

# ADLİ TIP UYGULAMALARINDA YARA YAŞI VE CANLILIK BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

→ Işıl Paki<sup>1</sup> → Evrim Akça Kaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı  
<sup>2</sup> Adli Tıp Kurumu

## ÖZET

Yaraların değerlendirilmesi Adli tıp pratiğinin en önemli uygulama alanlarından biridir. Adli tıp uygulamalarında otopsi sırasında saptanan bir yaranın ölümden

değerlendirmeleri adli tıp alanındaki araştırmaların en ilgi çeken konularındandır. Yara iyileşmesi basit ancak iyi organize olmuş biyolojik bir süreçtir. İnflamasyon, proliferasyon ve maturasyon olmak üzere birbirini

ve canlılık soruları üzerinde çalışmak için temel olarak immünohistokimyasal yöntemler, biyokimyasal yöntemler ve moleküler biyolojik teknikler kullanılmaktadır.

*Yaranın özelliklerini doğru ve objektif bir şekilde tanımlamak, yara canlılığını ve yaşını saptayabilmek adli sürecin doğru işleyebilmesi için gereklidir. Bu nedenlerle canlılık ve yara yaşı değerlendirmeleri adli tıp alanındaki araştırmaların en ilgi çeken konularındandır.*

önce mi, yoksa ölümden sonra mı meydana geldiğini (canlılık) ve ölümden önce ise, ölümden ne kadar önce meydana gelmiş olduğunu (yara yaşı) tespit etmek son derece önemlidir. Yaranın özelliklerini doğru ve objektif bir şekilde tanımlamak, yara canlılığını ve yaşını saptayabilmek adli sürecin doğru işleyebilmesi için gereklidir. Bu nedenlerle canlılık ve yara yaşı

takip eden üç süreçten oluşur. Çok sayıda biyolojik madde yara iyileşme sürecinde rol almaktadır; bu kısa ve basit yara iyileşme süreci adli tıpta yara yaşı ve yara canlılığının saptanmasında kullanılabilir.

Son yıllarda immünohistokimyanın ve kimyasal tekniklerin gelişmesiyle bu alan hızla ilerlemiştir. Günümüzde yara yaşı

Çalışmada yara yaşı ve canlılık değerlendirmesinin adli tıp uygulamalarındaki yeri, yara yaşı ve canlılık belirlenmesinde kullanılan yöntemler, bu alandaki gelişmeler ve uygulamadaki sorunlar tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Yara iyileşmesi, canlılık, postmortem interval, immünohistokimya, adli patoloji.

# EVALUATION OF VITALITY AND WOUND AGE IN FORENSIC MEDICINE PRACTICE

## ABSTRACT

Wound examination is the most important application areas in the practice of forensic medicine. It can be an important matter in

reasons wound age determination has been one of the most popular themes in forensic research. Wound healing is a primitive but well orchestrated biological phenomena consisting of three sequential phases, inflammation,

during recent years. Nowadays, immunohistochemistry, biochemical tests and molecular biological techniques are mainly used studying questions of vitality and wound age. In this study, evaluation of the value of wound

*It is essential to define characteristics of the wounds, and it is always necessary to determine wound vitality or wound age to correctly evaluate the progress of the judicial process. Because of these reasons wound age determination has been one of the most popular themes in forensic research.*

forensic medical investigations to determine whether a wound found at autopsy was inflicted before or after death and, if inflicted ante-mortem, how long before death it was sustained. It is essential to define characteristics of the wounds, and it is always necessary to determine wound vitality or wound age to correctly evaluate the progress of the judicial process. Because of these

proliferation, and maturation. Many biological substances are involved in the process of wound repair, and this short and simplified overview of wound healing can be adopted to determine wound vitality or wound age in forensic medicine. With the development of immunohistochemistry and chemical analyses, the scientific field of wound age determination has advanced progressively

vitality wound age in forensic medicine practice, the methods used to determine wound vitality and wound age, developments in this field and the issues of forensic practice were discussed.

**Keywords:** wound healing, vitality, postmortem interval, immunohistochemistry, forensic pathology.

## GİRİŞ

Yara incelemesi adli tıp uygulamaları için vazgeçilmez bir konudur. Yara yaşının belirlenmesi ve yaraların postmortem-antemortem ayrımı adli tıp uygulamalarında önemli inceleme alanlarıdır. Yara yaşının tayini bir taraftan işlenmiş bir suçu kanıtlamakta faydalı olurken, bir taraftan da asılsız olarak suçlanan kişilerin aklanmasında rol oynamaktadır (1-3).

Yara yaşının tayini olayın orjininin belirlenmesinde de büyük destek sağlar. Özellikle cinayetlere intihar süsü verilmeye çalışılan durumlarda yara yaşının tayini çok önemlidir. Böyle zamanlarda kişinin vücudunda farklı zamanlarda meydana gelmiş yaraların tespit edilmesi büyük yarar sağlayacaktır (3).

Bir yaranın ölümden önce mi sonra mı oluştuğunun (canlılık) belirlenmesi otopsi pratiğinde sıkça karşımıza çıkan bir sorudur. Bu ayrımın yapılamadığı veya değerlendirmenin yanlış yapıldığı olgularda olayın yönlendirilmesi de yanlış yapılabığından, hatalı ve istenmeyen sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (3).

Yara yaşı ve canlılık belirlenmesi ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, yeni tekniklerin belirlenmesi ve pratik yöntemlerin uygulanabilmesi için halen çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Günümüzde immunohistokimyasal, biyokimyasal ve moleküler biyolojik

yöntemler yara yaşının ve canlılığın belirlenmesinde kullanılan ana yöntemlerdir (1).

Çalışmada amaç, yara yaşı ve canlılık değerlendirmesinin adli tıp uygulamalarındaki yerinin, yara yaşı ve canlılık belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin, bu alandaki gelişmelerin ve uygulamadaki sorunların tartışılmasıdır.

### Yara Tanımı

Yara, en basit anlatımla mekanik bir kuvvet uygulanması sonucu vücudun herhangi bir bölümünde oluşan hasar olarak tanımlanabileceği gibi, farklı özellik ve derecedeki fiziksel veya kimyasal bir etkenin vücutta oluşturduğu hasar olarak da tanımlanabilir (3-6).

Yara incelemesi adli tıp pratiğinin en önemli ve vazgeçilmez konularındandır, adli tıp uygulamalarına dair deneyim gerektirir (5,7).

### Yara Yaşı ve Canlılık Tespitinin Adli Tıp Boyutu

Yara yaşının belirlenmesi adli tıp uygulamalarında önemli bir yere sahiptir (8). Yara yaşı tayini suçla ilişkili durumların kanıtlanmasında kullanılabilir. Buna örnek olarak araç çarpan ya da aracın üzerinden geçtiği olgular gösterilebilir. Burada olayın ölümden önce mi, sonra mı olduğunun belirlenmesi son derece önemlidir.

Elbette canlı bir kişiye çarpıp

ölümüne veya yaralanmasına yol açmakla, karayolunda ölü veya yaralı biçimde yatan bir kişiye çarpmak veya araçla üzerinden geçmek çok farklı durumlardır (1-3).

Yara yaşının tayini orjin belirlenmesinde de değerlidir. İntihar cinayet ayrımında kişideki yaraların zamanının belirlenmesi yol göstericidir (3).

Yine bazı yaralanma olaylarında yeni lezyonlarla beraber önceden başka nedenlerle medyana gelmiş lezyonlar bulunabilir ve tümünün aynı olayda meydana geldiği iddia edilebilir. Burada da lezyonların meydana geliş zamanı ve tüm lezyonların aynı zamanda medyana gelip gelmediğinin anlaşılması son derece önemlidir (3).

Bir yaranın ölümden önce mi sonra mı oluştuğunun (canlılık) ayırt edilmesi adli tıp uygulamasında sorunlar yaşanan alanlardır. Bu değerlendirmede yapılan hatalar adalet sistemini yanlış yönlendirebilir. Örneğin kaza ile suda boğulan bir kişide suda sürüklenme esnasında zemine, kayalara veya çeşitli cisimlere çarpma sonucu ölüm sonrası oluşan bulguların yanlış değerlendirilmesi durumunda, kişinin başka şekilde travmaya uğradıktan veya öldürüldükten sonra suya atıldığı söylenebilecektir (3).

Bu konuda daha pek çok örnek akla gelebilir. Cesedin taşınması, hareket ettirilmesi, otopsi sırasında ve sonrasında

yapılan işlemlere bağlı olarak oluşan abrazyonların antemortem postmortem ayrımının yapılması, sedyeden düşürülmüş olan cesetteki travma bulgusunun antemortem olmadığını gösterebilmek, göçük altında kalmış ve yaşama olasılığı olan bir kişinin, göçükten kepçeyle çıkartılması sırasında oluşan öldürücü yaraların antemortem – postmortem ayrımını yapabilmek bu örneklerden birkaçıdır (4,6,8-10).

### Tarihçe

Walcher ve Orsos, bilimsel kanıt olmaksızın, pratikteki tecrübelerine dayanarak yara yaşını ve canlılığı tespit etmenin adli tıp pratiğinde vazgeçilmez olduğundan ilk bahsedenlerdir (2). 1965’de Raekallio problemi bilimsel olarak çözmeyi deneyen ilk araştırmacı olmuştur (2). Raekallio (11) yeni bir metod olan enzim histokimyasal teknik uygulamasını ortaya koyarak, yara bölgesindeki çeşitli enzim aktivitelerini araştırmış ve yara yaşı tayini için bazı yeni veriler sunmuştur. Birkaç yıl sonra Berg ve ark.(12,13) biyokimyasal metodu geliştirmiş ve yara kenarlarındaki histamin ve serotonin seviyelerini canlılığın bir kanıtı olarak değerlendirmişlerdir. Daha sonra, immunohistokimyanın gelişmesiyle, immunohistokimyasal yöntemlerin uygulanması, yara yaşı araştırmalarında yeni bir alan açmıştır (2). Bundan sonra yara yaşı tayini adli tıp araştırmalarının en popüler konularından biri haline gelmiştir. Temel immünolojik prensiplere

dair bilgi ve immünohistokimyasal yöntemler özellikle Almanya, İspanya ve Japonya’da kullanılmıştır. Özellikle büyüme faktörleri, sitokinler, ekstrasellüler matriks ve benzerleri parametreler yoğun bir şekilde araştırılmış ve bu çalışmalar yara yaşı ve canlılık tespitinde kayda değer bir ilerleme ile sonuçlanmıştır (2,5,7,14-24). Çalışmaların çoğu cilt yaralarına yoğunlaşmıştır. Diğer bir araştırma alanı da intrakranial yaralanmalarındaki yaş tayini (örneğin mekanik bir etkiyle oluşmuş olan kortikal hemoraji) olmuştur (2,5).

### Yara Yaşı ve Canlılığın Değerlendirilmesi

Modern teknikler kullanıma girmeden önce yalnızca makroskopik olarak yaranın çıplak gözle tetkik edilmesine dayanan, yara rengindeki değişimler ve kabuklanması gibi kriterler baz alınarak yaş tayini yapılmıştır. Ancak bir yaranın yaşının, görünümüne dayanarak kesin olarak belirlenmesi mümkün değildir. Çünkü iltihabi reaksiyonların şiddeti ve niteliği çok çeşitli koşullara göre değişkenlik göstermektedir. Yaranın tipi, boyutları, lokalizasyonu, dokunun özelliği, damarlanması, enfeksiyon gelişip gelişmemesi, kişinin yaşı, beslenme ve sağlık durumu bunlardan bazılarıdır (3).

Ancak bütün değişkenler bir yana bırakılıp ortalama bulgular söylenecek olursa, yaklaşık 12 saat sonra yara kenarları kırmızımsı renkli ve şiş olarak

görülmemekte, küçük bir yarada yaklaşık 24 saat sonra kabuk oluşmaktadır (3).

Berelerde ilk etki ile beraber kanın doku içine sızması sonrası oluşan renk koyu kırmızıdır. Zamanla bu sızıntı içindeki hemoglobinin kimyasal değişimleri ile hemoglobin içeriğindeki hemosiderin, biliverdin ve bilirubin etkisi ile önce mor-kahverengi, daha sonra yeşil-kahverengi ve yeşil-sarı renk değişimleri göstererek kaybolur. Vücutta birden fazla bere bulunduğu durumlarda berelerin farklı renk aşamalarında olması farklı zamanlarda oluştuğunu düşündürmekle birlikte, bazen eş zamanlı oluşan yaralar farklı renklerde görülebilir (4,6,9). Berenin derinliği ve cildin pigmentasyonu rengin ortaya çıkışını ve değerlendirilmesini etkileyebilir (10).

Günümüzde immunohistokimyasal, biyokimyasal testler ve moleküler biyolojik teknikler yara yaşının ve canlılığın belirlenmesinde kullanılan ana yöntemlerdir. Bu araştırmalarda insan doku örnekleri (otopsiden ya da canlıdan alınan örnekler) veya hayvandan alınan örnekler kullanılmaktadır. Farklı yöntemlerin avantaj ve dezavantajları tanımlanmıştır. Bu araştırmalarda vazgeçilmez yöntem, kontrol gruplarının kullanılması ve istatistiksel analiz için yeterli sayıda vakanın olmasıdır. Otopside saptanan yaraların ölümden önce mi sonra mı olduğun belirlenmesi ve ölümden önce oluşmuş yaraların ne kadar süre önce oluştuğunun belirlen-

mesi önemlidir. Ne yazık ki biyolojik süreçlerdeki değişkenlikler nedeniyle kesin yara yaşı zamanı belirlenememektedir. Bu konuda yapılmış çok sayıda hayvan deneyi bulunmaktadır. Ancak hayvanların daha küçük oluşları ve yara iyileşme süreçlerini daha hızlı oluşu nedeniyle insandaki yara iyileşme sürecinden farklı sonuçlar elde edilmektedir. Bu değişkenlikler yaranın boyutu, yaranın tipi ve yaranın oluştuğu dokudan (epidermal veya mezodermal) da etkilenmektedir (1, 4).

Mekanik doku hasarına bağlı görülen histolojik bulguları anlayabilmek için iltihabi sürecin gelişimine ve doku tamirine dair belirli bir temel bilgiye sahip olmak zorunludur (25).

### İltihabi Süreç

Yara iyileşmesi süreci akut iltihabi yanıtın farklı basamaklarını kapsar. İltihap hem hücre zedelenmesini ortaya çıkaran nedeni ortadan kaldırmak, hem de hücresel zedelenme sonucu oluşan nekrotik hücreler ve dokuları ortamdaki uzaklaştırmak için gerekli bir koruyucu yanıtıdır. Bu nedenle iltihap onarım süreciyle iç içe girmiştir. İltihabi yanıt zedelenmeye neden olan etkeni dilüe eder seyreltir, ortadan kaldırır veya izole ederken, zedelenen dokunun yeniden yapılanması ve iyileşmesi için de bir dizi olayı başlatır. Onarım sürecinde zedelenmiş doku, rejenerasyon alan yerli parankimal dokularla yer değiştirir ya da defekt fibroblastik nedbe dokusu

ile doldurulur. Genellikle bu iki olay birlikte görülür (8,26).

Yara, temel olarak, oluşumunu takiben iltihabi, proliferatif ve maturasyon aşamalarından geçer. Bu dönemlerin kendisine ait spesifik makroskobik ve mikroskobik özelliklerinin yanı sıra bir takım biyolojik ve biyokimyasal özellikleri bulunur. Araştırmacılar tüm bu özelliklerden faydalanarak adli tıbbi en önemli sorulardan birisi olan yara yaşını tespit etmeye ve rutin olarak kullanılabilecek bir parametre saptamaya çalışmaktadır (4-6,27,28).

İltihap iki ana formda görülür. Akut iltihap nispeten kısa sürelidir. Birkaç dakika ile birkaç gün içinde sonlanır. Plazma sıvı ve protein eksüdasyonu, belirgin polimorf nüveli lökosit birikimi ile karakterizedir. Kronik iltihap daha uzun sürelidir ve karakteristik histolojik bulgusu lenfosit ve makrofaj toplanması yanı sıra doku yıkım ve onarımıdır. Bu onarım vasküler proliferasyon ve fibrozisle birlikte (8,26). (Şekil 1)

Yara yaşının ve canlılığın tespiti yara iyileşmesi sürecinde sırayla ortaya çıkan farklı mediatörlerin ve hücrelerin değişik yöntemlerle saptanması esasına dayanır.

Yarada oluşan histolojik değişimlerin kronolojik olarak değerlendirilmesi:

· 30 dakika- 4 saat arasında; polimorf nüveli lökositlerin (PNL)

küçük çaplı damarlardan migrasyonu.

· 4-12 saat; PNL infiltrasyonu, daha az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu, ödem, damar endotelinde şişme, küçük yaralarda epidermal bazal tabakada rejenerasyon.

· 12-24 saat; PNL azalması, makrofaj ve mononükleer hücre sayısında artış, nekroze dokuların uzaklaştırıl-maya başlaması, fibroblastlarda mitoz.

· 24-72 saat; lökosit infiltrasyonunda belirgin artış ve eş zamanlı fibroblastların doku iyileşmesine katkısı, yeni kapiller oluşumu.

· 3-6 gün; yabancı cisim veya nekroze dokuların çevresinde dev hücreler, kollajen yapımı başlangıcı (eğer yara yüzeysel iyileşme ve yaranın kapanması oldukça aktiftir).

· 10-15 gün; küçük yaralarda hücresel reaksiyon azalır, hücre sayısı, özellikle lökositler ve vaskülarite azalır. Fibroblastlar hala aktiftir.

· İki hafta-aylar; yara genişliği ve diğer faktörlere bağlı olarak, yara iyileşmeye devam eder. Yara enfekte ol-madığı sürece inflamatuvar yanıt söz konusu değildir. Kollajen ve elastin artışı bulunur, nispeten daha avasküler ve yoğun bir alan gelişir. Yara çok geniş ya da düzensiz olmadıkça dermal papillalar ve epitel yeniden şekillenir (4,6).

Berelerde görülen histolojik bulgular abrazyon veya laserasyonunda görülen histolojik bulgulara daha az belirgindir. En faydalı tanı yöntemi yaralanmadan 2 gün sonra pozitifleşen hemosiderinin saptanmasıdır. Bazı yazarlar bu reaksiyonun en erken 12 saatte de görülebileceğini vurgulamışlardır (1,6). Berelerde yara yaşı tespitine yönelik farklı yöntemler içeren çalışmalar yapılmıştır (29-32).

### Mikroskobik Yöntemler

Bu konudaki çalışmalar rutin histopatolojik değerlendirme, flouresans çalışmaları, biyokimyasal, histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemleri içermektedir (4).

A) Parafine gömülü doku örneklerinden hazırlanan hemotoksilen-eosin boyalı preparatlardan rutin histolojik inceleme ile hücre tiplerinin ve doku elemanlarının kaba ayrımı yapılır. Göç eden granülositler (PNL), makrofajlar ve fibroblastlar sıklıkla ve kolaylıkla görülebilir. Bağ dokusu hemosiderin yüklü makrofajlar gibi elemanlar özel boyama yöntemleriyle ayırt edilebilir (elastikavangieson (E.V.G), Prusyan mavisini) (1,2,4,5).

B) Enzim histokimyasal yöntemlerle dokulardaki fibroblast enzimleri saptanabilir (esteraz, asit fosfat, ATPase). Bunlar ileri saatlere ulaşmış travmayı saptamada kullanılabilir. Ancak bu testlerin güvenilirliği düşüktür. Günümüzde de geniş bir

kullanım alanı bulunmamaktadır (1,33).

C) İmmünohistokimyasal incelemeler canlılık ve yara yaşı değerlendirilmesinde günümüzde sıklıkla tercih edilen yöntemlerdir. Bu yöntemler özel doku elemanlarının belirlenmesine yardımcı eder. İmmünolojik reaksiyonun temeli dokudaki antijene karşı antikor cevabıdır. Sellaer süperfisiyal ya da matriks ilişkili antijenlere karşı kullanılan çok sayıda antikor bulunmaktadır. Antikorlar monoklonal ya da poliklonal olabilir. İlk aşamada antikorun formalin fikse ve parafine gömülü dokularda veya frozen materyalde kullanılıp kullanamayacağı kontrol edilmiş olmalıdır. İkinci basamakta antikorlar uygun dilüsyonda olmalıdır. Diğer bir aşama, antijen-antikor reaksiyonunun ortaya çıkarılmasında hangi sistemin kullanılacağına karar vermektir. Pratikte en sık kullanılan yöntemler ABC, APA-AP ve LSAB'dir. Yara iyileşmesinin farklı aşamalarında görülen belirteçler tablo 1'de görülmektedir. Bu belirteçlerden birçoğu travmayı takip eden günlerde saptanmaktadır. Sitokin ve adezyon molekülleri ise travmayı takip eden dakika ve saatlerde immünohistokimyasal olarak saptanabilmektedir (1, 34).

### Kollajenler

Kollajenler temel ekstrasellüler komponentlerdir (ekstrasellüler matriksin 3 komponenti bulunur; kollajenler, adeziv glikoproteinler (fibronektin, laminin,

trombospondin) ve proteoglikanlar). Bazı kollajen tipleri (Tip I, III ve V) birbirini çaprazlayan triple heliksler şeklinde fibriller yapılar oluştururlar. Diğer kollajenler örneğin Tip 4 fibriller olmayan özelliktedir ve bazal membranın komponentidir (26). Yara iyileşmesinin proliferatif fazı süresince yaradaki nekrotik dokunun yerini almak için, özellikle kollajen alt tiplerine ait çeşitli proteinlerin sentezi artar. Betz ve ark (8,35) yara yaşı tespitine yönelik çeşitli kollajenler üzerinde bir dizi immünohistokimyasal çalışmalar yapmışlardır. Çalışmalarında kollajen III yaralanmadan 2-3 gün sonra, kollajen V ve VI 3 günden eski lezyonlarda, kollajen I yaralanmadan 5 gün sonra tespit edilmiştir. Bazal membran kollajen IV ve VII ve bazal membran komponentleri laminin, HSPG en erken yaralanmadan sonra 4 günde, epidermal bazal membranın tamamen yeniden yapılması yaralanmadan 8 gün sonra görülmektedir (1,2,8). (Tablo 1)

**Tablo 1.** Yarayı ileşmes sürecinde belirteçlerin immünohistokimyasal olarak tespit edilme süreleri (insan cilt yaralarında) (1)

| ANTİJEN/BELİRTEÇ                   | EN ERKEN REAKSİYON | ORTALAMA REAKSİYON | UZAMIŞ REAKSİYON |
|------------------------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| TGF- 1                             | birkaç dk.         | 30-60 dak          |                  |
| TGF-                               | 10 dk              | 30-60 dak          |                  |
| Fibronektin                        | 10-20 dk           | >4 h               | Aylar            |
| IL-1                               | 15 dk              | 30-60 dak          |                  |
| IL-6                               | 20 dk              | 60-60 dak          |                  |
| TNF-                               | 15 dk              | 60-60 dak          |                  |
| ICAM-1                             | 50 dk              | >2 s               |                  |
| VCAM-1                             | 30 dk              | >1.5 s             |                  |
| E-selectin                         | 30 dk              | >1-1.5 s           |                  |
| L-selectin                         | 30 dk              | >1.5 s             |                  |
| Tenaskin                           | 2-3 gün            | 5 günden sonra     | Aylar            |
| Kollagen III                       | 2-3 gün            | 6 günden sonra     | Aylar            |
| Kollagen V                         | 3 gün              | 6 günden 7 güne    | Aylar            |
| Kollagen VI                        | 3 gün              | 6 günden 7 güne    | Aylar            |
| Kollagen I                         | 4-6 gün            | 7 günden sonra     | Aylar            |
| Miyofibroblastlar                  |                    |                    |                  |
| Laminin                            | 1.5 gün            |                    | Aylar            |
| HSPG                               | 1.5 gün            |                    | Aylar            |
| Kollagen IV                        | 4 gün              |                    | Aylar            |
| SMC-actin                          | 5 gün              |                    | Aylar            |
| Makrofaj Göstergeleri              |                    |                    |                  |
| RM 3/1                             | 7 gün              |                    | Aylar            |
| 25 F 9                             | 11 gün             |                    | Aylar            |
| G 16/1                             | 12 gün             |                    | Aylar            |
| Epitelyal bazal membran            |                    |                    |                  |
| Fragmanlar (Lm, HSPG, K IV, K VII) | 4 gün              | 13 günden sonra    | 21 gün           |
| Onarımın tamamlanması              | 8 gün              | 21 günden sonra    |                  |
| Keratin 5                          |                    |                    |                  |
| Bazal tabakanın tamamen boyanması  | 13 gün             | 23 günden sonra    |                  |

**Tablo 2.** Yara yaşı ve adezyon molekülleri (21)

| BELİRTEÇLER | EN ERKEN | EN GEÇ  |
|-------------|----------|---------|
| P-selectin  | 3 dak    | 7 saat  |
| E-selectin  | 1 saat   | 17 gün  |
| ICAM-1      | 1.5 saat | 3.5 gün |
| VCAM-1      | 3 saat   | 3.5 gün |

### Fibronektin

Fibronektin, kanda ve çok çeşitli dokularda bulunan çok fonksiyonlu bir adezivglikoproteindir. Ekstrasellüler matriksin komponentlerindendir. Fibroblastlar, monositler, endotel hücreleri gibi değişik tipte hücrelerde sentezlenir. Ekstrasellüler matriks komponentlerine (örneğin kollajen, fibrin, heparin, proteoglikanlar) geniş bir spektrumla bağlanan spesifik maddeler içerir. Fibronektin gibi adeziv matriks proteinleri hücrelerin göçünü, yayılımını (fibroblast, keratinosit, endotelial hücre) ve birbirine bağlanmasını doğrudan yönlendirir (26). Yapılan çalışmalarda, canlılık periyodu birkaç dakikadan fazla sürmüş yaralarda, canlılık tespitinde fibronektinin bir belirteç olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur. Böyle yaralarda immünopozitif reaksiyon veriş, yara yaşı tespitinde en hassas belirteç olarak varsayılmasını destekleyen bir kanıt olarak görülmüştür (7, 8). Ancak Grellner, domuz cildinde postmor-

tem oluşturulmuş yaralarda da postmortem fibronektin pozitif reaksiyonun canlı iken oluşmuş yaralara benzer şekilde görülebildiğini ileri sürmüştür (7). Balazic ve ark.'nın (36) ateşli silahla intihar olguları üzerinde yaptığı bir çalışmada ise fibronektinin kısa canlılık süresine sahip yaralarda (birkaç dakika), henüz PNL infiltrasyonu oluşmamışken, yara yaşı ve canlılığının tespitinde güvenilir bir belirteç olduğunu ileri sürmüştür. Çelik ve ark.(37) erken dönem miyokard infarktının saptanmasında immünohistokimyasal yöntemlerin kullanılması ile ilgili çalışmalarında fibronektini önemli bir belirteç olarak göstermiştir.

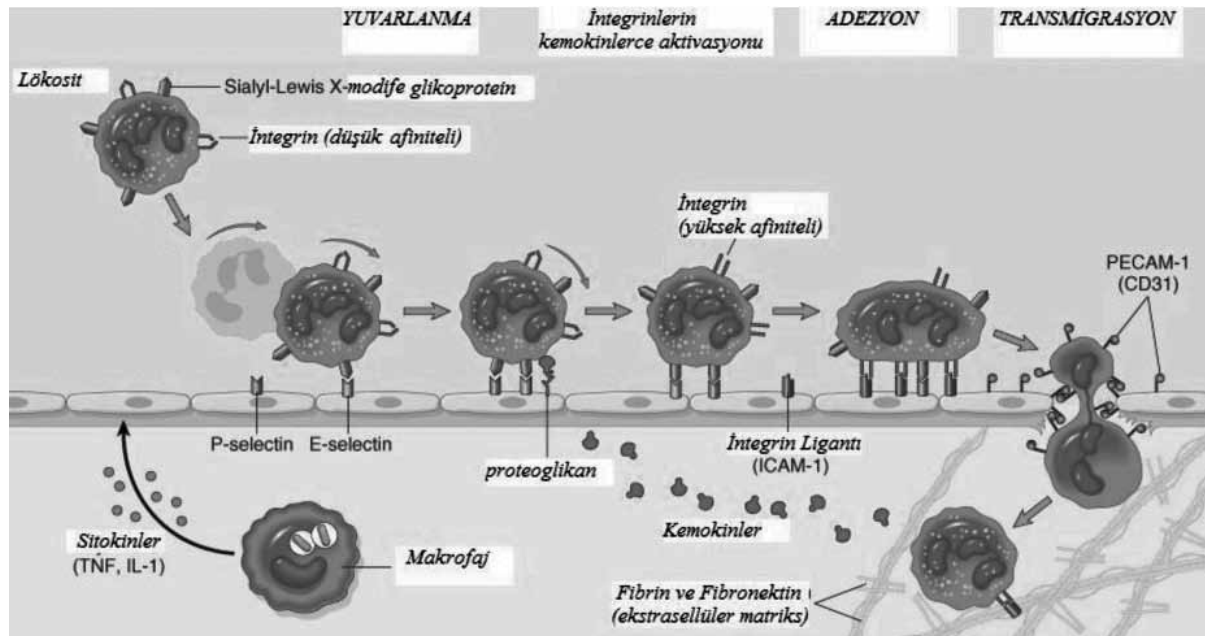
### Adezyon Molekülleri

İltihabi fazda lökositlerin vasküler lümenenden ekstrasvasküler boşluğa çıkışında meydana gelen olayların sırası; 1) migrasyon ve yuvarlanma, 2) adezyon ve endotelial hücreler arasında transmigrasyon, 3) interstisyel doku içinde kemo-

taktik bir uyarıyı izleyerek migrasyon şeklindedir (8,26). Lökositlerin migrasyonunda, lökosit ve endotelial hücreler arasındaki etkileşim en önemli olaydır. Bu etkileşim adezyon molekülleri tarafından düzenlenir (5,7,8,26). Endotelial adezyon molekülleri arasında bulunan ICAM-1 (intersellüler adezyon molekülü 1) ve VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü 1) çeşitli sitokinlerle uyarılma sonucunda artmış yüzey dışı vuru mu gösterirler (8,26). Dre ler ve ark. (38-42) bu adezyon moleküllerinin yara yaşı tespitinde duyarlı belirteçler olduğunu ortaya koymuşlardır (Tablo 2). Çalışmaları hem otopsi materyallerinden alınan örnekleri, hem cerrahi eksizyon materyalinden alınan örnekleri, hem de farelerde oluşturulan yaraları kapsamaktadır. Güçlü immünohistokimyasal reaksiyonlar fare cildindeki yaralarda, insan cildindeki yaralardan daha erken görülmüştür (38). (Şekil 2)



Şekil 1. Yara İyileşmesi Şeması (7)



Şekil 2. Endotelial lökosit adezyon molekülleri (26)

## İnflamatuar Sitokinler

Sitokinler aktive olmuş lenfositler ve makrofajlar başta olmak üzere birçok hücreden sentezlenen ve diğer hücrelerin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan polipeptit yapısında maddelerdir (8,26). Kendi ürettikleri hücreleri ve yakın çevredeki diğer hücreleri etkileyebildikleri gibi, sistematik etkileri de vardır. Endotel, lökositler ve

fibroblastlar üzerine lokal etkileri bulunmaktadır (26). İnterlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör (TNF- ) başta olmak üzere pek çok sitokin hakkında, yara yaşı tespitine yönelik, farklı gruplarca çalış-

malar yapılmıştır. Yara bölgesindeki sitokinlerin analizinin yara yaşı tespitinde faydalı olacağı ileri sürülmüştür (43-49). (Tablo 1) (Şekil 3)

## Kemokinler

Kemokinler, inflammatuar hücreler için kemotaktik moleküller olmaları ve bazı

sitokin etkilerini göstermeleri nedeniyle bu şekilde adlandırılmışlardır. İlk tanımlanan kemokinlerden biri olan interlökin 8 (IL-8) güçlü bir kemotaktik ajandır ve başlıca nötrofilleri aktive eder. IL-1 ve TNF'e cevap olarak aktive olmuş makrofajlardan, endotelden ve fibroblastlardan salgınır (26, 50). Yapılan çalışmalarda IL-8, MCP-1 (monosit kemotaktik protein-1) ve MIP-1 'nin yara yaşının tespitinde uygun belirteçler olduğu ileri sürülmüştür. IL-8'i 1-4 gün, MCP-1'i 1-7 gün ve MIP-1 'yi 1-9 günde tespit ederek, bu 3 kemokinin birlikte değerlendirilmesi ile yara yaşının objektif olarak tespit edebileceği ileri sürülmüştür (7). (Tablo 1)

## Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Yara iyileşmesinde proliferatif fazda yeni granülasyon dokusu oluşumundaki anjiyogenez kritik bir aşamadır. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörü (bFGF) temel anjiyogenik faktörlerdir (7,8,26). Takamiya ve ark. (51) fareleri kullandıkları çalış-

malarında VEGF'ün yara yaşı tespitinde yararlı bir belirteç olabileceğini göstermişlerdir. Hayashi ve ark.(52) farklı yaşlardaki insan cilt yaralarını kullanarak yaptıkları çalışmalarında VEGF pozitif reaksiyonun 7-21 günlük bir yara yaşına işaret edeceğini ortaya koymuşlardır.

## Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF)

Transforme edici büyüme faktörü- (TGF- ) epidermal büyüme faktörü reseptörüne bağlanır ve benzer etkiler gösterirken (epidermal hücre proliferasyonu), transforme edici büyüme faktörü- (TGF- 1) epitel hücreleri için büyümeyi inhibe edici, fibrogenesis gelişmesinden sorumlu bir yapıdadır (8,26). Yapılan çalışmalarda bu faktörlerin yara yaşı tespiti için kullanılabileceği ortaya konmuştur (53-55). Grellner ve ark.(54) kesici aletle meydana gelmiş farklı yaşlardaki insan cilt yaralarında, immünohistokimyasal yöntem kullanarak yaptıkları çalışmada, yaralanmadan sonraki 1 bir saat içinde bu belirteçlerin saptandığını göstermişlerdir. Değerlendirilmesinin kolay oluşu ve seviyesinin hızla yükselmesi nedeni ile TGF- 1'i yara yaşı ve canlılık tespitinde kullanmayı önermişlerdir.

## Stres Proteinleri

Ubikuitin (Ub) ısı şok proteinlerindendir. Ub ekspresyonu son zamanlarda yapılan pek çok çalışmada incelenmiştir (56-59).

Yara iyileşme sürecinde 7-14 günde tespit edilmesi anlamlı bulunmuştur (7).

Oksijen düzenleyen protein 150 (ORP 150) üzerinde de son zamanlarda yara yaşı tespitine yönelik ve hipoksiye maruz kalmış beyinler üzerinde çalışmalar yapılmıştır (60-62).

## Hücre Proliferasyonu İlgili Proteinler

Yara iyileşmesinde hücre proliferasyonu ile hücre apoptozu birbiriyle dengededir (7). P53 çekirdekte etkilidir ve hücre siklusunu inhibe eder. DNA hasara uğradığı zaman erken dönemde etki eder. Genetik materyale bir saldırı ile normal P53 proteinini hızla çekirdekte birikir ve hücreyi G1 fazında tutar. Hausmann ve ark.(63) immünohistokimyasal yöntemle yaptıkları çalışmada p53 pozitif reaksiyon veren fibroblastları yaralanmadan en erken 3 gün sonra tespit etmişlerdir.

Transkripsiyonda rol alan c-fos ve c-jun gibi proto-onkogen ürünleri üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Burada bir gün ve üzerindeki cilt yaralarında makrofaj ve fibroblastlar bu gen ürünlerini eksprese etmişlerdir (7).

## Moleküler biyolojik yöntemler

İnflamatuar sitokinlerin real time-PCR ve in-situ hibridizasyon teknikleri ile mRNA eks-

presyonlarının gösterilmesi önemli bulgular verebilmektedir. Bu yöntem ile IL-6'nın 6 saat, IL-1 ve IL-1 ile TNF- 'nın 48-72 saat arasında artmış ekspresyonu tanıda yararlı olabilmektedir. Tüm sitokin ekspresyonlarında 240 saat sonra normale dönüş gözlenir [5, 6, 64]. Ayrıca Takamaya ve ark. [65,66] doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve fibroblast büyüme faktörü (bFGF)'nin mRNA ekspresyonlarına dayanarak yara yaşı tespitine yönelik çalışmalar yapmışlardır. Fareler üzerinde yara iyileşmesi süresince eksprese edilen başka çeşitli genlerde mRNA analizine dayalı çalışmalar yapılmıştır. c-fos, fos-B ve MKP-1'in erken dönemlerde yara yaşı tayininde yararlı olabileceği saptanmıştır. Bir sonraki aşama olarak bu genlerin sentezlediği proteinlerin ekspresyonunun tespiti planlanmış ve bu çalışmaların insan örneklerine uygulanmasının zorunluluğu vurgulanmıştır [67, 68].

İnhibitör sitokinlerden olan IL-10'un mRNA ekspresyonunun tespitine dayanan çalışmalar bulunmaktadır. IL-10 ekspresyonunun 0-180 dakika arasında artış gösterdiği ve postmortem ilk 5 günde kullanılabileceği bildirilmektedir [5, 6, 69].

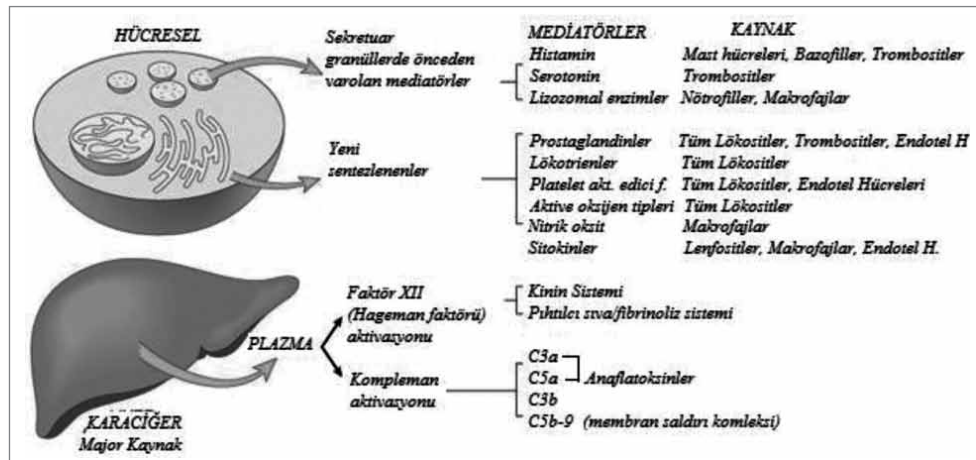
Betz ve ark.[70] değişik yaşlardaki insan cilt yaralarındaki hücre ölümelerini DNA fragmanlarını tespit ederek incelemişlerdir.

### Yöntemlerde Karşılaşılan Sorunlar

Otopsi çalışmalarındaki en önemli problem çürümenin varlığıdır. Bu, yara yaşının doğru olarak tespit edilmesini engellemektedir. Bu nedenle çalışmalarda olgu grubu çok dikkatli seçilmelidir [1].

Otopsi çalışmalarında dikkat edilmesi gereken diğer önemli faktörler; yara yaşının kesin

bilindiği bir kontrol grubunun bulunması, çalışma grubunda farklı zamanlardaki yaraların saptanması ve bunların istatistiksel analiz için yeterli sayıda olması, aynı zamanda yara bölgesi dışından alınan örneklerin de parametreler açısından değerlendirilmesidir. Ayrıca canlılık çalışmaları agonal yaralanmaları ve erken postmortem yaralanmaları da kapsamalıdır [1, 42].



Şekil 3. İltihabın kimyasal mediatörleri [26]

## SONUÇ

Yara yaşı ve canlılık tespiti adli tıp uygulamalarında son derece kritik bir öneme sahiptir. Çalışmada özetlenmeye çalışıldığı üzere bu konuda pek çok araş-

tırma yapılmış ve bazı kriterler oturtulmaya çalışılmıştır. Subjektif kriterlere dayanan konvansiyonel yöntemlerin tersine, modern yöntemler daha objektif kriterler ortaya koymaktadır. Günümüz uygulamalarında yara

yaşı ve canlılık tespitinde immünohistokimyasal yöntemler son derece büyük bir yer tutmakta ve moleküler yöntemler yeni açılımlar getirmeye aday görünmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Wolfgang G, Burkhard M. Demands on scientific studies: Vitality of wounds and wound age estimation. *Forensic Sci Int* 2007;17;165(2-3): 150-154.
2. Oehmichen M. Vitality and time course of wounds. *Forensic Sci Int* 2004;10;144(2-3): 221-231.
3. Çetin G. Yaralar Adli Tıp Kitabı Cilt 1. 1. Baskı. İ Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınevi İstanbul 1999;475-523.
4. Knight B. The pathology of wounds. Chapter 4. In: Saukko P, Knight B, eds. *Forensic Pathology*. third ed. Oxford University Press Inc, 2004;163-69.
5. Ohshima T. Forensic Wound Examination. *Forensic Sci Int* 2000;113: 153 -164.
6. Ekizoğlu O, Arıcan N. Yaralar. *Klinik Gelişim* 2009; 22: 33-43.
7. Kondo T. Timing of skin wounds. *Legal Medicine* 2007;9(2): 109-14.
8. Betz P. Pathophysiology of wound healing. Chapter 17. In: James JP, Busutttil A, Smock W, eds. *Forensic Medicine Clinical and Pathological Aspects*. London 2003; 83-89.
9. Polat O, İnanıcı MA, Aksoy ME. Yaralar, Adli Tıp Ders Kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri, 1997;101-250.
10. Dimaio VJ, Dimaio D. Blunt trauma wounds. In: Dimaio VJ, Dimaio D, eds. *Forensic Pathology*. 2nd ed. Florida, USA: CRC Press LLC, 2001: 92-116.
11. Raekallio J. Histological estimation of the age of injuries. In: Perper JA, Wechts CH, eds. *Microscopic Diagnosis in Forensic Pathology*, Thomas, Springfield/IL, 1975; 3-16.
12. Berg S, Ditt J, Friedrich D, et al. Möglichkeiten der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Dtsch Z Gerichtl Med* 1968; 63: 183-198.
13. Berg S, Bonte W. Praktische Erfahrungen mit der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Beitr Gerichtl Med* 1971;28: 108-114.
14. Fieguth A, Feldbrugge H, Gerich T, et al. The time-dependent expression of fibronectin, MRP8, MRP14 and defensin in surgically treated human skin wounds. *Forensic Sci Int* 2003;131: 156-161.
15. Fieguth A, Kleemann WJ, Troger HD. Immunohistochemical examination of skin wounds with antibodies against alpha-1-antichymotrypsin, alpha-2-macroglobulin and lysozymem. *Int J Legal Med* 1994;107: 29-33.
16. Dressler J, Bachmann L, Kasper M, et al. Time dependence of the expression of ICAM-1 (CD 54) in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1997; 110: 299-304.
17. Dressler J, Bachmann L, Koch R, et al. Enhanced expression of selectins in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1999;112: 39-44.
18. Dressler J, Bachmann L, Strejc P, et al. Expression of adhesion molecules in skin wounds: diagnostic value in legal medicine. *Forensic Sci Int* 2000; 113: 173-176.
19. Grellner W, Dimmeler S, Madea B. Immunohistochemical detection of fibronectin in post-mortem incised wounds of porcine skin. *Forensic Sci Int* 1998; 97: 109-116.
20. Hernández-Cueto C, Lorente JA, Pedal I, et al. Cathepsin D as a vitality marker in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1993; 106: 145-147.
21. Hernández-Cueto C, Girela E, Sweet DJ. Advances in the diagnosis of wound vitality: a review. *Am J Forensic Med Pathol* 2000; 21: 21-31.
22. Hernández-Cueto C, Vieira DN, Girela E, et al. Diagnostic ability of D-dimer in the establishment of the vitality of wounds. *Forensic Sci Int* 1995; 76: 141-149.
23. Ortiz-Rey JA, Suárez-

- Peñaranda JM, Muñoz-Barús HI, et al. Expression of fibronectin and tenascin as a demonstration of vital reaction in rat skin and muscle. *Int J Legal Med* 2003; 117: 356-360.
24. Kondo T, Ohshima T, Eisenmenger W. Immunohistochemical and morphometrical study on the temporal expression of interleukin-1 (IL-1) in human skin wounds for forensic wound age determination. *Int J Legal Med* 1990; 112: 249-252.
25. Janssen W. Wound healing in Janssen W. ed. *Forensic histopathology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo;1984: 81-97.
26. Mitchell RN, Cotran RS. Acute and Chronic Inflammation. Chapter 2. In: Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, eds. *Basic Pathology*. 7th ed. USA 2005, 47-86.
27. Pakiş I, Akyıldız EÜ, Turan AA, Karayel F, Ersoy G, Kır Z. Miyokard infarktüsünde Mast Hücrelerinin Rolü; Otopsi Çalışması. *Adli Tıp Bülteni* 2008;13(1):9-12.
28. Akyıldız EÜ, Pakiş I, Ersoy G, Karayel F, Turan AA. Komplike atheromatöz plak gelişiminde mast hücrelerinin rolü. Sayfa:125. VII.Adli Bilimler Kongresi 11-14 Mayıs 2006, Konya.
29. Hughes VK, Ellis PS, Langlois NE. Alternative light source (polilight) illumination with digital image analysis does not assist in determining the age of bruises. *Forensic Sci Int* 2006; 158(2-3): 104-7.
30. Hughes VK, Ellis PS, Burt T, et al. The practical application of reflectance spectrophotometry for the demonstration of haemoglobin and its degradation in bruises. *J Clin Pathol* 2004;57(4): 355-9.
31. Yajima Y, Nata M, Funayama M. Spectrophotometric and tristimulus analysis of the colors of subcutaneous bleeding in living persons. *Leg Med (Tokyo)* 2003;5(1): 342-3.
32. Stephenson T, Bialas Y. Estimation of the age of bruising. *Arch Dis Child* 1996;74(1): 53-5.
33. Psaroudakis K, Tzatzarakis MN, Tsatsakis AM, et al. The application of histochemical methods to the age evaluation of skin wounds: experimental study in rabbits. *Am J Forensic Med Pathol* 2001;22(4): 341-5.
34. Cordell JL, Falini B, Erber WN, et al. Immunoenzymatic labelling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). *J Histochem Cytochem* 1984; 32: 219-229.
35. Haussman R, Betz P. The time course of the vascular response to human brain injury-and immunohistochemical study. *Int J Legal Med* 2000;113: 288-292.
36. Balazic J, Grajn A, Kralj E, et al. Expression of fibronectin suicidal in gun shot wounds. *Forensic Sci Int* 2005; 17(147): 5-7.
37. Çelik S, Pakiş I, Yorulmaz Ç, Koç S. Immunohistochemical Study for Postmortem Diagnosis of Early Myocardial Infarction. p:28. 18th Triennial Meeting, New Orleans, Louisiana, USA July 21-25, 2008.
38. Dreßler J, Bachmann L, Strejc P, et al. Expression of adhesion molecules in skin wounds: diagnostic value in legal medicine. *Forensic Sci Int* 2000;113: 173-176.
39. Dreßler J, Bachmann L, Kasper M, et al. Enhanced expression of ICAM-1 (CD 54) in human skin wounds: diagnostic value in legal medicine. *Inflamm Res* 1997;46: 434-435.
40. Dreßler J, Bachmann L, Koch R, et al. Estimation of wound age and VCAM-1 in human skin. *Int J Legal Med* 1999;112: 159-162.
41. Dreßler J, Bachmann L, Koch R, et al. Enhanced expression of selectins in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1998;112: 39-44.
42. Dreßler J, Bachmann L, Kasper M, et al. Time dependence of the expression of ICAM-1 (CD 54) in human skin wounds. *Int J Legal Med* 1997;110: 299-304.
43. Takamiya M, Fujita S, Saigusa K, et al. Simultaneous detection of eight cytokines in human dermal wounds with a multiplex bead-based immunoassay for

- wound age estimation. *Int J Legal Med* 2008;122(2): 143-8.
44. Takamiya M, Fujita S, Saigusa K, et al. Simultaneous detections of 27 cytokines during cerebral wound healing by multiplexed bead-based immunoassay for wound age estimation. *J Neurotrauma* 2007;24(12): 1833-44.
45. Grellner W. Time-dependent immunohistochemical detection of proinflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) in human skin wounds. *Forensic Sci Int* 2002; 4;130(2-3): 90-6.
46. Grellner W, Georg T, Wilske J. Quantitative analysis of proinflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) in human skin wounds. *Forensic Sci Int* 2000; 11;113(1-3): 251-64.
47. Kondo T, Ohshima T, Eisenmenger W. Immunohistochemical and morphometrical study on the temporal expression of interleukin-1alpha (IL-1alpha) in human skin wounds for forensic wound age determination. *Int J Legal Med* 1999;112: 249-52.
48. Lin ZQ, Kondo T, Ishida Y, et al. Essential involvement of IL-6 in the skin wound-healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6-deficient mice. *J Leukoc Biol* 2003;73: 713-21.
49. Mori R, Kondo T, Ohshima T, et al. Accelerated wound healing in tumor necrosis factor receptor p55-deficient mice with reduced leukocyte infiltration. *FASEB J* 2002;16: 963-74.
50. Michel G, Kemeny L, Peter RU, et al. Interleukin-8 receptor-mediated chemotaxis of normal human epidermal cells. *FEBS Lett* 1992;305: 241-3.
51. Takamiya M, Saigusa K, Aoki Y. Immunohistochemical study of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor expression for age determination of cutaneous wounds. *Am J Forensic Med Pathol* 2002;23(3): 264-7.
52. Hayashi T, Ishida Y, Kimura A, et al. Forensic application of VEGF expression to skin wound age determination. *Int J Legal Med* 2004;118: 320-5.
53. Gilbert L, Siang HL. Forensic histopathology chapter 13 part 8. In: Michael Tsokos, ed. *Forensic pathology reviews*, vol.5, 2008;240-64.
54. Grellner W, Vieler S, Madea B. Transforming growth factors (TGFalpha and TGF-beta1) in the determination of vitality and wound age: immunohistochemical study on human skin wounds. *Forensic Sci Int* 2005;153: 174-80.
55. Ishida Y, Kondo T, Takayasu T, et al. The essential involvement of cross-talk between IFN-gamma and TGF-beta in the skin wound-healing process. *J Immunol* 2004; 1;172(3): 1848-55.
56. Kondo T, Tanaka J, Ishida Y, et al. Ubiquitin expression in skin wounds and its application to forensic wound age determination. *Int J Legal Med*. 2002; 116(5): 267-72.
57. Quan L, Zhu BL, Oritani S, et al. Intranuclear ubiquitin immunoreactivity in the pigmented neurons of the substantia nigra in fire fatalities. *Int J Legal Med* 2001;114(6): 310-5.
58. Bond U, Schlesinger MJ. The chicken ubiquitin gene contains a heat shock promoter and expresses an unstable mRNA in heat-shocked cells. *Mol Cell Biol* 1986;6(12): 4602-10.
59. Quan L, Zhu BL, Ishida K, et al. Intranuclear ubiquitin immunoreactivity of the pigmented neurons of the substantia nigra in fatal acute mechanical asphyxiation and drowning. *Int J Legal Med* 2001;115(1): 6-11.
60. Ishida Y, Kimura A, Takayasu T, et al. Expression of oxygen-regulated protein 150 (ORP150) in skin wound healing and its application for wound age determination. *Int J Legal Med* 2008;122(5): 409-14.
61. Ozawa K, Kondo T, Hori O, et al. Expression of the oxygen-regulated protein ORP150 accelerates wound healing by modulating intracellular VEGF transport. *J Clin Invest* 2001;108(1): 41-50.
62. Kuwabara K, Matsumoto M, Ikeda J, et al. Purification

- and characterization of a novel stress protein, the 150-kDa oxygen-regulated protein (ORP150), from cultured rat astrocytes and its expression in ischemic mouse brain. *J Biol Chem* 1996;271(9): 5025-32.
63. Hausmann R, Nerlich A, Betz P. The time-related expression of p53 protein in human skin wounds-a quantitative immunohistochemical analysis. *Int J Legal Med* 1998;111(4): 169-72.
64. Sato Y, Ohshima T. The expression of mRNA of proinflammatory cytokines during skin wound healing in mice: a preliminary study for forensic wound age estimation (II). *Int J Legal Med* 2000;113(3): 140-5.
65. Takamiya M, Saigusa K, Nakayashiki N, et al. Studies on mRNA expression of basic fibroblast growth factor in wound healing for wound age determination. *Int J Legal Med* 2003;117(1): 46-50.
66. Takamiya M, Saigusa K, Kumagai R, et al. Studies on mRNA expression of tissue-type plasminogen activator in bruises for wound age estimation. *Int J Legal Med* 2005;119(1): 16-21.
67. Kagawa S, Matsuo A, Yagi Y, et al. The time-course analysis of gene expression during wound healing in mouse skin. *Leg Med (Tokyo)* 2009;11(2): 70-75.
68. Sun JH, Wang YY, Zhang L, et al. Time-dependent expression of skeletal muscle troponin I mRNA in the contused skeletal muscle of rats: a possible marker for wound age estimation. *Int J Legal Med* 2010;124(1): 27-33.
69. Takamiya M, Fujita S, Saigusa K, et al. A study on mRNA expressions of interleukin 10 during fracture healing for wound age determination. *Leg Med (Tokyo)* 2008;10(3): 131-7.
70. Betz P, Nerlich A, Tübel J, et al. Detection of cell death in human skin wounds of various ages by an in situ end labeling of nuclear DNA fragments. *Int J Legal Med* 1997;110(5): 240-3.
- İletişim:**  
Işıl Pakış Acıbadem Üniversitesi  
İstanbul / TÜRKİYE  
isilpakis@yahoo.com