TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# POSTMORTEM İNTERVAL TAYİNİNDE KANTİTATİF GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE AKCİĞER DOKUSUNDA miRNA ANALİZİ

**Şüheda KOCABIYIK**

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI**
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**
**Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN**

**ANKARA**
**2026**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# POSTMORTEM İNTERVAL TAYİNİNDE KANTİTATİF GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE AKCİĞER DOKUSUNDA miRNA ANALİZİ

**Şüheda KOCABIYIK**

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI**
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**
**Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TYL-2025-4058 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA**
**2026**

# ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans / Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Postmortem İnterval Tayininde Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Akciğer Dokusunda miRNA Analizi" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Şüheda KOCABIYIK
Tarih: 21.01.2026
İmza:

# KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalında
Şüheda KOCABIYIK tarafından hazırlanan
"*Postmortem İnterval Tayininde Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Akciğer Dokusunda miRNA Analizi*" adlı
tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.01.2026

Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nur SEMERCİ GÜNDÜZ
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Nergis CANTÜRK
Ankara Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# ÖZET


**Postmortem İnterval Tayininde Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Akciğer Dokusunda miRNA Analizi**

François-Emmanuel Foderé, 19. yüzyılda somatik ölümü organizmanın hayati fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kaybı olarak tanımlamıştır. Bu bağlamda somatik ölüm; kalp atımının durması, solunumun sonlanması ve merkezi sinir sistemi fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kaybı ile karakterizedir. Ölümden sonra geçen süre postmortem interval (PMİ) olarak tanımlanır, PMİ'nin doğru şekilde belirlenmesi adli vakalarda olayların zamanının anlaşılması ve yasal sürecin yürütülebilmesi açısından önemlidir.

Günümüzde adli tıpta PMİ tayininde postmortem fiziksel bulgularla birlikte biyokimyasal ve entomolojik yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin çevresel koşullardan ve bireysel faktörlerden etkilenmesi, elde edilen sonuçların güvenilirliğini sınırlamaktadır. Özellikle sıcaklık, nem gibi çevresel faktörler, PMİ hesaplamalarında yanıltıcı sonuçlara yol açabilmektedir. Bu nedenle, çevresel ve bireysel faktörlerden görece daha az etkilenen, ölçülebilir ve tekrarlanabilir yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyaç doğrultusunda adli bilimlerde moleküler belirteçlere yönelik ilgi giderek artmıştır.

Son yıllarda teknolojik gelişmelerle birlikte moleküler biyolojik yöntemler PMİ araştırmalarına dâhil edilmiş; DNA ve RNA temelli yaklaşımlar bu alanda dikkat çekmeye başlamıştır. MikroRNA'lar (miRNA), yaklaşık 20-25 nükleotid baz uzunluğunda, protein kodlamayan ve gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde rol oynayan küçük RNA molekülleridir. miRNA'ların dokuya özgü ifadeleri, gösterdikleri ekspresyon paternleri ve çevresel koşullara karşı görece dirençli olmaları, onları PMİ tayini açısından potansiyel biyobelirteçler hâline getirmektedir. Ayrıca ölüm sonrası gelişen hipoksiye bağlı olarak miRNA ekspresyon düzeylerinde meydana gelebilecek değişimlerin PMİ ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edilen yetişkin Wistar albino ratlardan 24°C'de farklı postmortem zaman aralıklarında alınan akciğer doku örneklerinde, PMİ çalışmalarında henüz değerlendirilmemiş, akciğer dokusunda yüksek ekspresyon gösteren ve hipoksi ile ilişkili miR-10a-5p, miR-26a-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p'nin ekspresyon düzeyleri kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) yöntemi ile ölçülmüştür. Normalizasyon için endojen kontrol olarak U6 küçük nükleer RNA kullanılmış ve miRNA ekspresyon seviyeleri ile ölüm sonrası geçen süre arasındaki olası ilişkiler ΔCt değerleri ile analiz edilmiştir.

Elde edilen bulgular sonucunda, incelenen miRNA'lardan miR-10a-5p, miR-26a-5p, miR-30a-5p ve miR-143-3p'nin ekspresyon düzeylerinde postmortem zaman noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmış; özellikle miR-10a-5p ve miR-143-3p'nin akciğer dokusunda PMİ ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir. Literatürde akciğer dokusunda PMİ tayinine yönelik miRNA temelli çalışmaların sınırlı olması ve seçilen miRNA'ların bu amaçla daha önce değerlendirilmemiş olması dikkate alındığında, bu çalışma PMİ tayininde akciğer dokusunda yapılmış özgün bir ön çalışma niteliği taşımaktadır.



**Anahtar Sözcükler:** Akciğer, miRNA, Ölüm zamanı, Postmortem interval, RT-qPCR

# SUMMARY


## Analysis of miRNA in Lung Tissue Using Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction for Postmortem Interval Estimation

François-Emmanuel Foderé defined somatic death in the 19th century as the irreversible loss of vital functions of an organism. In this context, somatic death is characterized by the cessation of cardiac activity, termination of respiration, and irreversible loss of central nervous system functions. The time elapsed after death is defined as the postmortem interval (PMI), and accurate determination of PMI is crucial for establishing the timing of events and ensuring the proper conduct of legal procedures in forensic cases.

Currently, PMI estimation in forensic medicine relies on postmortem physical findings, as well as biochemical and entomological methods. However, the reliability of these approaches is limited due to their susceptibility to environmental and individual factors. In particular, environmental conditions such as temperature and humidity may lead to misleading PMI estimations. Therefore, there is an increasing need for measurable, reproducible methods that are relatively less affected by environmental and individual variability. In line with this need, interest in molecular markers in forensic sciences has grown substantially.

With recent technological advances, molecular biological methods have been incorporated into PMI research, and DNA- and RNA-based approaches have gained increasing attention. MicroRNAs (miRNAs) are small, non-coding RNA molecules approximately 20-25 nucleotides in length that play a role in post-transcriptional regulation of gene expression. Their tissue-specific expression patterns, characteristic expression profiles, and relative resistance to environmental conditions make miRNAs promising potential biomarkers for PMI estimation. Moreover, it has been reported that alterations in miRNA expression levels induced by postmortem hypoxia may be associated with PMI.

In this master's thesis, lung tissue samples were collected from adult Wistar albino rats sacrificed by cervical dislocation at different postmortem time intervals and maintained at 24°C. The expression levels of miR-10a-5p, miR-26a-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p, and miR-143-3p miRNAs that exhibit high expression in lung tissue, are associated with hypoxia, and have not previously been evaluated in PMI studies were quantified using quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). U6 small nuclear RNA was used as the endogenous control for normalization, and the potential relationships between miRNA expression levels and time since death were analyzed using ΔCt values.

The results demonstrated statistically significant differences in the expression levels of miR-10a-5p, miR-26a-5p, miR-30a-5p, and miR-143-3p across postmortem time points. In particular, miR-10a-5p and miR-143-3p were identified as potentially associated with PMI in lung tissue. Considering the limited number of miRNA-based studies on PMI estimation in lung tissue and the fact that the selected miRNAs have not previously been investigated for this purpose, the present study represents an original preliminary investigation into PMI estimation using lung tissue.



**Keywords:** Lung, microRNA, postmortem interval, RT-qPCR, time of death

# İÇİNDEKİLER


| | |
|---|---|
| Etik Beyan | ii |
| Kabul ve Onay | iii |
| Özet | iv |
| Summary | v |
| İçindekiler | vi |
| Önsöz | viii |
| Simgeler ve Kısaltmalar | ix |
| Şekiller | xi |
| Çizelgeler | xii |
| **1. GİRİŞ** | 1 |
| 1.1. Ölüm | 2 |
| 1.1.1. Somatik Ölüm | 3 |
| 1.1.2. Hücresel Ölüm | 3 |
| 1.1.3. Klinik Ölüm | 3 |
| 1.2. Ölüm Sınıflaması | 3 |
| 1.2.1. Doğal Ölüm | 4 |
| 1.2.2. Doğal Olmayan (Zorlamalı) Ölümler | 4 |
| 1.2.3. Yalancı Ölüm | 4 |
| 1.3. Postmortem Değişimler ve Postmortem İnterval Tayini | 5 |
| 1.3.1. Ölüm Sonrası Sıvı Kaybı | 5 |
| 1.3.2. Ölüm Sonrası Pıhtılaşma ve Fibrinoliz | 5 |
| 1.3.3. Ölü Lekeleri (Livor Mortis) | 6 |
| 1.3.4. Ölü Katılığı (Rigor Mortis) | 7 |
| 1.3.5. Ölü Soğuması (Algor Mortis) | 8 |
| 1.3.6. Mide İçeriği ve Boşalma Süreci | 10 |
| 1.3.7. Dekompozisyon | 10 |
| 1.3.8. Vücut Sıvılarında Çalışmalar | 11 |
| 1.3.8.1. Kan | 12 |
| 1.3.8.2. Vitröz Sıvı | 12 |
| 1.3.8.3. Sinoviyal Sıvı | 13 |
| 1.3.8.4. Perikardiyal Sıvı | 14 |
| 1.3.8.5. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) | 14 |
| 1.3.9. Entomolojik Çalışmalar | 15 |
| 1.3.10. Moleküler Düzeyde Çalışmalar | 16 |
| 1.3.10.1. DNA | 16 |
| 1.3.10.2. RNA | 18 |
| 1.3.10.3. Protein | 20 |
| 1.3.10.4. Mikrobiyom | 21 |
| 1.4. miRNA | 22 |
| **2.GEREÇ VE YÖNTEM** | 30 |
| 2.1. Örneklem Yöntemi ve Sayısı | 30 |
| 2.2. miRNA Analizleri | 30 |
| 2.2.1. miRNA İzolasyonu | 31 |
| 2.2.2. miRNA - cDNA Sentezi | 33 |
| 2.2.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu | 34 |
| 2.3. Bağıl Ekspresyon Hesaplaması | 36 |
| 2.4. İstatistiksel Analiz | 37 |

**3.BULGULAR** 38
**4.TARTIŞMA** 46
**5.SONUÇ VE ÖNERİLER** 51
**KAYNAKLAR** 52
**EKLER** 61
Ek.1 Etik Kurul Kararı 61
Ek.2 Etik Kurul Kararı Devam 62

**ÖZGEÇMİŞ** 63

# ÖNSÖZ

Bu yüksek lisans tezi çalışmasında, 24°C'de farklı zaman aralıklarında ratlardan alınan akciğer doku örneklerinde, seçilen miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin kantitatif analizleri yapılmış, ölüm sonrası geçen süre ile arasındaki olası korelasyon ile postmortem interval tayininin araştırması yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi birikimi, akademik rehberliği ve mesleki alanımda gelişmem için her türlü desteğini hissettiğim danışmanım Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN'a,

Tezimin doku temini aşamasında bana desteklerini sunan Sayın Dr. Öğretim Üyesi Duygu YAVUZ KILIÇASLAN'a,

Eğitim sürecimde adli bilimlerde laboratuvar işleyişi ve gerçekleştirilen analizler konusunda bilgilendirme ve uygulama desteği sağlayan Sayın Biyolog Dr. Gülsüm Handan SİNAN'a ve Sayın Biyolog Cüneyt ELMA'ya,

Destekleri için Atlas Biyoteknoloji'ye ve istatistik aşamasında destekleri için Sayın Biyolog Dr. Senem KOÇAK'a,

Bu süreçte bana inanan, güvenen ve destek olan tüm arkadaşlarıma ve yakınlarıma,

Hayatımın her döneminde olduğu gibi yüksek lisans eğitimimde de her zaman yanımda olan canım annem Aysel KOCABIYIK ve her zaman desteğini hissettiğim canım babam Hasan KOCABIYIK'a

Bu tez Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2025-4058 nolu proje olarak desteklenmiştir, destek ve katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Şüheda KOCABIYIK

# SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|---|---|
| ACTB | Aktin-beta |
| AGO2 | Argonaute-2 proteini |
| ALT | Alanin aminotransferaz |
| AST | Aspartat aminotransferaz |
| ATP | Adenozin Trifosfat |
| BOS | Beyin Omurilik Sıvısı |
| cfDNA | Hücre dışı serbest DNA (cell-free DNA) |
| circRNA | Dairesel RNA (circular RNA) |
| CK | Kreatin kinaz |
| Ct | Eşik Değeri (Threshold Cycle) |
| cTnI | Kardiyak Troponin I |
| cTnT | Kardiyak Troponin T |
| Dk. | Dakika |
| DNA | Deoksiribonükleik Asit |
| dNTP | DNA Nükleotid Bazları |
| GAPDH | Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz |
| GST | Glutatyon S-transferaz |
| H/R | Hipoksi/Reoksijenasyon |
| HMGB-1 | High Mobility Group Box-1 |
| Hx | Hipoksantin |
| I/R | İskemi/Reperfüzyon |
| LDH | Laktat dehidrogenaz |
| miRNA | mikroRNA |
| µl | Mikrolitre |
| µM | Mikromolar |
| mRNA | Mesajcı (Messenger) RNA |
| MSC | Mezenkimal Kök Hücre |
| $\eta^2$ | Eta kare (etki büyüklüğü) |
| PCR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| PMİ | Postmortem İnterval |
| Pre-miRNA | Prekürsör miRNA |
| Pri-miRNA | Primer miRNA |
| RISC | RNA kaynaklı susturma kompleksi (RNA-Induced Silencing Complex) |
| RNA | Ribonükleik asit |
| RNaz III | RNA Polimeraz III |
| RNaz | Ribonükleaz |

| | |
|---|---|
| Rpm | Dakikada devir sayısı (Revolutions Per Minute) |
| RPS29 | Ribozomal Protein S29 |
| rRNA | Ribozomal RNA |
| RT-qPCR | Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| SCGE | Tek Hücre Jel Elektroforezi (Single Cell Gel Electrophoresis) |
| SD | Standart Sapma |
| SERCA2 | Sarko/Endoplazmik Retikulum Kalsiyum ATPaz 2 |
| Sn | Saniye |
| snRNA | Küçük Nükleer RNA (Small Nuclear RNA) |
| snRNP | Küçük Çekirdek Ribonükleoprotein (Small Nuclear Ribonucleoprotein ) |
| tRNA | Taşıyıcı RNA (Transfer RNA) |

# ŞEKİLLER


**Şekil 1. 1**. L*a*b* renk sistemi 7
**Şekil 1. 2**. Henssge nomogramı 9
**Şekil 1. 3.** Böcek gelişim evreleri 15
**Şekil 1. 4**. miRNA Biyogenezi 22
**Şekil 1. 5.** miR-10a'nın genomik organizasyonu 26
**Şekil 1. 6.** miR-26a'nın genomik organizasyonu 26
**Şekil 1. 7.** miR-30a'nın genomik organizasyonu 27
**Şekil 1. 8.** miR- 126a'nın genomik organizasyonu 27
**Şekil 1. 9**. miR-143'ün genomik organizasyonu 28
**Şekil 2. 1.** Hybrid-R™ miRNA mini test kiti 31
**Şekil 2. 2.** Bistüri ile dokuların parçalanması 32
**Şekil 2. 3.** Parçalanmış doku örneklerine RiboEx eklenmesi 32
**Şekil 2. 4.** Type W ve Type B kolonlar 33
**Şekil 3. 1.** miRNA'ların ortalama ΔCt değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği 39
**Şekil 3. 2**. miR-10a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması 40
**Şekil 3. 3.** miR-26a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması 41
**Şekil 3. 4.** miR-30a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması 41
**Şekil 3. 5.** miR-126a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması 42
**Şekil 3. 6**. miR-143-3p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması 43

# ÇİZELGELER

**Çizelge 2. 1.** Deney hayvanlarının postmortem zamana bağlı gruplandırılması 30
**Çizelge 2. 2.** miRNA-cDNA sentezi için kullanılan reaksiyon karışımı bilgileri 34
**Çizelge 2. 3.** miRNA- cDNA sentezi reaksiyon koşulları 34
**Çizelge 2. 4.** RT-qPCR'da kullanılan primerlerin adı, dizisi ve bağlanma sıcaklıkları 35
**Çizelge 2. 5.** RT-qPCR için kullanılan reaksiyon karışımı bilgileri 35
**Çizelge 2. 6.** RT-qPCR reaksiyon koşulları 36
**Çizelge 3. 1.** miRNA'ların Shapiro-Wilk Normalite Testi sonuçları 38
**Çizelge 3. 2.** miRNA'ların farklı zaman noktalarındaki ΔCt değerlerinin ortalama (±SD) dağılımları 39
**Çizelge 3. 3**. miRNA'ların Tek yönlü ANOVA sonuçları ve etki büyüklüğü ($\eta^2$) hesaplamaları 39
**Çizelge 3. 4.** miRNA'ların zamana bağlı değişiminde ortalama fark ve p değeri 43
**Çizelge 3. 4. Devam** miRNA'ların zamana bağlı değişiminde ortalama fark ve p değeri 44
**Çizelge 3. 5.** PMİ ile miRNA'ların ortalama ΔCt düzeyleri arasındaki Pearson Korelasyon Analizi sonuçları 44

# 1. GİRİŞ

Adli olaylarda, ölüm zamanının belirlenebilmesi ölüm sonrası süreçte en kritik noktalardan biridir. Ölümden sonra geçen zaman aralığına postmortem interval (PMİ) denir. Postmortem intervalin doğru belirlenebilmesi adli olayların zamanının saptanmasında, yasal boyutunun anlaşılmasında ve adli sürecin çözümlenmesinde önemlidir.

Postmortem interval, geçen saate göre erken ve geç dönem olmak üzere ikiye ayrılır. Çeşitli ölüm sebepleri sonrasında erken dönem PMİ'de cesette sıvı kaybı, ölü lekeleri, ölü katılığı, ölü soğuması 3-72 saat arasında gerçekleşmeye başlamaktadır. Geç dönem PMİ ise 72 saat ve sonrasında cesette pütrefikasyon başlaması ile gerçekleşmektedir. Günümüzde adli tıpta PMİ belirlenmesinde, postmortem fiziksel gözlemlerle birlikte fizikokimyasal, biyokimyasal, entomolojik yöntemler kullanılmaktadır (Lecheta ve Moura, 2019). Bu değişikliklerin çevresel koşullardan etkilenebilmesi bir sınırlılıktır. Bu sınırlılık nedeniyle çevre koşullarından daha az etkilenen değişkenlerin kullanılması önemli hale gelmiş ve geçtiğimiz yıllarda teknolojik gelişmelerle beraber moleküler değişkenler PMİ araştırmalarına dahil edilmiştir (Pasaribu vd., 2023; Pérez-Martínez vd., 2017; Van Den Berge vd., 2016)

Moleküler biyolojide gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) gibi yeni ve kantitatif yöntemlerin gelişmesi nükleik asitlerin (DNA, RNA) kantitatif ölçümlerine olanak sağlamıştır. Bu teknolojik ilerleme sayesinde mesajcı RNA (mRNA), mikroRNA (miRNA) ve ribozomal RNA (rRNA) gibi farklı RNA türlerinin hassas ve güvenilir biçimde ölçülmesi de mümkün hale gelmiştir (Pasaribu vd., 2023).

Çalışmalar sonucunda, miRNA'ların nemli ortamlarda veya yüksek sıcaklık koşullarında, mRNA'lara göre görece daha stabildir, degradasyon sırasında bir patern gösterirler ve bu patern RT-qPCR gibi hassas yöntemlerle gözlemlenebilmektedir. Bu özellikler ile miRNA'ların PMİ tayini için uygun bir belirteç olabileceği öngörülmekte ve potansiyeli araştırılmaktadır (Jung ve Suh, 2014; Li vd., 2021).

Ölümle beraber gelişen hipoksi, hücrelerde stres oluşturarak özellikle hipoksiye duyarlı apoptozu düzenleyen miRNA'ların farklı seviyelerde ifade edilmesine yol açar. Bu değişiklikler, postmortem sürecin ne kadar ilerlediğiyle ilişkilendirilebilir ve bu da PMİ belirlenmesinde önemli bir gösterge olabilir (Cianci vd., 2024). Hipoksiye bağlı olarak ifade düzeylerinin değiştiği miRNA'lar, PMİ tayini açısından potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilebilir.

Ölüm sonucunda akciğerlerde solunum ve kan dolaşımı durur. Solunum ve kan dolaşımının durması, akciğerlerde hipoksiye yol açar. Bu süreç, hücresel düzeyde çeşitli biyokimyasal yolları tetikler ve dokuya zarar verir. Ölüm sonrası bu değişikliklerin hızlanması ve dokuların bozulması, PMİ tespiti açısından önemli bir rol oynar. Akciğer dokuları, solunumla ve dolaşımla direkt ilişkili ve ölüm sonrası enzimatik aktivitenin hızla devreye girdiği bir yapıya sahiptir. Bu özellikler akciğeri PMİ tayini için potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebilecek miRNA'ların ifade düzeylerindeki değişikliklere duyarlı hale getirir. Akciğer dokusunda yapılmış PMİ tayini çalışmaları sınırlı sayıdadır. Akciğerde fazla ekspresyon gösteren miRNA'ların genellikle kanser ve akciğer hastalıklarında incelenmiş olmasına rağmen, seçilen miRNA'ların PMİ tayini için henüz araştırılmadığı da belirlenmiştir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edilen yetişkin Wistar albino ratlardan farklı zaman aralıklarında alınan akciğer doku örneklerinde, miR-10a-5p, miR-26-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p'nin Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR) ile kantitatif olarak analiz edilmiştir. Bu çalışma, miRNA ekspresyon profilleri ile postmortem interval arasındaki olası ilişkiyi ortaya koyarak ölüm zamanının belirlenmesine yönelik moleküler yaklaşımların adli tıptaki olası değerini göstermeyi amaçlamaktadır. Adli bilimlerde postmortem intervalde daha önce incelenmemiş miRNA'ların değerlendirilmesi, elde edilecek bulguların literatüre özgün katkı sunma ve yeni biyobelirteç adaylarının belirlenmesine zemin hazırlama açısından önemli bir yenilik niteliği taşımaktadır.

## 1.1. Ölüm

Ölüm, organizmanın hayati işlevlerinin geri dönüşümsüz kaybı olarak tanımlanmıştır. Bu temel olgu, uzun yıllar boyunca bilimsel olarak net bir şekilde tanımlanamamıştır ancak 19. yüzyılda Fransız bilim insanı Emanuelle Fodere'nin çalışmalarıyla ilk sistematik tanımlamalardan biri yapılmıştır (Koç & Can, 2011). Tıpta ölüm kavramı genellikle iki başlık altında incelenir: somatik ve hücresel ölüm. Somatik ölüm, bireyin tüm organ ve sistemleriyle birlikte yaşamının sonlandığı, yasal olarak da kabul edilen ölüm şeklidir (Dokgöz, 2019). Hücresel ölüm ise, birey henüz somatik olarak ölmemişken bile bazı doku ve hücrelerin işlevlerini yitirerek canlılığını kaybetmesiyle ortaya çıkar (Koç & Kolusayın, 2011). Kısaca ölüm canlılığın son bulmasıdır. Ölümün tanımlanması özellikle adli tıp ve ölüm sonrası süreçlerin anlaşılması açısından büyük önem taşır (Koç & Kolusayın, 2011).

### 1.1.1. Somatik Ölüm

Somatik ölüm ilk kez bilim insanı Emanuelle Foderre tarafından tanımlanmıştır. Bu tanıma göre somatik ölüm, kalp atışlarının durması, solunumun sonlanması ve merkezi sinir sistemi işlevlerinin geri dönüşümsüz kaybı ile gerçekleşir (Koç ve Can, 2011). Hukuki açıdan geçerliliği olan ölüm tanımıdır.

### 1.1.2. Hücresel Ölüm

Somatik ölümün ardından, vücuttaki tüm doku ve hücreler, oksijene olan duyarlılık seviyelerine bağlı olarak, belirli bir sırayla canlılıklarını kaybetmeye başlar. Hücresel ölüm, hukuki açıdan belirleyici bir unsur olmasa da özellikle kadavradan organ ve doku nakli planlanan durumlarda, transplantasyonun başarısını etkilemektedir. Hücresel ölüm için kişinin somatik ölümünün gerçekleşmesine gerek yoktur (Koç ve Kolusayın, 2011).

### 1.1.3. Klinik Ölüm

Klinik ölüm, temel olarak kalp durması ve solunumun durması ile tanımlanan, organizmanın dolaşım ve oksijenasyon sistemlerinin geçici olarak durduğu bir durumdur. Bu dönemde beyne ve dokulara kan gitmediği için bilincin kısa sürede kapanmasıyla birlikte kritik organlarda hasar başlar ve müdahale edilmezse beyin ölümüne yol açabilir. Klinik ölüm, somatik ölümden farklı olarak tıbbi müdahale ile geri döndürülebilir bir durumdur (Schroeter, 2023).

## 1.2. Ölüm Sınıflaması

Ölüm tanısı ve buna ilişkin resmi belgelerin düzenlenmesi, hekimlerin mesleki, etik ve hukuki sorumlulukları arasındadır. Türkiye'de görev yapan her hekim, 1593 sayılı Umumi Hıfzıssıhha Kanunu doğrultusunda, karşılaştığı ölüm olgularında ölüm halini değerlendirmek ve gerektiğinde yasal geçerliliği olan ölüm raporunu düzenlemekle yükümlüdür (Koç ve Can, 2011).

Bir ölüm olgusunun adli ya da doğal nitelikte olup olmadığının doğru şekilde belirlenmesi, uygulanacak hukuki sürecin yönü açısından büyük önem taşır. Bu bağlamda ölümler, temel olarak doğal ve doğal olmayan (zorlamalı) ölümler şeklinde sınıflandırılmaktadır. Doğal

ölümler; yaşlılık, kronik hastalıklar veya fizyolojik tıbbi nedenlerle meydana gelirken; dış etkenlere bağlı şiddet, kaza veya intihar gibi durumlar doğal olmayan ve adli nitelik taşıyan ölümler kapsamında değerlendirilmektedir. Bunlara ek olarak, tıbbi ve hukuki açıdan karışıklığa yol açabilecek "yalancı ölüm" olguları da dikkate alınması gereken ayrı bir başlık oluşturur (Koç ve Can, 2011).

### 1.2.1. Doğal Ölüm

Hayatını olağan yaşam süresinde tamamlayan ya da mevcut bir hastalığa bağlı kişilerde meydana gelen ölüm şekline doğal ölüm denir. Dış etkenler ölümde etkili değildir veya kişinin hastalığına bağlı olarak ölüm gerçekleşir. Ölüm şeklinde şüphe yoksa kişi defin ruhsatı alındıktan sonra gömülür. Ölüm şekli ve sebebi net belirlenemiyorsa olay "şüpheli ölüm" olarak değerlendirilir ve adli işlemler başlatılmalıdır (Koç ve Can, 2011).

### 1.2.2. Doğal Olmayan (Zorlamalı) Ölümler

Doğal olmayan ölümler hukuk açısından kaza, intihar, cinayet şeklindeki ölümlerdir. Ayrıca ani ve beklenmedik ölümleri de kapsar. Kişinin belirtileri göstermeye başlamasından 24 saat içinde ölmesine ani ölüm; sağlıklı olduğu bilindiği halde birden kısa sürede ölmesine de beklenmeyen ölüm denir (Koç ve Can, 2011).

Bu ölümler adli nitelik taşıdığından soruşturulmalıdır. Vakalar olay yeri incelemesi, ceset muayenesi, otopsi ve postmortem analizler aracılığıyla incelenerek ölüm sebebi ve mekanizması bilimsel olarak kanıtlanır ve bulgular soruşturmaya yön vermektedir (Koç ve Can, 2011).

### 1.2.3. Yalancı Ölüm

Kişide meydana gelen yüzeysel solunum, yavaşlayan dolaşım ve azalan refleksler ile kişinin öldüğü zannedilebilir, bu olaya adli tıpta "yalancı ölüm" denmektedir. Yalancı ölüm birçok sebepten dolayı olabilir. Bunlar; yüksek miktarda merkezi sinir sistemi inhibitörü alınması, suda boğulma, yeni doğanlarda hipoksi ve anoksi, kafa travmalarında "koma" ve "kriz", fazla kan kaybı ve bazı zehirlenmelerdir (Machado, 2010; Polat, 2022). Hekimlerin

dikkatli muayenesi ve bulguları değerlendirmesi ile yalancı ölüm ve gerçek ölüm birbirinden ayırt edilebilmektedir (Koç ve Can, 2011).

## 1.3. Postmortem Değişimler ve Postmortem İnterval Tayini

Postmortem interval, ölüm sonrasında geçen zaman aralığı olarak tanımlanır. Ölüm zamanının belirlenmesi adli olayların aydınlatılabilmesinde kritiktir. PMİ belirlenmesi, ölümün zamanlamasını belirlemeye yardımcı olur, olası şüphelilerin tespitini kolaylaştırır ve mahkeme sürecinde tanık ifadelerinin doğruluğunu değerlendirmeye katkı sağlar (Secco vd., 2025).

Ölüm sonrasında vücutta fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler meydana gelir ve postmortem değişimler olarak adlandırılır. Ölümün erken döneminde gözlemlenen temel vücut fonksiyonlarının kaybı ve hareketsizlikle beraber geçen zamanla cesedin renginde ve bütünlüğünde de bozulmalar başlamaktadır. Ortam ve koşullara bağlı olarak bozulmalar ve iskeletleşme süreci gerçekleşir. Gerçekleşen bu postmortem değişimlerin gözlemlenmesi ve analiz edilmesi ile postmortem interval tayinleri gerçekleştirilmektedir (Koç ve Can, 2011; Swain vd., 2015).

### 1.3.1. Ölüm Sonrası Sıvı Kaybı

Ölümden sonra sıvı kaybı ilk olarak buharlaşma yoluyla başlar ve bu süreç cesedin ağırlığında azalma ve çeşitli görünüm farklılıkları şeklinde kendini göstermektedir. Derinin ince olduğu ve buharlaşmanın yoğunlaştığı bölgelerde, yüzey zamanla sarımsı-kahverengi, kuru bir görünüm kazanır; bu, "parşömenleşme" olarak adlandırılan ve erken mumyalaşmayı andıran bir postmortem değişimdir. Ayrıca parşömenleşmenin bir diğer çeşidi de gözün açık kalmasına bağlı olarak sklerada gerçekleşen "tache noire sklerotica"dır. Bu durumda göz açık kalarak sklerada kuruma gerçekleşir ve gözün beyaz bölgesinde simetrik şekilli kahverengi - siyah bir renk değişimi gözlenir (Dokgöz, 2019; Koç ve Can, 2011).

### 1.3.2. Ölüm Sonrası Pıhtılaşma ve Fibrinoliz

Ölümle birlikte dolaşımın durması sonucu kan kalp ve damarlarda birikmeye başlar. Bu süreçte kanın şekilli elemanları çöker ve parlak, elastik görünümlü postmortem pıhtılar yani

“aleka” oluşur. Ölüm sonrası dönemde kan, farklı koşullara ve ölüm şekillerine bağlı olarak pıhtılaşma ya da fibrinoliz eğilimi gösterebilir; bu nedenle otopsi sırasında pıhtıların dikkatle değerlendirilmesi gerekir ancak bahsi geçen durumlar direkt herhangi bir ölüm şekli veya postmortem interval ile ilişkilendirilecek anlamlı bir çalışma birikimi olduğu söylenememektedir (Dokgöz, 2019).

### 1.3.3. Ölü Lekeleri (Livor Mortis)

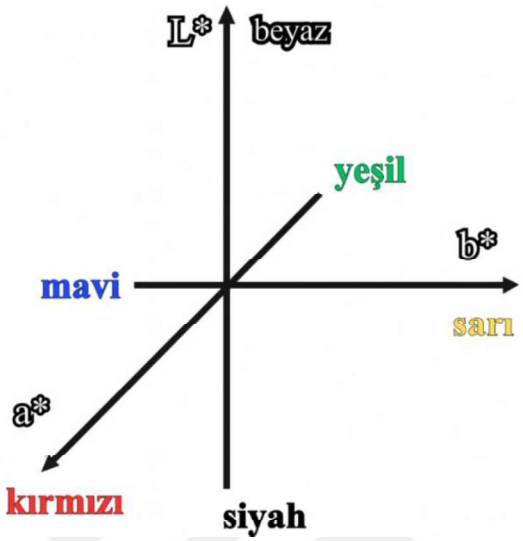
Ölümün gerçekleşmesi ile kan dolaşımı durur ve kan akışkanlığı yavaşlar. Buna bağlı olarak vücuttaki kan yer çekimin etkisi ile çökelir ve küçük ve kılcal damarlarda birikmeye başlar. Ölümden sonra vücutta kanın birikmesiyle oluşan bu lekelere “ölü lekeleri” denir (Koç ve Can, 2011). İlk olarak eritrositlerin parçalanmasıyla kırmızımsı renkte olan birikme zamanla oksijen kaybına bağlı olarak koyu mor renk olarak gözlemlenir. Aslında kan ile birlikte vücuttaki diğer sıvılar da (ekstravasküler sıvı ve lenf sıvısı) yerçekimine göre çökelir ama lekelerin oluşumu büyük oranda kan birikmesinden kaynaklanmaktadır (Dokgöz, 2019).

Ölü lekelerinin, genellikle ölümden sonraki 3-5 saat içinde, bazı durumlarda ise 1-2 saat gibi daha kısa bir sürede, vücudun basınca uğramayan alt bölgelerinde ince çizgiler halinde ortaya çıkar. Bu çizgilerin zamanla birleşerek daha büyük lekeler oluşturduğu ve yaklaşık 8-10 saat içerisinde cesedin yere yakın bölgelerinde önce dar, ardından daha geniş alanlara yayıldığı bilinmektedir. Ölümden sonraki ilk 10-15 saat içerisinde cesedin taşınması halinde hem önceki hem de yeni pozisyona uygun bölgelerde ölü lekelerinin gözlenebilmekte; 15-20 saatten sonra ise bu lekelerin sabit hale gelir ve yer değiştirmemektedir (Koç ve Kolusayın, 2011). Ayrıca ölü lekeleri otopsi sürecinde iç muayene ile birçok organda da gözlemlenebilmektedir (Şahinoğlu Güneş, 2020).

Ölü lekeleri birçok etmenden etkilenerek rengi ve yoğunluğu değişmektedir. Ölüm sebebi ve şekli, vücuttaki kan miktarı, kanın sıvı halde ne kadar kaldığı, kanın hemoglobin ve oksijen seviyesine göre ölü lekelerinde farklılıklar gözlenmektedir (Koç ve Can, 2011).

Ölü lekelerinin postmortem interval tayininde yorumlanması öznel değerlendirmeleri içerdiğinden bu analiz bir sisteme oturtulmaya çalışılmıştır. 1976 yılında Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (CIE-Commission Internationale de l'Eclairage) analiz için ölü lekelerinin renklerini spektrofotometrik olarak inceleyen bir sistem ile ilgili bir çalışma yapmıştır (Usumoto vd., 2010; Weatherall ve Cloombs, 1992). Bu sistem “L*a*b* sistemi”

veya “CIELAB renk uzayı” olarak adlandırılmıştır (Şekil 1.1). L*a*b* sisteminde, L* değeri aydınlık-karanlık; a* değeri kırmızı-yeşil; b* değeri ise mavi-sarı eksenini belirtmektedir (Usumoto vd., 2010).




**Şekil 1. 1**. L*a*b* renk sistemi (Usumoto vd., 2010) (Düzenlenmiştir.)

L*a*b* renk sistemi kullanılarak yapılan çalışmalarda, ölü lekeleri ile sağlıklı deri arasındaki renk farklılıkları **ΔE*ab** ile, renk parlaklığı ise **C*** ile gösterilmektedir. Ayrıca, $\Delta CC*$ ve $\Delta CC*/CC*$ parametrelerinin postmortem interval ile yalnızca zayıf bir korelasyon sergilediği rapor edilmiştir (Usumoto vd., 2010). Bu sistem üzerinden yürütülen çalışmalar, ölü lekeleri ile ölüm sonrası geçen süre arasında belirgin ve güvenilir bir ilişki kurulamadığını göstermektedir. Ölü lekelerinin oluşumunun çevresel ve fizyolojik faktörlerden etkilendiği göz önüne alındığında, bu bulguların PMİ tahminlerinde kullanımı sınırlıdır (Usumoto vd., 2010).

### 1.3.4. Ölü Katılığı (Rigor Mortis)

Ölü katılığı, ölümden sonra kasların biyokimyasal süreçler sonucunda sertleşmesiyle ortaya çıkan bir postmortem değişimdir. Dolaşımın durmasıyla ATP sentezi kesilir; mevcut enerji depoları tükendiğinde aktin ve miyozin filamentleri birbirinden ayrılamaz hale gelir ve kas lifleri kasılı pozisyonda sabitlenir (Dokgöz, 2019). Bu durumun sonucunda eklemler hareket kabiliyetini kaybeder ve vücut katı bir görünüm alır. Rigor mortis genellikle ölümden sonraki 3-5 saat içinde yüz ve boyun kaslarında başlar, ilerleyen saatlerde vücut uzuvlarına yayılır ve yaklaşık 10-15 saat içerisinde maksimum seviyeye ulaşır (Erkol, 1994; Koç ve Can,

2011). Çözülme evresi ise proteolitik enzimlerin etkisiyle genellikle 24-36 saat içinde gerçekleşir; düşük sıcaklıklarda bu süre 48-72 saate kadar uzayabilmektedir. (Erkol, 1994). Ölü katılığı, bazı durumlarla karıştırılabilir. Ölümün ani ve şiddetli gerçekleştiği olgularda, ölüm öncesinde aktif olarak kullanılan kasların kasılı halde kalması "kadaverik spazm" olarak adlandırılır. Buna ek olarak, yüksek ısıya maruz kalma sonucu gelişen "sıcak sertliği" ve düşük sıcaklık koşullarında ortaya çıkan "donma sertliği" de benzer bir görünüm sergileyebilmektedir. Bu üç tablo dikkatle ayırt edilmezse, PMİ tahmininde hatalara yol açabilir (Koç ve Can, 2011).

Ölü katılığının oluşma süresi ve şiddeti, çevre sıcaklığı, ölüm şekli, bireyin kas kütlesi, yaşı, ölüm öncesi fiziksel aktivite düzeyi ve metabolik durumu gibi birçok faktörden etkilenir (Polat vd., 1997: Akt. Vanlıoğlu, 2025).

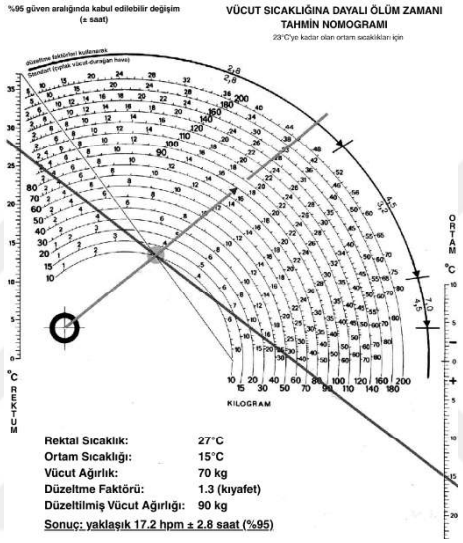
Ölü katılığı, ölüm zamanının belirlenmesinde önemli bir kriter olsa da tek başına güvenilir bir parametre değildir. Katılığın başlama ve çözülme süresi pek çok dışsal ve içsel etmenden etkilendiği için, PMİ değerlendirmelerinde diğer postmortem değişimlerle ele alınmalıdır.

### 1.3.5. Ölü Soğuması (Algor Mortis)

Normal şartlarda vücut ısısı ve çevre ısısı denge halindedir. Ölüm sonrasında ısı dengesi sürdürülemez ve vücut ısısı, çevre ısısı ile aynı olana kadar soğuma gerçekleşir. Ölçülen vücut sıcaklığının zaman ile korelasyonu göz önünde bulundurularak ölüm zamanı tahmini yapılabilmektedir. Radyasyon, buharlaşma, konveksiyon ve kondüksiyon yolları ile cesedin bulunduğu ortama da bağlı olarak yaklaşık 24 saatte soğuma tamamlanır (Dokgöz, 2019; Koç ve Can, 2011).

Soğuma sürecinin hızı ve derecesi konusunda literatürde farklı yaklaşımlar ve yorumlar bulunmaktadır. Normal vücut sıcaklığı 37,2°C kabul edilmektedir (± 0,5°C). Vücut sıcaklığının saatte yaklaşık 0,5-1,5 °C azaldığı, ortalama kaybın ise 0,8 °C civarında olduğu bildirilmektedir (Koehler vd., 2018). Klasik yaklaşımda 37°C'den vücut sıcaklığını çıkarılır ve farka 3 eklenerek ölüm zamanı saat cinsinden hesaplanmaktadır. Yöntem uygulanabilir olsa da hassas değildir ayrıca kişinin vücut sıcaklığının "normal" kabul edilmesi, kişilerin "normal" vücut sıcaklığının farklı olabilmesi ve vücut soğumasının tekdüze bir düşüş yaşadığı kabul edilmesi bu hesaplamanın sınırlılıklarıdır (DiMaio ve DiMaio, 2001).

Bir diğer metod ise Henssge nomogramıdır (Henssge, 1988). Bu metodda çevre sıcaklığı ve rektal sıcaklık grafik üzerinde işaretlenerek postmortem zaman tahmini yapılmaktadır (Şekil 1.2). Elde edilen değerde koşullara bağlı olarak ortalama ±2,8-7 saatlik standart sapma derecesi hesaplamalara dahil edilmelidir (Dokgöz, 2019). Nomogram yöntemiyle belirlenen PMİ'nin doğruluğunu artırmak için ek yöntemlerle desteklenmelidir. (Şahinoğlu Güneş, 2020)




**Şekil 1. 2**. Henssge nomogramı (Henssge ve Madea, 2004) (Düzenlenmiştir.)

Bu parametrelerle birlikte kişinin vücut sıcaklığı, cinsiyeti, aktivitesi, kilosu, giyimi de göz önünde bulundurulmalı ve vücut sıcaklığının ölçüldüğü yer, ölüm saati, öldüğü yer ve çevre koşullarına göre de belirlenen PMİ değişebilmektedir (DiMaio ve DiMaio, 2001). Ayrıca ölüm nedeni de postmortem vücut sıcaklığında belirleyici rol oynamaktadır. Enfeksiyon, beyin kanaması veya miyokard enfarktüsüne bağlı ölümlerde, başlangıç sıcaklığının normalden daha yüksek olabileceği bildirilmiştir (Koç ve Kolusayın, 2011).

Postmortem interval tahmininde vücut sıcaklığı ölçümleri yaygın bir şekilde kullanılmakla birlikte, ölü soğumasının çevresel koşullara duyarlı olması yöntemin güvenilirliğini sınırlandırmaktadır. Kişisel özellikler, ortam sıcaklığı ve çevre şartlarına bağlı değişkenlik, bu yaklaşımın tek başına PMI tayininde kullanılmasını kısıtlı hale getirmektedir.

### 1.3.6. Mide İçeriği ve Boşalma Süreci

Otopsi sırasında incelenen mide içeriği de postmortem interval tayini ile ilgili çıkarımlar yapmaya yardımcı olur ancak, içeriğin miktarı ve görünümü kişiden kişiye değiştiği için bilimsel olarak kesin bir değerlendirme genellikle mümkün değildir. Ayrıca, kişinin ne zaman ve ne yediği gibi bilgilerin bilinmemesi de bu yöntemin güvenilirliğini sınırlamaktadır. Mide içeriği ayrıntılı biçimde tanımlanıp olay yeri veya soruşturma verileriyle desteklenirse sınırlı düzeyde yorum yapılabilmektedir (Dokgöz, 2019).

Yenilen besin ve miktarı, çiğnenme süresi; kişinin fiziksel yapısı, psikolojik durumu, alkol, sigara veya narkotik kullanımı, kronik hastalıkları ve hastalık geçmişi gibi birçok faktör midenin sindirimini ve boşaltımını etkilemektedir (Dokgöz, 2019). Bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda mide içeriği ve boşalma süreci ölüm zamanı tayini için kesin bir sonuç verememektedir.

### 1.3.7. Dekompozisyon

Dekompozisyon, yani cesedin bozunma süreci; dokuların enzimler ve vücut sıvıları ile parçalandığı otoliz ve mikroorganizmaların anaerobik faaliyetleri ile oluşan pütrefikasyon aşamalarından oluşur (Dokgöz, 2019).

Otoliz aşamasında ölümden sonra meydana gelen ATP azalımına bağlı olarak hücre zarları işlevini yerine getiremez ve lizozomal enzimlerin lizozomdan serbest kalmasıyla dokular yumuşamaya başlar. Özellikle enzim içeriği yüksek olan (pankreas) ve kan hücrelerinden zengin organlar (dalak, akciğer) hızlı bir şekilde otolize uğrar (Dokgöz, 2019; Koç ve Can, 2011).

Pütrefikasyon aşaması vücudun kendisinden ve zamanla dışarıdan da katılan bakterilerin faaliyetleri ile gerçekleşir. Kişinin enfeksiyonu ya da sepsis durumu varsa çürüme daha hızlı gerçekleşebilmektedir (Dokgöz, 2019).

Cesedin bulunduğu çevresel koşullar, sıcaklık, nem, hava ya da suyun hareketi ve entomolojik aktivite çürümenin hızını belirleyen temel etkenlerdir. Özellikle sıcaklık ve nem mikrobiyal aktiviteyi etkileyerek çürüme hızını belirlemektedir. Bu nedenle, ölüm zamanı

tahmininde fiziksel değişimlerle birlikte çevresel faktörler de dikkatle değerlendirilmelidir (Rai vd., 2023).

Çürüme sürecinde bakteriler tarafından üretilen hidrojen sülfür, hemoglobinle reaksiyona girerek sülfohemoglobin oluşturur ve bu durum deride yeşil renk olarak gözlemlenir. Aynı zamanda yıkım ve indirgenme sonucu oluşan bilirubin de bu renk değişiminde rol oynar. Genellikle ilk olarak bağırsak florasının yoğun olduğu karnın sağ alt kadranında başlayan bu yeşilimsi renk, zamanla diğer bölgelere ve damar hatlarına yayılır. Damarlar boyunca gelişen bu renklenme, "çürüme haritası" veya "mermerleşme (marbling)" olarak adlandırılır (Dokgöz, 2019).

Dekompozisyon 5 aşamada incelenebilir. "Taze ceset" döneminde erken dönem postmortem değişiklikler gözlenir. "Erken Bozunma" döneminde ciltte yeşillenmeler başlar, gaz birikmesine bağlı şişlik ve cesedin patlaması ile biter. "İlerlemiş Bozunma" döneminde zaman içinde parçalanma ve bütünlükte bozulma meydana gelir, larva aktivitesi vardır. "İskeletleşme" döneminde ceset artık tanınmaz, çamurumsu dokulardan ve iskeletten oluşmaktadır dönemin sonunda sadece iskelet yapısı kalır. "İskeletin Kaybı" döneminde ise kemikler beyazlaşmaya ve sonra ufalanmaya başlar böylece iskeletin kaybı gerçekleşir. (Dokgöz, 2019)

Bozunmanın istisnaları olarak adlandırılan, çürümeye rağmen bütünlüğünü koruyan vakalar vardır. Bu vakalar belli çevresel koşullardan dolayı oluşur ancak koşullar değiştiğinde çürüme tekrar başlayabilmektedir. Kuru ortam koşullarında meydana gelen mumyalaşma, cesedin su kaybederek derinin sertleşmesi ile oluşur çoğunlukla sıcak iklimlerde görülür ama soğuk iklimlerde de gözlemlenebilir. Nemli ortamlarda meydana gelen sabunlaşma, yağ dokusunun su varlığı ile hidrolizi ve hidrojenasyonuna bağlı cesette oluşan sarı-beyaz sabunumsu görüntüdür. Karın içinde ölen amniyon sıvısı içindeki fetüsün maserasyonu ve karın içindeki fetusun kalsifiye olması yani taş fetus de bu istisnalar arasındadır. (Dokgöz, 2019; Koç ve Can, 2011; Polat, 2006).

### 1.3.8. Vücut Sıvılarında Çalışmalar

Postmortem interval tayininde en sık kullanılan yaklaşımlardan biri de vücut sıvılarının analizidir. Farklı anatomik bölgelerden elde edilen bu sıvılar, biyokimyasal, genetik ve moleküler biyobelirteçlerin incelenmesiyle ölüm zamanının daha doğru tahmin edilmesine olanak sağlar. Kan,

vitröz sıvı, sinoviyal sıvı, perikardiyal sıvı ve beyin omurilik sıvısı (BOS) bu amaçla değerlendirilen sıvılar arasındadır.

#### 1.3.8.1. Kan

Kan, postmortem biyokimyasal analizlerde en sık incelenen vücut sıvılarından biridir. Homojen yapısı ve antemortem dönemde yaş, cinsiyet, diyet ve stres gibi faktörlerden görece az etkilenmesi nedeniyle, ölüm zamanı belirlemede uygun bir biyomateryal olarak değerlendirilmiştir (Donaldson ve Lamont, 2013).

Postmortem dönemde kanın biyokimyasal bileşimi hem hücre yıkımı hem de enzimatik otoliz nedeniyle hızlı değişim gösterir. Bu nedenle glukoz, üre, kreatinin, klor, potasyum, kalsiyum, demir, enzimler (örneğin LDH, AST, ALT, CK) ve insülin gibi hormonlar gibi çeşitli parametreler ölüm sürecini anlamak için değerlendirilmiştir (Donaldson ve Lamont, 2013; Hilal vd., 2017; Jiang vd.,2016; Kumar ve Verma, 2016; Secco vd., 2025; Querido, 1990; Querido, 1991).

Yapılan çalışmada özellikle serumdaki laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin ölümden sonraki ilk birkaç saatte hızla yükseldiği, bunu izleyen 2-3 gün boyunca daha yavaş arttığı ve dördüncü gün en yüksek seviyeye ulaştığı bildirilmiştir. Bu artış, kırmızı kan hücrelerinin otolizine bağlanmış ve LDH'nin PMİ tayini için potansiyel bir biyobelirteç olabileceği belirtilmiştir (Donaldson ve Lamont, 2013).

Ayrıca kan hücrelerinin morfolojik ve sayısal değişimleri de PMİ araştırmalarında değerlendirilmiştir. Ölümden sonraki erken fazda eozinofil, nötrofil ve monositlerde özel boyalarla saptanabilen piknotik dejeneratif değişiklikler yaklaşık 6 saat içinde görülmeye başlarken, lenfositlerdeki benzer değişimler genellikle 24 saatten sonra ortaya çıkar. Bu morfolojik bulgular, uygun koşullarda ölümden sonraki 120 saate kadar izlenebilmektedir (Hilal vd., 2017). Ancak bu değişiklikler, gözlemcinin yorumuna bağlı subjektif sonuçlar verebileceğinden, yalnızca destekleyici parametre olarak kullanılmaları önerilmektedir (Swift, 2006).

#### 1.3.8.2. Vitröz Sıvı

Vitröz sıvı, göz lensi ile retinası arasında yer alan, saydam, jelatinimsi yapıda bir sıvıdır. Gözün şeklini ve tonusunu korur (Bévalot vd., 2016). Anatomik olarak korunaklı bir bölgede

bulunması, kontaminasyona ve çürüme süreçlerine karşı diğer vücut sıvılarına kıyasla daha dirençli olmasını sağlar; bu nedenle postmortem analizlerde en çok tercih edilen örneklerden biridir (Koç ve Can, 2011; Vieira vd., 2024).

Literatürde vitröz sıvıdaki potasyum, sodyum, klorür, kalsiyum, üre, kreatinin ve glukoz gibi biyokimyasal belirteçler PMİ tayininde araştırılmıştır. Özellikle vitröz sıvıdaki potasyum 1960'lardan beri PMİ tayininde araştırılmaktadır (Zilg vd., 2015). Ölümden sonra potasyumun zamanla artış gösterdiği bildirilmiştir ve derlemelerle konuya sistematik bir yaklaşım getirilmeye çalışılmaktadır (Vieira vd., 2024; Zilg vd., 2015). Bununla birlikte, yaş, çevre sıcaklığı, ölüm nedeni veya agonik dönem gibi faktörlerin potasyum konsantrasyonlarını etkileyebildiği belirtilmiştir (Zilg vd., 2015).

Vitröz sıvıda değerlendirilen bir diğer molekül de hipoksantin (Hx)'dir. Yapılan çalışmada Hx seviyesi 120 saate kadar lineer bir artış göstermiş ve konsantrasyonlarının potasyuma göre daha dar bir saçılma aralığı gösterdiği bildirilmiştir (Rognum vd., 1991). Ancak literatürde yer alan daha kapsamlı çalışmalar, hipoksantinin ölüm sonrası dönemde artış gösterdiğini doğrulamakla birlikte, potasyum konsantrasyonlarının PMİ ile olan korelasyonunun hipoksantine kıyasla çok daha güçlü ve tutarlı olduğunu ortaya koymaktadır (Barús vd., 2002).

#### 1.3.8.3. Sinoviyal Sıvı

Sinoviyal sıvı, eklem boşluklarında yer alan ve eklem yüzeyleri arasındaki sürtünmeyi azaltarak hareketin devamlılığını sağlayan bir sıvıdır. Çevresel etkenlerden, sıcaklık değişimlerinden ve mikrobiyal kontaminasyondan büyük ölçüde korunduğu için postmortem analizlerde alternatif bir örnek materyali olarak kullanılabilmektedir (Vieira vd., 2024). Vitröz sıvı bulunamadığında veya yetersiz kaldığında, sinoviyal sıvının biyokimyasal içerik bakımından benzer özellikler göstermesi, onu PMİ tayininde yardımcı bir materyal haline getirmiştir.

Yapılan çalışmalarda, sinoviyal sıvıdaki potasyum ve glukoz düzeylerinin postmortem süreçte zamanla değişim gösterdiği ve vitröz sıvı ile benzer korelasyonlar sergilediği bildirilmiştir (Madea vd., 2001; Tumram vd., 2011). Bununla birlikte, üre ve kreatinin düzeylerinin PMİ ile anlamlı bir ilişki göstermediği belirtilmiştir (Srettabunjong vd., 2020). Bu bulgular, özellikle vitröz sıvının örneklenemediği durumlarda, sinoviyal sıvının potasyum analizine dayalı PMİ tahmininde alternatif bir biyokimyasal materyal olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

### 1.3.8.4. Perikardiyal Sıvı

Perikardiyal sıvı, kalp ile perikard zarı arasında yer alan bir sıvıdır. Vitröz sıvı, beyin omurilik sıvısı ve sinoviyal sıvıya göre daha fazla miktarda elde edilebilmesi ve postmortem dönemde dış etkenlerden korunmuş yapısı nedeni ile postmortem çalışmalarda tercih edilen bir vücut sıvısı olmuştur (Singh vd., 2006).

Yapılan çalışmada perikardiyal sıvıda elektrolitler, toplam protein, rezidüel nitrojen ve çeşitli enzim düzeylerinin ölüm sonrası süreç boyunca belirgin değişiklikler gösterdiğini ve bu nedenle PMİ tayininde kullanılabilecek potansiyel parametreler olduğu bildirmiştir (Btezau, 1977: Akt. Singh, 2006). Balasooriya vd. (1984)'nin çalışmasında perikardiyal sıvıda potasyum ve fosfat konsantrasyonlarının ölümün ilk 85 saati boyunca arttığı; sodyum düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir. Adli vakalarda gerçekleştirilen çalışmada perikardiyal sıvı potasyum düzeyi ile PMİ arasında güçlü ve lineer bir korelasyon bulunmuş ve yaş, cinsiyet, ölüm nedeni gibi değişkenlerin potasyum artış hızını etkilemediği raporlanmıştır (Niranjan vd., 2016).

### 1.3.8.5. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)

Beyin omurilik sıvısı, merkezi sinir sistemiyle doğrudan ilişkili olan ve dış çevresel faktörlerden büyük ölçüde korunan bir vücut sıvısıdır. Postmortem dönemde kolaylıkla örneklenebilmesi ve nispeten büyük hacimlerde elde edilebilmesi nedeniyle analizler için uygun bir biyolojik materyal olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, BOS'taki temel biyokimyasal bileşenlerin canlı bireylerdeki referans değerlerinin iyi tanımlanmış olması, postmortem değişimlerin değerlendirilmesinde karşılaştırmalı analizler yapılmasına olanak sağlamaktadır (Peyron vd., 2019).

BOS biyokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır. BOS'taki tau ve p-tau protein düzeylerinin ölümden sonra geçen süreyle anlamlı korelasyon gösterdiği ve bu moleküllerin ölüm zamanı tayininde potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Peyron vd., 2021). Sitolojik olarak BOS çalışan bir diğer çalışmada da, ölüm sonrası dönemde BOS'taki hücre sayısı ve morfolojisindeki değişimlerin incelendiği, 0-12 saatlik postmortem aralıkta hücre sayısının arttığı ancak ilk 6 saatte dejeneratif değişimlerin gözlenmediği rapor edilmiştir. (Pandey vd., 2023).

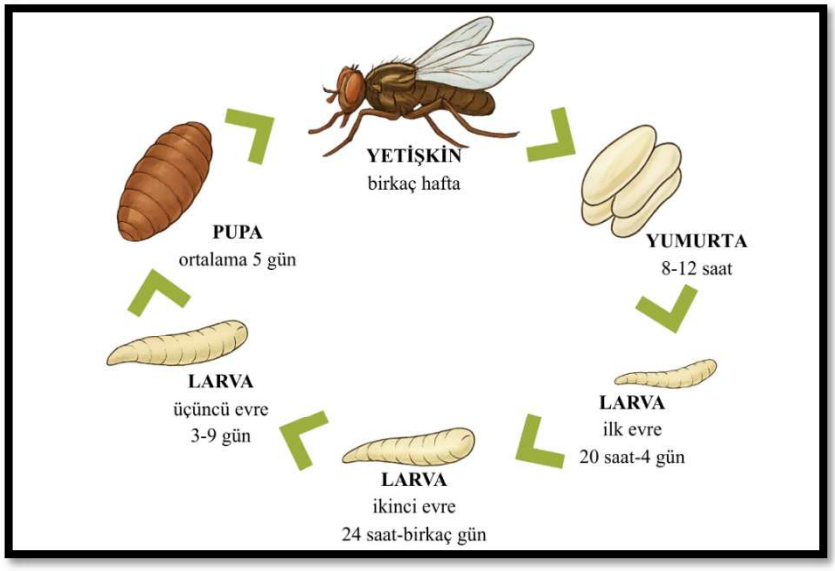
BOS'un ölüm sonrası değerlendirilmesi erken dönem PMİ için belirli avantajlar sunmakla birlikte, yöntemin güvenilirliğini sınırlayan faktörler de vardır. Özellikle nörodejeneratif

hastalıklar, enfeksiyon veya travmatik beyin hasarı gibi durumlar BOS üretimini etkilemektedir. Ayrıca kontaminasyon riski, örnek alım bölgesi, kan karışımı, cesedin bulunduğu ortam koşulları ve ölüm şekline bağlı değişkenler de dikkate alınmalıdır (Peyron vd., 2019).

### 1.3.9. Entomolojik Çalışmalar

Adli entomoloji, ölüm sonrası vücutta bulunan böceklerin biyolojik ve ekolojik analizinden yaralanarak kanıtlar sağlayan, adli vakalarda kullanılan bir bilim dalıdır (Scieuzo vd.,2025). Özellikle dekompozisyonun orta ve geç aşamalarında PMİ tahmini için kullanılan köklü bir araçtır (Strete vd.,2025). İlk olarak 13.yüzyılda Çin'de bir suç aletinin tespitinde kullanılmıştır (Dokgöz, 2019).

Çürüme ile ölüm sonrası vücutta meydana gelen fiziksel ve biyokimyasal değişimler, kendine özgü böcek topluluklarını cezbetmektedir. Ayrışma sırasında dokulardan salınan uçucu bileşikler, çürümeye özgü kokuların oluşmasına neden olur. Böcekler bu bileşikleri algılar ve cesede ulaşırlar. Bu böceklerin ceset üzerinde gösterdikleri gelişim evreleri PMİ tahmininde temel belirleyici olarak kullanılır (Şekil 1.3). Dört yaşam evresi temel alınarak yapılan geriye dönük değerlendirme sonucunda, cesedin bulunduğu andan itibaren PMİ hesaplanabilir (Ceylan, 2020).




**Şekil 1. 3.** Böcek gelişim evreleri (Rana, 2020) (Düzenlenmiştir.)

PMİ tayininde kullanılan entomolojik veriler, sıcaklık, nem, basınç, iklim ve coğrafi özellikler gibi çevresel faktörlerden büyük ölçüde etkilenmektedir. Böceklerin gelişim hızı ve tür

çeşitliliği, içinde bulundukları ekolojik koşullara göre değişiklik gösterebilir. Bu nedenle, doğru bir değerlendirme yapabilmek için cesedin bulunduğu bölgenin coğrafi yapısı, mevsimsel özellikleri ve bölgesel böcek-sinek faunası hakkında ayrıntılı bilgi sahibi olunması gerekmektedir (Dokgöz, 2019).

Son yıllarda, geleneksel entomolojik yöntemlerin yanı sıra moleküler ve teknolojik analizler de PMI çalışmalarına entegre edilmeye başlanmıştır. Özellikle RNA ve protein bozunma analizleri, mikrobiyal ardıllık (nekrobiyom) incelemeleri, genetik materyal tabanlı yöntemler ve DNA metabarkodlama, klasik yöntemleri tamamlayan yeni araştırma alanları olarak öne çıkmaktadır (Strete vd.,2025).

### 1.3.10. Moleküler Düzeyde Çalışmalar

Geleneksel postmortem ölüm zamanı belirleme yöntemleri çevresel koşullardan fazla etkilenebildikleri için her zaman güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar verememektedir. Bu nedenle çevresel koşullardan daha az etkilenen değişkenlerin kullanılması bu alanda önemli hale gelmiştir ve moleküler belirteçlere yönelik ilgi giderek artmıştır (Pasaribu vd., 2023). Hücre ölümü sonrasında DNA, RNA ve proteinlerin bozunma dinamikleri ile dokularda gelişen mikrobiyal topluluk değişimleri, zamana bağlı paternler göstermeleri nedeniyle son yıllarda PMİ araştırmalarında güçlü adaylar olarak ortaya çıkmıştır (Dell'Aquila vd., 2021; Sutton vd., 2024)

#### 1.3.10.1. DNA

Ölüm sonrası hücre bütünlüğünün bozulmasıyla birlikte DNA düzenli bir parçalanma sürecine girer ve bu degradasyon, zamanla öngörülebilir bir azalma örüntüsü oluşturduğu için DNA, PMİ çalışmalarında değerlendirilebilir hâle gelmiştir (Dokgöz, 2019).

Farklı dokular farklı DNA stabilitesine sahiptir, bunun nedeni dokuların rübonükleaz aktivitesine bağlı otoliz hızıdır. Dokular karşılaştırıldığında beyin ve iskelet kası gibi ribonükleaz aktivitesi düşük olan organlarda DNA stabilitesinin daha yüksek olduğu; buna karşın karaciğer ve dalak gibi enzim içeriği yoğun dokularda daha hızlı degradasyon görüldüğü bildirilmiştir (Green vd., 2005; Hansen vd., 2014; Itani vd., 2015).

DNA'nın bütünlüğü; jel elektroforezi, görüntü analiz teknikleri, akış sitometrisi, tek hücre jel elektroforezi (Single Cell Gel Electrophoresis-SCGE) ve özellikle kısa/uzun amplikon karşılaştırmalarına dayalı RT-qPCR gibi çeşitli yöntemlerle değerlendirilmiştir. Son dönem çalışmalar, RT-qPCR ve kapiller elektroforezin DNA fragmentasyonunu daha duyarlı ve kantitatif bir biçimde ölçebildiğini ortaya koymuştur (Tozzo vd., 2020).

DNA degradasyonunu etkileyen değişkenler değerlendirildiğinde; ölüm nedeni, cinsiyet, yaş ve kişinin sağlık durumu gibi bireysel faktörlerin degradasyon sürecine anlamlı bir etki göstermediği bildirilmiştir (Tozzo vd., 2020). Çevresel faktörlerden başta sıcaklık olmak üzere nem, cesedin bulunduğu ortam, suda veya toprakta gibi faktörler DNA degradasyonunu etkilemektedir (Mansour vd., 2019)

Postmortem sürenin uzaması ile birlikte cesetteki bakteriyel ve fungal DNA birikmesi yaygınlaştığından, analizlerde yalnızca insana özgü DNA'yı ayırt edebilen yöntemlerin kullanılması kontaminasyonun önlenmesi açısından kritik kabul edilmektedir (Tozzo vd., 2020).

Bu bulgular bir arada değerlendirildiğinde, DNA'nın ölüm sonrası süreçte belirli ve öngörülebilir bir bozunma paterni sergilediği; ancak degradasyon hızının hem dokuya özgü enzimatik yapıya hem de çevresel koşullara bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Bu nedenle DNA temelli analizler, PMİ tayininde değerli bir biyomolekül olmakla birlikte, güncel literatürde çoğunlukla RNA ve protein düzeyindeki parametrelerle birlikte destekleyici bir yaklaşım olarak ele alınmaktadır.

Hücre içi DNA'nın yanı sıra, ölüm sonrası süreçte dokulardan ortama salınan hücre dışı serbest DNA da PMİ araştırmalarında değerlendirilen bir diğer biyomoleküler parametre olarak öne çıkmaktadır (Fujihara vd., 2021).

Hücre dışı serbest DNA (cell-free DNA; cfDNA), nükleer DNA'nın hücresel ölüm süreçleriyle ortama salınması sonucu oluşan küçük fragmanlardan geniş parçalara kadar değişen heterojen yapıda bir nükleik asit grubudur. İlk olarak Mandel ve Metais tarafından 1948'de kanser hastalarının kan plazmasında tanımlanan cfDNA'nın; apoptoz, nekroz ve bazı hücresel stres yanıtları sırasında aktif salınımla dolaşıma geçtiği bildirilmiştir (Mandel ve Metais, 1948; Nagy, 2019). Sağlıklı bireylerde düşük düzeylerde bulunan cfDNA'nın enfeksiyon, inflamasyon, kanser ve doku yıkımıyla seyreden klinik tablolar sırasında belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. Klinik

olarak bu hastalıkların tanısında ve prenatal tanılarda bir parametre olarak kullanılmaktadır (Fujihara vd., 2021; Lo vd., 1998).

Grubumuz tarafından gerçekleştirilen uzmanlık tezi çalışmasında, rat serum örneklerinde hücre dışı serbest DNA ve High Mobility Group Box-1 (HMGB-1) protein konsantrasyonları, postmortem erken dönemdeki zamana bağlı değişimleri araştırılmıştır. Bu amaçla, 96 adet Wistar rat servikal dislokasyon sonrası +4°C ve +24°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta bekletilmiş; 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. ve 72. saatlerde alınan serum örneklerinde hücre dışı serbest DNA miktarı SYBR Gold nükleik asit boyama yapılarak luminometrik optik yoğunluk ölçümü ile analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, +4 °C koşullarında serum cfDNA miktarının postmortem süre uzadıkça anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş ve erken postmortem dönemde cfDNA'nın PMİ tayininde kullanılabileceği bulunmuştur. +24°C'de bu ilişkinin 6.saatte en yüksek değere ulaştığı ve sonra düştüğü saptanmıştır. Bu sonuçlar, postmortem dönemde ilerleyen hücresel nekrozla birlikte hücre dışı serbest DNA düzeylerinde zamanla değişiklik oluştuğu ve bu değişimin sıcaklık faktöründen etkilendiği ortaya konmuştur (Emiral, 2016; Emiral vd., 2021).

Grubumuz tarafından gerçekleştirilen bir diğer doktora tezi çalışmasında da, rat serum örneklerinde hücre dışı serbest DNA ve seçilen miRNA'ların postmortem zamana bağlı değişimleri araştırılmıştır. Çalışmada 30 adet Wistar albino rat servikal dislokasyon sonrası +24°C bekletilmiş; 0., 6., 12., 24., 48.saatlerde alınan serum örneklerinde hücre dışı serbest DNA miktarı RT-qPCR ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, referans gen olarak seçilen GAPDH ve ACTB'nin zamanla azaldığı, 0., 6., ve 12. saatlerde, 24 ve 48. saatlere göre istatistiksel olarak daha yüksek ortalamaya sahip olduğu bildirilmiş ve özellikle kantitatif olarak ilk 12 saatte hücre nekrozunun daha hızlı olduğu, zamanla istatistiksel olarak azaldığını gösterilmiştir. Bu çalışma, serum hücre dışı serbest DNA düzeylerinin PMİ tayininde potansiyel bir moleküler biyobelirteç olabileceğini gösteren bu alanda yapılmış ilk kantitatif çalışma niteliğindedir (Yavuz Kılıçaslan, 2023; Yavuz Kılıçaslan vd., 2025).

### 1.3.10.2. RNA

Ribonükleik asit (RNA), hücrede protein sentezinin düzenlenmesi ve gen ifadesinin kontrolünde kritik rol oynayan tek zincirli bir nükleik asittir. DNA'ya kıyasla daha kısa ömürlü, kimyasal olarak daha reaktif ve ribonükleazlara karşı daha duyarlıdır. Mesajcı RNA (mRNA), rRNA, tRNA, miRNA, snRNA ve circRNA gibi hücrede çok sayıda RNA türü bulunmaktadır. Bu çeşitlilik, farklı RNA türlerinin hem hücresel süreçlerde hem de postmortem dönemde birbirinden

farklı stabilite paternleri göstermesine yol açmakta ve RNA'yı ölüm sonrası biyokimyasal değişimlerin değerlendirilmesinde önemli bir molekül hâline getirmektedir (Singh vd., 2025).

Moleküler teknolojilerin gelişmesi ile, 2002 yılında ölü rat dokularında mRNA degradasyon profilleri RT-qPCR ile analiz edilmiş ve postmortem mRNA bozunumunu PMİ tayini için kullanılabilecek yeni güvenilir bir biyobelirteç olabileceğini bildirilmiştir (Inoue vd., 2002).

Postmortem RNA degradasyonu, erken dönemde hücre içi RNazların aktivasyonu ile başlar; ilerleyen zamanlarda bakteriyel RNazların devreye girmesiyle hızlanır ve bu durum dokuya özgü RNaz düzeylerine bağlı olarak her organda farklı bir stabilite profili oluşturur. Dolayısıyla RNA degradasyonuna dayalı PMİ analizlerinde hedef organ seçimi kritiktir (Madea, 2023). Çalışmalar, mRNA'nın beyin dokusunda stabil olduğunu, diş pulpasının uzun süre stabil kaldığını ancak karaciğer gibi enzimatik olarak zengin organlarda çok daha hızlı bozunduğunu göstermiştir (Sampaio-Silva, 2013; Singh vd., 2025).

RNA degradasyonuna dayalı analizlerin avantajı yüksek hassasiyet, minimum örnek miktarı ve doku özgüllüğü olsa da kararsız yapısı, degradasyonunun hızını çevresel sıcaklık, nem, pH güneş ışığı gibi postmortem koşullarla beraber ölüm öncesi klinik durumlar, kullanılan ilaçlar, hipoksi ve metabolik stres gibi agonal faktörler de etkileyebilmektedir (Madea, 2023; Singh vd., 2025; Strete vd., 2025).

RNA türleri arasında mRNA, rRNA, snRNA, circRNA ve miRNA gibi çok sayıda tür PMİ araştırmalarında test edilmiştir (Madea, 2023). Özellikle mRNA'nın kısa yarı ömrü ve çevresel koşullara duyarlılığı nedeniyle bu belirteçlerin tek başına yüksek doğruluk sağlamadığı belirtilmiştir (Şenbaş, 2023).

Ölüm sonrası 5 güne kadar soğutularak muhafaza edilen insan kan ve beyin dokusu örnekleri ile yaşayan kişilerden alınan tam kan örneklerinin mRNA degradasyonu lazerle indüklenen floresan kapiler elektroforezle birlikte RT-qPCR'de analiz edilmiş ve mRNA degradasyonu ile PMİ arasında önemli bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Bauer vd., 2003). Fakat, sonraki yapılan çalışmalarla insan beyin dokusunda mRNA degradasyonu seviyesi ile PMİ arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı da gösterilmiştir (Sampaio-Silva, 2013).

Sonraki çalışmalar, mRNA'nın bozunmaya daha duyarlı yapısı nedeniyle analizlerde mikroRNA, snRNA ve circRNA gibi daha stabil endojen RNA türlerine yönelmiş ve PMİ tayininde

birden fazla RNA belirtecinin birlikte değerlendirildiği çalışmalar yürütülmüştür (Scrivano vd., 2019).

Ayrıca adli bilimlerde RNA'lar postmortem interval tayini ile birlikte vücut sıvılarının belirlenmesi, yara yaşı tayini, ölüm nedeni ve mekanizması gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Sampaio-Silva, 2013).

### 1.3.10.3. Protein

Proteinler, hücresel süreçlerin yürütülmesinde merkezi bir rol oynar ve birçok biyolojik olayı doğrudan şekillendirir (Singh vd., 2025). Proteom, bir organizmanın genomu tarafından sentezlenen tüm proteinleri ifade eder ve proteomik analizler bu proteinlerin belirli biyolojik süreçlere bağlı değişimlerini inceleyen disiplin olarak tanımlanır. Ölümden sonra hücresel metabolizma durur, ATP düzeyleri hızla azalır ve proteolitik yollar yeniden düzenlenir. Bu nedenle protein degradasyon paternleri, ölüm sonrası süre ile ilişkili biyokimyasal bir gösterge olarak değerlendirilmiştir (Dokgöz, 2019).

Kas dokusu üzerinde yapılan çalışmalar, belirli yapısal proteinlerin zamanla öngörülebilir parçalara ayrıldığını göstermektedir. Domuz kasında yapılan çalışmada titin, nebulin, desmin, cTnT, SERCA2 ve kalpain türevlerinin ölüm sonrası geçen zamanla düzenli bir degradasyon paterni gösterdiği bildirilmiştir (Pittner vd., 2016). Yine domuz kasında yapılan bir çalışmada da domuz iskelet kası örnekleri 21°C ve 6°C'de farklı postmortem aralıklarda (0-120 saat) analiz edilmiş ve degradasyon davranışları birbirinden farklı üç gruba ayrılabilen toplam 22 protein tanımlanmıştır. Böylece proteomik verilerin PMİ ile ilişkili potansiyel biyobelirteçler olabileceği gösterilmiştir (Battistini vd., 2023).

Proteomik değişiklikler kas dışında başka dokularda da çalışılmıştır. İnsan beyin, akciğer, kalp, karaciğer, pankreas ve böbrek dokularında yapılan çalışmada transferrin, albumin, α-1 antitripsin, haptoglobin, GAPDH, GST ve hemoglobin alt birimleri tüm dokularda görülmüş ve kademeli bozulmalar göstermişler ve on gün geçtikten sonra yalnızca albumin ve hemoglobinin alt birimleri gözlemlenebilmiştir (Sinha vd., 2012). Yapılan derleme çalışmasında protein degradasyon analizleri ve PMİ tayini tahminleri yer almaktadır (Singh vd., 2025).

Postmortem örneklerde kalp dokusunda cTnI (Cardiac Troponin I) düzeyi Western blot ile analiz edilmiş gösterdiği degradasyon paterninin PMİ tayininde kullanılabileceği bildirilmiştir

(Sabucedo ve Furton, 2003). Ayrıca dolaşımdaki HMGB-1 düzeylerinin de +4°C koşullarında erken PMİ için kullanılabileceği ifade edilmiştir (Emiral vd., 2021).

Bununla birlikte protein temelli yaklaşımların önemli sınırlılıkları vardır. Protein degradasyonu sıcaklık, nem ve mikrobiyal faaliyetlerden güçlü şekilde etkilenir ve bu çevresel duyarlılık sebebi ile PMİ tayini için tutarlı sonuçlar veremeyebilir (Dell'Aquila vd., 2021).

#### 1.3.10.4. Mikrobiyom

"Mikrobiyom" kavramı, belirli bir ekosistemde yaşayan mikroorganizmaların taşıdığı tüm genetik materyali ifade eder ve bu yaklaşım adli bilimlerde postmortem değişimlerin değerlendirilmesinde giderek daha fazla kullanılmaktadır (Brooks, 2016).

Postmortem mikrobiyom çalışmalar; iç organ mikrobiyotası (Lutz vd., 2020), vücut sıvılarındaki mikrobiyal profiller (Hanssen vd., 2018), ölüm sonrası açıklıkları ve ceset yüzeyindeki epinekrotik mikroorganizmalar (Spagnolo vd., 2019) üzerinde yürütülmektedir. (Moitas vd., 2024).

İnsan cesetlerinde yapılan çalışmada bağırsak ve ağız incelenmiş, besinden zengin ortamlarda mikrobiyal çoğalmanın arttığını klostridia bakterisinin iç organlar ve kanda PMİ'nin bir belirteci olarak bildirilmiştir (Moitas vd., 2024). Bir başka çalışmada cesedin deri ve toprak mikrobiyomları incelenmiş ilk 50 gün için PMİ tayinindeki hata payının ±5-7 gün gibi düşük değerlere indirilebildiği bildirilmiştir (Metcalf, 2019). İnsan körbağırsağında yapılan 5-192 saat PMİ'ye sahip örneklerde körbağırsağın belirgin bir mikrobiyal ardışıklık sergilediğini göstermiş ve bu bölgenin örnekleme için uygun bir alan olduğunu vurgulamıştır (Hu vd., 2021).

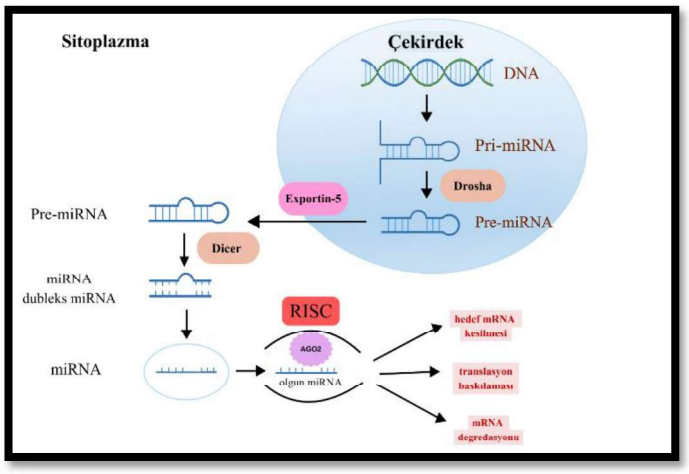
Ayrıca geniş insan örneklemli bir çalışmada kulak, göz, burun, ağız ve rektumdan alınan örneklerde mikrobiyal toplulukların değerlendirilmesiyle mikrobiyota bileşimlerinin anatomik bölgeye göre farklılık gösterdiği ve bu nedenle çok bölgeli örneklemenin daha doğru sonuç verdiği belirtilmektedir (Zhang vd., 2019).

Son yıllarda bakteriyel ve fungal DNA'nın yüksek çözünürlüklü analizine dayanan metagenomik yaklaşımlar; postmortem mikrobiyal değişimlerin daha ayrıntılı şekilde izlenmesi ve mikrobiyal süksesyonun ardışık değişimi, mikrobiyom temelli PMİ modellerinin güçlü bir alternatif oluşturabileceği ileri sürülmüştür (Madea, 2023; Sutton vd., 2024).

## 1.4. miRNA

MikroRNA'lar (miRNA'lar), yaklaşık 20-25 nükleotid baz uzunluğunda, protein kodlamayan ve hücrede transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenleyen küçük RNA molekülleridir (Pasaribu vd., 2023). İlk miRNA olan *lin-4*, 1993 yılında *Caenorhabditis elegans*'ta protein üretimini düzenleyici görev aldığı keşfedilmiştir ve bunu keşfedilen ikinci miRNA olan *let-7* izlemiştir (Lee vd., 1993; Pasquinelli vd., 2000). Zaman içinde çeşitli miRNA'lar keşfedilmiş, miRNA'ların birçok organizmada varlığı gözlemlenmiş, birçok biyolojik ve patolojik yollarda rol aldığı keşfedilmiştir (Bartel, 2004; Maiese vd., 2021). Günümüzde miRBase veritabanında iki bin altı yüzden fazla olgun insan miRNA'sı tanımlanmıştır (Kozomara vd., 2019).

miRNA oluşum süreci çekirdek ve sitoplazmada gerçekleşen iki aşamadan oluşur (Şekil 1.4) (Michlewski ve Cáceres, 2019). Çoğu miRNA geni RNA polimeraz II tarafından transkribe edilir ve cap yapısı ile poli-A kuyruğu taşıyan, saç tokası yapılı bir pri-miRNA oluşturur. Bu primer transkript, mikroişlemci kompleksindeki Rnaz III enzimi olan Drosha tarafından kesilerek yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda pre-miRNA'ya dönüştürülür (Liu vd., 2022). Daha sonra pre-miRNA'lar, taşıma reseptörü olan Exportin-5 aracılığıyla çekirdekten sitoplazmaya aktarılır ve burada Rnaz III enzimi olan Dicer tarafından çift sarmallı miRNA'ya ayrıştırılır. Elde edilen miRNA dubleks 19-23 nükleotid uzunluğundadır. Dubleks miRNA'nın yolcu ipliği yıkılır, kılavuz ipliğe Argonaute-2 proteini (AGO2) yüklenir ve olgun miRNA oluşur (Chen vd., 2019). Oluşan kompleks ribonükleoprotein olan RNA kaynaklı susturma kompleksini (RISC) de oluşturmaktadır. Kompleks, hedef mRNA'nın 3′-UTR bölgesine tutunur ve bağlandığı transkriptin ya translasyonunu baskılar ya da onun parçalanmasını başlatır (Liu vd., 2022).




**Şekil 1. 4**. miRNA Biyogenezi (Liu vd., 2022) (Düzenlenmiştir.)

miRNA'ların kısa tamamlayıcı dizilere tekrar eden bağlanma özelliği, her bir miRNA'nın yüzlerce farklı transkript üzerinde eşzamanlı düzenleyici işlevler üstlenebildiğini göstermektedir (Bartel, 2004).

miRNA'lar hücresel gelişim, hücre çoğalması, farklılaşma, hücresel stres, embriyogenez, apoptoz, patogenez, homeostaz gibi temel biyolojik süreçlerde rol alırlar (Pasaribu vd., 2023; Saliminejad vd., 2019). Bu rolleri, kararlılığı ve dokuya özgü ifadesi de klinik patolojide kullanımını artırmıştır. Diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, kas bozuklukları gibi çeşitli hastalıkların teşhisinde ve gelişiminde biyobelirteç olarak potansiyeli araştırılmıştır (Chandrasekaran vd., 2019; Maisese vd., 2021).

Yapılarının kısa olması, mRNA'ya kıyasla daha yavaş degradasyona uğramaları, dokuya özel ekspresyonları, miktarlarının çoğaltılabilmesi ve gelişen teknoloji ile daha hassas ölçümler yapılabilmesi miRNA'ları özellikle avantajlı hâle getirmekte ve adli moleküler çalışmalarda ilgi çekmektedir (Pasaribu vd., 2023). Yara yaşı tayini, vücut sıvılarının tanımlanması ve PMİ tayini araştırmalarında sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Maisese vd., 2021).

Belirli miRNA'ların yara iyileşmesindeki rolü belirlendikten sonra adli bilimler için önemli olan yara yaşının tespiti için birçok çalışma yapılmış ve potansiyel biyobelirteçler araştırılmıştır (De Simone vd., 2022). Albino ratlarda yapılan yara yaşı çalışmasında miR-205 ve miR-21 0-48 saat aralığında histolojik olarak ve RT-qPCR ile incelenmiştir. Her iki miRNA'nın ifadeleri yara oluşumundan 24 saat sonra güçlü bir artış ve 48.saatte güçlü bir düşüş göstermiştir. İstatistiksel olarak bu değişimler ve PMİ arasında bir korelasyon tespit edilememiştir (Ibrahim vd., 2019; Cianci vd., 2024). Ası olgularında yapılan bir çalışmada bağ izlerinden alınan örnek ile kontrol grubu kıyaslanmış ve miR146a-5p, miR125a-5p ve miR125b-5p'nin aşırı ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Neri vd., 2019). Farelerde yapılan çalışmada ise genel olarak, miR-26a-5p, miR-30d-5p ve miR-152-3p'nin PMİ'de en stabil genler olarak belirlenmiş ve miR-26a/30d/152 kombinasyonunun yara yaşı tahmininde kullanılabileceği bildirilmiştir (Suo vd., 2023).

miRNA'ların doku spesifik ekspresyon özelliği ile olay yerinde vücut sıvılarının tanımlanması için araştırılmış ve bu konuda potansiyel biyobelirteçler bildirilmiştir (Silva vd., 2015). Hanson vd. (2009) miRNA'ları adli bilimlerde kullanan ilk çalışmayı vücut sıvılarını tanımlamak için yapmıştır. Devam eden araştırmalar sonucunda kan örneklerinde miR-451a'nın kan tanısı için güçlü adaylardan biridir; miR-144-3p ve miR-16 ise venöz kanı diğer vücut sıvılarından ayrımında kullanılabilecek bir biyobelirteç olarak bildirilmiştir. miR-214-3p ve miR-

412'nin diğer vücut sıvılarına kıyasla özellikle menstrual kanda daha yoğun eksprese edildiği gözlemlenmiş ve iki miRNA'yı menstrual kanamanın doğrulanmasında potansiyel biyobelirteçler olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda miR-203a ve miR-205-5p'nin tükürük için aday biyobelirteçler olabileceği bildirilmiştir. Semen için en güçlü aday ise epididime özgü ekspresyon profili nedeniyle miR-891a'dır; miR-10b ve miR-888 de aday biyobelirteçler olarak bildirilmiştir. miR-203a ise vajinal salgı tanımlamasında aday biyobelirteç olarak önerilmektedir. Ancak , bazı miRNA'ların birden fazla sıvıda gözlemlenebilmesi karışık örneklerin tanımlanması için bir sınırlılıktır (Li vd., 2023; Rocchi vd., 2021).

Gelişen teknoloji ile araştırmacılar geleneksel yöntemlerin sınırlılıklarını aşabilecek PMİ tayini için daha güvenilir ve objektif yaklaşımlar geliştirmeye çalışmıştır. Ölüm zamanının hesaplanabilmesi için öngörülebilir ve düzenli değişim gösteren biyobelirteçlerin tanımlanması gerekmektedir. Zamanla ölüm sonrası DNA, RNA ve protein düzeylerinin değişiminin incelenebilmesi bu moleküler yapıların potansiyelinin araştırılmasını sağlamıştır. miRNA'ların dokuya spesifik olmaları, diğer yöntemlere kıyasla yüksek kararlılıkları ve zamana bağlı bozunma profillerinin gözlemlenebilmesi PMİ tayininde potansiyel biyobelirteçler olarak incelenmelerini sağlamış ve bu konuda çok sayıda araştırma yapılmıştır (Cianci vd., 2024; Pasaribu vd., 2023)

miRNA ve PMİ ile ilgili araştırmalar genellikle doku örnekleri ile yapılmıştır (Pasaribu vd., 2023). Farklı doku örneklerinde, ölüm sonrası geçen zamana göre stabilite değişebilmektedir. Bu tür doku çalışmalarında verilerin yorumlanabilmesi için uygun veri standardizasyonu seçmek önemlidir. Normalizasyonu sağlamak için referans genler kullanılmalı ve referans genlerin PMİ boyunca kararlı ve stabil olmalıdır (Lv vd., 2014). Literatürde miRNA'lar için 18S rRNA, 5S rRNA, U6 snRNA, RPS29 ve Let-7a referans gen olarak tercih edilmektedir (Rocchi vd., 2020).

Rat kalp kasında ilk kez 25 °C'de kontrollü yapılan çalışmada miR-1-2 ve 18S rRNA'nın ifadesindeki değişiklikleri RT-qPCR ile değerlendirmiş ve 18S rRNA ve miR-1-2'nin yararlı biyobelirteçler olabileceği bildirilmiştir (Li vd., 2010).

Devam eden çalışmalarla bazı miRNA'ların ölümden sonra ifadelerinin değiştiği bazı miRNA'ların ise belli bir süre stabil kaldığı belirlenmiştir (Pasaribu vd., 2023). Bu özellikleri, miRNA'ların PMİ belirlenmesine yönelik çalışmalarda aday biyobelirteçler olarak değerlendirilmelerine ve bazı miRNA'ların da ekspresyon çalışmalarında referans gen olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Cianci vd., 2024). Gelişen teknoloji ile normalizasyon

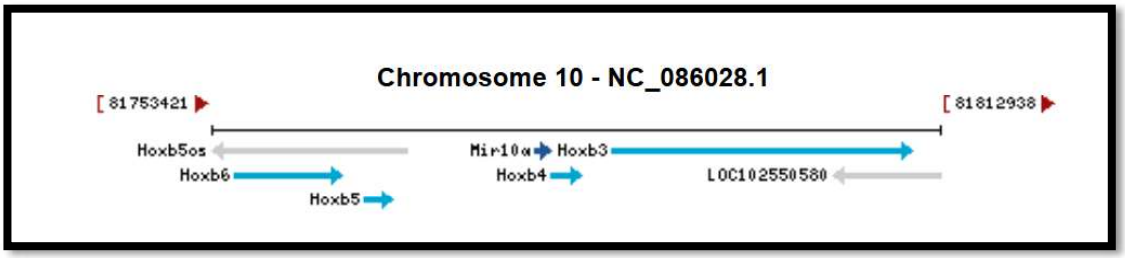
hatalarını azaltmak için matematiksel modeller geliştirilip geNorm ve Normfinder gibi yazılımlarla referans gen listesi oluşturulmaktadır (Scrivano vd.,2019).

Ölümden sonra rat deri örneklerinde on bir farklı zaman noktasında yapılan çalışmada 4°C, 15 °C ve 35 °C'de 5S rRNA ve miR-203'ün en uygun referans genler seçilmiştir (Pan vd., 2014). Kalp dokusunda çalışmalar sonucunda belirlenen referans genler miR-1, miR-122 ve miR-133a'dır; karaciğer dokusundaki çalışmalar sonucunda belirlenen referans gen miR-122'dir; beyin dokusunda yapılan çalışmalar sonucunda belirlenen referans genler miR-9 ve miR-125b'dir; iskelet kası çalışmalarında belirlenen referans genler miR-1, mir-133a ve miR-206'dır; akciğer dokusunda yapılan çalışmalarda belirlenen referans genler miR-195 ve miR-200c'dir; kemik dokusu çalışmalarında belirlenen referans genler miR-16 ve let-7e'dir (Montanari vd., 2021).

Günümüzde, moleküler teknolojilerin gelişmesi ile gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR), yüksek duyarlılığı, seçiciliği, tekrarlanabilirliği ve çok yönlü bir analiz aracı olması nedeniyle PMİ tayini çalışmalarında sıkça kullanılan önemli bir yöntemdir (Rocchi vd. 2021; Scrivano vd., 2019). Ancak, postmortem örneklerde RNA düzeyinin ortam sıcaklığı, pH, ölüm nedeni, çürüme ve otoliz, yaş, cinsiyet, dokunun içsel durumu ve analizin yapıldığı ortamın parametreleri gibi değişkenlerin sonucu etkileyebileceği unutulmamalıdır (Cianci vd., 2024).

Ratlarda tüm toraks ışınlanmasından sonra akciğer ve tüm kandaki miRNA'daki değişiklikleri inceleyen çalışmada, radyasyona uğramamış kontrol grubu sıçanlarında akciğer dokusunda ifade seviyesi yüksek olan miRNA'lar 6 kütüphaneden alınan verilerle tespit edilmiştir (Gao vd., 2017). Ölümle beraber gelişen hipoksi, hücresel stres oluşturarak hipoksiye duyarlı, apoptozu düzenleyen miRNA'ların ifadesini etkilemektedir. Bu bağlamda hipokside rol alan miRNA'lar PMİ ile ilişkilendirilebilir (Cianci vd., 2024). Bu çalışmada akciğer dokusunda yüksek ifade seviyesine sahip ve literatürde hipoksi durumunda çalışılmış miRNA'lar seçilmiştir.

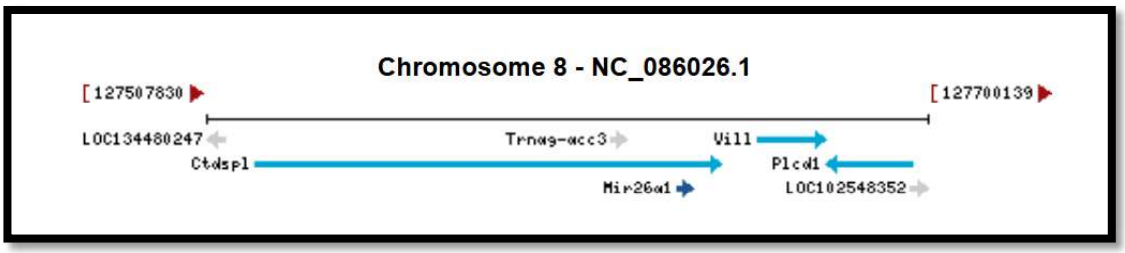
**miR-10a-5p**, pre-miR-10a'nın işlenmesiyle oluşan iki olgun miRNA'dan biridir. İnsan genomunda 17. kromozomda (17q21.32) bulunurken, rat genomunda 10. kromozom üzerinde bulunmaktadır (Şekil 1.5).




**Şekil 1. 5.** miR-10a'nın genomik organizasyonu (National Library of Medicine, 2025a)

Karaciğerde oluşturulan hipoksi/iskemi modelinde 1 günlük hipoksi, miR-10a-5p ekspresyonunda artışa yol açmış ancak 5.gün ve 10.günde ekspresyon seviyesinde azalma bildirilmiştir (Zhi vd., 2017). Hipoksik kardiyomiyosit modelleri ve miyokard infarktüsü farelerinde yapılan çalışmada, miR-10a-5p ekspresyonunun hipoksi altında belirgin şekilde azaldığı da bildirilmiştir (Cao vd., 2021).

**miR-26a-5p**, pre-miR-26a'nın 5' kolundan türetilen olgun miRNA'dır ve miR-26a-1 ile miR-26a-2 olmak üzere iki ayrı gen lokusundan sentezlenebilir. İnsan genomunda miR-26a-1 3. kromozomda (3p22.2), miR-26a-2 ise 12. kromozom üzerinde (12q14.1) yer alır. Rat genomunda ise 8.kromozom üzerinde yer alır (Şekil 1.6).

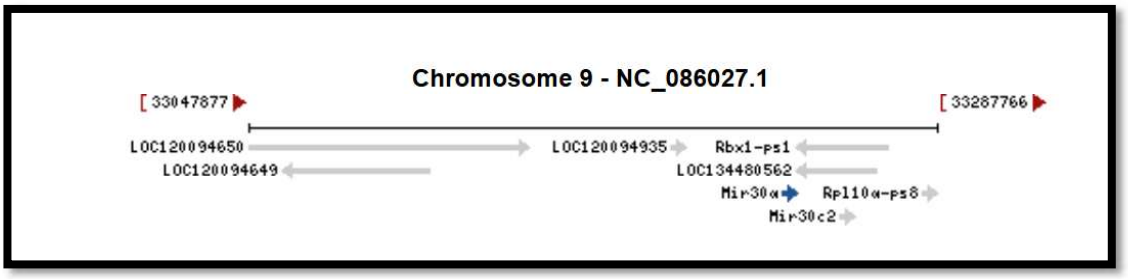



**Şekil 1. 6.** miR-26a'nın genomik organizasyonu (National Library of Medicine, 2025b)

Yapılan pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) çalışmasında hastaların akciğer dokularında miR-26a-5p'nin ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir (Ma vd., 2023). Hipoksik koşullarda miyokard hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada da MiR-26a- 5p'nin yüksek ekspresyon göstermiş ve apoptoz seviyesini azalttığı düşünülmüştür (Wen vd., 2020). Kardiyomiyositlerde yapılan bir çalışmada hipoksi/reoksijenasyon (H/R) koşullarında miR-26a-5p'nin ifadesi önemli ölçüde azalmış ve miR-26a-5p'nin ifadesinin artması apoptozu önleyebileceği bildirilmiştir (Yan vd., 2021). Fare kardiyomiyositlerinde yapılan çalışmada H/R koşullarında miR-26a-5p'nin aktivitesine ve sinyal yolunu düzenleme mekanizmasına bakılmış

ve miR-26a-5p'nin aşırı ekspresyonu, sinyal yolunu aktive etmiş ve apoptozu azaltmıştır (Xing vd., 2020).

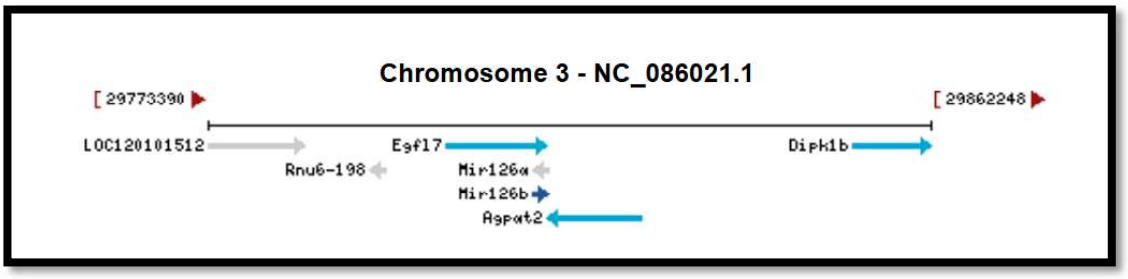
**miR-30a-5p**, pre-miR-30a'nın 5' kolundan türetilen olgun miRNA'dır ve miR-30 ailesinin bir üyesidir. İnsan genomunda miR-30a 6. kromozomda (6q13) yer alır; rat genomunda 9. kromozom (9q13) üzerinde konumlanmıştır (Şekil 1.7).




**Şekil 1. 7.** miR-30a'nın genomik organizasyonu (National Library of Medicine, 2025c)

Akciğer dokusunda yapılan pulmoner hipertansiyon çalışmasında hipoksik koşullar altında miR-30a-5p'nin ekspresyon seviyesinin azaldığı görülmüştür. (Caruso vd., 2010). H9c2 hücre hattında yapılan bir çalışmada H/R koşullarında miR-30a-5p ekspresyonunun arttığı ve apoptozu azalttığı bildirilmiştir (Lv vd., 2021).

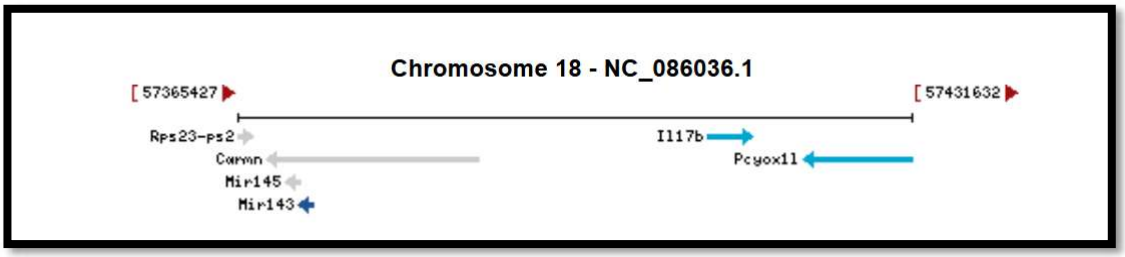
**miR-126a-5p**, pre-miR-126a'nın 5' kolundan türetilen olgun miRNA'dır. İnsan genomunda miR-126 9. kromozomun (9q34.3) içinde yer alır ve EGFL7 geninin intronik bölgesinden türetilir. Rat genomunda miR-126a 3.kromozom üzerinde bulunmaktadır (Şekil 1.8).




**Şekil 1. 8**. miR- 126a'nın genomik organizasyonu (National Library of Medicine, 2025d)

Rat endotel hücrelerinde yapılan çalışmada miR-126a-5p'nin akciğerde baskın olarak ifade edildiği tespit edilmiştir (Liu vd., 2021). Yenidoğan pulmoner hipertansiyon çalışmasında hipoksiye bağlı rolü incelenmiş ve miR-126a-5p'nin ekspresyonun azaldığı görülmüştür ( Xu vd., 2017).

**miR-143-3p**, pre-miR-143'ün 3' kolundan türetilen olgun miRNA'dır ve miR-143/145 kümesinin bir üyesidir. İnsan genomunda 5. kromozom üzerinde (5q32) yer alır ve rat genomunda 18. kromozom üzerinde bulunur (Şekil 1.9).




**Şekil 1. 9**. miR-143'ün genomik organizasyonu (National Library of Medicine, 2025e)

Mezenkimal kök hücresi (MSC) kaynaklı eksozomların miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarına karşı koruyucu etkisini inceleyen çalışmada, H/R modeli oluşturulmuş ve eksozomal miR-143-3p'nin ekspresyonunun artırılması CHK2-Beclin2 yolunu modüle ederek otofajiyi düzenlediği ve böylece apoptozu belirgin biçimde azalttığı gösterilmiştir (Chen vd., 2021). Mikoplazmal pnömoni (MP) ile ilgili yapılan çalışmalarda ise miR-143-3p'nin artmasının TLR4/MyD88/NF-κB sinyal yolunu düzenleyerek alveolar epitel hücre apoptozunu azalttığı görülmüştür (Wang vd., 2020).

Rat ve insan akciğer dokularında yapılan PMİ tayini çalışmasında, potansiyel biyobelirteçler (ACTB, GAPDH, RPS29, miR-1, miR-133a, miR-122, miR-9, miR-125b, 18S rRNA, 5S rRNA) araştırılmıştır. Dokular 3 farklı sıcaklık (10°,20°,30°C) ve 12 zaman noktasında (0-144 saat), RT-qPCR ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda PMİ tayini için akciğer dokularında seçilen referans biyobelirteçler miR-195, miR-200c, 5S, U6 ve RPS29 olarak belirlenmiştir (Lv vd., 2016). snRNA sınıfının bir üyesi olan U6, ökaryotik hücre çekirdeğinde küçük nükleer ribonükleoprotein parçacığı (SnRNP) adlı protein kompleksine bağlıdır. Kısa saç tokası (hairpin) yapısı, çekirdeğin koruyucu ortamı ile U6'nın nükleaz kaynaklı parçalanmaya karşı daha dirençli olmasına katkı sağlamaktadır (Lv vd., 2014). Bu özellikleri sebebi ile çalışmamızda gen ekspresyon analizlerinde endojen kontrol referans gen olarak snRNA U6 kullanılmıştır.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, servikal dislokasyon yöntemi ile sakrefiye edilen yetişkin Wistar ratlardan farklı zaman aralıklarında alınan 24°C'de bekletilmiş akciğer doku örneklerinde, akciğer dokusunda yüksek düzeyde ifade edilen ve hipoksi ile ilişkili miR-10a-5p, miR-26-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p RT-qPCR yöntemi ile kantitatif olarak

analiz edilmiştir. Çalışma kapsamında bu miRNA'ların ölüm sonrası zamanla gösterdiği değişimlerin ortaya konması ve postmortem interval ile olası ilişkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

# 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu yüksek lisans tezi deneylerinde, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18/09/2019 tarihli 2019-17-166 karar numaralı izni kapsamında, grubumuz tarafından gerçekleştirilen doktora tez çalışmasında elde edilen akciğer doku örnekleri kullanılmıştır. Akciğer doku örneklerinin bu yüksek lisans tez çalışmasında kullanılabilmesi için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 25/12/2024 tarihli ve 2024-20-173 karar numaralı ek izin alınmıştır.

## 2.1. Örneklem Yöntemi ve Sayısı

Bu çalışmada, daha önce grubumuz tarafından gerçekleştirilen doktora tez çalışmasında kullanılan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'nda üretilmiş servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edilen 30 adet yetişkin Wistar albino rat modeli 24°C'de bekletilerek akciğer doku örnekleri 0., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde otopsi ile alındı (Çizelge 2.1). Doku örnekleri -20°C'de RNAlater solüsyonu içerisinde muhafaza edildi.

**Çizelge 2. 1.** Deney hayvanlarının postmortem zamana bağlı gruplandırılması

| Grup No | 24°C Postmortem Bekleme | Grup Başına Hayvan Adedi |
|---|---|---|
| 1 | 0. saat | 6 |
| 2 | 6. saat | 6 |
| 3 | 12. saat | 6 |
| 4 | 24. saat | 6 |
| 5 | 48. saat | 6 |

## 2.2. miRNA Analizleri

0., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde toplanan ve -20°C'de RNAlater solüsyonu içerisinde tutulan akciğer doku örneklerinden miRNA analizleri gerçekleştirildi. Çalışmada hedef miRNA'lar; miR-10a-5p, miR-26-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p olarak seçildi.

### 2.2.1. miRNA İzolasyonu

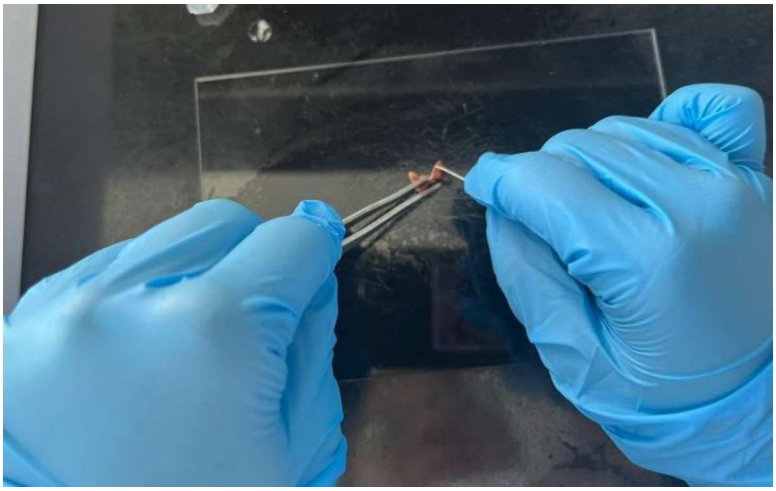
-20°C'den alınan akciğer doku örneklerinden miRNA izolasyonu yapıldı. miRNA izolasyonu için Hybrid-R™ miRNA mini test kiti (GeneAll Biotechnology, 2011, Korea) kullanıldı (Şekil 2.1).




**Şekil 2. 1.** Hybrid-R™ miRNA mini test kiti

miRNA izolasyon protokolü aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

- Doku örnekleri steril bir bistüri yardımıyla parçalandıktan sonra (Şekil 2.2) 1 mL RiboEx eklenerek (Şekil 2.3) bilyeli homojenizatör cihazında 5 dakika parçalanmaya bırakıldı. Karışım 5 dakika (dk.) oda ısısında inkübe edildi. Karışım 12.000 rpm'de 15 dk., 4°C'de santrifüj edildi ve süpernatant başka bir tüpe aktarıldı.



**Şekil 2. 2.** Bistüri ile dokuların parçalanması




**Şekil 2. 3.** Parçalanmış doku örneklerine RiboEx eklenmesi

- Süpernatant üzerine 200 µl kloroform eklenerek karıştırıldı. 2 dk. oda ısısında inkübe edildi. 12.000 rpm'de, 1 dk., 4°C'de santrifüj edildi ve süpernatant başka bir tüpe aktarıldı.
- Süpernatant üzerine 1:1 oranda %50 etanol eklenerek pipetaj yapıldı.
- Elde edilen karışım TypeB kolona 700 µL hacimde aktarıldı. 11.000 rpm'de, 1 dk., oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- Altta kalan sıvının üzerine 1:1 oranda %100 etanol eklenerek pipetaj yapıldı.
- Elde edilen karışım daha sonra karışım 650 µL hacimde TypeW kolona aktarıldı. 11.000 rpm'de, 1 dk., oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- Geriye kalan örnek olması durumu da göz önünde bulundurularak son iki işlem tekrarlandı




**Şekil 2. 4.** Type W ve Type B kolonlar

- Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi ve üzerine 500 µL RBW Buffer eklendi. 11.000 rpm'de, 1 dk., oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi ve üzerine 500µL RNW Buffer eklendi. 11.000 rpm'de, 1 dk., oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- RBW Buffer ve RNW Buffer işlemleri tekrar edildi.
- Toplama tüpü yenisi ile değiştirildi ve üzerine bir şey eklenmeden 11.000 rpm'de, 2 dk., oda sıcaklığında santrifüj edildi. Kolon temiz bir tüpe alındı.
- Kolon üzerine 50 µL RNase-free su eklendi ve 2dk. oda sıcaklığında bekletildi. 12.000 rpm'de, 1 dk., oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- Elde edilen miRNA örnekleri -80°C sıcaklıkta muhafaza edildi.

### 2.2.2. miRNA-cDNA Sentezi

miRNA izolasyonu sonrasında miRNA-cDNA sentezi aşamasına geçildi. Sentez için A.B.T.™ cDNA Synthesis Kit with Rnase inh. (High Capacity) kiti kullanıldı. 30 örnekte 6 miRNA çalışılacağından, toplamda 180 reaksiyon için reaksiyon karışımı hazırlandı. Reaksiyon karışımı ve örnek miktarı Çizelge 2.2'de verilmiştir.

**Çizelge 2. 2.** miRNA-cDNA sentezi için kullanılan reaksiyon karışımı bilgileri

| Bileşen | Hacim |
|---|---|
| 5X Reaksiyon Tamponu | 4 µl |
| 20X dNTP Karışımı | 1 µl |
| Random hexamer | 1 µl |
| Reverse transkriptaz enzimi | 1 µl |
| Rnase Inhibitor | 0,5 µl |
| Rnase free Water | 8,5 µl |
| Örnek (40 ng/uL) | 4 µl |
| **TOPLAM** | **20 µl** |

cDNA sentezi için reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra reverse transkripsiyon reaksiyonuna geçildi. Bu işlem ProFlex thermalcycler (Applied Biosystems™) cihazında gerçekleştirildi. cDNA sentezi için kullanılan reverse transkripsiyon reaksiyonunun koşulları Çizelge 2.3'te belirtilmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri Real-Time PCR aşamasına kadar -20°C sıcaklıkta muhafaza edildi.

**Çizelge 2. 3.** miRNA- cDNA sentezi reaksiyon koşulları

| **cDNA Sentezi Reaksiyon Koşulları** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Adım 1** | **Adım 2** | **Adım 3** | **Adım 4** |
| Sıcaklık (°C) | 25 | 50 | 85 | 4 |
| Süre | 5 dk. | 15 dk. | 5 dk. | - |

## 2.2.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

cDNA elde edildikten sonra gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu RT-qPCR aşamasına geçildi. Reaksiyon için A.B.T.™ 2X miRqGreen MasterMix kiti kullanıldı. Primer bilgileri Çizelge 2.4'te; reaksiyon karışımı ve örnek miktarı ise Çizelge 2.5'te verilmiştir.

**Çizelge 2. 4.** RT-qPCR'da kullanılan primerlerin adı, dizisi ve bağlanma sıcaklıkları

| Primer Adı | Primer Dizisi | Primer Bağlanma Sıcaklığı |
|---|---|---|
| **miR-143-3p _F** | CTGGGTGAGATGAAGCACTG | 60°C |
| **miR-143-3p _R** | GTGCAGGGTCCGAGGTCAGAGCCACCT GGGCAATTTTTTTTTTTGAGCTA | 60°C |
| **miR-10a-5p _F** | CGCTACCCTGTAGATCCGAATTTGTG | 65°C |
| **miR-10a-5p _R** | GTGCAGGGTCCGAGGT | 65°C |
| **miR-26a-5p _F** | TTCAAGTAATCCAGGA | 55°C |
| **miR-26a-5p _R** | CAGTGCGTGTCGTGGAGT | 55°C |
| **miR-30a-5p _F** | TGTAAACATCCTCGACTGGAAG | 60°C |
| **miR-30a-5p _R** | TGCGTGTCGTGGAGTC | 60°C |
| **miR-126a-5p _F** | GGGGGCATTATTACTTTTGG | 60°C |
| **miR-126a-5p _R** | GTGCGTGTCGTGGAGTCG | 60°C |
| **RNU6_F** | GCTTCGGCAGCACATATACTAAAA | 60°C |
| **RNU6_R** | CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT | 60°C |

**Çizelge 2. 5.** RT-qPCR için kullanılan reaksiyon karışımı bilgileri

| **RT-qPCR İçin Kullanılan Reaksiyon Karışımı Bilgileri** | |
|---|---|
| **Bileşenler** | **Hacim** |
| 2X MasterMix (with SYBR-Green) | 10 µl |
| Forward Primer (10 µM) | 1 µl |
| Reverse Primer (10 µM) | 1 µl |
| cDNA Template | 3 µl |
| RNase-Free Water | 5 µl |
| **TOPLAM** | **20 µl** |

Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra RT-qPCR reaksiyonuna geçildi. RT-qPCR için kullanılan reaksiyon koşulları Çizelge 2.6'da belirtilmiştir. RT-qPCR reaksiyonu DRAWELL Real-Time Quantitative PCR cihazında gerçekleştirildi.

**Çizelge 2. 6.** RT-qPCR reaksiyon koşulları

| RT-qPCR Reaksiyonu Koşulları | | | |
|---|---|---|---|
| **Adımlar** | **Sıcaklık (°C)** | **Süre** | **Döngü** |
| Başlangıç Denatürasyonu | 95 | 10 dk | 1 |
| Denatürasyon | 95 | 20 sn | 35 |
| Bağlanma | 60 | 1 dk | |
| Uzama | 72 | 1 dk | |
| Erime Eğrisi | 95 | 15 sn | Bu aşama tek adımda gerçekleştirilmiş olup veri toplama 05 saniyede bir yapılmıştır. |
| | 60 | 1 dk | |
| | 95 | 15 sn | |

## 2.3. Bağıl Ekspresyon Hesaplaması

miRNA ekspresyonları snRNA U6'ya göre normalize edilmiştir. Bağıl ekspresyon hesaplamasında "ΔΔCt Yöntemi" kullanılmıştır. ΔΔCt hesaplaması aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

- Hem hedef grupta, hem de referans grupta her bir örneğin hem hedef miRNA hem de referans gen için RT-qPCR sonucunda Ct değerleri elde edilmiştir. Teknik tekrarlı çalışmalarda Ct değerlerinin ortalaması alınarak hesaplamalar yapıldı.
- Hedef grupta hedef miRNA Ct değerinden referans gen Ct değeri çıkarılarak hedef grup ΔCt değerleri elde edildi.
- Referans grupta hedef miRNA Ct değerinden referans miRNA Ct değeri çıkarılarak referans grup ΔCt değerleri elde edildi.
- Hedef grup ΔCt değerlerinden referans grup ΔCt değerleri çıkarılarak ΔΔCt değerleri elde edildi.
- ΔΔCt değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ şeklinde işleme alınarak kat değişimi (Fold Change) hesaplaması yapıldı.
- Fold Change değeri 1'in üzerinde çıkması durumunda hedef grubu miRNA ekspresyonunun referans grubun miRNA ekspresyonuna göre relatif olarak artış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır. Fold Change değeri 1'in altında çıkması

durumunda ise hedef grubu miRNA ekspresyonunun referans grubun miRNA ekspresyonuna göre relatif olarak azalış gösterdiği şeklinde yorumlandı.

## 2.4. İstatistiksel Analiz

Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında referans gen olan U6 ile birlikte analizini gerçekleştirdiğimiz miRNA'ların (miR-10a-5p, miR-26-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p) Ct, ΔCt, ΔΔCt, Fold change (değişim katsayıları) değerleri hesaplanmıştır. Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS V22 istatistik paket programında gerçekleştirilmiştir. Her bir miRNA için zaman gruplarına ait ΔCt normal dağılım testi Shapiro-Wilk ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar için Tek Yönlü ANOVA yöntemi uygulandı. p-değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Anlamlı farklılıklar saptanınca Tukey post-hoc testi uygulandı. PMİ ile miRNA'ların ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkinin yönü ve gücünü istatistiksel olarak değerlendirmek amacıyla Pearson korelasyon analizi gerçekleştirilmiştir.

# 3. BULGULAR

Bu çalışmada servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edilip 24°C'de bekletilen ve 0., 6., 12., 24., ve 48.saatlerde otopsi ile alınan rat akciğer doku örneklerinde miR-10a-5p, miR-26a-5p, miR30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p'nin ekspresyon seviyeleri RT-qPCR yöntemi ile ölçülmüştür. Normalizasyon için endojen kontrol olarak snRNA U6 kullanılmış ve hedef gen Ct değerinden referans gen Ct değeri çıkarılarak ΔCt değerleri hesaplanmıştır. Her gruptaki altı örnekten birinin verileri kalite ve analiz kriterlerini karşılamadığı için çalışmaya dahil edilmemiş; böylece istatistiksel değerlendirmelerin doğruluğu ve güvenilirliği sağlanmıştır.

Tüm miRNA'lara ait ΔCt verileri kullanılarak normalite testi Shapiro-Wilk ile yapılmıştır. miR-10a-5p, miR-26a-5p, miR30a-5p ve miR-143-3p'nin ΔCt değerlerinin normal dağılıma sahip olduğu görülmüştür ($p>0,05$). miR-126a-5p'de normal dağılımdan sapma tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 3.1). Ancak parametrik ANOVA testinin normallik varsayımındaki küçük ihlallere karşı dayanıklı olması ve grupların eşit örneklem büyüklüğüne sahip olması nedeniyle analizler parametrik yöntemlerle sürdürülmüştür.

**Çizelge 3. 1.** miRNA'ların Shapiro-Wilk Normalite Testi sonuçları

| **Shapiro-Wilk Normalite Testi** | İstatistik | df | Sig. |
|---|---|---|---|
| **miR-10a-5p** | 0,944 | 25 | 0,186 |
| **miR-26a-5p** | 0,877 | 25 | 0,006 |
| **miR-30a-5p** | 0,946 | 25 | 0,202 |
| **miR-126a-5p** | 0,754 | 25 | **0,000** |
| **miR-143-3p** | 0,886 | 25 | 0,009 |

Çalışılan miRNA'ların ΔCt değerlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 3.2'de sunulmuştur. Tüm değerler U6 endojen kontrolüne göre normalize edilmiştir. Verilere göre ortalama ΔCt değerleri zaman ilerledikçe genel bir artış eğilimi göstermiştir.

**Çizelge 3. 2.** Çalışılan miRNA'ların farklı zaman noktalarındaki ΔCt değerlerinin ortalama (±SD) dağılımları

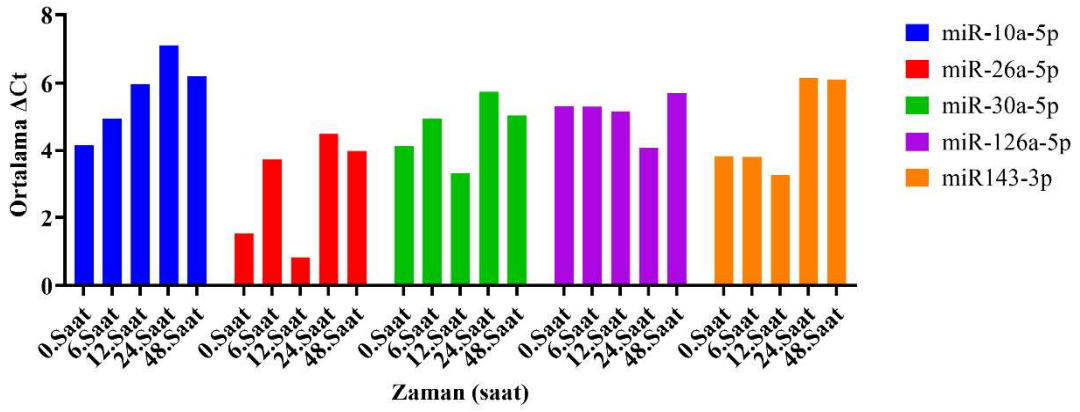
| Zaman | n | miR-10a-5p<br>Mean ± SD | miR-26a-5p<br>Mean ± SD | miR-30a-5p<br>Mean ± SD | miR-126a-5p<br>Mean ± SD | miR-143-3p<br>Mean ± SD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **0.saat** | 5 | 4,16 ± 0,49 | 1,54 ± 0,57 | 4,14 ± 0,63 | 5,30 ± 0,30 | 3,80 ± 0,58 |
| **6.saat** | 5 | 4,93 ± 1,47 | 3,71 ± 0,34 | 4,94 ± 1,59 | 5,29 ± 0,36 | 3,79 ± 1,13 |
| **12.saat** | 5 | 5,97 ± 0,68 | 0,85 ± 0,39 | 3,32 ± 0,91 | 5,15 ± 0,14 | 3,26 ± 0,68 |
| **24.saat** | 5 | 7,08 ± 0,50 | 4,49 ± 0,40 | 5,75 ± 0,24 | 4,09 ± 1,73 | 6,15 ± 0,41 |
| **48.saat** | 5 | 6,19 ± 0,60 | 3,99 ± 0,37 | 5,03 ± 0,43 | 5,68 ± 0,98 | 6,10 ± 0,30 |

Çalışılan miRNA'ların tek yönlü ANOVA testi sonuçları, anlamlılıkları (p) ve etki büyüklükleri ($\eta^2$) Çizelge 3.3'te sunulmuştur.

**Çizelge 3. 3**. miRNA'ların Tek yönlü ANOVA sonuçları ve etki büyüklüğü ($\eta^2$) hesaplamaları

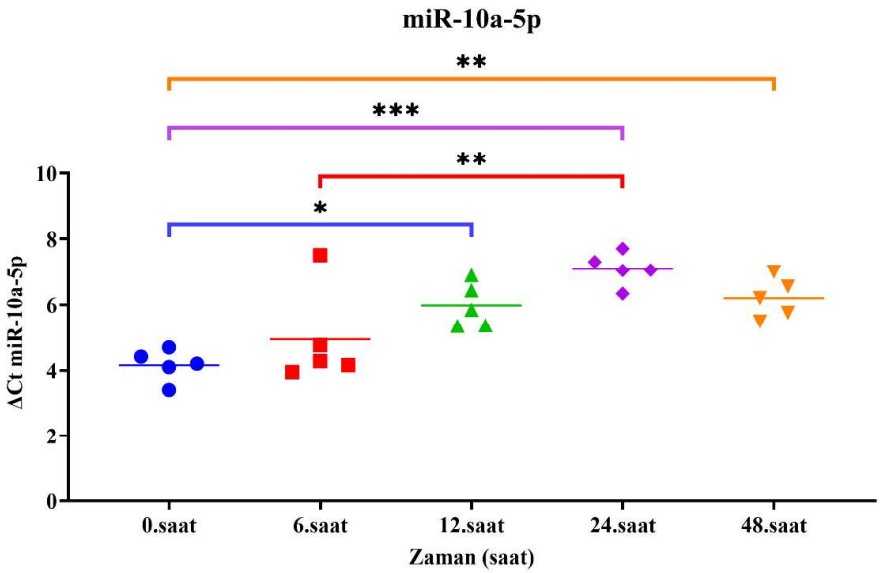
| miRNA | F(DFn, DFd) | p | $\eta^2$ |
|---|---|---|---|
| **miR-10a-5p** | F(4,20)= 9,346 | **0,0002** | 0,6515 |
| **miR-26a-5p** | F(4,20)= 76,82 | **<0,0001** | 0,9389 |
| **miR-30a-5p** | F(4,20)= 5,435 | **0,0040** | 0,5208 |
| **miR-126a-5p** | F(4,20)= 2,145 | 0,1127 | 0,3002 |
| **miR-143-3p** | F(4,20)= 20,73 | **<0,0001** | 0,8057 |

Tüm miRNA'nın ortalama ΔCt değerleri zaman noktalarına göre birlikte gösterilmiştir (Şekil 3.1).



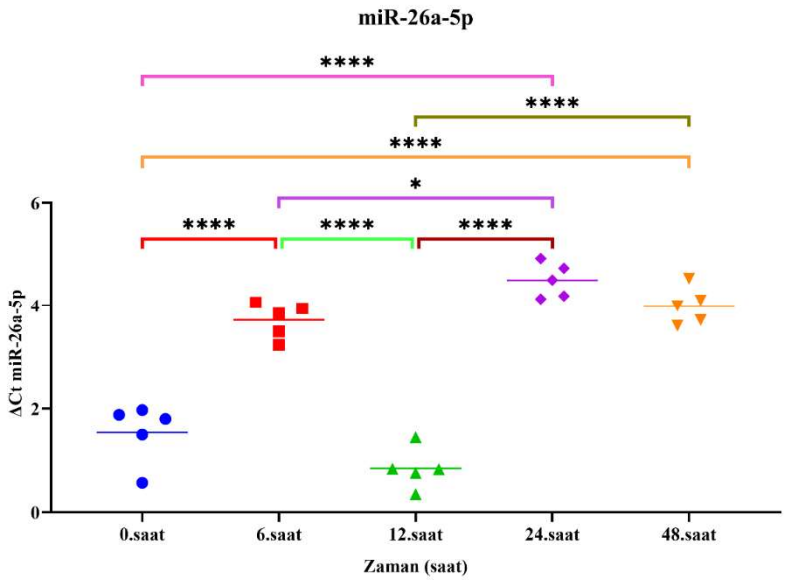

**Şekil 3. 1.** miRNA'ların ortalama ΔCt değerlerinin zamana bağlı değişim grafiği

**miR-10a-5p**'nin ortalama ΔCt değerlerinin zaman noktaları arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır (ANOVA, F(4,20)=9,346, p<0,001) ve etki büyüklüğü ($\eta^2$) 0,65 olarak hesaplanmıştır. Post-hoc analizlere göre , 0. saat ile 12. saat arasında (p<0,05), 0.saat ile 24.saat arasında (p<0,01) ve 6. saat ile 24. saat arasında (p<0,01) anlamlı düzeyde artış saptanmıştır. Ayrıca 0.saat ile 48.saat arasında (p<0,01) anlamlı farklılık tespit edilmiştir (Şekil 3.2) (Çizelge 3.4).



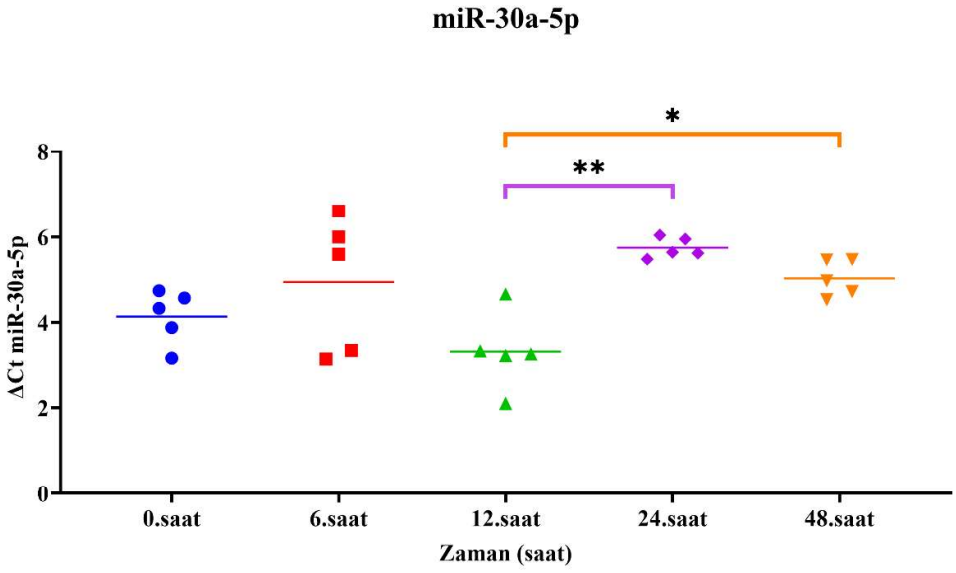

**Şekil 3. 2**. miR-10a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması

**miR-26a-5p**'nin ortalama ΔCt değerleri zaman noktaları arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır ve (ANOVA, F(4,20)=76,82 p<0,0001) ve etki büyüklüğü ($\eta^2$) 0,94 olarak hesaplanmıştır. Post-hoc analizlere göre, 0.saat ile 6.saat arasında (p<0,0001), 0.saat ile 24.saat arasında (p<0,0001), 0.saat ile 48.saat arasında (p<0,0001), 6.saat ile 24.saat arasında (p<0,05), 12.saat ile 24.saat arasında (p<0,0001) ve 12.saat ile 48.saat arasında (p<0,0001) ortalama ΔCt değerlerinde anlamlı artışlar; 6.saat ile 12.saat arasında (p<0,0001) ise ortalama ΔCt değerinde anlamlı azalış tespit edilmiştir (Şekil 3.3) (Çizelge 3.4).



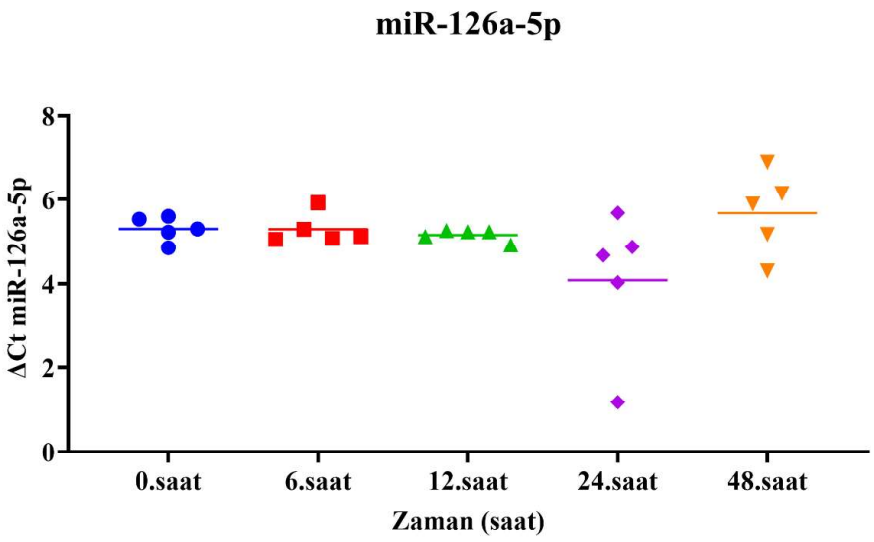

**Şekil 3. 3.** miR-26a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması

**miR-30a-5p**'nin ortalama ΔCt değerleri zaman noktaları arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır (ANOVA, $F(4,20)=5,435$ $p<0,01$) ve etki büyüklüğü ($\eta^2$) 0,52 olarak hesaplanmıştır. Post-hoc analizlere göre, 12.saat ile 24.saat arasında ($p<0,01$) ve 12.saat ile 48.saat arasında ($p<0,05$) ortalama ΔCt değerlerinde anlamlı artışlar tespit edilmiştir (Şekil 3.4) (Çizelge 3.4).



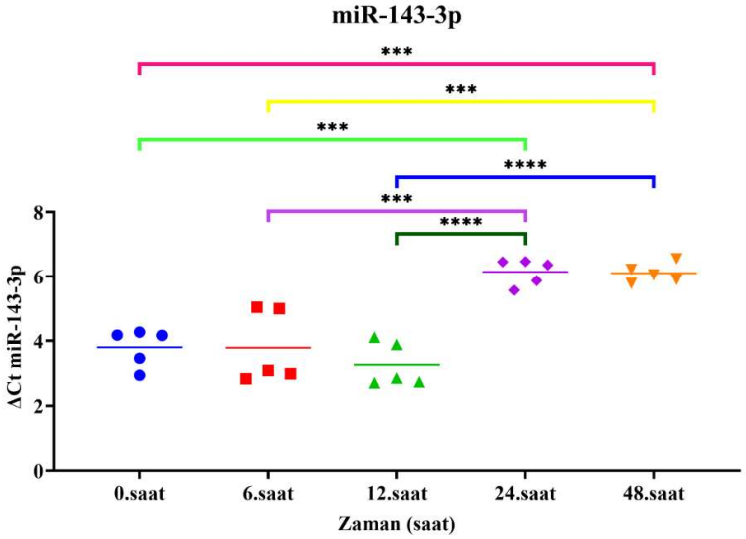

**Şekil 3. 4.** miR-30a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması

**miR-126a-5p**'nin etki büyüklüğü 0,30 olarak hesaplanmasına rağmen ortalama ΔCt değerleri zaman noktaları arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (ANOVA, $F(4,20)=2,145$ $p>0,05$). Post-hoc analizlere göre de saatler arasında ortalama ΔCt değerlerinde anlamlılık tespit edilmemiştir (Şekil 3.5) (Çizelge 3.4).




**Şekil 3. 5.** miR-126a-5p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması

**miR-143-3p**'nin ortalama ΔCt değerleri zaman noktaları arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır (ANOVA, $F(4,20)= 20,73$ $p>0,0001$) ve etki büyüklüğü ($\eta^2$) 0,81 olarak hesaplanmıştır. Post-hoc analizlere göre, 0.saat ile 24.saat arasında ($p<0,001$), 0.saat ile 48.saat arasında ($p<0,001$), 6.saat ile 24.saat arasında ($p<0,001$), 6.saat ile 48.saat arasında ($p<0,001$), 12.saat ile 24.saat arasında ($p<0,0001$) ve 12.saat ile 48.saat arasında ($p<0,0001$) ortalama ΔCt değerlerinde anlamlı artışlar tespit edilmiştir (Şekil 3.6) (Çizelge 3.4).




**Şekil 3. 6**. miR-143-3p'nın zaman grupları arasındaki ortalama ΔCt karşılaştırması

**Çizelge 3. 4.** miRNA'ların zamana bağlı değişiminde ortalama fark ve p değeri

| Zaman | miR-10a-5p | | miR-26a-5p | | miR-30a-5p | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ort. fark | p değeri | Ort. fark | p değeri | Ort. fark | p değeri |
| **0-6 saat** | -0,78 | 0,592 | -2,17 | **<0,0001** | -0,80 | 0,6196 |
| **0-12 saat** | -1,82 | **0,019** | 0,70 | 0,0933 | 0,82 | 0,6046 |
| **0-24 saat** | -2,93 | **0,0002** | -2,95 | **<0,0001** | -1,61 | 0,0667 |
| **0-48 saat** | -2,03 | **0,008** | -2,44 | **<0,0001** | -0,89 | 0,5256 |
| **6-12 saat** | -1,04 | 0,312 | 2,87 | **<0,0001** | 1,62 | 0,0635 |
| **6-24 saat** | -2,15 | **0,005** | -0,78 | **0,0492** | -0,80 | 0,6196 |
| **6-48 saat** | -1,26 | 0,160 | -0,27 | 0,8285 | -0,09 | 0,9999 |
| **12-24 saat** | -1,11 | 0,257 | -3,65 | **<0,0001** | -2,43 | **0,0029** |
| **12-48 saat** | -0,22 | 0,994 | -3,14 | **<0,0001** | -1,71 | **0,0462** |
| **24-48 saat** | 0,89 | 0,459 | 0,51 | 0,3253 | 0,72 | 0,7123 |

**Çizelge 3. 4. Devam** miRNA'ların zamana bağlı değişiminde ortalama fark ve p değeri

| Zaman | miR-126a-5p | | miR-143-3p | |
|---|---|---|---|---|
| | Ort. fark | p değeri | Ort. fark | p değeri |
| **0-6 saat** | 0,01 | >0,9999 | 0,01 | >0,9999 |
| **0-12 saat** | 0,15 | 0,9990 | 0,54 | 0,7196 |
| **0-24 saat** | 1,21 | 0,2600 | -2,34 | **0,0002** |
| **0-48 saat** | -0,38 | 0,9648 | -2,30 | **0,0003** |
| **6-12 saat** | 0,14 | 0,9992 | 0,53 | 0,7381 |
| **6-24 saat** | 1,20 | 0,2671 | -2,36 | **0,0002** |
| **6-48 saat** | -0,39 | 0,9613 | -2,31 | **0,0003** |
| **12-24 saat** | 1,07 | 0,3792 | -2,88 | **<0,0001** |
| **12-48 saat** | -0,52 | 0,8917 | -2,84 | **<0,0001** |
| **24-48 saat** | -1,59 | 0,0819 | 0,05 | >0,9999 |

**Çizelge 3. 5.** PMİ ile miRNA'ların ortalama ΔCt düzeyleri arasındaki Pearson Korelasyon Analizi sonuçları

| MiRNA | Pearson Korelasyon (r değeri) | p değeri | Anlamlılık |
|---|---|---|---|
| **miR-10a-5p** | 0,667 | <0,001 | **p < 0,01 |
| **miR-26a-5p** | 0,549 | 0,004 | **p < 0,01 |
| **miR-30a-5p** | 0,318 | 0,122 | p > 0,05 |
| **miR-126a-5p** | -0,045 | 0,830 | p > 0,05 |
| **miR-143-3p** | 0,643 | 0,001 | **p < 0,01 |

Postmortem interval ile seçilen miRNA'ların ortalama ΔCt düzeyleri arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacı ile Pearson Korelasyon Analizi yapılmıştır (Çizelge 3.5). Analizlerde kullanılan ΔCt değerlerinin, Ct(hedef)-Ct(referans) şeklinde hesaplandığı ve bu nedenle ΔCt artışının ekspresyon azalmasına, ΔCt düşüşünün ise ekspresyon artışına işaret ettiği dikkate alındığında, pozitif ve anlamlı korelasyonlar ifadede bir düşüş eğilimine karşılık gelmektedir. Analize göre miR-10a-5p'nin ortalama ΔCt değerleri zamanla anlamlı pozitif ve orta korelasyon (r=0,667 p<0,01), miR-26a-5p'nin ortalama ΔCt değerleri zamanla anlamlı pozitif ve orta korelasyon (r=0,549 p<0,01), miR-143-3p'nin ortalama ΔCt değerleri zamanla anlamlı pozitif ve orta korelasyon (r=0,643 p<0,01) göstermiştir. miR-30a-5p'nin ortalama

ΔCt değerleri zamanla pozitif ve zayıf korelasyon gösterse de anlamlılık saptanmamıştır (r=0,318 p>0,05). miR-126a-5p'nin ortalama ΔCt değerleri zamanla negatif ve zayıf korelasyon gösterse de anlamlılık saptanmamıştır (r=-0,045 p>0,05). Korelasyon katsayıları değerlendirilirken -1 ile +1 arasındaki değerler temel alınmış, $|r| \geq 0,70$ **güçlü**, $0,50 \leq |r| \leq 0,70$ **orta**, $0,30 \leq |r| < 0,50$ **zayıf** ilişki olarak yorumlanmıştır.

# 4. TARTIŞMA

Adli olaylarda, ölüm zamanının belirlenebilmesi ölüm sonrası süreçte en kritik noktalardan biridir. Pratikte kullanılan ölüm zamanı belirleme yöntemleri fiziksel değişimlerin gözlemlenmesi ile biyokimyasal değerlerin analizi üzerinedir (Lecheta ve Moura, 2019). Bu yöntemlerin çevresel koşullardan etkilenmesi ve tekrarlanabilir olmaması postmortem interval tayini için bir sınırlılıktır. Bu sınırlılıklar nedeni ile çevre koşullarından daha az etkilenen ve tekrarlanabilir yöntemlerin kullanılması önemli hale gelmiş ve moleküler biyolojideki gelişmeler ile moleküler değişkenler (DNA, RNA ve protein) PMİ araştırmalarına dahil edilmiştir (Pasaribu vd., 2023).

Moleküler biyolojide gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) gibi yeni ve kantitatif analizlerin gelişmesi ile mikroRNA'ların postmortem dönemde çeşitli dokularda ekspresyon analizleri hassas bir şekilde yapılmış ve PMİ tayininde potansiyeli araştırılmıştır.

Çalışmalar sonucunda, miRNA'ların nemli ortamlarda veya yüksek sıcaklık koşullarında, mRNA'lara göre daha yüksek stabiliteye sahip olması, degradasyon sırasında bir patern gösterebilmeleri ve bu paternin RT-qPCR gibi hassas yöntemlerle gözlemlenebilmesi nedeni ile miRNA'ları PMİ tayini için uygun bir biyobelirteç yapmaktadır. Ancak miRNA temelli yaklaşımların rutin uygulamalarda kullanabilmesi için çeşitli dokularda ve farklı postmortem koşullarda kapsamlı doğrulama çalışmaları yapılmalıdır. Bu bağlamda, çalışmada akciğer dokusunun tercih edilmiştir çünkü mevcut literatürde akciğer dokusunda PMİ tayinine yönelik moleküler çalışmalar sınırlıdır ve bu alandaki bilgi boşluğuna katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Akciğer dokusunun yüksek enzimatik aktiviteye sahip olması, yoğun kapiller ağ içeren yapısı ve oksijenle direkt temas halinde olması postmortem dönemde özellikle miRNA stabilitesini etkileyebilecek önemli faktörlerdir. Akciğer dokusunda bulunan RNazlar ve oksidatif stresle ilişkili enzimatik süreçler, ölüm sonrası dönemde miRNA degradasyonunu hızlandırabilmektedir. Bu durum, akciğer dokusunda miRNA ekspresyon paternlerinin diğer dokulara kıyasla daha hızlı ve belirgin değişimler göstermesine yol açarak PMİ değişimlerin değerlendirilmesi için duyarlı bir model sunabilir. Ancak bu özelliklerin otolizi hızlandırması postmortem sürenin uzaması ile dokuda ekspresyon seviyesi ölçümlerinin güvenilirliğini de etkileyecektir.

Akciğerde miRNA çalışmaları genellikle kanser araştırmaları ve akciğer hastalıkları üzerinedir. Postmortem interval tayininde akciğer dokusunda miRNA çalışmaları sınırlıdır. Akciğerde yapılan PMİ tayini araştırmaları incelendiğinde rat ve insan akciğer dokularında potansiyel biyobelirteçler araştırılmıştır. Dokular 3 farklı sıcaklık (10°, 20°, 30°C) ve 12 zaman noktasında (0-144 saat), RT-qPCR ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda PMI'yi tahmin etmek için akciğer dokularında seçilen referans biyobelirteçler miR-195, miR-200c, 5S, U6 ve RPS29 olarak belirlenmiştir (Lv vd., 2016).

RT-qPCR çalışmalarında normalizasyonu sağlamak için endojen kontrol seçimi kritiktir. Seçilen miRNA'nın ifade düzeyi endojen kontrol olarak kullanılan bir referans gen ile normalizasyon sağlanır. Lv vd. (2016) yaptıkları çalışma ile akciğer dokusunda referans biyobelirteçleri bildirmişlerdir. Saç tokası (hairpin) yapısı, nükleazlara karşı görece dirençli olması, ökaryotik çekirdeğe özgü olması ve miRNA çalışmalarında yaygın olarak kullanılması nedeni ile çalışmamamızda akciğer doku örneklerinde normalizasyon için endojen kontrol referans gen olarak snRNA U6 kullanılmıştır.

Ölümle beraber gelişen hipoksi, hücrelerde oksidatif stres oluşturarak özellikle hipoksiye duyarlı, apoptozu düzenleyen miRNA'ların farklı seviyelerde ifade edilmesine yol açar. Bu değişiklikler, postmortem sürecin ne kadar ilerlediğiyle ilişkilendirilebilir ve bu da PMİ tayinini etkileyebilir (Cianci vd., 2024). Hipoksiye bağlı olarak ifade düzeyleri değişen miRNA'lar, PMİ tayini açısından potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle çalışmamızda seçilen miRNA'lar (miR-10a-5p, miR-26-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p) akciğer dokusunda en çok ifade edilen ve hipoksi koşullarında çalışılmış miRNA'lardır.

Çalışmamızda servikal dislokasyon yöntemi ile sakrefiye edilen ve 24°C'de bekletilen ratların akciğer dokuları 0., 6., 12., 24.,ve 48.saatlerde otopsi ile alınmış ve belirlenen miRNA'ların (miR-10a-5p, miR-26-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p) RT-qPCR yöntemi ile kantitatif ifade seviyeleri ölçülmüştür. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri ortalama ΔCt değerleri ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgularımıza göre miR-10a-5p, postmortem geçen süre ile birlikte ortalama ΔCt değeri artan bir patern sergilemiş ve korelasyon analizinde, postmortem geçen süre ile ortalama ΔCt değerleri arasında pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. ΔCt değerlerinin artmasının hedef miRNA ekspresyonunda azalmaya karşılık gelmesi nedeniyle, bu bulgu miR-10a-5p ekspresyonunun zamanla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığını göstermektedir. Bununla

birlikte, 48. saatte gözlenen ekspresyon artışı, ileri postmortem evrede hipoksiye ek olarak doku bütünlüğün bozulması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Literatürde hipoksik kardiyomiyosit modelinde ve miyokard enfarktüsü oluşturulmuş farelerde yapılan çalışma sonucunda miR-10a-5p'nin ekspresyonunun hipoksi koşulları altında belirgin bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (Cao vd., 2021). Bu bulgu, çalışmamızda erken postmortem dönemde gözlenen ekspresyon azalması ile uyumludur. Sıçan karaciğer dokusunda yapılan bir çalışmada δ-opioid reseptör (DOR) aktivasyonunun mikroRNA ekspresyonu üzerine etkisi incelenmiş ve sıçanlar 1, 5 ve 10 gün boyunca hipoksik koşullara maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda 1 günlük hipoksinin miR-10a-5p'nin ekspresyonunu artırdığı ancak uzun süreli hipoksinin 5. ve 10.günlerde ekspresyon seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Zhi vd., 2017). Bu bulgular, miRNA ekspresyon düzeyinin hipoksi süresine bağlı değişkenlik gösterdiğine ek olarak dokuya özgü farklılıklarında göz önünde bulundurulması gerektiğini göstermektedir. miR-10a-5p'nin erken postmortem dönemde zamanla azalan ekspresyon dinamiği ile PMİ tayinine katkı sağlayabilecek yardımcı bir moleküler biyobelirteç potansiyeli taşıdığını göstermektedir.

miR-26a-5p, postmortem geçen süre ile birlikte düzenli bir ekspresyon paterni sergilememiş fakat postmortem saatler arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. 0.saat ile 6.saatte ortalama ΔCt artış gözlemlenirken 12.saatte belirgin bir azalma gerçekleşmiş, 24.saatte ise yeniden artmıştır. 48.saatte ortalama ΔCt seviyesinde tekrar azalma görülmüştür. Buna karşın korelasyon analizinde, postmortem geçen süre ile ortalama ΔCt değerleri arasında pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. ΔCt değerlerindeki artışın hedef miRNA ekspresyonunda azalmaya karşılık gelmesi dikkate alındığında, miR-26a-5p'nin genel olarak zaman ilerledikçe ekspresyonunda azalma eğilimi gösterdiği, ancak bu değişimin non-lineer bir dinamik sergilediği anlaşılmaktadır. Literatürde hipoksik koşullarda miyokard hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada da miR-26a- 5p'nin yüksek ekspresyon göstermiş ve apoptoz seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Wen vd., 2020). Kardiyomiyositlerde yapılan bir çalışmada hipoksi/reoksijenasyon (H/R) koşullarında miR-26a-5p'nin ifadesi önemli ölçüde azalmış ve miR-26a-5p'nin ifadesinin artması apoptozu önleyebileceği bildirilmiştir (Yan vd., 2021). Bu bulgular, miR-26a-5p'nin hipoksi ve ilişkili hücresel stres koşullarına duyarlı bir miRNA olduğunu göstermektedir. Çalışmamız sonucunda miR-26a-5p'nin postmortem süreç boyunca farklı zaman noktaları arasında istatistiksel olarak anlamlı ekspresyon değişkenliği sergilemiş ancak PMİ tayininde doğrudan bir biyobelirteç olarak değerlendirilemeyeceği düşünülmüştür.

miR-30a-5p, postmortem geçen süre ile birlikte düzenli bir ekspresyon paterni sergilememiş fakat postmortem saatler arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. Buna karşın

korelasyon analizinde, postmortem geçen süre ile miR-30a-5p'nin ortalama ΔCt değerleri arasında pozitif ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir ilişki saptanmıştır. ΔCt değerlerindeki artışın hedef miRNA ekspresyonunda azalmaya karşılık gelmesi dikkate alındığında, miR-30a-5p'nin genel olarak zaman ilerledikçe ekspresyonunda azalma eğilimi gösterdiği ama bunun anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Literatürde akciğer dokusunda gerçekleştirilen pulmoner hipertansiyon çalışmalarında, hipoksik koşullar altında miR-30a-5p ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Caruso vd., 2010). Buna karşın, H9c2 hücre hattında hipoksi/reoksijenasyon (H/R) modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda miR-30a-5p ekspresyonunun arttığı ve bu artışın apoptozu baskılayıcı etki gösterdiği rapor edilmiştir (Lv vd., 2021). Bu bulgular, miR-30a-5p'nin hipoksi ile ilişkili süreçlere duyarlı olabileceğini, ancak PMİ tayininde doğrudan bir biyobelirteç olarak değerlendirilemeyeceğini düşündürmektedir.

miR-126a-5p, postmortem geçen süre ile birlikte ortalama ΔCt değerleri zaman noktaları arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Korelasyon analizinde, postmortem geçen süre ile miR-126a-5p'nin ortalama ΔCt değerleri arasında negatif ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir ilişki saptanmıştır. Literatürde rat endotel hücrelerinde yapılan çalışmada miR-126a-5p'nin akciğerde baskın olarak ifade edildiği tespit edilmiştir (Liu vd., 2021). Yenidoğan pulmoner hipertansiyon çalışmasında hipoksiye bağlı rolü incelenmiş ve miR-126a-5p'nin ekspresyonun azaldığı görülmüştür ( Xu vd., 2017). Çalışmamız sonucunda zamana bağlı ekspresyon seviyesinde anlamlı farklılıklar olmaması ve anlamlı bir korelasyon göstermemesi miR-126a-5p'nin PMİ ile ilişkili olmadığını ve PMİ tayininde doğrudan bir biyobelirteç olarak kullanımı uygun olmadığını düşündürmektedir.

miR-143-3p, postmortem geçen süre ile birlikte ifadesi düzenli bir ekspresyon paterni sergilememiş fakat postmortem saatler arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir. Özellikle 24.saatte ortalama ΔCt değeri belirgin bir yükseliş göstermiş ve yüksek seviyelerde devam etmiştir. Korelasyon analizinde, postmortem geçen süre ile ortalama ΔCt değerleri arasında pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. ΔCt değerlerinin artmasının hedef miRNA ekspresyonunda azalmaya karşılık gelmesi nedeniyle, bu bulgu miR-143-3p ekspresyonunun 24.saatte birden azaldığını ve zamanla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığını göstermektedir. Literatürde MSC kaynaklı eksozomlar aracılığıyla H/R koşullarında miR-143-3p'nin ekspresyonunun artırılması CHK2-Beclin2 yolunu modüle ederek otofajiyi düzenlediği ve apoptozu azalttığı bildirilmiştir (Chen vd., 2021). Mikoplazmal pnömoni (MP) ile ilgili yapılan çalışmalarda ise miR-143-3p'nin artmasının TLR4/MyD88/NF-κB sinyal yolunu düzenleyerek alveolar epitel hücre apoptozunu azalttığı görülmüştür (Wang vd., 2020). Bu bulgular

değerlendirildiğinde miR-143-3p'nin akciğer dokusunda apoptozda rol aldığı ve hipoksi ile ilişkili olabileceği anlaşılmaktadır. Çalışmamızda özellikle 24.saatten sonra belirgin bir ayrışma göstermesi PMİ tayini açısından potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız çalışmanın bazı sınırlılıkları da göz önünde bulundurulmalıdır. Öncelikle çalışma hayvan modeli (rat) üzerinde yürütülmüş olup postmortem insan fizyolojisine genellenmesi sınırlıdır. İncelenen PMİ zaman noktaları sınırlı olmakla beraber zaman noktaları arasında uzun sürelerin olması değişimlerin ayrıntılı olarak ortaya konmasını güçleştirmektedir. Örneklem büyüklüğünün sınırlı olması, istatistiksel anlamlı farklara rağmen verilerin genellenebilirliğini kısıtlamaktadır. Çalışmada endojen kontrol olarak yalnızca snRNA U6 kullanılması normalizasyona ilişkin bir sınırlılık olarak değerlendirilebilir. Ayrıca miRNA ekspresyon düzeyleri RT-qPCR yöntemi ile ölçülmüş olup, postmortem RNA degradasyonu ve teknik kaynaklı varyasyonların tümüyle elimine edilmesi mümkün değildir. Çalışma 24°C'de ve steril bir ortamda gerçekleştirilmiş olup gerçek adli vakalarda karşılaşılan sıcaklık, nem, mikrobiyal aktivite ile yaş, cinsiyet ve ölüm nedeni gibi değişkenleri kapsamamaktadır; bu durum elde edilen bulguların saha koşullarına uyarlanabilirliğini sınırlamaktadır.

Çalışmamızda miR-10a-5p, miR-26-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p'nin akciğer dokusunda ekspresyon değişimleri incelenmiş ve bu miRNA'ların PMİ tayininde potansiyelleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, postmortem süreçte özellikle miR-10a-5p'nin gösterdiği azalan degradasyon paterni ile miR-143-3p'nin 24.saatte ifadesinin belirgin bir şekilde azalarak düşük düzeylerde seyretmesi, bu iki miRNA'nın diğer miRNA'lardan ayrıştıklarını göstermektedir. Akciğer dokusunda postmortem miRNA değişimlerini ve PMİ ile ilişkisini inceleyen çalışmaların literatürde sınırlı olduğu dikkate alındığında, bu çalışma hipoksi ile ilişkili seçilen miRNA'ların akciğer dokusunda PMİ tayininde biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğine işaret eden bir ön çalışma niteliği taşımaktadır.

# 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, farklı postmortem interval sürelerine sahip rat akciğer dokularında hipoksi ile ilişkili ve akciğerde yüksek ekspresyon seviyesine sahip miRNA'lar olan miR-10a-5p, miR-26a-5p, miR-30a-5p, miR-126a-5p ve miR-143-3p'nin ekspresyon değişimleri kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Normalizasyon için endojen kontrol olarak U6 snRNA kullanılmış ve miRNA'ların ekspresyon seviyeleri ile ölüm sonrası geçen süre ile olası ilişkileri analiz edilmiştir.

Yapılan analizler sonucunda, incelenen miRNA'ların bir kısmında postmortem süreye bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı ekspresyon değişimleri saptanmıştır. Özellikle akciğer dokusunda miR-10a-5p'nin ve miR143-3p'nin ekspresyon değişimlerinin postmortem interval ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir. Literatürde, akciğer dokusunda postmortem interval tayinine yönelik miRNA temelli çalışmaların sınırlı olması ve seçilen miRNA'ların daha önce bu amaçla değerlendirilmemiş olması göz önüne alındığında, bu çalışma PMİ tayininde akciğer dokusunda yapılmış özgün bir ön çalışma niteliğindedir.

Bununla birlikte, çalışmanın hayvan modeli üzerinde yürütülmüş olması, sınırlı zaman noktaları ve örneklem büyüklüğü, elde edilen bulguların genellenebilirliğini kısıtlamaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, insan dokularında gerçekleştirilecek analizler, daha sık ve düzenli PMİ zaman noktalarının dahil edilmesi ve örneklem sayısının artırılması miRNA ekspresyon değişimlerinin PMİ tayini ile olası ilişkilerin daha ayrıntılı bir şekilde ortaya konmasını sağlayacaktır. Ayrıca, normalizasyon için birden fazla endojen kontrol geninin birlikte değerlendirilmesi, miRNA ekspresyon verilerinin güvenilirliğini artırabilir. Son olarak, gerçek adli vakalarda karşılaşılan çevresel ve bireysel faktörleri dahil edebilmek için farklı çevresel koşulları ve bireysel farklılıkları içeren deney tasarımları önerilmektedir.

Tek bir biyobelirtecin ölüm zamanının tayininde her koşulda yeterli olmayabileceği dikkate alındığında, PMİ tayininde farklı biyobelirteçlerin ve çeşitli yöntemlerin birlikte değerlendirilmesi daha güvenilir sonuçlar sağlayabilir. Bu bağlamda, miRNA temelli moleküler yaklaşımların, geleneksel yöntemlerle birlikte uygulanması, postmortem sürecin daha doğru ve bütüncül biçimde değerlendirilmesine olanak sağlayabilir.

# KAYNAKLAR


Balasooriya, B. A. W., Hill, C. S., & Williams, A. R. (1984). The biochemical changes in pericardial fluid after death. An investigation of the relationship between the time since death and the rise or fall in electrolyte and enzyme concentrations and their possible usefulness in determining the time of death. *Forensic Science International*, *26*(2), 93-102.

Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *cell*, *116*(2), 281-297.

Barús, J. I. M., Suárez-Peñaranda, J. M., Otero, X. L., Rodríguez-Calvo, M. S., Costas, E., Miguéns, X., & Concheiro, L. (2002). Improved estimation of postmortem interval based on differential behaviour of vitreous potassium and hypoxantine in death by hanging. *Forensic science international*, *125*(1), 67-74.

Battistini, A., Capitanio, D., Bailo, P., Moriggi, M., Tambuzzi, S., Gelfi, C., & Piccinini, A. (2023). Proteomic analysis by mass spectrometry of postmortem muscle protein degradation for PMI estimation: A pilot study. *Forensic Science International*, *349*, 111774.

Bauer, M., Gramlich, I., Polzin, S., & Patzelt, D. (2003). Quantification of mRNA degradation as possible indicator of postmortem interval-a pilot study. *Legal medicine*, *5*(4), 220-227.

Bévalot, F., Cartiser, N., Bottinelli, C., Fanton, L., & Guitton, J. (2016). Vitreous humor analysis for the detection of xenobiotics in forensic toxicology: a review. *Forensic toxicology*, *34*(1), 12-40.

Brooks, J. W. (2016). Postmortem changes in animal carcasses and estimation of the postmortem interval. *Veterinary pathology*, *53*(5), 929-940.

Cao, X., Ma, Q., Wang, B., Qian, Q., Liu, N., Liu, T., & Dong, X. (2021). Silencing long non-coding RNA MIAT ameliorates myocardial dysfunction induced by myocardial infarction via MIAT/miR-10a-5p/EGR2 axis. *Aging (Albany NY)*, *13*(8), 11188.

Caruso, P., MacLean, M. R., Khanin, R., McClure, J., Soon, E., Southgate, M., MacDonald, R. A., Greig, J. A., Robertson, K. E., Masson, R., Denby, L., Dempsie, Y., Long, L., Morrell, N. W., & Baker, A. H. (2010). Dynamic changes in lung microrna profiles during the development of pulmonary hypertension due to chronic hypoxia and monocrotaline. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, *30*(4), 716-723. https://doi.org/doi:10.1161/ATVBAHA.109.202028

Ceylan, A.Z. (2020). *Adli önemi olan diptera türlerinin mtDNA COI gen analizi ile genetik teşhisi* [Yüksek lisans tezi]. Ankara Üniversitesi, Ankara.

Chandrasekaran, A. R., Punnoose, J. A., Zhou, L., Dey, P., Dey, B. K., & Halvorsen, K. (2019). DNA nanotechnology approaches for microRNA detection and diagnosis. *Nucleic acids research*, *47*(20), 10489-10505.

Chen, G., Wang, M., Ruan, Z., Zhu, L., & Tang, C. (2021). Mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-143-3p suppresses myocardial ischemia-reperfusion injury by regulating autophagy. *Life sciences*, *280*, 119742.

Chen, L., Heikkinen, L., Wang, C., Yang, Y., Sun, H., & Wong, G. (2019). Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Briefings in bioinformatics*, *20*(5), 1836-1852.

Cianci, V., Mondello, C., Sapienza, D., Guerrera, M. C., Cianci, A., Cracò, A., Luppino, F., Gioffrè, V., Gualniera, P., Asmundo, A., & Germanà, A. (2024). microRNAs as new biomolecular markers to estimate time since death: a systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(17), 9207. https://doi.org/10.3390/ijms25179207

De Simone, S., Giacani, E., Bosco, M. A., Vittorio, S., Ferrara, M., Bertozzi, G., Cipolloni, L., & Russa, R. L. (2022). The role of miRNAs as new molecular biomarkers for dating the age of wound production: a systematic review. Frontiers in Medicine, 8, 803067. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.803067

Dell'Aquila, M., De Matteis, A., Scatena, A., Costantino, A., Camporeale, M. C., & De Filippis, A. (2021). Estimation of the time of death: Where we are now. *Clin. Ter*, *172*, 109-112.

DiMaio, D., & DiMaio, V. J. (2001). *Forensic pathology*. CRC press.

Dokgöz, H. (Ed.). (2019). *Adli Tıp ve Adli Bilimler*. Akademisyen Kitabevi.

Donaldson, A. E., & Lamont, I. L. (2014). Estimation of post-mortem interval using biochemical markers. *Australian Journal of Forensic Sciences*, *46*(1), 8-26.

Emiral, E. (2016). *Postmortem interval tayininde hücre dışı serbest DNA ve HMGB-1'in rolü* [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Ankara Üniversitesi, Ankara

Emiral, E., Kilicaslan, D. Y., Hanci, I. H., & Satiroglu-Tufan, N. L. (2021). Role of cell free DNA and HMGB-1 in postmortem interval determination. *Romanian Journal of Legal Medicine*, *29*, 1-7.

Erkol,Z. (1994). Ölüm zamanı tayini. *Gaziantep Tıp Fakültesi Dergisi*., 5: 112-122.

Fujihara, J., Takinami, Y., Kawai, Y., Kimura-Kataoka, K., & Takeshita, H. (2021). Comparison of serum cell-free DNA between postmortem and living samples. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, *519*, 255-259. https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.05.013

Ga, B. (1977). An examination of the time of death based on the rectal temperature data, the biochemical indices of the blood and the pericardial fluid. *Sud Med Ekspert (Moscow)*, *20*(1), 34-43.

Gao, F., Liu, P., Narayanan, J., Yang, M., Fish, B. L., Liu, Y., Liang, M., Jacobs, E. R., & Medhora, M. (2017). Changes in miRNA in the lung and whole blood after whole thorax irradiation in rats. *Scientific reports*, *7*, 44132. https://doi.org/10.1038/srep44132

Green, R. L., Roinestad, I. C., Boland, C., & Hennessy, L. K. (2005). Developmental validation of the Quantifiler™ real-time PCR kits for the quantification of human nuclear DNA samples. *Journal of forensic sciences*, *50*(4), JFS2004478-17.

Hansen, J., Lesnikova, I., Funder, A. M., &Banner, J. (2014). DNA and RNA analysis of blood and muscle from bodies with variable postmortem intervals. *Forensic Sci Med Pathol*, *10*(3), 322-328. https://doi.org/10.1007/s12024-014-9567-2

Hanson, E. K., Lubenow, H., & Ballantyne, J. (2009). Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. *Analytical biochemistry*, *387*(2), 303-314.

Hanssen, E. N., Liland, K. H., Gill, P., & Snipen, L. (2018). Optimizing body fluid recognition from microbial taxonomic profiles. *Forensic Science International: Genetics*, *37*, 13-20.

Henssge, C. (1988). Death time estimation in case work. I. The rectal temperature time of death nomogram. *Forensic science international*, *38*(3-4), 209-236.

Henssge, C., & Madea, B. (2004). Estimation of the time since death in the early post-mortem period. *Forensic science international*, *144*(2-3), 167-175.

Hu, L., Xing, Y., Jiang, P., Gan, L., Zhao, F., Peng, W., Li, W., Tong, Y., & Deng, S. (2021). Predicting the postmortem interval using human intestinal microbiome data and random forest algorithm. *Science & justice : journal of the Forensic Science Society*, *61*(5), 516-527. https://doi.org/10.1016/j.scijus.2021.06.006

Ibrahim, S. F., Ali, M. M., Basyouni, H., Rashed, L. A., Amer, E. A., & Abd El-Kareem, D. (2019). Histological and miRNAs postmortem changes in incisional wound. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, *9*(1), 37.

Inoue, H., Kimura, A., & Tuji, T. (2002). Degradation profile of mRNA in a dead rat body: basic semi-quantification study. *Forensic science international*, *130*(2-3), 127-132.

Itani, M., Yamamoto, Y., Doi, Y., & Miyaishi, S. (2011). Quantitative analysis of DNA degradation in the dead body. *Acta Med Okayama*, *65*(5), 299-306.

Jiang, Z., You, M., Wang, X., Lu, D., Zhang, H., Di, S., Zhang, F., Guo, Z., E, X., Chang, L., Xiang, J., Bai, R., & Yang, T. (2016). Estimation of the postmortem ınterval by measuring blood oxidation-reduction potential values. *Journal of Forensic Science and Medicine, 2*(1). https://doi.org/10.4103/2349-5014.155727

Jung, H. J., & Suh, Y. (2014). Circulating miRNAs in ageing and ageing-related diseases. *Journal of Genetics and Genomics*, *41*(9), 465-472.

Koç, S., Can, M. (2011). *Birinci Basamakta Adli Tıp.* İstanbul Tabip Odası Yayınları.

Koç, S., Kolusayın, Ö. (2011). *Adli Tıp Ders Kitabı.* İstanbul Üniversitesi Yayınları.

Kozomara, A., Birgaoanu, M., & Griffiths-Jones, S. (2019). miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic acids research*, *47*(D1), D155-D162.

Kumar, S., & Verma, A. K. (2016). Estimation of postmortem interval using the data of insulin level in the cadaver' s blood. *Data in brief*, *7*, 354.

Lecheta, M. C., & Moura, M. O. (2019). Estimating the age of forensically useful blowfly, Sarconesia chlorogaster (Diptera: Calliphoridae), using larval length and weight. *Journal of medical entomology*, *56*(4), 915-920.

Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambros, V. (1993). The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *cell*, *75*(5), 843-854.

Li, W. C., Ma, K. J., Zhang, P., Wang, H. J., Shen, Y. W., Zhou, Y. Q., Zhao, Z. Q., Ma, D., & Chen, L. (2010). Estimation of postmortem interval using microRNA and 18S rRNA degradation in rat cardiac muscle. *Fa Yi Xue Za Zhi,* 26(6), 413-417.

Li, Y., Wang, Z., Ishmael, D., & Lvy, Y. (2023). The potential of using non-coding RNAs in forensic science applications. *Forensic sciences research*, *8*(2), 98-106.

Li, Z., Chen, D., Wang, Q., Tian, H., Tan, M., Peng, D., Tan, Y., Zhu, J., Liang, W., & Zhang, L. (2021). mRNA and microRNA stability validation of blood samples under different environmental conditions. *Forensic science international. Genetics*, *55*, 102567. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102567

Liu, J., Zhou, F., Guan, Y., Meng, F., Zhao, Z., Su, Q., Bao, W., Wang, X., Zhao, J., Huo, Z., Zhang, L., Zhou, S., Chen, Y., & Wang, X. (2022). The biogenesis of miRNAs and their role in the development of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cells*, *11*(3), 572. https://doi.org/10.3390/cells11030572

Liu, J., Zhou, F., Guan, Y., Meng, F., Zhao, Z., Su, Q., Bao, W., Wang, X., Zhao, J., Huo, Z., Zhang, L., Zhou, S., Chen, Y., & Wang, X. (2022). The Biogenesis of miRNAs and Their Role in the Development of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cells*, *11*(3), 572. https://doi.org/10.3390/cells11030572).

Liu, P., Hu, L., Shi, Y., Liu, Y., Yu, G., Zhou, Y., An, Q., & Zhu, W. (2021). Changes in the small RNA expression in endothelial cells in response to inflammatory stimulation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2021*(1), 8845520.

Lo, Y. M., Tein, M. S., Lau, T. K., Haines, C. J., Leung, T. N., Poon, P. M., Wainscoat, J. S., Johnson, P. J., Chang, A. M., & Hjelm, N. M. (1998). Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. American journal of human genetics, 62(4), 768-775. https://doi.org/10.1086/301800

Lutz, H., Vangelatos, A., Gottel, N., Osculati, A., Visona, S., Finley, S. J., Gilbert, J. A., & Javan, G. T. (2020). Effects of extended postmortem interval on microbial communities in organs of the human cadaver. *Frontiers in microbiology*, *11*, 569630.

Lv, X. B., Niu, Q. H., Zhang, M., Feng, L., & Feng, J. (2021). Critical functions of microRNA-30a-5p-E2F3 in cardiomyocyte apoptosis induced by hypoxia/reoxygenation. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, *37*(2), 92-100.

Lv, Y. H., Ma, J. L., Pan, H., Zhang, H., Li, W. C., Xue, A. M., Wang, H. J., Ma, K. J., & Chen, L. (2016). RNA degradation as described by a mathematical model for postmortem interval determination. *Journal of forensic and legal medicine*, *44*, 43-52. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2016.08.015

Lv, Y. H., Ma, K. J., Zhang, H., He, M., Zhang, P., Shen, Y. W., Jiang, N., Ma, D., & Chen, L. (2014). A time course study demonstrating mRNA, microRNA, 18S rRNA, and U6 snRNA changes to estimate PMI in deceased rat's spleen. *Journal of forensic sciences*, *59*(5), 1286-1294. https://doi.org/10.1111/1556-4029.12447

Ma, C., Xu, Q., Huang, S., Song, J., Sun, M., Zhang, J., Bai, Y., Zhao, X., Wang, Z., & Li, P. (2023). The HIF-1α/miR-26a-5p/PFKFB3/ULK1/2 axis regulates vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension by modulation of autophagy. *The FASEB Journal*, *37*(5), e22906.

Machado C. (2010). Diagnosis of brain death. *Neurology international*, *2*(1), e2. https://doi.org/10.4081/ni.2010.e2

Madea, B. (2016). Methods for determining time of death. *Forensic science, medicine, and pathology*, *12*(4), 451-485.

Madea, B. (Ed.). (2023). *Estimation of the time since death*. CRC press.

Madea, B., Kreuser, C., & Banaschak, S. (2001). Postmortem biochemical examination of synovial fluid—a preliminary study. *Forensic science international*, *118*(1), 29-35.

Maiese, A., Scatena, A., Costantino, A., Di Paolo, M., La Russa, R., Turillazzi, E., Frati, P., & Fineschi, V. (2021). MicroRNAs as useful tools to estimate time since death. a systematic review of current literature. *Diagnostics,* 11(1), 64. https://doi.org/10.3390/diagnostics11010064

Mandel, P. (1948). Les acides nucleiques du plasma sanguin chez 1 homme. *CR Seances Soc Biol Fil*, *142*, 241-243.

Mansour, H., Krebs, O., Pinnschmidt, H. O., Griem, N., Hammann-Ehrt, I., & Püschel, K. (2019). Factors affecting dental DNA in various real post-mortem conditions. *International journal of legal medicine*, *133*(6), 1751-1759.

Metcalf, J. L. (2019). Estimating the postmortem interval using microbes: Knowledge gaps and a path to technology adoption. *Forensic Science International: Genetics*, *38*, 211-218.

Michlewski, G., & Cáceres, J. F. (2019). Post-transcriptional control of miRNA biogenesis. *Rna*, *25*(1), 1-16.

Moitas, B., Caldas, I. M., & Sampaio-Maia, B. (2024). Microbiology and postmortem interval: a systematic review. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, *20*(2), 696-715.

Montanari, E., Giorgetti, R., Busardò, F. P., Giorgetti, A., Tagliabracci, A., & Alessandrini, F. (2021). Suitability of miRNA assessment in postmortem interval estimation. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *25*(4), 1774-1787.

Nagy, B. (2019). Cell-Free Nucleic Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(22), 5645. https://doi.org/10.3390/ijms20225645

Neri, M., Fabbri, M., D'Errico, S., Di Paolo, M., Frati, P., Gaudio, R. M., La Russa, R., Maiese, A., Marti, M., Pinchi, E., Turillazzi, E., & Fineschi, V. (2019). Regulation of miRNAs as new tool for cutaneous vitality lesions demonstration in ligature marks in deaths by hanging. *Scientific reports*, *9*(1), 20011. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56682-7

Niranjan, S., & Mishra, S. (2015). estimation of time since death with changes in potassium level in pericardial fluid. *Indian Journal of Applied Research, 5 (12).*

Pan, H., Zhang, H., Lü, Y. H., Ma, J. L., Ma, K. J., & Chen, L. (2014). Correlation between five RNA markers of rat's skin and PMI at different temperatures. *Fa Yi Xue Za Zhi*, *30*(4), 245-249.

Pandey, A., Gupta, C. K., Singh, R. R., &Yadav, P. K. (2023). Evaluation of Cells in Cerebro Spinal Fluid for Postmortem Interval. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, *13*(3), 295-300.

Pasaribu, R. S., Auerkari, E. I., Suhartono, A. W., &Auerkari, P. (2023). A small RNA, microRNA as a potential biomolecular marker to estimate post mortem interval in forensic science: a systematic review. *International Journal of Legal Medicine*, *137*(5), 1313-1325.

Pasquinelli, A. E., Reinhart, B. J., Slack, F., Martindale, M. Q., Kuroda, M. I., Maller, B., Hayward, D. C., Ball, E. E., Degnan, B., Müller, P., Spring, J., Srinivasan, A., Fishman, M., Finnerty, J., Corbo, J., Levine, M., Leahy, P., Davidson, E., & Ruvkun, G. (2000). Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature*, *408*(6808), 86-89. https://doi.org/10.1038/35040556

Pérez-Martínez, C., Pérez-Cárceles, M. D., Legaz, I., Prieto-Bonete, G., & Luna, A. (2017). Quantification of nitrogenous bases, DNA and Collagen type I for the estimation of the postmortem interval in bone remains. *Forensic science international*, *281*, 106-112.

Peyron, P. A., Hirtz, C., Baccino, E., Ginestet, N., Tiers, L., Martinez, A. Y., Lehmann, S., & Delaby, C. (2021). Tau protein in cerebrospinal fluid: a novel biomarker of the time of death?. *International journal of legal medicine*, *135*(5), 2081-2089. https://doi.org/10.1007/s00414-021-02558-3

Peyron, P. A., Lehmann, S., Delaby, C., Baccino, E., & Hirtz, C. (2019). Biochemical markers of time since death in cerebrospinal fluid: a first step towards “Forensomics”. *Critical reviews in clinical laborator*

Pittner, S., Monticelli, F. C., Pfisterer, A., Zissler, A., Sänger, A. M., Stoiber, W., & Steinbacher, P. (2016). Postmortem degradation of skeletal muscle proteins: a novel approach to determine the time since death. *International Journal of Legal Medicine*, *130*(2), 421-431.

Polat, O. (2006). Klinik Adli Tıp Adli Tıp uygulamaları. Ankara: Seçkin Yayıncılık

Polat, O. (2022). Kriminoloji ve kriminalistik üzerine notlar (Güncellenmiş 5. Baskı): Ankara. Seçkin Yayınevi.

Querido, D. (1990). Linearization of the relationship between postmortem plasma chloride concentration and postmortem interval in rats. *Forensic science international*, *45*(1-2), 117-128.

Querido, D. (1991). In vitro loss of potassium from erythrocytes during the 0-108 h postmortem period in rats: relationship between potassium loss and postmortem interval. Forensic science international, 51(1), 111-123.

Rai, M., Thakur, A., Yadav, J., & Tiwari, G. (2023). Factors influencing the decomposition of human dead bodies in tropical climate: An all-weather cross-sectional study. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research, 13*(7), 291-296.

Rana, M. (2020). Forensic entomology: A review on use of insects for investigation. *Entomol. Ornithol. Herpetol*, *9*(3), 1-4.

Rocchi, A., Chiti, E., Maiese, A., Turillazzi, E., & Spinetti, I. (2020). MicroRNAs: an update of applications in forensic science. *Diagnostics*, *11*(1), 32.

Rognum, T. O., Hauge, S., Øyasaeter, S., & Saugstad, O. D. (1991). A new biochemical method for estimation of postmortem time. *Forensic science international*, *51*(1), 139-146.

Sabucedo, A. J., & Furton, K. G. (2003). Estimation of postmortem interval using the protein marker cardiac Troponin I. *Forensic science international*, *134*(1), 11-16.

Saliminejad, K., Khorram Khorshid, H. R., Soleymani Fard, S., & Ghaffari, S. H. (2019). An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of cellular physiology*, *234*(5), 5451-5465.

Salvi, S., Gurioli, G., De Giorgi, U., Conteduca, V., Tedaldi, G., Calistri, D., & Casadio, V. (2016). Cell-free DNA as a diagnostic marker for cancer: current insights. *Oncotargets and therapy*, 6549-6559.

Sampaio-Silva, F., Magalhães, T., Carvalho, F., Dinis-Oliveira, R. J., & Silvestre, R. (2013). Profiling of RNA degradation for estimation of post morterm interval. *PloS one*, *8*(2), e56507.

Schroeter T. (2023) Clinical death: a reversible state of cardiac arrest. *J Clin Med Sci.* 7:227.

Scieuzo, C., Rinaldi, R., De Stefano, F., Di Fazio, A., & Falabella, P. (2025). The contribution of molecular biology to forensic entomology. *Insects*, *16*(7), 694. https://doi.org/10.3390/insects16070694

Scrivano, S., Sanavio, M., Tozzo, P., & Caenazzo, L. (2019). Analysis of RNA in the estimation of post-mortem interval: a review of current evidence. *International journal of legal medicine*, *133*(6), 1629-1640. https://doi.org/10.1007/s00414-019-02125-x

Secco, L., Palumbi, S., Padalino, P., Grosso, E., Perilli, M., Casonato, M., Cecchetto, G., & Viel, G. (2025). "Omics" and postmortem ınterval estimation: a systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(3), 1034. https://doi.org/10.3390/ijms26031034

Silva, S. S., Lopes, C., Teixeira, A. L., Carneiro de Sousa, M. J., & Medeiros, R. (2015). Forensic miRNA: potential biomarker for body fluids?. *Forensic science international. Genetics*, *14*, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.09.002

Singh, D., Prashad, R., Sharma, S. K., & Pandey, A. N. (2006). Estimation of postmortem interval from human pericardial fluid electrolytes concentrations in Chandigarh zone of India: log transformed linear regression model. *Legal medicine*, *8*(5), 279-287.

Singh, J., Kumar, A., Trivedi, S., & Pandey, S. K. (2025). Advancements in estimating post-mortem interval in medico-legal practice: A comprehensive review. *Legal Medicine*, 102627.

Sinha, M., Lalwani, S., Mir, R., Sharma, S., Dogra, T. D., & Singh, T. P. (2012). A preliminary molecular study on protein profile of vital organs: a new direction for post mortem ınterval determination. *Journal of Indian Academy of Forensic Medicine*, *34*(4), 292-294.

Spagnolo, E. V., Stassi, C., Mondello, C., Zerbo, S., Milone, L., & Argo, A. (2019). Forensic microbiology applications: a systematic review. *Legal medicine*, *36*, 73-80.

Srettabunjong, S., Thongphap, W., & Chittamma, A. (2020). Urea, uric acid, and creatinine in postmortem blood, vitreous humor, and synovial fluid: a comparative and correlation study. *Journal of Forensic Sciences*, *65*(1), 128-133.

Strete, G., Sălcudean, A., Cozma, A.-A., & Radu, C.-C. (2025). Current understanding and future research direction for estimating the postmortem ınterval: a systematic review. *Diagnostics*, *15*(15), 1954. https://doi.org/10.3390/diagnostics15151954

Suo, L., Cheng, J., Yuan, H., Jiang, Z., Tash, D., Wang, L., Cheng, H., Zhang, Z., Zhang, F., Zhang, M., Cao, Z., Zhao, R., & Guan, D. (2023). miR-26a/30d/152 are reliable reference genes for miRNA quantification in skin wound age estimation. *Forensic sciences research*, *8*(3), 230-240. https://doi.org/10.1093/fsr/owad037

Sutton, L., Gallagher, T., & Russo, H. (2024). A medicolegal approach to postmortem interval estimation. In *Methodological and Technological Advances in Death Investigations* (pp. 155-187). Academic Press.

Swain, R., Kumar, A., Sahoo, J., Lakshmy, R., Gupta, S. K., Bhardwaj, D. N., & Pandey, R. M. (2015). Estimation of post-mortem interval: A comparison between cerebrospinal fluid and vitreous humour chemistry. *Journal of forensic and legal medicine, 36*, 144-148. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2015.09.017

Şahinoğlu Güneş T. (2020). *İnsan diş pulpasında görülen postmortem histolojik değişikliklerin postmortem intervalin tespiti açısından değerlendirilmesi* [Uzmanlık Tezi]. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.

Şenbaş, Z.A. (2023). *Ölüm zamanı tahmininde iskelet kasında mRNA analizi* [Uzmanlık Tezi]. İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

Tozzo, P., Scrivano, S., Sanavio, M., & Caenazzo, L. (2020). The role of DNA degradation in the estimation of post-mortem interval: a systematic review of the current literature. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(10), 3540.

Tumram, N. K., Bardale, R. V., & Dongre, A. P. (2011). Postmortem analysis of synovial fluid and vitreous humour for determination of death interval: A comparative study. *Forensic science international*, *204*(1-3), 186-190.

Usumoto, Y., Hikiji, W., Sameshima, N., Kudo, K., Tsuji, A., & Ikeda, N. (2010). Estimation of postmortem interval based on the spectrophotometric analysis of postmortem lividity. *Legal medicine (Tokyo, Japan)*, *12*(1), 19-22. https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2009.09.008

Van Den Berge, M., Wiskerke, D., Gerretsen, R. R. R., Tabak, J., & Sijen, T. (2016). DNA and RNA profiling of excavated human remains with varying postmortem intervals. *International journal of legal medicine*, *130*(6), 1471-1480.

Vanlıoğlu, N.F. (2025). *Postmortem interval tayininde rat kalp dokularından miRNA ekspresyonlarının analizi* [Uzmanlık Tezi]. Gazi Üniversitesi, Ankara.

Vieira, R. B., Vicentin-Junior, C. A., Damascena, N. P., Silva, M. C., Araujo, A. P. D., da Trindade, R. Q., Vieira, M. G. D. M., Cunha, E., Deitos, A. R., Santiago, B. M., Martins-Filho, P. R., & Machado, C. E. P. (2024). Biochemical analysis of vitreous humor and synovial fluid in the estimation of early

postmortem interval: A meta-analytical approach. *Journal of forensic and legal medicine*, *108*, 102782. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2024.102782

Wang, Y., Li, H., Shi, Y., Wang, S., Xu, Y., Li, H., & Liu, D. (2020). miR-143-3p impacts on pulmonary inflammatory factors and cell apoptosis in mice with mycoplasmal pneumonia by regulating TLR4/MyD88/NF-κB pathway. *Bioscience reports*, *40*(7), BSR20193419. https://doi.org/10.1042/BSR20193419

Weatherall, I. L., & Coombs, B. D. (1992). Skin color measurements in terms of CIELAB color space values. *The Journal of investigative dermatology*, *99*(4), 468-473. https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12616156

Wen, X., Yin, Y., Li, X., He, T., Wang, P., Song, M., & Gao, J. (2020). Effect of miR-26a-5p targeting ADAM17 gene on apoptosis, inflammatory factors and oxidative stress response of myocardial cells in hypoxic model. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *52*(2), 83-92.

Xing, X., Guo, S., Zhang, G., Liu, Y., Bi, S., Wang, X., & Lu, Q. (2020). miR-26a-5p protects against myocardial ischemia/reperfusion injury by regulating the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *53*(2), e9106.

Xu, Y. P., He, Q., Shen, Z., Shu, X. L., Wang, C. H., Zhu, J. J., Shi, L. P., & Du, L. Z. (2017). MiR-126a-5p is involved in the hypoxia-induced endothelial-to-mesenchymal transition of neonatal pulmonary hypertension. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*, *40*(6), 552-561. https://doi.org/10.1038/hr.2017.2

Yan, G., Wang, J., Fang, Z., Yan, S., & Zhang, Y. (2021). MiR-26a-5p targets WNT5A to protect cardiomyocytes from injury due to hypoxia/reoxygenation through the Wnt/β-catenin signaling pathway. *International heart journal*, *62*(5), 1145-1152.

Yavuz Kılıçaslan, D. (2023) *Postmortem interval tayininde kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile Hücre dışı Serbest DNA ve miRNA analizi* [Doktora Tezi]. Ankara Üniversitesi, Ankara.

Yavuz-Kilicaslan, D., Emiral, E., & Satiroglu-Tufan, N. L. (2025). Cell free DNA and MiRNA analysis by quantitative Real-Time polymerase chain reaction in postmortem interval determination. *International Journal of Legal Medicine*, 1-9.

Zhang, Y., Pechal, J. L., Schmidt, C. J., Jordan, H. R., Wang, W. W., Benbow, M. E., Sze, S. H., & Tarone, A. M. (2019). Machine learning performance in a microbial molecular autopsy context: A cross-sectional postmortem human population study. *PloS one*, *14*(4), e0213829. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213829

Zhi, F., Shao, N., Xue, L., Xu, Y., Kang, X., Yang, Y., & Xia, Y. (2018). Characteristic microRNA expression induced by δ-opioid receptor activation in the rat liver under prolonged hypoxia. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *44*(6), 2296-2309.

Zilg, B., Bernard, S., Alkass, K., Berg, S., & Druid, H. (2015). A new model for the estimation of time of death from vitreous potassium levels corrected for age and temperature. *Forensic science international*, *254*, 158-166.

# EKLER

## Ek.1 Etik Kurul Kararı

T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI**

**TOPLANTI TARİHİ** : 25/12/2024
**TOPLANTI NO** : 2024-20
**DOSYA NO** : 2024-142
**KARAR NO** : 2024-20-173

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Tıp Fakültesi Adli Tıp Ana Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN'ın yaptığı, araştırıcı olarak Şüheda KOCABIYIK'ın katıldığı, "Postmortem İnterval Tayininde Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Akciğer Dokusunda miRNA Analizi" başlıklı çalışma Üniversite senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi" nin 7 (h) maddesi kapsamında değerlendirilmiş ve çalışmanın Etik Kurul iznine tabi olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Geçerlilik Süresi : 25/12/2024-25/12/2025

| ETİK KURUL ÜYELERİ | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Unvanı / Adı / Soyadı | Uzmanlık Dalı | Kurumu | Cinsiyeti | İmza |
| Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan) | Viroloji Anabilim Dalı | Veteriner Fakültesi | E | |
| Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili) | Farmakoloji Anabilim Dalı | Eczacılık Fakültesi | E | |
| Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye) | Zooloji Anabilim Dalı | Fen Fakültesi | E | |
| Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye) | Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü | Ziraat Fakültesi | K | |
| Prof. Dr. Halit KANCA (Üye) | Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı | Veteriner Fakültesi | E | |

Adres: Ankara Üniversitesi Rektörlüğü 06100 - Tandoğan / ANKARA Tel: 0 (312) 212 60 40 / 2183

## Ek.2 Etik Kurul Kararı Devam

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Prof. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye) | Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı | Tıp Fakültesi | K | |
| Doç. Dr. Neşe Nuray TOPRAK (Üye) | Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı | Ziraat Fakültesi | K | |
| Doç. Dr. Nigar YERLİKAYA TOPSAKAL (Üye) | Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı | Veteriner Fakültesi | K | |
| Doç. Dr. Yusuf OLĞAR (Üye) | Biyofizik Anabilim Dalı | Tıp Fakültesi | E | |
| Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye) | Active Veteriner Sağlık Merkezi | Serbest | E | |
| Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye) | Veteriner Hekimler Derneği | Serbest | E | |
| Uzm. Vet. Hek. Attila İŞGÖREN (Üye) | Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı | Tıp Fakültesi | E | |
| Fatma Aysun COŞKUN (Üye) | İktisat | Serbest | K | |