

## Adli Bilimlerde DNA Metilasyonları Kullanılarak Bireysel Yaş Tahmini

Kenan Yanar\* Sedef Aksungur\*\*

**Öz:** Kimliklendirmenin sağlanmasında yaş tahmini oldukça önemlidir. Yaş tahmini genellikle iskelet ve diş kalıntılarının incelendiği antropolojik ve odontolojik çalışmalarla gerçekleştirilir. Dişlerin sürme safhaları, kafatası süturları kaynaşma safhaları, kaburga kemiklerinin sternal uçları gibi belirli tipte ve sınırlı sayıda kalıntıların incelendiği çalışmaların ciddi sınırlılıkları vardır. Bu sınırlılıklar ise yaşlanma boyunca kademeli değişim gösteren biyomoleküllerin incelendiği moleküler mekanizmaların araştırılmasıyla giderilmiştir. Bunlar; mitokondriyal DNA delesyonlarının, telomer kısaltmalarının, ileri glikasyon son ürünlerinin (AGEs), aspartik asit rase-mizasyonunun (AAR) ve sjTRECSin (kandaki T-lenfosit hücre DNA'larının yeniden düzenlenmesiyle oluşan spesifik DNA'ların) incelendiği yöntemlerdir. Bu yöntemlerinde belirli tipteki örneklere uygulanabilmesi, bağışıklığı etkileyen durumlarda hatalı sonuçlara neden olması ve uygulanmasında karşılaşılan diğer teknik problemler nedeniyle ciddi sınırlılıkları mevcuttur. Diğer alanlarda, metilasyon temelli yaş tahmin algoritmalarının geliştirildiğini rapor eden çalışmalar adli bilimlerde DNA metilasyonlarının kullanımına dikkatleri çekmiştir. Bell ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada kişinin metilasyon profilinin zamanla değiştiği ve bunun yaş tahmininde kullanılabileceği belirtilmiştir. Gelişmeleri takiben yapılan alışmalar DNA metilasyonlarının olay yerinde karşılaşılabilecek hemen hemen her dokuda, yüksek doğrulukta yaş tahmini yapmaya olanak sağladığını belirtmiştir. Bu derlemede adli bilimler alanında DNA metilasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiş çalışmalar hakkında bilgi vererek çeşitli yaş tahmin algoritmalarının geliştirilmesine yönelik çalışmalara katkı olmak amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Yaş Tahmini, DNA Metilasyonu, Yaş- spesifik CpG

\* Öğretim Görevlisi, Beytepe Jandarma Meslek Yüksek Okulu Müdürlüğü, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Kriminalistik Anabilim Dalı Dr.Öğr. kenanyanar@jandarma.gov.tr.<http://orcid.org/0000-0003-4020-0309>

\*\* J.Asb.vş. Balıkesir İl Jandarma Komutanlığı, sedefaksungur@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-4917-6037>

## Individual Age Estimation Using DNA Methylation in Forensic Science

**Abstract:** Age estimation is very important in providing forensic identification. Age estimation is usually made by anthropological and odontological studies examining skeletal and dental remains. Studies examining certain types and a limited number of remains, such as eruption stages of teeth, fusion stages of skull sutures, and sternal ends of rib bones, have serious limitations. These limitations were overcome by investigating the molecular mechanisms of biomolecules that show gradual changes during aging. These include; mitochondrial DNA deletions, telomere shortening, advanced glycation end products (AGEs), aspartic acid racemization (AAR) and sjTRECs (specific DNAs formed by rearrangement of T-lymphocyte cell DNAs in the blood). These methods have serious limitations as they can be applied to certain types of samples, cause incorrect results in cases affecting immunity, and other technical problems in their application. Studies reporting the development of methylation-based age estimation algorithms in other fields have drawn attention to the use of DNA methylations in forensic science. In the study conducted by Bell et al. (2014), it was stated that the methylation profile of a person changes over time, and this can be used in age estimation. Studies carried out following the developments stated that DNA methylations allow high-accuracy age estimation in almost every tissue that can be encountered at the crime scene. This review, it aims to contribute to the development of various age estimation algorithms by giving information about the studies carried out using DNA methylations in the field of forensic sciences.

**Key Words:** Age Estimation, DNA Methylation, Age-dependent CpG

## Giriş

Adli bilimlerde olay yerindeki kalıntıların incelenerek bireylerin kimliklendirilmesinin sağlandığı alışmalar için, bireyin yaş tahminini yapabilmek son derece önemlidir. Bugüne kadar olay yerinde rastlanılan çeşitli kalıntılardan yaş tahmini yapabilmek için kullanılabilen, farklı yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemlerin çoğu iskelet ve diş kalıntılarının morfolojik analizlerine dayalı antropolojik ve odontolojik incelemelerin yapıldığı yöntemlerdir. İskelet kalıntılarında; kafatası süturlarının kaynaşma safhalarının, uzun kemiklerin epifiz kaynaşma safhalarının, kaburga kemiğinin sternal ucunun, pubik simfizisin, coxa kemiğinin auricular yüzeylerinin incelendiği yöntemler ve bunların birkaçının birlikte kullanıldığı kompozit yöntem yaş tahmini yapmaya imkân veren antropolojik yöntemlerdir (eker, 2018).

Odontolojik yöntemler ise insanların ‹yok olmayan kimlikleri›› olarak nitelendirilen temel işlevi besinlerin mekanik sindirimini sağlamak olan dişlerin incelendiği yöntemlerdir (Sağır, 2013). Yaş tahmini yapmak amacıyla kullanılan odontolojik yöntemler genellikle dişlerde zamanla meydana gelen gelişimsel ve dejeneratif değişikliklerin incelendiği yöntemlerdir (Sağır, 2013). Yaş tahminleri genellikle çocuklarda geçici ve sürekli dişlerin gelişim aşamalarının ve sürme zamanlarının, erişkinlerde ise sürekli dişlerde meydana gelen morfolojik ve biyokimyasal değişimlerin incelenmesi ile iki ana döneme ayrılarak yapılmaktadır (Akay vd., 2018). Bu incelemelerde diş formasyonu ve sürmesi, diş tacının yapısal artışı, sekonder dentin tortulanmasının ve kökte dentin sertleşmesi olarak bilinen kök transparanlığının incelendiği pulpa-dentin kompleksi, dişin kimyasal bileşimi, dişin özgül ağırlığı, sement kalınlığı, dental aşınma, diş rengi ve dental dokuların flüoresanlığına yönelik belirlemeler yapılarak yaş tahmini mümkün olmaktadır (Yılmaz, 2014). Yaş tahminine olanak sağlayan bu yöntemler genellikle araştırmacıların adıyla adlandırılmıştır (eker, 2018). Logan ve Kronfeld, Schour ve Massler, Gleiser ve Hunt, Nolla, Demirjian, Goldstein ve Tanner olarak ifade edilen, geliştirilen bazı yöntemlere ait isimlerdir. (Sağır, 2013). Geliştirilen her yöntemin kendi içinde avantajı olmakla beraber sınırlılıkları da mevcuttur. Hem antropolojik hem odontolojik yöntemlerin başlıca sınırlılıkları ise sadece belirli tipte ve sınırlı sayıdaki kalıntılarda çalışılabilmesi, radyasyon analizleri gibi canlı bireylerde zararlı olabilecek teknik uygulamalar içermesi ve olay yerinde karşılaşılan tükürük, vajinal sıvı, meni gibi diğer birçok dokudan belirleme yapmaya imkân vermemesidir (Freire-Aradas vd., 2017). Bu nedenle araştırmacılar mevcut sınırlılıkların giderilmesi amacıyla morfolojiden ziyade yaşlanmayla ilişkilendirdikleri moleküler mekanizmaları inceleyerek moleküler yaklaşımların uygunluğunu araştırmışlardır.

Meisner ve Ritz-Timme (2010) tarafından yapılan çalışmada yaşlanmanın doku ve organlarda ömür boyu biriken birtakım değişikliklere neden olduğu belirtilerek, yaşlanmayla ilişkili bulunan moleküler mekanizmaların yaş tahminlerinde

kullanılabileceği belirtilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017). Moleküler mekanizmaları içeren yöntemler, temelde biyomoleküllerin yaşlanma süreci boyunca gösterdiği kademeli değişimlerin belirlenmesiyle yaş tahminine olanak sağlar.

### **Metilasyon Temelli Yaş Tahmin Çalışmaları**

Geliştirilen moleküler yöntemlerde 5 farklı biyomolekülün değişim miktarları incelenerek yaş tahmini yapıldığı belirtilmiştir. Bunlar; mitokondriyal DNA delesyonlarının, telomer kısalmalarının, ileri glikasyon son ürünlerinin (AGEs), aspartik asit rasemizasyonunun (AAR) ve signal-joint T-cell Receptor Excision Circles (sjTRECcs) T hücrelerinin incelendiği yöntemlerdir (Freire-Aradas vd., 2017; Hong vd., 2019; Shi vd., 2018; Xin vd., 2019). Bu yöntemlerden mitokondriyal DNA, telomer ve T hücrelerin incelendiği yöntemler DNA bazlı iken glikasyon son ürünlerinin ve aspartik asit rasemizasyonunun incelendiği yöntemler protein bazlıdır. Bu yöntemlerin hepsinin özel kullanım alanları ve kullanımını kısıtlayan sınırlılıkları mevcuttur.

ATP üretimi için gerekli olan glikoz ve lipid oksidasyonunun serbest radikal salınımla mitokondriyal DNA dizilerinde delesyonlara neden olarak hasar oluşturdukları bilinmektedir (Freire-Aradas vd., 2017; Koch ve Wagner, 2011). Yapılan çalışmalarda mitokondriyal DNA dizilerindeki delesyon miktarlarının yaşla birlikte artış gösterdiği ve bu nedenle yaş tahminlerinde kullanılabileceğinin düşünüldüğü belirtilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017; Parson 2018). Sonraki yapılan çalışmalarda ise yaş tahmini sağlayabilecek 4977 nükleotid delesyonu keşfedildiği belirtilmiştir. Bu metodun kullanımında karşılaşılan teknik problemler ve güvenli yaş aralıklarının belirlenebilmesi için yaşları 20'nin altında ve 70'in üstündeki bireylerde çalışmalara ihtiyaç duyulması gibi nedenlerden dolayı adli bilimlerde kullanımı engellenmektedir (Freire-Aradas vd., 2017).

Kromozom uçlarında bulunan TTAGGG tekrar dizilerinden oluşan her mitotik hücre bölünmesinde telomeraz enzim aktivitesiyle kısalan telomerlerin yapısındaki değişikliklerin belirlenmesiyle yaş tahmini yapılabileceği öne sürülmüştür. Bu sürecin yaşa bağlı etkisini kaybettiği belirtilerek telomer kısalmasında mitokondriyal DNA delesyonlarında olduğu gibi teknik nedenlerden dolayı kullanımı uygun görülmemektedir (Freire-Aradas vd., 2017).

Aspartik asit rasemizasyonu ise hata oranı  $\pm 3$  yıl olacak şekilde en doğru yaş tahmini sağlayan metottur (Freire-Aradas vd., 2017). Rasemizasyon L ve D enantiomerlerinin birbirine dönüşümüyle gerçekleşen kimyasal bir süreçtir.

Yaşlanmayla beraber artış gösteren D-aspartik asit miktarının kromotografik ölçümlerle belirlendiği bu yöntemin özellikle dentin tabakasına uygulanabileceği belirtilmektedir (Akay, 2018). Yüksek doğruluk sağlamasına rağmen bu yöntemin oldukça zarar verici olduğu ve bu nedenle geniş ölçekli uygulamalara olanak vermediği belirtilmektedir.

Zubakov vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada kandan yaş tahminlerinde doğru ve güvenilir sonuçlar verdiği belirtilen sjTREC's yönteminin kullanımı önerilmiştir (Gunn vd., 2014 ; Vidaki ve Kayser 2013). SjTREC yöntemi, kandaki T-lenfosit hücre DNA'larının yeniden düzenlenmesiyle oluşan spesifik DNA'ların incelendiği yöntemdir. Kişinin yaşamı boyunca yaşa bağlı olarak sjTREC miktarlarında düşüş yaşandığı bilinmektedir. Hata oranı yaklaşık  $\pm 9$  yıla ortalama bir tahmin imkni sağlamasına rağmen bu yöntemin sadece kan örneklerine uygulanabilmesi ve bağışıklık sistemini etkileyen hastalıkların tahmin doğruluğunu değiştirebilmesi gibi nedenlerden dolayı kullanımı kısıtlanmaktadır (Freire-Aradas vd., 2017; Parson 2018).

Adli bilimler dışındaki alanlarda yapılan çalışmalarda genom boyu metilasyon analizleriyle belirlenen CpG bölgelerini içeren, çeşitli veri kümelerinde validasyonu yapılmış çeşitli yaş tahmin algoritmaları rapor edilmiştir (Park vd., 2016). Ulaşılan bu sonuçlar adli bilimlerde yaş tahminlerinde mevcut yöntemlerin sınırlılıklarını giderebilecek diğer bir moleküler mekanizma olan DNA metilasyonlarının kullanımına dikkatleri çekmiştir. Bell ve ark. tarafından yapılan çalışmada kişinin metilasyon profilinin zamanla değiştiği ve bunun yaş tahmininde kullanılabileceği belirtilmiştir (Grskovic vd., 2013). Yapılan çalışmalarda dokularda yaşlanmaya bağlı olarak DNMT1 metiltransferazın ilerleyen etki kaybıyla global DNA metilasyonları azalırken bağı spesifik genlerde yaşa bağlı hipermetilasyonların arttığı belirtilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017; Parson, 2018; Yi vd., 2014). Yaşanan bu gelişmelerle birlikte yaş tahminine olanak sağlayan CpG bölgeleri ve bu bölgelerin metilasyon profillerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalar yaşla-ilişkili CpG bölgelerini içeren DNA metilasyon markerlerinin yetişkinlerde iyi derecede yaş tahminine olanak sağladığını belirtmiştir (Shi vd., 2018).

Koch ve Wagner (2011) tarafından yapılan çalışmada "HumanMethylation27 BeadChip" tekniğiyle dermis, epidermis, servikal smear, T hücre ve monosit kümelerinde "Pavlidis Template Matching" tekniğiyle yaşlanma boyunca sürekli hipermetile olan 19 CpG bölgesi belirlenmiştir. Bu lokuslardan hipermetile olan NPTX2, TRIM58, GRIA2 ve KCNQ1DN dört lokusu ve hipometile olan bir diğer BIRC4BP lokusunu içeren donör yaşını belirlemede kullanılacak bir model geliştirilmiştir (Grskovic vd.,2013; Kader ve Ghai vd., 2015; Lee vd., 2016; Vidaki vd., 2013; Koch ve Wagner, 2014).

Geliştirilen bu model validasyonun sağlanması için çeşitli hücre ve dokulardan oluşan birbirinden bağımsız 8 veri kümesinde araştırılmıştır (Koch ve Wagner, 2014; Parson, 2018).

Bütün dokularda (tükürükteki/lökositler ve bukkal epiteller, periferik kandaki/lökositler, kordon kanı ve periferik kandaki/CD<sup>34</sup>HPC, periferik kandaki/lenfositler, kordon kanındaki/CB MNC, periferik kandan/kanın tümü, meme organından/meme doku, tükürükten bukkal epitel hücreler) 5 CpG bölgesindeki, DNA metilasyonlarının yaşa bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirtilmiştir (Koch ve

Wagner, 2014). Tahmin edilen yaş ve gerçek kronolojik yaş arasında yaklaşık 11 yıllık farklılık bulunmuş olup bu tekniğin çeşitli hücreler içeren örneklerden yaş belirlemede kullanılabileceği belirtilmiştir. Doğruluk tahmininde karşılaşılan fark büyük olmasına rağmen 2011 yılında yapılan bu çalışma diğer birçok çalışmaya temel oluşturmuş dikkatleri bu konu üzerine çekerek öncü olma niteliği taşımaktadır (Koch ve Wagner, 2014; Parson, 2018).

Bockland vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada EDARADD (Edar-Associated Death Domain), TOM1L1 ve NPTX2 (Neuronal Pentraxin II) lokuslarının promotorları incelenerek ve yalnızca 2 CpG bölgesinin tükürük örneklerinde  $\pm 5,2$  yıl tahmin doğruluğuyla kullanılabileceğini açıklanmıştır (Graskovic vd., 2013; Gunn vd., 2014; Lee vd., 2016; Parson, 2018; Vidaki vd., 2013; Shi vd., 2018).

Garagni vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada ELOVL2, FHL2 ve PENK3 lokuslarındaki DNA metilasyonlarının yaşla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Lee, 2016; Parson, 2018). Kan örneklerinde 0.92 spearman korelasyon katsayısıyla yaş tahmini için en umut verici marker ELOVL2 olarak tanımlanmıştır (Parson, 2018).

Hannum vd. (2013) tarafından 71 CpG bölgesi içeren 3,9 yıl hata payıyla tahmin doğruluğu yüksek nicel bir yaş tahmin modeli geliştirilmiştir (Lee vd., 2016).

Horvath (2013) "Illumina Infinium Methylation BeadChip" 27K ve 450K teknikleriyle seçerek incelediği 8,000 örnekle 3,6 yıl hata payıyla yüksek doğrulukla geniş bir doku yelpazesinde yaş tahmini sağlayan 353 CpG bölgesi içeren bir model geliştirmiştir (Freire-Aradas vd., 2017; Horvath, 2013; Lee vd., 2016; Xin vd., 2019).

Yi vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada kan örneklerinde yaşla beraber önemli ölçüde korelasyon gösteren DNA metilasyon bölgelerini içeren 8 gen fragment izole edilerek kimliklendirilmiştir (Yi vd., 2014). Sequenom MassARRAY teknolojisiyle belirlenen DNA metilasyon seviyelerinin sekiz fragmanda yaşa özgü olduğu bu nedenle aynı yaş gruplarında bireysel ayırım yapmak için uygun olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda genç donör grubuna kıyasla yaşlı gruptan incelenen örneklerde bazı CpG bölgelerinin önemli metilasyon farkı gösterdiği rapor edilmiştir (Yi vd., 2014).

İncelenen sekiz fragmanın gelişimsel süreçlerde önemli rol oynayan TBOX3 (Gelişimsel transkripsiyon faktör kodlayan T-box gen), GPR137 (böbrek gelişiminde regülasyonu sağlayan G-protein kapılı reseptör), ZIC4 ( ZIC çinko parmak protein ), ZDHHC22 (İyon kanallarının kontrolünde görevli enzim), MEIS1 (normal gelişimde önemli homeobox protein), UBE2E1 (proteinlerin ubiquitasyonunda görevli enzim), PTDS2 ( hücre sinyalizasyonu ve apoptoziste görevli fosfatidilserin metabolizmasından sorumlu gen) ve UBQLN1 (presenilin protein ailesinin işleyişinde görevli ubiquilin) lokuslarında yer aldığı rapor edilmiştir (Yi vd., 2014). Bu 8 lokusun yaşla beraber korelasyon gösteren metilasyon paternlerine sahip olması nedeniyle yaş tahmini için marker olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Shi vd., 2018; Yi vd., 2014).

Weidner vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada cg022228185 (ASP), cg25809905 (ITGA2B) ve cg17861230 (PDEC)bölgesine yakın CpG bölgesi

ile beraber toplamda 3 CpG bölgesi kullanılarak kan örneklerinden yaş tahmini yapmak için model geliştirilmiştir. Geliştirilen bu modelde tahmin doğruluğu  $\pm 5.43$  yıl olarak belirlenmiştir (Freire- Aradas vd., 2017; Jung vd., 2019; Lee vd., 2016; Park vd., 2016; Parson, 2018).

Zbiiec-Piekarska vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada kan örneklerinden yaş tahmini yapabilmek için pirosekanslama tekniği kullanılarak ELOVL2 lokusu araştırılmıştır. Bu çalışmada ELOVL2 lokusunun promotor bölgesinde yaşla beraber güçlü korelasyon gösteren marker olarak 6.85 hata payıyla ayırım gücü yüksek olabilecek 2 CpG bölgesi keşfedilmiştir (Lee, 2016; Parson, 2018). Yapılan bu çalışmayı takiben daha yüksek doğrulukla yaş tahmin modeli geliştirmek amacıyla ilave markerları içeren çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların ilki ELOVL2, CLorf132/MIR29B2C, TRIM59, KLF14 ve FHL2 lokuslarının tamamını içeren, tahmin doğruluğu  $\pm 3.40$  yıl olarak belirlenen modeldir (CorreiaDias vd., 2020; Freire- Aradas vd., 2017; Jung vd., 2019; Park vd., 2016; Parson 2018). Bu model Weidner ve ark. (2014) tarafından geliştirilen modelin aksine hem tükürük hem kan örneklerinde kullanılabilir (Jung vd., 2019).

CpG bölgelerine çok yakın bölgelerin incelendiği, yeni markerların geliştirilmesine olanak veren çalışmalar her defasında ELOVL2 lokusunun yaş tahmininde çok yüksek doğruluk gösterdiğini ortaya koymuştur (Freire- Aradas vd., 2017). Bu nedenle geliştirilen her modelde bu lokusun olmasına dikkat edilmiştir. İlginç bir şekilde Lee ve ark. (2015) tarafından semen örneklerinden yaş tahmini yapabilmek için gerçekleştirilen öncü çalışmaların hiçbirinde ELOVL2 lokusu kullanılmamıştır (Freire- Aradas vd., 2017).

Bunun nedeninin ise DNA metilasyonlarının doku farklılaşmasına bağlı olarak farklı yollarda rol alan germinal hücrelerde meydana gelmesi, somatik hücre ve germinal hücrelerde gerçekleşen metilasyon farklılıkları olabileceği belirtilmiştir (Freire- Aradas vd., 2017; Lee vd., 2016).

Lee vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada TTCB genindeki cg06304190 bölgesi, NOX4 genindeki cg06979108 bölgesi ve cg12837463 bölgelerini içeren tahmin doğruluğu yüksek bir model geliştirilmiştir. Aynı zamanda TTCB geninin spermde yaşa bağlı olarak DNA metilasyon değişiklikleri gösterdiği ve bu nedenle semen örneklerinde yaş tahmini için marker olabileceği belirtilmiştir (Lee vd., 2016).

Bekaert vd. (2015) tarafından yaş tahminlerindeki hata oranlarının, yaşa bağlı olarak nasıl değiştiğinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada 20 yaş kategorisi oluşturularak, yine kendi geliştirdikleri modelle ASPA, PDE4C, ELOVL2 ve EDARADD lokusları kandan yaş tahmini yapmak için kullanılmıştır (Freire- Aradas vd., 2017; Lee vd., 2016). Bu model aynı zamanda dişlerden yüksek doğrulukla yaş tahmini yapabileceği belirtilmiştir (Lee vd., 2016).

Park vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada kandan yaş tahmini yapabilmek için DNA metilasyonlarının incelendiği ZNF423, ELOVL2 ve CCDC102B lokuslarını içeren tahmin doğruluğu  $\pm 3.16$  olan bir model geliştirilmiştir (Freire- Aradas vd., 2017; Park, 2016). CCDC102B lokusunun yaş tahmini için uygunlu-

ğu daha önceden Zbiac-Piekarska ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Freire- Aradas vd., 2017).

Zubakov vd. (2016) tarafından bir önceki çalışmaya paralel olarak yapılan çalışmada kandan yaş tahmini sağlayan ELOVL2, FHL2, DUSP27, ORAOV1 lokuslarındaki 8 CpG bölgesini içeren, tahmin doğruluğu  $\pm 5.19$  olan bir model geliştirilmiştir. Tüm markırların, geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı olan hastalarda değişmemiş DNA metilasyon durumuna ve yaş tahmin kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur (Graskovic vd., 2013; Freire- Aradas vd., 2017).

Giuliani vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen aynı zamanda tamamlanan üçüncü çalışmada ise dış örneklerinden yaş tahmini sağlayan, ELOVL2, FHL2 ve PENK lokuslarındaki 5-13 CpG bölgesi içeren modeldir. Bu bölgeler yaşla iyi bir korelasyon sergileyen çeşitli DNA metilasyon biyomarkırları olarak belirlenmiştir. (Freire- Aradas vd., 2017; Lee vd., 2016).

Eipel vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada Weidner ve ark. (2014) tarafından kan için geliştirilen model buccal epitel örneklerde denenmiş ve doğruluk tahmini  $\pm 14,6$  yıl olarak belirlenmiştir (Freire- Aradas, 2017; Jung, 2019). Buna göre 3 CpG bölgesinin doku-spesifik olduğu belirlenmiştir (Jung, 2019). Yapılan bu çalışmada PDE4C (cg17861230) lokusunun yaş ile korelasyonunun buccal epitel ve tükürük örneklerinde kandan daha güçlü olduğu görülmüştür (Freire- Aradas vd., 2017). Buccal epitel hücrelere-spesifik CpG bölgelerinin belirlenebilmesi için yapılan çalışmalar yaş tahmini için yeni bir modelin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Bu model 3 kan-spesifik marker içerirken 2 buccal epitel-spesifik marker ilave edilmiş olup doğruluk tahmini  $\pm 5,1$  yıl olarak gözlenmiştir (Jung vd., 2019).

Tükürüğün hem lökositler hem buccal epitel hücreler içermesinden dolayı tükürük örneklerinde de benzer durumla karşılaşmıştır.

Hong vd. (2017) SST, CNGA3, KLF14, TSSK6, TBR1 ve SLC12A5 lokuslarında 6 CpG bölgesini tükürük için yaşla ilgili marker olarak belirlemişken hücre-spesifik PTPN7 lokusuyla bu altı lokusun birlikte kullanımının daha doğru sonuçlar vereceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmada sadece 6 lokusun doğruluk tahmini  $\pm 4,1$  yıl iken hücre-spesifik lokusun eklenmesiyle oluşan 7 lokusun doğruluk tahmini  $\pm 3,2$  yıl olarak belirlenmiştir (Hong vd., 2019; Jung vd., 2019; Vidaki vd., 2018). Yapılan bu çalışmayla hücre-spesifik markerın Eipel vd. tarafından yapılan buccal epitel hücreleri çalışmalarında gözlemlendiği kadar önemli sonuç değişikliğine neden olmadığı görülmüştür (Hong, 2019; Jung, 2019).

Dahası yapılan araştırmalarla birçok dokuda yaş ilişkisini belirleyen bu markerların sadece tükürük gibi heterojen sıvı örneklerinin ayrılmasında değil diğer doku ve sıvı örneklerinin birbirinden ayrılması içinde kullanışlı olabileceği belirtilmiştir (Hong vd., 2019). Bu doğrultuda Hong vd. tarafından yapılan modelde hücre-spesifik marker içersin ya da içermesin 6 yaş ilişkili markerden 3'ünün (ELOVL2, KLF14 VE SLC12A5) hem kan hem tükürük örneklerinde korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (Jung vd., 2019).



Naue vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada massive paralel sekanslamayla kana spesifik yaş belirlemede kullanılan DNA metilasyon markerlarının beyin, kas ve kemik gibi diğer dokulardaki profilleri incelenmiştir (Naue vd., 2018). Yapılan çalışmada daha önceden kandan yaş tahmininde belirlenmiş spesifik 13 bölge (DDO1, ELOVL2, F5, GRM2, HOXC4, KLF14, LDB2, NKIRAS2, RPA2, SAMD10, TRIM59, MEIS1 ve ZYG11A) yaş aralığı 0 ile 87 arasında değişen 29 merhum kişiden alınan örneklerde araştırılmıştır. Alınan beyin, kemik, kas, buccal epitel ve kan örneklerinde massive paralel sekanslama tekniği kullanılmıştır (CorreiaDias vd., 2020; Naue vd., 2018). Yapılan bu çalışmada hesaplanan Sparman korelasyon katsayıları 13 lokusun tamamının yaşla ilgili olmadığını özellikle 7 tanesinin (ELOVL2, DDO1, KLF14, TRIM59, ZYG11A, RPA2, NKIRAS2) yaşla beraber gcl korelasyon gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Naue vd., 2018; Vidaki vd., 2018). LDB2 lokusunun yaşa bağlı olarak kanda yüksek oranda metilasyon gösterirken aynı zamanda sadece kemikte yüksek sonuç verdiği belirtilmiştir. Kanda yüksek oranda metilasyon gösteren MEIS1 lokusunun buccal epitel örneklerde de makul düzeyde sonuç verdiği belirtilmiştir. SAMD10 lokusunun ise sadece kandaki metilasyonunda istatistiksel öneme ulaştığı grlmştir. Diğer markerlerin dokuların hepsinde değil de birçoğunda yaşa bağlılık gösterdiği belirtilmiştir. HOXC4 ve GRM2 lokuslarının kemik hariç bütün dokularda gözlendiği belirtilmiştir (Naue vd., 2018).

ZYG11A lokusunun bütün dokularda yaşa bağlı değişim gösterirken kemik ve beyinde DNA metilasyon seviyelerinde yaşa bağlı olarak değişim düşük eğrilerde gözlenmiştir. Bu nedenle bu lokusun marker olarak kullanımında oldukça hassas metotların gerekliliği vurgulanmıştır.

Yapılan çalışmada hem seçilen markerlerin çoğunun analiz edilen dokuların birçoğunda değişiklik gösterdiği hem de DNA metilasyon seviyelerinin de doğumdan ölüme kadar olan süreçte değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir (Naue, 2018). Gerçekleştirilen bu pilot çalışma sonuçlarına göre ELOVL2, DDO1, KLF14, TRIM59, ZYG11A, RPA2, NKIRAS2 lokusları yaş tahminde doku-spesifik modellerin geliştirilmesinde umut verici olmuştur (Naue vd., 2018).

Shi vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada çocuklarda yaş tahminini geliştirebilmek için klasik yöntemler olan iskelet ve diş örneklerinin incelenmesine ilave olarak DNA metilasyon markerlarının birlikte kullanımı çalışılmıştır (Shi vd., 2018). Yapılan bu çalışmada yaşları 6 ile 15 arasında değişen 124 çocuğun (78 erkek 46 kız) iskelet yaşları (SA) GP, TW3-RUS ve TW3- Carpal metodlarla, diş yaşları (DA) Demirjian ve Willems metodlarıyla belirlenmiştir. Yaş spesifik CpG bölgelerinin belirlenebilmesi için rastgele seçilen 48 çocuktan Illumina HumanMethylation450 BeadChip tekniğiyle DNA metilasyon profillemesi yapılarak 5 CpG bölgesi belirlenmiştir. Bu 5 CpG bölgesinin droplet dijital PCR tekniğiyle 124 çocuğa validasyonu yapılarak erkekler için 4 CpG kızlar için ise 5CpG bölgesinin kullanımı uygun grlmştir. Bu CpG bölgeleri DDO (endokrin ve merkezi sinir sistemlerinde önemli rol oynayan D-aminoasitleri regüle eden enzim kodlayan gen), PRH2 (hücrenin gelişimsel süreçlerinde önemli rol oynayan transmembran protein-

leri kodlayan gen), DHX8 (mutasyonu embriyolarda RNA splayz mekanizmasında kusurlara neden olan DEAH polipeptid ailesi üyesi), ITGA2B (kanama bozukluklarıyla ilişkili integrin alfa protein ailesi üyesi) ve Illumina kimlik numarası 22398226 olan bilinmeyen bir gene ait lokuslardır (Shi vd., 2018). İskelet yaşının (SA) belirlenmesinde kullanılan metotlardan en iyi ölçüm erkeklerde TWE-RUS metodu olup hata oranı 0,69 yıl iken kız çocuklarda GP metodu olup hata oranı 0,74 yıl olarak ölçülmüştür. Diş yaşının (DA) belirlenmesi ise hem kızlarda hem erkeklerde en iyi ölçüm erkeklerde hata oranı 0,63 yıl kızlarda 0,54 yıl olarak Willems kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İskelet yaşının, diş yaşının ve DNA metilasyon markerlerinin birlikte kullanılarak yapılan yaş ölçümlerinde ise erkeklerde 0,47 yıl kızlarda 0,33 yıl hata oranlarıyla yüksek doğrulukta yaş tahminleri gerçekleştirilmiştir (Shi vd., 2018; Vidaki vd., 2018). Yapılan bu çalışma sonuçlarına göre bu tekniklerin birleştirilmesiyle geliştirilecek modellerin, yüksek doğruluk oranıyla yaş belirlemede kullanımı oldukça avantajlıdır (Shi vd., 2018).

Jung vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada ELOVL2, FHL2, KLF14, C1orf132/MIR29B2C ve TRIM59 lokuslarındaki 5 CpG bölgesinin DNA metilasyonlarını araştırmıştır (Jung, 2019). Kan, tükürük ve buccal epitel örneklerden oluşan 448 örnekte multiplex metilasyon SNaPshot tekniği kullanılarak 5 CpG bölgesinin metilasyon profili incelenmiştir (Jung vd., 2019). Multiplex metilasyon SNaPshot tekniği pirosekanslama tekniğiyle doğru değerlendirilemeyen KLF14 lokusunun daha iyi araştırılmasına olanak sağlayarak ve bu lokusun önemini ortaya çıkarmıştır.

Bu 5 lokus arasından ELOVL2, KLF14 ve TRIM59 lokuslarındaki DNA metilasyonlarının her üç örnek türünde de yaşla beraber güçlü korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Her örnek tipi için ayrı ayrı geliştirilen modellerde doğruluk tahminleri kan örnekleri için  $\pm 3.478$  yıl, tükürük örnekleri için  $\pm 3.552$  yıl, buccal epitel örnekler için  $\pm 4.293$  yıl olarak belirlenerek doğruluk tahminlerinin yüksek olduğu görülmüştür (Jung, 2019; Xin, 2019). Hem yapılan bu çalışmada hem de daha önceden beyin, kemik ve kas gibi farklı dokularda yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi ELOVL2, KLF14 ve TRIM59 markerlerinin yaşla ilişkili olduğu özellikle kan tükürük ve buccal epitel örneklerde yaş belirlemede kullanılabileceği belirtilmiştir (Jung vd., 2019).

Correias vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada DNA metilasyon temelli yaş tahmin modeli geliştirmek istenmiştir. Bu amaçla daha önce belirlenen ELOVL2, FHL2, EDARADD, PDE4C ve C1orf132 lokuslarının (ELOVL2, 9 CpG; EDARADD, 4 CpG; FHL2, 12 CpG; PDE4C, 12 CpG ve C1orf132, 6 CpG toplam 43 CpG) metilasyon seviyeleri yaşları 24 ile 89 arasında değişen 51 merhum kişiden alınan kan örneklerinde incelenmiştir. Her lokustaki yaşla yüksek ilişkili CpG'lerin linear regression analiziyle araştırıldığı bu modelde 0.888 korelasyon katsayısıyla  $\pm 6,8$  yıllık sapma gözlemlenmiştir. Bağımsız testlerde validasyonu yapılan model  $\pm 8,84$  yıllık sapmayla yaş tahmini yapmaya olanak sağlamaktadır (CorreiaDias vd., 2020).

Xin vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada daha önceki metilasyon çalışmalarında tümör oluşumu, gelişimi, teşhis ve tedavi mekanizmalarında odaklanılan hTERT (kandaki lökositlerden baş ve yanak kanserlerini belirleyen marker) genindeki metilasyonların yaş tahmini sağlanabilmesi için kullanılabilirliği araştırılmıştır. Yaşları 1 ile 79 arasında değişen 44 kadın 46 erkek bireyden alınan kan örnekleri metilasyon spesifik-PCR ve real time PCR ile çalışılmıştır. Üç yaş tahmin modeli çalışılmış olup MSP (metilasyon-spesifik PCR) modelin  $\pm 6,60$  yıllık real-time relative quantification PCR modelin  $\pm 5,19$  yıllık real-time absolute quantitative PCR modelin  $\pm 4,29$  yıllık hata oranları olduğu görülmüştür (Xin, 2019). Real-time absolute quantitative PCR modeli en yüksek doğrulukla yaş tahmini için belirlenen model olmuştur (Xin vd., 2019).

Yaş tahminlerinde kullanılabilir lokus keşfi ve yeni tahmin modelleri geliştirme çalışmalarına paralel olarak geliştirilmiş modellerin farklı analiz tekniklerinde doğruluk oranlarının nasıl etkilendiğine yönelik çalışmalarda gerçekleştirilmiştir.

Bekeart vd. tarafından yapılan bir diğer çalışmada diğer lokuslardan farklı olarak tüm dokularda en güçlü yaş tahminine olanak sağlayan ELOVL2 lokusu quadratic regression analiziyle incelenmiştir (Freire-Aradas vd., 2017).

Linear regression analizinde yaşla beraber korelasyon gösterdiği bilinen bu lokusun maalesef Quadratic regression analizinde beklenen sonucu vermediği belirtilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017). Yapılan bu çalışmayla yaş tahmini sağlayan modellerde kullanılan farklı analiz yöntemlerinin (OLS regression, WLS regression, Quantile regression, SVR regression, Penalized regression) doğruluk tahminlerini etkileyebileceği belirtilerek doğruluk tahmini yüksek modellerin geliştirebilmesinde quadratic regression analizlerinin kullanımına dikkat çekilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017; Hong vd., 2019; Smeers vd., 2018).

Farklı analiz teknikleriyle gerçekleştirilen bir diğer alışma Xu vd. (2015) tarafından gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışmada ADAR, AQP11, ITGA2B ve PDE4C lokuslarındaki 6 CpG bölgesini içeren bu modelde çok değişkenli doğrusal regresyon analiziyle DNA metilasyon seviyeleriyle yaş arasında anlamlı düzeyde ilişki olduğunu göstermiştir. Bu lokuslardaki metilasyon seviyelerinin ilk olarak quadratic regresyon analizi ile incelenmesine rağmen en doğru sonuçların support-vector regresyon analiziyle elde edildiği belirtilmiştir (Xu vd., 2015).

Freire- Aradas vd. (2016) tarafından linear regression analizine alternatif olarak farklı regression analizi kullanılarak bir model geliştirilmiştir. Geliştirilen bu model ELOVL2, ASPA, PDE4C, FHL2, CCDC102B, Clorf312 ve chr16:85395429 lokuslarındaki 7 CpG bölgesini içerirken, tahmin doğruluğunun  $\pm 3.07$  olduğu belirtilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017; Parson, 2018). Yapılan bu çalışmada ELOVL2, PDE4C ve FHL2 lokuslarında DNA metilasyonlarının yaşla beraber arttığı ASPA, CCDC102B lokuslarında yaşla beraber metilasyonların azaldığı gözlemlenmiştir (Parson, 2018). Bu çalışmada yaş ve cinsiyete göre dzn dağılım gösteren 700 kan rneği çalışılmış, varyans incelemelerinde uygun olan multivariate quantile regression analizi kullanılmıştır (Freire-Aradas vd.,

2017). Geliştirilen bu model kullanılarak bağımsız bir şekilde test edilen yaşları 42 ile 69 arasında değişen 46 monozygot ikiz çiftinde tahmin doğruluğu  $\pm 4,2$  yıl olacak şekilde sonuçlar %83,7 oranında doğru tahmin edilmiştir (Parson, 2018). Son olarak Vidaki vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada over linear regression analiziyle NHLRC1, SCGN ve CSNK1D lokuslarındaki 16 CpG bölgesini içeren tahmin doğruluğu  $\pm 7.45$  yıl olan yapay sinir ağı modelini tanıtılmıştır (Freire-Aradas vd., 2017; Parson, 2018).

**Table 2.** Summary of the current forensic age-prediction models based on DNA methylation

Year	Tissue	Age range <sup>a</sup> / <i>n</i> <sup>b</sup>	Technique <sup>c</sup>	CpG coverage	Gene_CpG_code	CpG_ID	GRCh38 chromosomal position	Statistical model <sup>d</sup>	MAD <sup>e</sup>	Ref.
2014	Blood	20–75/82	Pyrosequencing (500 ng gDNA)	3 CpGs	<i>ASPA</i> <i>ITGA2B</i> <i>PDE4C</i>	cg02228185 cg25809905 None	chr17:3476273 chr17:44390360 chr19:18233105	MLRM	$\pm 5.43$	[155]
2015	Blood	2–75/303	Pyrosequencing (2 µg gDNA)	2 CpGs	<i>ELOVL2_C5</i> <i>ELOVL2_C7</i>	None None	chr6:11044642 chr6:11044634	MLRM	$\pm 5.03$	[162]
2015	Blood	2–75/300	Pyrosequencing (2 µg gDNA)	5 CpGs	<i>ELOVL2_C7</i> <i>C1orf132_C1</i> <i>TRIM59_C7</i> <i>KLF14_C1</i> <i>FHL2_C2</i>	None None None cg14361627 None	chr6:11044634 chr1: 207823681 chr3: 160450199 chr7: 130734355 chr2: 105399288	MLRM	$\pm 3.40$	[163]
2015	Blood	0–91/206	Pyrosequencing (200 ng gDNA)	4 CpGs	<i>ASPA_C1</i> <i>PDE4C_C1</i> <i>ELOVL2_C6</i> <i>EDARADD_C1</i>	cg02228185 None none cg09809672	chr17:3476273 chr19:18233078 chr6:11044407 chr1:236394382	MQDRM	$\pm 3.75$	[10]

**Tablo-1.** 2014-2015 Yıllarında Geliştirilen DNA Metilasyon Temelli Modeller (Freire-Aradas vd. 2017, s.8)

Year	Tissue	Age range <sup>a</sup> / <i>n</i> <sup>b</sup>	Technique <sup>c</sup>	CpG coverage	Gene_CpG_code	CpG_ID	GRCh38 chromosomal position	Statistical model <sup>d</sup>	MAD <sup>e</sup>	Ref.
2015	Teeth	19–70/29	Pyrosequencing (200 ng gDNA)	7 CpGs	<i>PDE4C_C4</i> <i>ELOVL2_C2</i> <i>ELOVL2_C6</i> <i>ELOVL2_C7</i> <i>ELOVL2_C8</i> <i>ELOVL2_C9</i> <i>EDARADD_C2</i>	None cg24724428 None None None None None	chr19:18233105 chr6:11044655 chr6:11044640 chr6:11044634 chr6:11044628 chr6:11044625 chr1:236394395	MQDRM	$\pm 4.84$	[10]
2015	Semen	20–73/31	SNaPshot (200 ng gDNA)	3 CpGs	<i>TTC7B</i> No gene associated <i>NOX4</i>	cg06304190 cg12837463 cg06979108	chr14:90817262 chr7:35260617 chr11:89589683	MLRM	$\pm 4.20$	[84]
2015	Blood	20–80/49	EpiTYPER (1 µg gDNA)	6 CpGs	<i>ADAR_X25</i> <i>ADAR_X28</i> <i>ITGA2B_X77</i> <i>PDE4C_X92</i> <i>PDE4C_X93</i> <i>PDE4C_X95</i>	None None None None None None	chr1:154609711 chr1:154609812 chr17:44390412 chr19:18233105 chr19:18233127-31-33 chr19:18233193	SVRM	$\pm 2.80$	[158]
2016	Blood	11–90/535	Pyrosequencing (500 ng gDNA)	3 CpGs	<i>ZNF423_C1</i> <i>ELOVL2_C1</i> <i>CCDC102B_C1</i>	cg04208403 cg21572772 cg19283806	chr16:49491896 chr6:11044661 chr18:68722183	MLRM	$\pm 3.16$	[116]
2016	Blood	18–104/725	EpiTYPER (300 ng gDNA)	7 CpGs	<i>ELOVL2_C9</i> <i>ASPA_C3</i> <i>PDE4C_C27.28.29</i> <i>FHL2_C3</i> <i>CCDC102B_C2</i> <i>C1orf132_C11</i> <i>chr16:85395429_C3</i>	cg21572722 cg02228185 None cg06639320 cg19283806 None cg07082267	chr6:11044661 chr17:3476273 chr19:18233127/31/33 chr2:105399282 chr18:68722183 chr1:207823715 chr16:85395429	MQTRM	$\pm 3.07$	[44]

**Tablo-2.** 2015-2016 Yıllarında Geliştirilen DNA Metilasyon Temelli Modeller (Freire-Aradas vd. 2017, s.9)

2016	Buccal swab	1-85/55	Pyrosequencing (500 ng gDNA)	3 CpGs	<i>ASPA</i> <i>ITGA2B</i> <i>PDE4C</i>	cg02228185 cg25809905 None	chr17:3476273 chr17:44390360 chr19:18233105
2016	Buccal swab	1-85/55	Pyrosequencing (500 ng gDNA)	1 CpGs	<i>PDE4C</i>	None	chr19:18233105
2016	Blood	4-82/216	EpiTYPER (500 ng gDNA)	8 CpGs	<i>ELOVL2_C15.16.17</i> <i>ELOVL2_C22.23.24</i> <i>ELOVL2_C10</i> <i>DUSP27_C7.8</i> <i>ELOVL2_C11.12.13.14</i> <i>ORAOV1_C6</i> <i>ELOVL2_C9</i> <i>ORAOV1_C7.8</i>	None None cg24724428 None None None cg21572722 None	chr6:11044634-31-28 chr6:11044590-87-85 chr6:11044655 chr1:167128477-80 chr6:11044647-44-42-4 chr11:69662722 chr6:11044661 chr11:69662752-54
2016	Teeth	17-77/22	EpiTYPER (200 ng gDNA)	5-13 CpGs <sup>f</sup>	<i>ELOVL2</i> <i>FHL2</i> <i>PENK</i>	CpG_ID Combination <sup>f</sup>	CpG_ID Chromosomal position <sup>f</sup>
2017	Blood	11-76/46	MiSeq (500 ng gDNA)	16 CpGs	<i>CSNK1D</i> <i>C21orf63</i> <i>CASC4</i> <i>SSRP1</i> <i>FXN</i> <i>P2RXL1</i> <i>RASSF5</i> <i>ERG</i> <i>TRIP10</i> <i>FZD9</i> <i>KLF14</i> <i>NR2F2</i> <i>VEGF</i> <i>NHLRC1</i> <i>SCGN</i> <i>C19orf30</i>	cg19761273 cg27544190 cg03286783 cg01511567 cg07158339 cg05442902 cg24450312 cg17274064 cg02085507 cg20692569 cg04528819 cg08370996 cg04084157 cg22736354 cg06493994 cg02479575	chr17:82274220 chr21:32413126 chr15:44288775 chr11:57336157 chr9:69035321 chr22:21014721 chr1:206507825 chr21:38661968 chr19:6739181 chr7:73434151 chr7:130733488 chr15:96330802 chr7:101165768 chr6:18122488 chr6:25652374 chr19:4769641

<sup>a</sup> Age in year.<sup>b</sup> n = Sample size.<sup>c</sup> Input DNA for bisulfite conversion.<sup>d</sup> MLRM = Multivariate linear regression model; MQDRM = multivariate quadratic regression model; SVRG = support vector multivariate quantile regression model; ANN = Artificial neural network.<sup>e</sup> MAD = Median absolute deviation. <sup>f</sup> Depending on which teeth area is analyzed.**Tablo-3.** 2016-2017 Yıllarında Geliştirilen DNA Metilasyon Temelli Modeller (Freire-Aradas vd. 2017, s.9)

## Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda ilerleyen teknolojilerle birlikte geliştirilen yeni nesil sekans cihazları epigenetik alanındaki çalışmaların hızlıca ilerlemesine olanak sağlamıştır. Epigenetik mekanizmaların incelendiği çalışmalar farklı alanlarda farklı amaçlarla mevcut yöntemlere alternatif yaklaşımlar geliştirilmesini sağladığından en önemli araştırma konularından olmuştur.

Adli bilimlerde mevcut yöntemlerin sınırlılıklarının giderilmesi amacıyla geliştirilen DNA metilasyon temelli tekniklerin Vidaki vd. (2013), Branka vd. (2013), Kader vd. (2015), Lee vd. (2016), tarafından yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi çeşitli kullanım alanları mevcuttur.

Yaş tayinlerinde ise sınırlı sayıda kalıntılarda çalışmaya imkân veren antropolojik ve odontolojik incelemelerin yapıldığı morfolojik yöntemlerin aksine canlı bireylerde yaş tahmini yapmaya olanak sağlaması ve hemen hemen tüm dokulara uygulanabilir olması nedeniyle DNA metilasyonları Koch ve Wagner (2011), Horvath vd. (2013), Park vd. (2016), Parson vd. (2018), Jung vd. (2019) tarafından yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi oldukça önemlidir.

Lee vd. (2016), Vidaki vd. (2017) tarafından yapılan çalışmalarda da bahsedildiği gibi adli bilimlerde birçok amaçla kullanılabilen metilasyon temelli teknikler oldukça avantajlı olmalarına rağmen çeşitli zorlukları ve sınırlılıkları da beraberlerinde getirmektedir. Bu tekniklerin geliştirilmesine yönelik marker olarak kullanılabilir daha çok CpG bölgelerinin keşfine ihtiyaç duyulurken geliştirilen

modellerin validasyonlarının yapılmasını sağlayacak daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Geliştirilen metilasyon temelli teknikler için Vidaki vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada da belirtildiği gibi biyoinformatik yazılımların geliştirilmesine ihtiyaç duyulurken adli laboratuvarlarda kullanılan cihazların yüksek maliyetli bu tekniklerin geliştirilmesi için yeterli olmaması da rutinde kullanımı sınırlamaktadır. Smeers vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi geliştirilen modellerin içerdikleri regression analiz modellerinin diğer analiz modelleriyle de test edilerek farklı platformlarda araştırılmaları gerekmektedir.

Shi vd. (2018) tarafından yapılan incelemelerde olduğu gibi iskelet yaş ölçümleri, diş yaş ölçümleri ve metilasyon ölçümlerinin birlikte kullanımı yaş tahmin doğruluğunu arttıracak şekilde rutinde avantaj sağlayabilir. Xin vd. (2019) tarafından kanser saptanmasında marker olarak kullanılan hTERT geninden yaş tahmini sağlayan model geliştirilen çalışmada olduğu gibi kanserle ilişkilendirilmiş çeşitli gen bölgelerinin adli amaçlı kullanımlarının araştırılması yeni tekniklerin geliştirilmesi açısından kolaylık sağlayabilir. Kader vd. (2015), Vidaki vd. (2018), Lee vd. (2016) tarafından yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi her tekniğin sahip olduğu sınırlılıklar olmakla birlikte bu alanda yapılacak olan çalışmalar metilasyon temelli teknikleri ilerde her adli laboratuvarında uygulanabilecek, kısa süreli ve düşük maliyetli, ayırım gücü yüksek, oldukça avantajlı yaygın kullanımlı teknikler haline getirecektir.

## Kaynakça

- Akay G., Atak N., ve Güngör K. (2018). Adli Diş Hekimliğinde Dişler Kullanılarak Yapılan Yaş Tayini Yöntemleri. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 39,(2) s.73-82.
- Bell, J., Loomis, A., Butcher, L., Gao, F., Zhang, B., Hyde, C.L., Sun, J. ve et al. (2014). Differential methylation of the TRPA1 promoter in pain sensitivity. Nature Communications. 5, s.2978 <https://doi.org/10.1038/ncomms3978>.
- CorreiaDias H., Cordeiro C., CorteReal F., Cunha E., ve Manco I. (2020). Age Estimation Based on DNA Methylation Using Blood Samples From Deceased Individuals. Journal of Forensic Sciences. 65, (2) s.465-470
- Çeker D. (2018). Adli Antropolojide Yaş Tahmini Metodları. Ankara Üniversitesi Antropoloji Dergisi.35, s. 35-54.
- Freire-Aradas A., Philips C. ve Lareu M.V. (2017). Forensic Individual Age Estimation with DNA: From Initial Approaches to Methylation Tests. Forensic Sciences Review. 29, s.121.
- Grskovic´ B., Zrnec D., Vickovic´ S., Popovic´ M., ve Mrs´ic´ G. (2013). DNA Methylation: the Future of Crime Scene Investigation. Molecular Biology Reports.40,s.4349-4360.
- Gunn P., Walsh S., ve Roux C. (2014). The Nucleic Acid Revolution Continues will Forensic Biology Become Forensic Molecular Biology. Frontiers in Genetics | Statistical Genetics and Methodology. 5, s.5-44.

- Hong R. S., Shin J. K., Jung E. S., Lee H. E., ve Lee Y. H. (2019). Platform-*Independent* Models for Age Prediction Using DNA Methylation Data. *Forensic Science International: Genetics*. 38 s.39-47.
- Horvath S. (2013). DNA Methylation Age of Human Tissues And Cell Types. *Genome Biology*. 14, s-3156 <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>.
- Jung E. S., Lim M. S., Hong R. S., Lee H. E., Shin J. K., ve Lee Y.H. (2019). DNA Methylation of the ELOVL2, FHL2, KLF14, C1orf132/MIR29B2C, and TRIM59 Genes for Age Prediction from Blood, Saliva, and Buccal Swab Samples. *Forensic Science International: Genetics* 38,s.1-8.
- Kader F., ve Ghai M. (2015). DNA Methylation and Application in Forensic Sciences. *Forensic Science International*. 249, s.255-265.
- Koch M. C., ve Wagner W. (2011). Epigenetic Aging Signature to Determine Age in Different Tissues. *Aging*. (Albany NY). 3,s.1018-1027 <https://doi.org/10.18632/aging.100395>.
- Lee Y.H., Lee S.D., ve Shin K.J., (2016). Forensic DNA Methylation Profiling from Evidence Material for Investigative Leads. *BMB Reports*. 49, (7) s.359-369.
- Naue J., Sanger T., Hoefsloot H.C.J, Lutz-Bonengel S., Kloosterman A.D., ve Verschure P.J. (2018). Proof of Concept Study of Age-Dependent DNA Methylation Markers Across Different Tissues by Massive Parallel Sequencing. *Forensic Science International: Genetics*.36,s.152-159.
- Park J.L., Kim H.J., Seo E., Baea H.D., Kim Y.S., Lee C.H., Wooc K.M., ve Kim Y.S. (2016). Identification and Evaluation of Age-Correlated DNA Methylation Markers for Forensic Use. *Forensic Science International: Genetics*. 23,s.64-70.
- Parson W. (2018). Age Estimation with DNA: From Forensic DNA Fingerprinting to Forensic (Epi)Genomics: A Mini-Review.64, (4). s.326-332.
- Sağır S. (2013). Dişlerin Çıkış ve Gelişim Aşamalarından Yaş Tahmini Metodu Oluşturulması. (Yayınlanmış Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Antropoloji (fizik antropoloji) Anabilim Dalı. Ankara.
- Shi L., Jiang F., Ouyang F., Zhang J., Wang Z., ve Shen X. (2018). DNA Methylation Markers in Combination with Skeletal and Dental Ages to *Improve* Age Estimation in Children. *Forensic Science International: Genetics*. 33, s.1-9.
- Smeers I., Decorte R., Van de Voorde W. ve Bekaert B. (2018). Evaluation of Three Statistical Prediction Models for Forensic Age Prediction Based on DNA Methylation. *Forensic Science International: Genetics*.34, s.128-133.
- Vidaki A., Daniel B., ve Syndercombe-Court D. (2013). Forensic DNA Methylation Profiling-Potential Opportunities and Challenges. *Forensic Science International: Genetics*. 7, s.499-507.
- Vidaki A., ve Kayser M. (2018). Recent Progress, Methods and Perspectives in Forensic Epigenetics, *Forensic Science International: Genetics*.37,s.180-195.
- Yılmaz Usta N. D. (2014). *İnsan İskeletlerinde* Dental Yaş Tahmini Yöntemleri ve Bunların Adli Tıp ve Antropoloji Çalışmalarında Uygulanabilirliği. Uluslararası Hakemli Akademik Spor Sağlık ve Tıp Bilimleri Dergisi. 13, (4) s.72-95.
- Yi H.S., Xu C. L., Mei K., Yang Z. R., ve Huang X.D. (2014). Isolation and Identification of Age-Related DNA Methylation Markers for Forensic Age-Prediction. *Forensic Science International: Genetics*. 11, s.117-125.

- Xin Y., Dong K., Cao F., Tian Y., Sun J., Peng M., Liu W., ve Shi P. (2019). Studies of hTERT DNA Methylation Assays on The Human Age Prediction. *International Journal of Legal Medicine*. 133 s.1333-1339. <https://doi.org/10.1007/s00414-019-02076-3>.
- Xu C., Qu H., Wang G., Xie B., Shi Y., Yang Y., Zhao Z. , Hu L., Fang X., Yan J., Feng L. (2015). A Novel Strategy For Forensic Age Prediction By DNA Methylation And Support Vector Regression Model. *Scientific Reports*. 5.(17788). <https://doi.org/10.1038/srep17788>.