

Comparative Toxicological Study in Rabbits of Post-Mortem Drug Levels in Plasma Versus Bone Marrow

JAN CORDONNIER^{a)}, AUBIN HEYNDRICKX^{a)},
MICHEL PIETTE^{b)}

^{a)} Department of Toxicology, State University of Ghent,
Hospitaalstraat 13, B-9000 Ghent, Belgium

^{b)} Department of Forensic Medicine, State University of
Ghent, Jozef Kluyskensstraat 29, B-9000 Ghent, Belgium

BAZI BİLEŞİKLERİN POSTMORTEM PLAZMA-KEMİK İLİĞİ DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ : Tavşanlar üzerinde karşılaştırmalı toksikolojik araştırma

Özet

Adli toksikolojide, çalışılacak örneklerin arasında plazmanın bulunmadığı koşullarda, plazmadaki toksik madde düzeylerinin belirlenebilmesi için, bu maddenin doku/plazma ve diğer biyolojik sıvı/plazma arasındaki dağılımının bilinmesi gereklidir. Bulguları sunulan bu çalışma, postmortem plazma/kemik iliği örneklerindeki madde düzeylerinin karşılaştırılması amacıyla yapıldı. İ.V. yolla petidin, tilidin, morfin, metadon, propoksifen, haloperidol ve metapirilen verilen albinö tavşanlar, uygulamadan 1 saat sonra servikal dislokasyonla öldürüldü. Söz konusu bileşiklerin plazma ve kemik iliği düzeyleri azot-fosfor detektörlü kapiller gaz likid kromatografisi ve radio-immunoassay yöntemleriyle belirlendi. İ.V. olarak verilen bileşiklerin düzeyleri, postmortem koşullarda elde edilen kemik iliği ve plazmadaki düzeyleriyle karşılaştırıldı. Elde edilen bulgular metapirilen, morfin, petidin, tilidin, haloperidol ve propoksifen gibi bileşiklerin kemik iliği düzeylerinden giderek, plazma düzeylerinin belirli bir doğruluk derecesinde hesaplanabileceğini göstermektedir.

Summary

In forensic toxicology a good correlation between plasma and tissues or other biological fluids is needed to estimate a plasma drug concentration in cases where plasma is unavailable. We therefore compared post-mortem drug levels in plasma with corresponding levels in bone marrow. Albino rabbits, to which *pethidine*, *tilidine*, *morphine*, *methadone*, *propoxyphene*, *haloperidol* and *methapyrilene* was intravenously (I.V.) administered, were sacrificed one hour after drug administration. To quantitate these drug concentrations in plasma and bone marrow,

capillary gas-liquid chromatography equipped with a nitrogen-phosphorus detector and radio-immunoassay techniques were used. The post-mortem concentrations of the I.V. administered drug doses, recovered from bone marrow, were compared with the concentrations detected in plasma. This study shows that for drugs like *methapyrilene*, *morphine*, *pethidine*, *tilidine*, *haloperidol* and *propoxyphene*, plasma concentrations might be calculated from the levels found in bone marrow within a certain range.

Keywords : *Drugs - Marrow/plasma ratio - Post-mortem levels*

INTRODUCTION

Determination of psychotropic drug levels is a routine procedure in most forensic or clinical laboratories. Frequently, the forensic toxicologist is faced with situations in which contamination or decomposition exclude the collection of blood samples suitable for analytical purposes. In such cases, other tissues or body fluids can be used for determination of psychotropic drug levels. Several investigators have already reported on the determination of drugs in vitreous humor or muscle and their relationship to concentrations in blood and other tissues of man (1-10). Until recently, bone marrow has been widely ignored as a tissue for toxicological analyses. It is a highly vascularized tissue that may act as a repository for drugs present in the body at the time of death (11). The work of *Winek et al* (12-16) led to the conclusion that bone marrow concentrations of methanol, ethanol, isopropanol, flurazepam and pentobarbital could be used to predict the respectively drug levels in plasma or blood.

This study purposed to detect any correlation between plasma and bone marrow drug levels after a single I.V. administered dose to albino rabbits.

Plasma and bone marrow samples were collected 1 h after the injection. Drug concentrations of pethidine, tilidine, morphine, methadone and propoxyphene were determined by capillary chromatography, equipped with a sensitive nitrogen-phosphorus detector, morphine and haloperidol with radio-immunoassay techniques.

MATERIALS AND METHODS

Gas-liquid chromatography

A *Perkin - Elmer Sigma 2* gas chromatograph, equipped with two nitrogen-phosphorus detectors and two 25.0 m × 3.2 mm i.d. fused silica capillary columns (*Sil 19 CB* and *Sil 8*) (*Chrompack, Belgium*), is used. Column connections were previously described (17). A direct injection technique is applied, using a 1.0 µl *Hamilton* syringe. The carrier gas is purified helium

with the column head pressure adjusted to 0.8 bar. Injector and detector temperatures are set at 300°C. A temperature program is initiated at 180°C. After 2 minutes the oven temperature is gradually increased up to 260°C, at a rate of 5°C/min, where it is kept for 1 minute; finally increased up to 300°C at a rate of 10°C/min, where it is further kept isothermally for 10 minutes.

Radio-immunoassay techniques

- Coat-A-Count^R radio-immunoassay kits for morphine (¹²⁵I) were obtained from *Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA)*. An *LKB-Wallac 1260 Multigamma* was used for measuring the γ -radiation.
- Hal-Ria-200 radio-immunoassay kits for haloperidol (³H) were obtained from *I.R.E. (Fleurus, Belgium)*. Antibody bound radio reactivity was determined by liquid scintillation counting (*Packard Tricarb Liquid Scintillation Counter, model 3380*).

Sample preparation

Seven groups of four albino rabbits (2.5-3.5 kg) were fasted and allowed to drink water *ad libitum* for 24 h before drug administration.

Rabbits, receiving doses according to Table 1, were injected with the compounds dissolved in normal saline solution intravenously into the marginal ear veins. One hour after dosing, the rabbits were sacrificed by cervical dislocation. The thoracic cavity was opened and heart blood was collected in Li-heparinized tubes. Plasma was immediately separated by centrifugation (3000 rpm). Immediately after collection of the blood sample, both femurs were excised, cleaned off muscle tissue to avoid contamination of the bone marrow, cracked and the marrow was removed by a currette. Prior to the extractions, the proteolytic enzyme *Subtilisin Carlsberg* has been used to digest all samples (18).

According to literatures (19-26) current analytical methods for detecting and quantifying the investigated compounds from the biological samples were applied.

RESULTS AND DISCUSSION

Gas-liquid chromatography (GLC)

Figure 1 illustrates the high separation capacity of the 25.0 m × 0.32 mm i.d. Sil 19 CB (Fig. 1A) and Sil 8 (Fig. 1B) fused silica capillary columns. The analytical methods seem to be very suitable for the quantitation of the compounds studied.

Radio-immunoassay (R.I.A.)

To avoid interferences of cross-reacting metabolites, selective extraction procedures (21, 24), and highly specific and sensitive radio-immunoassay kits (26) were used.

Plasma and marrow concentrations in rabbits, examined 60 min after dosing

The values of the parameters as dosage, plasma level, marrow level and marrow to plasma concentration ratio of all rabbits are individually listed in Table 1.

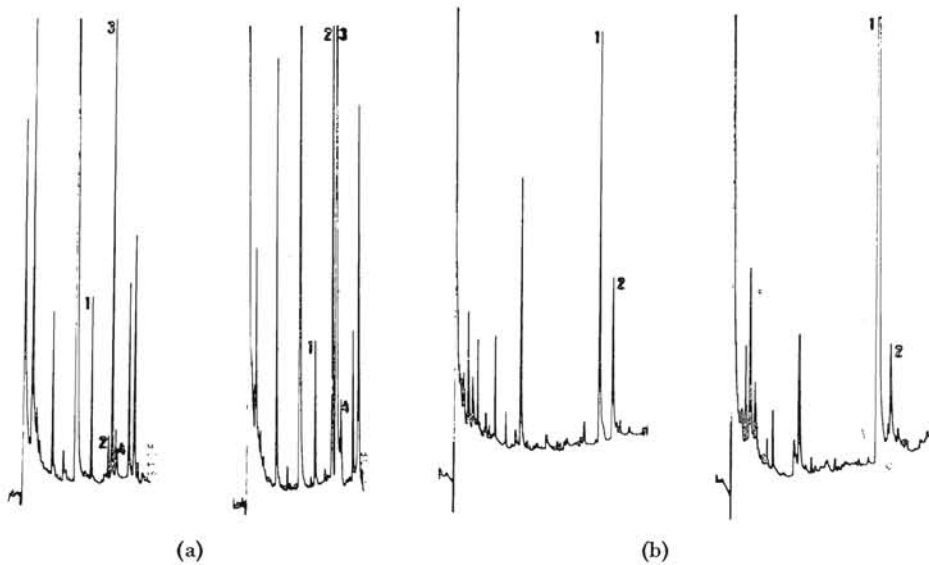


Fig. 1. Gas chromatogram of a plasma (a) and a bone marrow (b) sample of a rabbit, killed 60 min after dosing I.V. tilidine {A : tilidine (2) and its two metabolites, nortilidine (3) and bisnortilidine (4); pethidine (1) as internal standard} and methapyrilene {B : methapyrilene (1); procaine (2) as internal standard}.

The mean plasma methapyrilene concentration was $9.71 \pm 1.41 \mu\text{g } \%$ (range 8.00 to 11.44 $\mu\text{g } \%$). The mean bone marrow concentration for the same group of rabbits was $189.18 \pm 26.00 \mu\text{g } \%$ (range 150.2 to 203.0 $\mu\text{g } \%$). The mean marrow to plasma concentration ratio was 19.52 ± 1.53 (range 17.75 to 20.98 $\mu\text{g } \%$).

Rabbits to which a 5 mg dose of haloperidol was administered, had a mean plasma concentration of $1.36 \pm 0.08 \mu\text{g } \%$ (range 1.30 to 1.48 $\mu\text{g } \%$), a mean marrow concentration of $1.52 \pm 0.06 \mu\text{g } \%$ (range 1.45 to 1.58 $\mu\text{g } \%$) and a mean marrow/plasma ratio of 1.12 ± 0.04 (range 1.07 to 1.16).

Table 1. Marrow and plasma concentrations and their ratios in rabbits killed 60 min after dosing I.V.

Compound	Dose (mg/kg)	Plasma level ($\mu\text{g } \%$)	Marrow level ($\mu\text{g } \%$)	Marrow /plasma ratio
<i>Methapyrilene</i>	14.78	11.44	203.0	17.75
	11.35	9.65	202.5	20.98
	8.61	9.75	201.0	20.61
	8.24	8.00	150.2	18.78
<i>Propoxyphene</i>	8.61	131.25	615.0	4.69
	3.68	85.00	307.4	3.62
	4.11	76.09	438.2	5.76
	4.01	76.67	415.0	5.41
<i>Haloperidol</i>	1.63	1.33	1.55	1.16
	1.68	1.33	1.50	1.13
	2.43	1.48	1.58	1.07
	1.78	1.30	1.45	1.12
<i>Morphine</i>	20.48	9.74	18.18	1.87
	21.95	4.90	9.86	2.01
	18.62	6.85	11.02	1.61
	11.37	5.72	10.76	1.88
<i>Tilidine</i>	15.21	71.88	547.5	7.62
	15.67	79.38	493.8	6.22
	15.12	28.85	229.2	7.94
	14.73	73.13	655.9	8.97
<i>Pethidine*</i>	21.04	27.03	431.25	15.96
	21.04	31.96	438.75	13.73
	20.73	32.14	476.23	14.82
<i>Methadone*</i>	3.23	15.30	99.00	6.47
	2.96	14.25	135.8	9.52
	3.05	16.50	96.50	5.85

* One rabbit died immediately.

Rabbits, given a propoxyphene dose, exhibited mean plasma and marrow concentrations of 79.25 ± 4.99 (range 76.09 to 85.00) and 386.87 ± 69.79 (range 307.4 to 438.2) $\mu\text{g } \%$ respectively. The marrow/plasma concentration ratio had a mean value of $4.87 \pm 0.95 \mu\text{g } \%$ (range 3.62 to 5.76 $\mu\text{g } \%$). Rabbits, receiving a dose of 60 mg of morphine, had a mean plasma concentration of $6.80 \pm 2.12 \mu\text{g } \%$ (range 4.90 to 9.74 $\mu\text{g } \%$) and a mean marrow concentration of $12.46 \pm 3.85 \mu\text{g } \%$ (range 9.86 to 18.18 $\mu\text{g } \%$). The marrow to plasma concentration ratio ranged from 1.61 to 2.01 $\mu\text{g } \%$ and the mean marrow/plasma ratio was 1.84 ± 0.17 for morphine.

Rabbits, injected with tilidine, had a mean plasma concentration of 74.80 ± 4.02 (range 71.88 to 79.38 $\mu\text{g } \%$). The mean bone marrow concentration was $565.73 \pm 82.57 \mu\text{g } \%$ (range 493.8 to 655.9 $\mu\text{g } \%$). The marrow/plasma ratio had a mean value of 7.69 ± 1.12 (range 6.22 to 8.97).

Table 2. Mean plasma and marrow drug concentrations and their ratios in rabbits killed 60 min after dosing I.V.

Compound	Mean plasma conc. ($\mu\text{g } \%$)	Mean marrow conc. ($\mu\text{g } \%$)	Mean ratio marrow/plasma
<i>Methapyrilene</i>	9.71 ± 1.41	189.18 ± 26.00	19.52 ± 1.53
<i>Propoxyphene</i>	79.25 ± 4.99	386.87 ± 69.79	4.87 ± 0.95
<i>Haloperidol</i>	1.36 ± 0.08	1.52 ± 0.06	1.12 ± 0.04
<i>Morphine</i>	6.80 ± 2.12	12.46 ± 3.85	1.84 ± 0.17
<i>Tilidine</i>	74.80 ± 4.02	565.73 ± 82.57	7.69 ± 1.12
<i>Pethidine</i>	30.38 ± 2.90	448.74 ± 24.10	14.84 ± 1.12
<i>Methadone</i>	15.35 ± 1.13	110.43 ± 22.00	7.28 ± 1.96

The mean pethidine plasma concentration was $30.38 \pm 2.90 \mu\text{g } \%$ (range 27.03 to 32.14 $\mu\text{g } \%$). The mean bone marrow concentration was $448.74 \pm 24.10 \mu\text{g } \%$ (range 431.25 to 476.23 $\mu\text{g } \%$). The mean marrow/plasma ratio was 14.84 ± 1.12 (range 13.73 to 15.96).

The rabbits, to which an I.V. dose of methadone was administered, exhibited a mean plasma and a mean bone marrow concentration of $15.35 \pm 1.13 \mu\text{g } \%$ (range 14.25 to 16.50 $\mu\text{g } \%$) and 110.43 ± 22.00 (range 99.00 to 135.8 $\mu\text{g } \%$) respectively. The marrow/plasma ratio had a mean value of 7.28 ± 1.96 (range 5.85 to 9.52).

Table 2 summarizes the previous data of each group of rabbits, killed 60 min after I.V. dosing. Important concentration ratios were demonstrated in bone marrow for basic drugs and methapyrilene (19.52 ± 1.53), pethidine (14.84 ± 1.12), tilidine (7.69 ± 1.12), methadone (7.28 ± 1.96) and propoxyphene (4.87 ± 0.95). These results show that bone marrow is also a suitable tissue to start the basic screening. Marrow to plasma concentration ratios are indeed relatively constant values, and an increased plasma concentration corresponds to a increased bone marrow concentration, except for methadone (maybe due to metabolisation).

Table 3 represents the data of the graphical linear correlation parameters of the bone marrow versus plasma concentrations of each group of drugs (from all rabbits). The bone marrow drug concentration versus plasma concentrations showed relatively good linear relationships. The predicted plasma concentration of the drug can be calculated by dividing the experimental bone marrow concentration by the mean bone marrow/plasma ratio.

Table 3. Correlation coefficients (r), slopes and intercepts of plasma versus bone marrow drug concentrations.

Compound	r	Slope	Intercept
<i>Methapyrilene</i>	0.82	15.30	40.61
<i>Propoxyphene</i>	0.82	3.95	79.55
<i>Haloperidol</i>	0.80	0.56	0.76
<i>Morphine</i>	0.96	1.75	0.54
<i>Tilidine</i>	0.89	6.91	43.85
<i>Pethidine</i>	0.65	5.42	283.96
<i>Methadone</i>	-0.87	-17.08	372.61

The calculated plasma levels are presented in Table 4. They are compared to the experimental ones and the per cent of difference is noted. The average difference for all calculated plasma levels of methapyrilene was 6.55 ± 2.21 , propoxyphene : 16.02 ± 13.29 , haloperidol : 2.31 ± 2.29 , morphine : 6.55 ± 6.08 , tilidine : 9.99 ± 9.20 , pethidine : 5.05 ± 4.23 and methadone : 20.54 ± 9.91 . It can be stated that for certain basic drugs as methapyrilene, propoxyphene, haloperidol, morphine, tilidine, pethidine and methadone plasma concentrations can be predicted from bone marrow concentrations within a

Table 4. Prediction of plasma drug levels from bone marrow drug levels.

Compound	Bone marrow conc.*	Experimental plasma conc.*	Calculated plasma conc.*	Percent differ.
<i>Methapyrilene</i>	203.0	11.44	10.40 ± 0.83	9.10
	202.5	9.65	10.37 ± 0.83	7.46
	201.0	9.75	10.30 ± 0.82	5.64
	150.2	8.00	7.68 ± 0.61	4.00
			$\bar{x} = 6.55 \pm 2.21$	
<i>Propoxyphene</i>	615.0	131.25	126.28 ± 25.61	3.94
	307.4	85.00	63.12 ± 12.80	34.66
	438.2	76.09	84.98 ± 18.25	15.44
	415.0	76.67	85.22 ± 17.28	10.03
			$\bar{x} = 16.02 \pm 13.29$	
<i>Haloperidol</i>	1.55	1.33	1.38 ± 0.05	3.76
	1.50	1.33	1.34 ± 0.05	0.75
	1.58	1.48	1.41 ± 0.05	4.73
	1.45	1.30	1.30 ± 0.05	0.00
			$\bar{x} = 2.31 \pm 2.29$	
<i>Morphine</i>	18.18	9.74	9.88 ± 0.92	1.42
	9.86	4.90	5.36 ± 0.60	8.38
	11.02	6.85	5.99 ± 0.56	14.36
	10.76	5.72	5.84 ± 0.55	2.05
			$\bar{x} = 6.55 \pm 6.08$	
<i>Tilidine</i>	547.5	71.88	71.20 ± 10.59	0.95
	493.8	79.38	64.21 ± 9.56	19.12
	229.2	28.85	29.80 ± 4.44	3.29
	655.9	73.13	85.29 ± 12.69	16.12
			$\bar{x} = 9.99 \pm 9.20$	
<i>Pethidine</i>	431.25	27.03	29.06 ± 2.21	7.51
	438.75	31.96	29.57 ± 2.25	7.48
	476.23	32.14	32.09 ± 2.44	0.16
			$\bar{x} = 5.05 \pm 4.23$	
<i>Methadone</i>	99.00	15.30	13.60 ± 3.95	11.12
	135.80	14.25	18.65 ± 5.42	30.87
	96.50	16.50	13.26 ± 3.85	19.64
			$\bar{x} = 20.54 \pm 9.91$	

* in µg %

certain range. Further research has to be done to see the influence of dosage and time of sacrificing after dosing and to confirm a reliable extrapolation of these animal experiences on humans.

REFERENCES

- 1 — Sturner, W.Q., Coumbis, R.J. (1966) *Am. J. Clin. Path.*, **46**, 349-351.
- 2 — Leahy, M.S., Farber, E.R., Meadows, T.R. (1968) *J. Forens. Sci.*, **13**, 498-502.
- 3 — Felby, S., Olsen, J. (1969) *J. Forens. Sci.*, **14**, 507-514.
- 4 — Felby, S., Olsen, J. (1969) *J. Forens. Sci.*, **14**, 93 - 101.
- 5 — Coe, J.I., Sherman, R.E. (1970) *J. Forens. Sci.*, **15**, 185-190.
- 6 — Sörensen, P.N. (1971) *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **29**, 194-208.
- 7 — Coe, J.I. (1974) *J. Forens. Sci.*, **19**, 13-32.
- 8 — Sturner, W.Q., Garriott, J.C. (1975) *Forens. Sci.*, **6**, 31-39.
- 9 — Timinski, K.R., Wemyss, T.C., Bidanset, J.H., Manning, T.J., Lukash, L. (1984) *J. Forens. Sci.*, **29**, 903-909.
- 10 — Christensen, H., Steenhoft, A., Worms, K. (1985) *J. Forens. Sci. Soc.*, **25**, 191-206.
- 11 — Noguchi, T.T., Nakamura, G.R., Griesemer, E.C. (1978) *J. Forens. Sci.*, **23**, 490-493.
- 12 — Winek, C.L., Jones, T.C. (1980) *Forens. Sci. Int.*, **16**, 101-109.
- 13 — Winek, C.L., Esposito, F.M. (1981) *Forens. Sci. Int.*, **17**, 27-36.
- 14 — Winek, C.L., Susa, D. (1982) *Forens. Sci. Int.*, **19**, 165-176.
- 15 — Winek, C.L., Pluskota, M., Wahba, W.W. (1982) *Forens. Sci. Int.*, **19**, 155-163.
- 16 — Winek, C.L., Costantino, A.G., Wahba, W.W., Collom, W.D. (1985) *Forens. Sci. Int.*, **27**, 15-24.
- 17 — Demedts, P., Van den Heede, M., Van der Verren, J., Heyndrickx, A. (1982) *J. Anal. Toxicol.*, **6**, 30-32.
- 18 — Osselton, M.D. (1977) *J. Forens. Sci. Soc.*, **17**, 189-194.
- 19 — Robinson, A., Williams, F.H. (1971) *J. Pharm. Pharmacol.*, **23**, 353-358.
- 20 — Sengupta, A., Peat, M.A. (1977) *Arch. Toxicol.*, **37**, 123-133.
- 21 — Slightom, E.L. (1978) *J. Forens. Sci.*, **23**, 292-303.
- 22 — Coumbis, R.J., Balkrishena, K. (1974) *J. Forens. Sci.*, **19**, 307-312.
- 23 — Spiegler, V.R., Reed, D., Cravey, R.H., Wilcox, W.P., Shaw, R.F., Holland, S. (1976) *J. Forens. Sci.*, **21**, 647-655.
- 24 — Van den Eeckhout, E., Belpaire, F.M., Bogaert, M.G., De Moerloose, P. (1980) *Eur. J. Drug Met. Pharmacokin.*, **5**, 45-48.

12

J. CORDONNIER, A. HEYNDRIKX, M. PIETTE

- 25 — Cordonnier, J., Van den Heede, M., Heyndrickx, A. in *The Proceedings of the Symposium on Analytical Methods in Forensic Chemistry*, 189th ACS Meeting, Miami, Florida (in press).
- 26 — «*Morphine in urine*» (package insert), Coat a Count^R, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, November 1982.

Reprints request to :

Prof. Dr. Aubin Heyndrickx
Laboratorium voor Toxicologie
Rijksuniversiteit Gent
Hospitaalstraat 13
B - 9000 Gent
Belgium

Polymorphism of Erythrocyte Glyoxalase I and Salivary Glycoprotein in the Madras City Population

B.K. MOHAN RAJ, B. NAZIRUDDIN, C. DAMODARAN,
P. CHANDRA SEKHARAN

Forensic Sciences Department, Madras - 600 004, India

MADRAS HALKINDA ERİTROSİT GLİYOKSALAZ I VE TÜKÜRÜK GLİKOPROTEİNLERİNİN POLİMORFİZMİ

Özet

Madras'da yaşayan ve tesadüfi olarak seçilen kişilerde, eritrosit gliyoksalaz I (GLO I) ve tükürük glikoproteinlerinin polimorfizmi, ayrıca *ABO* kan grubu maddelerinin dağılımı incelendi. GLO fenotipleri nişasta/agaroz jel elektroforezi ile araştırıldı. Birbirleriyle ailesel bağlantısı bulunmayan 236 kişideki gen sıklığı GLO¹ için 0.2381, GLO² için 0.7619 olarak belirlendi. Ender fenotiplere rastlanmadı. İncelenen az sayıdaki kapalı toplum birimleri (kast) arasında «*Adi Dravidas*» kastı halkının GLO¹ gen sıklığının diğer kast toplumlarındakine oranla oldukça düşük bulunduğu gözlemlendi. Elde edilen bulgular diğer araştırmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

Summary

The random population of *Madras* city has been screened for the polymorphism of erythrocyte glyoxalase I (GLO I), whole salivary glycoprotein and for the presence of *ABO* blood group substances. The phenotypes of GLO were determined by mixed starch/agarose gel electrophoresis. The gene frequencies in 236 unrelated individuals are 0.2381 for GLO¹ and 0.7619 for GLO². Rare phenotypes were not observed. Among a few inherent caste groups studied, «*Adi Dravidas*» showed a much lower gene frequency for GLO¹ than the other caste groups. The results are compared with those of other populations.

Keywords : *Polymorphism - Glyoxalase I - Salivary glycoprotein*

INTRODUCTION

The red blood cell enzyme glyoxalase I (GLO I; E.C.4.4.1.5), a relatively recent addition to polymorphic systems is gaining greater attention from

forensic scientists because of its detection in bloodstains, semen, hair root and other tissues (1-3). Glyoxalase I, functionally a dimer molecule, exists in three phenotypic forms 1-1, 2-1 and 2-2 originating from two codominant alleles GLO¹ and GLO² at an autosomal locus positioned on the short arm of chromosome 6 in between *HLA* loci and PGM₃ (4). GLO I phenotype distribution and GLO allele frequencies in samples of worldwide populations have been reported.

Polymorphism of human whole salivary glycoprotein has been reported in the *Madras* city population (5). In all, four electrophoretically distinct phenotypes have been observed, governed by two autosomally inherited loci of which one locus with three alleles exhibits polymorphism.

In the present study the *Madras* city population along with a few inherent caste groups, has been screened for the polymorphism of GLO I, salivary glycoprotein and *ABO* blood groups and the results are presented.

MATERIALS AND METHODS

ABO grouping was done in the conventional way. For GLO, peripheral blood samples were collected from donors without additive, washed three times with isotonic saline and lysed (freeze thawing). 0.2% β -mercaptoethanol was added prior to electrophoresis. GLO I isozymes were separated by electrophoresis on mixed starch/agarose gel (1% starch and 0.8% agarose; 10 × 15 cm). 0.1M tris-EDTA-maleic acid buffer (pH 7.4) served as the tank buffer and 1 : 15 dilution of the tank buffer was used as the gel buffer. 3 μ l of hemolysate was allowed to separate for 3 1/2 h at 24 V/cm at 4°C. Staining for GLO I bands was done as described by *Scott and Fowler* (6), with slight modifications.

The electrophoresis of human whole saliva in polyacrylamide gels and staining for glycoproteins for the identification of different phenotypes was done according to the method of *Naziruddin et al* (5).

RESULTS AND DISCUSSION

Figures 1 and 2 show different phenotypes of GLO I and salivary glycoprotein (G1) respectively. All the samples could be assigned unambiguously to three known types of GLO I and also to four different phenotypes of salivary glycoprotein. Phenotype and gene frequency data of the random population of the *Madras* city for GLO I (236 samples), salivary glycoprotein (140 samples) and *ABO* blood group (233 samples) are given in Tables 1, 2 and 3 respectively. Distribution of GLO I phenotypes and its gene frequency in

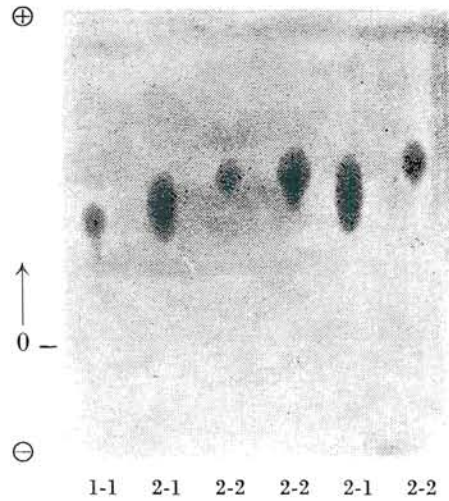


Fig. 1. GLO I phenotypes in blood of *Madras* city population.

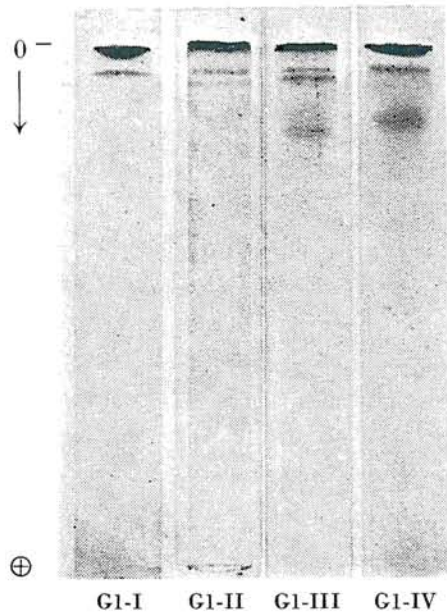


Fig. 2. Whole salivary glycoprotein phenotypes in the *Madras* city population.

some prominent caste groups are given in Table 4. There were no significant departures from the *Hardy-Weinberg* expectations for any of the sample collection.

Table 1. Distribution of phenotypic variants of glyoxalase (GLO I) in the *Madras* city population.

Samples examined	Phenotype			Gene frequency	
	1-1	1-2	2-2		
236	Obs.	16	83	137	GLO ¹ : 0.2381
	Exp.	13.38	85.62	136.97	GLO ² : 0.7619
$X^2 = 0.5932$; d.f : 1; $p > 0.3$					

Table 2. Distribution of salivary glycoprotein phenotypes and gene frequencies in the *Madras* city population.

Samples examined	Phenotype				Gene frequency	
	G1-I	G1-II	G1-III	G1-IV		
140	Obs.	44	49	15	32	G1 ₃ ⁰ : 0.5638
	Exp.	45.77	48.27	13.50	36.46	G1 ₃ ¹ : 0.2443 G1 ₃ ² : 0.1919
$X^2 : 0.7917$; d.f : 1; $p > 0.3$						

Table 3. Distribution of *ABO* phenotypes in the *Madras* city population.

Samples examined	Phenotype				Gene frequency	
	A	B	AB	O		
233	Obs.	51	81	21	80	A : 0.1639
	Exp.	51.02	82.90	19.11	79.99	B : 0.2502 O : 0.5859
$X^2 : 0.2304$; d.f : 1; $p > 0.5$						

Striking variations in the frequency of GLO¹ in the four caste groups mentioned in Table 4 are quite apparent. These variations could be attributed to the isolated nature of these inbred caste populations with frequent occurrence of consanguinous marriages. The frequency of GLO¹ among «*Adi Dravidas*» compares well with the report of *Ghosh* (7).

Table 4. Distribution of the GLO I phenotypes in some caste groups prominent in the Madras city population.

Caste group	Number tested	GLO I phenotype			X ²	Gene frequency
		1-1	1-2	2-2		
<i>Adi Dravidas</i>	38	Obs : 2	11	25	0.336	GLO ¹ : 0.1889
		Exp : 1.36	11.64	24.99	p>0.5	GLO ² : 0.8111
<i>Brahmin</i>	19	Obs : 1	6	12	0.558	GLO ¹ : 0.2053
		Exp : 0.8	6.19	11.99	p>0.8	GLO ² : 0.7947
<i>Mudaliar</i>	40	Obs : 3	16	21	0.0053	GLO ¹ : 0.2755
		Exp : 3.04	15.97	20.99	p>0.9	GLO ² : 0.7245
<i>Naicker</i>	11	Obs : 1	5	5	0.0257	GLO ¹ : 0.3258
		Exp : 1.17	4.83	5.00	p>0.8	GLO ² : 0.6742

The phenotype distribution of salivary glycoprotein in the random sample of 140 (different from the already reported 178 persons, ref. 5) also correlates well with the expected number of phenotypes calculated based on the gene frequencies reported earlier (5).

With the linkage of GLO I locus to the *HLA* loci having already been established as also the reported presence of the salivary protein complex genes on the short arm of chromosome 6 (8), these two polymorphic systems namely glyoxalase I and salivary glycoprotein offer exciting prospects in population studies, paternity testing and also in disease association studies.

Acknowledgement

The financial assistance provided by the *Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi (BN)* and *Bureau of Police Research and Development, New Delhi (BKM)* is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- 1 — Kompf, J., Bissbort, S., Gussman, S., Ritter, H. (1975) *Humangenetik*, **27**, 141-143.
- 2 — Emes, E.G., Parkin, B.N. (1980) *Forensic Science International*, **15**, 265-271.
- 3 — Stohlmacher, P., Haferland, W. (1980) *Z. Rechtsmed.*, **85**, 165.
- 4 — Mcera Khan, P., Volkers, W.S., Doppert, B.A., Gijuen, A.B., Schreuder, I., Van Rood, J.J. (1976) *Cytogenet. Cell Genet.*, **16**, 328-330.
- 5 — Naziruddin, B., Damodaran, C., Chandra Sekharan, P. (1983) *Proceedings of the 1st Asian Pacific Congress on Legal Medicine and Forensic Sciences*, pp 221-223, Singapore.
- 6 — Scott, A.C., Fowler, J.C.S. (1982) *Forensic Science International*, **20**, 287-294.
- 7 — Ghosh, A.K. (1977) *Human Genetics*, **39**, 91-95.
- 8 — Goodman, P.A., Yu, P.L., Azen, E.A., Karn, R.C. (1984) *Amer. J. Human Genet.*, **34**, 182A (abstr. 518).

Reprints request to :

C. Damodaran
Forensic Sciences Dept.
Madras - 600 004
India

Immune Precipitation Technique to Detect ABO Antigenes from Dry Bloodstain

N. GUNACHANDRAN, C. DAMODARAN, P. CHANDRA SEKCHARAN

Forensic Sciences Department, Madras - 600 004, India

KURUMUŞ KAN LEKELERİNDE ABO ANTİJENLERİNİN ARANMASI İÇİN İMMUN PRESİPİTASYON TEKNİĞİ

Özet

Poliyetilen glikol (PEG) olarak bilinen sentetik bir polimer kullanılarak, immün komplekslerin aranması için yeni bir teknik geliştirildi ve bu teknik kurumuş kan lekelerinde ABO tesbiti için uygulandı. 16 günlük kan lekelerinin taze lizatları ve ekstraları incelendi; ABO antijenlerinin PEG'in % 4-10 arasındaki konsantrasyonlarında aranabildiği görüldü. *Anti-A* ve *anti-B* antikorları % 10 PEG içerisinde solubl iken bu antikorlarla meydana gelen immün komplekslerin aynı solüsyonda çöktükleri gözlemlendi. *Anti-A* ve *anti-B* antikorlarıyla oluşan çökeltiler, PEG'in % 7'lik konsantrasyonuna kadar incelenebildiler. *H* antijeninin karşıtı olan Ulex lektin de % 10 PEG içerisinde solubl kahyordu. Bu lektin ile oluşan kompleks % 5'lik bir PEG konsantrasyonuna kadar çöktürülebildi. PEG kullanılarak uygulanan immün presipitasyon tekniği, diğer yöntemlerle kıyaslandığında, daha basit ve güvenilir bulundu. Yöntemde yapılacak bazı modifikasyonlarla, başka vücut sıvılarında ve bunların lekelerinde de gerek ABO gerekse HLA antijenlerinin aranabilmesi mümkündür.

Summary

A new precipitation technique has been developed for detecting immune complexes using a synthetic polymer, namely polyethylene glycol (PEG) and applied for the detection of ABO antigens from dry bloodstains. Fresh lysates and extracts from 16 days old stains were tested and the ABO antigens could be detected at PEG concentrations of 10 % to 4 %. The *anti-A* and *anti-B* antibodies were soluble in 10 % PEG whereas the immune complexes formed by these antibodies were precipitated at that concentration. The immune precipitate caused by *anti-A* and *anti-B* antibodies were detectable upto a PEG concentration of 7 %. The Ulex lectin against *H* antigen was also soluble at 10 % PEG. The complex formed by this lectin could be precipitated by PEG upto a concentration of 5 %.

When compared to the existing methods this immune precipitation technique using PEG appears simple and reliable. With certain modification this technique can be used for the detection of *ABO* antigens from other body fluids and their stains. There exists the possibility that the *HLA* antigens can also be detected by this technique.

Keywords : *Immune precipitation - ABO antigens - Bloodstain*

INTRODUCTION

Polyethylene glycol (PEG) was used to detect the antigens by causing the precipitation of antigen-antibody complexes. The *ABO* antigens and their antibodies are quite soluble at 10 % PEG whereas the immune complexes (IC) formed by them are insoluble and precipitate at that concentration. These ICs were precipitated upto a low concentration of 7 % PEG. The anti-*H* lectin is soluble at 10 % PEG while the complex formed by it with *H* substance is precipitated at 5 to 10 % PEG. Thus the precipitation of IC at a particular PEG concentration was used to demonstrate the presence of antigen in a qualitative manner.

Farr (1) first demonstrated the precipitation of immunoglobulins using ammonium sulphate. Various other polysaccharides and polymers such as dextran (2), polylysine (3) and polyethylene glycol (4) were shown to cause immune precipitation. Polyethylene glycol was used for the detection of antibody by *Creighton et al* (5). Studies were hence undertaken for the detection of *ABO* antigens from blood lysates and dry stain using PEG and the results are discussed.

MATERIALS AND METHODS

Antisera

Anti-A and *anti-B* antibodies were procured from *M/s Haffkins, Bombay*. The *anti-H* lectin was prepared from the seeds of *Ulex europeus* at our laboratory.

Polyethylene glycol

PEG with an average molecular weight of 6000 was obtained from *M/s Sisco Research Laboratory, Bombay*.

Antigen

Blood lysates as well as stains on clean cotton cloth were prepared from *A, B, AB* and *O* group volunteers of our laboratory. The lysates were kept at 4°C while the stains were allowed to remain at room temperature (32°C) for 16 days.

Buffer

All serum dilutions, antigen preparations and PEG preparations were done in borate buffer (5), ionic strength 0.1, pH 8.3 to 8.5.

Solubility of antibodies and lectin in PEG

The solubility of *anti-A* and *anti-B* antibodies and lectin was studied in different concentrations of PEG. The antibodies and lectin were diluted (1 : 5) in borate buffer and 50 μ l of the dilution was dissolved in 5 to 40 % PEG prepared in buffer, the final volume being 0.2 ml in separate *Felix* tubes, mixed well and left at 4°C overnight; centrifuged at 5000 rpm for 10 minutes at 4°C and observed for precipitation.

Precipitation test for immune complex

To one volume of diluted lysate (1 : 80), one volume of each antibody and lectin dilutions (1 : 5) were added separately and incubated for 4 hours at room temperature or overnight at 4°C. The antigen-antibody/lectin mixtures were then mixed with PEG, 0.2 ml as the total volume to a final concentration of 4 to 10 % in separate *Felix* tubes and kept at 4°C overnight; centrifuged at 5000 rpm for 10 minutes at 4°C and observed for precipitation. Control tubes without antibody or lectin dilutions were also kept in parallel.

Stain extracts were prepared by keeping pieces of stained thread with buffer (50 μ l for 1 cm thread) in separate wells of microtitre plate kept on a metabolic shaker for 30 minutes. The same protocol as for lysate was then followed for the stain extracts also.

RESULTS**Solubility of antibodies and lectin**

The *anti-A* and *anti-B* antibodies were found completely soluble at 5 %, 7 % and 8 % PEG but precipitated above 10 % PEG. The solubility at 10 % PEG was very poor. The *anti-H* lectin was quite soluble at 10 % and below (Table 1).

Table 1. The precipitation of antibodies and lectin in polyethylene glycol.

Antibody/lectin (1 : 5) 50 μ l	Polyethylene glycol in borate buffer (0.2 ml)						
	40 %	25 %	20 %	10 %	8 %	7 %	5 %
<i>Anti-A</i>	++	+	+	±	—	—	—
<i>Anti-B</i>	++	++	+	±	—	—	—
<i>Anti-H lectin</i>	++	++	+	—	—	—	—

Precipitation of immune complexes

The respective ICs formed by *anti-A* and *anti-B* antibodies both in lysate and stain extract experiments gave similar results as shown in Table 2. Clear precipitate was noticed in 10 % and 7 % PEG while poor precipitate was found in 6.5 % PEG. The complex formed by *anti-H* lectin was fairly precipitated at 10 %, 8 %, 7 %, 6.5 % and 5 % while it was poor at 4 % PEG.

Table 2. The precipitation of immune complexes in polyethylene glycol.

Antibody/ lectin	Antigen	In lysate						In stain extract					
		PEG in borate buffer						PEG in borate buffer					
		10%	8%	7%	6.5%	5%	4%	10%	8%	7%	6.5%	5%	4%
<i>Anti-A</i>	A	+	+	+	+	±	—	+	+	+	+	—	—
	B	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	AB	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	—	—
	O	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
<i>Anti-B</i>	A	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	B	+	+	+	+	±	—	+	+	+	+	—	—
	AB	+	+	+	+	±	—	+	+	+	+	+	—
	O	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
<i>Anti-H lectin</i>	A	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	—
	AB	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	±
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>No anti- body or lectin</i>	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	AB	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	O	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

DISCUSSION

The antibodies which were highly soluble at 7.5 % PEG and below were precipitated at the same concentration when bound with the antigen. The *anti-H* lectin which was quite soluble at 10 % and below PEG was precipitated upto a low concentration of 5 % PEG when treated with the lysate and stain extract.

Thus when a known antibody or lectin causes a precipitation in the presence of a low PEG concentration at which it ought to be quite soluble, it indicates that an immune complex has been formed and precipitated. This enables the detection of the corresponding antigen.

When an IC is formed between an antigen and antibody the molecular size and molecular weight of the complex differs from that of antigen or antibody alone. This physico-chemical change causes the precipitation of the complexes upto a particular low PEG concentration by a possible mechanism known as molecular solvent exclusion effect (5).

As the forensic case works are more concerned about the qualitative detection of the antigen in a given stain this simple technique will be more useful when compared with some of the existing methods (6). With appropriate modifications this technique can be applied to the detection of ABO antigens from other body fluids and their stains. HLA antigens can also be detected by this technique in a similar fashion.

Acknowledgement

Our thanks are due to Dr. G. Jayaraman of Jawaharlal Nehru University, New Delhi and to our colleagues at the Forensic Sciences Department, Madras, for their help.

REFERENCES

- 1 — Farr, R.S. (1958) *J. Infect. Dis.*, **103**, 239 (*loc. cit. Creighton, W.D. et al., J. Immunol.*, **III**, 1219, 1973).
- 2 — Hellasing, K. (1966) *Acta Chem. Scand.*, **20**, 1251 (*loc. cit. ditto*).
- 3 — Stahman, M.A., Mathews, R.E.F. (1954) *J. Immunol.*, **72**, 435 (*loc. cit. ditto*).
- 4 — Harrington, J.C., Fenton, J.W., Pert, J.H. (1971) *Immunochemistry*, **8**, 413 (*loc. cit. ditto*).
- 5 — Creighton, W.D., Lambert, P.H., Miescher, P.A. (1973) *J. Immunol.*, **III**, 1219.
- 6 — Lee, H.C. (1982) in *Forensic Science Handbook*, (Saferstein, R., ed) pp. 297 - 337, Prentice Hall International Inc., New Jersey.

Reprints request to :

C. Damodaran
Forensic Sciences Dept.
Madras - 600 004
India

Micro-immune Adherence in Forensic Hemogenetics

C. DAMODARAN, N. GUNACHANDRAN, P. CHANDRA SEKCHARAN

Forensic Sciences Department, Madras - 600 004, India

ADLİ HEMOGENETİK İNCELEMELERİNDE MİKRO-İMMUN ADHERENS YÖNTEMİ

Özet

İmmun adherens fenomeninden yararlanılarak uygulanan bir mikro-metod, *ABO* ve *HLA* sistemlerinin muayyen antijenlerini göstermek üzere geliştirildi. Kullanılmakta olan diğer tekniklerle karşılaştırıldığında basitliği ve hızlı çalışması ile dikkati çekmekteydi. Ayrıca kan grubu elemanlarının, vücudun muhtelif sıvılarında ve bunların lekelerinde de tesbiti için kullanılabilir özellikte bulundu. Yaptığımız deneysel çalışmalarda, üzerlerinden değişik süreler geçmiş olan kan ve tükürük lekelerinde *ABO* sisteminin *A* ve *B* antijenleri ile kan lekelerinde *HLA-A₁* antijeni araştırıldı. Birkaç başka antijen aranması atılımları da düşünülmekte ve yazımızda, bu yeni yöntemin olumlu sonuçları sunulmaktadır.

Summary

A micro-method utilising the immune adherence phenomenon has been developed for monitoring certain antigens of the *ABO* and *HLA* systems. The method is simple and rapid when compared to the existing techniques and can also be employed to detect blood group substances from other body fluids and their stains. The detection of *A* and *B* antigens of *ABO* system from variously aged blood stains and saliva stains and *HLA-A₁* antigen from blood stain, using this method has been experimentally tested. Attempts for the detection of few other antigens are also underway. The positive significance of this novel method is presented.

Keywords : *Immune adherence - ABO - HLA - Stains*

INTRODUCTION

The presence of immune adherence (IA) receptor sites on the membrane of certain cells (*indicator cells*) causes their adherence to the antigen-antibody-complement complexes (1-3). This adherence causes the formation of rosettes

of various types with the indicator cells (4,5). This IA reactivity requires the presence of an immune complex ie. antigen-antibody and at least four components of the *complement system* ie. C1, 2,4 and 3. The C3, the essential prerequisite for IA reaction (6-8), is converted by the action of C142, to C3b which binds with C142 through one of its binding sites and causes the adherence of indicator particles through a different binding site (9). Thus an antigen including soluble antigens, starch granules etc. if appropriately sensitized with antibody and complement, is capable of causing IA of non-sensitized indicator erythrocytes (7). Based on this principle, certain experiments were conducted to demonstrate the presence or absence of certain antigens of *ABO system* from blood and saliva stain and *HLA-A₁* antigen from bloodstain.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

Isotonic veronal buffered saline (VBS, pH 7.3) containing 0.1 % bovine serum albumin, Mg^{++} and Ca^{++} was prepared ($\mu = 0.15$) with slight modifications of the previously described procedure (10). If necessary 0.01 M *EDTA* was employed to block the action of complement.

Antisera

Anti-A and *anti-B* antibodies supplied by *M/s Haffkins, Bombay* were used in various dilutions (upto 1 : 32); 2 μ l of serum or its dilutions was placed under mineral oil in *Terasaki* micro-test plates using a repeating dispenser and stored at 4°C.

Anti HLA-A₁ sera CDM 153 and CDM 206 from our collection and a positive control serum FD 215 (gift from *NIH, USA*) were used in this experiment in various dilutions (upto 1 : 64). 2 μ l of serum or its dilutions was placed under mineral oil in micro-test plates and stored at -20°C.

Complement

Human complement : *ABO* compatible normal serum was collected from laboratory staff and stored in aliquots at -80°C. The complement was used in 1 : 40 and 1 : 80 dilutions in VBS^{++} (10-12) after absorption with human RBCs.

Indicator particles

Erythrocytes from normal *O Rh(+)* individuals were used as indicator particles (4). Blood was collected either in VBS or in 0.01 M *EDTA*, washed three times in VBS and kept at 4°C suspended in VBS after adjusting the cell count to $1 \times 10^7/ml$ or $2 \times 10^7/ml$. The cells were stored not more than 3 days.

Antigen source

Red cell lysates for normal *A*, *B*, *AB* and *O* individuals were prepared separately either by freeze thawing or by adding distilled water. Blood from one *HLA-A₁* individual and from a non *HLA-A₁* individual was separately collected in test tubes and lysates were prepared by adding distilled water. Whenever distilled water was used the isotonicity was restored by adding hypertonic veronal buffer (7). The lysates were stored at 4°C until use. Saliva from five of our laboratory staff of different blood groups (one *A* and four *B*) were collected in separate tubes, centrifuged at 5000 rpm for 15 minutes at 4°C and the supernatant stored at 4°C until use.

Blood and saliva stains were also prepared on clean cotton cloth and stored at room temperature. Extracts of dry bloodstain and saliva stain were prepared by stained thread in 100 µl of VBS in microtitre plates placed on a metabolic shaker for 15 minutes. These extracts were then aspirated into small tubes and centrifuged for 10 minutes at 1000 rpm.

Micro-immune adherence test*1 — A and B antigens of ABO system*

Micro-test plates with 2 µl of *anti-A* and *anti-B* serum in dilutions (neat, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 and 1/32) were taken and 2 µl blood of lysate (1 : 40) added to each well. The plate was incubated at room temperature for 30 minutes with occasional shaking. 2 µl of 1 : 40 human complement in VBS⁺⁺ was then added to each well and incubated for 30 minutes at 37°C with constant shaking. This was followed by the addition of 2 µl of indicator particles (2×10^7 /ml erythrocytes) and a final incubation for 60 minutes at 37°C with constant shaking. Similar protocol was followed for the stain extract experiment also.

A slightly modified protocol with 1 : 80 complement and two stage incubation with 1×10^7 /ml indicator particles was followed for the experiments with neat saliva and extracts of saliva stains.

2 — HLA-A₁ antigen in blood

2 µl of lysate in 1 : 80 dilution or stain extract was added to each of the wells with *HLA* sera CIM 153, CDM 206 and FD 215 and incubated for 30 minutes at 25°C with rotation. The other steps were similar to that of saliva experiment.

During each experiment the following controls were also maintained :

- a) antiserum + complement + indicator particles,
- b) antiserum + antigen solution + indicator particles,
- c) antigen solution + complement + indicator particles,
- d) complement + indicator particles.

In the *HLA-A₁* experiment an additional control (antiserum + lysate from an *AB* individual + complement + indicator particles) was also maintained.

After each experiment the IA reactivity was observed under microscope and scoring was given as -, + and ++.

RESULTS

The scoring of IA reactivity was uniformly good in the appropriate serum wells. The results of saliva experiments were similar to those obtained earlier in absorption inhibition method (13). None of the above controls gave positive reactions.

A and B antigens of ABO system

In the lysate experiment, 'A' lysate gave positive reactions only in *anti-A* wells upto 1 : 32 serum dilution; 'B' lysate gave positive reactions only in *anti-B* wells upto 1 : 32 serum dilutions; 'A B' lysate gave positive reactions in both *anti-A* and *anti-B* wells upto 1 : 32 serum dilutions; but 'O' lysate did not give any reaction in any well. Similar reactions were seen in the stain extract experiment using A, B and AB control stains.

In the saliva experiment four of the five samples gave varying degree of IA reaction in the appropriate antiserum wells. One of the 'B' samples did not give any reaction indicating a non-secretor. The results for 'A' saliva was good upto 1 : 16 serum dilution while that of 'B' saliva was good upto 1 : 8 serum dilutions. The extract of 30 hours old 'A' saliva stain was giving reactions upto 1 : 32 serum dilution while that of 'B' saliva stain was giving reactions upto 1 : 16.

HLA-A₁ antigen

Both the lysates of A1 and non A1 gave good reactions with FD 215 upto 1 : 64 serum dilution. In CDM 153 and CDM 206 only the A1 lysate gave reaction upto 1 : 64 serum dilution while the non A1 lysate gave no reactions. In the experiment using extracts of 30 hours old stain also similar reactions were noticed in FD 215 upto 1 : 32 serum dilution. In CDM 153 and CDM 206 only the A1 extract reacted upto 1 : 64 and 1 : 32 serum dilutions respectively. The non A1 extract gave no reactions with CDM 153 and CDM 206 except one reaction with CDM 206 in neat.

DISCUSSION

There are many techniques reported for the detection of soluble *HLA antigens* in bloodstains and other body fluids (14-18). We have also already indicated the utility of micro immune adherence in forensic hemogenetics and

that the experiments of Sell (19) and Thulstrup (20) could be purposefully explored for the detection of *HLA antigens* in various biological stains (21). Since *HLA antigens* also occur in soluble form and are immunogenetically active they can cause IA in the presence of appropriate antibody and complement. Our experiments have also given encouraging results as discussed earlier and we hope to come up soon with more refinements for wide applications. However care must be taken to work out in each occasion the optimal serum dilution, complement dilution, ionic strength etc (10-12, 22) which factors are critical for IA.

REFERENCES

- 1 — Roitt, I.M. (1982) *Essential Immunology*, p. 161, ELBS and Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- 2 — Eden, A., Bianco, C., Nussenzweig, V. (1971) *J. Immunol.*, **107**, 321.
- 3 — Eden, A., Bianco, C., Nussenzweig, V., Mayer, M.M. (1973) *J. Immunol.*, **110**, 1452 - 1453.
- 4 — Miyakawa, Y., Tanigaki, N., Yagi, Y., Cohen, E., Pressman, D. (1971) *J. Immunol.*, **106**, 681 - 688.
- 5 — Van Boxel, J.A., Paul, W.E., Frank, M.M., Green, I. (1973) *J. Immunol.*, **110**, 1027 - 1036.
- 6 — Nelson, R.A. Jr. (1971) *J. Immunol.*, **107**, 315 - 316.
- 7 — Petz, L., Fundenberg, H., Fink, D. (1971) *J. Immunol.*, **107**, 1714 - 1722.
- 8 — Frank, M.M., Ellman, L., Green, I., Cochrane, C.C. (1973) *J. Immunol.*, **110**, 1447 - 1451.
- 9 — Rommel, F.A., Mayer, M.M. (1973) *J. Immunol.*, **110**, 637 - 647.
- 10 — Inscott, W.D. (1971) *J. Immunol.*, **107**, 698 - 704.
- 11 — Fine, D.P., Marney, S.R. Jr., Colley, D.G., Sargent, J.S., Des Prez, R.M. (1972) *J. Immunol.*, **109**, 807 - 809.
- 12 — Loos, M., Borsos, T., Rapp, H.J. (1973) *J. Immunol.*, **110**, 205 - 212.
- 13 — Lee, H.C. (1982) in *Forensic Science Handbook* (Saferstein, R., ed), pp. 297 - 337, Prentice Hall International Inc., New Jersey.
- 14 — Rittner, Ch., Waiyawuth, V. (1974) *J. Immunogenet.*, **1**, 99 - 111.
- 15 — Rittner, Ch., Waiyawuth, V. (1975) *J. Immunogenet.*, **2**, 211 - 222.
- 16 — Newall, P.J. (1979) *Canad. Soc. Forensic Sci. J.*, **12**, 1 - 16.
- 17 — Hodge, D.G., Wolf, E., Lincoln, P.J., Festenstein, H., Dodd, B.E. (1980) *Med. Sci. Law*, **20**, 213 - 220.

- 18 — Bishara, A., Brautbar, C., Marbach, A., Bonavida, B., Nelken, D. (1983) *J. Immunol. Methods*, **62**, 265 - 271.
- 19 — Sell, K.W. (1970) in *Histocompatibility Testing 1970*, (Terasaki, P.I., ed) pp. 619 - 621, Munksgaard, Copenhagen.
- 20 — Thulstrup, H. (1970) in *Histocompatibility Testing 1970*, (Terasaki, P.I., ed) pp. 559 - 601, Munksgaard, Copenhagen.
- 21 — Gunachandran, N., Damodaran, C., Chandra Sekharan, P. (1985) *J. Forensic Sci. Soc. India*, **1**, 25 - 35.
- 22 — Ruddy, S., Austen, K.F. (1971) *J. Immunol.*, **107**, 742 - 750.

Reprints request to :

C. Damodaran
Forensic Sciences Dept.
Madras - 600 004
India

Epidural Hematomalarda Bilgisayarlı Tomografi ve Adli Tıp Açısından Değeri

FÜRÜZAN NUMAN^{a)}, KEMAL DEMİR^{a)}, SELÇUK ÇAMUŞCU^{a)},
OKTAY ÇOKYÜKSEL^{a, b)}

a) İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Radyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

b) Adli Tıp Kurumu, İstanbul, Türkiye

CT-SCAN OF EPIDURAL HEMATOMAS AND ITS VALUE IN FORENSIC MEDICINE

Summary

Acute epidural hematomas appear in the CT-scan as biconvex, rarely planconvex, zones of increased density adjacent to the calvarium. Chronic epidural hematomas (more than 2 weeks) are characterized by an area between the calvarium and the displaced dura mater which may appear as a zone of slightly increased, normal or slightly decreased density as compared to normal brain tissue. Calcification of the displaced dura mater may take place in chronic forms. Epidural hematoma's mass effect on sulci and ventricle systems will regress when they become chronic. CT's tomodensitometric peculiarities make it possible to differentiate acute hematomas from chronic hematomas.

In Forensic Medicine, this creates a great benefit on cases which have more than one trauma on their history. In our report, which includes 25 cases, cardinal findings are described and the symptoms which should be considered to show the age of hematomas, are discussed.

Keywords : *Epidural hematoma-CT-scanning-Age of hematoma*

Özet

Akut epidural hematomalar komputerize tomogram (CT) kesitlerinde kalvaryuma bitişik, homojen-hiperdans, bikonveks alanlar şeklinde görülürler. CT'nin tomodansitometrik özellikleri dolayısıyla akut ve kronik (iki haftadan uzun süreli) hematomların ayırıcı tanısı mümkün olabilmekte, bu da özellikle anamnezinde birden çok travma olan olgularda Adli Tıp açısından büyük yarar sağlamaktadır. 25 olgudan oluşan dizimizde, epidural hematomaların kardinal bulguları belirtilmiş, hematoma yaşının belirlenmesinde dikkate alınacak semptomlar irdelenmiştir.

GİRİŞ

Epidural hematomlar, olguların büyük çoğunluğunda *A. meningeae media* ve anadallarının yaralanması sonucu oluşurlar (% 80); ender olarak venöz bir kanama sonucu da ortaya çıkabilirler (1, 2). Epidural hematomlarda travmaya rağmen her zaman bir kranyum fraktürü saptamak mümkün olmamaktadır (2). Her yaş grubunda bulunabilen bu hematomların klâsik klinik tabloları bifaziktir. Başağrısı, kusma, bilinç bozukluğu, homolateral midriasis ve kontrolateral hemipleji gibi belirtiler bilinç düzensizliği olup olmaksızın *lucid interval*'i tâkiben gelişir. Frontal bölge ve arkaçukur gibi atipik lokalizasyonlarda bu klâsik klinik tablo oluşmaz. Orta beyin veya bulber sendrom ciddi olgularda hemen gelişir. İnfantil ve genç çocuklarda, apati ve hemorajik şok en sık görülen semptomlardandır.

Epidural hematomlar ekseri temporoparietal, daha ender olarak da frontal, oksipital veya infratentorial bulunurlar. Supratentorial hematomlar, infratentorial hematomlara göre 5 kez daha fazla görülürler (3).

Akut epidural hematomlar, komputeze tomogram (CT) kesitlerinde kalvaryuma bitişik, homojen hiperdans, bikonveks alanlar şeklinde görülürler. Ancak, CT esnasında içinde koagüle olmamış taze kan bulunan epidural hematomların bu bölümleri, normal beyin dokusu yoğunluğunda veya hipodansdır. Hematomun bikonveks formunun nedeni ise kalvaryuma sıkıca yapışık olan dura materin kanın yayılmasını önlemesidir.

Hemostaz bozukluğu olan olgularda kan pıhtılaşmadığı için, epidural hematom tamamen normal beyin dokusu yoğunluğunda olabilir. Böyle durumlarda, hematom beyin dokusundan ince bir konturla ayrılmaktadır. Bu konturun da görülemediği durumlarda, deplase dura intravenöz kontrast madde verilerek gösterilebilmekte ve hematomun büyüklüğü saptanabilmektedir. İki haftadan daha uzun süreli (kronik) epidural hematomlar kalvaryumla dura arasında normal beyin dokusuna göre hafif hiperdans, hafif hipodans veya izodans görülebilir. Dura kalsifiye olabilir. Epidural hematomların CT tanısı, spesifik lokalizasyonu, formu ve subaraknoidal mesafeler ile ventriküllere yaptığı kitle etkisi sebebiyle kolaylıkla ve kesin olarak konmaktadır (4, 5, 6).

Bu çalışmanın amacı, CT'nin tomodansitometrik özelliği nedeniyle, anamnezinde birden fazla travma olan olgularda, bu yöntemle epidural hematomun yaşı hakkında Adli Tıp açısından sağlıklı bir sonuca varılabile-

ceğini kanıtlamak ve travmaların hangisinin epidural kanamaya yol açtığını tesbit etmek, ayrıca *Adli Tıp Kurumu'nun İhtisas Kurulları*'nda giderek artan sayıda görülmeye başlanan CT filmleriyle ilgili özet bilgileri hekimlere sunmaktır.

MATERYAL VE METOD

11 Şubat 1981 - 9 Mayıs 1985 tarihleri arasında bilgisayarlı tomografi (CT) tetkiki yapılan 158 kraniyo-serebral travmalı olgunun 25'inde epidural hematoma saptadık. Olguları ND 8000 ve Somatom 2 BT cihazlarıyla inceledik. Kesitler orbito-meatal plana paralel olarak ND 8000'de posterior fossa için 6 mm, supratentorial alan için 9 mm seçilirken Somatom 2'de tüm kranyum 8 mm'lik kesitlerle tarandı.

BULGULAR

Olguların 20'si erkek, 5'i kadındır. Yaş dağılımları ilk 5 dekad içerisinde homojen bir dağılım göstermekte, ileri yaşta sadece bir olgu görülmektedir.

Tablomuzda özetlendiği gibi, travma zamanı bilinen 12 olgunun birinin 1. gün, ikisinin 7. gün, üçünün 2. gün, ikisinin 9. gün, birinin 14. gün, birinin ise 21. gün CT'leri yapılmıştır. Bu olguların 10'unun epidural hematomları diffuz homojen hiperdans karakterdedir. Ayrıca, 9 ve 14 günlük olan iki olgunun hematomu hiperdans ve hipodans alanlar içermektedir. Travma zamanı bilinmeyen 13 olgunun 11'indeki epidural hematomlar homojen hiperdans, 2 olguda ise yoğunluk, özellikle duraya komşu medial bölümde çok azalmış olarak görülmektedir. Yoğunlukları nonhomojen olan toplam 4 olgunun duraları kalınlaşmıştır. Anamnezinde iki ayrı travma tarihi bulunan 8. olgumuzda, homojen hiperdans epidural hematoma saptanması olayın akut olduğunu vurgulamaktadır; 10.6.1983 ve 1.9.1983 tarihlerinde iki ayrı travma geçirmiş olan hastada, 8.9.1983 tarihli CT tetkiki akut bir subdural hematomun varlığını göstermiş, böylece lezyona yol açan travmanın yakın tarihli travma olduğu kanıtlanmıştır.

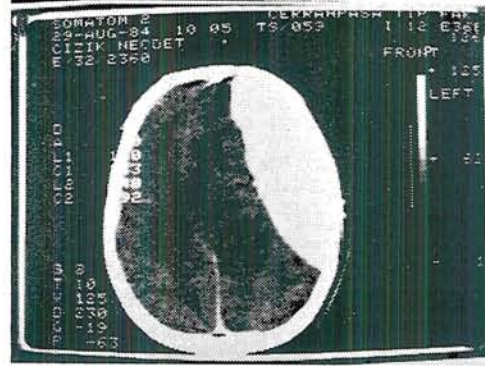
Ventriküler sistem kompresyonu ve sulkuslarda silinme, epidural hematomların oluşturduğu kitle etkisini gösteren ortak özellikleridir. Orta hat sapması (*septum pellicidum* deplasmanı) 5 olguda 1 cm'in üzerinde, 8 olguda 1 cm'in altındadır. 22 olguda ise orta hat yapılarında hiç deplasman yoktur. Diğer bulgular tablomuzda özetlenmiştir.

Tablo 1. 25 epidural hematoma olgusundan elde edilen CT bulguları (F = frontal, O = oksipital, P = parietal, T = temporal, İ.T. = infratentorial).

No	Prot. No	Adı	Yaş/Sex	Travma Tarihi	CT Tarihi	Lokalizasyon	Epidural Kanama Özellikleri		Orta Hat Sapması	Epidural Kanamaya Ek Lezyon
							Akut	Kronik		
1	438	A.E.	9 E	-	2.11.1981	Sağ T	+		10 mm <	Sağ temporalde iki fraktür hattı
2	504	N.O.	6 E	-	18.11.1981	Sağ T		+	-	-
3	918	Ş.O.	13 E	26. 1.1982	27. 1.1982	Sol O İ.T.	+		-	-
4	1956	E.K.	39 E	-	1. 9.1982	Sağ T	+		10 mm <	-
5	2290	D.D.	20 K	-	25.11.1982	Sağ TP	+		10 mm <	Skalp hematoma (Sağ TP)
6	3209	A.N.	20 E	-	20. 5.1983	Sağ T	+		10 mm >	Sol fronto-temporal, intraserebral hematoma
7	3321	A.Ş.	18 E	26. 5.1983	6. 6.1983	Sol T	+		10 mm <	Sol TP fraktür
8	3795	H.Ö.	11 E	10. 6.1983 ve 1.9.1983	8. 9.1983	Sol F	+		-	-
9	3920	U.Ç.	16 E	15. 7.1983	17.10.1983	Sol O		+	-	Sol occipital çökme fraktürü, sol OP intraserebral hematoma
10	4006	A.T.	33 K	20.10.1983	27.10.1983	Sağ TP	+		10 mm >	-
11	127.S	A.Ç.	36 E	14.11.1983	16.11.1983	Sağ TOP	+		10 mm >	-
12	165.S	M.T.	25 E	-	22.11.1983	Sol TOP	+		10 mm >	-
13	4097	F.D.	42 K	23.11.1983	23.11.1983	Sol P	+		10 mm <	Sol parietal fraktür
14	193.S	Ö.Y.	17 E	9.11.1983	28.11.1983	Sağ F		+	10 mm <	-
15	4244	A.B.	16 K	-	23. 1.1984	Sol P	+		-	Diffüz serebral ödem
16	4288	B.E.	46 E	-	31. 1.1984	Sağ P	+		-	-
17	1720.S	S.K.	4 K	6. 6.1984	8. 6.1984	Sol OP	+		10 mm <	Sefal hematoma, sol parietalde parçalı fraktür, sol parietal
18	2169.S	F.K.	8 E	23. 7.1984	6. 8.1984	Sol TO		+	10 mm <	Sol OP skalp hematoma, sol TP fraktür
19	2305.S	S.Ç.	30 E	-	22. 8.1984	Sağ FP	+		-	Sağ parietal fraktür
20	2360.S	N.Ç.	32 E	-	29. 8.1984	Sol FTP	+		10 mm >	Sol fronto-temporal çökme kırığı, Subaraknoidal kanama
21	2911.S	M.S.	24 E	28.10.1984	6.11.1984	Sol FP	+		10 mm <	Sol FP skalp hematoma
22	2922.S	M.B.	5 E	-	6.11.1984	Sol O İ.T.	+		-	-
23	3414.S	S.S.	48 E	24.12.1984	14. 1.1985	Sağ T		+	-	-
24	3977.S	A.D.	70 E	-	21. 2.1985	Sağ-Sol F	+		-	Sol temporal fraktür
25	4943.S	S.O.	6 E	-	9. 5.1985	Sağ P	+		-	Sağ fronto-parietal skalp hematoma, frontalde fraktür.

TARTIŞMA ve SONUÇ

CT epidural hematomları ve yol açtığı patolojik değişiklikleri değerlendirmede kullanılan en geçerli radyolojik yöntemdir. CT ile lezyonun lokalizasyonu, birlikte oluşan diğer intrakranyal travmatik lezyonlar, orta hat sapması ve ventrikül sistemi basısı doğru olarak saptanmaktadır. Tomodansitometrik özelliği nedeniyle kanamanın yaşı hakkında fikir verebilmektedir. Bu, adli tıp açısından yararlıdır. İlk bir hafta içerisinde CT tetkiki yaptığımız olguların tümü homojen hiperdans özelliktedir. Temporal lokalizasyonlu olgular, büyüklükleri ile orantılı olarak orta hat sapmasına yol açmakta, diğer lokalizasyonlar ise daha çok ventrikül sisteminin bir bölümüne baskı yapmaktadırlar. Başka intraserebral travmatik lezyon varsa hematomun kitle etkisi artmaktadır (7-9) (Resim 1).

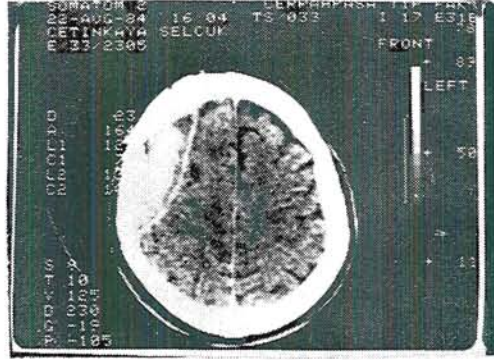


Resim 1. (Olgu 20). Sol frontotemporal bölgede homojen hiperdans karakterde medial konturu konveks akut epidural hematoma. Orta hat oluşumlarında 1 cm'den fazla sağa deplasman mevcuttur. Sol lateral ventrikül korpusu deforme görünümde ve sağa itilmiştir.

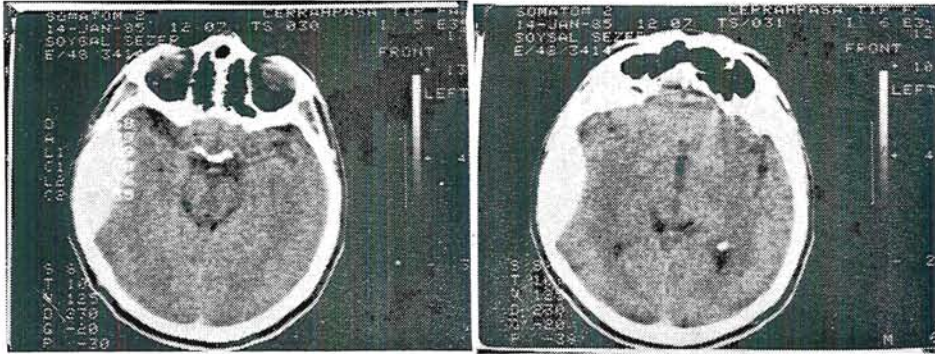
Akut epidural hematoma'nın bu bulgularına karşılık, iki haftadan daha uzun süreli (kronik) epidural hematoma'lar hafif hiperdans, izodans veya hafif hipodans görülmektedir (Resim 2). Durada kalsifikasyon saptanabilir.

Epidural hematoma'nın rezorpsiyonunun geç ve güç olması sebebiyle yoğunlukları bazan uzun süre değişmeden kalmaktadır (10). Travmadan 21 gün sonra CT yapılan bir olgumuzda epidural hematoma, homojen hiperdans karakterde bulunmuştur. Ancak, bu kanamanın oldukça büyük hacimli

bulunmasına karşın, gerek sulkuslara gerekse ventrikül sistemi üzerine kitle etkisi bulunmayışı dikkati çekmektedir (Resim 3). Bu bulgu, epidural hematoma süresinin belirlenmesi sırasında, yalnızca hematomun dansitesinde değil, kitle etkisinde de zamanla bir regresyon meydana geldiğinin gözönünde bulundurmanın gereğini göstermektedir.



Resim 2. (Olgu 19). Travmadan 14 gün sonra yapılan incelemede sağ parietal bölgede saptanan kronik epidural hematoma. Lezyonun medial konturunu yapan duranın kalın olarak görülmesi ve hematomun duraya komşu bölümünün yoğunluğunun hipodans karakterde olması dikkati çekmektedir. Ayrıca kitle etkisindeki azalma nedeniyle lezyona komşu sulkuslar açık olarak izlenebilmektedir.



Resim 3. a/b (Olgu 23). Kraniyoserebral travmadan 21 gün sonra yapılan CT incelenmesinde, temporal bölgeden geçen iki aksial kesit. Sağ temporal bölgede lokalize epidural hematomun yoğunluğunda belirgin bir azalma görülmemektedir. Ancak, bu büyüklükte bir hematomun varlığında, orta hat yapılarının normal yerinde olması kitle etkisinde zamanla bir regresyonun meydana geldiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, CT, epidural lezyonların teşhis ve prognozunun tayininde olduğu gibi, epidural hematomların yaşı ile ilgili değerli bilgiler vermekte ve bu nedenle adli tıp için vazgeçilmez bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1 — Friedmann, G., Bücheler, E., Thurn, P. (1981) *Ganzkörper-Computertomographie*, pp. 69-70, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York.
- 2 — Lanksch, W., Grumme, Th., Kazner, E. (1979) *Computed Tomography in Head Injuries*, pp. 17-32, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- 3 — Merino-De Villasante, J., Taveras, J.M. (1976) *Amer. J. Roentgenol.*, **126**, 765 - 778.
- 4 — Ericson, K., Hakansson, S. (1981) *Acta Radiologica*, **22**, 513 - 519.
- 5 — Zimmerman, R.A., Bilaniuk, L.T., Gennarelli, T., Bruce, D., Dolinskas, C. Uzzell, B. (1978) *Amer. J. Roentgenol.*, **131**, 27 - 34.
- 6 — Scott, W.R., New, P.F.J., Davis, K.R., Schnur, A.J. (1974) *Radiology*, **112**, 73 - 80.
- 7 — Yamada, H. (1983) *Pediatric Cranial Computed Tomography*, Igaku-Shoin, pp. 208 - 218, Tokyo, New York.
- 8 — Lee, S.H., Rao, K.C.V.G. (1983) *Cranial Computed Tomography*, pp. 479 - 501, McGraw - Hill Book Co., New York, Toronto.
- 9 — Amendola, M.A., Ostrum, B.J. (1977) *Amer. J. Roentgenol.*, **129**, 693 - 697.
- 10 — Bergstrom, M. (1977) *J. Comput. Assist. Tomogr.*, **1**, 449-455.

Ayrı baskı için :

Prof. Dr. Oktay Çokyüksel
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Radyoloji Anabilim Dalı
Cerrahpaşa, İstanbul

Detection of Tilidine, Nortilidine and Bisnortilidine in Dried Bloodstains *)

JAN CORDONNIER, AUBIN HEYNDRIKX

Department of Toxicology, State University of Ghent,
Hospitaalstraat 13, B - 9000 Ghent, Belgium

KURUMUŞ KAN LEKELERİNDE TİLİDİN, NORTİLİDİN VE BİSNORTİLİDİN ARANMASI

Özet

Narkotik bir analjezik olan tilidin ve onun iki ana metaboliti olan nortilidin ile bisnortilidin'in düşük nanogram düzeyindeki miktarları, 100-250 µl hacmindaki kanın yaptığı lekelerde araştırıldı.

Kan lekesinin incelenebilir hâle getirilme işlemi ve bu üç maddenin azot-fosfor dedektörlü kapiller gaz kromatografisi kullanılarak hangi yöntemle arandığı tanımlandı. Öngörülen bu yöntemle, tilidin ve iki ana metabolitinin tedâvi dozundaki miktarlarının dahi tesbit edildiği gözlemlendi. Ayrıca, kan lekelerinin üzerinden geçen süre ile bu bileşiklerin dayanıklılığı ve bulunabilirliği arasındaki ilişki araştırıldı.

Summary

Low nanogram amounts of the narcotic analgesic tilidine and its two main metabolites nortilidine and bisnortilidine were detected in dried stains originating from 100 to 250 µl blood.

Treatment of the bloodstains and final detection of the three substances, which was performed by capillary gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection, were described. By means of the proposed procedure tilidine and its two metabolites were still detectable at the therapeutic level. The detectability and the stabilities of the compounds studied, as a function of the age of the bloodstains, was also investigated.

Keywords : *Tilidine, nortilidine, bisnortilidine - Detection - Dried bloodstains*

*) Presented at the 189th ACS Meeting, *Symposium on Analytical Methods in Forensic Chemistry*, Miami, Florida, April 29th - May 2nd, 1985.

INTRODUCTION

Drugs or their metabolites as discriminating markers in bloodstains were first discussed by *Curry* in 1965 (1). Looking for the presence of a particular drug in a bloodstain may be of use in situations where a complete discrimination using genetically determined features is not possible or when drug use has been implicated in an offence (2-3). Besides the collection of body fluids, stains can also be of interest to the forensic toxicologists. Tilidine was chosen for this study because it is prescribed more and more in *Belgium* as a narcotic analgesic and it is used by drug addicts as a substitute for opiates.

In previous reports it was demonstrated that picogram amounts of phenytoin (2), morphine (4,5), digoxin (6) and phenobarbital (7) were detectable in dried bloodstains by means of Radioimmunoassay. Salicylates could be detected in bloodstains fluorimetrically (8), while the presence of some benzodiazepines was established by gas chromatography, using a packed column and an electron capture detector (3).

This report explores the feasibility of extracting tilidine and its two rapidly generated metabolites nortilidine and bisnortilidine from bloodstains and subsequently detecting the three compounds by gas chromatography using a fused silica capillary column in combination with a nitrogen phosphorus detector.

By means of the proposed gas chromatographic method, polar and amine-like compounds can easily be determined in the low nanogram range without adsorption, because of the high inertness of the column material and the possibility for separating those compounds from endogeneous and extraneous interfering substances.

MATERIAL AND METHODS

Preparation and treatment of the dried bloodstains

Whole blood, drawn by venipuncture into lithium heparine anticoagulated tubes, was measured by means of a 100 to 250 μ l pipetting device and placed to dry on a white, unbleached cotton cloth. The cloth was stored at room temperature in an open space for the designated aging times. Prior to assay the dried bloodstains were cut with scissors into approximately 1 mm squares, placed into 10 by 75 mm round-bottom glass tubes and eluted with the subsequently described solvents.

— In a first trial, elution of the drugs was performed by adding 3 ml of physiological saline to the cut material. After mixing for about 5 seconds (vortex mixer) the aqueous extract was left at room temperature for 1 hour before remixing (2, 5, 6, 7). The concentrations of the compounds studied were measured by our previously reported gaschromatographic method, with a sensitivity of 10 ng/ml of tilidine, 5 ng/ml of bisnortilidine and 2.5 ng/ml of nortilidine (9). Briefly after the addition of 250 ng of the internal standard, calculated as free base, and 0.5 ml of a 10 N NaOH solution, the aqueous extracts were poured onto a 1003 Chem-Elut™ column, obtained from *Analytichem International, Inc. (ITL, Brussels, Belgium)* and allowed to drain through the column bed. The column was eluted twice with 4 ml fractions of cyclohexane-acetone (90 : 10), collecting the eluates in a quartz conical test tube. The combined eluates were evaporated to dryness under reduced pressure (100 mmHg) and a temperature of about 35°C by means of a *Buchler Vortex-Evaporator*. The final residue was reconstituted with 25 µl of methanol and a 0.2 µl amount was injected on a 25 m × 0.32 mm I.D. CPTM Sil 19 cb fused Silica capillary column using a direct injection technique, which was installed in a *Perkin Elmer Sigma 2* gaschromatograph, equipped with a nitrogen-phosphorus detector and connected to a *Hewlett-Packard 3380 S Integrator-Recorder*.

— Triton X-100, an nonionic detergent, was also tested for it's efficiency in extracting tilidine and its metabolites from dried bloodstains; 3 ml of the detergent solution (0.1 %), which was prepared in physiological saline (2, 5-7), was added to the cut material. The sample was further treated as previously described.

— An attempt was also made to solubilize bloodstains by means of the enzyme *Subtilisin Carlsberg*. Three ml of physiological saline containing 3 mg of *Subtilisin* were added to the cut material. In conformity with the non-enzymic procedures, the contents of the tube were mixed for about 5 seconds. The tube was incubated for 1 hour in a waterbath at 55°C (3). After cooling, the contents of the tube were remixed and extracted as described above.

The bloodstains to be analysed were prepared in two different ways by drying either 0.25 ml whole blood, collected from a volunteer, who was ingesting 50 mg of tilidine, or 0.1 ml blank blood, spiked with tilidine, nortilidine and bisnortilidine in a concentration of 5 µg/ml.

Analysis of whole blood, plasma and saliva samples

Concentrations of tilidine, nortilidine and bisnortilidine were measured in whole blood (3.0 ml), plasma (3.0 ml) and saliva (2.0 ml) by means of a previously reported extraction and GC procedure (9), using the corresponding biological fluid to establish a standard curve for each experiment.

Red blood cells

According to *Shaler et al* (2), 10.0 ml red blood cells, obtained by centrifugation of whole blood at 3000 rpm, were washed five times with 5.0 ml of saline by gently inverting the glass stoppered tube and centrifuging at 3000 rpm for 3 min. The supernatant is discarded after each washing. After washing, the red blood cells are taken up in 3 ml of saline before being analysed by the method described for whole blood, plasma and saliva.

RESULTS AND DISCUSSION

The high sensitivity of the proposed analytical method allowed the identification and quantification of tilidine, nortilidine and bisnortilidine in dried bloodstains. Gas chromatographic peaks, which were due to endogenous blood constituents and contaminants from the cotton, did not interfere with those of the compounds studied (Fig. 1). The whole blood samples were analysed in order to have an idea about the concentrations that are to be expected in the bloodstains prepared from the same blood. As shown in Fig. 2, the concentrations of the compounds studied, found in saliva, exceed those present in plasma and whole blood samples. This can be explained by the pK_a values, which respectively amount 7.80 for tilidine, 8.23 for nortilidine and 8.18 for bisnortilidine (9). From Fig. 2 it can also be deduced that detectable levels of the compounds studied were found in washed red blood cells, which is in conformity with previously reported results, obtained by a radio-isotopic method (10). Similar to the benzodiazepines, diphenylhydantoin and morphine, tilidine and its two metabolites were found to be stable in stains for several months (2, 3, 5). Although a direct extraction of the stains with methanol seemed to be efficient in some particular cases (8), it could not be applied for gas chromatographic detection, as it gave rise to many interfering peaks, originating from endogeneous blood constituents (3). Therefore, a Chem-ElutTM extraction and purification procedure was applied. This included a previous solubilization of the dried blood in a aqueous solution that could be poured into a column so that the compounds of interest could be eluted with an appropriate organic solvent. Soaking the stain in physiological saline was sufficient to remove all the blood from the cotton, an effective solubilisation being characterised by the appearance of a dark red solution. Enhancement of the extraction either with a nonionic detergent or an enzyme was also investigated.

As shown in Table 1, no improvement of the final results was observed after a nonionic detergent elution or a proteolytic enzyme incubation. The results, shown in Table 1, also indicate an upper limit (70-80%) for the extractability of the 3 compounds from stains incubated in physiological saline, whether the stains are relatively fresh or not. However, the practical value of detecting the narcotic analgesic tilidine and its two metabolites in bloodstains is rather low, due to the short half lifes of the compounds mentioned and the low levels present in the blood (9).

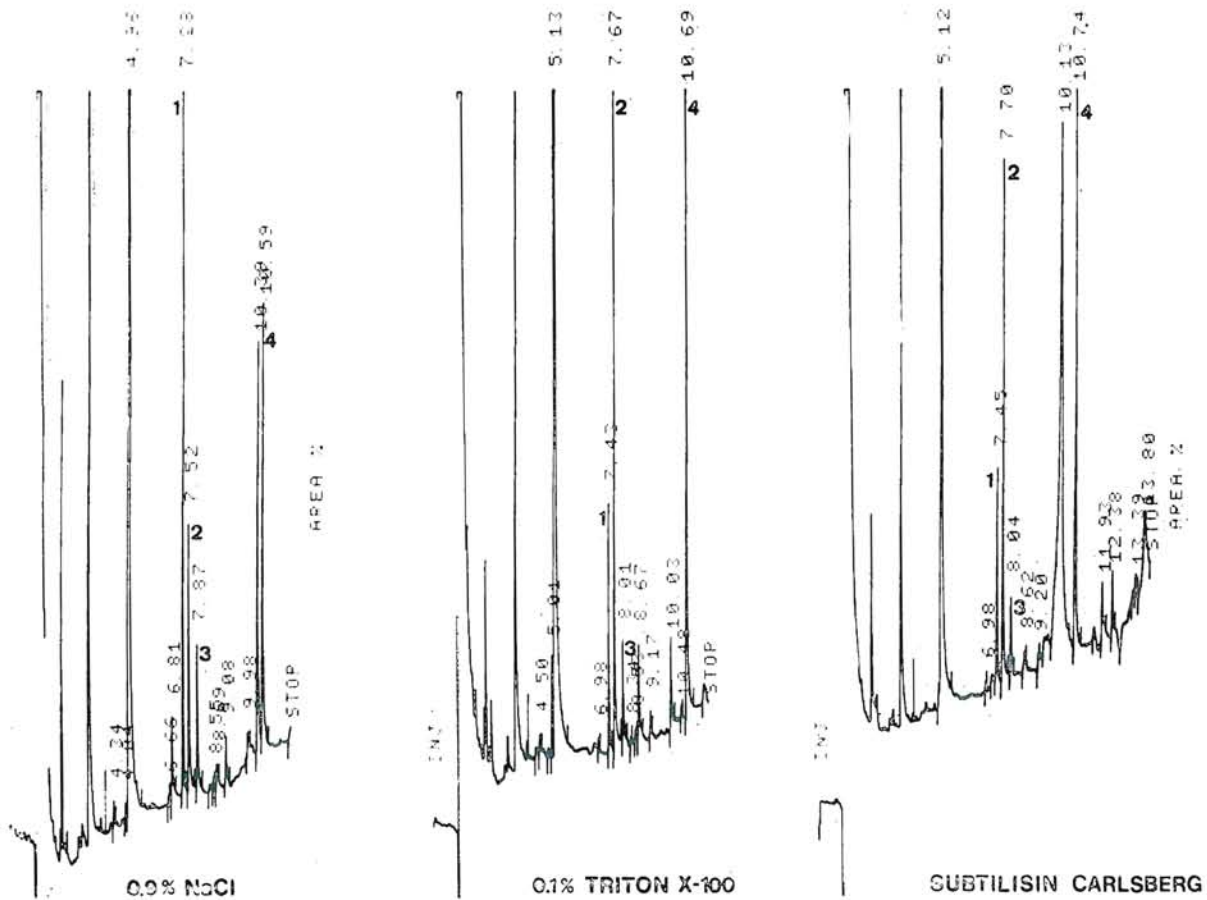


Fig. 1. Chromatogram of bloodstain extracts containing 2 ng of tilidine (1), nortilidine (2), bisnortilidine (3) and 1 ng of the I.S. methapyrilene (4).

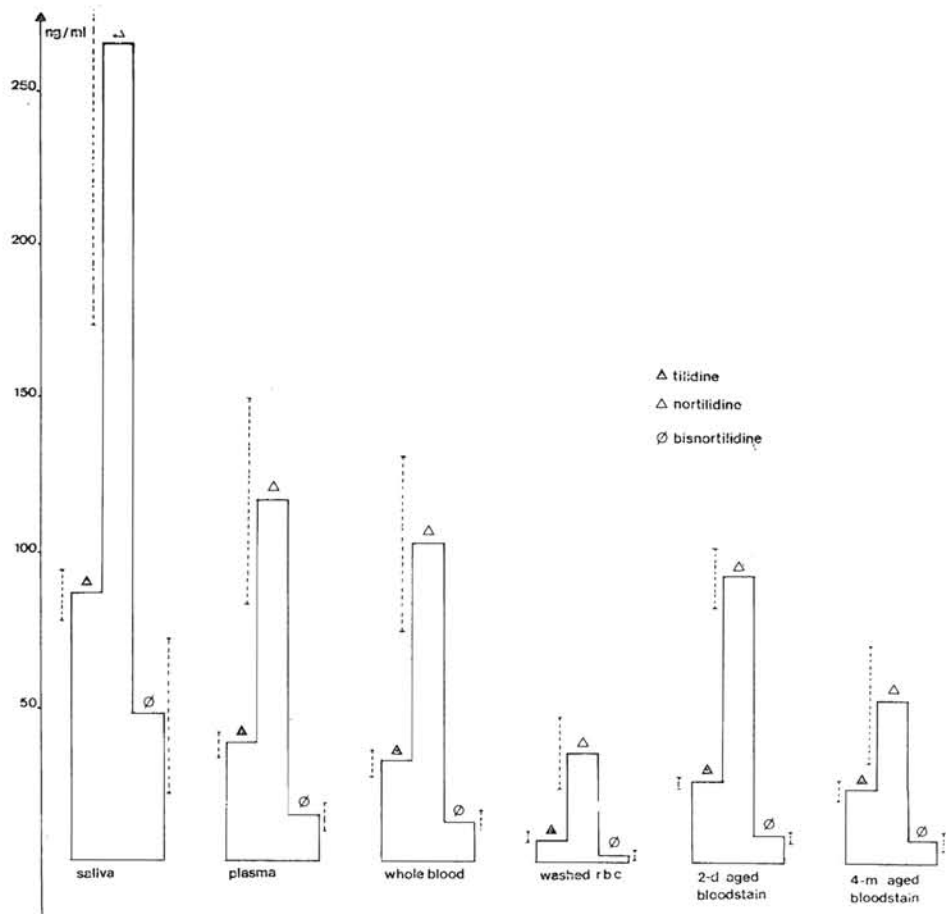


Fig. 2. Levels of tilidine and its two metabolites in physiological samples, taken 1 hour after ingestion of 50 mg tilidine-HCl.

Table 1. Comparison of non-enzyme and enzyme incubation prior to column extraction on the recovery of tilidine and its two metabolites from bloodstains.

Time	Elution %	Triton X-100 0.1 %	0.9 % NaCl	Subtilisin
2 DAYS		62.96 ± 2.94*	81.60 ± 1.73	71.75 ± 10.63
		70.75 ± 3.30	90.43 ± 10.44	83.25 ± 12.04
		59.25 ± 11.09	67.06 ± 12.17	63.00 ± 6.00
1 WEEK		66.80 ± 2.83	80.75 ± 22.23	69.50 ± 14.53
		75.32 ± 15.56	72.25 ± 10.21	69.75 ± 11.21
		56.54 ± 19.80	53.75 ± 16.50	51.50 ± 18.19
2 MONTHS		66.07 ± 8.49	76.38 ± 8.46	70.23 ± 8.49
		55.36 ± 16.50	60.27 ± 7.53	64.35 ± 33.94
		54.13 ± 13.42	54.04 ± 11.08	46.21 ± 19.80
4 MONTHS		62.76 ± 9.64	73.73 ± 10.30	65.50 ± 7.78
		46.89 ± 13.28	51.16 ± 18.73	45.00 ± 4.24
		52.17 ± 14.01	56.44 ± 22.63	49.08 ± 12.73

* : mean of 3 determinations ± S.D.

REFERENCES

- 1 — Curry, A.S. (1965) *International Science and Technology*, **47**, 39 - 48.
- 2 — Shaler, R.C., Smith, F.P., Mortimer, C.E. (1978) *J. Forensic Sci.*, **23**, 701 - 706.
- 3 — Hammond, M.D., Osselton, M., Moffat, A.C. (1979) *J. Forensic Sci. Soc.*, **19**, 193 - 198.
- 4 — Möller, M.R., Tansch, O., Biro, G. (1977) *Z. Rechtsmed.*, **79**, 103 - 107.
- 5 — Smith, F.P., Shaler, R.C., Mortimer, C.E., Errichetto, L.T. (1980) *J. Forensic Sci.*, **25**, 369 - 373.
- 6 — Smith, F.P. (1981) *J. Forensic Sci.*, **26**, 193 - 197.
- 7 — Smith, F.P., Pomposini, D.A. (1981) *J. Forensic Sci.*, **26**, 582 - 586.
- 8 — King, L.A. (1979) *J. Forensic Sci.*, **26**, 317 - 318.
- 9 — Cordonnier, J., Van den Heede, M., Heyndrickx, A. (1986) in *Analytical Methods in Forensic Chemistry*, (Ho, M.H., ed), Ellis Horwood, London (in press).
- 10 — Vollmer, K.O., Poisson, A. (1976) *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)*, **26**, 1827 - 1836.

Reprints request to :

Dr. Jan Cordonnier
 Department of Toxicology
 State University of Ghent
 Hospitaalstraat 13
 B-9000 Ghent
 Belgium

Çeşitli Sistemik Hastalıklarda Gözlenen Sekonder Glomerül Değişiklikleri 158 Otopsi Olgusuna Dayanan Morfolojik Çalışma

NİMET GÖKHAN^{a)}, NÜKHET TÜZÜNER^{a)}, TALİA BALI AYKAN^{a, b)}

^{a)} İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

^{b)} Adli Tıp Kurumu, İstanbul, Türkiye

SECONDARY GLOMERULAR CHANGES IN SYSTEMIC DISORDERS - A HISTOPATHOLOGY BASED RETROSPECTIVE SURVEY ON 158 AUTOPSY CASES

Summary

This study has been undertaken to investigate the secondary glomerular changes in various systemic disorders. For this purpose 158 autopsy cases above the age of 15 with no obvious clinical and laboratory findings suggestive for specific glomerular disorders were chosen from our autopsy files between 1980-1985.

Glomerular lesions such as increase of mesangial matrix and cells and basement membrane thickening were detected in 124 out of 158 cases. When these glomerular lesions were classified into single (pure), double, and triple lesions it was found that the double lesions were the frequent pattern in the cases of sepsis, chronic nonspecific systemic infections and malignant tumors whereas the triple lesions were the most prominent lesions in the cases of tuberculosis. The glomerular distribution of these lesions were predominantly focal or diffuse segmental.

Keywords : *Histopathology-Systemic disorders-Secondary glomerular changes*

Özet

Bu çalışma etyolojileri farklı çeşitli sistemik hastalıklarda böbrek glomerüllerinde gelişebilen sekonder değişiklikleri, bu değişikliklerin morfolojisini ve hangi hastalık gruplarında daha sık görüldüğünü saptamak amacı ile yapılmıştır. Klinik ve laboratuvar bulguları açısından spesifik bir böbrek hastalığı düşündürmeyen 15 yaş üzerindeki 158 otopsi olgusunun 124'ünde glomerüllerde mezangial matriks ve hücre artışı ile bazal membran kalınlaşması şeklinde, glomerülleri fokal ya da difuz segmental olarak tutan değişiklikler saptanmıştır.

GİRİŞ

Çeşitli hastalıklar sırasında böbreklerde belirli bazı patolojik değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir (1-3). Bunlar içinde sistemik lupus eritematosus (*SLE*)'daki lupus böbreği (4), metabolik bir hastalık olan diabetes mellitus'daki *Kimmelstiel-Wilson* nefropatisi (5) ve subakut bakteriyel endokardit'te görülen fokal nefrit (6, 7) en iyi bilinen örneklerdir. Bunlar dışında sifilis (8), romatoid artrit (9), kronik virüs infeksiyonları (1), karaciğer sirozu (10), non-Hodgkin lenfomalar (11) ve çeşitli epitelyal habis tümörlerin (12-16) seyri sırasında da genellikle nefrotik sendrom şeklinde klinik belirti veren glomerül lezyonları tanımlanmıştır.

İşlevleri nedeniyle böbreklerin sistemik hastalıklardan etkilenmesi doğaldır. Bunu destekler bir bulgu, ölüm nedeni kronik dissemine tüberküloz olan otopsi olgularının böbrek glomerüllerinde rastlanan ve glomerulonefriti anımsatan proliferatif değişikliklerdir (17).

Bu çalışma, etyolojileri farklı sistemik hastalıklarda böbrek glomerüllerinde gelişebilen sekonder değişiklikleri, bu değişikliklerin morfolojisini ve hangi hastalık gruplarında sık oluştuklarını araştırmak amacı ile yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışma için İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 1980-1985 yılları arasında yapılmış, 15 yaş üzerindeki toplam 296 otopsi olgusundan klinik ve laboratuvar bulguları açısından spesifik bir böbrek hastalığı düşünülmeyen 158 olgu seçilmiştir.

Glomerül lezyonları parafin bloklarından hazırlanan 5 µ inceliğindeki kesitlere Hematoksilin-eozin (*H & E*), *Periodic Acid-Schiff (PAS)*, *Mason Trichrom* ve Silvermetanamin (*PASM*) boyaları uygulanarak ışık mikroskobu düzeyinde yapılmıştır.

Glomerül lezyonları incelenirken, mezangial hücre ve matris artışı, bazal membran kalınlaşması gibi elementer glomerül lezyonları ile bu lezyonların glomerüllerde difuz, fokal, segmental ya da global tipteki dağılımları göz önünde tutulmuştur. Bunlar dışında glomerül segmentleri arasında kaynaşma, glomerül yumağı ile Bowman kapsülü arasında yapışma, Bowman kapsülünde kalınlaşma, Bowman aralığında eksüdasyon, glomerüllerde skleroz ve kollaps gibi diğer non-spesifik glomerül lezyonları da araştırılmıştır. İnterstisyum, tubulus ve arter-arteriol değişiklikleri değerlendirilmiştir.

Amacımız değişik hastalık gruplarında glomerül lezyonlarını incelemek olduğundan otopsi olgularının seçimi rasgele yapılmıştır. Bu nedenle, hastalıklar gruplandırılırken, temeldeki hastalık esas alınmıştır. Ölüme katkısı olan lezyonlar da belirtilerek, bunların glomerül lezyonlarının oluşumundaki katkıları ayrı olarak değerlendirilmiştir.

158 olgunun 105 (% 66.5)'inde böbrek işlevlerini gösteren l aboratuvar incelemeleri yapılmıştır, ancak bu sonuçlar genellikle hastanın ilk yatış zamanına rastlamaktadır. Klinik belirtiler varolmadığından l aboratuvar tetkikleri yenilenmemiştir. Geri kalan olgularda ise basit idrar tetkikleri dışında l aboratuvar bulgusu yoktur.

BULGULAR

Olguların yaş ve cinse göre dağılımı

158 olgunun 68'i kadın, 90'ı erkek olup, erkek/kadın oranı 1.2/1'dir. Olgularımızın 43'ü 15-25, 38'i ise 45-65 yaş grupları arasında kümeleşme göstermektedir. Tüm olgularda, erkek ve kadınların yaş ortalaması (median yaş) 41 olarak bulunmuştur.

Hastalık grupları

Çalışmamızın amacı çeşitli hastalıklarda glomerül lezyonlarının incelenmesi olduğundan, otopsi olgularının seçimi rasgele yapılmıştır. Bu nedenle, hastalıklar gruplanırken temeldeki hastalık esas alınmış, ancak  l me yardımcı terminal infeksiyonlar da belirtilerek son infeksiyonun glomerül lezyonlarını etkileyen bir faktör olup olmadığı incelenmiştir. Olguların hastalık gruplarına göre dağımları Tablo 1'de verilmiştir. 158 olgunun 124' nde

Tablo 1. Hastalık gruplarının olgulara göre dağılımı.

<i>Hastalık Grubu</i>	<i>Olgu Sayısı</i>	<i>%</i>
I) İNF EK S İ Y O N	82	(51.9)
Sepsis	43	52.4
Akut yada akut hecme gösteren sisteme lokalize infeksiyonlar	19	23.2
Kronik spesifik infeksiyonlar (tüberküloz)	10	12.2
Endokarditler	10	12.2
II) T � M � R L E R (H a b i s)	51	(32.3)
İnfeksiyonla eşlik eden	28	54.9
İnfeksiyonla eşlik etmeyen	23	45.1
III) İ S K E M İ K V A S K � L E R H A S T A L I K L A R (Generalize ateroskleroz, koroner ve bazal skleroz)	25	(15.8)
T O P L A M	158	(100)

(%78.5) glomerüllerde, mezangial matriks, mezangial hücre artışı ya da bazal membran kalınlaşması şeklinde elementer lezyonlar saptanmıştır. Bu hastaların 66'sı erkek 58'i kadındır. Median yaş 41'dir. Lezyonlu olgulara en sık 35-65 yaş grupları arasında rastlanmıştır. Elementer glomerül lezyonlu olguların dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Böbrek lezyonlarının hastalık gruplarında yaygınlığı

Glomerül lezyonları; tutulan glomerül miktarı, lezyonun glomerüldeki yaygınlığı ve dağılım şekline göre incelenmiştir. Buna göre, 58 olguda fokal segmental, 35 olguda difuz segmental, bir olguda fokal global ve 30 olguda difuz global tipte lezyon saptanmıştır. Glomerül lezyonlarının hastalık gruplarındaki dağılımı incelendiğinde, fokal segmental dağılımın tüm hastalık gruplarında ilk sırayı, difuz global dağılımın ise tümörler, tüberküloz, sepsis ve iskemik vasküler hastalıklar gruplarında ikinci sırayı aldığı görülmüştür. Elementer glomerül lezyonlarının hastalık gruplarındaki dağılımları Tablo 2'de özetlenmiştir.

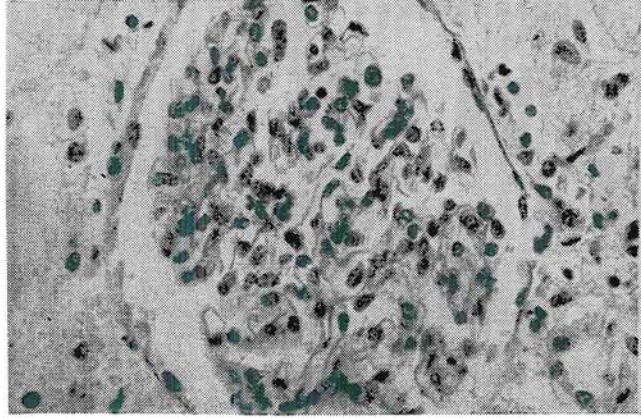
Tablo 2. Glomerül lezyonların dağılım şekli ve hastalık gruplarıyla ilişkisi.

Hastalık Grubu	Fokal	Difuz	Fokal	Difuz	TOPLAM	
	Seg.	Seg.	Global	Global	Sayı	%
Sepsis	25	18	—	10	53	42.8
Tüberküloz	3	1	—	2	6	4.8
Endokardit	6	1	—	2	9	7.3
Tümör	10	5	—	5	20	16.1
İnfeksiyonun eşlik ettiği tümör	7	4	1	5	17	13.7
İskemik vasküler hastalıklar	9	4	—	6	19	15.3
TOPLAM	60	33	1	30	124	100
%	48.4	26.6	0.8	24.2	100	

Işık mikroskobu düzeyinde saptanan glomerül lezyonları

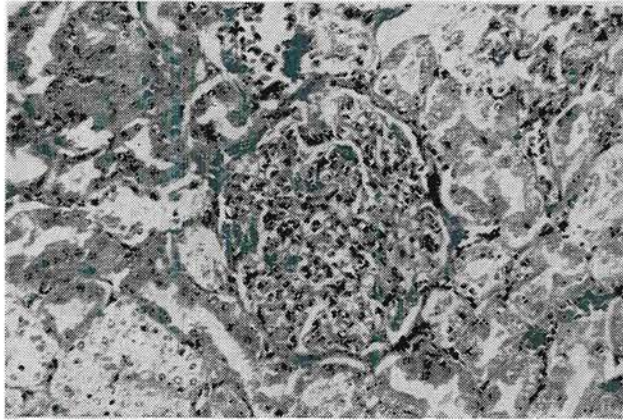
124 olgunun 36'sında saf glomerül lezyonları (elementer lezyon) saptanmıştır. Buna göre saf mezangial matriks artışı 9 (% 7,3), saf hücre artışı

26 (% 20.9) (Resim 1) ve saf bazal membran kalınlaşması 1 (% 0.8) olguda görülmüştür. Saf hücre artışının en sık rastlandığı hastalıklar akut ve kronik infeksiyonlar ile tümörlerdir.



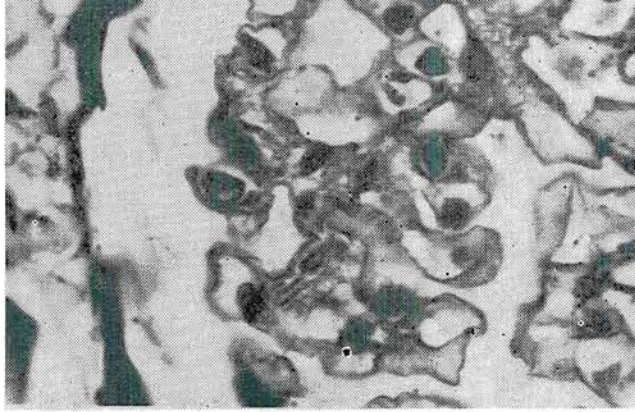
Resim 1. Orta derecede saf hücre artışı, global dağılım (PAS \times 500, ot. 21/82).

27 (% 21.8) olguda mezangial matriks ve hücre artışı (Resim 2) birlikte izlenmiş ve en sık tümör olgularında görülmüştür. Lezyonların glomerül dağılımı çoğunlukla fokal ve difuz segmental tiptedir.



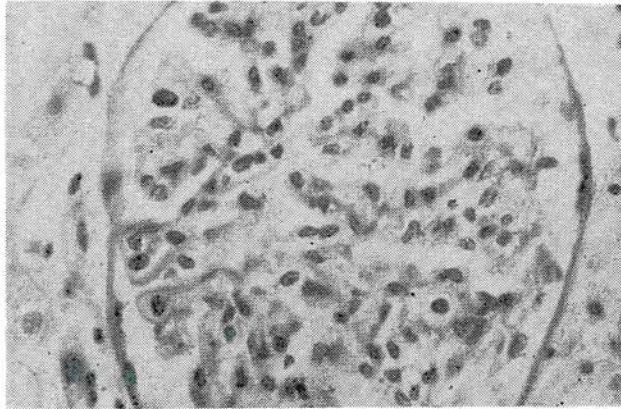
Resim 2. Mezangial matriks ve hücrede belirgin artış ve bazal membranda kalınlaşma (PAS \times 200, ot. 128/82).

17 (% 13.7) olguda mezangial matriks artışı, bazal membran kalınlaşması ile birlikte; en sık olarak tümör ve iskemik vasküler hastalık olgularında saptanmıştır (Resim 3). Bu olgulardaki glomerül dağılımı da fokal veya difuz segmental tiptedir.



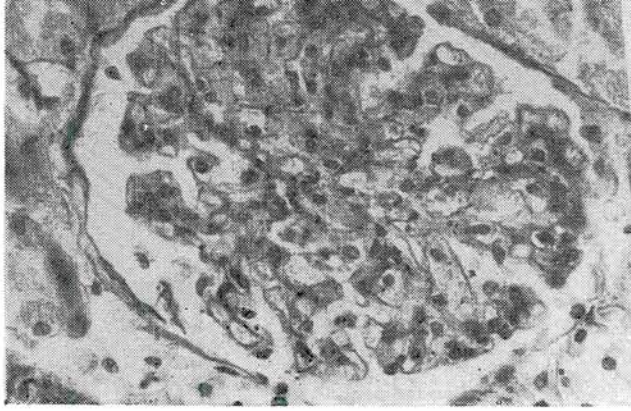
Resim 3. Mezangial matrikste orta derecede artış ve bazal membranda fokal alanlarda çiftleşme (PASM \times 1250, ot. 9/83).

19 (% 15.4) olguda ise hücre artışı bazal membran kalınlaşması ile birlikte izlenmiştir (Resim 4). Bu tip lezyonlar infeksiyon ve iskemik vasküler hastalık gruplarında sık olup, glomerül dağılımı yine fokal veya difuz segmental tiptedir.



Resim 4. Orta derecede hücre artışı ve bazal membranda çiftleşme (PAS \times 500, ot. 38/82).

25 (% 20.2) olguda mezangial hücre, matriks artışı ve bazal membran kalınlaşması birarada görülmüştür. Lezyonların glomerül dağılımı, olguların % 52'sinde difuz global tiptedir; tip bu lezyonlar en sık tüberküloz (% 50), iskemik vasküler hastalıklar (% 26.3) ve tümör (% 24) olgularında saptanmıştır (Resim 5).



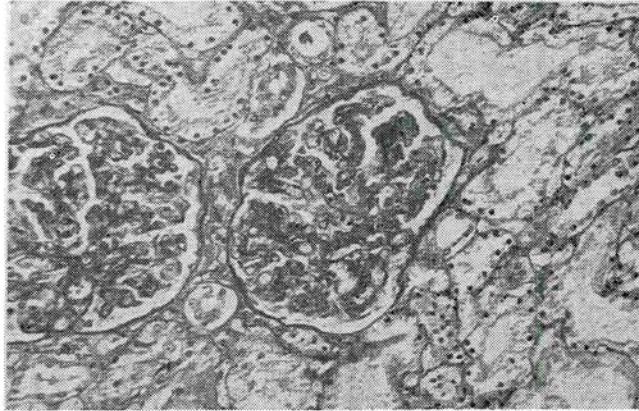
Resim 5. Mezangial matriks ve hücrede orta derecede artış, bazal membranda çiftleşme, global dağılım (PAS \times 500, ot. 159/82).

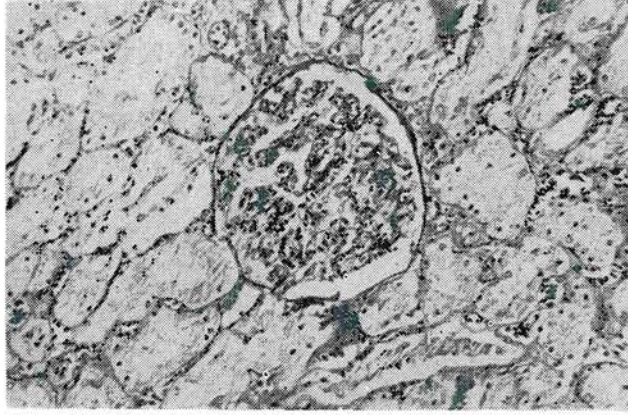
Glomerül değişikliklerinin daha kolay anlaşılabilmesi için elementer lezyonların tekbaşına ya da birlikte görülüşlerine göre, lezyonlar; a) saf lezyon, b) ikili lezyon, c) üçlü lezyon olarak ayrılıp, hastalık gruplarındaki dağılımlarına bakıldığında; endokarditler, sisteme lokalize akut ve kronik hastalıklar, tümörler ve iskemik vasküler hastalıklarda ikili lezyonların birinci sırayı aldığı görülmüştür. Tüberkülozda ise üçlü lezyonlar ön plândadır. İnfeksiyonun eşlik ettiği veya etmediği tümör gruplarında, lezyonların şekli ve dağılımında bir fark görülmemiştir. Glomerül lezyonlarının hastalık gruplarında dağılımları Tablo 3'de verilmiştir.

Glomerül lezyonları 101 (%81.5) olguda proliferatif (Resim 6), 23 (%18.5) olguda proliferosklerozan (Resim 7) uymaktadır. Eksüdatif ve sklerozan döneme uyan lezyonlar saptanmamıştır.

Tablo 3. Elementer lezyonların görülüş şekillerinin hastalık gruplarında dağılımı.

Hastalık Grubu	Saf Lezyon	İkili Lezyon	Üçlü Lezyon
A) İNF EK S İ Y O N (53 olgu)			
a) Sepsis + akut ya da akut hecme gösteren sisteme lokalize enfeksiyonlar	19 (%15.4)	26 (%21)	8 (%6.5)
b) Tüberküloz (6 olgu)	1 (%0.8)	2 (%3.2)	3 (%1.6)
c) Endokardit (9 olgu)	3 (%2.4)	4 (%3.2)	2 (%1.6)
B) T Ü M Ö R			
a) Tümör (20 olgu)	1 (%0.8)	12 (%9.7)	7 (%5.6)
b) Tümör + enfeksiyon (17 olgu)	5 (%4)	11 (%8.9)	1 (%0.8)
C) İ S K E M İ K V A S K Ü L E R H A S T A L I K L A R (19 olgu)			
	4 (%3.2)	10 (%8.1)	5 (%4)
T O P L A M (124 olgu)	33 (%100)	65 (%26.6)	26 (%20.9)

**Resim 6.** Proliferosklerozan döneme ait glomerül değişiklikleri. Difuz global dağılım (PASM \times 200, ot. 118/83).



Resim 7. Proliferatif döneme ait glomerül değişiklikleri, global dağılım (PASM \times 200, ot. 104/83).

Elementer glomerül lezyonlarına eşlik eden diğer değişiklikler

Glomerül lezyonlarının değerlendirilmesinde esas alınan elementer lezyonlar dışında, % 90.3 olguda glomerül segmentleri arasında kaynaşma, olguların % 66.9'unda glomerül yumağı ile Bowman kapsülü pariyetal yaprağı arasında yapışma, % 88.7'sinde glomerül kollapsı ve % 75.8'inde glomerüllerde skleroz saptanmıştır. Glomerüllerin % 10'undan fazlasında sklerozun saptandığı olgular, tüm olguların % 15.3'ünü kapsamaktadır. Bu grubun yaş ortalaması 53.8'dir.

Glomerül lezyonlarına eşlik eden interstisyum değişiklikleri ödem, fibrosis ve hücre infiltrasyonu şeklinde olup, olguların % 35'inde görülmüştür.

TARTIŞMA

Literatür bilgileri ve çalışmamızın sonuçları, farklı hastalık gruplarında, böbreklerde bazı patolojik değişikliklerin ortaya çıktığını göstermektedir. Bu değişiklikler genellikle klinik ya da lâboratuvar bulguları açısından hastalığın diğer belirtileri yanında ikinci derecede kalmakta veya gözden kaçabilmektedir (2, 3, 18, 19).

Organizmada hastalıkların oluşturduğu tüm değişiklikleri, bu değişmelerin birbirlerine olan etkilerini ve meydana getirdikleri sonuçları tam olarak saptamak, ancak otopsi ile mümkündür. Sepsis, akut ya da akut hecme gösteren

kronik infeksiyonlar, endokarditler, tüberküloz, çeşitli tümörler ve sistemik vasküler hastalıklardan oluşan 158 olgunun 124'ünde (% 78.5) böbrek glomerüllerinde histopatolojik değişiklikler görülmesi bu gerçeği açıkça vurgulamaktadır.

Böbrek glomerüllerinde elementer lezyon saptanan 124 olgunun tümü ele alındığında kadın/erkek oranı arasında belli fark görülmemektedir. Hastalık grupları tek tek ele alındığında tüberküloz, iskemik vasküler hastalıklar ve sepsis olgularında oran erkek, endokardit olgularında ise kadın lehindedir. Tümör grubunda kadın/erkek oranında belirgin bir fark yoktur.

Glomerüllerde saptanan elementer lezyonların ağırlığı ve sıklığı yaş ve cins dağılımında fark göstermemektedir.

Olgularımızın büyük bir bölümünü oluşturan infeksiyon grubunda, glomerüllerde fokal ya da difuz şekilde belirgin segmental değişiklikler saptanmıştır. Glomerül değişikliklerinin belirgin olarak görüldüğü diğer grup habis tümörlerdir; burada, glomerül lezyonlarının oluşmasında tümör metabolitlerinin veya tümörlere sıklıkla eşlik eden infeksiyonların etkisi olduğu düşünülmektedir. Ön plândaki faktörü anlamak amacı ile tümör grubu, infeksiyonun eşlik ettiği ve etmediği şeklinde 2 altgruba ayrılıp incelenirse, her iki grupta da glomerül lezyonlarının sıklığında ve tipinde belirgin bir fark görülmemektedir; böylece, habis tümörlerde, büyük olasılıkla tümör metabolitlerinin de glomerülleri sekonder olarak etkilediği ortaya çıkmaktadır.

Glomerül lezyonları olgularımızın 3/4'de difuz ya da fokal segmental, 1/4'de ise difuz global tiptedir. Difuz global tutulma en sık iskemik vasküler hastalıklar ve tümör olgularında bulunmuştur. Bu tip lezyonların klinik ve lâboratuvar bulgu vermesi beklendiği hâlde, klinik olarak glomerül lezyonu düşündürecek patolojik bulguların saptanamaması büyük olasılıkla, dikkatin birincil hastalık üzerine yoğunlaşması ve bunun sonucunda açık seçik belirti vermeyen bu lezyonların gözden kaçmasına bağlıdır.

Glomerüllerde görülen elementer lezyonlar mezangial matriksi, mezangial hücreleri ve bazal membranı ilgilendirir. Olgularımızın %73.4'ünde ikisi ya da üçü birlikte görülmüştür; buna göre, çeşitli etyolojik etkenler altında oluşan farklı hastalık gruplarında, bu etyolojik etkenlerin morfolojik ve fonksiyonel yönden farklı yapı ve görevleri olan mezangial matriks, mezangial hücreler ve bazal membrandan ikisini ya da üçünü etkileyerek ışık mikroskobu düzeyinde saptanabilen değişikliklere yol açtıkları görülmektedir. Bu bulgu Anabilim Dalımızda 1978 yılında yalnız tüberküloz olgularını ayırarak yapmış olduğu-

muz çalışmanın sonuçlarını kuvvetlendirmektedir. Bu çalışmada, ölüm nedeni kronik dissemine tüberküloz olan 51 hastanın 27 (% 53)'sinde glomerüllerde proliferatif değişiklikler saptamıştık (17).

Glomerüllerde saptanan elementer lezyonlar dışında, olguların % 76.6' sında glomerül kapiller yumaklarında kollaps görülmüştür. Glomerül kollapsı, glomerül kapillerindeki spazm, kapiller duvarlarındaki bozukluklar, sağ kalp yetmezliği ya da hipotansiyon sonucu gelişebilir (21). Bu etkenlerin olgularımıza eşlik eden infeksiyon hastalıkları nedeniyle kolaylıkla geliştikleri düşünülebilir.

Böbrek hastalığı dışında çeşitli nedenlerle ölen 40 yaş üzerindeki kişilerde, glomerüllerin % 10'dan fazlasını tutan ve nedeni bilinmeyen skleroz (20), olgularımızın % 15'inde saptanmıştır. Bu bulgu, elementer glomerül lezyonları yanında oldukça önemsiz gözükmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız, etyolojileri birbirinden oldukça farklı çeşitli hastalıklarda glomerüllerin önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir. Bu etkinmenin hangi mekanizmalarla oluştuğu hakkında yorum yapmak immünofloresan ve elektron mikroskopi çalışmaları olmadan mümkün değildir. Ancak, glomerüllerde ışık mikroskobu düzeyinde saptanabilen bu lezyonların varlığı sekonder glomerül lezyonlarının çeşitli hastalık gruplarında ayrıntılı bir şekilde incelenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Bu da, kanımızca, klinik belirti vermese bile, gerek kronik seyirli hastalıklarda gerekse infeksiyon olgularında böbrek fonksiyonlarının aralıklı olarak ayrıntılı bir şekilde incelenmesi ve sonuçların morfolojik bulgularla karşılaştırılması ile mümkün olabilir; böyle bir çalışmayla, immünperoksidaz ve elektron mikroskopi tekniklerinin de eklenmesi ile glomerülleri etkileyen olayların mekanizması hakkında ipuçları elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

- 1 — Oldstone, MB., Dixon, F.J. (1971) *J. Exp. Med.*, **134**, 32.
- 2 — Sitgrija, V., Pipatanagul, V., Boonpucknavig, V., Boonpucknavig, S. (1974) *Ann. Int. Med.*, **81**, 210.
- 3 — Sitgrija, V., Evans, H. (1970) *Am. J. Med.*, **49**, 780.
- 4 — Cavallo, T., Cameron, W.R., Lapenas, D. (1977) *Am. J. Path.*, **87**, 1.
- 5 — Nash, D.A., Rogers, R.W., Wanglinais, P.C., Bunn, B.M. (1975) *Am. J. Med.*, **59**, 191.

- 6 — Flood, F.B., Boller, R.J. (1958) *J. A. M. A.*, **167**, 701.
- 7 — Keslin, M.H., Messenger, R.P., Williams, R.C. (1973) *Arch. Int. Med.*, **132**, 578.
- 8 — Bhorade, M.S., Carag, H.B., Lee, H.J., Polter, E.V. Dunea, G. (1971) *J. A. M. A.*, **7**, 1159.
- 9 — Bruetsch, W.L. (1965) *Circulation*, **31**, 805.
- 10 — Callard, P., Feldmann, G. Prandi, D., Belair, M.F. (1970) *Am. J. Path.*, **80**, 329.
- 11 — Ghosh, I.R., Muehrcke, R.C. (1970) *Ann. Int. Med.*, **72**, 379.
- 12 — Causer, W.G., Wagenfeld, J.B., Spargo, B.H., Lewis, E.J. (1974) *Am. J. Med.*, **57**, 962.
- 13 — Costonza, M.E., Pinn, V., Schwartz, R.S., Nathanson, L. (1973) *N. Eng. J. Med.*, **289**, 520.
- 14 — Higgins, M.R., Randall, R.E., Still, W.J.S. (1974) *Brit. Med. J.*, **3**, 450.
- 15 — Lee, J.C., Yamauchi, H., Hopper, J. (1966) *Ann. Int. Med.*, **64**, 41.
- 16 — Woughride, L., Lewis, M.G. (1971) *Lancet*, **1**, 256.
- 17 — Çöloğlu, A.S., Tüzüner, N., Öz, F. (1978) *Cerrahpaşa Tıp Fak. Derg.*, **9**, 347.
- 18 — Bardena, E.J., Bennet, W.M., Pirowsky, B. (1974) *Clin. Res.*, **22**, 589.
- 19 — Shuherland, J.C., Vann-Markham, R., Mardiney, M.R. (1974) *Am. J. Med.*, **57**, 336.
- 20 — Kaplan, C., Pasternak, B., Shah, H. Gallo, G. (1975) *Am. J. Path.*, **80**, 227.

Ayrı baskı için :

Doç. Dr. Nükhet Tüzüner
İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı
Cerrahpaşa, İstanbul

Corrected TLC-Data of 16 Hydrolysis-Derivatives of Commonly Used Benzodiazepines in 10 Systems *)

WOLF-RÜDIGER SCHNEIDER, HARALD SCHÜTZ, MARCO ZELLER

Institut für Rechtsmedizin der Universität Gießen
Bundesrepublik Deutschland

SIKLIKLA KULLANILAN BENZODİAZEPİNLERİN 16 HİDROLİZ TÜREVİNİN 10 SİSTEMDE ELDE EDİLEN DÜZELTİLMİŞ İTK-VERİLERİ

Özet

Bu dergide yayınladığımız [*Adli Tıp Derg. (ATD)*, 1, 22-29 (1985)] 61 benzodiazepin ve metabolitlerinin düzeltilmiş ince tabaka kromatografisi, R_f -değerlerine ek olarak, 16 hidroliz ürünü (*aminobenzofenon*'lar ve *benzoilpiridin*'ler) ile ilgili düzeltilmiş R_f -verilerini elde ettik. Bu ayrılma ürünleri bazı olgularda metabolit ve/veya biyolojik materyalde artefakt şeklinde ortaya çıkabilir. Küçük fakat önemli olan bu nokta uygulanan inceleme yöntemlerinin ana temelini oluşturur.

Summary

In addition to the corrected R_f -values of 61 benzodiazepines and metabolites which were recently published in this journal [*Adli Tıp Derg. (ATD)*, 1, 22-29 (1985)] we have investigated the corrected R_f -values of 16 hydrolysis products (*aminobenzophenones* and *benzoylpyridines*) in 10 (!) systems. These cleavage products may occur as metabolites in some cases and/or artefacts in biological materials. They are, in addition to this minor important fact, the basis of largely applied screening methods.

Keywords : *Benzodiazepines - Metabolites - Aminobenzophenones - Benzoylpyridines - Hydrolysis products - Corrected R_f -values*

*) Part of Thesis of *W.-R. Schneider*.

INTRODUCTION

Recently we published the corrected R_f -values of 61 benzodiazepines and metabolites in two running-systems (1). In the meantime «*The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)*» and the «*Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)*» prepared under the auspices of the Committee for Systematic Toxicological Analysis (*STA*) of *TIAFT* an extensive and highly valuable collection of thin layer chromatographic R_f -values of toxicologically relevant substances on standardised systems which is to be published in the nearest future (2).

As this compilation contains only data of the complete benzodiazepines and metabolites prior to cleavage (no hydrolysis products) we decided to collect and publish also these data with regard to the fact that the hydrolysis products (*aminobenzophenones* and *benzoylpyridines*) may occur as metabolites and artifacts in the biological samples*. That is why they should be incorporated in the useful collection of corrected R_f -values.

The basic principles of the corrected R_f -value concept are reported in the literature (1, 2).

We used the 10 systems which are described in the *DFG/TIAFT* publication (2), see Table 1.

The abbreviations are listed in Table 2. For more details see (3).

*) In addition to this minor important fact, the hydrolysis products are the basis of largely applied screening procedures see (3).

Acknowledgements

Our work was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) and Fonds der Chemischen Industrie.

We are indebted to the working group «Dokumentation» (Chairman *Prof. Dr. R. A. de Zeeuw*) of the «Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Klinisch-toxikologische Analytik» (Supervision *Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-von Mallinckrodt*) for stimulating discussions.

Table I. Running systems according to (2).

Solvent*	Adsorbent	Reference compounds**	hR _f
(1) Chloroform-acetone (80 + 20)	Silica	Paracetamol	15
		Clonazepam	35
		Secobarbital	55
		Methylphenobarbital	70
(2) Ethyl acetate	Silica	Sulfathiazole	20
		Phenacetin	38
		Salicylamide	55
		Secobarbital	68
(3) Chloroform-methanol (90 + 10)	Silica	Hydrochlorothiazide	11
		Sulfafurazole	33
		Phenacetin	52
		Prazepam	72
(4) Ethyl acetate-methanol- conc. ammonia (85 + 10 + 5)	Silica	Morphine	20
		Codeine	35
		Hydroxyzine	53
		Trimipramine	80
(5) Methanol	Silica	Codeine	20
		Trimipramine	36
		Hydroxyzine	56
		Diazepam	82
(6) Methanol-n-butanol (60 + 40); 0.1 mol/l NaBr	Silica	Codeine	22
		Diphenhydramine	48
		Quinine	65
		Diazepam	85
(7) Methanol-conc. ammonia (100 + 1.5)	Silica impregnated with 0.1 mol/l KOH and dried	Atropine	18
		Codeine	33
		Chlorprothixene	56
		Diazepam	75
(8) Cyclohexane-toluene- diethylamine (75 + 15 + 10)	Silica impregnated with 0.1 mol/l KOH and dried	Codeine	6
		Desipramine	20
		Prazepam	36
		Trimipramine	62
(9) Chloroform-methanol (90 + 10)	Silica impregnated with 0.1 mol/l KOH and dried	Desipramine	11
		Physostigmine	36
		Trimipramine	54
		Lidocaine	71
(10) Acetone	Silica impregnated with 0.1 mol/l KOH and dried	Amitriptyline	15
		Procaine	30
		Papaverine	47
		Cinnarizine	66

*) Eluent composition: volume + volume; Saturated systems are used throughout except for systems 5 and 6 which are used with unsaturated solvent tanks.

***) Solutions of the four reference compounds at a concentration of approximately 2 g/l of each drug.

Table 2. Abbreviations according to (3).

<i>ACB</i>	: 2-Amino-5-chlorobenzophenone (e.g. from Oxazepam)
<i>MACB</i>	: 5-Chloro-2-(methylamino) benzophenone (e.g. from Diazepam)
<i>ANB</i>	: 2-Amino-5-nitrobenzophenone (e.g. from Nitrazepam)
<i>DAB</i>	: 2, 5-Diaminobenzophenone (e.g. from 7-Amino-Nitrazepam)
<i>ADB</i>	: 2-Amino-2', 5-dichlorobenzophenone (e.g. from Lorazepam)
<i>ANCB</i>	: 2-Amino-2'-chloro-5-nitrobenzophenone (e.g. from Clonazepam)
<i>DCB</i>	: 2,5-Diamino-2'-chloro-benzophenone (e.g. from 7-Amino-Clonazepam)
<i>CCB</i>	: 5-Chloro-2-[(Cyclopropylmethyl) amino] benzophenone (e.g. from Prazepam)
<i>DCFB</i>	: 5-Chloro-2-[2-(diethylamino) ethylamino]-2'-fluorobenzophenone (e.g. from Flurazepam)
<i>ACFB</i>	: 2-Amino-5-chloro-2'-fluorobenzophenone (e.g. from 1-Desalkyl-Flurazepam)
<i>HCFB</i>	: 5-Chloro-2'-fluoro-2- (hydroxyethylamino) benzophenone (e.g. from 1-Hydroxyethyl-Flurazepam)
<i>ABP</i>	: (2-Amino-5-bromophenyl) (pyridin-2-yl) methanone (e.g. from Bromazepam)
<i>MNFB</i>	: 2'-Fluoro-2-(methylamino)-5-nitrobenzophenone (e.g. from Flunitrazepam)
<i>ANFB</i>	: 2-Amino-2'-fluoro-5-nitrobenzophenone (e.g. from 1-Desmethyl-Flunitrazepam)
<i>MDB</i>	: 2', 5-Dichloro-2-(methylamino) benzophenone (e.g. from Lormetazepam)
<i>TCB</i>	: 5-Chloro-2-(2,2,2-trifluoroethylamino) benzophenone (e.g. from Halazepam)

The results are described in the following Table 3.

Table 3. Hydrolysis products and corrected R_f -values in system.

Hydrolysis Product	Corrected R_f -values in system									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>ACB</i>	76	69	76	86	90	91	78	12	76	71
<i>MACB</i>	82	72	82	88	89	93	79	53	81	71
<i>ANB</i>	71	65	68	85	90	91	77	5	69	69
<i>DAB</i>	37	41	54	81	80	79	72	5	57	57
<i>ADB</i>	77	70	76	87	89	93	78	11	76	70
<i>ANCB</i>	72	66	70	86	87	93	77	4	69	70
<i>DCB</i>	41	46	55	82	80	80	74	5	59	61
<i>CCB</i>	83	74	82	88	92	95	80	58	82	74
<i>DCFB</i>	9	8	41	83	45	51	67	53	60	51
<i>ACFB</i>	76	68	74	86	89	93	78	11	75	70
<i>HCFB</i>	48	50	57	82	87	91	77	7	60	66
<i>ABP</i>	64	61	66	85	86	88	77	9	68	69
<i>MNFB</i>	79	63	80	86	89	90	77	20	79	71
<i>ANFB</i>	71	66	68	86	87	91	77	4	69	70
<i>MDB</i>	81	69	81	87	82	93	75	49	81	71
<i>TCB</i>	81	74	81	89	94	95	82	49	81	75

REFERENCES

- 1 — Schütz, H., Schneider, W.-R. (1985) *Adli Tıp Derg. (ATD)*, **1**, 22-29.
- 2 — TIAFT/DFG (1987) *Thin Layer Chromatographic R_f-values of Toxicologically Relevant Substances on Standardised Systems*. Prepared under the auspices of the Committee for Systematic Toxicological Analysis of TIAFT by Moffat, A.C., Franke, J.-P., Stead, A.H., Gill, R., Finkle, B.S., Möller, M.R., Müller, R.K., Wunsch, F., de Zeeuw, R.A. Report VII of the DFG-Commission for Clinical-Toxicological Analysis/Special Issue of the TIAFT Bulletin. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- 3 — Schütz, H. (1986) *Dünnschichtchromatographische Suchanalyse für 1,4-Benzodiazepine in Harn, Blut und Mageninhalt*. Mitteilung VI der Senatskommission der DFG für Klinisch-toxikologische Analytik. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim.

Reprints request to :

PD Dr. rer. nat. Harald Schütz
Institut für Rechtsmedizin der
Universität Gießen
Frankfurter Str. 58
D-6300 Gießen
Bundesrepublik Deutschland

Adam Öldürme Cürümlerinde Türk Ceza Kanunu'nun 451. ve 452/2. Maddelerinin Uygulanması

ŞEMSİ GÖK^{a,b)}, HÜSEYİN KALYONCU^{b)}, BİLGE KIRANGİL^{b)}

a) İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Adli Tıp Anabilim Dah., Adli Tıp Enstitüsü
İstanbul, Türkiye

b) Adli Tıp Kurumu, İstanbul, Türkiye

APPLICATION OF THE 451. AND 452/2. SECTIONS OF THE TURKISH PENAL CODE IN THE CRIMES OF MURDER

Summary

There have been cited some specific causes as far as concerned the applications of concept of attenuated responsibility in the 451. and 452. sections of the *Turkish Penal Code*. The thorough knowledge and evaluation of these subjects is necessary from juridic as well as forensic medical point of view.

In this paper, the basic theoretical understanding and the cases in which these sections of the *Turkish Penal Code* are applied being explained, some examples suited to the subject are given. By the end of the paper, evaluation of cases related to the topic and chosen among those sent to the I. Specialty Committee of the *Council of the Forensic Medicine of Turkey* are added.

Keywords : *Turkish Penal Code - Crimes of murder*

Özet

Türk Ceza Kanunu'nun 451. ve 452/2. maddelerinde, adam öldürme ile ilgili suçlarda cezayı hafifletici bazı özel nedenler belirtilmiştir. Bu hususların iyi bilinmesi ve değerlendirilmesi hem adli hekimler, hem de hukukçular açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu yazıda, önce *Türk Ceza Kanunu*'nun yukarıda belirtilen maddelerinde yer alan hafifletici nedenlerin açıklaması yapılarak bazı örnekler verilmiştir. Daha sonra, 1984 yılı içerisinde *Adli Tıp Kurumu* I. İhtisas Kurulu'na gönderilen dosyalar arasından anılan maddelerle ilgili olanların değerlendirilmesi yapılmıştır.

GİRİŞ

Türk Ceza Kanunu, (TCK) nun 448., 449. ve 450. maddelerinde belirtilen adam öldürme cürümlerinde, bazı özel hâllerde failin cezası azaltılmaktadır (1).

TCK'nun 451. ve 452/2.* maddeleri, cezayı azaltan bu durumları belirlemiştir. Bu maddelerin uygulanabilmesi için fail tarafından yapılmış bir eylem mevcut olması ve bu eyleme bir ortak nedenin eklenmesiyle ölüm olayının gerçekleşmesi gereklidir. Failin eylemi, 451. maddede belirtildiği şekilde öldürme kasti ya da 452/2. maddede açıklandığı gibi öldürme kasti olmaksızın bir müessir fiil amacıyla yapılmış olmalıdır (2). Ancak, öncelikle eylem ile ölüm arasında illiyet bağının varlığı kesinlikle ortaya çıkartılıp belirlenmelidir. Yapılan veya yapıldığı iddia edilen eylemin ölümde herhangi bir etkisinin bulunmadığı hâllerde zaten cezayı gerektirecek «öldürme cürmü» gerçekleşmediğinden, bu maddelerin uygulama alanı bulunup bulunmadığının araştırılması da yersiz olacaktır (3). Amaç ve alınan yarının ağırlığı ne olursa olsun, sonuçta ölüm meydana gelmişse, yani olayla ölüm arasında «illiyet bağı» mevcutsa, yasa maddelerinin içerdiği şekilde, ölümde ortak nedenlerin varlığı araştırılmalıdır.

Sözü geçen yasanın 451. maddesinde, failin amacı öldürmeye yöneliktir. 452. maddede ise 1. fıkrada belirtildiği şekilde failin amacı öldürmeye değil, «*darb, cerh veya müessir fiil*»e yöneliktir (1). Yapılan eylemin, ortak bir neden eklenmeden ve doğrudan doğruya ölümle sonuçlandığı hâllerde fail, 452. maddenin bu fıkrasında belirtildiği şekilde cezalandırılır. Esasında, bu hususun tayini ve takdiri tıbbî bir konu değildir ve yargı organlarınca değerlendirilmesi gerekmektedir (3).

*) **TCK MADDE 451.** Ölüm, failin fiilinden evvel mevcut olup da failce bilinmeyen ahvalin birleşmesi veyahut failin iradesinden hariç ve gayri melhuz esbabın inzımanı yüzünden vukua gelmiş ise idam cezasını müstelzim hallerde on beş seneden ve müebbet ve onbeş seneden fazla ağır hapsi müstelzim hallerde on seneden aşağı olmamak üzere ağır hapis cezası hükmolunur (Ağır Ceza) (Devlet Güvenlik).

TCK MADDE 452. (6123) katil kastıyla olmayan darb ve cerh veya bir müessir fiilden telefi nefis husule gelmiş olursa fail, 448. maddede beyan olunan ahvalde sekiz, 449. maddede yazılı ahvalde on ve 451. maddede muharrer ahvalde onbeş seneden aşağı olmamak üzere muvakkat ağır hapse mahkûm olur.

Eğer telefi nefis failin fiilinden evvel mevcut olup da, failce bilinmeyen ahvalin birleşmesi veyahut failin iradesinden hariç ve gayrimelhuz esbabın inzımanı ile vukua gelirse, 448. maddede beyan olunan ahvalde beş seneden, 449. maddede muharrer ahvalde yedi seneden ve 450. maddede yazılı ahvalde fail on seneden aşağı olmamak üzere ağır hapis cezası ile cezalandırılır (Ağır Ceza) (Devlet Güvenlik).

TCK'nin 451. ve 452. maddelerinin yasal açıdan ana ayrıcalığını «kasit» teşkil etmektedir. 451. madde ve 452. maddenin 2. bölümünde ise tıbbî açıdan ayrıcalık bulunmamaktadır. Yani, ölümün gerçekleşmesi için failin hareketinden evvel, failce bilinmeyen ve iradesi dışında bir ortak nedenin yapılan eyleme eklenmesi gereklidir. Öyle ki, bu ortak nedenin eklenmemesi hâlinde, kişinin tıbben yaşama ihtimali de bulunmalıdır.

TCK'nin 451. ve 452/2. maddelerinde belirtilen ve failin fiiline eklenerek ölüm meydana getiren ortak nedenler :

A — Yapılan eylemle «...failin fiilinden önce mevcut olup da failce bilinmeyen ahvalin birleşmesi...»,

B — Yapılan eylemle «...failin iradesinden hariç ve gayri melhuz esbabın inzımanı...» şeklinde ifade edilmişlerdir (4).

Adli Tıp Meclisi'nce, bu ifadeler, kuruluşundan 1969 yılına değin şimdiki anlayışımızdan farklı bir şekilde yorumlanmış ve çalışmalar da o doğrultuda gerçekleştirilmiştir. Bu süre içerisinde, çoğu kere, failce meydana getirilen yara hayatî tehlike arzeder nitelikte olmayıp, tedâvi ile kurtarılmasının mümkün olduğu durumlarda anılan yasa maddelerinin uygulanması anlayışı benimsenmişti. Ancak, yasa maddelerinde yaranın öldürücü nitelikte olmaması gerektiği şartını koyan bir ifade bulunmaması ve tıp açısından basit bir yaranın sonucu hakkında dahi kesin bir yanıtın önceden verilememesine bağlı olarak, özellikle 451. maddede öldürme kastinin varlığı da dikkate alınarak başlatılan çalışmalar, giderek *Adli Tıp Kurumu*'nun bugünkü uygulamasını geliştirmiştir (5).

MATERYAL ve METOD

Adli Tıp Kurumu I. İhtisas Kurulu'nun arşivlerinde yaptığımız ve 1.1.1984 – 31.12.1984 tarihleri arasındaki araştırmamızda, bu dönem içerisinde *TCK*'nin 451. veya 452/2. maddeleri ile ilgili 201 sonuçlandırılmış dosya incelendi.

Bu dosyalar aşağıdaki faktörler açısından gözden geçirildi ve dökümleri yapıldı :

- 1 — Dosyaların yargı organlarınca yöneltilen sorulara göre dağılımı,
- 2 — *TCK*'nin 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına giren ve bu kapsam dışında kalan olguların özellikleri,
- 3 — Ölüm orijini ve travmayı meydana getiren âletler,
- 4 — *TKC* 451. veya 452/2. maddesi kapsamına giren olguların orijin ve travmayı meydana getiren âletler yönünden incelenmesi,

- 5 — TCK 451. veya 452/2. maddelerin kapsamına giren olguların tedâvisi, olaydan sonraki yaşam süresi ve ölüm yeri açılarından incelenmesi,
 6 — TCK 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına giren olgularda tesbit edilen gerekçeler,
 7 — Önceden mevcut hastalık tesbit edilen olguların dökümü.

BULGULAR

1984 yılı içerisinde, *Adli Tıp Kurumu I. İhtisas Kurulu*'nda incelenen dosyalardan 201'inin TCK'nun 451. veya 452/2. maddeleri ile ilgili olduğu bulunmuştur. Bu 201 dosyadan 95'inde anılan maddelerin uygulanması mümkün görülmüştür. Bunların 59'u «*failin fiilinden evvel*» var olan nedenlerle; 36'sı ise eylemden sonra ortaya çıkan sebeplerle bu maddelerin kapsamına girmişlerdir. Geri kalan 106 dosyanın 90'ında bu maddelerin uygulanma olanağı bulunamamıştır. 11 dosyada otopsi yapılmadığından, 5'inde ise olayla ölüm arasında illiyet bağı kurulamadığından toplam 16 dosya sonuçlandırılmamıştır.

Dosyaların, yargı organlarınınca yöneltilen sorularına göre dağılımları Tablo 1'de verilmiştir. Bu tabloda görüleceği gibi, durumun TCK'nun

Tablo 1. TCK'nun 451. ve 452/2. maddeleriyle ilgili toplam 201 olgunun yargı organlarınınca yöneltilen sorularına göre dağılımları.

İlgili sorusu doğrudan sorulanlar	150
İlgili sorusu dolaylı olarak sorulanlar	33
İlgili soru sorulmadığı hâlde olayın ilgisi nedeniyle yanıt verilenler	18
TOPLAM	201

451. veya 452/2. maddeleri kapsamına girip girmediği sorusu, 201 dosyadan 150'sinde doğrudan sorulmuştur. Bu, dosyaların % 74.62'sini kapsamaktadır. 33 dosyada soru dolaylı olarak, *olayla ölüm arasında illiyet bağı olup olmadığı veya anılan maddelerde belirtilen şartlardan bazılarının var olup olmadığı...* şeklinde sorulmuştur. 18 dosyada ise soru sorulmadığı hâlde, olayın ilgisi nedeniyle ve mahkemece ileride sorulacağı gözönüne alınarak gerekli yanıt verilmiştir.

Tablo 2, anılan yasa maddeleri kapsamına giren ve kapsam dışı olguların dökümünü göstermektedir. İncelenen 201 olgudan 95'inin (%47.26)

TCK'nun 451. veya 452/2. maddelerinde belirtilen şartlara uygun olduğu anlaşılmıştır. 90 olguda bu şartlara uygunluk bulunmadığından, anılan maddelerin uygulanması mümkün görülmemiştir. Bu tablo incelendiğinde, 11 olguya otopsi yapılmadığından yanıt verilemediği anlaşılmaktadır. Bu sayı, 1984 yılına ait ve konuyla ilgili olarak incelenen sadece 201 dosyanın dökümüyle elde edilmiştir. Otopsi uygulanmamış pek çok dosyada, bir çok soru yanıtı kalmıştır. Geri kalan 5 olguda, iddia edilen olayla ölüm arasında illiyet bağı kurulamamıştır.

Tablo 2. TCK'nun 451. ve 452/2. maddeleriyle ilgili toplam 201 olgunun bu maddelerin uygulanmasına ilişkin dağılımları.

TCK'nun 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına girenler	95
TCK'nun 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına girmeyenler	90
Otopsi uygulanmadığından yanıt verilemeyenler	11
İddia edilen olayla ölüm arasında illiyet bağı kurulamadığından yanıt verilmeyenler*	5
TOPLAM	201

* Ölüm sebebi, bu 5 olgudan 3'ünde kalb yetmezliği, 1'inde aort anevrizması rüptürü, 1'inde ası ile intihar olarak tesbit edilmiştir.

Tablo 3'de, incelenen toplam 201 olguda, orijin ve travmayı meydana getiren âletlerin dökümü gösterilmiştir. Bu olguların 140'ı kavga, 36'sı öldürme kasti, 10'u kaza sonucu meydana gelmiştir. 15 olguda orijin belirlenmemiştir.

Tablo 3. TCK'nun 451. ve 452/2. maddeleriyle ilgili toplam 201 olguda, orijin ve travmayı meydana getiren âletlerin dağılımı.

	<i>Künt travmalar</i>	<i>Ateşli silâhlar</i>	<i>Kesici-delici, Kesici-ezici, Kesici ve delici âletler</i>	<i>Travmatik belirti bulunmayanlar</i>	TOPLAM
Kavga	102	8	22	8	140
Cinayet	8	19	9	—	36
Kaza	6	4	—	—	10
Orijini bilinmeyenler ve diğerleri	7	5	1	2	15
TOPLAM	123	36	32	10	201

201 olgudan 123'ünde sert ve künt cisimler, 36'sında ateşli silâh, 32'sinde kesici-delici, kesici-ezici, kesici veya delici âletlerle travma meydana getirilmiştir. 10 olguda herhangi bir travmatik bulgu mevcut değildir. Bunlar, iz bırakmayan veya psişik travmaların etkili olduğu olgulardır.

Tablo 4'de *TCK*'nin 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına giren 95 olgunun orijin ve travmayı meydana getiren âletler yönünden dökümü verilmiştir. Bu olayların 71'i kavga, 14'ü öldürme kasti, 3'ü kaza sonucu meydana gelmiştir. 7 olguda orijin saptanmamıştır. 61'inde sert ve künt cisimler, 14'ünde kesici-delici, kesici-ezici, kesici veya delici âletler kullanılmıştır. 8 olguda herhangi bir travmatik bulgu tesbit edilmemiştir.

Tablo 4. *TCK*'nin 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına giren toplam 95 olguda, orijin ve travmayı meydana getiren âletlerin dağılımı.

	<i>Künt travmalar</i>	<i>Ateşli silâhlar</i>	<i>Kesici-delici, Kesici-ezici, Kesici ve delici âletler</i>	<i>Travmatik belirti bulunmayanlar</i>	TOPLAM
Kavga	52	2	9	8	71
Cinayet	3	6	5	—	14
Kaza	1	2	—	—	3
Orijini bilinmeyenler ve diğerleri	5	2	—	—	7
TOPLAM	61	12	14	8	95

Tablo 5, *TCK*'nin 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına giren olgular- da uygulanan tedâvi, olaydan sonraki yaşam süresi ve ölüm yerini göstermektedir. 95 olgudan 35'i olaydan sonraki ilk 24 saat içerisinde (bunlardan 21'i olay yerinde, 10'u bir tedâvi kurumuna götürülürken yolda, 4'ü hastanede ve tedâvi altındayken) ölmüştür. 95 olgudan 33'ü 1-10 gün süre ile yaşamıştır. Bunların 28'i hastanede ve tedâvi altında iken, 2'si hastaneye götürülürken, 3'ü evinde ölmüştür. Son 5 olguda tedâvi uygulanmamıştır. 17 kişi olaydan sonra 11-30 gün, 8 kişi 2-6 ay, 2 kişi de 7 aydan fazla bir süre yaşamışlardır.

Tablo 5. TCK'nun 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına giren 95 olguda uygulanan tedâvi, olaydan sonraki yaşam süresi ve ölüm yeri dağılımı.

	TEDÂVİ			TOPLAM 95 OLGU	ÖLÜM YERİ			
	Yok	Tıbbî tedâvi	Cerrahi tedâvi		Olay yeri	Hastane	Evi	Diğer (yolda...)
<i>Hemen ölenler ve 24 saatten az yaşayanlar</i>	31	3	1	35	21	4	—	10
<i>1-10 gün yaşayanlar</i>	5	14	14	33	—	28	3	2
<i>11-30 gün yaşayanlar</i>	1	4	12	17	—	16	1	—
<i>2-6 ay yaşayanlar</i>	—	1	7	8	—	7	1	—
<i>7 aydan fazla yaşayanlar</i>	—	—	2	2	—	1	1	—

Tablo 6, TCK'nun 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına giren 95 olguda saptanan gerekçelerin dökümünü vermektedir. 54 olgu travmaya uğrayan kişide önceden mevcut hastalık, 36 olgu tedâvi kaynaklı nedenler, 5 olgu da alkol, ilâç alımı... gibi nedenlerle anılan maddeler kapsamına girmişlerdir.

Tablo 6. TCK'nun 451. veya 452. maddeleri kapsamına giren 95 olguda tesbit edilen gerekçeler.

Önceden mevcut hastalık	54
Tedâvi kurumuna başvurunun gecikmesi nedeniyle tedâvinin geç başlaması	12
Tedâvi kurumuna zamanında başvurulduğu hâlde tedâviye geç başlanması	12
Tedâvi hatâsı	12
Alkol, ilâç alımı... v.s. gibi nedenler	5
TOPLAM	95

Tablo 7, önceden mevcut hastalık saptanan 54 olgunun dökümünü göstermektedir. Dolaşım sistemi hastalıkları birinci sırayı almaktadır.

Tablo 7. TCK'nun 451. veya 452/2. maddeleri kapsamına, önceden mevcut hastalık nedeniyle giren 54 olguda saptanan hastalıkların dökümü.

Dolaşım sistemi hastalıkları	33
Bünye veya hormon bozuklukları	10
Solunum sistemi hastalıkları	6
Mide-bağırsak sistemi hastalıkları	3
Sinir sistemi hastalıkları	1
Kemik hastalıkları	1
TOPLAM	54

TARTIŞMA

İlgili yasa maddelerinden de anlaşılacağı üzere, değerlendirilmesi gereken ve verilecek olan cezayı etkileyebilecek tıbbî nedenler, diğer bir deyişle ölümün meydana gelmesinde failin fiiline eklenen ortak nedenler, eylemden öncesini ve eylemden sonrasını kapsamaktadır (6).

A — «...failin fiilinden önce mevcut olup da failce bilinmeyen ahval...», genellikle, ölene karşı yapılan eylemden önce var olan bedensel bir hastalığı ifade etmektedir. Bu durum, kişinin önceki tedâvi belgeleri ve otopsi bulguları ile ortaya çıkarılabilir. Ayrıca, olayın şekli ile olayla ölüm arasında geçen süre de değerlendirmeye yardımcı olabilir.

Belirgin ve otopside kolayca tanımlanabilen bazı organik hastalık durumlarında bu sorun oldukça kolay çözümlenebilmektedir. Örneğin, önceden bilinen ve dalağı büyüten bir kan ya da depo hastalığı veya karaciğerde kist hidatiğin varlığında, dalak ya da karaciğer üzerine yönelik bir travmaya bağlı olarak bu organların yırtılması ile meydana gelen ölüm olgularında tedâvi belgeleri ve otopsi raporu çoğu kez yeterli olabilmektedir (7, 8). Diabetik bir kişide travmaya bağlı olarak, kan şekerinin yükselip şeker koması gelişmesi veya aynı nedenle açılmış olan bir yaranın kapanamaması da anılan maddelerin uygulanmasını mümkün kılmaktadır (9). «Failce bilinmemesi» şartının araştırılması, konunun yasal yönünü kapsamaktadır.

Örnek : 1

Rapor sayısı :/...../.....

Rapor tarihi :/...../.....

Yaşı : 70

Cinsiyeti : Erkek (A.K.)

Kısa olay özeti : 16.9.1983'de başkaları tarafından sopa ile dövülerek getirildiği hastanede sol femurda intertrokanterik kırık saptandığı, ameliyat uygulandığı, 6.10.1983'de vefat ettiği.

Otopsi bulguları : Sol uyluk dış yüzde ameliyat izi, yatma yaraları, akciğer tetkiklerinde tüberküloz pnömonisi.

Sonuç : «...ölümün kendinde mevcut akciğer tüberkülozunun, yaralanmaya bağlı beden mukavemeti azalmasından, nekrozlu mihrakların çoğalması sonucu solunum yetmezliğinden ileri geldiği anlaşıldığına göre; olayla ölüm arasında illiyet rabitası bulunduğu, durumun TCK'nun 452/2. maddesine mümas nitelikte olduğu...»

Adli Tıp'ta özel bir yeri olan inhibisyon olgularında karar verebilmek çoğu kez oldukça karmaşık araştırmaları gerektirmektedir (10). Nörovejetatif distonisi bulunan kişilerde ve öldürücü nitelikte olmayan travmatik etkilerle ortaya çıkan bu tür ölümlerde, önceden düzenlenmiş bir tedâvi belgesinin olmayışı ve çoğunlukla otopsi uygulanmayışı çıkmazlar yaratmaktadır.

Bazı travmalar ise vücut bütünlüğünü bozmaksızın psişik yönden organizmayı etkilerler. *Stress* adını verdiğimiz bu travmaların, herhangi bir hastalığı olmayan kişilerde yarattıkları öfke, kızgınlık, korku... v.s. nöbetleri ölüme yol açmaz, fakat, özellikle kalb-damar sistemi bozukluğu olan kişilerde beyin kanaması veya akut kalb yetmezliği sonucu ölümlere neden olabilir (11, 12).

Örnek : 2

Rapor sayısı :/...../.....

Rapor tarihi :/...../.....

Yaşı : 74

Cinsiyeti : Erkek (H.D.)

Kısa olay özeti : 23.2.1984'de boynuna vurulma ve iteklenme şeklinde müessir fiile maruz kaldığı, getirildiği hastanede yapılan muayenesinde herhangi bir darp ve cebir asarına rastlanmadığı, kan basıncının 240/120 mmHg ölçüldüğü, serebral kanama düşünüldüğü, 3-4 saat sonra vefat ettiği.

Otopsi bulguları : Subaraknoidal kanama.

Sonuç : «...münakaşa ve kavga şeklinde bir olayın subutu hâlinde, olayla hastalığın başlangıcı arasındaki sürenin kısalığı da dikkate alındıkta, ölümler olay arasında illiyet rabitası olacağı, bu ahvalde durumun TCK'nun 452/2. maddesine mümas olduğu...».

Ancak, tıbbî açıdan kabul edilen ve psişik yönden etkili olan bu travmaların «**cürüm**» sayılıp sayılmayacağı, dolayısıyla «**müessir fiil**» içeriğinde olup olmadığı, yargı organlarını ilgilendirmektedir. Bu nedenle, *Adli Tıp Genel Kurulu* 7.6.1985 günlü toplantısında, belirtilen ölüm olgularıyla ilgili bir *İçtihat Kararı* almıştır. 32 sayılı bu *İçtihat Kararı* şöyledir :

«...ika edildiği iddia edilen hareketin TCK'nun 456. maddesini kapsayacak şekilde takip ve tabikini gerektirir müessir fiil mahiyetinde kabul edilmesi ve bunun subutu hâlinde, olayla ölüm arasında geçen süre de dikkate alındıkta, iddia edilen fiille ölüm arasında illiyet rabitası bulunduğu ve bu durumda TCK'nun 452/2. maddesinin tabikinin mümkün olduğu...».

Eylemden önce alınmış olan bazı ilâçlar ve alkol de, travmanın etkisini artırıcı unsurlar olabilir.

B — «...failin iradesinden hariç ve gayri melhuz esbabın inzımanı...» deyişiyle, kişiye yapılan eylemden sonra ortaya çıkan ve bu eylemle birleşerek ölüme yol açan ortak nedenler anlatılmaktadır. Bir tedâvi kurumuna geç başvurulması veya tedâvi kurumuna zamanında ulaşıldığı hâlde, tedâvinin gecikmesi ya da yaralının tedâviyi reddetmesi yüzünden müdahaleye geç kalınması bu nedenler arasında sayılabilir.

Ancak, kişinin bir tedâvi kurumuna zamanında yetişmesi mümkün olmayan bir yerde yaralanması hâlinde, failin de olay yerini ve şartlarını bildiği gerçeğinden hareketle, anılan yasa maddeleri uygulanamaz.

Örnek : 3

Rapor sayısı :/...../.....

Rapor tarihi :/...../.....

Yaş : 33

Cinsiyeti : Erkek (H.D.)

Kısa olay özeti : 5.5.1984'de birileri tarafından dövülerek rapor almak için müracaat ettiği Adli Tabip tarafından bir hastaneye sevk edilmesine rağmen gitmediği, ertesi gün (6.9.1984) evinde vefat ettiği.

Otopsi bulguları : Haricen muhtelif sıyrık ve ekimozlar, sol 7. kaburgada kırık, çevre adalelerde ve parietal plevrada yaygın kanama, sol böbrek hilusunda yırtık, sol retroperitoneal bölgede ve bütün mezenterde yaygın kanama.

Sonuç : «...zamanında hastaneye sevk edildiği hâlde gitmediği ve gereken müdahale yapılmadığına göre, durumun TCK'nun 452/2. maddesine mümas olduğu...».

Yaralı kişinin bir tedâvi kurumuna ulaştırılması sırasında, trafik kazası sonucu kişinin ikinci bir travmaya maruz kalarak ölmesi hâlinde durum, sözü geçen maddeler kapsamına girmektedir.

Hatâh teşhis ve tedâvi veya asepsi-antisepsi şartlarının yeterli olmaması da, «...failin iradesinden hariç ve gayri melhuz esbab...» dır. Vücut boşluklarına nâfiz yaralarda, yapılan harici bir muayene ile bunların yüzeysel olduklarına karar verilmesi veya özellikle ekstradural kafa içi kanamalarında ge-

rekli tetkikler yapılmadan hastaya konservatif tedâvi uygulanması hatâlı teşhis ve tedâvi için ilk akla gelen örneklerdir.

Örnek : 4

Rapor sayısı :/...../.....

Rapor tarihi :/...../.....

Yaşı : 75

Cinsiyeti : Kadın (S.D.)

Kısa olay özeti : 23.2.1983'de, kocası tarafından dövülmüş ve baygın olarak komşularının evinin önünde bulunduğu, hastaneye şuru kapalı olarak getirildiği, 27.2.1983'de açılan şurunun 6.3.1983'de yeniden kapandığı, 9.3.1983'de vefat ettiği.

Sonuç : «...şuur avdet ettikten 1 hafta sonra fenalaşması dikkate alındıkta, zamanında yapılan bir müdahale ile kurtulmasının mümkün olduğunun düşünülebileceği, bu cihetle olayda TCK'nun 451. ya da 452/2. maddelerinin tatbikinin uygun olacağı...».

Asepsi-antisepsi şartlarının yeterli olmaması ise yaralanma ânından başlayıp, yaranın tamamen iyileşmesine kadar geçen sürede prognozu tehdit etmektedir. Yarayı meydana getiren âlet, tetanoz da dahil olmak üzere birçok mikrop türünün organizmaya girmesine neden olmaktadır. Travmatik ve komplike yaralar, mikroorganizmaların üremesine uygun bir ortam yaratırlar. Bunlar, organ yaraları, kırıklar, sinir veya damar kesiklerinin mevcut olduğu açık yaralardır. Bu tip yaralarda, hiçbir önlem alınmamışsa veya alınan önlemler yetersiz ise ilk 6 saatte bakterilerin yalnızca yara yüzeyinde bulunduğu kabul edilir. 12 saat hiç tedâvi görmemiş yara, infekte yara sayılmaktadır (13). Böyle infekte travmatik bir yara sonucunda veya ameliyatta oluşturulan bir yaranın mikroorganizmalarla bulaşmasıyla, bazı şartlara bağlı olarak yaralı kişide bir infeksiyon gelişebilir. Pansuman ve ameliyatta kullanılan âlet ve malzemeler ile dış çevre ve tedâviyi yapan kişi de ayrı ayrı birer infeksiyon kaynağı olabilirler (14).

Örnek : 5

Rapor sayısı :/...../.....

Rapor tarihi :/...../.....

Yaşı : 25

Cinsiyeti : Erkek (İ.A.)

Kısa olay özeti : 15.8.1981'de başkası tarafından sopayla darpedilmesi nedeniyle getirildiği hastanede gangren tanısı konulmasına rağmen, 18.8.1981'de kendi isteği ile ayrıldığı, 19.8.1981'de yeniden hastaneye başvurduğu, tetanoz tanısı ile yatırıldığı, 22.8.1981'de vefat ettiği.

Sonuç : «...zamanında tetanoz için gerekli önlem alınması hâlinde bu hastalık olmayacağı cihetle, durumunun TCK'nun 451. veya 452/2. maddesine mümas nitelikte olduğu...».

TCK'nin 448., 449. ve 450. maddelerinde belirtilen adam öldürme cürümlerinde, cezayı azaltıcı bazı özel nedenler aynı yasanın 451. ve 452. maddelerinde de açıklanmıştır.

Kişiyeye yönelik öldürme eylemine veya sonu ölümle biten müessir fiile bağlı olarak meydana gelen lezyonlara eklenerek, ölümdede ortak neden teşkil eden ve olayda *TCK*'nin 451. veya 452/2. maddelerinin uygulanmasına imkân sağlayan durumlar :

a) *Eylemden önce* : Kişide var olan bazı hastalıklar, bünnye veya hormon değışiklikleri ya da kullanılmakta olan bazı ilâçlar, alkol ve benzeri maddeler ile,

b) *Eylemden sonra* : Tedâvi gecikmeleri, yaralının taşınması sırasında meydana gelen trafik kazaları, teşhis ve tedâvi hatâları, yaraya bağlı veya tedâvi sırasında ortaya çıkan bazı infeksiyonlar, şeklinde sınıflandırılabilirler.

KAYNAKLAR

- 1 — Öztürk, N. (1970) *Türk Ceza Kanunu Şerhi ve Tatbikatı*, 2. Cilt, s. 1018-1033, 2. Baskı, Garanti Matbaası, İstanbul.
- 2 — Dönmezer, S. (1953) *Ceza Hukuku, Hususi Kısım*, s. 32-61, 2. Baskı, Sulhi Garan Matbaası, İstanbul.
- 3 — Gözübüyük, A.P. (1981) *Türk Ceza Kanunu Açıklaması*, 4. Cilt, s. 369-377, 4. Baskı, Kazancı Hukuk Yayınları, İstanbul.
- 4 — Ekşioğlu, K. (1982) *Türk Ceza Yasası*, s. 196-199, 6. Baskı, Matbaa 81, İstanbul.
- 5 — Gök, Ş., Erölçer, N. (1973) *Adalet Dergisi*, II, 1007-1023.
- 6 — Özen, H.C. (1983) *Kısa Adli Tıp Ders Kitabı*, s. 173-177, 3. Baskı, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No: 111, İstanbul.
- 7 — Salepçioğlu, A. (1967) *Tıbbi Cerrahi El Kitabı*, 4. Cilt, s. 313-322, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi El Kitapları Serisi: 1, Özışık Matbaası, İstanbul.
- 8 — Salepçioğlu, A. (1967) *Tıbbi Cerrahi El Kitabı*, 3. Cilt, s. 286-291, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi El Kitapları Serisi: 1, Özışık Matbaası, İstanbul.
- 9 — Öker, C. (1966) *Tıbbi Cerrahi El Kitabı*, 3. Cilt, s. 538-570, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi El Kitapları Serisi: 1, Özışık Matbaası, İstanbul.
- 10 — Gök, Ş. (1980) *Adli Tıp*, s. 93-96, 4. Baskı, Fatih Gençlik Vakfı Matbaası, İstanbul.
- 11 — Sokolow, M., McIlroy, M.B. (1980) *Hipertansiyon* (Çeviri: Harmancı, N.), E Yayınları, Tıp Dizisi: 001, Doğuş Matbaası, İstanbul.

Adam Öldürme Cürümlerinde Türk Ceza Kanunu'nun 451. ve 452/2. Mad. Uygulanması 73

- 12 — Harmancı, N. (1966) *Tıbbi Cerrahi El Kitabı*, 2. Cilt, s. 180-186, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi El Kitapları Serisi: 1, Özışık Matbaası, İstanbul.
- 13 — Ramazanoğlu, M. (1967) *Tıbbi Cerrahi El Kitabı*, 5. Cilt, s. 13-36, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi El Kitapları Serisi: 1, Özışık Matbaası, İstanbul.
- 14 — Burri, C., Beck, H., Ecke, H. (1982) *Kaza Cerrahisi Travmatolojisi* (Çeviri: Cever, İ.), s. 278-289, Sermet Matbaası, Kırklareli.

Ayrı baskı için :

Prof. Dr. Şemsi Gök
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Adli Tıp Anabilim Dalı
Cerrahpaşa, İstanbul

Kafa Travmaları III. Beyin Lezyonları ve Oluş Mekanizmaları

ÖZDEMİR KOLUSAYIN, ŞEMİSİ GÖK, ZEKİ SOYSAL

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Adli Tıp Anabilim Dalı, Adli Tıp Enstitüsü ve
Adli Tıp Kurumu, İstanbul, Türkiye

CRANIOCEREBRAL TRAUMA III. LESIONS OF THE BRAIN

Summary

The first event in an injury, whatever may happen later, is that physical forces act on the skull and its contents, and may damage either in various ways. There are many patterns of head injuries associated with coverings of the brain that can be recognized, leading to the solution of questions of medicolegal importance. Another important consideration is the location of the lesion in relation to the direction of application of the force that caused it. The difficulty is encountered in determining whether head trauma was due to crime, suicide or accident.

An extensive review of the mechanism and a summary of the theories concerning results of the trauma will be found in this paper.

Keywords : *General principles of trauma - Anatomical structure of the skull - Anatomical structure of the brain.*

Özet

Bu yazıda künt kafa travmalarının kafatası ve beyinde meydana getirdiği lezyonların şekli, lokalizasyonu ve oluşma mekanizmaları gözden geçirilmiştir. Çalışmanın amacı, künt kafa travmalarının neden olduğu ölümlerde orijinin (kaza, cinayet, intihar) belirlenmesine çalışırken dikkat edilmesi gereken hususları tartışmaktır.

Önce; travmanın genel prensipleri, daha sonra kafatasının anatomik özellikleri ve künt kafa travmalarının yol açtığı lezyonların şekil ve mekanizmaları gözden geçirilmiştir. Ayrıca, adli tıpta künt kafa travmalarının cinai, kazai veya intihar orijininin hangisi olduğuna karar verirken, lezyonun şekli ve mekanizmaları üzerinde de durulmuştur.

Beyin

Kafa travmaları, kafatası içindeki beyine çeşitli derecede zarar verirler. En önemli kafa içi zararları, beyin sarsıntısı (*commotio cerebri*), beyin kontüzyonu (*contusio cerebri*), beyin lacerasyonu (*laceratio cerebri*) ve bilhassa meninksteki damarların yırtılmasıdır. Meninks damarlarının yırtılması en çok küçük pial damarları, orta meningeal damarları ve subdural köprü venlerini ilgilendirir. Genel olarak, beyindeki hasar kafatasındaki harabiyetle paralellik gösterir, fakat bunun istisnası olan vak'alar da vardır.

Hayvan deneylerinin sonuçları ve insanlardaki kafa travmalarının yaptığı lezyonlar incelendiğinde, kafayı oluşturan yapıların önemi şöyle sıralanabilir :

a) Kafanın küre şeklinde olması nedeni ile bir darbenin yaptığı deformasyon, volümü azaltır. Azalan volüm kafa içi basıncının artmasına yol açar. Bu değişikliklerin çok ânî olmasına rağmen, kafa içi basıncının artması ekseriya normalden çok fazladır. Kafaya vurulan darbeden sonra, basınç yükselmesinde iki olay müşahade edilir; birisi *EEG* ile de ölçülebilen ve kısa süre devam eden genel kortikal elektrik deşarjıdır ve bunu fonksiyonların depresyonu takip eder. Diğeri ise ölümün çok süratli olduğu durumlarda bile görülen, ânî kan basıncı yükselmesidir.

b) Kafaya gelen hemen hemen her darbe bir rakkas veya bir merkez etrafında dönme hareketi verir; bunun sonucu olarak meydana gelen kontüzyon, ençok frontal ve temporal lobların alt yüzlerinde görülür. Çünkü, bu bölümlerde kafatası girintili çıkıntılıdır ve dura mater kemiğe kuvvetle yapışmıştır.

c) Kafaya tatbik edilen bir impuls, önce pozitif, bunu takiben negatif bir dalga meydana getirir. Negatif dalga kısa bir zaman biriminde tesir etmesine rağmen, hücre sıvılarında çok küçük kabarcıkların oluşmasına neden olur (*kavitasyon fenomeni*). Böylece, bozucu bir moleküler reaksiyon, anatomik lezyonların bulunmadığı *commotio cerebri*'yi izah edebilir.

d) Başa gelen mekanik darbeler, damarlarda fonksiyonel bozukluklar ve akut vak'alarda öldürücü beyin şişmesi yapabilir. Tek bir darbe zararsız olabilir. Müteaddit ve tekrarlanan darbeler, beyinde küçük kanama ve nekrozlara yol açabilir (fazla yumruk alan boksörlerdeki başağrısının mekanizması budur ve vazomotor değişikliklerin sonucudur).

Kafa travmalarında en önemli faktörün mekanik faktör olduğu ve bu faktörün kafatası içindeki beyin ve serebrospinal sıvının sarsıntısına yol

açtığı kabul edilmektedir. Bazı araştırmacılara göre, bu sarsıntı sırasında beyin çift travma tesiri altında kalmaktadır. Bunlardan biri, beynin kafatası duvarına çarpması ve bunun ansefal kitlesinde meydana getirdiği sarsıntı neticesi husule gelen «**direkt şok**» (bu şok, travmanın meydana geldiği yerin mukabilindeki beyin çarpmasına da bağlı bulunabilir), diğeri de travma neticesi husule gelen likörün ânî deplasmanı ve bu deplasman dolayısıyla likör serebrospinalisin çepere çarpmasından ortaya çıkan «**indirekt şok**»tur (*Duret'in sefalorasidiyen şoku*). Beyin kontüzyonundan hemen sonra meydana gelen lezyonlar, **direkt** ve **indirekt şok**'lara bağlanmaktadır. Bu lezyonların en çok görüldüğü bölgeler, bulbus ve fronto-temporal korteks bölgeleridir.

Bulbus'un neden sıklıkla etkilendiği *Duret'in sefalorasidiyen şoku* teorisine göre açıklanabilir; çünkü, likörün sarsıntısı bu noktada en yüksek derecesini bulmaktadır. Bundan başka, yan ventriküllerin ihtiva ettiği likör, travma esnasında, *aqueductus Sylvii* yolu ile hızla boşalıp dördüncü ventrikül duvarına çarpar ve küçük kanamalarla diğer kontüzyon lezyonlarını oluşturur. Bu olayın, bazı kafa travmalarında erken ölümü izaha kâfi geldiği söylenilmektedir. Diğer taraftan, bu belirtilerin görülmediği vak'alardaki ölüm sebebi, bulbus hizasında ve likör tarafından iletilen darbenin, bulbusta meydana getirdiği fonksiyon bozukluğu ile açıklanabilir.

Bazı araştırmacılara göre de, kafa travmalarında (beyine nafiz yaralar haricinde) beyinde üç yolla harabiyet görülmektedir. Bunlar :

- I. Kafatasının şeklinin bozulması ile,
- II. Beynin, kafatası ile ilgili hareketlerine bağlı olarak,
- III. Toraksın akut kompresyonu ile meydana gelebilmektedir.

I. Kafatasının şeklinin bozulması ile meydana gelen beyin harabiyeti

Bebeklerde kemikler elastiktir ve sütürler açıktır; kafatasının şekil değiştirmesi sırasında, kemiklerinde bir kırık olmadan beyinde harabiyet görülebilir. Sütürler kaynaşıp kalsifikasyonla kemikler kırılabilir hâle geldiğinde, beyinde harabiyet meydana getirmeğe kâfi bir deformasyon, ekseriya bir kırık meydana getirecek güçtedir. Akut kafa travması gösteren 1000 vak'alık klinik bir seride, kafatası kırıkları insidensi % 68'dir. Kafa travması bulunan 50 otopside ise kafatası kırıkları oranının % 90 olduğu tesbit edilmiştir. Bu iki gruptaki farklı oranların nedeni, kafatasının dayanamayacağı şiddette bir darbenin öldürücü beyin harabiyetine sebep olmasıdır.

Kafatasının şekil değiştirmesi sırasında, kafa içindeki muhtevanın kemiğin yeni kurvatürlerine uyması gecikir. Böylece, beyin ya basınca ya da emilmeye (*suction*) maruz kalır ve hiçbir parçası harabiyeti meydana getiren kuvvetin etkisinden kaçamaz. Bundan başka, kuvvetin etkisi geçtikten sonra, kafatası tekrar eski şekline dönerken önemli strüktürler parçalanabilir; kafatasının hareketlerine uyamayan beyinde meningeal damarlar kemiklerden uzaklaşır ve küçük besleyici damarlar yırtılır.

Büyük damarların yırtılması bazı anatomik özelliklerle ilgilidir. Kafatasında damarlar derin kemik oluklar içine yerleşmiştir. Bu nedenle, kemik dura mater'den uzaklaşınca rüptürler meydana gelir. Beyin hasarları, muhtemelen beynin hareketinden çok kafatası deformiteleri vasıtası ile oluşur. Diğer taraftan, beynin ileri derecedeki harabiyeti, ekseriya kafatası deformasyonu olup kırıldıktan sonra da tesirini devam ettiren kuvvetlerle husule gelir (kafatası ezilmesi gibi).

II. Beynin, kafatası ile ilgili olan hareketlerine bağlı harabiyetleri

1 — Bir hat üzerindeki hareketlerin meydana getirdiği hasar

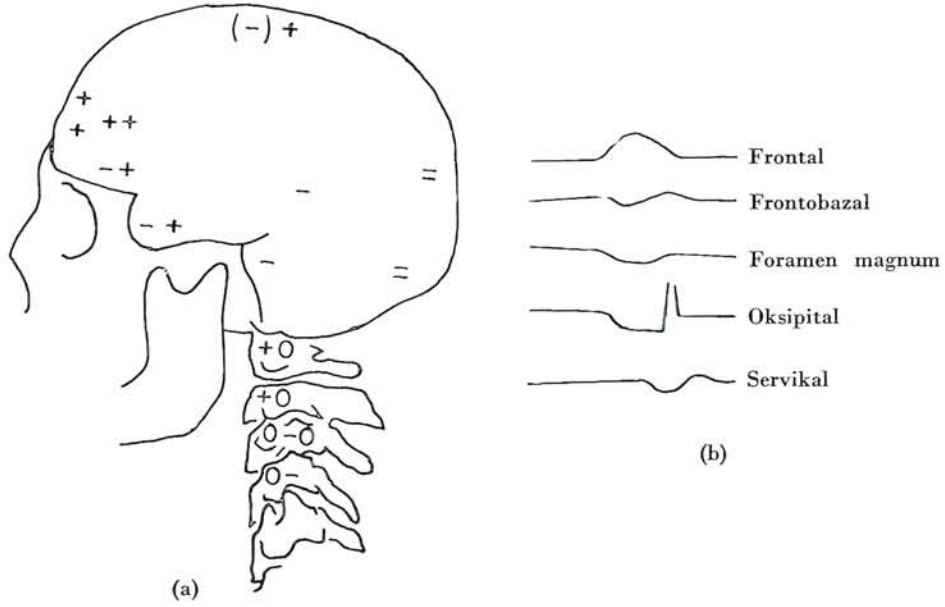
Bir şahıs direnci yüksek olan bir cisme kafa üstü düşerse, kranyum olayın bir devresinde duracaktır. Oysa beyin, ataleti nedeni ile aynı yönde hareketine devam edecek ve karşılaştığı direnç (kemik) nedeni ile zarar görecektir. Beynin ileri giden satırları, kafatası bölümlerine veya dura mater'in septumlarına hızla çarpacaktır.

Beyin, kaideden yukarı doğru hareket ederse hemisferlerin dış satırları kafatası kubbesine, *corpus callosum*'un üst satırları *falx cerebri*'nin serbest kenarına ve *cerebellum* hemisferlerinin üst kısımları *tentorium cerebelli*'nin alt kısmına çarpar. Lateral hareketlerde, bir hemisferin dış sathı kafatasının yan bölümüne, diğer hemisferin iç kısmı *falx*'ın düz sathına, beyin sapı *tentorium*'un kenarına, *cerebellum*'un bir kenarı arka çukurluğun yan bölümüne çarpar.

Beyin, longitudinal eksende ön çukura doğru hareket ederse, ön kutuplar ön çukurun duvarına, *corpus callosum*'un rostrumu *falx*'ın kenarına, beyin sapı oksipital kemiğin korpusuna, *cerebellum* loblarının ön satırları arka çukurun ön duvarına çarpar.

Beynin kaideye doğru olan hareketlerinde, özellikle hemisferler ve *cerebellum*'un alt bölümleri etkilenir. Bu nedenle, beynin hareket ettiği eksene göre sath hasarının bütün kombinasyonları olabilir ve bunların özellikleri, çarpmayı yapan yüzeye ve beyin hareketinin kesildiği andaki hızına bağlıdır.

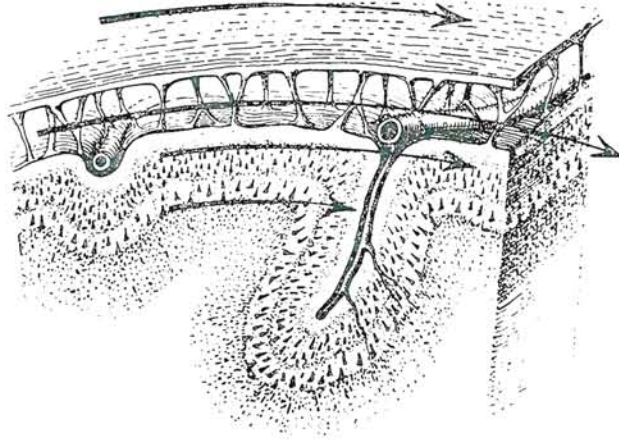
Başa vurulan darbenin altında pozitif bir basıncın dik bir gradient şeklinde meydana geldiğini ve *contre-coupe* bölgelerde geçici bir negatif basınç gradienti ölçülebileceği kabul edilmektedir. Deneysel çalışmalarda ve otopsi incelemelerinde, kafataslarındaki bu basınç gradientlerinin, *akselerasyon* (hızlanma) ve *deselerasyon* (durma) sahaları şeklinde plânları yapılabilir, osiloskoplu bir ölçü âleti ile düzeyleri ölçülebilir (Resim 1).



Resim 1. a) Frontal bölgeye vurulan darbeden sonra kafa içindeki basınçların dağılımı.
b) Basınç eğrilerinin şematik çizimi (basınç eğrilerinin süreleri 2-4 milisaniyedir).

Beynin zar muhafazaları içinde kayması da önemli bir durumdur. Çünkü, bu durum sadece kılıfları bağlayan damarların rüptürü yönünden değil, aynı zamanda kafa çiftlerinin kopması yönünden de önemlidir. Kortikal venleri geniş venöz sinüslere boşaltan damarların duvarları oldukça frajildir ve ekseriya dura mater altında 1 cm veya biraz daha fazla boyda oldukları hâlde, buraya sıkıca yapışmışlardır, subdural ve subaraknoid sahalarındaki seyirleri kısa ve düzdür. Bu sebeple, korteks yer değiştirdiğinde kolayca yırtılırlar; bu venlerin yırtılması birçok vak'ada yaygın subdural veya subaraknoidal kanamanın nedenidir (Resim 2).

Diğer taraftan, kaidedeki geniş arterler eğri-büğü bir yol izlerler ve gerginleşmeden önce oldukça uzun bir bölümde gevşek seyrederek. Arterlerin eğri-büğü seyri ve duvarlarının kuvvetli olması, seyrek yırtılmalarının nedenini açıklar. Beyin kaidesine deliklerden giren küçük arterler, daha kolay yırtılır.



Resim 2. Beyinde, dura mater ile araknoid arasındaki köprü venler ve bunların kayma sırasındaki şematik durumu.

Tüm beynin aynı kıvamda, homojen bir bütün olarak davrandığını düşünmek hatâlidir. Aslında beyin, değişik yoğunluk, gerginlik ve gerici kuvvetleri olan dokulardan teşekkül etmiştir. Bundan başka, beyin tek bir ünite olarak hareket etmez. Her hemisfer, *corpus callosum* ve komissürler vasıtası ile olan ince bağlantılar haricinde, diğer hemisferden ayrıdır ve her iki hemisfer *cerebellum*'a sadece beyin sapındaki yolları vasıtası ile bağlıdır. Tüm beynin kafatası ile ilgili olan hareketine ilâve olarak, geniş anatomik bölümlerinin birbiri ile ilgili tarzda hareket edebilmesi ve beyin şeklinin değişmesi, birleştirici sinir yollarının kolayca bükülüp gerilmesi veya yırtılması demektir. Şekil değiştirici etkisi daha az olan kuvvetler, gri ve beyaz cevher arasındaki hattâ her bir hücre arasındaki birleştirici dokuları etkiler.

Kazanın şartlarına göre, hareket mekanizması ile oluşan hasar ya hızlanma (*akselerasyon*) veya durma (*deselerasyon*) sonucu husule gelir.

2 — Dönme (rotasyon) ile meydana gelen harabiyet

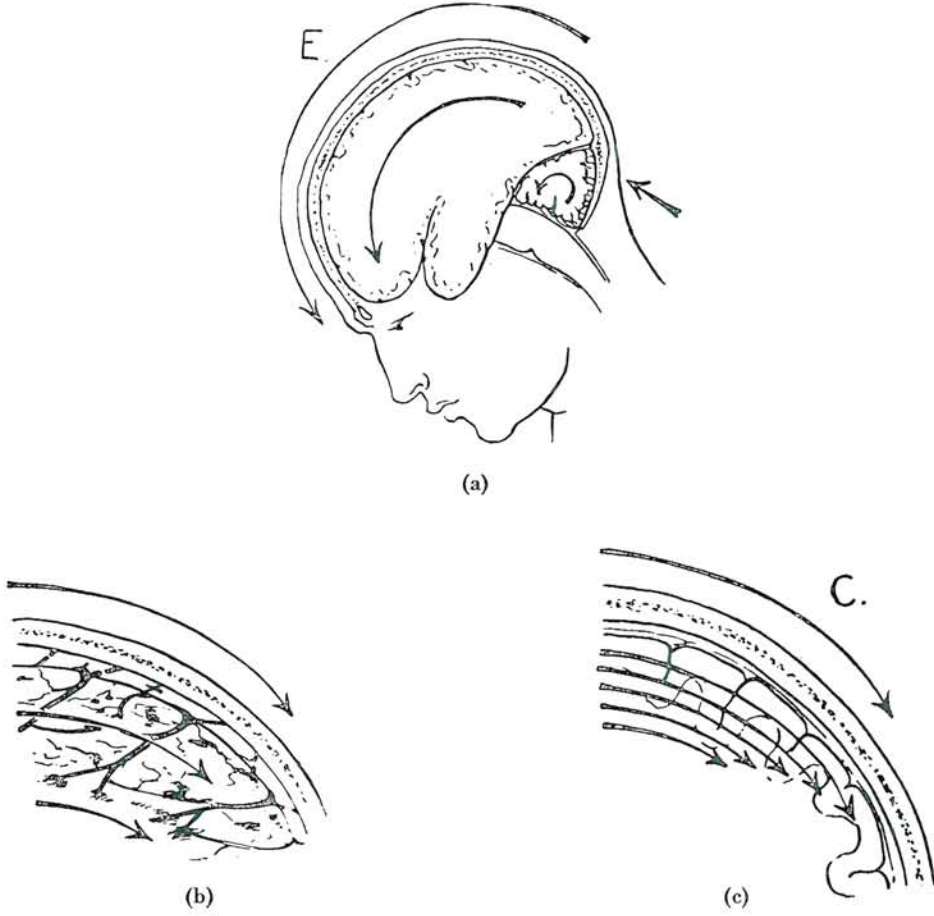
Baş, boyunla tesbit edilmiş bir küredir. Birçok darbe, başı tesbit noktası (boyun) çevresinde döndürür ve beyne rotasyon hareketi verir. Bu hareketin sonucuna bağlı olarak harabiyet yapıcı kuvvetler, beynin rotasyon hızını 2 şekilde etkiler :

- a) düz bir hat üzerindeki hızın değişmesi (*lineer akselerasyon*),
- b) beynin, sayıları sonsuz olan eksenler etrafında dönmesi sırasında hızının değişmesi (*rotasyon akselerasyonu*).

Holbourn teoris'ne göre, kazaların büyük bir çoğunluğundaki beyin harabiyetine, rotasyonun meydana getirdiği dokuların kayma hâli sebep olmaktadır. Başın nasıl çarptığı hakkında kesin detaylar verilirse, beyin harabiyeti yaklaşık matematiksel doğrulukla tahmin edilebilir. Örneğin, arka üstü düşerek başını şiddetle yere çarpan bir şahısta neler olabileceğini düşünersek: önce kafatası darbenin ağırlığını alır ve transvers ekseninde öne doğru döner (Resim 3/a). Sonra, sadece kafatası hareketinin iletildiği güçlere bağlı olarak, beyin aynı ekseninde, aynı yöne doğru döner. Böylece kayma güçlerinin en fazla ortaya çıktığı sahalarda kafatasının beyne sıkıca tutup döndürdüğü bölümlerdir. Bu özellik çıkıntılı sahalarda görülür. Örneğin, sfenoid kanadın çıkıntısı temporal loba girer ve onu dönüş istikametinde çeker. Kafatası kubbesinde çıkıntılı kenarlar yoktur ve sonuç olarak beyin, kafatası ile ilgili olarak, pia-araknoid mesafesinde geriye doğru kayar. Bu aralığı kat eden damarlar gerilir ve ekseriya yırtılır (Resim 3/b). Aynı zamanda sürtünme de olur ve belli bir dereceye kadar beyin, sadece sürtünme ile sürüklenir. Beynin derindeki dokuları yüzeydekilere nazaran geride kalır. Güçlerin tesirine önce ve daha fazla maruz kaldıklarından en fazla harabiyet yüzeyel dokularda görülür (Resim 3/c). Etki eden güçler eşit olsa bile, değişik danditeki dokuların birleşme yerlerinde daha fazla tesir gösterirler; bu da peteşiyal kanamalar şeklindeki kontüzyonal harabiyetin ventrikül duvarlarında sık görülmesini izah eder.

Baş, anteroposterior ekseninde bir yandan diğer yana hareket ederse, hipofiz çukurluğu önemli bir çıkıntı olur ve oldukça fazla bir kuvvet onun vasıtası ile beyne iletilir: bu, büyük bir kaymanın oluşması ve hipotalamus ile üçüncü ventrikül tabanında birçok hasarın meydana gelmesi demektir. Şüphesiz, rotasyon sonsuz sayıda eksenlerde olur ve bu nedenle fizik özellikler değişir. Beyin hemisferleri kafatası kubbesi altında, *cerebellum* lobları arka çukur içinde döner. *Cerebellum* beyinden daha küçük ve hafif olduğundan daha kolay hareket eder ve bu nedenle beyinden daha az hasara maruz kalır.

Beyin sapının rotasyon etkisinde kalma derecesi hakkında kesin bir kriter olmayıp buradaki lezyonların genellikle gerilmeye bağlı olduğu düşünülmektedir.



Resim 3. Arka üstü düşerek başını yere çarpan kişide kafatası ve beyin hareketleri arasındaki ilişkiler.

3 — Darbenin karşı kutbunda görülen hasar (*countre-coup* lezyon)

Beyin zararlarının çoğunlukla *countre-coup* mekanizma ile meydana geldiği ileri sürülür. *Countre-coup* tanımı, genellikle darbenin karşı tarafın-

daki beyin kutbunun zarar gördüğü durumlarda kullanılır. Bu lezyonlar 4 şekilde meydana gelebilir :

- a) rotasyonun kaydırıcı güçleri ile,
- b) kafanın hareketi durunca, beynin kafatasından uzaklaşması ve kafatasının genel şeklinin bozulması sırasında meydana çıkan emme gücü ile,
- c) kafatası bir deformasyona maruz kalıp düzleşince, uzak bir kavsinin beyne çarpması ile,
- d) lineer akselerasyonda beynin bir dura bölmesine veya kafatasının bir yüzüne doğru itilmesi ya da karşı tarafta bulunan bir kemik çıkıntısına çarpması ile.

III. Toraksın akut kompresyonundan meydana gelen beyin harabiyetleri

Göğüs sıkışmalarında, büyük damarlar yoluyla yukarı doğru hızla yükselen kan, beyinde kompresyona ve peteşiyel kanamalara neden olabilir.

İntrakraniyal lezyonlar

Kafatası içerisinde görülen lezyonlar; A) *İntrakraniyal kanamalar*, B) *Beyin dokusu bozuklukları* olarak iki ana grupta incelenebilir.

A. *İntrakraniyal kanamalar*

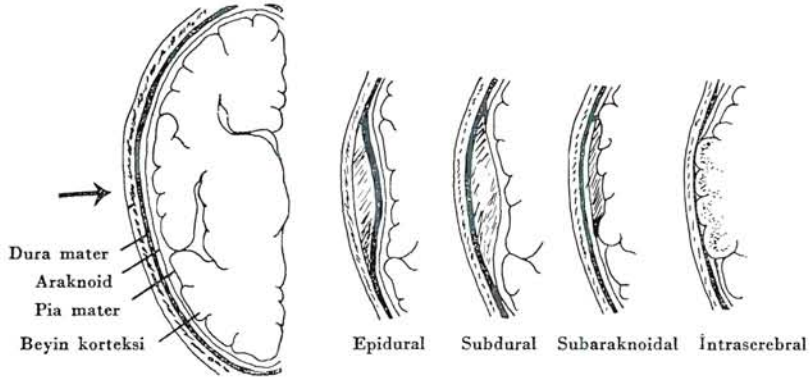
İntrakraniyal kanamanın önemi, damar dışına çıkan kan ve bunun kitlesine bağlı olarak kafa içi basıncındaki yükselmedir. Basınç yükselmesi, beyindeki kan dolaşımını engelleyerek serebral hipoksiye neden olur. 1-2 günlük bir süre içerisinde 100-150 cc tutarındaki kanama öldürücüdür. Eğer kanama yavaş olursa, daha fazla miktarlardaki kan tolere edilebilir. İntrakraniyal kanamalar 4'e ayrılır (Resim 4) :

1 — *Epidural kanama*

Eğer kafatası kırılırsa, kırılan kemiğin sivri kenarı bir arterin veya altta bulunan dura mater'deki venöz sinüslerin duvarını yırtabilir. Bu damar yırtıldığında çıkan kan, kırık altındaki dura mater ile kemik arasında birikme eğilimi gösterir. Epidural hematomların en sık görüldüğü yer *Marchand mesafesi*'dir. En çok yırtılan damar, *A. meningica media*'dir. Bu şekilde sivri

kemik kenarı tarafından meydana getirilen damar yırtılmasına bağlı kanamanın özelliği hızlı olmasıdır. Kontrol edilemezse 1-2 saat içerisinde öldürücü bir kafa içi basınç artışına neden olabilir.

Epidural kanama, çoğunlukla travmaya bağlıdır. Travma dışında rastlanan en önemli faktör kan diskrazileridir.



Resim 4. İntrakraniyal kanamaların lokalizasyonu.

2 — Subdural kanama

Başa yönelik bir darbe, kırık yapsın ya da yapmasın, araknoitten dura mater'e uzanan ince duvarlı damarların yırtılmasına yol açabilir. Bu damarlardan olan kanama genellikle yavaştır; subdural alanda meydana gelen bir hematomun kafa içi basınç artışını belirleyen klinik bulguları göstermesine kadar oldukça uzun bir süre geçebilir. Subdural kanama, unilateral, bilateral, ipsilateral veya kontralateral olabilir. Alkolik ve yaşlı kişilerde, önemsenmediği için unutulabilen bir travmadan günlerce sonra kafa içi basınç artışı bulguları ortaya çıkabilir.

Bir subdural hematoma çevresinde genellikle kapsül meydana gelir. Kapsüllü bir hematomda, sekonder bir kanama veya çevre damarlardan sıvı çekilmesi, sessiz olan lezyonun progressif hacim artışına neden olabilir. Hematom içerisinde kandan fazla likör varsa *subdural hygroma* adını alır.

Subdural hematoma en fazla beyin konveksitesi üzerinde bulunur. İlk 8 güne dek akut hematoma sayılır. Akut dönemde ölmeyen hastalarda organizasyon başlar; hematomun çevresinde meydana gelen granülasyon dokusu sikatrileşir ve fibröz kapsül oluşur. Bu kapsül içerisindeki kan ayırır,

büyük moleküller küçük moleküllere parçalanır, sıvının osmotik basıncı artar ve çevreden sıvı çekilir. Bu oluşuma ise *hygroma durae matris* denir.

Şiddetli kafa travmalarındaki kanamaların çoğu subdural yerleşim gösterir; epidural hematoma göre 4 kez daha sıktır.

Kanama eğilimi olan kişilerde, önemsiz kafa travmalarında bile küçük subdural kanamalar meydana gelebilir. Eski kanamalar hemosiderinden dolayı sarı-kahverengi, yeni kanamalar kırmızıdır. Böylece, dura mater iç yüzünde, ancak dikkatli bakıldığında görülebilen, zorlanınca yerinden ayrılan bir tabaka oluşur (*pachymeningitis hemorrhagica chronica interna*). Eski kanama alanı içerisine taze kanamalar olabilir.

3 — Subaraknoidal kanama

Bir kafa travmasından sonra serebrospinal sıvıda kan bulunması, beynin ya berelendiğini veya lasere olduğunu ya da subaraknoidal sahaya kan kaçıran bir subdural hematomun meydana geldiğini gösterir. Subdural hematom veya beyin sathı lezyonu olmadan ortaya çıkan masif bir subaraknoidal kanamada, kanamanın tabii nedenlerden meydana geldiğini düşünmelidir. Travmatik olmayan yaygın subaraknoidal kanamanın sebebi, yüzeysel bir beyin damarı anevrizmasının rüptürü veya ventriküllere açılan bir kanamadır. Hemorajik meninjitte de (şarbon gibi) subaraknoidal kanama görülebilir.

Hastalar, ilk kanama ya da zaman zaman tekrarlayan kanamalar sırasında ölebilir. Kanama eğer hızlı değilse ve hastayı öldürmemişse aseptik meninjit yapar. Hemosiderin birikmesi ve fibröz doku artması sonucunda *hydrocephalus* ortaya çıkabilir.

4 — İntraserebral kanama

Beyin dokusu içine olan kanamadır. Hipertansiyon, anevrizma rüptürü, kanama eğiliminin artması, tümör gibi spontan nedenlere travmaya bağlı olabilir. Beyin içine olan kanamalar iki türdür :

a) **P u r p u r i k k a n a m a l a r :** Diapedesis kanamalarıdır ve noktacıklar biçiminde görülürler. Noktacıkların birleşmesi ile hematom görünümünü alabilirler.

b) **M a s i f k a n a m a :** Arteryel kaynaklıdır. Klinikte bu tabloya *apoplexia* denir. Masif kanamalar en fazla *corpus striatum*, her iki hemisferin beyaz cevheri ve *pons*'ta görülür. *Corpus striatum*'daki kanamaların sık

oluşu, bazal ganglionlara giden arterlerin doğrudan doğruya *Arteria cerebri media*'dan çıkmasındandır. Bu küçük arterlerdeki kan basıncı, doğrudan büyük arterlerden çıkmamış olan arterlere (örneğin kortikal arterler) oranla daha yüksektir. *Arteriae lenticulo-striatae* ve dallarının yırtılmasına bağlı kanamalar sık olduğundan, buna *artère de hémorrhagie cérébrale* (beynin kanayan arteri) adı verilmiştir.

Hematomun büyüklüğü değişiktir. Bazan bir hemisferin büyük bir bölümünü içine alır. Çevresindeki parçalanmış beyin dokusunda diapedesis kanamaları ve daha dışta sarı renkli geniş bir perifokal ödem bölgesi bulunur. Yüzeydeki giruslar düzleşmiş ve genişlemiş, sulkuslar silinmiş ve bir çizgi gibi kalmıştır.

Kan, en az dirençle karşılaştığı yönde yayılır, beyin dokusunu parçalar, subaraknoidal aralığa ya da ventriküle açılabilir; beyin yumuşamalarındaki gibi damarın dallanma yönüne bağlı değildir.

Hasta bu sırada ölmezse, hematom çevresinde mikroglia hücreleri ile damarlardan gelen makrofajlar birikir, yıkılan doku ve eritrosit artıklarını fagosite ederler. Glia ve fibroblast gelişmesiyle organizasyon başlar. Küçük kanamalar *gliosis* ile dolar, daha büyük olanlar ise kist hâlini alır (*apoplektik kist*). Kistin çeperi hemosiderinden dolayı kahverengidir ve içi sıvıyla doludur.

Travmaya bağlı *contre-coup* zararlarda, genellikle kortekste peteşiyal kanamalar, bazan bunların birleşmesi ile korteks hematomu meydana gelir. Özellikle 50 yaşını geçmiş kişilerde, travmadan aylarca sonra *travmatik geç apopleksi* görülebilir. İlk travmaya bağlı ensefalomalasi alanındaki damarlar dejenere olur, *diapedesis* ya da yırtılmayla kanama meydana gelir.

B. Beyin dokusu bozuklukları

Travmatik beyin dokusu bozuklukları *commotio cerebri*, *contusio cerebri* ve *laceratio cerebri* olarak 3 grupta incelenir :

1 — *Commotio cerebri* (beyin sarsıntısı)

Başın ânî akselerasyonuna ve deselerasyonuna neden olan darbeden hemen sonra görülen geçici şuur kaybıdır. Komplike olmayan bir beyin sarsıntısından kısa bir süre sonra ölen vak'alar oldukça enderdir. Bu nedenle, *commotio cerebri*'nin insanda yaptığı lezyon ve değişikliklerin incelenmesi imkânsızdır; bu yöndeki araştırmalar hayvan deneyleri ile yapılmak-

tadır. Standardize edilmiş darbe veya darbe serilerinin, beyin sapının retiküler formasyonunda belirgin fizyolojik ve anatomik bozukluklar yaptığı düşünülmektedir (buradaki beyin sapının retiküler formasyonu terimi, *medulla, pons'un tegmentum'u, mesencephalon* ve diğer beyin sapı çekirdekleri, *thalamus, hypothalamus*, korteksin ekstrapiramidal nöronları ile geniş bağlantılar yapan nöron ve sinir liflerini kapsar). Bu değişiklikler sonucu, solunum sisteminde ve korneada refleks depresyonu ile şuur kaybı ortaya çıkar.

Kobaylarda beyin sarsıntısı yapan darbelerden sonra, vestibüler çekirdeklerin sinir hücrelerinde ve beyin sapının retiküler sisteminde kromolitik değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Şuur kaybını meydana getirebilecek beyin sapı hasarının muhtemel şekilleri gözden geçirilirse, darbe yerinde intrakraniyal basınç artması, beyin sapının direkt distorsiyonu, beyinin kitlesel hareketi ve dokuların kayma kuvvetleri ön plâna çıkar. En büyük beyin hasarı, rotasyonel akselerasyon ve beyin distorsiyonu sonucu meydana gelen kayıcı güçlere bağlıdır. Kayıcı güçler, yönlerine ve şiddetlerine göre, değişik büyüklükte laserasyonlara yol açabilirler, kanama veya başkaca bir travmatik lezyon olmadan bir sinir lifini koparacak kadar sınırlı kalabilirler. Sinir liflerinin yırtılmaları oldukça önemlidir. Rotasyon sırasında meydana çıkan kayıcı güçlerin akselerasyon etkileri beyin sarsıntısı yapabilmektedir. Örneğin, serbestçe hareket eden bir başa vurulduğunda beyin sarsıntısı olabilir; oysa aynı darbe tesbit edilmiş bir başa geldiğinde etkili olmayabilir.

Beyin sarsıntısı yapan darbe ile beyin lasere olmaz ve meninks damarları sağlam kalırsa, kısa süreli bir baş ağrısı dışında bulgu görülmez. Tekrarlayan beyin sarsıntısı vak'alarının birikim etkisi vardır. Çok fazla yumruk yiyen boksörlerde sık görüldüğü gibi, *progressif serebral dejenerasyon'a* yol açabilir.

2 — *Contusio cerebri* (beyin zedelenmesi)

Kafa travmasına bağlı beyin korteksi zedelenmesidir. Küçük lezyonlar iz bırakmadan iyileşir. Kanama olmuşsa, *Hortega* hücreleri hemosiderini *Virchow-Robin aralığı'na* taşır. Daha büyük lezyonlarda korteks atrofi gelişir ve renk sarıdır (*plaques jaunes*). Eğer dura da zarara uğramışsa, meydana gelen sikatris dokusu korteksle durayı birbirine yapıştırır (*meningo-kortikal sikatris*). Bu sikatrislere bağlı *post-travmatik epilepsi* görülür.

3 — *Laceratio cerebri* (beyin dağılması)

Beyin dokusu sürekliliğinin bozulduğu travmatik lezyonlardır. Kuvvetli travmalarda dura yırtılmaksızın kemik kırılabilir ve beyin ezilir. Burada,

önce kanama, sonra da erime olur. Bu tip lezyonlar açık zararlar da görülür. Beyin dokusunda, sivri-kesici âletlerle meydana getirilen harabiyetin küçük glia nedbeleri ile iyileştiği, künt âletlerle olan lezyonun ise yumuşama ve geniş mezenkimal hücre proliferasyonu yaptığı gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen ve makroskopik görülebilen travmatik beyin dokusu bozukluklarından ayrı olarak, ancak mikroskopla görülebilen dokusal değişiklikler de meydana gelmektedir. Bunlar, sinir liflerinin travmatik yırtılması, *supratentorial* yer işgal eden lezyonlar, beyin sapı herniasyonu, hidrosefalus, lezyon tarafındaki *arteria cerebri posterior* sahasında infarktüs, *tegmentum*, *pons*, *posterior thalamus*, temporal ve oksipital loblarda iskemik lezyonlar ile beyin sapı zararları, beyin ödemi, travmaya bağlı iskemik lezyonlar, beyaz cevherin travmatik atrofi gibi değişikliklerdir. Bunlardan en önemlileri beyin ödemi ve herniasyondur.

Beyin ödemi: Beyin ödemi kadar değerlendirilmesi zor olan merkezî sinir sistemi lezyonu yoktur. Fazla olmadıkça, makroskopik ve belirgin mikroskopik değişiklik yapmaz. Yaygın olduğunda, *gyrus*'larda düzleşme, lateral ventriküllerde yarık şeklinde küçülme ve beyaz cevherde anormal düz ve parlak bir görünüm tesbit edilir. Şiddetli beyin ödeminde, hemisferler *dura mater*'e baskı yapar ve otopside korteksi zedelemeyen beyni çıkarmak çok zorlaşır. Beyin ödeminin daha kolay olarak ayırımı, hemisferlerin hacminin artması sonucu *uncus*'un *tentorial* açıklıktan aşağı doğru gitmesi şeklinde görülen tentorial herniasyon ile olur. Hemisferlerin her yerindeki yaygın beyin ödemi (kontüzyon ve laserasyon bulunsa bile) nâdirdir; dikkatli araştırmalar ödemin hemen hemen daima beyaz cevherde, kontüzyon, laserasyon, intraserebral hematom veya iskemik lezyonların çevresinde olduğunu gösterir. Beyin ödemi, genellikle perifokal ödem şeklindedir. Makroskopik olarak parlak sarımsı renkte ve «ıslak» görünümündedir. Histolojik incelemede aksonlarda ve miyelin kılıflarında bozukluklar bulunur.

Beyin şişmesinde ise şişkinlik beynin tümünü ilgilendirir. Olayın ağırlık noktası beyaz cevherdedir. Beyin «*kuru*» görünümündedir. *Cyrus*'lar genişler, sulkuslar silinir ve çizgi gibi kalır. Sinirsel elemanlarda dejenerasyonlar vardır.

Bugünkü bilgi, beyaz cevherin şiş, soluk, ıslak görüldüğü beyin ödemi şeklinin, merkezî sinir sisteminin şekilli elemanları arasına sıvı girmesine bağlı olduğu biçimindedir. Dağılan bu sıvının, tıkanmış veya zarar görmüş damarlardan geldiği sanılmaktadır. Sıvı artışı, oksijen transferine engel olur. Böylece, bütün şiddetli ödem vak'alarında hipoksi meydana gelerek daha

fazla doku hasarı oluşur; kapiller ve venöz endotel zararı sonucu daha fazla sıvı çıkar.

Bir veya iki hemisferdeki geniş beyin ödemi, ekstradural veya subdural hematomların boşaltılmasından sonra görülebilir. Eğer ödem bilateral ise, kompresyon tarafında daha fazladır; beyin dışındaki pıhtının yaptığı basıncın kapiller ve venöz kan akımını kesmesi sonucu oluşan pasif hiperemi neticesinde meydana çıkar, böylece olaya hipoksi durgunluğunun etkileri ilâve olur. Kalb ve solunum arresti veya solunum yolları obstrüksiyonlarında da aşırı beyin ödemi meydana gelir.

H e r n i a s y o n : İntrakraniyal hipertansiyonun bir belirtisidir. Beyin ve beyincik sağlam bir kemik tabakasıyla her yönden sarılmıştır. Önemli tek açık yer *foramen occipitale magnum*'dur. Kranyum içindeki basınç yükselmesi belirli bir düzeyi geçtikten sonra, serebellum tonsillaları *foramen magnum*'a itilir, *medulla oblongata*'daki solunum ve dolaşım merkezlerini sıkıştırarak felce uğratar, bu olay ölümle sonuçlanır.

Falx cerebri ve *tentorium cerebelli*, kranyum boşluğunu, ikisinde beyin hemisferlerinin, birinde serebellumun bulunduğu üç bölüme ayırmıştır. Bunlardan birinde basınç yükseldiğinde, basıncın normal olduğu öbür iki bölüme taşma olur. Örneğin; beyin sağ hemisferindeki hacim arttırıcı bir olay (tümör, hematom, abse gibi), bu hemisferin sol hemisfere ve serebelluma taşması ile sonuçlanır. Sağ hemisferdeki *gyrus cinguli*, *falx cerebri* altından sola doğru itilir, orta çizgiyi geçerek sola doğru taşar. İkinci taşma yönü *tentorium*'daki *incisura tentorii*'den arka çukura doğrudur. Bu durumda, temporal lobun medial bölümü tek ya da iki taraflı olarak taşar. *Nervus oculomotorius* sıkışır; ipsilateral göz pupillasında önce daralma, sonra sürekli genişleme olur. Orta beyin ve ponsun üst bölümü taşan kitlenin basıncı altında kalır ve bilinç yitilmesi ile sonlanır. Aynı zamanda, kanamalar meydana gelir. *Aqueductus sylvii* sıkışmasıyla likör akımı zorlaşır ve hidrosefalus olur. Sağdan *incisura tentorii*'ye giren kitle buradaki dokuları sola iter ve *pedunculus cerebri* sıkışır. Burası *incisura tentorii*'nin kenarında zedelenir, nekroza uğrar ve vücudun sağ yarısında hemipleji yapar. Ayrıca bir ya da iki *A. cerebri posterior* sıkışabilir, oksipital lobun medial bölümünde infarksiyon ve buna bağlı hemianopsi ortaya çıkar.

Serebellumdaki hacim arttırıcı bir olayda, arka çukurda basınç yükselir ve beyinciğin dorsal bölümü *incisura*'dan yukarı taşar. Bu sırada *aqueductus* sıkışabilir ve hidrosefalus yaparak supratentorial basıncı yükseltir.

KAYNAKLAR *

Ayrı baskı için :

Doç. Dr. Özdemir Kulusayın
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Adli Tıp Anabilim Dalı
Cerrahpaşa, İstanbul

*) Kulusayın, Ö., Gök, Ş., Soysal, Z. (1985) *ATD* 1 : 62 - 73'de verilmiştir.

Forensic HLA Travails-The First Indian Exercise

C. DAMODARAN, N. GUNACHANDRAN, A. SELVAKUMAR,
P. CHANDRA SEKCHARAN

Forensic Sciences Department, Madras-600 004, India

ADLİ TIPTA *HLA* ÇALIŞMALARI - HİNDİSTAN'DAKİ İLK DENEME

Özet

Süper polimorfik *HLA* sistemi, adli tıp uygulamasında giderek önem kazanmaktadır. Bu sisteme özgü karışıklıklar nedeniyle, bir adli tıp kayıt laboratuvarı ve öncelikle klinik hizmetler için kurulmuş birkaç *HLA* örnekleme laboratuvarının sürekli, anlamlı bir işbirliği içinde bulunması gerekmektedir. Böyle bir bilimsel işbirliği sonucunda yoğun eğitim, yerinde hizmet, seminer, konferans ve benzeri toplantılara katılma ve serum incelenmesi gibi yararlar sağlanır. Bu gibi olanaklardan faydalanan adli tıp laboratuvarı, en sonunda, konuyu halk arasında yaygınlaştırma, kimyasal maddeler, metodlar ve başka teknik detaylar konusunda elde edilen bilgileri yayma gibi yöntemlerle deneyimlerini benzer kuruluşlarla paylaşmak zorunda kalabilir.

Böylece, kendi üç yıllık deneyimimiz olan ilk Hint Adli Tıp *HLA* çalışmasını diğer meslekdaşlarımızla paylaşarak bu sistemi daha yaygınlaştırmak istiyoruz. Ayrıca kendi adli tıp sonuçlarımızdan bazılarını da sunuyoruz.

Summary

The super polymorphic *HLA* system has come to assume much significance in forensic practice. The inherent intricacies associated with this system call for a meaningful and constant collaboration between an entrant forensic laboratory and couple of established *HLA Typing Laboratories* whose (the latter's) main aim may be to serve clinical purposes. Such a scientific rapport results in intensive training, on-the-job exposure, attendance at workshops/conferences etc. and assistance in serum screening; the beneficiary forensic laboratory may incidentally take on itself the obligation of sharing the experience with its sister institutions by way of popularising the field, disseminating the data on sources for reagents/methodology/other technical aspects.

96 C. DAMODARAN, N. GUNACHANDRAN, A. SELVAKUMAR, P.C. SEKHARAN

Through this, we share our three years' long experience -*the first Indian forensic HLA exercise*- with other colleagues in order to make this system more familiar. We also present the results on some of our forensic experiments.

Keywords : *Forensic HLA typing - Serum screening - Collaboration*

Apart from the blood group systems like *ABO, MNS, Rh* etc. other genetic markers like *PGM, EAP, AK, EsD, GLO, Hp* etc., that can be readily demonstrated using various techniques are useful to the forensic scientists. The super polymorphic *HLA system* is the latest to the above and we would like to outline the travails during our maiden attempt in the Indian forensic field.

Why HLA System

The *HLA system* of the *MHC* region in C6 of man (1) has been proved to be very useful for various forensic purposes (2-6). Few attempts have also been made to demonstrate the presence of these antigens in dry stains (7-12). This prompted us to enter the fray.

Problems in forensic application

The non-availability of expertise in *HLA system* and the costly reagents including antisera, lack of cooperation with tissue typing laboratories etc., were the main constraints faced by some investigators (13). However some other investigators were optimistic in solving these problems and evolving a methodology to employ this system in forensic case works (12).

Our attempts

Having the above said facts in mind, we decided first to familiarise ourselves with what the *HLA system* is. As scientific temper was ever present in our campus, the infrastructure facilities were made available and encouragement was forthcoming we found no difficulty in establishing contacts with various well developed tissue typing laboratories of our country to get ourselves trained in *HLA system* and the techniques as shown in Table 1. Steps were taken to procure certain equipments and reagents like -80°C deep freezer, -20°C freezer, inverted phase contrast microscope, test plates, repeating dispensers, lymphoprep etc. either by purchase or as gifts from various agencies. Meanwhile we were able to get two batches of *HLA antisera* gift from the *NIH, USA* based on our project.

Table 1. Details of *HLA* training undergone.

Name of the scientist	Nature of visit and dates	Place of visit
<i>N. Gunachandran</i>	Training in <i>HLA</i> techniques and serum screening; 18th April '82-17th July '82	Cellular Immunology Laboratory, A.I.I.M.S., New Delhi
<i>C. Damodaran</i>	Training in <i>HLA</i> techniques 18-23rd July '83	Institute of Immunohaematology Seth G.S. Medical College, Bombay
<i>A. Selvakumar</i>	Observing <i>HLA</i> techniques 9-15th April '83	Cellular Immunology Laboratory A.I.I.M.S., New Delhi
<i>A. Selvakumar and N. Gunachandran</i>	<i>HLA</i> serum screening 24-30th Nov. '83	Dept. of Immunology Madurai Kamaraj University, Madurai
<i>A. Selvakumar</i>	Training in <i>HLA</i> techniques and serum screening 1st Oct. - 30th Nov. '84	Cellular Immunology Laboratory, A.I.I.M.S., New Delhi

Outcome as on date

Our efforts helped us to establish rapport with all the *HLA* scientists in India and abroad. We could also familiarise the importance of this system to the fellow forensic scientists of our country, through our scientific activities as shown in Table 2. Routine *HLA* typing for panel building, sera screening for *HLA* antibodies and experiments to detect these antigens in dry stains have yielded encouraging results. More than 1200 postpartum blood samples were collected. On screening, 56 of them are giving positive reactions. Results of experiments using micro-immune adherence technique to detect *HLA-A1* antigen is separately presented (14). Experiments to detect *HLA* antigen using immune precipitation technique employing a synthetic polymer, polyethylene glycol (*PEG*) have also provided good results.

Conclusion

We are happy that our efforts have enabled us to start our own *HLA* typing facility and we hope that the journey of the *HLA* system in Indian forensic science field will be a successful and rewarding one.

Table 2. Details of *HLA* contributions.

Scientific gathering with date and place	Contribution	Authors/participants
Scientific meeting of the Indian Academy of Forensic Sciences; 25-26 June '82, New Delhi	<i>HLA</i> -the latest tool for forensic scientist	<i>N. Gunachandran</i> <i>C. Damodaran and</i> <i>P. Chandra Sekharan</i>
V. All India Forensic Science Conference; 11-16 March '83, Patna	<i>HLA</i> system in forensic science-what's new	<i>N. Gunachandran</i> <i>A. Selvakumar</i> <i>C. Damodaran and</i> <i>P. Chandra Sekharan</i>
<i>HLA</i> serum screening; 8-13 August '83, Madurai	<i>HLA</i> in forensic science	<i>C. Damodaran</i> <i>N. Gunachandran and</i> <i>A. Selvakumar</i>
Seminar on Forensic Medicine; 20-21 March '84, Madras	<i>HLA</i> system in forensic science-what's new	<i>N. Gunachandran</i> <i>A. Selvakumar</i> <i>C. Damodaran and</i> <i>P. Chandra Sekharan</i>
WHO workshop on <i>HLA</i> polymorphism; 12-14 March '84, Hyderabad	<i>HLA</i> in forensic medicine	<i>C. Damodaran and</i> <i>A. Selvakumar</i>

Acknowledgements

Our thanks are due to the *Indian Council of Medical Research, New Delhi*; *Prof. Dr. M.C. Vaidya* and colleagues, *AIIMS, New Delhi*; *Dr. H.M. Bhatia* and colleagues, *Institute of Immunohaematology, Bombay*; *Dr. Rm. Pitchappan, Madurai Kamaraj University, Madurai*; and to our own colleagues.

REFERENCES

- 1 — Lammn, L.U., Freidrich, U., Petersen, G.B., Jorgensen, J., Nielsen, J., Thekelsen, A.J., Kisseneyer - Nielsen, F. (1974) *Human Heredity*, **24**, 273.
- 2 — Bodmer, W.F., Bodmer, J.G. (1978) *Brit. Med. Bull.*, **34**, 309.
- 3 — Gunachandran, N., Damodaran, C., Chandra Sekharan, P. (1985) *J. Forensic Sci. Soc. India*, **1**, 25.
- 4 — Mayr, W.R. (1974) *Z. Rechtsmed.*, **75**, 81.

- 5 — Mayr, W.R., Speiser, P., Kirnbauer, M., Pausch, V. (1979) in *Proceedings of the 8th International Congress of the Society for Forensic Hemogenetics*, London; Sept. 23-27, 1979.
- 6 — Gurtler, H., Hansen, H.E., Niebuhr, E. (1979) in *Proceedings of the 8th International Congress of the Society for Forensic Hemogenetics*, London; Sept. 23-27, 1979.
- 7 — Rittner, Ch., Waiyawuth, V. (1974) *J. Immunogenet.*, **1**, 99.
- 8 — Rittner, Ch., Waiyawuth, V. (1975) *J. Immunogenet.*, **2**, 211.
- 9 — Newall, P.J. (1979) *Canad. Soc. Forensic Sci. J.*, **12**, 1.
- 10 — Hodge, D.G., Wolf, E., Lincoln, P.J., Festenstein, H., Dodd, B.E. (1980) *Med. Sci. Law*, **20**, 213.
- 11 — Newall, P.J. (1980) *Canad. Soc. Forensic Sci. J.*, **14**, 104.
- 12 — Hodge, D.G., Dodd, B.E., Lincoln, P.J., Festenstein, H. (1981) in *Proceedings of the 9th International Congress of the Society for Forensic Hemogenetics*, Bern; Sept. 29-Oct. 3, 1981.
- 13 — Martin, P.D. (1981) in *Proceedings of the 9th International Congress of the Society for Forensic Hemogenetics*, Bern; Sept. 29-Oct. 3, 1981.
- 14 — Damodaran, C., Gunachandran, N., Chandra Sekharan, P. (1985) Paper submitted to the 11th *International Congress of the Society for Forensic Hemogenetics*, Copenhagen; Aug. 7-10, 1985.

Reprints request to :

C. Damodaran
Forensic Sciences Dept.
Madras - 600 004
India

**Cerrahın Sorumluluğu Hakkında
İsviçre Federal Mahkemesi'nin Bir Kararı*)
Cerrahın Sorumluluğu-Vekâlet Akdi**

SAHİR ERMAN

İstanbul, Türkiye

Madde 398 İsv. BK

1 — *Cerrah sadece, belli bir hatâ, uygun olmadığı açıkça belli olan bir tedâvi, tıp ilminde genelde bilinen verilerin bilinmemesi ya da tıp ilmi ve sanatına ait kuralların ihlâl edilmesi hâlinde sorumluluk taşır. Bu prensipler cerrahî alanda özellikle geçerlidir, çünkü bu alanda belirli bir yüreklilik ve riskleri göze almak gerekmektedir (c.1).*

2 — *Hekim hastasını durumundan haberdar etmekle yükümlüdür, özellikle hastalığının türünü bildirmelidir. Önerilen tedâvinin muhtemel sonuçlarından ve tedâvi yapılmadığı takdirde meydana gelecek sonuçlardan hastasını haberdar etmelidir, ancak bunu hastanın fizyolojik ve psikolojik durumunu gözönünde bulundurarak, basit, akılcı ve samimi bir şekilde yapmalıdır (c.6).*

Gerekçeden özet

c.1 — İki taraf, dâvâcı ile dâvâlı arasındaki hukukî durumlarla ilgili vekâlet kurallarının tatbikini, akılcı bir şekilde kabul eder. Vekil olmak sıfatıyla hekim, çalışan kişi gibi, aynı gayreti göstermek zorundadır; (mad. 398 a.1. 1. ve 2. CO) yani prensip olarak bütün kusurlardan sorumludur. Ancak bu prensip, kesin olarak tatbik edilirse, tıp mesleğinin normal icrasına mâni olur, bu da hem hastaların hem de hekimlerin zararına. Bu sebeple Hukuk İlmi, hekimin kusurlarını ve insanın yanılabilme ihtimalini hesaba katabilmek için, bu kesinliği hafifletmiştir. Hekim, çeşitli olduğu kadar çok

*) İsviçre Federal Mahkemesi, 13 Kasım 1979 – RO 105 II 284.

sayıda görüşler ihtiva eden bir mesleğin icrasında basit kusurlar için sorumluluk taşımaz. Buna karşılık, büyük kusurlar, kesinlikle uygun olmayan tedâvi, tıp ilmi ve sanatının açıkça ihlâl veya tıp ilminin genellikle bilinen verilerin bilinmemesi hâlinde, sorumluluk taşır (RO 70 II 219, JdT 1945 I 102; RO 66 II 36, JdT 1940 I 298; RO 64 II 205, JdT 1938 I 571; aynı zamanda RO 93 II 21, JdT 1967 I 154; RO 92 II 21, JdT 1966 I 529; RO 53 II 24 s., JdT 1928 I 589).

Teşhis hatâsı, tek başına, hekime sorumluluk yüklemeye yeterli değildir. Eğer hekim, sanatının kurallarına uygun ve gerekli olan zaman ve dikkati kullanarak hastasını muayene ettikten sonra teşhisini koyar ve sonra uygun tedâviyi tavsiye eder ve genelde kabul edilmiş olan prensiplere göre onu tatbik ettirirse, o zaman ihmal ya da dikkatsizlik ithamından kurtulur (RO 64 II 205, JdT 1938 I 571; RO II 300).

Cerrahî alanda özel bir ihtiyat kaydı vardır. Cerrahlık mecburen belirli bir cesareti, belirli riskleri göze almayı gerektirir. Bir hekimi sırf, belki de gerekli olmadığı hâlde, ameliyata karar verdiği ya da ameliyatta teknik bir hatâ yaptığı gerekçesiyle mahkûm etmek, cerrahları tereddütlü hallerde müdâhale etmekten alıkoymalıdır; bu sakınma ise hasta için öldürücü bir sonuç doğurabilir. Cerrah bir ameliyatın uygunluğu konusundaki kararını ve onu ne şekilde gerçekleştireceğini değerlendirirken tam bir serbesti içinde olmalıdır. Buna karşılık müdâhale sırasında, ameliyatın tehlikelerini mümkün olduğunca azaltabilmek için, ameliyat tekniğinin ve durumun icab ettirdiği bütün önlemleri almakla yükümlüdür. Herhangi bir ihmal çok vahim sonuçlar doğurabileceğinden, herkes cerrahtan özel bir dikkat beklemek hakkına sahiptir (RO 70 II 219 s., JdT 1945 I 102 s., RO 30 II 308 s.).

Bundan başka hekim kendi uzmanlık dalındaki gelişmeleri izlemelidir (RO 66 II 36, JdT 1940 I 298).

Bir hekimin sorumluluğu konusunda aleyhinde açılmış dâvâda, sanattaki bir kurala riayet edilmediğini ve de kusurla zarar arasında uygun bir nedensellik bağının mevcudiyetini isbat etmek, zarar görene aittir. Bu şartlar yerine getirildiği zaman hekim, ancak sanatının kurallarını bilmemesinin bu gibi durumlarda kendi açısından bir kusur teşkil etmediğini isbat edebildiği takdirde, sorumluluğu üzerinden atabilir (mad. 97 CO; RO 70 II 208 s., JdT 1945 I 101 s.; RO 57 II 211 ss., JdT 1932 I 85 s.).

c.6 — Dâvâcı dâvâlıyı, kendisine tümör teşhisini açıklamamış ve bağırsağın bir kısmını keseceğini bildirmemiş olmakla da suçlamaktadır. Ameliyat

esnasında ilk plânını değiştiren dâvâlı, kuvvetli bir ihtimal dahilinde, kalın ve ince bağırsağı kesip çıkarmak için, hastanın onayını almak zorunda değildir. Halbuki dâvâcı, konan teşhisten ve öngörülen ameliyat konusunda gereğince haberdar edilmiş olsaydı, önce başka uzmanlara danışmak için ameliyatı tehir kararı almış olabileceğini ileri sürmüştür.

Bu suçlama, hekimin görevi olan bilgi verme zorunluluğunun sınırları konusundaki bir problemi ortaya çıkartmaktadır. Federal Mahkeme bugüne kadar bu sorunla ilgili bir karar bildirmek zorunda kalmamıştır. Ancak buna başka bir açıdan temas etmiştir, şöyleki, RO 66 II 36 (JdT 1940 I 299) no.lu kararda, pratisyen hekimin karşısında bulunduğu riskin çok az ve önemsiz olması hâlinde, bilgi verme zorunluluğunun bulunmadığına, aynı zamanda durum hastaya bildirilmiş olsaydı dahi, hastanın müdâhaleden vazgeçmeyeceğinin anlaşılması hâlinde buna gerek bulunmadığına karar verilmiştir (diatermokoagülasyon yöntemi ile siğillerin yakılması). İsviçre doktrini, prensip olarak, hekimin hastasına durumu hakkında bilgi vermesi, özellikle hastalığının cinsi, önerilen tedâvinin meydana getireceği ve tedâviden vazgeçildiği takdirde tahmin edilen sonuçlar konusunda bilgi vermesi zorunluluğunu kabul eder. Belirlenmiş bir tedâvinin riskleri konusunda hastaya bilgi vermek, özellikle cerrahî müdâhale konusunda, tedâviye muvafakat etmesinin geçerli olması için şarttır; bu muvafakat-ki hekimin müdâhalesi de genelde buna bağlıdır- «açıklanmalıdır». Bununla beraber hekim, hastayı endişelendirecek ve bundan dolayı fizikî ve ruhî durumuna zarar verecek ya da tedâvinin iyi netice vermesine mâni olacak şekilde bilgi vermekle mükellef değildir (Bu konularda konferans, *Hinderling*, Hekimin açıklamada bulunmak yükümlülüğü, Şahsiyetin Korunması ile ilgili iki makale, Basel'de yapılan Hukuk İncelemeleri, fasikül 66, 1963, pp 49 ss.; *W. Loeffler*, Doktor Tedâvisinde Doktorun Sorumluluğu, tez, Zürih 1945, pp 96 ss.; *Lotz*, Hekimin Hukukî Sorumluluğu, Basel'den Hukukî Bilgiler 1968, pp 107 ss.; *M. Ney*, Hekimlerin ve yardımcılarının, özellikle ameliyat konusundaki sorumlulukları, tez Lausanne 1979, pp 70 ss.; *W.E. Ott*, Hekimin Medenî Hukuk Yönünden Sorumluluğunun Şartları, tez, Zürih 1978, pp 33 ss.; *Thilo*, Hekimin Meslekî Sorumluluğu, 1946 JdT I pp 105 ss.; aynı konuda, Fransız Hukukunda Konferans; *Kornprobst*, Fransız Kanunu ve Hukuk İlmi Karşısında Hekimin Sorumluluğu, Flammarion 1957, pp 351 ss.; *Penneau*, Tıbbî Sorumluluk, Paris 1977 No. 46 ss.; *Savatier*, Fransız Hukukunda Medenî Mesuliyet Sözleşmesi, 2. etüd Paris 1591, No. 782; *Savatier/Auby/Péquignot*, Tıp Hukuku Sözleşmesi, Paris 1956, No. 251; Alman Hukukunda: *Staudinger*, Federal Mahkemenin Kesin İçtihadı Karşısında, Alman Medenî Kanunu (n. 404 bb) ile ilgili yorum-

lar, 10/11 yayını, 1975 II/5 no. 398 ss.; ad. mad. 823; *Soergel/Siebert*, Alman Medenî Kanunu ile İlgili Yorum, 10. baskı 1969, 3/II n. 146 ss.; ad par. 823, Belçika Hukukunda: *Anrys*, Tıpta Medenî Sorumluluk, Bruxelles 1974, no. 38 ss.).

Fransız, Alman (Federal Mahkemenin içtihadı mahfuz kalmak üzere) ve Belçika Hukukuna yakın olan bu İsviçre doktrini kabul edilmelidir. Bilgi verme görevinin sınırları, gerekçesi sıhhati korumak ve düzeltmek olan Tıp Bilimi, târifinin kendi içindedir. Hekim, teşhis, prognoz ve tedâvi ile ilgili basit, akılcı ve samimî bilgi vermekle yükümlüdür. Diğer bir deyimle, hastaya doğru olduğu söylenen tedâvinin şekli ve muhtemel etkileri konusunda yeterli bilgi verilmelidir ki bilinçli olarak ameliyata muvaffakat edebilsin. Ancak hastaya verilen bilgi onda, sıhhatine zarar verecek bir endişelenmeye yol açmamalıdır. Eskiden verem, ya da bugün çoğunlukla kanserle bağdaştırılan ciddi ya da ölüme yol açabilecek bir prognoz, hastadan saklanabilir; ancak, prensip olarak yakınlarına bildirilmelidir. Tam bilgi vermek ve de icabında hastanın fizikî ve ruhî durumuna uygun olarak sınırlı bilgi vermek konusunda riskleri değerlendirmek tamamiyle hekime kalmıştır.

Bununla birlikte, buna benzer durumlarda hastanın haberdar olduğu ya da olması gerektiği hâllerde (meselâ kendisi de hekim ise) ya da önerilen tedâviyi, bilerek ya da sebepsiz olarak, ayrıntılı bilgi istemeyerek, kabul ederse, bilgi verme sorumluluğu ortadan kalkar (*Hinderling*, op. cit. p. 55; *Lotz*, op. cit. p. 117 aa; *Ott*, op. cit., p. 37).

Bu vak'ada, 4 Kasım 1973 tarihinde bulunmuş olan tümörün alınması için gerekli olan yeni bir müdâhale konusunda kendisine bilgi verilmiş olan dâvâcı, ne bu tümörün nev'i konusunda ne de öngörülen bağırsak kesilmesinin sebebiyet vereceği gelişme hakkında hiçbir açıklama talebinde bulunmamıştır. Diğer tarafta dâvâlı tedâvi eden hekime ve dâvâcının karısına teşhisini bildirmiş ve hastayı ve tepkilerini kendisinden çok daha iyi bilen bu iki kişi, dâvâlıyı davacıya bu teşhisi bildirmekten vazgeçirmişlerdir. Bu şartlarda, dâvâcı tümörün varlığı ve alınmasının gerekliliği konusunda bilgi sahibi olduğu hâlde daha fazla bilgi istemediği için, dâvâlı tavsiyelerden öteye geçerek ona bu bilgileri vermekle yükümlü değildir.

1. Cour Civile – Heyet : Chatelain, Rüedi, Stoffel, Messmer ve Weyermann – Taraflar : Raymond Nicolet, Cenevre'de Avukat ve Baptiste Rusconi, Lausanne'da Avukat.

Görüşümüz

Önemli kısımlarını aynen aktardığımız bu kararında, İsviçre Federal Mahkemesi, hekimin ve özellikle cerrahın hukukî sorumluluğu konusuna açıklık getirmektedir.

Olayda tümör teşhisi konulan hastaya, teşhisle ilgili yeterli bilgi verilmeden alınan rıza sonucu ameliyatı yapan operatör, ameliyat sırasında gördüğü lüzum üzerine kalın ve ince bağırsağını da çıkarmış ve aleyhine dâvâ açılmıştır. Karardan anlaşıldığı veçhile, dâvâcı hasta hem ameliyatın kusurlu bir şekilde yapıldığı, hem de kendisine gerekli bilgi verilmeden alınan rızasının geçerli olmaması sebebiyle hekimin hukuka aykırı bir şekilde hareket ettiğini ileri sürmüştür.

Birinci konu hakkında Federal Mahkemenin görüşü, yalnız İsviçre, Alman, Fransız ve Belçika doktrinine değil, Türk doktrinine de uygundur. Gerçekten Federal Mahkemeye göre, hasta ile hekim arasındaki münasebet vekâlet aktine dayanır: hasta kendisinin iyileştirilmesi için hekime vekâlet vermektedir; hekim de, vekil sıfatıyla, bu iyileştirme işini yerine getirmek hususunu üstlenmiş bulunmaktadır.

Ancak vekilin –yani olayda hekimin– sorumlu tutulabilmesi için, kusurunun belirli bir ağırlıkta olması icab eder. Her insan gibi hekim de yanılabilir. Fakat hekim «*tıp meslek ve san'atının gerektirdiği şekilde hareket etmiş, tecvüz edilemeyecek meslekî bir hatâyâ düşmemiş ise*» (Dönmezer/Erman, *Nazarî ve Tatbikî Ceza Hukuku*, II, 9. bası, No. 729), bir taksirinin bulunduğu kabul edilemez. Federal Mahkeme kararında belirtildiği veçhile, hekim muayene için gerekli zamanı vermiş, dikkatini sarfetmiş, bu muayene açısından tıp meslek ve san'atının koyduğu kurallara uygun bir şekilde hareket etmişse, muayene neticesinde teşhiste hatâ etmiş olması kendisinin sorumlu tutulması için yeterli olamaz.

Özellikle cerrah ameliyat kararını vermekte serbest davranmalıdır. Bir cerrahın –gerekli olmadığı hâlde– ameliyat kararı vermesi, meslekî kusur sayılacak olursa, cerrah tereddütlü durumlarda ve sırf muhtemel bir sorumluluktan kurtulmak maksadıyla, hareketsiz kalmayı, müdâhalede bulunmamayı tercih edebilir: bu ise hem hastanın hem de tıp ilminin zararına olur.

Bu sebeptendir ki, hekim, herhangi bir hekimin bilmesi gerektiği bilgilerden mahrum olduğu, meslek kurallarına uygun bir biçimde hareket etmediği, yaptığı hatâ her hekimin –insan olması itibariyle– yaptığı bir hatâ olmak sınırını aştığı taktirdedir ki, hukuken sorumlu olabilir.

İsviçre Federal Mahkemesi ikinci konuyu da doktrine uygun bir biçimde halletmiştir. Cerrahî müdâhalenin hukuka uygun olabilmesi için, hastanın doktorunu seçmesi ve -ıztırâr hallerinin dışında- rızasının bulunması ve bu rızanın geçerli olabilmesi için de müdâhalenin sebep ve mahiyeti ve doğurabileceği neticeler hakkında aydınlatılması şart ise de, bu bilgi verme mükellefiyeti hastanın fizik ve psişik durumuna bağlıdır. Bir hastaya, müdâhaleden doğabilmesi muhtemel bütün ve en uzak neticeler anlatılacak olsa, dış çek-tirmeğe veya siğil aldirtmaya bile rıza göstermeyecek hastalar bulunur. Kaldı ki cerrah ilk ameliyat plânını, ameliyat sırasında değiştirebilir. Federal Mahkemenin elkoyduğu olayda, bağırsak kesilmesi kararı, batın açıldıktan sonra verilmiştir. Böyle bir durumda -rıza bulunmadığı gerekçesiyle- hekimi müdâhaleden alıkoymak, ameliyatı o noktada kesip, hasta kendine geldikten sonra gelişen durum hakkında kendisine bilgi verip yeniden rızasını aldıktan sonra tekrar ameliyat etmek, lüzumsuz belki de vahim bir işkence olur. Nitekim böbreğinden taş alınmak için ameliyat edilmeğe başlanan hastanın böbreğinin tamamıyla iltihaplanmış olduğunu gören -rahmetli- bir ürolog arkadaşımız, böbreği almış, rıza dışı hareket ettiği gerekçesiyle aleyhinde açılan tazminat dâvâsı İstanbul 2. Asliye Hukuk Mahkemesince reddedilmiştir (Bk.: *Dönmezer/Erman*, No. 725). Türk Mahkemesinin bu olaydaki gerekçesi, İsviçre Federal Mahkemesinin gerekçesinden farksızdır. Sadece Türk Mahkemesi bilgi vermek mükellefiyetinin sınırları üzerinde, o hadisede, durmuş değildir.

Kanaatimizce, İsviçre Federal Mahkemesinin kararı tıp ilminin esaslarına olduğu kadar, hukuk ilminin de prensiplerine uygundur ve benzer olaylarda Mahkemelerimize ışık tutacak niteliktedir.

Ayrı baskı için :

Prof. Dr. Sahir Erman
Vali Konağı Cad. Yapı Kredi Tesisi 7/1
Nişantaşı, İstanbul, Türkiye