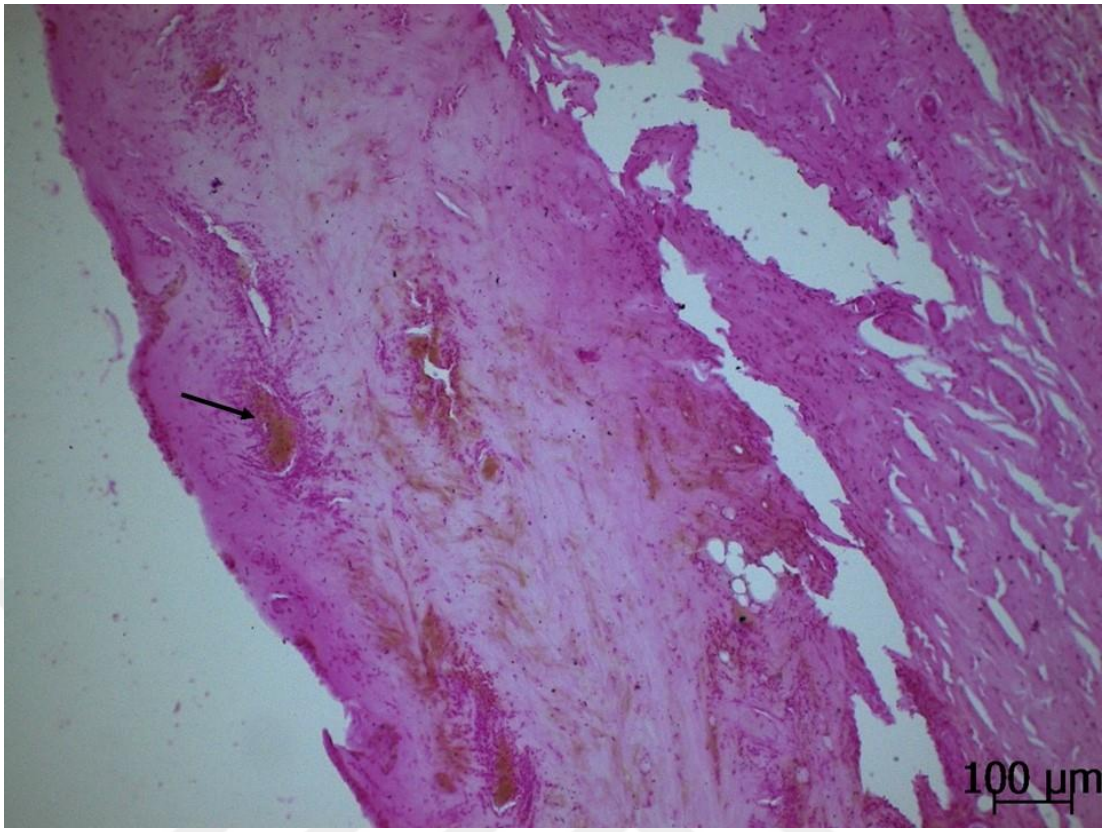
Şekil 14. Kontrol gruba ait cilt dokusu. (Pearls Prussian Blue boyası)



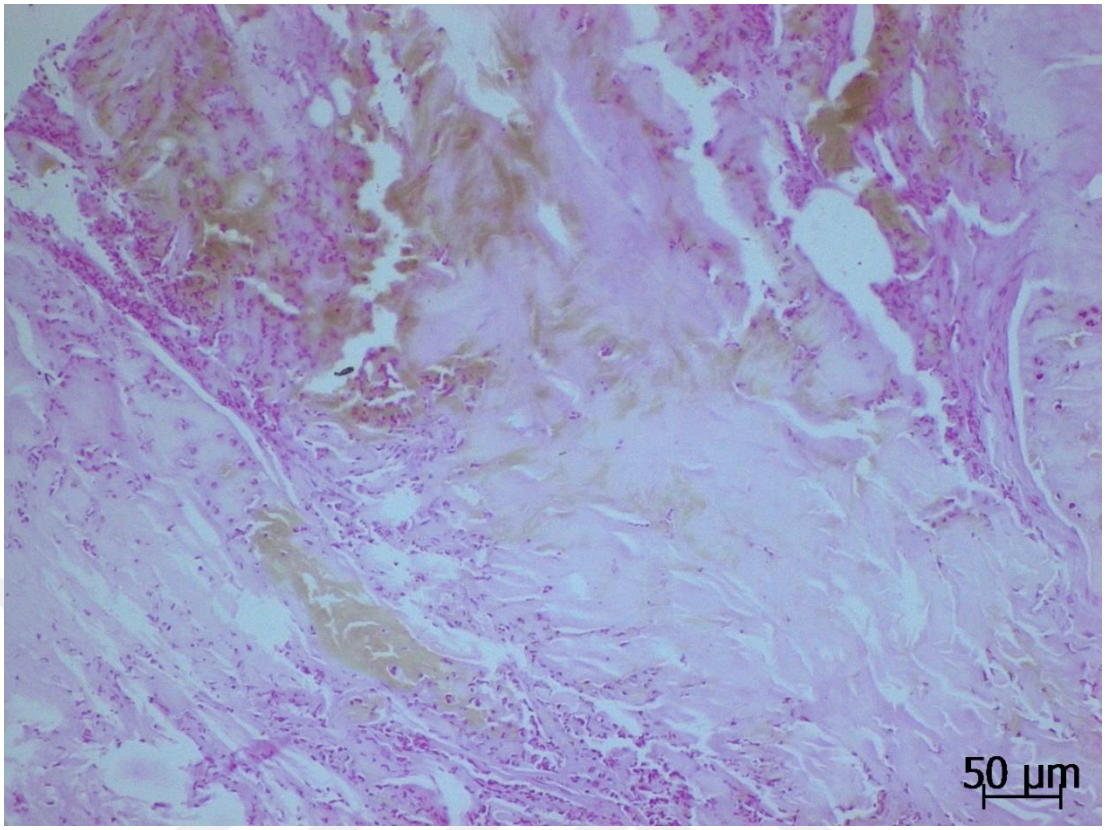
Şekil 15. YE grubuna ait cit dokusundaki kesitlerde serbest kanama alanları (kısa oklar) ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyon (uzun ok) alanları. (H&E)



Şekil 16. YE grubuna ait bölgesinden alınan cilt örneği (Pearls Prussian Blue boyası)



Şekil 17. EE grubuna ait alandan örneklenen cilt dokusunda kahverenkli görülen hemotoidin partikülleri (ok). (H&E)



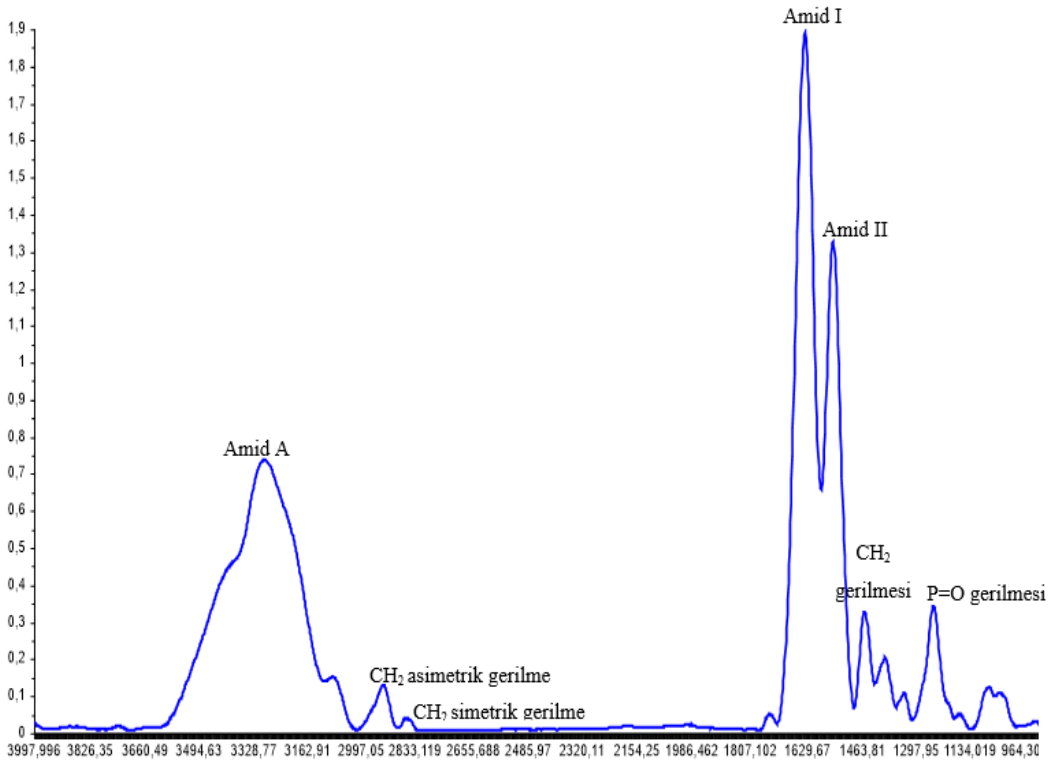
Şekil 18. EE grubuna ait cilt dokusuna ait deri örneği (Pearls Prussian Blue boyası)

4.2. ATR-FTIR Spektroskopik Bulgular

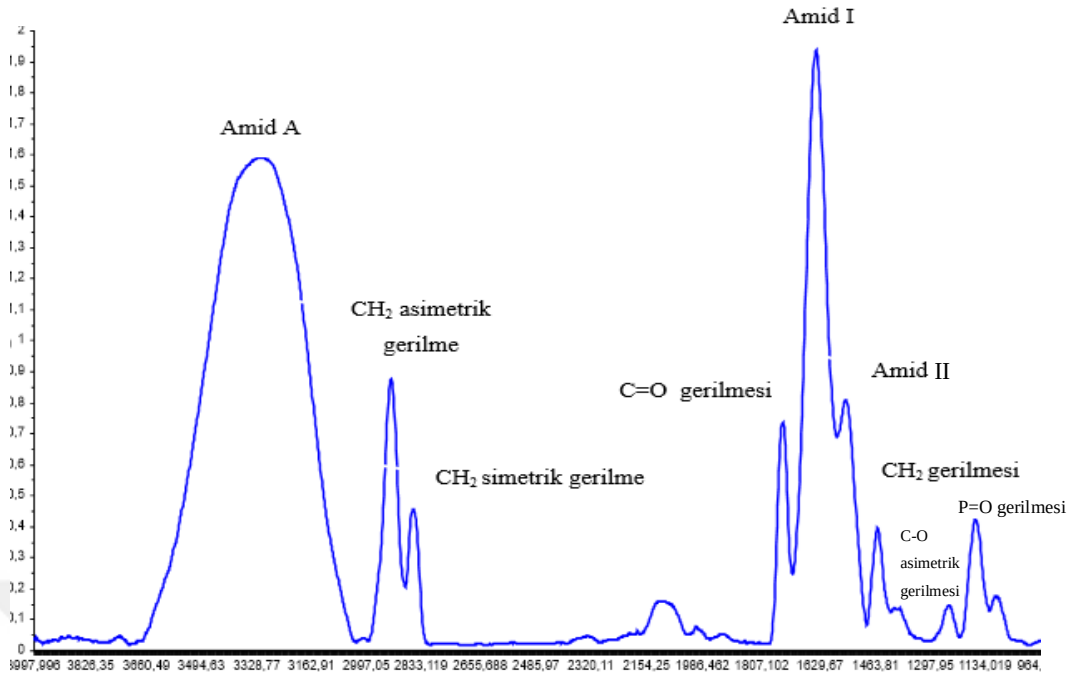
Yaptığımız ATR-FTIR spektrometresiyle yaptığımız ölçümler sonucunda, çalışmamızda elde edilen ortalama spektrumlar, Şekil 19-20-21'de gösterilmiştir. Her üç spektrum da incelendiğinde, majör pikler görülmüştür. Elde ettiğimiz majör piklerin kaynaklandığı biyolojik moleküler yapılar ve bu verilerin literatürdeki diğer çalışmalarda bulunan formları Tablo 10'da belirtilmiştir.

Yapılan spektroskopik ölçümler sonucunda her üç grupta da (K,EE,YE) 4000 cm^{-1} – 400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında majör pikler tespit edilmiştir. K grubu için majör pikler sırasıyla 3290 cm^{-1}, 3078 cm^{-1}, 2923 cm^{-1} ,2852 cm^{-1}, 1635 cm^{-1}, 1550 cm^{-1}, 1448 cm^{-1}, 1386 cm^{-1}, 1240 cm^{-1} dalga sayılarında yer aldığı (Şekil8) , EE grubu için majör pikler sırasıyla sırasıyla 3317 cm^{-1} , 2921 cm^{-1} , 2852 cm^{-1} , 1740 cm^{-1} , 1639cm^{-1} , 1548 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} ve 1400 cm^{-1}, 1232 cm^{-1}, 1155 cm^{-1} dalga sayılarında yer almaktadır (Şekil 9).

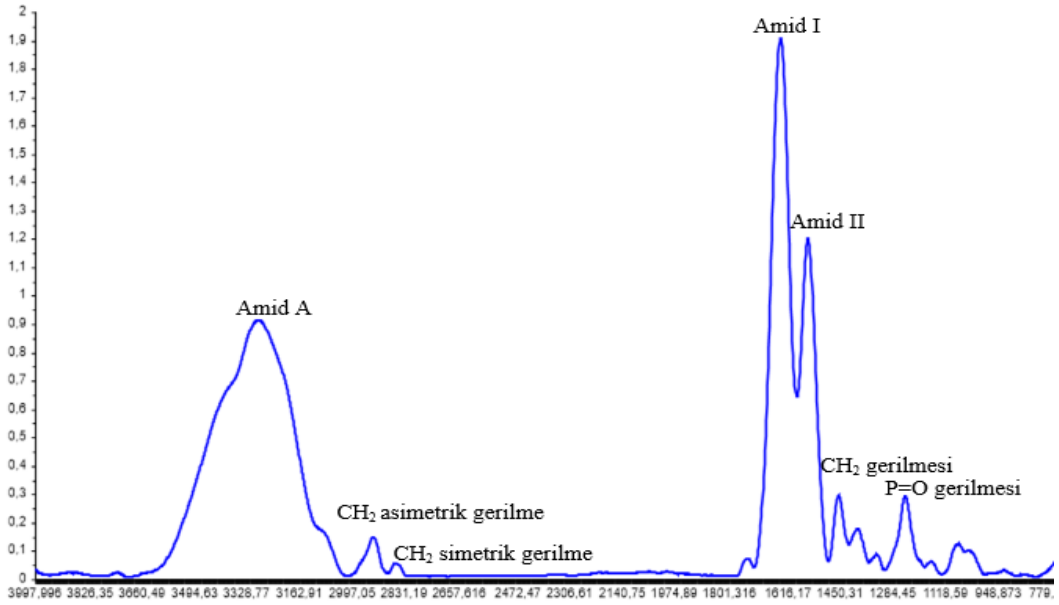
YE grubu için tespit edilen majör pikler sırasıyla, 3294 cm^{-1}, 3074 cm^{-1}, 2935 cm^{-1}, 2856 cm^{-1}, 1733 cm^{-1}, 1637 cm^{-1}, 1554 cm^{-1} , 1452 cm^{-1}, 1386 cm^{-1}, 1238 cm^{-1} dalga sayılarında (Şekil 10) yer almaktadır.



Şekil 19. Kontrol grubuna ait spektrumda elde ettiğimiz majör pikler



Şekil 14. Eski Ekimoz grubuna ait spektrumda elde ettiğimiz majör pikler



Şekil 20. Yeni Ekimoz grubuna ait spektrumda elde ettiğimiz majör pikler

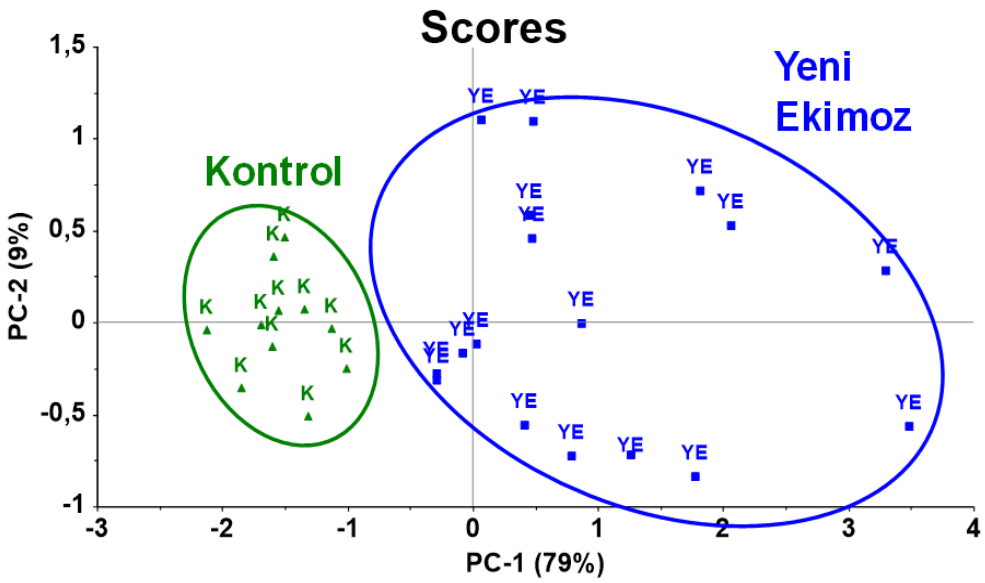
Tablo 10. Çalışmamızda saptadığımız ve literatürde bahsedilen deri dokusundaki belirgin spektral bantların konumları ve tanımları

Dalga sayısı (cm^{-1}) Çalışmamız	Dalga sayısı (cm^{-1}) Literatür	Anayapı	Etkin Kuvvet	Referans
3217	**3300**	**Protein**	**N-H gerilmesi Amid A**	(74)
2921	**2922**	**Lipit**	**CH_2 asimetrik gerilme**	(75)
2852	**2853**	**Lipit**	**CH_2 simetrik gerilme**	(76)
1740	**1739**	**Ester grubu, Trigliserit Kolesterol ester**	**C=O gerilmesi**	(75)
1639	**1639**	**Protein**	**Amid I**	(76,77)
1548	**1545**	**Protein**	**Amid II**	(76,77)
1450	**1452**	**Lipit**	**CH_2 gerilmesi**	(75,76)
1400	**1401**	**Lipit**	**$C(CH_3)_2$ simetrik gerilme**	(78)
1232	**1250-1220**	**Nükleik Asit**	**P=O Asimetrik gerilmesi**	(79)
1155	**1171**	**Ester grubu, Kolesterol ester**	**C–O–C, C–O Asimetrik gerilme**	(7)
1089	**1084**	**Nükleik Asit**	**P=O simetrik gerilmesi**	(7)

Kontrol ve travma (EE ve YE) grupları arasında herhangi bir ayrım olup olmadığını ve gruplar arası bağıntıları belirlemek amacıyla, örnek spektrumlarına önce ikili grup kombinasyonlarına, daha sonra tüm üç gruba temel bileşen analizi (PCA) ile hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) uygulandı.

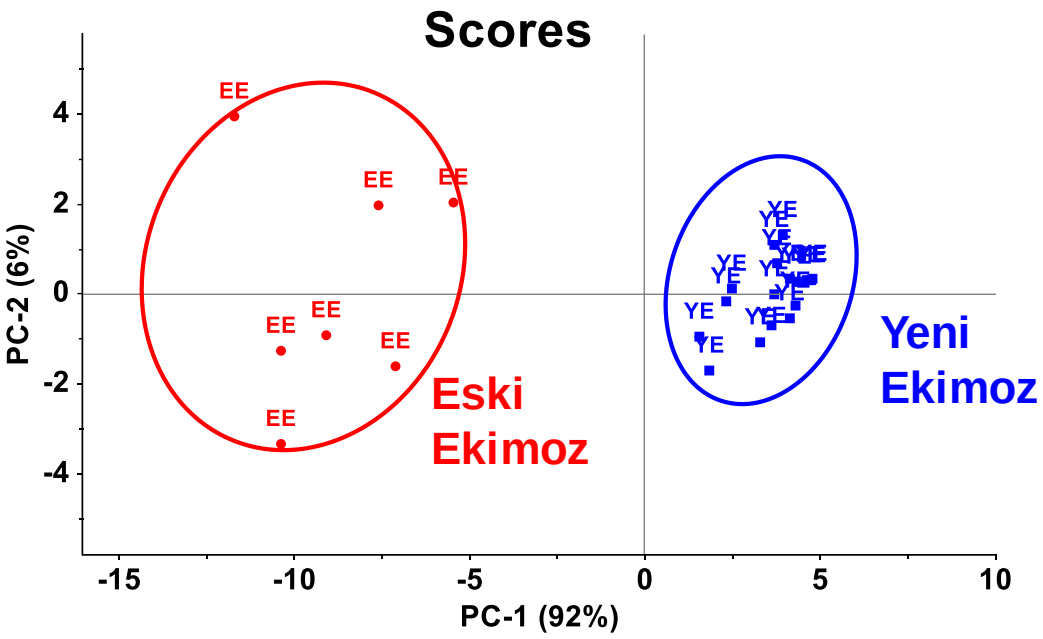
Şekil 21'da kontrol grubu (K) ve yeni ekimoz (YE) grubu PCA skor grafiği verilmiştir**.** İncelendiğinde K ve YE gruplarında, grup içi örnekler birbirine yakın bir şekilde kümelenmiştir. Ancak gruplar arasındaki uzaklık değerlerine bakıldığında bu

değerin küçük olduğu bulunmuştur. Gruplar arasındaki varyasyon değeri toplam %88 olarak elde edilmiştir.



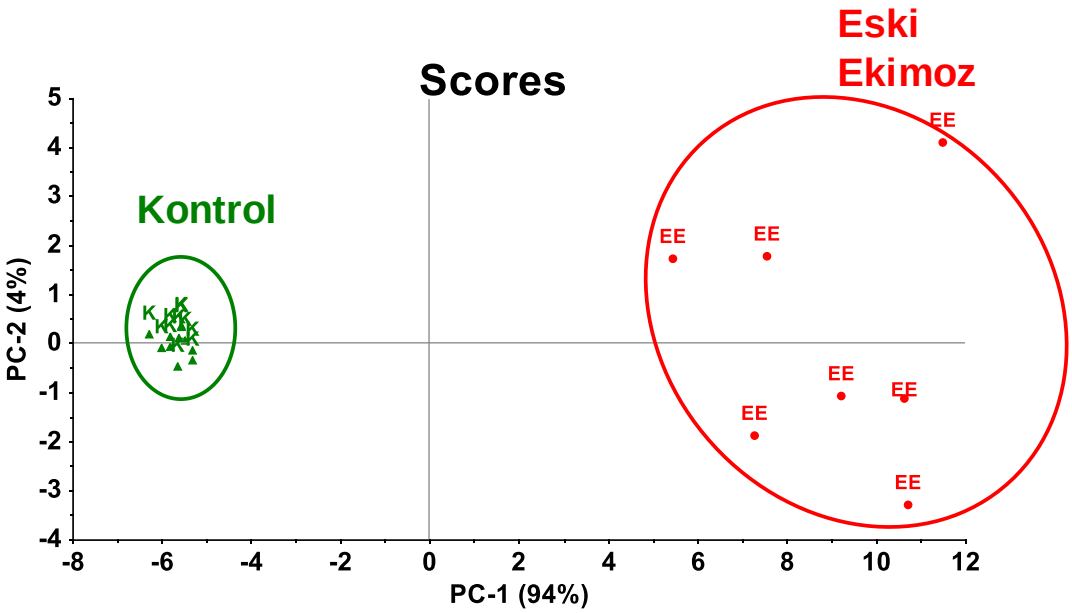
Şekil 21. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Kontrol ile Yeni Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği.

Şekil 22'de YE ve EE gruplarına ait PCA skor grafikleri verilmiştir. EE-YE gruplarında K-EE grubunda olduğu gibi gruplar arasındaki varyasyon değeri toplam %98 olarak bulunmuş olup, Şekil 8'e göre birbirinden daha uzak yerlerde kümelenmiştir.



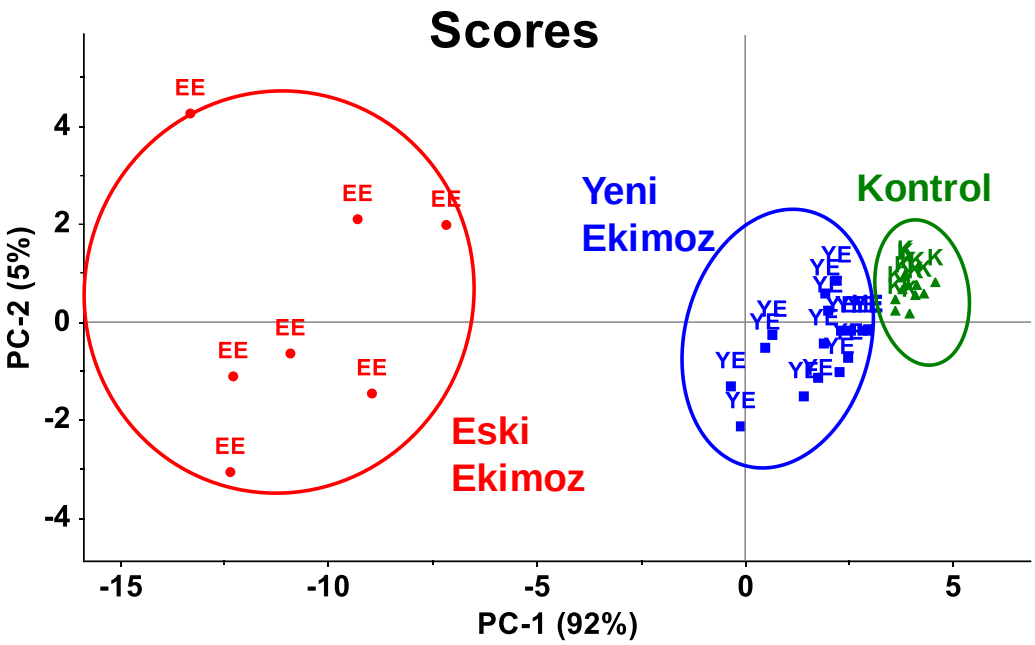
Şekil 22. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Eski Ekimoz ile Yeni Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği.

Şekil 23'de K ve EE grubuna ait PCA skor grafiği verilmiştir. K-EE grupları arasındaki varyasyon değeri toplam %98 olarak bulunmuş olup, gruplar Şekil 16 ve Şekil 17'a göre birbirinden daha uzak yerlerde kümelenmiştir. EE ile diğer gruplar arasında yapılan PCA skor analizinde spektral bantlarda belirgin farklılıklar gösterdiği bulunmuştur.



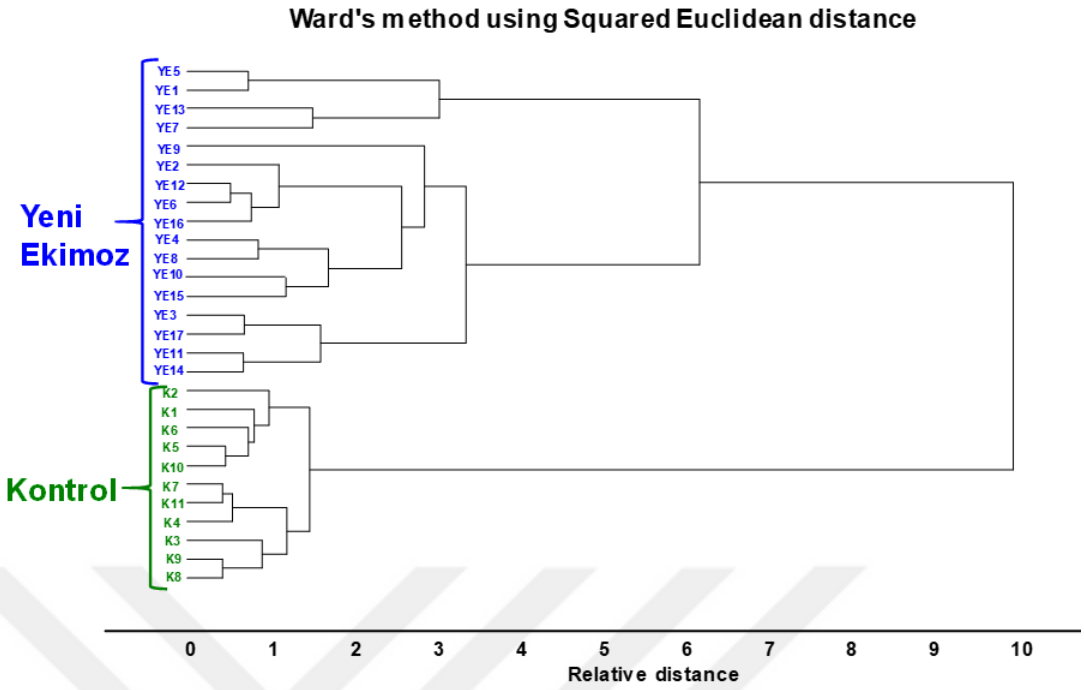
Şekil 23. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Kontrol ile Eski Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği.

Çalışılan tüm gruplarda kümeleşmeleri ortaya koymak için PCA üçlü gruba da yapılmıştır. Şekil 24'de üçlü grup analizi için elde edilen skor grafiği verilmektedir. % 97 varyasyon değeri ile tüm gruplar birbirinden başarılı bir şekilde ayrıldığı görüldü. EE diğer iki gruba göre farklı bir yerde yer alırken, K ve YE grubu birbirine oldukça yakın bir şekilde kümelendiği görüldü.

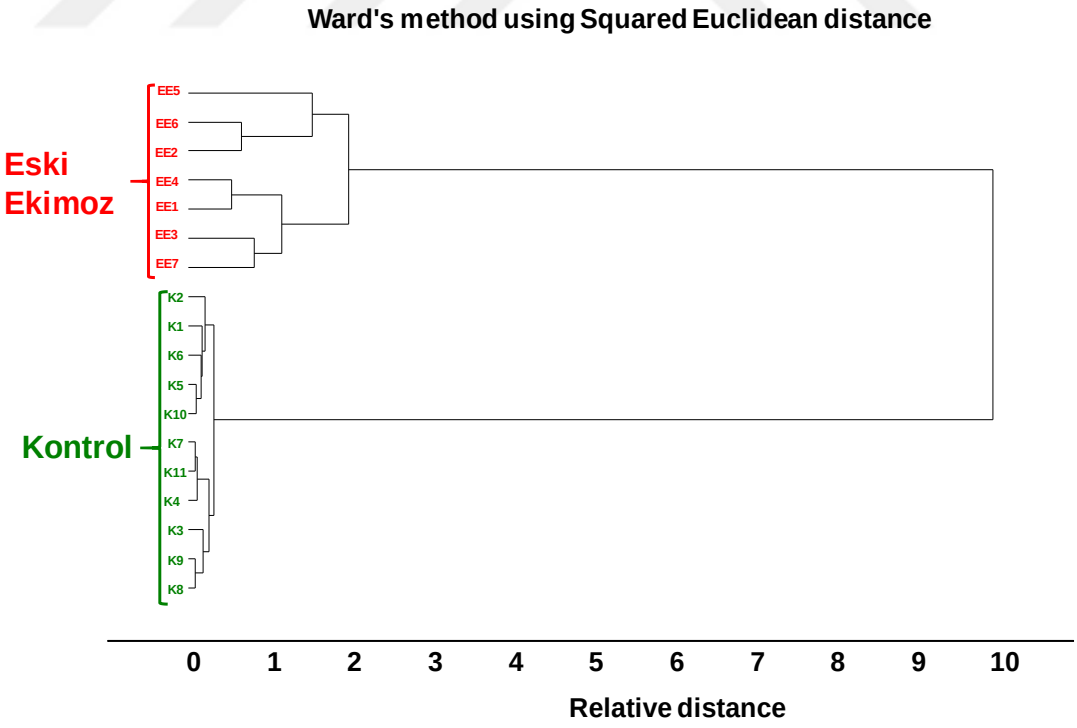


Şekil 24. 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki Kontrol, Eski Ekimoz ile Yeni Ekimoz gruplarına ait PCA skor grafiği.

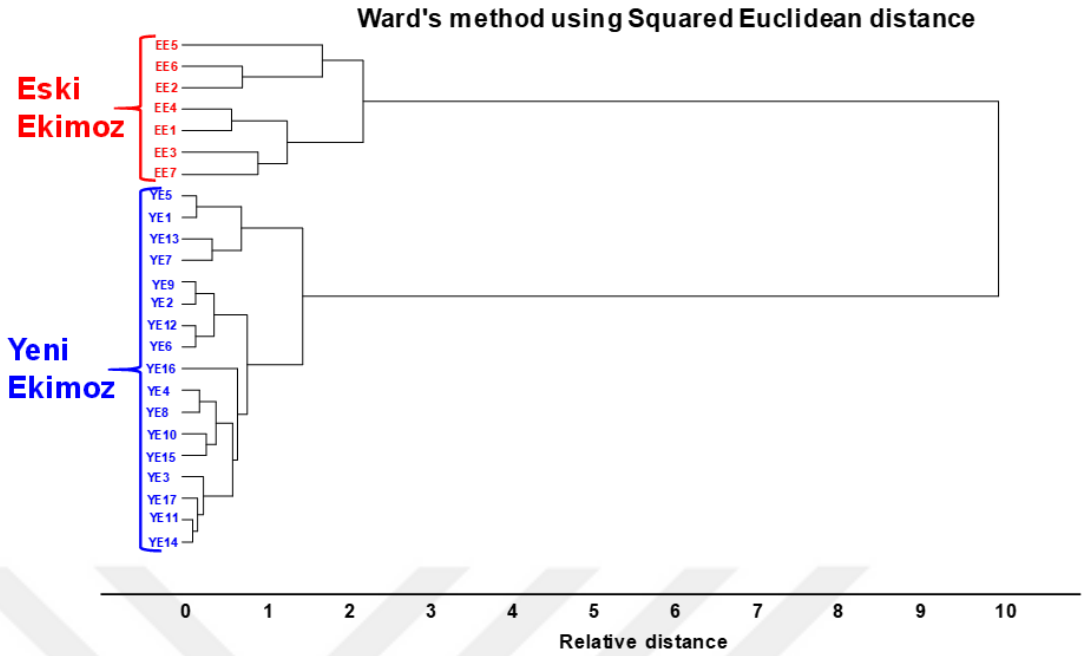
PCA skorlarından elde edilen spektral farklılıklara dayalı kümelenmeleri desteklemek amacıyla, sınıflandırmaları daha belirgin bir şekilde yapan HCA sınıflandırma analizi önce ikili gruplara sonra üçlü gruba uygulanmıştır. HCA için Ward's algoritması kullanılmıştır. HCA dendrogram grafikleri şekil 25-29 arasında gösterilmiştir. Elde edilen dendrogram grafiklerine göre, EE diğer iki grubuna nazaran farklı bir clusterda konumlanmakta olup, PCA bulgularını desteklemiştir. Elde edilen tüm HCA dendrogramlarına göre tüm örneklerin %100 hassaslık, özgüllük ve doğrulukla birbirinden ayrıldığı görülmüştür.



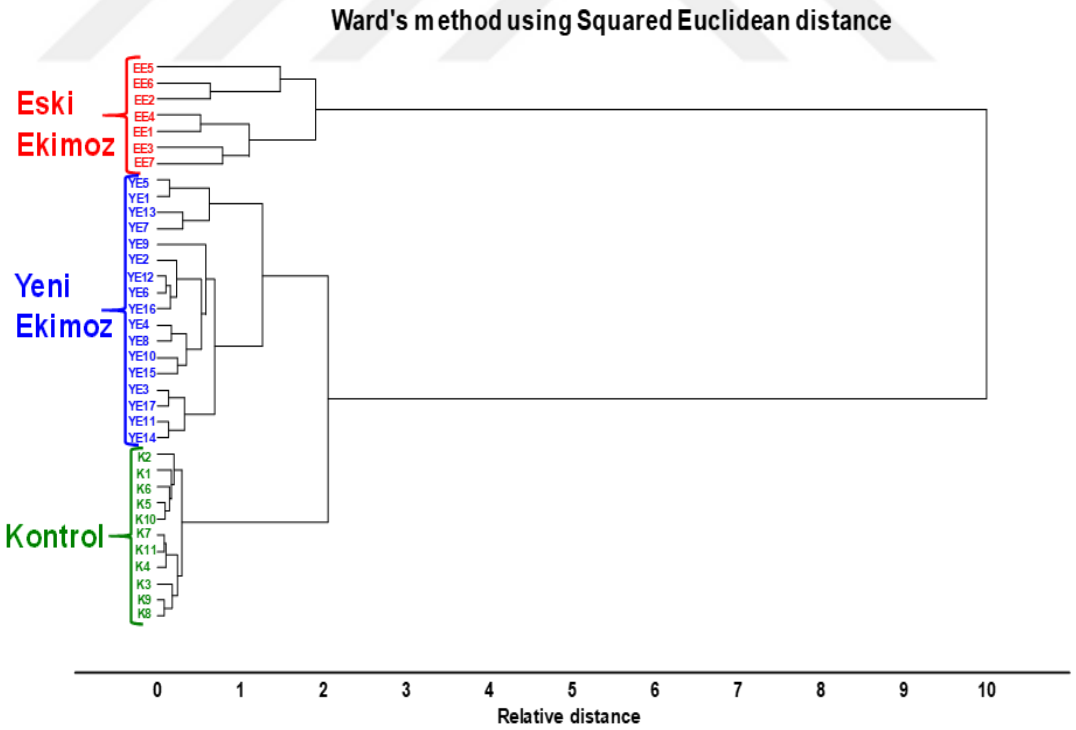
Şekil 25. Kontrol ve Yeni Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği.



Şekil 26. Kontrol ve Eski Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği.



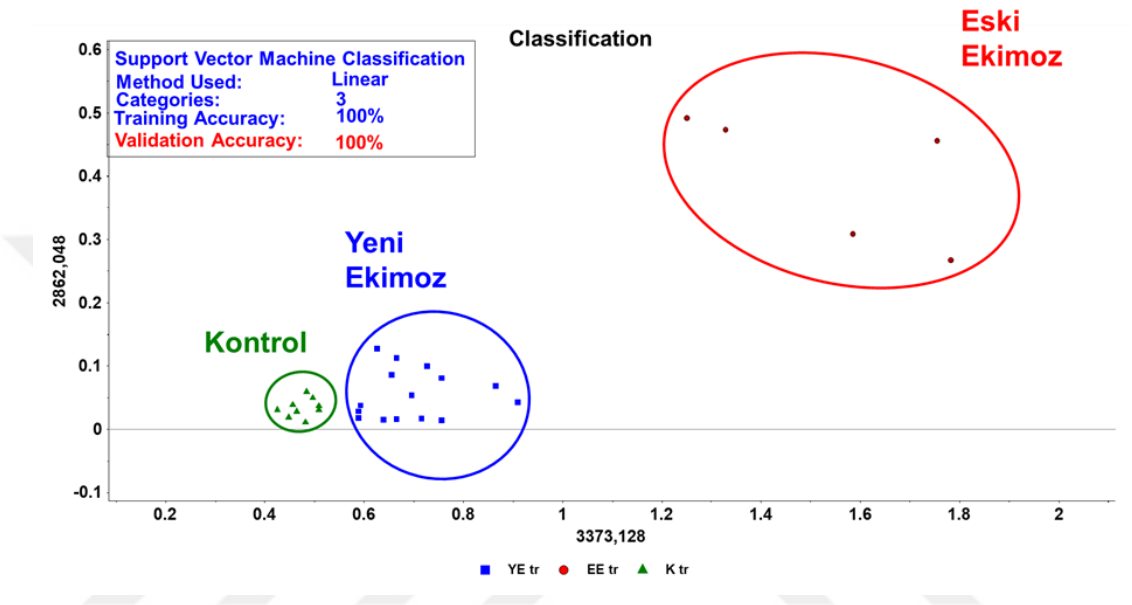
Şekil 27. Yeni Ekimoz ve Eski Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği.



Şekil 28. Kontrol, Yeni Ekimoz ve Eski Ekimoz gruplarında, 4000-400 cm^{-1} spektral bölgesinde uygulanan HCA dendogram grafiği.

Yapılan Şekil 25, 26, 27 ve 28'te gösterildiği üzere K, YE ve EE gruplarının HCA sonuçlarında birbirinden ayrıldığı bulundu.

PCA ve HCA sonuçları, K, YE ve EE grupları ATR-FTIR spektroskopisi yöntemi ile etkin bir şekilde birbirinden ayrıldığı bulundu.



Şekil 29. Kontrol, Yeni Ekimoz ve Eski Ekimoz gruplarında eğitici veri setine ait 4000-400 cm^{-1} spektral bölgede SVM ayrım grafiği.

Yöntemin etkinliğini test etmek için gözetimsiz kemometrik yöntemlerden sonra gözetimli yöntemler kullanılmaktadır. Gözetimli yöntemlerin esası gözetimsiz tanımlama metotlarında elde edilen bulgulardır. Gözetimli yöntemler arasından en çok kullanılanı sınıflandırma metotlarından birisi de SVM'dir. Analiz öncesi her gruptan test veri setini elde etmek üzere ikişer örnek çıkarılmış, geri kalan örnekler eğitici veri setine dahil edilmiştir. Eğitici veri setine SVM analizi tüm spektral bölgede uygulanmıştır. Elde edilen SVM ayrım grafiği Şekil 29'da verilmektedir. Ayrım grafiğinden görüleceği üzere her üç grupta yer alan eğitici veri setindeki tüm örnekler %100 doğrulukla belirgin bir şekilde ayrılmıştır. Eğitici veri setindeki sınıflandırma yönteminin doğruluğunu kanıtlamak amacıyla, SVM ayrım modeli kullanılarak, test veri setindeki örneklere SVM sınıflandırma analizi uygulanmıştır. Test veri setinde yer alan tüm örnekler %100 doğruluk değeri ile kendi gruplarında yer aldığı tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Ölümle sonuçlanan travma olgularında, ciltte görülen yaranın yaşanan travma ile illiyet bağının olup olmadığı, illiyet bağı varsa ölüme katkısının belirlenmesinde yara yaşı tayini önem arz etmektedir. Yara yaşının net tayini genellikle zorlu bir süreçtir ve adli olayların aydınlatılmasında, özellikle yaranın antemortem mi yoksa postmortem mi olduğunun ayrımının yapılmasında büyük zorluklarla karşılaşılabilir. Bu zorluklar, ölümle birlikte meydana gelen değişikliklerin, doku bozulmasının, bağışıklık sistemi aktivitesindeki azalmaların ve otopsi işlemlerinin etkisiyle ortaya çıkabilir. Adli tıp hekimleri, dikkatli inceleme, histopatolojik analizler ve biyokimyasal testler gibi yöntemleri kullanarak antemortem ve postmortem yaraları ayrıştırmaya çalışırlar. Bu süreç, bilimsel ve detaylı bir yaklaşım gerektiren adli tıp uygulamalarının önemli konularındandır.

Klinik adli tıp uygulamalarında sıkça karşılaşılan künt travmatik yaralanmalarda, bulgu olarak en çok ekimoz karşımıza çıkmaktadır. Ekimozun yaşı, adli tıp uygulamalarında, olayın meydana geldiği zamanı, olayda kullanılan aleti belirlemede fikir vermesi nedeniyle kilit öneme sahiptir. Ekimozun cilt yüzeyinde zamanla değişen ve ortaya çıkışından itibaren 30 güne kadar görülebilen bir dizi renk gösteren bir renklenme oluşturur. Tıbbi literatürde, bir ekimozun tarihlendirilmesi için renk skalalarının kullanıldığını bildirmektedir (39).

Lecomte ve ark. yaptığı, kontrollü koşullar altında yapılan bir deneyde, canlı kişilerde ağırlık düşürme mekanizması kullanılarak oluşturulan standartlaştırılmış ekimozları içeren bir dizi fotoğraf çekilerek sonuç elde edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda, ekimozların zaman içinde farklı bireyler arasında önemli ölçüde değişebildiğini, fotoğrafın yaralanmaların belgelenmesi için uygun bir teknik olmasına rağmen, morluğun yaşını belirlemede yeterince güvenilir olmadığı sonucuna varılmıştır (32). Hughes ve ark. yaptığı bir çalışmada, ekimoz yaşının spektrofotometrik ölçümlerle belirlenmeye çalışıldığı ancak spektrofotometrik gözlemler ile histolojik bulgular arasında doğrudan bir ilişki olmadığı ortaya konmuştur. Bu sonuçlar, ekimoz yaşını belirleme konusundaki spektrofotometrik yöntemlerin belirli sınırlamalara sahip olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, histolojik

değişiklikler ile spektrofotometrik gözlemler arasındaki ilişkinin daha detaylı bir şekilde incelenmesi ve morlukların yaşı ile korelasyonun belirlenmesi için daha ileri nitelikte çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (80). Nigam ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada, acile başvuran ekimotik lezyonları bulunan 50 hasta üzerinde detaylı bir değerlendirme yapılmıştır. Çalışmanın kapsamında, hastaların ilk muayeneleri sonrasında 12-24 saat arasında, 2. gün, 3. gün, 4. gün ve 5. günlerde kontrol muayeneleri gerçekleştirilerek çeşitli renk değişiklikleri gözlemlenmiş ve iyileşme süreci kaydedilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, ekimozun iyileşmesi, başlangıç aşamalarında daha tutarlı olduğu bulunmuştur. Bu durumun, iyileşmenin başlangıcında benzer bir seyir izleyen lezyonların, daha sonraki evrelerde farklı bir dinamik izlediği gözlemlenmiştir. Çalışma sürecinde, yaralanmanın büyüklüğü, uygulanan kuvvetin etkisi, yaranın vücuttaki konumu, hastaların yaşları ve genel sağlık durumları gibi birçok değişkenin iyileşme sürecini etkilediği, bu değişkenlerin, ekimotik lezyonların seyrindeki farklılıklara katkıda bulunduğu ve iyileşme sürecini etkileyen faktörlerin önemli olduğu vurgulanmıştır (81). Scafide ve ark. tarafından yürütülen çalışmada ise, 103 yetişkin sağlıklı gönüllü üzerinde paintball saçmasının kontrollü bir şekilde uygulanmasıyla ekimoz oluşumunu incelemeyi amaçlamıştır. *Minolta Chroma-meter*® kullanılarak dört gün boyunca günlük kolorimetri ölçümleri alınarak morlukların gelişimi detaylı bir şekilde analiz edilmiştir. Çalışma örnekleminde cinsiyet ve ten rengi bazında neredeyse eşitlik sağlanmış, morluğun ilk dört gün boyunca kolorimetrik değişikliklerin detaylı analizi, ekimozun renk değişimi hakkında bilgi vermekle birlikte ekimozun çözünme sürecinin görülmemesi kısıtlılık olarak görülmüş, gelecekteki çalışmalarda ekimozların çözülene kadar takip edilmesi gerektiği kanısına varılmıştır (82). Scafide ve ark. yaptığı başka bir tristimulus kalorimetrik incelemede, teorik olarak, gözlemci renk yorumundan kaynaklanan farklılıkları önleyebileceği düşünülmüşse de, bu yöntem kullanılırken derinin arka plan renginin kafa karıştırıcı bir değişken olduğu ve yalnızca absorpsiyon spektrumunun görsel üç renk değerinin kullanılması nedeniyle sınırlı olduğu belirtilmiştir (27). Langlois ve ark. yaptığı çalışmada, makroskopik olarak ekimozun yaşını değerlendirebilecek tek rengin sarı olduğu, sarı rengin ekimotik alanda en az 18 saat sonra görülebileceği (33) belirtilmekle birlikte net bir görüş birliği oluşmamıştır (83). Tüm bu bilimsel çalışmalar ekimozun gözlemsel olarak renk değişiminden

hareketle ekimoz yaşını ayırt etmeye yönelik olduğu, renk değişim sırası benzerlik gösterdiği, ancak bu değişim sürelerinin farklılıklar gösterdiği, ortak bir görüş oluşmadığı görülmektedir. Yaptığımız çalışmada, olgularımızın ekimoz yaşı bilinmekteydi. Makroskopik olarak tespit ettiğimiz renk değişiklikleri, literatür bilgileriyle uyumlu olarak değişimler göstermekle birlikte, kesin ayrım yapma noktasında kısıtlılıkları mevcuttu. Bu durumun nedeni olarak, gözlemcinin değişkenliği, kişinin cilt tonu ve pigmentasyonu ile etkilenebileceği, açık tenli kişilerde veya pigmentasyonu düşük olan kişilerde ekimozların daha belirgin olduğu, ancak koyu tenli bireylerde erken renk değişikliklerinin belirlenmesinin zorluğu ile alakalı olduğu düşünülmektedir (84,85). Bizim olgularımızda postmortem çürüme bulguları gelişmemekle birlikte, postmortem çürüme bulgularının varlığı, bu ayrımı güçleştirmektedir. Bu nedenle ekimozdaki renk değişikliği, tek başına ekimoz yaşını belirleme de yetersiz kalmaktadır.

Histopatolojik olarak ekimozun oluşum sürecinde, vücutta inflamatuar yanıt aktive olur ve kanama bölgesine önce nötrofilik granülositler ve daha sonra mononükleer makrofajlar gibi inflamatuar hücreler göç eder. Hücrelerin travmatik bölgeye infiltrasyonları belirli bir zaman aralığında gerçekleşmektedir. Belirli bir zaman aralığında oluşan spesifik histolojik bulgular, ekimozun yaşını yorumlamada imkan sağlamaktadır (30). Olgularımızın histopatolojik değerlendirmesinde, *H&E ve Pearls Prussian Blue* yöntemleri ile boyayıp, doku kesitlerini ışık mikroskobu kullanarak inceledik. 24 saatten az sürede oluşan ekimoz örneğinde serbest kanama alanları ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu gözlemlendi. Travmaya karşı standart hücresel yanıtın bir parçası olarak genellikle yaralanmadan sonraki 4-12 saat içinde yaralanan dokularda nötrofil göçünün başladığı kabul edilmektedir. Ekimotik dokudaki inflamasyon süreci biraz daha yavaş ilerlemekle birlikte, travmatik dokuda nötrofillerin tespit edilmemesi, yaralanmanın çok yeni olduğunun ve inflamasyon sürecinin başlamadığının kanıtı olarak gösterilmektedir (83). Normal deride, makrofajlar tespit edilebilirken nötrofiller bulunmamaktadır. Bu nedenle nötrofil tespit edilmesi, yaralanma belirtisi olarak, önemli bir bulgu olarak kabul edilmektedir (86). 24 saatten daha eski ekimozların histolojik incelemesinde, belirgin hematoidin partikülleri gözlemlenmiştir. Literatürde, ekimotik dokudaki hemosiderin yüklü

makrofajların ve hematoidin granüllerinin varlığının 3-7 gün aralığında görülebileceği belirtilmektedir (28,30). Bizim çalışmamızda *Pearls Prussian Blue* yöntemi kullanılarak elde edilen görüntülerde demirin varlığı, 7-13 günlük olan EE grubunda tespit edilememiştir.

Petrova ve ark. 2017 yılında yaptığı çalışmada şiddet sonucu ölen bireylerden alınan otopsi örneklerinin histopatolojik analizinde, 1 günlük ve 5 günlük ekimotik insan derisi örnekleri incelenmiştir. *H&E ve Pearls Prussian Blue* yöntemleri kullanılarak boyanan doku kesitleri, dijital kameraya bağlı bir ışık mikroskobu kullanılarak kalitatif mikroskobik analize tabi tutulmuştur. Çalışılan grup içinde 24 saatten daha az sürede oluşan taze morlukların histolojik analizinde, derinin bağ dokusundaki küçük damar yırtılmalarını, damar dışına çıkan kırmızı kan hücrelerinin ardından derinin fibröz septasının genişlediğini ve infiltrasyonunu ortaya koymuştur. Ayrıca, kanama bölgesinde makrofajların ilk infiltrasyonu gözlenmiştir. 3-7 gün arasındaki ekimozlara yapılan histolojik analiz, belirgin hemosiderin yüklü makrofajların ve hematoidin granüllerinin varlığını, ayrıca yırtılmış küçük kan damarları ve kırmızı kan hücrelerinin kan damarlarına ekstravazasyonunu göstermiştir. Ancak çalışmayı sınırlandıran olgu eksikliği nedeniyle, ekimozun doku değişikliklerinin başlangıcından iyileşmesine kadar her gün ayrıntılı bir analizi, histolojik bulgunun ayrıntılı bir açıklaması verebileceği, daha geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (30).

2019 yılında yapılan bir çalışmada, bilirubinometrenin kullanılmasıyla canlı ekimozların yaşını belirlemeye yönelik yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Çalışma, 20 hastada toplam 88 morluk ölçümü üzerinden yürütülmüştür. Bilirubin-ekimoz ve bilirubin-deri değerleri bilirubinometre kullanılarak ölçülmüş ve çeşitli faktörler (yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, travma mekanizması ve Fitzpatrick cilt fototipi) dikkate alınarak analiz edilmiştir. Elde edilen bilirubin-deri değerleri, cilt fototipine göre anlamlı farklılık göstermiştir. Bilirubin-ekimoz ve bilirubin-deri değerleri arasındaki farklar, ekimozun oluşum sürecinde belirgin bir artış ve ardından azalma evresini göstermiştir. Genellikle travma sonrası 4. veya 5. günde zirveye ulaşmıştır. Çalışma, ölçüm esnasında probun cilde doğru yerleştirilmemesi, uygulayıcıdan etkilenmesi gibi kısıtlılıkları ve cildin yüzeyine yakın bölgelerde nevüs (benler), çiller veya kılların

varlığının ölçümlerde anormal derecede düşük veya yüksek değerlere neden olabileceğini belirtmektedir (87).

Yukarıda bahsedilen, fotoğrafik, kalorimetrik, ve histopatolojik yöntemlerin hız, duyarlılık, özgüllük noktasında yetersiz olduğu, bu nedenle analiz edilen materyali destrükte etmeyen, çeşitli ön hazırlık aşamalarına gerek kalmadan ileri analiz olanağını tanıyan, güvenilirliği yüksek yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda hızlı, duyarlı, etkili, uygulayıcıda değişiklik göstermemesi, kolay ve numunede hasar oluşturmaması nedeniyle FT-IR spektroskopi yöntemi sıklıkla tercih edilmektedir. Bu yöntemde, enerji gönderilen numunenin içindeki, bağlar ve fonksiyonel gruplar titreştikçe, bu titreşimlere ait veriler bilgisayar ortamında analiz edilir ve spektral grafiklere dönüştürülür. Elde edilen spektral veriler, incelenen numune hakkında fiziksel ve kimyasal yapı hakkında bilgi vermektedir (88).

Kelly ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, ATR FT-IR spektroskopisi kullanılarak vücut sıvıları ve materyallerinin tespiti üzerine değerlendirmeler yapılmıştır. Kan, idrar ve tükürük gibi örnek karışımları incelenmiş ve karışım spektrumlarının tek tek numunelerden ayırt edilebildiği gözlemlenmiştir. Lipit içeren materyallerin, sulu materyallerden kolayca ayrılabileceği belirtilmiştir. Bu yöntemin numunelerin ön işleme veya işleme tabi tutulmasına gerek olmaksızın maliyeti azaltabileceği, iz kanıtlarını koruyabileceği ve gelecekteki testler için DNA bütünlüğünü sağlayabileceği ifade edilmiştir. Yapılan deneyler, ATR FT-IR spektroskopisinin özellikle parmak izi bölgesinde malzemelerin benzersiz tepe noktaları ve gerilmeleri aracılığıyla vücut sıvıları ve malzemelerini ayırt etmede umut verici olduğunu göstermektedir (89).

Zhang ve ark. tarafından (2019) yapılan çalışmada, ölüm sonrası aralığın (PMI) tahmin edilmesi amacıyla ATR-FTIR spektroskopisi ile kemometrik yöntemler birleştirilmiştir. Ölüm nedenlerinin PMI tahminine etkilerini değerlendirmek ve farklı koşullar altında kesin PMI tahmini yapabilen bir kısmi en küçük kareler (PLS) regresyon modeli oluşturmak için organların ölüm nedenlerine karşı duyarlılıkları değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, karaciğerin en hassas organ olduğu belirlenmiş ve PMI tahmini üzerinde ölüm nedeninin önemli bir etkisi olmadığı

tespit edilmiştir. Daha sonra, böbrek dokularıyla oluşturulan bir PLS regresyon modeli tatmin edici tahmin yeteneği göstermiştir. Bu çalışma, ATR-FTIR spektroskopisinin kemometriklerle birleştirilerek kullanılmasının, biyokimyadaki değişiklikleri tespit etmek ve PMI tahmin etmek için güçlü bir alternatif olduğunu göstermektedir. Ayrıca, ölüm nedenlerinin PMI tahminine etkisi konusunda yeni bir bakış açısı sunmaktadır. Kemometriklerle birleştirilmiş FTIR spektroskopisi, adli patolojide dokuların ayrışmasını tespit etmek ve analiz etmek için güçlü bir araç olduğu, ayrıca FTIR bazlı sonuçların, biyokimyadaki değişiklikler açısından farklı organların ölüm nedenlerine karşı farklı hassasiyetlere sahip olduğunu göstermiştir (90).

FT-IR spektroskopi ile yapılan birçok çalışma olmakla birlikte, vücut dokularından derinin de incelenebileceğini gösteren bulduğumuz ilk çalışma, 1992 yılında Barry ve ark. yaptığı çalışmadır. Çalışma kapsamında karın orta hat derisi, otopsilerden elde edilip, -20°C'de dondurularak saklanmıştır. Epidermal membranlar, ısı ayırma tekniği kullanılarak hazırlanmış; fazla yağ ve bağ dokuları deriden çıkarılarak, stratum korneum membranları elde edilmiş, membranlar sekiz farklı donörden hazırlanmıştır. Biyolojik bir dokunun (insan stratum korneum) spektrumlarının, FTIR yöntemi kullanılarak elde edilebileceğini göstermiştir. Bu araştırma, insan stratum korneumu gibi biyolojik dokuların net, floresans içermeyen spektrumlarının, yakın kızılötesi uyarımlı bir Fourier dönüşüm sistemi kullanılarak elde edilebileceğini göstermiştir. Hem kızılötesi hem de Raman spektrumları, ilk kez Raman olarak atanmıştır. Çalışma, FT-Raman spektroskopisinin stratum korneum bariyerinin moleküler yapısını araştırmak için önemli bir araç olduğunu ve bu yöntemin büyük potansiyele sahip olduğunu vurgulamaktadır. FTIR ve Raman spektroskopisinin stratum korneum bariyerinin moleküler yapısını araştırmak için büyük potansiyele sahip değerli bir araç olduğunu göstermiştir (78).

Brooks ve ark. (1999) yaptığı çalışmada, fiber optik geçici dalga (FEW) ve FTIR spektroskopisi (FEW-FTIR) kullanılarak, normal cilt yüzeyinin moleküler yapısı, invaziv olmayan ve in vivo olarak tespit edilmesi için yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Teknik, doğrudan, tahribatsız ve hızlı bir şekilde çalışır. Middle-IR aralığına yönelik optik fiberlerin avantajları, toksik olmamaları, higroskopik olmamaları, esnek olmaları ve düşük kayıplarla karakterize edilmeleri şeklinde

sıralanmaktadır. Bu yöntem, cilt yüzeyindeki birçok durumu incelemek için güçlü bir teşhis aracı sunmaktadır, bu durumlar arasında normal cilt, yaşlanma süreci, alerjiler ve kanser öncesi koşullar bulunmaktadır. Çalışmada, 1450-1800 cm^{-1} aralığında in vivo olarak 118'den fazla normal cilt vakasının invaziv olmayan bir şekilde incelenmesi yapılmıştır. Avuç içi, el ve dirsek dokularının birkaç FTIR spektrumu karşılaştırılarak cilt dokusunun yüzey analizine dair moleküler düzeyde yapısal benzerlikler ve farklılıklar ortaya konmaya çalışılmıştır. Gelişmiş hesaplama yöntemleri kullanarak normal cilt dokusu için ortalama bir spektrum elde edilmiş, yani normal cilt dokusunu tanımlamak için kullanılabilecek karakteristik özellikler gözlemlenmiş, Bu kapsamda, avuç içinden alınan 24 tipik vakayı (yedi kişinin sağ elinin her parmağından bir nokta) ve el ile ön kol bölgesinden alınan 28 vaka sunulmuştur. Ayrıca, sol dirsek kıvrımı civarında ve başparmak ile sol elin üst kısmındaki ilk parmak arasında 66 cilt titreşim spektrum ölçülmüştür. Bu veriler, normal cilt dokusunun spektral özelliklerini anlamak ve bu bölgelerdeki değişiklikleri değerlendirmek için değerli bilgiler sağlamıştır (91).

Leroy ve ark. (2013) yaptığı çalışmada, insan derisi ikameleri ile normal insan derisinin üç karakteristik katmanının (stratum korneum, canlı epidermis ve dermis) derinlemesine morfo-spektral karakterizasyonu için kızılötesi mikrospektroskopi görüntüleme analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde elde edilen sonuçlara göre, lipit metilen gruplarının simetrik gerilme modunun stratum korneum'daki lipitlerin canlı epidermistekilerden daha düzenli olduğu belirtilmiştir. Amid I bandı zarfının altındaki kızılötesi bileşenlerin frekansları, genel protein yapısı hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu analiz, epidermiste bulunan proteinlerin muhtemelen keratin varlığıyla ilişkili bir alfa-sarmal konformasyonunu benimsediğini ve dermiste gözlemlenen protein içeriği modifikasyonlarını ortaya koymaktadır. Çalışma, insan derisi ikameleri ile normal insan derisi arasında protein bileşimi ve lipid organizasyonu açısından benzerlikler olduğunu vurgulamaktadır. Bu, ikamelerin gerçek derinin temel özelliklerini başarıyla yeniden ürettiğini ve biyomimetik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Kızılötesi mikrospektroskopi görüntüleme analizi, cildin üç katmanını (hipodermis, dermis ve epidermis) doğrudan ayırt etmeye olanak tanır. Bu yöntem, histolojik analizlere göre bir avantaj sağlar, çünkü boyama gibi geleneksel yöntemler

malzemenin orijinal yapısını bozabilir. Bu çalışma, cildin kızılötesi spektral analizini kullanarak derinlemesine bir anlayış sunmakta ve biyomimetik cilt modellerinin geliştirilmesi ve ilaç testleri gibi alanlarda kullanılabilirliğini vurgulamaktadır (77).

Sağlıklı yüz (yanak) derisindeki insan stratum korneum (SC) lipit konformasyonel düzenini ve zincir dizilişini araştırma amacıyla yapılan bir çalışmada, FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Bu teknik, belirli dalga boylarındaki ışığın bir numune tarafından absorbe edilmesini ölçerek moleküler yapı hakkında bilgi elde edilmesi sağlanmıştır. Çalışma, bant şeritleri kullanarak bir SC derinlik profili oluşturmayı içeriyordu. Her ardışık bant şeridi ardından trans epidermal su kaybı ölçümleri kaydedilmiştir. Her bant şeridinden sonra in vivo FTIR spektrumları toplanmıştır. Hem yüzlerin hem de kolların SC'si boyunca spektral verilerin derinlik profili sağlanmıştır. Elde edilen bulgularda, yüz derisinin SC bariyer organizasyonunun kollar ve bacaklar gibi diğer vücut bölgelerinden farklı olduğunu vurgulamaktadır (92)

FT-IR, hücreleri, dokuları ve vücut sıvılarını analiz etmek için güçlü bir biyomedikal araştırma aracıdır. Biyolojik materyallerde bulunan proteinler, lipitler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi standart yapı taşları, benzersiz kimyasal yapıları nedeniyle farklı kızılötesi spektrumlara sahiptir. Bu özellik, FT-IR'ın moleküler bileşim ve yapısal veriler elde etmek için kullanılmasını sağlar. FT-IR, moleküllerin titreşim modlarını inceleyerek, incelenen biyolojik materyele ait, özel bir yapıya sahip bir spektrum oluşturabilir. Bu spektrum, numunenin fiziko-kimyasal yapısını yansıtır ve dolayısıyla numunenin kaynağıyla ilgili çıkarımlar yapmaya olanak tanır. (93).

Bu bilgiler ışığında yaptığımız tez çalışmasında, ekimoz yaşı bilinen topladığımız deri örneklerini, K, YE, EE şeklinde gruplandırarak (Tablo 3'te ayrıntılı belirtilen), spektroskopik analizler kullanılarak ekimoz yaşının tespitine yönelik bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır.Çalışmamızda yapılan spektroskopik ölçümler sonucunda Şekil 17, 18,19' da gösterildiği üzere majör pikler elde edilmiştir. Tablo 10'da elde ettiğimiz major piklerin dalga sayısı, etkin kuvvet ve ana yapı belirtilmiş olup, pikler analiz edildiğinde 3217 cm^{-1} dalga sayısında yer alan Amid piki proteinden, 1638 cm^{-1} dalga sayısında yer alan Amid I piki proteinden ve 1545 cm^{-1}

dalga sayısında yer alan diğer bir Amid I piki proteinden kaynaklanmaktadır. 2921 cm^{-1}, 2852 cm^{-1}, 1450 cm^{-1}, 1400 cm^{-1} dalga sayısında yer alan pikler, lipitten kaynaklanmaktadır. 1155 cm^{-1}, 1740 cm^{-1} dalga sayısında yer alan pikler deri dokusundaki nükleik asitlerden kaynaklanmaktır. Her üç örneğe ait ortalama spektrumları, görsel olarak analiz ettiğimizde, her üç gruba ait dokuların ortalama spektrumlarında da ortak piklerin yer aldığı, açık ve belirgin şekilde görülmektedir. Ancak elde edilen kemometrik analiz sonuçlarında, her üç grupta da belirgin ayrımlar gösterilmiştir. Elde ettiğimiz bu ayrım, piklerin bant frekanslarındaki kaymalarından veya ilgili bantın altında kalan alandaki değişimlerden kaynaklanabilir. Bantın altında kalan alan bize ilgili moleküle ait konsantrasyonel değişimleri göstermektedir. Görsel olarak elde ettiğimiz ayrımları desteklemek amacıyla, kantitatif spektral analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Postmortem incelemelerden elde edilen, ekimotik deri örneklerinin, zamana bağlı değişimlerinin, infrared spektroskopi yöntemlerinden olan ATR-FTIR spektroskopisi ve kemometrik analizler ile birlikte incelendiğimiz tez çalışmasında;

1- YE, EE ve K olmak üzere üç farklı grup, PCA analizi ile başarılı bir şekilde ayırt edilmiştir.

2- HCA analizi, PCA'nın bulgularını desteklemekte olup, tüm örneklerin belirgin bir şekilde ayrıldığını göstermiştir.

3- SVM sınıflandırma analizi, test veri setindeki örnekleri ayırt etmek için kullanılmıştır. Tüm grupların başarıyla kendi sınıfında yer aldığı tespit edilmiştir.

4- Ancak diğer taraftan, teşhisin güvenilirliğini ve doğruluğunu artırmak için, 18-65 yaş aralığında ve 24 olguda gerçekleştirdiğimiz bu çalışmanın rutin adli tıp uygulamalarında yer bulabilmesi için olguların büyüklüğünün arttırılması, genişletilmesi gerekmektedir. Ayrıca olgular, otopsi olgularındaki dokulardan alınmıştır; ancak, olgu sayısı göreceli olarak azdır ve 1-6. günlerde hiç olgu bulunmamaktadır. Bu durumun sebebi, nedeni ve kesin yaşı bilinen ekimozları elde etmenin zorluğudur. İnceleme genellikle ilk 24 saat içinde yapılmıştır. Bu süre içinde postmortem bakteriyel çürümenin daha sınırlı olduğu bir zaman diliminde analizler gerçekleştirilmiştir. Postmortem 24. saatten sonra çürüme belirtilerinin daha belirgin olduğu durumları incelemek için analiz yapılmamıştır. Bu nedenle, bu süre sonrasındaki değişiklikler ve ayırt edicilik hakkında kesin bilgiler bulunmamaktadır.

5- Sonuçlarımız adli tahkikat bilgileri, ölü muayene, otopsi ve histopatolojik inceleme bulgularının yanında, ATR-FTIR spektroskopisinin ekimozun belirlenmesinde ve ortaya çıkma süresi

bakımından eski ya da yeni olup olmadığını ayırt etmede güçlü bir tamamlayıcı yöntem olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda ekimoz yaşını tespit etmek için ucuz, kullanımı kolay ve pratik olmasının yanı sıra yüksek hassasiyet, özgüllük ve duyarlılığa da sahiptir.

KAYNAKLAR

1. Epperla N, Mazza JJ, Yale SH. A review of clinical signs related to ecchymosis. Wis Med J. 2015;114(2):61–65. doi:10.1016/j.injury.2013.09.010
2. Lincoln CA. Sexual Assault: Forensic Examination in the Living and Deceased. Acad Forensic Pathol. 2018;8(4):912–923. doi:10.1177/1925362118821490
3. Byard RW, Langlois NEI. Bruises: Is it a case of 'The More We Know, The Less We Understand?' Forensic Sci Med Pathol. 2015;11(4):479–81. doi:10.1007/s12024-015-9661-0
4. Li N, Du Q, Bai R. Vitality and wound-age estimation in forensic pathology: review and future prospects. Forensic Sci Res. 2020;5(1):15–24.
5. Sharma CP, Sharma S, Singh R. Species discrimination from blood traces using ATR FT-IR spectroscopy and chemometrics: Application in wildlife forensics. Forensic Sci Int Anim Environ. 2023;3(December2022):100060. doi:10.1016/j.fsiae.2022.100060
6. Dizaji AN, Simsek Ozek N, Yilmaz A. Gold nanorod arrays enable highly sensitive bacterial detection via surface-enhanced infrared absorption (SEIRA) spectroscopy. Colloids Surfaces B Biointerfaces. 2021;206(May):111939. doi:10.1016/j.colsurfb.2021.111939
7. Simsek Ozek N, Tuna S, Severcan F. Characterization of microRNA-125b expression in MCF7 breast cancer cells by ATR-FTIR spectroscopy. Analyst. 2010;135(12):3094–102. doi:10.1039/c0an00543f
8. Baydemi̇r Kilinç B, Kök AN, Şener MT. Causes and Consequences of Childhood Physical Traumas: Retrospective Analysis of Forensic Cases. Turkiye Klin Pediatr. 2023;32(2):75–82. doi:10.5336/pediatr.2023-97105
9. Knight B, Saukko P. Knight's Forensic Pathology. İçinde Saukko P editor.The pathology of wounds. Oxford University Press Inc; 2004; s. 163–169.
10. Kök AN. Türk Ceza Adalet Sisteminde Adli Tıp Uygulamaları. Seçkin Yayıncılık, Ankara. 2014;s.7.
11. Casse JM, Martrille L, Vignaud JM, Gauchotte G. Skin wounds vitality markers in forensic pathology: An updated review. Med Sci Law. 2016;56(2):128–37. doi:10.1177/0025802415590175
12. Kondo T. Timing of skin wounds. Leg Med. 2007;9(2):109–114. doi:10.1016/j.legalmed.2006.11.009
13. Wang LL, Zhao R, Liu CS, Liu M, Li SS, Li JY, et al. A fundamental study on the dynamics of multiple biomarkers in mouse excisional wounds for wound age estimation. J Forensic Leg Med. 2016;39:138–146. doi:0.1016/j.jflm.2016.01.027
14. Şener MT, Kara Ç, Akalp Özmen S, Şener E. Age Determination and Medicolegal Assessment in Chronic Subdural Hematoma: Case Report. Turkiye Klin J Forensic Med. 2015;12(1):23–27. doi:10.5336/adli tıp.2013-38173

15. Hammer U, Büttner A. Distinction between forensic evidence and post-mortem changes of the skin. Forensic Sci Med Pathol. 2012;8(3):330–3. doi:10.1007/s12024-011-9289-7

16. Kondo T, Ishida Y. Molecular pathology of wound healing. Forensic Sci Int 2010;203(1–3):93–98. doi:10.1016/j.forsciint.2010.07.004

17. Soysal Z, Eke M, S., Çağdır AS. 18. Bölüm Dış Muayene. İçinde: Adli Otopsi Cilt 1 İstanbul Ü. İstanbul; 1999; s. 165–205.

18. Irfan-maqsood M. Classification of Wounds: Know before Research and Clinical Practice. J Genes Cells. 2018;4(August):1. doi:10.15562/ctrm.21

19. Yamaji1 F, Hideshi Okada YN, Suzuki1 K. Blunt cardiac injury due to trauma associated with snowboarding: a case report. Vol. 11. 2017. s. 80. doi:10.1186/s13256-017-1242-2.

20. Eze U, Ojifinni K. Trauma forensics in blunt and sharp force injuries. J West African Coll Surg. 2022;12(4):94.

21. Ekizoğlu O, Arıcan N. Yaralar. Klinik Gelişim Adlı Tıp Özel Sayısı 2009;22: s. 33-43.

22. Knight B, Saukko P. Knight's Forensic Pathology. İçinde Saukko P editor.The pathology of wounds. Oxford University Press Inc; 2004; s. 75-84.

23. DiMaio VJM, Kimberley Molina D. Blunt Trauma Wounds. İçinde: DiMaio's Forensic Pathology. 2. Florida, USA: CRC Press LLC; 2021. s. 91–165.

24. Koç S, Can M, Birinci Basamakta Adli Tıp. 2. Vol. 4. TTB; 2009; s. 88–100.

25. Ekimoz [internet]. Etimoloji Türkce;2023 [Erişim tarihi: 26 Ekim 2023]. Erişim adresi: https://www.etimolojiturkce.com/arama/ekimoz

26. Sawaguchi T, Jasani B, Kobayashi M, Knight B. Post-mortem analysis of apoptotic changes associated with human skin bruises. Forensic Sci Int. 2000 Feb 28;108(3):187–203.

27. Scafide KN, Sheridan DJ, Taylor LA, Hayat MJ. Reliability of tristimulus colourimetry in the assessment of cutaneous bruise colour. Injury. 2016 Jun 1;47(6):1258–63.

28. Langlois NEI. The science behind the quest to determine the age of bruises-a review of the English language literature. Production. 2008;3(27):241–51.

29. Alan D. Woolf PMG, Lana Dvorkin-Camiel JM. Bruises. İçinde: Integrative Medicine for Children. 2009; s. 214–216. doi:10.1016/B978-141602299-2.10016-7

30. Kostadinova-Petrova I, Mitevska E, Janeska B. Histological characteristics of bruises with different age. Open Access Maced J Med Sci. 2017;5(7):813–817.

31. Pilling ML, Vanezis P, Perrett D, Johnston A. Visual assessment of the timing of bruising by forensic experts. J Forensic Leg Med. 2010;17(3):143–149. doi:10.1016/j.jflm.2009.10.002

32. Lecomte MMJ, Holmes T, Kay DP, Simons JL, Vintiner SK. The use of photographs to record variation in bruising response in humans. Forensic Sci Int. 2013 Sep 10;231(1–3):213–218.

33. Langlois NEI, Gresham GA. The ageing of bruises: A review and study of the colour changes with time. Forensic Sci Int. 1991;50(2):227–238. doi:10.1016/0379-0738(91)90154-B

34. Grellner W, Madea B. Demands on scientific studies: Vitality of wounds and wound age estimation. Forensic Sci Int. 2007;165(2–3):150–154.

35. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. Eur Surg Res. 2012;49(1):35–43.

36. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. Clin Dermatol. 2007;25(1):9-18. doi:10.1016/j.clindermatol.2006.09.007

37. Ben Amar M, Wu M. Re-epithelialization: advancing epithelium frontier during wound healing. J R Soc Interface. 2014;11(93):20131038. Published 2014 Jan 22. doi:10.1098/rsif.2013.1038

38. Bian D, Wu Y, Song G, Azizi R, Zamani A. The application of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their derivative exosome in skin wound healing: a comprehensive review. Stem Cell Res Ther 2022;13(1):1–17. doi:10.1186/s13287-021-02697-9

39. Tirado J, Mauricio D. Bruise dating using deep learning. J Forensic Sci. 2021;66(1):336–46.

40. Camps FE, İnterpretation of wounds. British Medical Journal. 1952;2(770):2. doi:10.1136/bmj.2.4787.770

41. Davis GJ. Patterns of injury. Blunt and sharp. Clin Lab Med. 1998;18(2):339-350.

42. Hiss J, Kahana T. Medicolegal investigation of death in custody: a postmortem procedure for detection of blunt force injuries. Am J Forensic Med Pathol. 1996;17(4):312-314. doi:10.1097/00000433-199612000-00007

43. Teresiński G, Madro R. Evidential value of injuries useful for reconstruction of the pedestrian-vehicle location at the moment of collision. Forensic Sci Int. 2002;128(3):127-135. doi:10.1016/s0379-0738(02)00185-8

44. Vanezis P. Interpreting bruises at necropsy. J Clin Pathol. 2001;54(5):348–55.

45. Aksoy E, Çoltu A, Ege B, Adli Travmatoloji [internet]. TTB;2023 [Erişim tarihi: 10 Ekim 2023]. Erişim adresi https://www.ttb.org.tr/eweb/adli/4.html

46. 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(2-3):111-117. doi:10.1016/0379-0738(93)90219-z

47. Marieb EN. Essentials of Human Anatomy & Physiology İçinde:The Integumentary System: Main Components. 2003 Pearson Education.

48. Randeberg LL., Baarstad I, Svaasand LO. "Hyperspectral imaging of bruised skin", Proc. SPIE 6078, Photonic Therapeutics and Diagnostics II, 60780O doi:10.1117/12.646557

49. Zeyfeoğlu Y, Uluçay T, Yavuz MS, Aşırdizer M. Adli tıbbi uygulamalarda hatalı tanımlama , yanlış karar : Olgu sunumu. Ulus Travma ve Acil Cerrahi Derg. 2010;16(2):185–8.

50. Ülgen C. TC Anayasası TCK-CMK-CGTİK-PVSK ve İlgili Mevzuat. 3. baskı. İstanbul, Beta Basım Yayım Dağıtım AŞ. 2011; 116-59

51. Şener MT, Set T, "Mekanik Travmatik Yaraların Adli Raporlarda Tanımlanması: Tıbbi ve Hukuki Önemi," Smyrna Tıp Dergisi , no.2,s.59-62, 2013.

52. Güneş T. Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerinde 0-6 Yaş Çocuğun İhmal Ve İstismarında Erken Tanı Ve Yönlendirme. Toplum Ve Sosyal Hizmet, 2017.28(1), 247-262.

53. Morris R. Spectrophotometry. Curr Protoc Essent Lab Tech. 2015 Nov;11(1):2.1.1-2.1.30. doi:10.1002/9780470089941.et0201s11

54. Soyyiğit M. Farklı Yüzeyler Üzerindeki Semen Lekesi Yaşının ATR-FTIR Spektroskopisi İle Tespiti [Uzmanlık Tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2023.

55. Hollas JM. 6 Vibrational Specktroscopy. Modern spectroscopy. 1987. p. 138–99.

56. Kılıç GB, Karahan AG. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması. Gıda. Aralık 2010;35(6):445-452.

57. Çırak O. Fourier transform İnfrared Spektroskopisi (FTIR) ile sütte tür tayini yapılması. 2017;49.

58. Koca N, Rodriguez-Saona LE, Harper WJ, Alvarez VB. Application of fourier transform infrared spectroscopy for monitoring short-chain free fatty acids in swiss cheese. J Dairy Sci. 2007;90(8):3596–603. doi:10.3168/jds.2007-0063

59. Fahelelbom KM, Saleh A, Al-Tabakha MMA, Ashames AA. Recent applications of quantitative analytical FTIR spectroscopy in pharmaceutical, biomedical, and clinical fields: A brief review. Rev Anal Chem. 2022;41(1):21–33.

60. Borba KR, Spricigo PC, Aykas DP, Mitsuyuki MC, Colnago LA, Ferreira MD. Non-invasive quantification of vitamin C, citric acid, and sugar in 'Valência' oranges using infrared spectroscopies. J Food Sci Technol. 2021;58(2):731–8. doi:10.1007/s13197-020-04589-x

61. Carter EA, Tam KK, Armstrong RS, Lay PA. Vibrational spectroscopic mapping and imaging of tissues and cells. Biophys Rev. 2009;1(2):95–103.

62. Baker MJ, Trevisan J, Bassan P. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. Nat Protoc. 2014;9(8):1771–91.

63. Spahiu E. ATR-FTIR Evaluation Of Structural And Functional Changes On Murine Macrophage Cells Upon Activation And Suppressin By Immuno-Therapeutic Oligodeoxynucleotides. [Doktora Tezi]. Ankara ODTU; 2015.

64. Kardaş M. Monitoring Of Cobalt Adaptation Of Environmental Bacterial Isolates Using Atr-Ftır Spectroscopy. [Doktora Tezi]. Ankara ODTU; 2014.

65. Simsek Ozek N. Characterization of Molecular-Level Changes Due To Microrna-125B Expression in Breast Cancer Cells By Spectroscopic and Chemometric Analysis Techniques [Doktora Tezi]. Ankara ODTU; 2015.

66. Abbas S, Simsek Ozek N, Emri S. Diagnosis of malignant pleural mesothelioma from pleural fluid by Fourier transform-infrared spectroscopy coupled with chemometrics. J Biomed Opt. 2018;23(10):1.

67. John DK, dos Santos Souza K, Ferrão MF. Overview of cocaine identification by vibrational spectroscopy and chemometrics. Forensic Sci Int. 2023;342:111540. doi:10.1016/j.forsciint.2022.111540

68. Wang L, Mizaikoff B. Application of multivariate data-analysis techniques to biomedical diagnostics based on mid-infrared spectroscopy. Anal Bioanal Chem Vol. 2008;391(5).

69. Eminoğlu G, Şenel E. Chemometric Approaches in Sensory Evaluation of Dairy Products. Akad Gida. 2019;17(1):102–10.

70. Dinç E.. Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy(1), 2007; s. 61-92.

71. Bylesjö M, Rantalainen M, Cloarec O. OPLS discriminant analysis: combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification. J. Chemometrics. 2006. Vol. 20(8-10):341-351. doi:10.1002/cem.1006

72. Shokry A, Espuña A. The Ordinary Kriging in Multivariate Dynamic Modelling and Multistep-Ahead Prediction. In: Computer Aided Chemical Engineering. 2018. p. 265--270.

73. Vapnik VN. Statistics for Engineering and Information Science, The Nature of Statistical Learning Theory Springer. New York; 2000.

74. Li SY, Zou DH, Luo YW, Sun QR, Deng KF, Chen YJ, et al. Characteristics of electrically injured skin from human hand tissue samples using Fourier transform infrared microspectroscopy. Sci Justice. 2014;54(1):98–104. doi: 10.1016/j.scijus.2013.07.005

75. Abootorabi S, Akbari J, Saeedi M. Atorvastatin Entrapped Noisome (Atrosome): Green Preparation Approach for Wound Healing. AAPS PharmSciTech. 2022;23(3):1–16.

76. Kemel K, Baillet-Guffroy A, Faivre V, Laugel C. ATR-FTIR Characterization of Janus Nanoparticles-Part II: Follow-Up Skin Application. J Pharm Sci. 2019;108(10):3366-3371. doi:10.1016/j.xphs.2019.06.018

77. Leroy M, Lafleur M, Auger M, Laroche G, Pouliot R. Characterization of the structure of human skin substitutes by infrared microspectroscopy. Anal Bioanal Chem. 2013;405(27):8709–18.

78. Barry BW, Edwards HGM, Williams AC. Fourier transform Raman and infrared vibrational study of human skin: Assignment of spectral bands. J Raman Spectrosc. 1992;23(11):641–5.

79. Beekes M, Lasch P, Naumann D. Analytical applications of Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy in microbiology and prion research. Vet Microbiol. 2007;123(4):305–19.

80. Hughes VK, Langlois NEI. Visual and spectrophotometric observations related to histology in a small sample of bruises from cadavers. Forensic Sci Med Pathol. 2011;7(3):253–6.

81. Nigam M, Saxena D, Mishra PK, Tomar JS. Assessment of the age of bruise by their healing. Indian J Forensic Community Med. 2020;5(2):119–22.

82. Scafide KRN, Sheridan DJ, Campbell J, DeLeon VB, Hayat MJ. Evaluating change in bruise colorimetry and the effect of subject characteristics over time. Forensic Sci Med Pathol. 2013;9(3):367–76.

83. Byard RW, Wick R, Gilbert JD, Donald T. Histologic dating of bruises in moribund infants and young children. Forensic Sci Med Pathol. 2008;4(3):187–92.

84. Vinay J, Harish S, Mangala GSR, Hugar BS. A study on postmortem wound dating by gross and histopathological examination of abrasions. Am J Forensic Med Pathol. 2017;38(2):167–73.

85. Santiago CJ, Weedn VW, Diaz FJ. The Impact of Skin Color on the Recognition of Blunt Force Injuries. Am J Forensic Med Pathol. 2022;43(3):220–4.

86. Tarran S, Langlois NEI, Dziewulski P, Sztynda T. Using the inflammatory cell infiltrate to estimate the age of human burn wounds: A review and immunohistochemical study. Med Sci Law. 2006;46(2):115–26.

87. Mesli V, Le Garff E, Marchand E, Labreuche J, Ramdane N, Maynou C, et al. Determination of the age of bruises using a bilirubinometer. Forensic Sci Int. 2019;302:109831. doi:10.1016/j.forsciint.2019.05.047

88. Suits BH. Chapter 2, Nuclear Quadrupole rezonance Spectroscopy. İçinde: Handbook of Applied Solid State Spectroscopy. Houghton, MI, USA 2.1; 2006. s. 65–95.

89. Elkins KM. Rapid Presumptive Fingerprinting of Body Fluids and Materials by ATR FT-IR. J Forensic Sci. 2011;56(6).

90. Huang P, Ke Y, Lu Q. Evaluating the effects of causes of death on postmortem interval estimation by ATR-FTIR spectroscopy. Int J Legal Med. 2020;134(1):1–10.

91. Brooks A, Afanasyeva NI, Makhine V. New method for investigations of normal human skin surfaces in vivo using fiber-optic evanescent wave Fourier transform infrared spectroscopy (FEW-FTIR). Surf Interface Anal. 1999;27(4):221–9.

92. Gorcea M, Lane ME, Moore DJ. Exploratory in vivo biophysical studies of stratum corneum lipid organization in human face and arm skin. Int J Pharm. 2022;622(April):121887. doi:10.1016/j.ijpharm.2022.121887

93. Li SY, Zou DH, Luo YW, et al. Characteristics of electrically injured skin from human hand tissue samples using Fourier transform infrared microspectroscopy. Sci Justice. 2014;54(1):98-104. doi:10.1016/j.scijus.2013.07.005