

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AMİLAZ VE ASİT FOSFATAZ TESPİT KİTİNİN GELİŞTİRİLMESİ

İLKNUR SARI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. MUSTAFA CEMEK**

İSTANBUL-2015

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMİLAZ VE ASİT FOSFATAZ TESPİT KİTİNİN GELİŞTİRİLMESİ

İlknur SARI tarafından hazırlanan tez çalışması 09.07.2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyümühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mustafa CEMEK

Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Dr. Murat TOPUZOĞULLARI

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mustafa CEMEK

Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Murat TOPUZOĞULLARI

Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Sabahattin Deniz

Marmara Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Alper Yılmaz

Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Ünal Şenel

Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi

Bu alışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'ın 2210-C ncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Tez çalışmasının her aşamasında bana yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve her konuda desteğini esirgemeyen saygı değer tez danışman hocam Prof. Dr. Mustafa Cemek'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez eş danışmanım Arş. Gör. Dr. Murat Topuzoğulları'na her türlü desteği, bilgi ve tecrübelerini paylaştığı için çok teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yerine getirilmesine maddi imkân sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans eğitimimin en güzel taraflarından birinin kendilerini tanımak olduğu arkadaşlarım Deniz Onat, Büşra Konuk, Saadet Alpdağtaş, Elif Karaman, Angela Rabety'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmasında destek ve dualarını esirgemeyen büyük ve geniş aileme, özellikle şükür sebeplerim annem, babam ve kardeşim, annemden sonra annem Filiz Teyzem, babamdan sonra babam Veysel amcam ve derya ablam olmak üzere, teyzelerim Fatma Yazıcı, Nezaket Badoğlu, Fatma Baştürk, dayılarım Hüseyin Baştürk, Murat Göral, halalarım Fatma Karakurt, Hatice Günel, Emine Görmüş amcalarım Mustafa Sarı, Kadir Sarı, Hüseyin Sarı, Azmi Sarı ve Mevlüt Turmuş, dedelerim Mehmet Turmuş, Abdullah Tetik, Yılmaz Göral, Temel Sarı, ninelerim Hanife Sarı, Müzeyyen Göral, Emine Turmuş, Gülbahar Kadriye Tetik'e ve diğer birçok konuda olduğu gibi tez çalışmamda da önemli yardımlarını esirgemeyen Hakan Turmuş'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz, 2015

İlknur SARI

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	vii
KISALTMA LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	3
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Amilaz.....	4
2.2 Tükürüğün Yapısı.....	6
2.2.1 Üretimi.....	7
2.2.2 Bileşimi.....	7
2.2.2.1 İnorganik Bileşikler	8
2.2.2.2 Hormonlar	9
2.2.2.3 Protein Bileşimi	11
2.2.3 Akım Oranı	12
2.2.4 Tükürüğün Klinik Önemi	13
2.3 Nişasta.....	14
2.4 Asit Fosfotaz.....	16
2.4.1 İnsan Vücudunda Asit Fosfataz.....	17
2.4.2 Asit Fosfatazın Klinik Önemi	18
2.4.2.1 Prostat Kanserinde Asit Fosfataz	19
2.4.2.2 Prostatik Asit Fosfatazın Belirlenmesi.....	20
2.4.2.3 Adli Tıpta Asit Fosfataz	21
2.5 Cinsel Suçlar	21
2.5.1 Mağdurda Meydana Gelen Etkiler	22

2.5.2	Dünya’da Cinsel Saldırı Vakaları	23
2.5.3	Ülkemiz’de Cinsel Saldırı Vakaları.....	24
2.5.4	Biyolojik Deliller	25
2.5.4.1	Semen Tespiti	26
2.5.4.2	Tükürük Tespiti.....	27
2.5.4.3	Biyolojik Delillerin Tanı Kitleriyle Tespiti	27
2.6	Süper Absorban Polimerler	28
BÖLÜM 3		
MATERYAL VE METOT		30
3.1	Materyal.....	30
3.1.1	DeneySEL Çalışmada Kullanılan Ekipmanlar	30
3.1.2	DeneySEL Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	31
3.2	Metot	31
3.2.1	Jel Matriks Materyali	31
3.2.2	Amilaz Kitinin Geliştirilmesi	31
3.2.3	Asit Fosfataz Kitinin Geliştirilmesi	33
3.2.4	Amilaz Kitinin Hassasiyet Testi	33
3.2.5	Asit Fosfataz Kitinin Hassasiyet Testi.....	34
3.2.6	Zamana Bağlı Aktivite Testi	34
BÖLÜM 4		
SONUÇ VE ÖNERİLER		36
4.1	Amilaz Kitinin Geliştirilmesi	36
4.2	Asit Fosfataz Kitinin Geliştirilmesi.....	36
4.3	Amilaz Kitinin Hassasiyet Testleri	37
4.4	Asit Fosfataz Kitinin Hassasiyet Testleri.....	38
4.5	Zamana Bağlı Aktivite Testi	39
4.6	Öneriler	41
KAYNAKLAR		44
ÖZGEÇMİŞ		51

SİMGE LİSTESİ

α -amilaz	Alfa amilaz
α -D-glikoz	Alfa-D-glikoz
α -optik	Alfa optik
Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
Cl	Klor
D	Dalton
Dk	Dakika
F	Fluor
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat iyonu
I	İyot
IgA	İmmünoglobulin A
IgG	İmmünoglobulin G
IgM	İmmünoglobulin M
K	Potasyum
mEq	Miliekivalan
Mg	Magnezyum
ml	Mililitre
mM	Milimol
Na	Sodyum
PO ₄	Fosfat
SCN	Tiyosiyonat

KISALTMA LİSTESİ

AIDS	Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu
CS	Cinsel Suçlar
ÇİTEM	Çocuk İhmali ve İstismarı Engelleme Uygulama ve Araştırma Merkezleri
ÇİM	Çocuk İzleme Merkezleri
Dhea-s	Dehidroepiandrosteron-Sülfat
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
E.C.	Enzyme Commission
ESR	Elektron Spin Rezonans
MALDI-MS	Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon- Kütle Spektrometresi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
P	Parotis Bezi
Pg	Pikogram
pH	Power of Hydrogen
PRH	Proton Relaksasyon Hızı
SL	Sublingual Bez
SM	Submandibular
TCK	Türk Ceza Kanunu

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Alfa amilaz yapısı..... 5
Şekil 2.2	İnsanda tükürük bezlerinin konumlanması..... 7
Şekil 2.3	Amilopektinin kimyasal yapısı..... 15
Şekil 2.4	Amilozun kimyasal yapısı 15
Şekil 2.5	Amiloz spiralinin iyodu içerisine alması 15
Şekil 2.6	Prostatik asit fosfataz..... 18
Şekil 2.7	Çocuklarda yaşam boyu cinsel şiddete maruz kalma yaygınlığı [79] 23
Şekil 2.8	Ülkelerin şiddet konulu ulusal eylem planları [79] 24
Şekil 2.9	Çapraz bağlı polimerin su absorblama davranışı 28
Şekil 3.1	Amiloz spiriline iyot yerleşmesi ile oluşan mavi renk 32
Şekil 4.1	Amilaz tespiti..... 36
Şekil 4.2	Asit fosfataz tespiti..... 37
Şekil 4.3	Mikrotüplerde gerçekleştirilen amilaz hassasiyet testi 38
Şekil 4.4	Kit kuyucuklarında gerçekleştirilen amilaz hassasiyet testi 38
Şekil 4.5	Mikrotüplerde gerçekleştirilen asit fosfataz hassasiyet testi 39
Şekil 4.6	Kit kuyucuklarında asit fosfataz hassasiyet testi..... 39

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1	Tükürük ve plazmadaki inorganik maddeler ve konsantrasyonları [28].... 8
Çizelge 2.2	Tükürük bezlerinde inorganik madde konsantrasyonu [12] 9
Çizelge 2.3	Tükürük örneklerinde ölçülebilen steroid hormonlar [28] 10
Çizelge 2.4	Tükürükte bulunan proteinler [28] 11
Çizelge 3.1	Tükürük numunelerinin seyreltilme oranları 34
Çizelge 3.2	Semen numunelerinin seyreltilme oranları 34
Çizelge 4.1	Zamana bağlı aktivite testi sonuçları 40

AMİLAZ VE ASİT FOSFATAZ TESPİT KİTİNİN GELİŞTİRİLMESİ

İlknur SARI

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa CEMEK

Eş Danışmanı: Dr. Murat TOPUZOĞULLARI

Amilaz tükürükte bol miktarda bulunan ve tükürük biyomarkeri olarak kullanılan bir enzimdir. Asit fosfataz ise semende yoğun olarak bulunmakta ve semen varlığının tespitinde kullanılmaktadır. Tükürük ve semenin tespiti özellikle adli tıpta cinsel saldırı vakalarında kanıt niteliği taşımaktadır. Tez çalışmasında cinsel saldırı vakalarında biyolojik kanıt olan semen (asit fosfataz) ve tükürüğün (amilaz) tespiti için yeni bir yöntemle tanı kiti geliştirilmiştir.

Asit fosfataz tespiti için kullanılan yöntem alfa naftil fosfatın enzim varlığında naftole hidrolize olması ve ortaya çıkan bu ürünün diazonyum tuzu ile birleşerek renk değiştirmesi prensibine dayanmaktadır. Amilaz tespiti için ise nişasta iyot testi kullanılmıştır. Her iki test için hazırlanan reaksiyon çözeltileri özel bir jel matrikse emdirilerek destek ortam oluşturulmuştur. Semen örneklerinde hassasiyet tespiti için 10.000 ila 100.000 arasında, amilaz tespiti için ise 100 ila 1000 arasında seyreltmeler uygulanmıştır. Zamana bağlı aktivite tayini için 5 mm² çaplı pamuklu kumaşlara semen ve tükürük örneklerinden 10 µl damlatılarak kurumaya bırakılmıştır. 0., 1., 6., 12., 24.,

36., 48., 60., 72. saatlerde distile suyla çözölerek analizi yapılmıştır. Semen örneklerinde asit fosfataz tespitinde 1/70.000, tükürük örneklerinde amilaz tespitinde ise 1/900 seyreltme oranlarına varan başarı elde edilmiştir. Zamana bağıli aktivite tayininde literatür de aktivitenin büyük bir çoğunluğunun kaybedildiğı bildirilen 72. saatte bile enzim aktivitesi tespit edilmiştir. Çalışmada geliştirilen matriks destekli yöntemin oldukça pratik ve hassas olduğı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Asit fosfataz, amilaz, semen, tükürük, enzim aktivitesi.

DEVELOPMENT OF AMILASE AND ACID PHOSPHATASE DETECTION KIT

İlknur SARI

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Mustafa CEMEK

Co-Adviser: Dr. Murat TOPUZOĞULLARI

Amylase is an enzyme which is abundant in the saliva and it is used as saliva biomarker. The acid phosphatase is abundant semen and it is used to detect of semen. Saliva and semen detections are particularly evidence of the sexual assault cases in forensic medicine. In this thesis, semen (acid phosphatase) and saliva (amylase), which are biological evidences of sexual assault cases, diagnostic kit has developed with a new detection method.

The principle of method for acid phosphatase detection is changing colour with reaction of diazonium salt and naphtol which occurs after hydrolyzation of alpha naphthyl phosphate with enzyme. Starch iodine test was used for the detection of amylase. Reaction solutions as prepared for both tests were absorbed to special gel matrix as support medium. For the detection sensitivity, 10.000 to 100.000 dilutions were performed in semen samples, 100 to 1000 dilutions were performed in saliva samples. For time-based activity assay, 10 µl saliva and semen was dropped to 5mm² cotton fabrics and allowed to dry. Samples were dissolved in distilled water and

analyzed at 0, 1, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72th hours. Acid phosphatase detection in semen and amylase detection in saliva samples can be performed up to 1/70.000 and 1/900 dilution, respectively. In time-based activity assay, activity was detected even in 72th hour which is reported in literature that enzyme lost majority of activity. Matrix-assisted method that developed in this study is more practical and sensitive compared to the classical method.

Keywords: Acid phosphatase, amylase, semen, saliva, enzyme activity.

1.1. Literatür Özeti

Cinsel Suçlar (CS) tüm dünyada günden güne hızla artış gösteren, saldırıya mağruz kalan mağdurun hayatını bedensel ve ruhsal açıdan etkileyerek mağdurda oldukça ağır travmalara sebebiyet veren ve bunun sonucunda başta ailesi olmak üzere tüm toplumu vicdanen yaralayarak toplumda ortak bir tepkiye yol açan suçlardan olup bireyin hür iradesine ve saygınlığına yönelik yapılmış bir saldırdır. Bu tür saldırılarda özellikle faillerin bulunamaması veya delil yetersizliği gibi nedenlerden ötürü suçu işleyen failler cezasız kalarak adalet temin edilemediği için toplumda bu suça karşı caydırıcılık sağlanamamakta ve özellikle mağdurda ve toplumun tüm kesimlerinde adalet duygusunun derinden sarsılmasına neden olmaktadır. Faillerin adalet önünde hak ettikleri cezaları alabilmeleri için özellikle delillerin çok sağlıklı bir şekilde toplanması gerekmektedir, bu durumda özellikle delil niteliği taşıyan biyolojik kökenli deliller suçun aydınlatılması açısından oldukça önemli bir hale gelmektedir. Suçun adli mercilere intikalinden hemen sonra mağdurun bedeninde ve olay yerinde özellikle semen ve tükürük örneklerinin tespiti suçun kanıtlanması açısından destekleyici nitelikte bir delil olup adli mercilerin konu hakkında doğru karar vermelerine imkân sağlamaktadır. Amilaz tükürükte bol miktarda bulunan ve tükürük biyomarkeri olarak kullanılan bir enzimdir. Tükürük özellikle klinik uygulamalarda tanı aracı olarak kullanılabilen biyolojik kökenli bir matrikstir. Tükürük yapısının büyük bir kısmı su olması ile birlikte tanısallarda kullanılabilen birçok belirteç niteliğinde biyolojik ve kimyasal maddeler de içermektedir. Tükürük içersinde bulunan oral hücrelerin DNA'sının analiz edilmesi oldukça yaygın bir uygulamadır, özellikle adli tıp uygulamalarında kimlik tespiti ve

profillemeye kullanılmaktadır. Adli vakalarda ise tükürük varlığının tespiti özellikle cinsel suçlarda olayın kanıtlanmasında kullanılmaktadır. Mağdur veya şüpheli üzerinde tükürük lekesi tespiti saldırının gerçekleştiğinin biyolojik kanıtları arasında yer almaktadır. Tükürük varlığının tespiti için örneklerde α -amilaz varlığına bakılmaktadır. Asit fosfataz ise semende yoğun olarak bulunmakta ve semen varlığının tespitinde kullanılmaktadır. Asit fosfataz çeşitli vücut sıvılarında bazı patolojik durumlarda vucutta artış göstererek hastalıkların tanısında yardımcı olmaktadır. Vucüt serumunda asit fosfatazın çeşitli izoformlarının yükselmesi hastalık belirtisi olarak sayılmaktadır. Asit fosfatazın sahip olduğu farklı formları üzerinde yapılan klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre sahip olduğu farklı özellikler klinikte teşhis ve tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Adli tıpta ise asit fosfataz seminal plazmanın varlığının ortaya koyulmasında kullanılmasının en önemli nedeni vücutta en çok seminal plazmada bulunmasıdır. Kişiden alınan bir örnekte asit fosfataz aktivitesinin varlığı semen varlığı olarak değerlendirilmektedir. Bu durum cinsel saldırının tespiti için fiziksel delillerin yanında biyolojik bir delil olarak mağdur bedeninde ve kıyafetlerinde semen tespitinde kullanılmaktadır. Tükürük ve semenin tespiti özellikle adli tıpta cinsel saldırı vakalarında kanıt niteliği taşımaktadır. Biyolojik numunelerin tespitinde kullanılan protein yapılı biyomarkerlar zaman içerisinde biyolojik ve kimyasal yapısında bozulmalar meydana gelebilmektedir. Bu nedenle CS vakalarında elde edilen örneklerin en hızlı ve kısa sürede aktivite kaybını minimumda tutabilecek şekilde kimyasal analizlerinin yapılması gerekmektedir.

1.2. Tezin Amacı

CS vakalarında suçun ispatlanabilmesi ve failin bulunabilmesi için soruşturma aşamasında bütün delillerin zamanında ve eksiksiz toplanması oldukça gereklidir. Bunun için olaydan sonraki ilk günler içerisinde ayrıntılı muayene yapılmasının ve mağdurun bedeninde sanığa ait olabilecek biyolojik delillerin örneklenmesinin hayati bir önemi vardır.

CS ispatında mağdur üzerinde sanığa ait veya sanık üzerinde mağdura ait biyolojik materyallerin tespit edilmesi oldukça önemlidir. Muayene sırasında mağdurdan alınan örneklerde saldırgana ait biyolojik materyallerden herhangi birinin tespit edilmesi,

soruşturmanın daha başında mağdurun iddiasını doğrular nitelikte olup, cinsel eylemin gerçekleştiğinin kanıtı olarak değerlendirilmektedir. Özellikle küçük yaştaki çocuklara veya zihinsel engelli kişilere karşı işlenen cinsel saldırı suçlarında, mağdurun saldırıyı tam olarak ifade edemeyecek durumda olması, biyolojik kanıtları çok daha önemli hale getirmektedir. Bu biyolojik materyallerin en önemlileri semen ve tükürük amilazıdır. Muayene sırasında alınan örneklerinde söz konusu biyolojik delillerin varlığının araştırılması suçun kanıtlanabilmesi için gereklidir. Saldırgana ait biyolojik materyallerin eksiksiz ve uygun bir şekilde toplanması, muayene sırasında tespit edilip raporlanması adaletin hızlı ve mağduru koruyacak şekilde tesisi için önem arz etmektedir.

Tez çalışmasının amacı cinsel saldırı olgularında delil olarak kullanılan semen biyomarkeri asit fosfataz ve tükürük amilazının saptanması için hızlı ve pratik tespit kitinin geliştirilmesidir. Geliştirilen kitin özel jel matriks ile desteklenmesi sağlanarak hassasiyetinin artırılması, daha kapsamlı dedeksiyon sağlanması çalışmanın hedefleri arasındadır.

1.3. Hipotez

CS vakalarında en temel biyolojik delil olan semenin tespitinde sperm gösterilmesi her zaman mümkün olmamaktadır. Bu durumlarda semen içeriğinde bulunan diğer bileşenler önem taşımaktadır. Asit fosfataz semen sıvısında yüksek oranda bulunan bir protein olmasından dolayı semen tespitinde kullanılmaktadır. Asit fosfataz tespitinde kullanılan yöntemlerin en önemli dezavantajı hassasiyetinin az olması ve dedeksiyon limitinin düşük olmasıdır. Tez çalışmasında reaksiyon çözeltisi özel jel matrikse hapsedilerek, çözeltinin daha iyi muhafazası ve daha hassas tespit sağlanabilecektir.

Tükürük amilazının tespitinde kullanılan en temel yöntem nişasta iyot testidir. Test için gerekli kimyasalların ucuz olması ve yöntem kolaylığı avantaj sağlarken hassasiyetinin azlığı araştırmacıları daha hassas yöntemler aramaya itmiştir. Bu amaçla birçok kompleks ve pahalı yöntemler geliştirilmiştir. Tez çalışmasında nişasta çözeltisinin matrikse emdirilmesiyle hassasiyetin artırılması ve düşük maliyetle yüksek hassasiyet sağlanacaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1 Amilaz

Amilazlar, Enzim Komisyonu (E.C.) adlandırmasına göre, hidrolazlar grubunun glikozilazlar alt grubunun polisakkaridazlar alt birimine ait, komşu glikoz rezidülerde lokalize olan 1 ve 4 nolu karbon atomları yoluyla birbirine bağlanan, α -D-glikoz birimlerinden oluşan enzimlerdir. Temel fonksiyonları nişasta ve glikojen gibi karmaşık karbonhidratları parçalamaktır [1], [2].

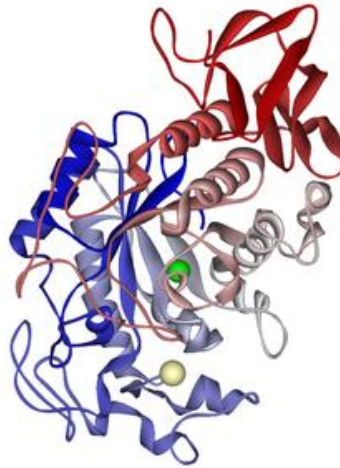
Nişasta granüllerinin enzimatik hidrolizi iki şekilde olmaktadır. Birincisi nişasta granülünün yüzeyinden merkezine doğru olan sentripetal hidroliz, ikincisi ise nişasta granülünün dış yüzeyinde etki gösteren sentrifugal hidrolizdir [3].

Başlıca amilazlar iki gruba ayrılmaktadır. İç etkili amilaz α -amilaz (1,4- α -D-glukanhidrolaz, EC 3.2.1.1) olup; amiloz, amilopektin ve ilgili polisakkaritlerdeki α -1,4 glikozidik bağları kırar fakat amilopektindeki α -1,6 bağlarını kırmaz. Endoamilazlar olarak da adlandırılan iç etkili amilazlar rastgele biçimde nişasta polimerlerinin iç kısmındaki zincirleri hidrolizler; dallanmış ve doğrusal oligosakkaritlerin oluşumuna yol açar [4], [5].

Dış etkili amilazlar glukoamilaz (α -1,4; 1,6- glukan glukohidrolaz, EC 3.2.1.3) ve β -amilaz (1,4- α - glukan maltohidrolaz, EC 3.2.1.2) dır. Ekzoamilazlar olarak da adlandırılan dış etkili amilazlar, iç etkili amilazlar gibi aynı substratlar üzerine etki ederler fakat etki tarzları farklıdır. Bu enzimlerin bazıları α - 1,6 zincirlerini ayırma yeteneğindedir fakat reaksiyon hızı α - 1,4 bağlarınıninki ile karşılaştırıldığında düşüktür. Dış etkili amilazlar

poliglukan zincirinin indirgenmeyen ucundan substrat bağları üzerine dıştan etki ederler ve düşük moleküler ağırlıklı glukoz ve maltozu üretirler [5].

α - Amilaz enziminin hidrolizi sonucu serbest kalan hemiasetal grupları α - optik konformasyona sahip olduklarından dolayı bu enzimlere yaygın olarak α - amilaz denilmektedir [6].



Şekil 2.1 Alfa amilaz yapısı

α - Amilazlar 6.9-7.0 optimum çalışma pH'ına sahip, moleköl ağırlıkları 40000-50000 D olan, bu nedenle böbrek glomerüllerinden kolayca geçerek idrar ile önemli bir miktarı atılabilen tek plazma proteini olma özelliği bulunan küçük moleküllerdir (Şekil 2.1). Nadiren bazı serumlarda rastlanan makroamilazlar, genellikle IgA, IgG, diğer normal veya anormal yüksek moleküler kitle plazma proteinleri ile normal tükürük amilazı arasında oluşmuş komplekslerdir [1], [2], [7], [8].

α -Amilaz vücutta pek çok organ ve dokuda mevcut olmakla beraber, en yüksek konsantrasyonu pankreastadır. Pankreas α -amilazı, pankreasın acinar hücreleri tarafından sentezlenerek ve doudenuma da salgılanmaktadır. Pankreas amilazı işlevini tamamladıktan sonra tripsin aktivitesi ile parçalanarak çok az bir kısmı feçeste amilaz aktivitesi göstermektedir. Tükürük amilazı ise, tükürük bezleri tarafından salgılanmakta, aynı zamanda terde, süt salgılayan meme bezlerinde, akciğerlerde, fallop tüpünde, karaciğerde de bulunmaktadır. Daha yüksek moleköl ağırlıklı, sülfidril içeren, nişasta ve glikojeni oligosakkaritlere parçalayan ve bu arada çok az maltoz ve glikoz üreten, optimal tesir pH'ı hemen hemen nötral (6.9) olup, 6.5-7 arasında değişen, midedeki hidroklorik asit ile parçalanmış bir enzimdir [1], [2], [8], [9], [10].

Diğer enzimler gibi α -amilazın da büyük bir kısmı protein yapılıdır. Protein yapısı haricinde bir metallo enzim olan amilazdaki metal iyonlarının varlığı NMR (Nükleer Manyetik Rezonans), ESR (Elektrik Spin Rezonans), PRH (Proton Relaksasyon Hızı) teknikleri ile incelenebilmektedir [7]. α -Amilaz aktivasyonu için kalsiyum bağlanmasına mutlak suretle gereksinim duyan ekstrasellüler bir enzimdir. Ayrıca klorür başta olmak üzere bromür, iyodür, nitrat veya hidrojen fosfat gibi çeşitli anyonların varlığında da aktive olabilmektedir [7], [11].

Multiple amilaz izoenzimleri serum ve idrarda jel filtrasyonu, iyon değişim kromatografisi, izoelektrik odaklanma ve elektroforez gibi tekniklerle gösterilebildiği gibi en az 6 izoenzim selüloz asetat kromatografisinde gösterilebilmiştir. Çizgili kaslardan, yağ dokusundan, gözyaşından, ovaryumdan semenden, testislerden, kolostrumdan ve süttten alınan ekstrelerde de zayıf olmakla birlikte amilaz aktivitesine rastlanılmıştır [1], [2], [11].

2.2 Tükürüğün Yapısı

Tükürük, ağız içinde kayganlık sağlayan, yemeklerin sindirilmesine yardımcı olan, ağız yoluyla patojenlerin girişini önlemek, antibakteriyel fonksiyon, konuşmaya, diş ve ağız mukozasının korunmasına yardımcı olan bir biyolojik sıvıdır. Tükürüğün %99,5'i su, %0,5'i suda çözünmüş organik ve inorganik maddelerdir [12].

Tükürük bezleri büyük ve küçük bezler olmak üzere ikiye ayrılır. Büyük tükürük bezleri, parotis, submandibular, sublingual bezler olmak üzere 3 tanedir (Şekil 2.2). Parotis bezi kulak önünde başlayarak yanak boyunca devam eder ve kanalı üst dişlerin yakınına açılır. Submandibular bez çene altında yer alır ve dilaltı ön bölümüne salgısını bırakır. Sublingual bez dilaltında yani ağız tabanında yer alır ve salgısını kanallar ile buraya verir. Küçük tükürük bezleri ise ağız içerisinde yer yer epitelyum altına lokalize olmuşlardır. Tüm tükürük salgısının %30'u parotis, %60'ı submandibular, %5'i sublingual ve kalan %5'i küçük tükürük bezlerince salgılanır [13].



Şekil 2.2 İnsanda tükürük bezlerinin konumlanması

2.2.1 Üretimi

Tükürük, dinlenme halinde 0,02 ml/dk'dan uyarıldığında 7 ml/dk ve fazlasına kadar çıkabilmekle beraber ortalama 0,3-0,5 ml/dk debi ile üretilen bir vücut sıvısıdır. Üretimi günde 1 litreye kadar ulaşabilmektedir. Tükürük üretim miktarı koku, tat, çiğneme, psikolojik ve hormonal durum, ilaçlar, yaş, kalıtsal etkiler, ağız hijyeni ve fiziksel egzersiz ile değişebilmektedir [14], [15], [16], [17], [18], [19].

Tükürük çıkış ve kompozisyonu otonom sinir sisteminin aktivitesine bağlıdır:

Tükürük bezlerinin seröz parçaları sempatik sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Mukoz parçalar ise hem sempatik hem de parasempatik sistem tarafından kontrol edilmektedir. α ve β adrenerjik ve kolinerjik uyarılar miktarı, viskoziteyi, iyon ve protein konsantrasyonlarını değiştirebilirler. Parasempatik uyarılar yüksek hacimde fakat düşük organik ve inorganik bileşik konsantrasyonlarında tükürük üretimine neden olmakta, sempatik uyarılar ise düşük hacimde fakat protein ve potasyumca zengin tükürük üretimine neden olmaktadır. Ayrıca ağızda yemek varlığı tükürük bileşimini belirleyen bir diğer parametredir. Yemekten sonra tükürükte total protein ve α amilaz miktarı artmaktadır [19], [20].

2.2.2 Bileşimi

Tükürüğün içerisinde çeşitli organik ve inorganik maddeler bulunmaktadır. Ayrıca ağız florası metabolitleri, bakteriyel hücreler ve epitel hücre parçaları da içermektedir. Tükürüğün inorganik bileşenleri sodyum (Na), potasyum (K), klorür (Cl), bikarbonat (HCO_3), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), fosfat (PO_4), iyot (I), tiyosiyonat (SCN) ve florür (F)'tir. Tükürükteki inorganik bileşenlerin miktarı, mineralokortikoid (mineral

düzenleyici hormon) reseptörler içeren tükürük bezi kanalları ile belirlenir. Dolayısıyla tükürük bezleri mineralokortikoid duyarlıdır [21], [22].

Ayrıca tükürük; organik bileşikler (albümin, serbest aminoasitler, karbonhidrat, besin artıkları vb.), enzimler (amilaz), immunoglobulinler (IgA, IgG, IgM), antibakteriyel proteinler (lizozim, laktoferrin, sialoperoksidaz), glikoproteinler (müsin) ve diğer polipeptidler (statherin, sialin) içermektedir. Salgılanan tükürüğün pH'ını içeriğindeki asitler, bazları ve bikarbonat iyonlarının miktarı belirler ve pH 5,6 ile 7,8 arasında değişebilmektedir [15], [16], [23], [24], [25], [26].

2.2.2.1 İnorganik Bileşikler

Tükürük, en önemli görevi tamponlama kapasitesi olan çeşitli iyonları (Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , HPO_3^{2-} , I^- , SCN^- , F^-) içermektedir (Çizelge 2.1). Tükürük bezlerinden çıkan ilk salgı plazmayla kıyaslandığında izotoniktir. Fakat tükürük bezi kanallarından geçerken enerji bağımlı Na^+ ve Cl^- geri emilim sistemi çalışmaktadır. Sonuçta oluşan salgı plazmaya göre hipotonik bir hal almaktadır. Tükürük K^+ konsantrasyonu plazmadan yüksek iken, Na^+ konsantrasyonu düşüktür. Kalsiyum miktarı ise plazmadan az, fosfat miktarı ise plazmadan fazladır [19], [27].

Çizelge 2.1 Tükürük ve plazmadaki inorganik maddeler ve konsantrasyonları [28]

İnorganik İçerik (mmol/l)	Tüm Uyarılmamış Tükürükteki Miktar	Tüm Uyarılmış Tükürükteki Miktar	Plazmadaki Miktar
Na	5	20–80	145
K	22	20	4
Cl	15	30–100	120
Ca	1-4	1-4	2,2
HCO_3	5	15–80	25
Mg	0,2	0,2	1,2
NH_3	6	3	0,05

Uyarılmış tükürük ile uyarılmamış tükürüğün inorganik madde bileşimi farklılık göstermektedir. Örneğin, asidik yiyecekler ile uyarılan tükürükte, sodyum, klorür, bikarbonat konsantrasyonu artar. Buna karşın, potasyum ve fosfat konsantrasyonu uyarılmamış tükürüğe kıyasla azalmaktadır [29].

Kalsiyum ve fosfat konsantrasyonu, diş mineralleriyle tükürüğün doygunluğunu sürdürmede, dolayısıyla diş taşı oluşumunda ve çürük gelişmesinde önemli role sahiptir. Kalsiyum ve fosfat miktarı farklı tükürük bezlerinde farklılık göstermektedir (Çizelge 2.2). Parotis, submandibulara kıyasla total akıma daha az kalsiyum, daha fazla fosfat iyonu salgılamaktadır. Küçük mukoz salgılarda ise fosfat iyonu konsantrasyonu çok düşüktür. Diğer iyonların konsantrasyonu ve toplam protein konsantrasyonu da her tükürük bezi salgısında aynı değildir [27], [30], [31].

Çizelge 2.2 Tükürük bezlerinde inorganik madde konsantrasyonu [12]

Uyarılmış Tükürükte	Parotis Tükürüğünde (mEq/L)	Submandibuler Tükürükte (mEq/L)
Akım Oranı ml/dak	0,7	0,6
Sodyum	23	21
Potasyum	20	17
Kalsiyum	2	3,6
Magnezyum	0,2	0,3
Fosfat	6	4,5
Klor	23	20

2.2.2.2 Hormonlar

Tükürük, birçok protein hormon, steroid ve steroid olmayan hormon içermektedir. Tükürükteki hormonların düzeylerinin ölçülmesi, yorum için tek başına yeterli değildir. Hormonların, tükürükteki miktarları ile kandaki miktarları arasındaki bağlantının iyi bilinmesi gerekmektedir [28].

Tükürük hormonlarının kaynağı hakkındaki bilgiler, hormonun patolojik ve fizyolojik durumu hakkında bilgi vermektedir (Çizelge 2.3). Örneğin, tükürükte bulunmaması gereken bir serum hormonunun tükürükte varlığı ağızda bir kaçak olduğuna işaretler. Tükürük içerisinde hala kaynağı aydınlatılamamış hormonlara rastlamak mümkündür. Tükürükte katekolaminler 250-800 pg/ml arasında değişen miktarlarda

bulunabilmektedir, fakat henüz kaynağı bulunamamıştır. Katekolaminlerin kaynağı hakkında iki olasılık vardır. Katekolaminler, serumdan difüzyon yolu ile tükürüğe geçebilmektedir veya sempatik sinir uçlarından doğrudan tükürüğe salınabilmektedir. Sempatik sinir uçlarından da salınabilmesi katekolaminlerin tükürük konsantrasyonu ile serum konsantrasyonu arasında bağlantı kurulmasına engel olmaktadır [32].

Çizelge 2.3 Tükürük örneklerinde ölçülebilen steroid hormonlar [28].

İçerik	Method	Analitik Yönü	Konsantrasyon
Kortizol	DELFA, RIA, EIA	Tükürüğe spesifik	Uyanma sonrası: 3,6–35,1 nmol/l
Testesteron	ELISA	Tükürüğe spesifik, oda sıcaklığındaki depolamada azalma	140,30 ± 154,15 pg/ml
DHEA-s	ELISA	Tükürüğe spesifik, oda sıcaklığındaki depolamada etkisiz	291,21 ± 294,81 pg/ml
Progesteron	RIA	Serum testte modifiye, antikorlar diğer steroidlerle reaksiyon verebilir	Luteal faz: 436 ± 34 pmol/l Foliküler faz: 22,1 ± 2,7 pmol/l
Estradiol	RIA	Serumda modifiye, antikorlarla reaksiyon verebilir	Luteal faz: 20,6 ± 0,4 pmol/l
Aldosteron	RIA	Serumda modifiye	138–475 pmol/l

Tükürükten kortizol ölçümü yaygın olarak kabul görmektedir. Çünkü adrenal korteks strese duyarlıdır ve kan örneği alımı sırasında yaşanan korku ve panik yanlışı ölçüme neden olabilmektedir. Dolayısıyla kortizol ölçümünde tükürük numunesinin kullanılması kan kullanımasından daha güvenilir sonuçlar vermektedir [28].

2.2.2.3 Protein Bileşimi

Tükürüğün en önemli görevlerinden birisi olan nişasta sindirimini gerçekleştiren α -amilaz enzimi tükürüğün en önemli protein içeriğini oluşturmaktadır (Çizelge 2.4). Bunun yanında tükürük, lizozim, müsin, immünoglobülinler gibi birçok protein içermektedir [28].

Çizelge 2.4 Tükürükte bulunan proteinler [28]

	Köken	Fonksiyon	Konsantrasyon
Total Protein			0,47 $\pm$ 0,19 mg/ml 0,9 $\pm$ 0,2 mg/ml 4,3–710,0 mg/dl 2,67 $\pm$ 0,54 mg/ml
α Amilaz		Nişasta sindirimi	3257 $\pm$ 1682 U/ml 1080,0 $\pm$ 135,6 IU/l 476 $\pm$ 191 μ g/ml
Albümin	Plazma	Onkotik basınç	0,2 $\pm$ 0,1 mg/ml 0,8–192,0 mg/dl
Sistatin Grupları	SM>SL	Antimikrobiyal (sistein-proteinaz inhibitörü)	14,3 kDa form 58 $\pm$ 25 μ g/ml 14,2 kDa form 91 $\pm$ 46 μ g/ml
Hystatin	P	Antifungal	1190 $\pm$ 313 μ g/ml
Salgı-IgA	B lenfosit	Antimikrobiyal	124,3–335,3 μ g/ml
Laktoferrin	Mukoz>Seröz	Antimikrobiyal	3,7 $\pm$ 2,5 μ g/ml
Lizozim	SL>SM, P	Antimikrobiyal	3,5–92,0 μ g/ml 21,8 $\pm$ 2,5 mg/dl 59,7–1062,3 μ g/ml
Müsin Grupları	Mukoz bezler	Kayganlaştırıcı	MUC5B: 2,4 $\pm$ 1,7 U/ml
PRP (Platelet Rich Plasma)	P	Bakteri bağlayıcı	Asidik PRP: 456 $\pm$ 139 μ g/ml Bazik PRP: 165 $\pm$ 69 μ g/ml
Statherin		Ca ⁺⁺ bağlayıcı	4,93 $\pm$ 0,61 μ mol/l 36 $\pm$ 18 μ g/ml
Transferrin	Plazma		0,58 $\pm$ 0,20 mg/dl

SM: Submandibular bez, **SL:** Sublingual bez, **P:** Parotis bezi

Tükürükte en bol bulunan (%85) immünoglobülin s-IgA'dır. s-IgA, tükürük bezlerinin yakınlarındaki B lenfositleri tarafından interstisyel sıvıya salgılanmaktadır. Ardından, tükürük bezlerinin asiner ve duktal hücreler tarafından alınır ve daha sonra tükürüğe verilir. IgG ve IgM ise oluk sıvısından ve plazma kaçağından kaynaklanmaktadır [33].

Tükürük proteinlerinin salgılandıkları tükürük bezleri farklıdır. Tükürükte protein analizi yapılırken bu özellikten yararlanılabilmektedir. Örneğin; sistatin C submandibuler bezi tarafından salgılanırken müsin ve calgranulin sublingual bezi tarafından salgılanır. Proteinlerin salgılandıkları tükürük bezlerinin belli olması, bu proteinlerin ilgili tükürük bezinin salgısından rahatlıkla tespit edilebilmesine olanak sağlamaktadır. Tükürük bezleri salgıları haricinde de tükürükte protein bulunabilmektedir. Ağızda oluşan plazma kaçaklarından tükürüğe çeşitli proteinler geçebilmektedir. Albümin, transferin ve IgG plazma kaçaklarından kaynaklı tükürük proteinleridir [31], [34].

Tükürük proteinlerinin yapı ve fonksiyonu aydınlatılmak için çeşitli biyokimyasal teknikler kullanılmaktadır. Protein yapısının aydınlatılmasında kullanılan başlıca yöntemler, sıvı kromatografisi, jel elektroforezi, kapiller elektroforez, nükleer manyetik rezonans, kütle spektrometresi, bağışıklık analizleri ve lektin prob analizidir [31], [35]. Bütün bu teknikler protein yapısında spesifik grupların analizine dayanmaktadır. Parçadan bütüne gidilerek protein yapısı aydınlatılabilmektedir. Tükürükte bir proteinin varlığı veya yokluğuna ilişkin fikir sahibi olmak gerektiğinde bu teknikler vasıtasıyla o proteine spesifik bölgelerin tespitinden yararlanılabilmektedir. Fakat tüm tükürük proteinlerinin proteomik tekniklerle tam model olarak yapısal analizi üzerine çalışmalar da bulunmaktadır. Proteomik tekniklerde ilk olarak tükürük proteinleri iki boyutlu elektroforez ile ayrılır. Ayrımı yapılan proteinler uygun bir boya ile tespit edilir [28].

İki boyutlu elektroforezden elde edilen fragmentler triptik enzimler tarafından sindirilir. Sindirim sonucu oluşan parçalar, peptidlerin molekül kütlelerinin ölçülmesi için (MALDI-MS) ile analiz edilir. Bu metot ile insan tükürüğünde 40 protein belirlenmiştir. Ardından, farklı proteomik metotların eklenmesiyle tükürükte belirlenen protein sayısı 300'ü bulmaktadır. Farklı metotların birlikte kullanılması yalancı pozitiflik riskini minimize etmektedir. Analiz doğruluğunun güvenliği için birkaç metodun kullanılması önemli bir tedbirdir [31].

2.2.3 Akım Oranı

Akım oranı, dinlenme anındayken dışarıdan bir uyarı olmadan birim zamanda ağza akan tükürük miktarıdır. Akım oranı bireyler arasında değişkenlik göstermektedir. Ağız kuruluşundan şikayet etmeyen çok düşük akım oranına sahip bireyler de

bulunmaktadır. Bu nedenle akım oranının azlığından veya çokluğundan bahsetmek oldukça güçtür. Genel olarak ortalama sağlıklı insanda uyarılmamış tükürük akım oranı 0,3 ml/dk denilebilmektedir [16], [36].

Tükürük akım oranı birçok faktör tarafından etkilenmektedir. En yaygın bilinen faktör şartlı reflekslerdir. Örneğin limon kelimesinin duyulması ile birçok kişide tükürük akım oranı artmaktadır. Ayrıca çeşitli kokular, sigara içmek de akım oranını arttırmaktadır. Karanlık, açlık, uyku ve ayakta uzun süre durmak gibi faktörler ise akım oranını azaltmaktadır. Ayrıca akım oranı mevsimsel değişikliklerden de etkilenmektedir. Yaz mevsimlerinde akım oranı ciddi ölçüde azalmakta, buna karşın kış mevsimlerinde artmaktadır. Günlük periyotta da akım oranı sabit değildir. Gün içerisinde tükürük akım oranının maksimuma ulaştığı zaman dilimi öğleden sonradır [14], [16], [27].

24 saatlik günlük periyodun ortalama 16 saatinin uyanıklık olduğu varsayıldığında bu kısımda akım oranı ortalama 0,3 ml/dk'dır ve yaklaşık 300 ml'dir. Kalan uyku zamanında ise akım maksimum 0,1 ml/dk olmaktadır ve yaklaşık 40-50 ml'dir. Her gün çiğnemeye harcanan ortalama süre 54 dk'dır ve çiğneme ile üretilen tükürük 200 ml/dk'dır. Toplam hesaplandığında günlük tükürük akımı 500 ml'dir. Total tükürük akımının %65'ini submandibular bez, %7-8'ini sublingual, %7-8'ini minör mukoz bezler ve %20'sini parotis bezi sağlar. Yüksek akım oranlarında ise parotis tüm tükürük salgısının % 50'sini üstlenir [16], [36].

2.2.4 Tükürüğün Klinik Önemi

Tükürük, klinik uygulamalarda tanı aracı olarak kullanılabilen bir biyolojik matrikstir. Tükürük büyük bir kısmının su olmasının yanında birçok belirteç niteliğinde maddeler de içermektedir. Tükürük analizleri temelde diş hekimliğinde kullanılmaktadır. Tükürükteki bakteri içeriği ve tamponlama kapasitesinin ölçülmesiyle çürük riski tespit edilebilmektedir. Ayrıca tükürük, tükürük bezleri ve ağız boşluğundaki hastalıkların (Sjogren sendromu gibi) teşhisinde kullanılmaktadır. Oral endikasyonlarına ek olarak tükürük, vücut içindeki çeşitli organların işleyişi hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır. Tükürük kompozisyonunun analizi ile birçok oral ve sistemik hastalıklar teşhis edilebilmektedir [30], [33].

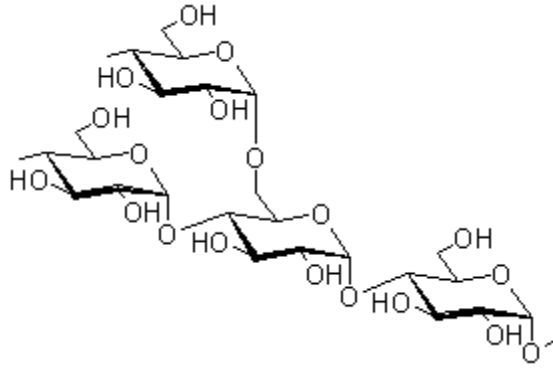
Tükürük örneklerinden DNA testlerinin yapılması uzun süredir uygulanan bir yöntemdir. Bu testler tükürükte bulunan oral hücrelerin DNA'sının analizine dayanmaktadır. Özellikle adli uygulamalarda kimlik tespiti ve profillemeye sıklıkla kullanılmaktadır. Adli vakalarda tükürüğün niteliğinden ziyade varlığının tespiti de kullanılmaktadır. Cinsel suçlarda olayı kanıtlar nitelikte mağdur veya şüpheli üzerinde tükürük lekesi tespiti saldırının gerçekleştirilginin biyolojik kanıtları arasında yer almaktadır. Tükürük varlığının tespiti için alınan örneklerde α -amilazın varlığı araştırılmaktadır [37], [38].

2.3 Nişasta

Nişasta bitkilerin güneş enerjisi sayesinde fotosentez yolu ile elde ettikleri besin maddesidir. Yüksek bitkilerde tümüyle α -D-glukozdan oluşan nişasta, bitkilerde temel enerji deposudur. Nişasta sadece bitkilerin enerji temininde değil, insan ve hayvanların beslenmesinde de büyük öneme sahiptir [5].

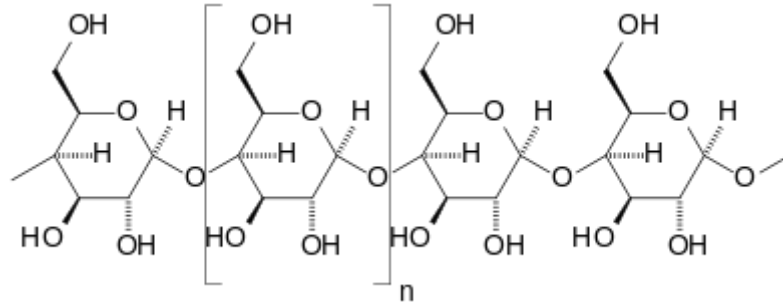
Nişasta α -1,4 ve α -1,6 glikozidik bağları ile birleşen α -D-glukoz birimlerinden oluşmaktadır. Amiloz (% 15-25) ve amilopektin (% 75-85) isimlerinde iki yüksek molekül ağırlıklı birim içermektedir. Amilopektin α -1,6 glikozidik bağları ile dallanmalar yapan dallanmış bir polimer yapıdır (Şekil 2.3), Amiloz glukopiranoz birimlerinin α -1,4 bağlanması ile oluşan lineer bir polimer (Şekil 2.4). Amiloz nişasta tanesinin iç kısmında bulunarak nişastanın % 15-20' sini, amilopektin ise nişasta tanesinin dış kısmında bulunarak nişastanın % 75-80' ini oluşturmaktadır [39], [40], [41].

Amilopektin, 500-2000 ya da daha fazla glukoz ünitesi içermekte ve her 24 - 30 glukoz ünitesinde bir 15 glukoz ünitesinden oluşan dallanmalar göstermektedir. Molekül ağırlığı 300.000' den birkaç milyona kadar çıkabilmektedir. Zincir ve bundan çıkan yan zincirler amilozdaki gibi spiralleşmiştir. Suda ancak basınç altında ısıtıldığı zaman çözünabilmektedir [42], [43].



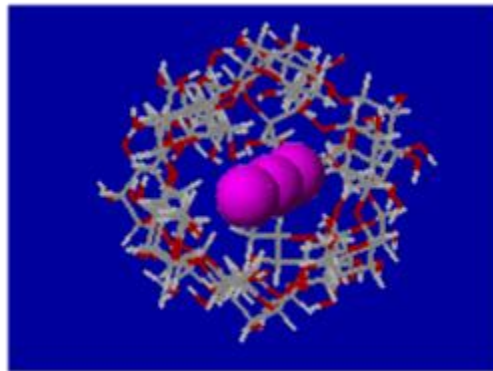
Şekil 2.3 Amilopektinin kimyasal yapısı

Amiloz ve amilopektin soğuk suda çözünmemektedir. Fakat amiloz sıcak suda çözünebilen, 100-700 glukoz birimi içeren, indirgen olmayan bir karbonhidrattır. Glukoz birimlerinin oluşturduğu zincir spiral şeklinde kıvrılmış olup her kıvrım 4-6 glukoz birimi içermektedir [44], [45].



Şekil 2.4 Amilozun kimyasal yapısı

Amiloz molekülünde 6 glukozda bir spiral halkası oluşmaktadır. Bu spiral içinde oluşan boşluk iyodu içine alabilecek formdadır (Şekil 2.5). Bu sayede spiral halde bulunan düz zincir, iyot muamelesi sonucunda iyot elementini içerisine almaktadır [46].



Şekil 2.5 Amiloz spiralinin iyodu içerisine alması

Amiloz spirali arasına giren iyot molekülü kompleks oluşturarak mavi renk oluşmasına neden olmaktadır. Molekülün zincir uzunluğu oluşan renk üzerine etki etmektedir. Amiloz miktarına göre oluşan renk koyu mavi-lacivertten açık maviye kadar olabilmekte ve spektrofotometrede ölçülebilmektedir [41], [46].

2.4 Asit Fosfataz

Fosfotik asit esterlerini hidrolitik olarak parçalayan enzimler fosfatazlar olarak adlandırılmaktadır. Fosfatazlar, en iyi aktivite gösterdikleri pH değerine göre asit ve alkali fosfatazlar olarak ikiye ayrılmaktadır. pH 7'nin altında optimal aktivite gösteren bütün fosfatazlar asit fosfatazlar sınıfına girmektedir. Değişik asit fosfatazların optimum pH değeri kaynaklandıkları doku ve enzimin etkili olduğu substrata göre değişiklik göstermektedir [47], [48], [49].

Asit fosfatazların sistematik isimleri ortofosforik monoester fosfohidrolaz asit optimum (E.C. 3.1.3.2) olup fosfomonoesterlerin birçoğundan ve fosfoproteinlerden inorganik fosfatı ayırmaktadırlar. Ayrıca pirofosfat bağlarına da etki edebilmektelerdir. Doğal formu 100.000-125.000 D molekül ağırlığı olan iki aynı alt birimden meydana gelen bir dimerdir [50], [51].

Asit fosfatazlar 37°C'nin üstündeki sıcaklıklarda ve pH 7'nin üstünde unstabillerdir. Serumdaki bazı izoformları ve özellikle prostat kaynaklı asit fosfatazlar güçlü stabilizeye sahiptir. Pıhtı ayrıldığında hemen aktivitesini kaybeden enzim, oda sıcaklığında, pıhtı ayrılmamışsa birkaç saat stabil kalabilmektedir. Fakat oda sıcaklığında bir saat içerisinde aktivitesinde %50 kayıp oluşmaktadır [49], [51], [52], [53].

Serumda asit fosfataz düzeyi yaşa bağlı değişebilmektedir. Yenidoğanlarda bu değer erişkinlere kıyasla 2-3 kat daha fazla olmakla beraber çocukluk döneminde yavaşça azalmaktadır. Erken ergenlik döneminde düşme belirginleşir ve 20 yaşından önce yetişkin seviyesine düşer. Erişkinlik döneminde hastalık olmadığı takdirde serum asit fosfatazında belirgin bir değişiklik olmamaktadır [51].

2.4.1 İnsan Vücudunda Asit Fosfataz

Asit fosfataz enzimi çeşitli izoformlarda insan vücudunun hemen her bölgesinde bulunmaktadır. Enzim özellikle kan hücrelerinde bulunması nedeniyle organizmaya yayılmış durumdadır. Eritrosit ve trombositlerde önemli miktarda bulunmakla beraber lökositlerde de mevcuttur. Ayrıca lizozomlarda bulunması sebebiyle tüm hücrelerde asit fosfataz vardır denilebilmektedir. Sağlıklı erkek bireylerde ise vücudundaki asit fosfataz miktarının büyük bir çoğunluğu prostat kaynaklıdır. Dolayısıyla insan semenindeki miktarı diğer vücut sıvılarına oranla çok daha yüksektir. Asit fosfatazlar ayrıca pankreas, böbrekler, akciğerler, bağırsaklar, böbrek üstü bezleri, iskelet kasları, overler, timus, kalp kası, paratiroidler, uterus, safra kesesi, deri, testisler ve diğer dokularda da bulunmaktadır. Prostattaki asit fosfataz aktivitesi ise diğer dokuların birkaç yüz katı kadardır [47], [49], [51], [54], [55].

Asit fosfataz enziminin insan vücudunda bulunan bazı izoformları:

Eritrosit Asit Fosfataz

Asit fosfataz insan vücudunda kan eritrositlerinde dağılmış halde de bulunmaktadır. Eritrosit asit fosfatazlarının aktivitesi relatif olarak retikülokositler ve eritroblastlardan daha düşüktür. Altı fenotipli genetik polimorfizm gösteren üç adet izoenzimi mevcuttur. α -naftilfosfat ile güçlü bir enzim substrat ilişkisi yoktur. Eritrosit asit fosfatazları bakır iyonları ve formaldehit tarafından inhibe edilirken, tartalat tarafından inhibe edilmez. Eritrosit asit fosfatazın spesifik tayininde bu özelliğinden yararlanılabilmektedir [49], [51], [55].

Trombosit asit fosfataz

Kanın pıhtılaşması sırasında plazmaya verilmektedir. Trombosit asit fosfatazı özellikle β -gliserofosfatı substrat olarak kullanmaktadır. Ayrıca p-nitrofenilfosfat ve α -naftilfosfat ile de reaksiyon vermektedir. Formaldehit ve tartalat ile inhibe olmaktadır. Bu sayede ayrımı sağlanabilmektedir [51], [55].

Kemik Asit Fosfataz

Kemik asit fosfatazı çoğunlukla osteoklast kaynaklı bulunmaktadır. Daha çok hastalık tanısında kullanılmaktadır. Özellikle kemik hastalıkları başta olmak üzere, meme karsinomlarının metastazında, paget hastalığında ve hiperparatiroidizmde kemik asit

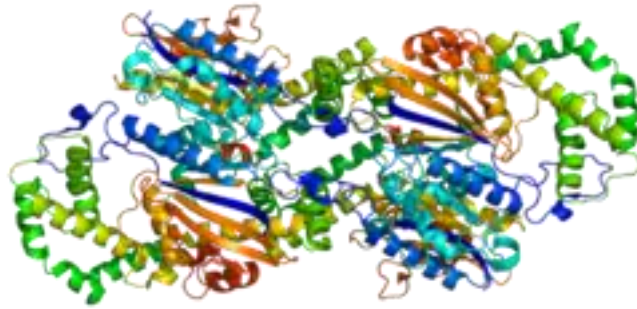
fosfatazi düzeyi artmaktadır. Fenilfosfat ve α -naftilfosfat substratlarına spesifik olması, tartarat tarafından inhibe edilmemesi kemik asit fosfatazının diğer asit fosfatazlardan ayrılmasına yardımcı olmaktadır [55].

Gaucher Asit Fosfataz

Asit fosfatazların bu izoenzimi gaucher hücrelerinin lizozomlarında bulunduğundan dolayı bu ismi almaktadır. Ayrıca retikülositlerde de bulunmaktadır [55], [56].

Prostatik Asit Fosfataz

Sağlıklı bir erkeğin serum asit fosfataz düzeyinin 1/3 ila 1/2'sini prostat kaynaklı asit fosfataz oluşturmaktadır (Şekil 2.6). Prostatın epitel hücrelerinden salgılanmaktadır. Prostatik asit fosfatazı diğer asit fosfatazlardan ayıran en önemli özelliği tartarat tarafından kuvvetle inhibe edilmesidir. Bu özellikten faydalanarak serumda toplam asit fosfataz miktarının yanı sıra özellikle prostat kaynaklı asit fosfataz miktarının da belirlenmesi mümkündür [51], [57].



Şekil 2.6 Prostatik asit fosfataz

2.4.2 Asit Fosfatazın Klinik Önemi

Asit fosfataz çeşitli vücut sıvılarında bazı patolojik durumlarda yükselme göstermektedir. Bu yükseliş tanı koyulmasında oldukça yardımcı olmaktadır. Özellikle serumda asit fosfatazın çeşitli izoformlarının yükselmesi hastalık belirtisi sayılmaktadır. Asit fosfatazın değişik formları farklı özellikler göstermektedir. Bu formların farklı özellikleri yapılan çalışmalar ile ortaya koyulmakta ve çalışmalardan elde edilen sonuçlar klinikte teşhis ve tedavi amacıyla kullanılmaktadır [58].

Trombositopeni, trombosit yıkılımının artmasıyla karakterize bir hastalık olup trombosit oluşum bozukluğuna bağlı olmayan trombositopenilerde plazmada ilgili asit

fosfataz izoformu ciddi bir artış göstermektedir. Ayrıca tromboz ve emboli gibi durumlarda da asit fosfataz miktarı artabilmektedir. Özellikle akciğer embolisi, miyokard infarktüs, periferik venöz ve arterial tromboz durumlarında asit fosfataz aktivitesi (kısmen eritrosit izoformu) oldukça yükselmektedir [55].

Meme karsinomu olan hastaların büyük bir bölümünde (özellikle metastaz durumunda) ve farklı kanser tiplerinde de serum asit fosfataz miktarı artmaktadır. Meme karsinomlarının metastazında, paget hastalığında, osteoporoz, multiple myelom ve iskelet tutulumu olan hiperparatiroid gibi birçok kemik hastalığında artış gösteren asit fosfataz, kemik asit fosfatazıdır. Kemik asit fosfatazının ölçümü ile tanıya yardımcı olunabilmektedir [49], [51], [55].

Gaucher ve Nieman-Pick hastalıkları bazı sfingolipid bileşiklerinin birikmesiyle karakterize olup bu hastalıklarda asit fosfataz düzeyinde artış gözlenmektedir. Böbrek rahatsızlıklarının bir bölümünde, bazı karaciğer hastalıkları ve safra yollarındaki tıkanmalarda da artış göstermektedir [49], [51], [55].

2.4.2.1 Prostat Kanserinde Asit Fosfataz

Asit fosfataz düzeyindeki farklılıkların en fazla önem taşıdığı klinik durum prostat karsinomudur. Prostat kanserli hastaların serumlarında prostat kaynaklı asit fosfataz miktarı oldukça yüksektir. Hastalığın ilerleme evrelerine göre serum prostatik asit fosfataz miktarı artmaktadır [47], [49], [51].

Prostat kanseri belirli bir yaş üzerindeki erkeklerde en sık görülen kanser türlerinden biridir. Amerika'da erkeklerin kanser nedeniyle ölümlerinde yılda 17.000 kişi ile ikinci sırada prostat kanseri gelmektedir. Hastalığın ilk evresinde prostatta ufak kanser adacıkları oluşmaktadır. İkinci evresinde prostat kanser nodülleri oluşmaya başlamakta ve çoğunlukla diğer dokulara yayılmamaktadır. Üçüncü evrede tümör pelvik bölgedeki komşu bölgelere yayılmaktadır. Dördüncü evrede lenf nodülleri ve kemik gibi dokularda metastaz görülmektedir. Hastalığın tedavisinde erken teşhis diğer kanser türlerinde olduğu gibi hayati öneme sahiptir. Birinci evrede teşhis edildiğinde hastanın yaşama olasılığı herhangi bir birey ile aynı değerdedir. İkinci evrede teşhisinde 5 yıllık yaşama olasılığı %70-90 arasındadır. Bu olasılık üçüncü evrede %40-70 iken dördüncü evrede %16-25'e kadar düşmektedir. Teşhis için ilk adım doktorun fiziksel muayene

esnasında prostat palpasyonudur. Fakat bu muayenede birinci ve ikinci evre kanserlerin teşhisi oldukça güçtür. Sadece üçüncü ve dördüncü evre fiziksel muayene ile teşhis edilebilmektedir [47], [49], [51].

Yakın geçmişe kadar prostat kanserinin erken teşhisinde serum prostatik asit fosfatazın ölçümü sınırlı boyuttaydı. İlk evrede hastaların %12'sinde, ikinci evrede %15'inde, üçüncü evresinde %30 ve dördüncü evresinde %60'ında asit fosfataz miktarında belirgin yükselme görülmekteydi. İskelet dokusundaki metastazın sonrasında ancak kıymetli bir teşhis metodu olabilmekteydi [51].

Son yıllarda prostatik asit fosfatazın ileri hassasiyet ve spesifikte ölçümüne olanak sağlayan yeni metod ve kitler geliştirilmiştir. Böylece prostat kanserinin değişik evrelerinde prostatik asit fosfataz ölçümlerinin tanı açısından değeri yeniden gündeme gelmiştir [49], [59], [60].

Yeni teknikler ile ikinci ve üçüncü evre hastaların %70-80'inde serum prostatik asit fosfataz miktarında ciddi artış görülmüştür. Bu oran dördüncü evre hastalarında %90'dan fazla değere ulaşmaktadır. İlk evre kanser hastalarında ise oran %30-35'e yükselmektedir [50], [51].

2.4.2.2 Prostatik Asit Fosfatazın Belirlenmesi

Prostat kanserinin teşhis ve izlenmesinde serum asit fosfataz seviyesindeki yükselişin prostat kaynaklı olup olmadığının aydınlatılması oldukça önem taşımaktadır [49]. Prostat kaynaklı ve prostat kaynaklı olmayan asit fosfataz ayrımı için özellikle inhibitörlerden sıklıkla faydalanılmaktadır. Çoğunlukla tartalat inhibisyonu laboratuvar testlerinde çoğunlukla kullanılan belirteçtir. Prostat kaynaklı olan asit fosfatazların belirlenmesi için kullanılan çeşitli yöntemler şunlardır:

- ✓ Prostatik asit fosfataz tartalat iyonları tarafından kuvvetle inhibe edilmekteyken eritrosit asit fosfatazları tartalatla inhibe olmamaktadır [49], [51], [55].
- ✓ Eritrosit asit fosfatazı formaldehit ve Cu^{++} iyonları tarafından inhibe edilirken prostatik asit fosfataz bu moleküllere dirençlidir [49], [55].
- ✓ Prostatik asit fosfataz bazı 2-hidroksi karboksilik asitler tarafından inhibe edilmektedir [50].

- ✓ Normal serum asit fosfatazı florür iyonlarıyla inhibe olabilmektedir [47], [51].
- ✓ Prostatik asit fosfataz p-nitrofenil fosfat ve β -gliserofosfat substratları üzerindeki aktivitesi 10 mM malomat ile inhibe edilebilmektedir [61].
- ✓ Polifloretilfosfat, poliestradiolfosfat ve arjinat prostatik asit fosfatazı inhibe edebilmektedir [61].

2.4.2.3 Adli Tıpta Asit Fosfotaz

Asit fosfatazın en bol bulunduğu vücut sıvısı seminal plazmadır. Asit fosfatazın adli tıpta kullanım alanı bulmasının temelini bu bilgi oluşturmaktadır. Adli tıpta asit fosfataz seminal plazmanın varlığının ortaya koyulmasında kullanılmaktadır. Alınan bir örnekte asit fosfataz aktivitesinin varlığı semen varlığı olarak değerlendirilmektedir. Bu durum özellikle cinsel saldırının tespiti için fiziksel delillerin yanında biyolojik bir delil olarak mağdur bedeninde ve kıyafetlerinde semen tespitinde kullanılmaktadır. Cinsel saldırı iddialarında olaydan sonra mümkün olan en kısa sürede biyolojik numuneler toplanıp numunelerde sperm hücrelerinin ve seminal plazma bileşenlerinin analizi yapılmaktadır. Bu seminal plazma bileşenlerinden olan asit fosfatazın prostatik formu semen varlığının tespiti için yeterli bir kanıt özelliği taşımaktadır [49], [51], [62].

2.5 Cinsel Suçlar

Cinsel suçlar (CS), rızası olmayan veya yaşının küçüklüğü, akıl hastalığı gibi sebeplerle rızası kabul edilmeyen bir kişiye, fiziksel güç kullanımı, tehdit, korku, hile ve kandırma gibi zorlamalarla, cinsel içerik taşıyan, cinsel doyumunu amaçlayan, toplumun kabul etmediği bir davranışta bulunulması suçudur. CS genellikle insanın temel hak ve özgürlüklerine, bireysel bütünlüğüne yönelmiş ağır fiziksel saldırı türü olarak, Türk Ceza Kanununda Cinsel Dokunulmazlığa Karşı Suçlar başlığı altında yer almaktadır [63], [64], [65], [66].

CS mağduru sosyal, fiziksel ve ruhsal yönden örseleyerek başta mağdur olmak üzere, mağdurun yakın çevresi ve bütün toplumu derinden etkileyen insanlık hakkı ihlalidir. Toplumun her kesiminden kadın ve erkek bireyler bu suça maruz kalabilmektedir. Yetişkinlerin yanı sıra çocuklara karşı da işlenebilmektedir [67]. Çocuğa yapılan CS uzun yıllar boyunca sürececek olan yıkıcı etkileri olmaktadır [68]. Çocuklar ile ruhsal ve zihinsel

olarak yetersiz gelişim gösteren yetişkinler, bir CS olayının anlam ve sonuçlarını tümüyle değerlendirme yeteneğine sahip olmadıklarından, gerçek anlamda böyle bir olaya onay verme yetkinliğinde değildirler [69]. Dolayısıyla mağdurları kontrol altında tutarak suçun ortaya çıkmasını engellemek için sanıklar bilinçli olarak çocukları ve zihinsel engellileri seçmektedir.

CS vakalarının tanınmasında ve raporlandırılması adaletin tesisi için hayati önem taşımaktadır. Bu kapsamda muayene eden hekimlerin deneyim düzeyleri etkili olmaktadır [70]. Özellikle çocuk mağdurların sağlık kuruluşuna ilk başvurusunda öncelik çocuğun örselenmiş olan beden ve ruh sağlığını korumak olmalıdır. Bu nedenle ilk aşamada biyolojik numune toplanması büyük önem taşımaktadır [71].

2.5.1 Mağdurda Meydana Gelen Etkiler

CS olayı, mağdur üzerinde özellikle ruhsal açıdan olmak üzere çeşitli patolojik etkiler yapmaktadır. Bu etkiler tekrar istismara uğrama, kronik ağrı, sosyal yaşamda, eğitimde ve iş hayatında başarısızlık, fiziksel ve duygusal rahatsızlıklar olup, bazı olgularda ölümle sonuçlanabilmektedir [67].

Yapılan çalışmalarda kızların % 20'sinin, erkeklerin % 9'unun çocukluk ve ergenlik döneminde uygunsuz cinsel davranışlara maruz kalmış oldukları öngörülmektedir [72], [73]. Çocuklar ve ergenlerde özellikle bu dönemde hassas oldukları, duygusal yönden yoğun oldukları düşünüldüğünde olayın etkileri daha şiddetli olacaktır. Ömür boyu süren ağır travmalara yol açmaktadır. Bu dönemlerde maruz kalınan travmaların, depresyon, bipolar bozukluk, şizofreni, travma sonrası stres bozukluğu gibi bilişsel bozukluklarla karakterize olan tüm sendromları belirgin derecede arttırdığı bildirilmiştir [74].

Çocuk mağdurlarda meydana gelen travmanın etkilerini azaltmak adına muayene esnasında bazı tedbirler alınmalıdır. Çocuğun muayene edildiği odanın bazı özellikleri önemlidir. Muayene tek hekim tarafından yapılmalı ve öykü ile ilgili soruları bu hekim yöneltmelidir. Muayenede bulunması gereken diğer hekimler ve uzmanların aynalı bir bölme arkasından muayeneyi izlemeleri sağlanmalıdır [71].

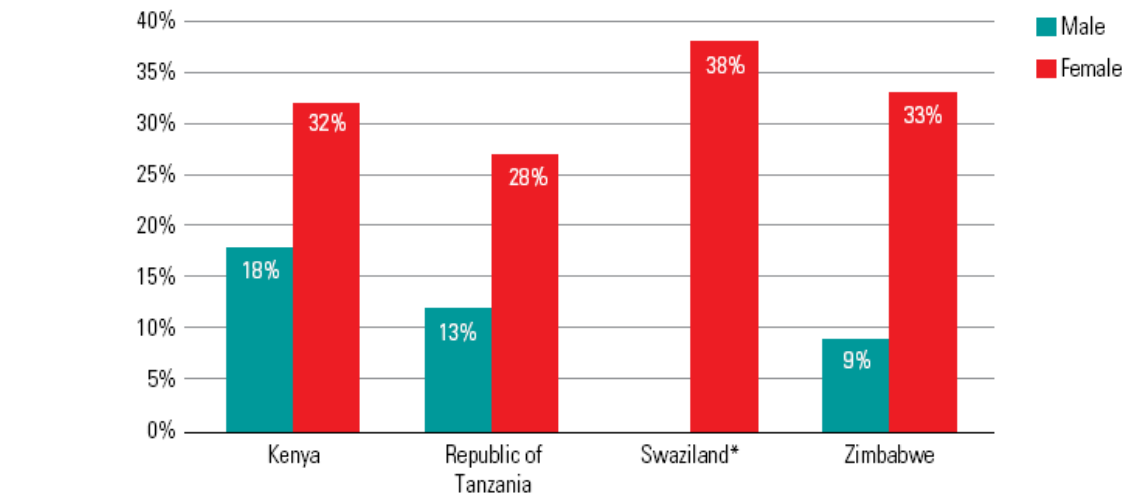
CS olaylarında mağdurlarda meydana gelebilen istenmeyen gebelikler mağdurda ciddi psikolojik ve sosyal sorunlara yol açabilmektedir. Ayrıca cinsel yolla bulaşabilen

hastalıklar da bu şekilde bulaşabilmektedir. Dolayısıyla mağdurun fiziksel ve ruhsal sorunlarının yanı sıra ciddi bulaşıcı hastalıklara da yakalanma riski söz konusu olmaktadır [75].

2.5.2 Dünya’da Cinsel Saldırı Vakaları

CS vakaları Dünya’da hızla artış gösteren insan hakkı ihlalidir. Toplumun hemen her kesiminden, Dünya’nın hemen her yerinden insanlar mağdur olabilmektedir. CS mağdurlarının yaklaşık % 91’ini kadın, % 9’unu erkek bireyler oluşturmaktadır [76]. Kadınların % 81’i ve erkeklerin % 35’inde travma sonrası stres bozukluğu gibi önemli kısa ve uzun vadeli etkiler meydana geldiği rapor edilmiştir [77]. Avrupa Birliği ülkelerinde yüzde 40 ile 50 arasında kadınların işyerlerinde çeşitli CS eylemlerine maruz kaldıkları bildirilmiştir [78].

Çocuklarda yaşam boyu cinsel şiddete maruz kalma yaygınlığının ortaya koyulduğu raporda İsviçre’de %38 gibi yüksek oranda kız çocuklarının cinsel şiddete maruz kaldığı görülmektedir. Kenya, Tanzanya ve Zimbabwe’de de kız çocuklarında oran yüksek olmakla beraber erkek çocukların da bu şiddete maruz kaldığı görülmektedir (Şekil 2.7).



*Only girls were surveyed in Swaziland
Source: Violence Against Children Surveys (34–37).

Şekil 2.7 Çocuklarda yaşam boyu cinsel şiddete maruz kalma yaygınlığı [79]

Ülkelerin şiddet konulu ulusal eylem planında, Dünya genelinde tüm suçlar arasında CS %68 ile üçüncü sırada yer almaktadır. Ülke bazında değerlendirildiğinde ise Amerika %86 ile ilk sırayı oluşturmaktadır (Şekil 2.8).

Type of violence	African region	Region of the Americas	Eastern Mediterranean Region	European Region	South-East Asia Region	Western Pacific Region	All countries
Armed violence	41%	62%	44%	32%	50%	25%	40%
Gang violence	30%	62%	44%	33%	38%	25%	37%
Youth violence	41%	71%	44%	63%	38%	45%	53%
Child maltreatment	56%	91%	69%	78%	88%	55%	71%
Intimate partner violence	63%	86%	44%	78%	75%	55%	68%
Sexual violence	70%	86%	38%	63%	75%	60%	65%
Elder abuse	33%	52%	50%	39%	50%	35%	41%
Plan covering all types	41%	76%	50%	46%	50%	50%	51%

Şekil 2.8 Ülkelerin şiddet konulu ulusal eylem planları [79]

İstatistiksel verilere göre yakın bir gelecekte 5 kadından biri ve 71 erkekten birinin ömründe bir kere saldırıya maruz kalacağı söylenmektedir [78]. CS'ların bu kadar belirgin artışına karşın, faillerin yakalanma oranı %3,5 olmakla beraber cinsel saldırı merkezlerinin bulunduğu yerleşim alanlarında bu oranın %69'a ulaşmaktadır [80].

2.5.3 Ülkemizde Cinsel Saldırı Vakaları

Ülkemizde cinsel dokunulmazlığı ihlal suçları önemli bir sorun olarak gündemimizi sürekli meşgul etmektedir. Adalet Bakanlığı Adli Sicil ve İstatistik Genel Müdürlüğünün 2012 yılında yayımladığı istatistikî verilere göre Türkiye genelinde cinsel saldırı suçu nedeniyle açılan davalar yıldan yıla belirgin olarak artış göstermiştir. Cinsel dokunulmazlığı ihlal suçu hakkında 2012 yılında yaklaşık 100.000 dosya karara bağlanmış olup bu dosyaların %37'sini çocuğun cinsel istismarı, %27,7'sini cinsel taciz, %20'sini cinsel saldırı, %15,4'ünü ise reşit olmayanla cinsel ilişki suçları oluşturmuştur [81]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise CS'lardan dolayı sanık konumundaki kişilerin %29.61'inin mahkemelerde delil elde edilemediği için beraat ettikleri belirtilmektedir [82].

Ülkemizde bazı üniversitelerin bünyesinde Çocuk İhmali ve İstismarı Engelleme Uygulama ve Araştırma Merkezleri (ÇİTEM) faaliyet göstermektedir [83]. Bu

merkezlerde, çocuk istismarının tanı ve tedavisinin yanı sıra çocuk istismarını önlemeye yönelik çalışmalar yürütülmektedir. Merkez çalışanları tarafından sağlık çalışanlarına, eğitim çalışanlarına, polis ve ailelere yönelik çocuk istismarı konusunda eğitim ve bilgilendirme toplantıları yapılmaktadır. Ayrıca Sağlık Bakanlığı'na bağlı hastanelerde Çocuk İzleme Merkezleri (ÇİM) hizmet vermektedir. ÇİM'in amacı istismar mağduru çocuğun aynı olayları tekrar yaşamasının, hatırlamasını ve psikolojisinin bozulmasını, daha fazla incinmesini önlemek için ifadenin bir defa alınmasıyla yetinilmesi sağlanmaya çalışmaktır. İşleyişi ise "Cinsel istismara uğramış çocukların ikincil örselenmesini asgariye indirmek amacıyla bütün adli ve tıbbi işlemlerin bu alanda eğitilmiş ve sertifikalı kişiler tarafından tek merkezde ve tek seferde yapılmasını temin etmek ve istismarı önleyici tedbirlerin alınmasını sağlamak üzere", "Hayata geçirilecek yeni sistem ile çocuğun yaşadığı korkunç olayı tekrar tekrar anlatarak ikinci üçüncü bir travma yaşamasını önlemiş olacaktır. Cinsel istismar mağduru çocuğun ifadesi psikolog, sosyal hizmet uzmanı, adli tıp uzmanı, Cumhuriyet savcısı ve avukatın bulunduğu, çocuklar için özel hazırlanmış görüşme aynalı odada, ayrıntılı sesli ve görüntülü olarak kaydedilecek. Görüşmeye katılan psikolog ve sosyal hizmet uzmanlarına CMK'ya göre yemin verdirilecek. Alınan ifadenin ses ve görüntü kayıtları CD ortamında, ifadeye katılan uzmanların raporları evraka eklenecek. Çocuk aynı zamanda adli tıp uzmanı tarafından gerek görülürse muayene odasında muayene edilerek adli tıp raporu hazırlanacak. Çocuk büyük bir zorunluluk yoksa mahkemeye çıkartılmayacaktır." şeklinde tanımlanmaktadır [84]. Yapılan çalışmalarla ve kurulan merkezlerle oldukça iyi hizmet verilmekle beraber yeterli değildir. Çalışmalar yasal çerçeveye oturtulmalıdır. Her ilde 24 saat çalışan cinsel saldırı muayene birimleri teşekkül ettirilmelidir [71].

2.5.4 Biyolojik Deliller

CS vakalarında sanığın yakalanabilmesi ve mahkeme aşamasında suçluluğunun kanıtlanabilmesi için CS mağdurlarının zamanında ve özenli olarak yapılacak muayeneleri ve yine mağdurun elbiseleri ve vücudundaki delillerin toplanması vazgeçilmez bir gerekliliktir [85].

CS vakalarında özellikle çocuk ve zihinsel engelli bireylerde her zaman fiziksel bulgu bulunamamaktadır. Ülkemizde CS'lardan sanık konumundaki kişilerin %29,61'inin

mahkemelerde delil elde edilemediği için beraat ettikleri belirtilmektedir [82]. Delil yetersizliğinin en önemli nedenlerinden biri fiziksel bulguların yetersizliğidir. Fiziksel bulguların sınırlı olduğu durumlarda olayın kanıtı niteliğinde olabilecek ve sanığın kimliğini ortaya koyabilecek nitelikteki biyolojik delillerin önemi daha iyi anlaşılmaktadır.

2.5.4.1 Semen Tespiti

CS'a maruz kaldığı iddia edilen bir kişinin vücudunda belirlenebilecek en önemli biyolojik delil, mağdur bedeninde, olay yerinde veya kıyafetlerinde saldırgana ait semenin tespiti [86].

Semen tespiti için temelde iki yöntem uygulanmaktadır. İlki şüpheli örneklerde spermatozoa incelemesidir. Spermatozoanın morfolojik olarak gösterilmesi semenin varlığına daha kesin delil teşkil etmekte ve DNA analizi ile spermin kimliklendirilmesine olanak sağlamaktadır. Mikroskopik yöntemlerle direk olarak spermin görüntülenmesiyle sağlanmaktadır. Birbirlerine göre çeşitli üstünlükleri olan bazı boyama çözeltileri geliştirilmiştir. Spermatozoa gösterimi her ne kadar efektif yöntem olsa da bazı sınırlamaları da mevcuttur. Örneklem aşamasında veya kişinin yıkamasıyla semenin dilüe olduğu durumlarda veya semenin içerisinde spermatozoanın az olduğu veya bulunmadığı hallerde yanlış negatif sonuçlar elde edilmesine yol açabilmektedir [86], [87].

Semen tespitinde ikinci yöntem semen içerisinde bulunan özellikle protein yapılı biyokimyasal markerların tespitidir. Biyokimyasal belirteçler daha hassas oluşları ve pozitif sonuç elde etmek için spermatozoaya ihtiyaç göstermemeleri sebebi ile büyük avantaj sağlamaktadır [86].

İçerisinde hiç sperm bulunmayan semenin de varlığının tespiti amacıyla yapılan çalışmalar sonucu semen içeriğinde bulunan asit fosfatazın varlığının mikrokimyasal yöntemlerle tespitinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Bu sayede sperm varlığı sitolojik olarak gösterilemese bile asit fosfataz varlığının tespiti semenin varlığının kanıtı olarak kabul edilmiştir [86]. Uzun yıllardır adli incelemelerde biyolojik materyal olarak sperm sitoloji araştırmasının yanında semen markerı olarak asit fosfataz tespiti araştırması da uygulanmaktadır. Daha yakın zamanda bu incelemelere ek olarak prostat bezi

tarafından üretilen semen sıvısında oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunan major proteinlerden biri olan prostat spesifik antijen araştırması da eklenmiştir [88], [89].

Semenogelin seminal bezlerden salınan, prostat spesifik antijen için substrat olma özelliği gösteren semen sıvısı proteini olup son yıllarda yapılan çalışmalarda semenogelin proteini tespitinin de semen varlığını gösteren önemli bir belirteç olarak kabul edilebileceği gösterilmiştir [90].

2.5.4.2 Tükürük Tespiti

CS muayenesi sırasında saldırgana ait semenin mağdurda veya olay yerinde tespiti, cinsel saldırının en önemli fiziksel kanıtı olarak kabul edilmektedir. Fakat mağdurunun üzerinde ve olay yerinde semen kalıntılarına rastlamak her zaman mümkün olmayabilmektedir. Bu durumlarda mağdurun vücut sürüntüsünde tespit edilen tükürük amilazı eylemi destekler niteliktedir. Saldırganın cilt üzerinde oluşturmuş olabileceği ya da saldırıya uğrayan kişinin kendini savunma amaçlı olarak sanık üzerinde bırakacağı ısırık izlerinin direkt, radyolojik veya dijital şekillendirme metotları ile incelenmesi, delil tespiti açısından değerlidir. Yine saldırgan tarafından cilt üzerinde oluşturulmuş ısırık yaraları gibi lezyonlar çevresinde veya cinsel saldırı olayında karşı koyuşa bağlı olarak sanıkta oluşabilecek ısırık izleri etrafında, tükürük kalıntılarının tespiti olayın aydınlatılmasını önemli ölçüde yarar sağlayabilmektedir. Deri üzerindeki tükürük kalıntılarındaki amilaz enziminin saptanması, saldırı durumunda saldırganın yakalanması ve adalete yardımcı olması açısından önem taşımaktadır. Ayrıca alınan tükürük örneklerinde şüpheliye ait DNA profilinin tespitini sağlayacak epitel hücre döküntülerinin de bulunabilecek olması bu örnekleme adli incelemedeki önemini artırmaktadır [85], [91], [92], [93].

2.5.4.3 Biyolojik Delillerin Tanı Kitleriyle Tespiti

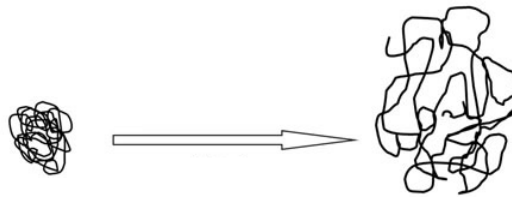
Cinsel saldırıya maruz kalmış kişilerin muayenesinin olayı takiben kısa süre içerisinde yapılması ve delil olabilecek biyolojik numunelerin eksiksiz toplanması oldukça önemlidir. Olayla ilk muayene arasında geçen süre uzadıkça, suçun ispatı niteliğinde olabilecek adli tıbbi delillerin elde edilmesi güçleşecektir. Bu işlemlerin olaydan sonraki ilk 72 saat içerisinde yapılmış olması gerekmektedir. Olaydan sonraki ilk gün içerisinde

muayenenin yapılması ve örneklerin toplanması durumunda; olayın gerçekleştiğine ve sanığın kimliğine dair biyolojik delil elde etme oranı oldukça yüksek iken, sonraki günlerde bu oran giderek azalmakta, 72 saatten sonra ise neredeyse imkansız hale gelmektedir [85].

Tanı kitleri hızlı ve pratik analiz ile tespit ve teşhis imkânı sağlayan kitlerdir. Portatif olmaları sebebi ile her yerde kullanım imkânı sağlamaktadırlar. İleri teknolojik cihazların bulunmadığı birimlerde, olay yerinde analiz imkânı sağlamaktadır. CS vakalarında başvuru alan ilk sağlık kuruluşunda semen biyomarkerlerinin ve tükürük amilazının tespitini sağlayan kitlerin kullanımı, olayın daha ilk aşamasından suçu kanıtlar nitelik taşımakta ve adaletin doğru, hızlı tesisine olanak sağlamaktadır. Sağlık kuruluşlarında bu kitlerin bulunması, mağdurun daha ileri teknolojik bir sağlık merkezine yönlendirilmesinde yaşanacak zaman kayıplarını önlemiş ve biyolojik delillerin doğru tespitini sağlamış olacaktır.

2.6 Süper Absorban Polimerler

Süper absorban polimerler, hidrofilik monomerlerin polimerizasyonu ve çeşitli çapraz bağlayıcılarla oluşturulan ağ yapılı polimerlerdir. Hidrofilik yapısı su ile etkileşimini sağlarken, yoğun çapraz bağ içeriğinden dolayı suda çözünmeyip şişme eğilimi göstermektedir (Şekil 2.9). Bu şişme davranışı süper absorban polimerlerin birçok alanda kullanılmasını sağlamaktadır. Su tutma kapasitesi %95'i aştığı durumda, polimer süper emici olarak adlandırılmaktadır. Kendi ağırlıklarının 10-1000 katı kadar çok miktarda su, tuz çözeltisi ya da fizyolojik sıvıları absorblayabilmektedirler. Süper emici polimerlerin su absorblama yetisi, sulu çözeltinin iyonik derişiminin fonksiyonudur. Çözeltinin iyonik derişimi arttıkça süper emici polimerin su tutma oranı azalmaktadır. Özellikle saf su ile temasında oldukça yüksek oranda su absorbe edebilmektedir [94], [95].



Şekil 2.9 Çapraz bağlı polimerin su absorblama davranışı

Süper absorban polimerler doğal, sentetik veya yarı-sentetik hidrofilik yapıdaki polimerlerin kimyasal reaksiyonla veya radyasyonla çapraz bağlanmasıyla hazırlanmaktadır. Radyasyonla çapraz bağlama, elektron demeti, γ ışınları, X ışınları veya UV ışınlarıyla gerçekleştirilirken kimyasal çapraz bağlanma iki veya daha fazla fonksiyonel gruba sahip, küçük molekül ağırlıklı bir çapraz bağlayıcı ajan varlığında gerçekleştirilmektedir [95]. Polimerizasyon için genellikle akrilik asit monomeri su içerisinde, bir baz (birçok durumda sodyum hidroksit çözeltisi) kullanmak suretiyle nötralize edilmektedir. Bu aşamada çapraz bağlayıcıların (molekül başına düşen birden fazla polimerleştirilebilir gruba sahip malzemeler) eklenmesiyle ağ yapıda polimer sentezlenmiş olmaktadır [96].

Günümüzde, süper absorban polimerler birçok alanda kullanılmaktadır. Eczacılık, tıp, veterinerlik, ziraat, biyomühendislik, inşaat ve tekstil sektörlerinde; akıllı ilaç salımı sistemlerinde, biyomalzemeler, çocuk bezi, moleküler elek, kontak lenste özellikle nem tutucu olarak kullanılmaktadır [97].

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Deneyisel Çalışmada Kullanılan Ekipmanlar

Saf su ve ultra saf su sistemleri (Millipore)

Isıticılı manyetik karıştırıcı (Heidolph, MR 3001)

Hassas terazi (Ohaus, Explorer Pro)

Dondurucu (Beko +4 °C, -20 °C)

100, 1000 µl' lik mikropipetler (Eppendorf)

100, 1000 µl' lik tek kullanımlık pipet uçları (Eppendorf)

Santrifüj tüpleri 1,5 ml (Isolab)

Deney Tüpleri (Isolab)

Cam şişeler (Isolab)

Balon jojeler (Isolab)

Cam mezürler (Isolab)

Beherler (Isolab)

5 cc' lik enjektörler

0,22 µm' lik şırınga filtreleri (Corning)

3.1.2 Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Sodyum asetat 3-hidrat (Emsure, 106267)

Glasiyal asetik asit (Emsure, 100063)

Alfa-naftil disodyum fosfat tuzu (Sigma, N7000)

Nişasta

İyot tentürü (Biokan)

Süper absorban polimer (sodyum poliakrilat)

Diazonyum tuzu (Sigma, F7253)

3.2 Metot

Çalışma kapsamında asit fosfataz ve amilazı hızlı ve pratik şekilde tespit edebilen tanı kiti geliştirilmiştir. Geliştirilen tanı kitinin hassasiyet testleri ve zamana bağlı aktivite testi yapılmıştır. Çalışmanın etik izinleri İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan alınmıştır.

3.2.1 Jel Matriks Materyali

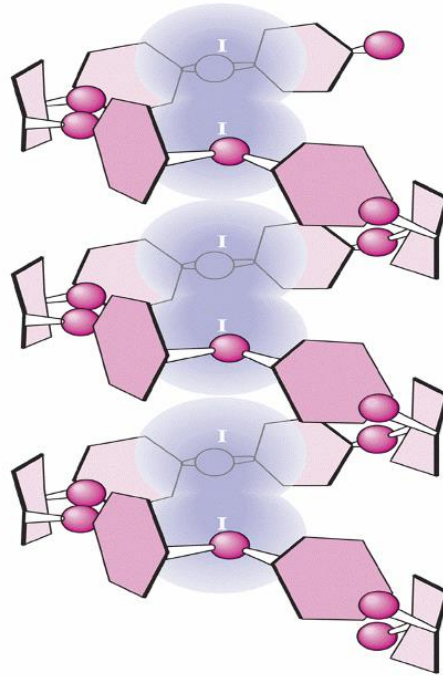
Tez çalışması kapsamında geliştirilen amilaz ve asit fosfataz tespit kitlerinin reaktif çözeltileri jel formda özel bir taşıyıcı matrise emdirilmiştir. Matriks olarak kullanılan ticari formdaki bu süper absorban polimerler satın alınarak kullanılmıştır. Matriks, süper absorban katı polimer granüllerden oluşmaktadır. Her iki tespit için gerekli reaksiyon çözeltileri polimere emdirilerek polimerin şişme davranışı ile jel oluşturularak, çözeltilerin bu jel matrikse hapsedilmesi sağlanmıştır. Böylece çalışması zor sıvı ortamdan, katı bir ortama geçilirken, çözeltilerin jel içerisinde hapsedilmesiyle hassasiyet artırılması hedeflenmiştir.

3.2.2 Amilaz Kitinin Geliştirilmesi

Tez çalışmasında amilaz varlığını gösteren hızlı tespit kiti geliştirilmesi için nişasta iyot testi tercih edilmiştir. Test için temelde iki çözelti gerekmektedir. İlk çözelti nişastanın sıcak suda hidrolize olup kısmen çözünmesiyle elde edilir. Amiloz ve amilopektinden oluşan nişastanın amiloz kısımları sıcak suda çözünmektedir. İkinci çözelti ise iyot

çözeltisidir. Direkt iyot kristallerinin suda çözünmesiyle veya iyot tentürü şeklinde de kullanılabilir. Tez çalışmasında iyot tentürü kullanılmıştır. İyot tentürü amiloz ile güçlü bir etkileşime girmekte ve oldukça koyu lacivert renk oluşturmaktadır. Bu nedenle seyreltilerek kullanılması gerekmektedir. Tez çalışmasında 1/100 seyreltme kullanılmıştır [98], [99], [100].

Amiloz spirallerinin arasına iyot molekülünün yerleşmesi ile bir kompleks oluşmaktadır (Şekil 3.1). Oluşan bu kompleks çözeltinin mavi renk meydana getirmektedir. Amiloz miktarına göre oluşan renk koyu mavi-lacivertten açık maviye kadar olabilmektedir. [41], [46].



Şekil 3.1 Amiloz spiraline iyot yerleşmesi ile oluşan mavi renk

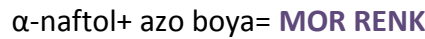
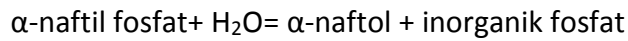
Amilaz nişastanın hidroliziyle görevli tükürükte bulunan bir enzimdir [3]. Nişasta amilaz tarafından hidroliz edildiğinde iyot, içine yerleşebileceği bir amiloz spirali bulamamaktadır. Dolayısıyla amilaz varlığında iyot muamelesi ile mavi renk oluşturmamakta, çözelti renksiz kalmaktadır.

Tez çalışmasında temel iki çözeltilerden biri olan nişasta çözeltisi taşıyıcı matrikse emdirilerek hassasiyet arttırılması hedeflenmiştir. Kit üzerinde bir bölüm kontrol ve bir bölüm numune testi için olmak üzere iki bölüm amilaz testine ayrılmıştır. Tükürük olması muhtemel bölgeden elde edilen örneğin numune kısmına, saf suyun kontrol

kısmına damlatılmasının ardından birkaç dakika enzimin nişastayı hidroliz etmesi beklenmektedir. Ardından hazırlanan iyot çözeltisinin her iki bölüme damlatılması ile analiz tamamlanmış olmaktadır. Şüpheli örnekte tükürük, dolayısıyla amilaz var ise numune bölümündeki matriks renksiz olurken, kontrol bölümündeki matriks mavi renk alacaktır.

3.2.3 Asit Fosfataz Kitinin Geliştirilmesi

Tez çalışmasında asit fosfataz varlığını gösteren hızlı tespit kiti geliştirilmesi için kolorimetrik bir yöntem tercih edilmiştir. Tespit kitinin çalışma şekli hazırlanacak kimyasal çözeltinin asit fosfataz tarafından hidrolize edilerek renk değişikliğine yol açması prensibine dayanmaktadır. Reaksiyon çözelti 1 litre deiyonize suda 20 gr sodyum asetat 3-hidrat çözülerek, 5 ml glasiyal asetik asit, 1 gr alfa-naftil disodyum fosfat tuzu ve 2 gr diazonyum tuzu eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltinin bir taşıyıcı jel matrikse emdirilerek hassasiyetin artırılması hedeflenmiştir. Matriks üzerine uygulanan örneklemede asit fosfataz varlığı mevcut ise naftil fosfat enzim ile hidrolize olacak ve alfa-naftol bileşiği meydana gelecek, oluşan alfa-naftol diazonyum tuzu ile birleşerek mor azo boya rengi oluşturacaktır [62], [100]. Hidroliz ile oluşan renk enzim aktivitesiyle orantılı olmaktadır.



Yöntem sayesinde dakikalar içerisinde, ek bir donanım gerektirmeksizin özel matrikse emdirilmiş çözeltinin renk değiştirmesi sayesinde asit fosfatazın varlığı ve dolayısıyla semenin varlığı tespit edilebilecektir.

3.2.4 Amilaz Kitinin Hassasiyet Testi

Amilaz kitinin hassasiyet tespiti için amilaza duyarlı nişasta içerikli özel kit matriksi 11 adet 1,5 ml' lik mikrosantrifüj tüpünün içine doldurulmuştur. Ayrıca kit formunda 11 kuyucuk bu matriksle hazırlanmıştır. 11 mikrotüp ve kuyucuk aşağıdaki seyreltme oranları ile seyreltilen tükürük numunelerine maruz bırakılmıştır (Çizelge 3.1). Birkaç dakika bekleme süresinin ardından seyreltilmiş iyot tentürü ile muamele edilmiştir.

Çizelge 3.1 Tükürük numunelerinin seyreltilme oranları

No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Seyreltme oranı	1/100	1/200	1/300	1/400	1/500	1/600	1/700	1/800	1/900	1/1000	Kontrol Saf su

3.2.5 Asit Fosfataz Kitinin Hassasiyet Testi

Asit fosfataz kitinin hassasiyet tespiti için asit fosfataza duyarlı özel kit matriksi 10 adet 1,5 ml 'lik mikrosantrifüj tüpünün içine doldurulmuştur. Ayrıca kit formunda 10 kuyucuk bu matriksle hazırlanmıştır. 10 mikrotüp ve kuyucuğa aşağıdaki seyreltme oranları ile seyreltilen semen numuneleri ile muamele edilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Semen numunelerinin seyreltilme oranları

No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Seyreltme oranı	1/10000	1/20000	1/30000	1/40000	1/50000	1/60000	1/70000	1/80000	1/90000	1/100000

3.2.6 Zamana Bağlı Aktivite Testi

Literatürde cinsel saldırılarda delil niteliğinde olan biyolojik materyallerin saldırı anından itibaren 72 saat sonrasına kadar izlenebilmesini konu alan çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda 0, 1, 2, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72. saatlerde biyolojik materyaldeki bozulmalar incelenmiştir [38]. Sunulan tez çalışmasında geliştirilen amilaz ve asit fosfataz kitinin tükürük ve semen örneklerinde bu sürelerde etkinliği test edilmiştir.

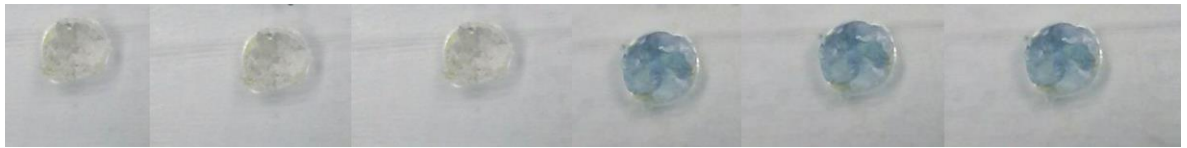
- 5 mm² olarak kesilen pamuklu kumaşlara amilaz test grubu için 10 µl hacminde tükürük örneği, asit fosfataz test grubu için ise 10 µl hacminde semen örneği damlatılmıştır [98].
- Kumaş örnekleri temiz bir yerde açık havada kurumaya bırakılmıştır.
- Tükürük içerikli kumaş örneklerinden biri saf su bulunan deney tüpüne alınıp iyice karıştırılmıştır.
- Damlalık yardımı ile kitin A bölümüne bir damla damlatılmıştır.

- Kitin K bölümüne bir damla saf su damlatılmıştır.
- 2-3 dk beklenmiştir.
- İyot çözeltisinden A ve K bölümlerine birer damla damlatılmıştır.
- Semen içerikli kumaş örneklerinden biri saf su bulunan deney tüpüne alınıp iyice karıştırılmıştır.
- Kitin AP bölümüne bir damla damlatılmıştır.
- 1, 2, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60, 72. saatlerde de aynı işlemler uygulanarak sonuçlar fotoğraflanmıştır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 Amilaz Kitinin Geliştirilmesi

Amilaz kitinin geliştirilmesi için klasik kolorimetrik nişasta iyot testi modifiye edilmiş ve matriksle desteklenmiştir. Nişasta çözeltisi matrikse hapsedilmiştir. Örneklerin nişasta içeriğinin üzerine damlatılmasıyla tükürük amilazı matriks içine nüfuz ederek nişasta moleküllerini parçalamaya başlamıştır. Birkaç dakika içerisinde nişastanın hidrolizi gerçekleşmiştir. Ardından iyot boyaması ile sonuçlar izlenmiştir. Sadece saf su damlatılan matrikste (b) amiloz-iyot kompleksinden kaynaklanan mavi renk oluşurken tükürükle muamele edilen bölgede (a) hiçbir renk oluşumu görülmemiştir (Şekil 4.1).



A

b

Şekil 4.1 Amilaz tespiti

4.2 Asit Fosfataz Kitinin Geliştirilmesi

Asit fosfataz tespiti için alfa naftil fosfat substratının kullanılması ve diazonyum boyamasıyla renk farkı görüntülenmesini içeren kolorimetrik yöntem kullanılmıştır. Reaksiyon çözeltisinin hapsedildiği jel matriks örnek uygulaması ile örnekteki asit fosfatazları da içerisine çekerek matriks içerisinde reaksiyonun gerçekleşmesine olanak

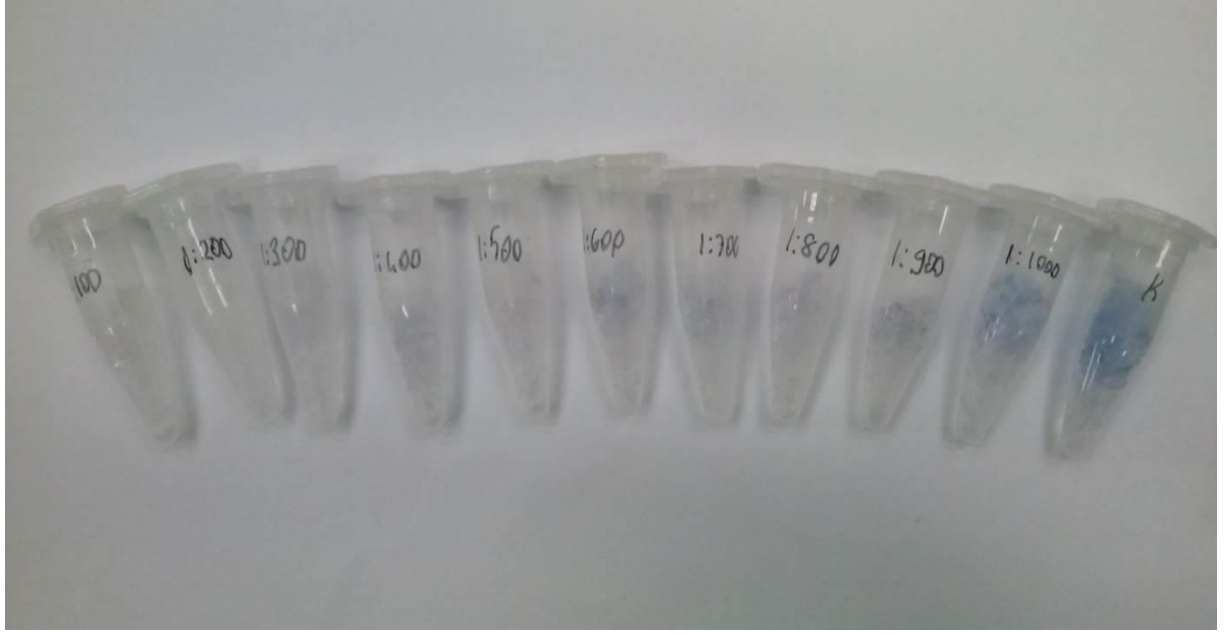
sağlamıştır. Böylece jel içerisinde oluşan renk farklılığı gözlenebilmiştir. Şekil 4.2’de a kısmında ilk aşamada reaksiyon çözeltisinin emdirildiği kuyucuklarda matriks sarı-turuncu renk almaktadır. b kısmında ise örnek uygulamasından sonra koyu mor renk oluşması görülmektedir.



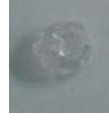
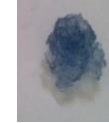
Şekil 4.2 Asit fosfataz tespiti

4.3 Amilaz Kitinin Hassasiyet Testleri

Amilaz kitinin hassasiyetinin tespiti için 1/100 artışlarla 1/1000 seyreltme oranına kadar analiz yapılmıştır. Jel matriks ile doldurulmuş mikrosantrifüj tüpü ve kit formu olmak üzere iki farklı şekilde uygulama yapılmıştır. Şekil 4.3’te mikrotüplerde gerçekleştirilen hassasiyet test sonuçları görülmektedir. Şekil 4.4’de ise kit formunda oluşturulan jel matriks kuyucuklarına yapılan örnekleme sonuçları verilmiştir. Şekillerde görüldüğü üzere 1/900 seyreltme oranına kadar şeffaflık muhafaza edilebilmiş ve amilaz örnekleri tespit edilebilmiştir. Geliştirilen yöntem için amilaz tespiti hassasiyet limiti 1/900 oranında seyreltme olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.3 Mikrotüplerde gerçekleştirilen amilaz hassasiyet testi

1/600	1/700	1/800	1/900	1/1000	Kontrol
					

Şekil 4.4 Kit kuyucuklarında gerçekleştirilen amilaz hassasiyet testi

4.4 Asit Fosfataz Kitinin Hassasiyet Testleri

Asit fosfataz tespitinin en önemli dezavantajı olan hassasiyet düşüklüğünün giderilip hassasiyet arttırmak amacıyla yapılan matriks uygulamasının testinde semen örnekleri 1/100.000 seyreltmelere kadar seyreltilip test edilmiştir. Şekil 4.5'te mikrotüplerde gerçekleştirilen hassasiyet test sonuçları görülmektedir. 1/40.000 seyreltme oranına kadar koyu mor tonunda hiçbir fark gözlenmediğinden dolayı şekil 1/40.000, 1/50.000, 1/60.000, 1/70.000 ve kontrol (örnekleme yapılmayan) tüpünü kapsamaktadır. Şekil 4.6'da ise kit formunda oluşturulan jel matriks kuyucuklarına yapılan örnekleme sonuçları verilmiştir. Şekillerde görüldüğü üzere geliştirilen yöntem için hassasiyet limiti 1/70.000 oranında seyreltme olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5 Mikrotüplerde gerçekleştirilen asit fosfataz hassasiyet testi

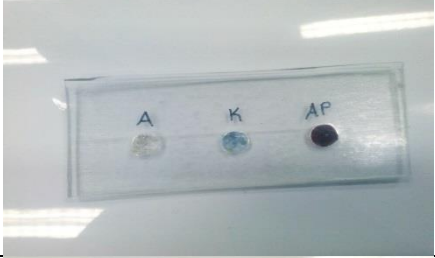
1/50.000	1/60.000	1/70.000	1/80.000	1/90.000	1/100.000

Şekil 4.6 Kit kuyucuklarında asit fosfataz hassasiyet testi

4.5 Zamana Bağlı Aktivite Testi

Enzimler bulunduğu şartlara ve zamana bağlı olarak aktivite kaybedebilen protein yapılarıdır. Bu nedenle enzimler biyomarker olarak kullanıldığında örnek toplama ve analiz etme süresi minimum tutulmalıdır. Asit fosfataz semen, amilaz tükürük için tespitinde pratik olarak kullanılabilirken enzim yapılarından kaynaklı olarak zamana bağlı aktivite kayıpları olabilmektedir. Tez çalışması kapsamında geliştirilen kitin özellikle semen ve tükürük tespitinde önem taşıyan 0-72. saatlerde kaybolan aktiviteye rağmen dedeksiyon kabiliyeti test edilmiştir. Tüm analiz saatlerinde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de görülmektedir. 72. saatte yapılan analizde neredeyse 0. saate yakın bir sonuç alınmıştır.

Çizelge 4.1 Zamana bağlı aktivite testi sonuçları

Saatler	Sonuçlar
0	
1	
2	
6	
12	
18	

Çizelge 4.1 Zamana bağlı aktivite testi sonuçları (devamı)

24	
36	
48	
60	
72	

4.6 Öneriler

CS hem dünyada hem de ülkemizde hızlı artış gösteren, mağdurun tüm hayatını etkileyen, ağır travmalara yol açan bir durumdur. Sadece mağdurun ve ailesinin değil tüm toplumun vicdanını yaralayarak toplumsal tepkilere yol açan suçlardan olup bireyin özerkliğine ve saygınlığına yönelik yapılmış ciddi bir saldırıdır. Özellikle faillerin bulunamaması veya özellikle delil yetersizliği gibi nedenlerle suçun cezasız kaldığı durumlarda caydırıcılık sağlanamamakta, mağdurda ve toplumda adalet duygusu sarsılmaktadır.

Delil yetersizliğinin önüne geçme konusunda biyolojik deliller büyük önem taşımaktadır. Suç duyurusunun ardından mağdur bedeninde ve olay yerinde semen ve tükürük örneğinin tespiti olayın varlığını destekler nitelikte bir delil olup daha soruşturmanın başından adaletin tesisine katkı sağlamaktadır.

Biyolojik numuneler ve onların tespitinde kullanılan özellikle protein yapılı biyomarkerlar zaman içerisinde bozunmalara uğrayabilmektedir. Bu nedenle CS vakalarında toplanılan örneklerde en kısa zamanda aktivite kaybı en aza indirilerek analiz yapılması gerekmektedir.

Soruşturmanın başında ve biyolojik örnekler bozunmadan analiz yapılmanın en pratik yolu tanı kitleridir. Kolayca taşınabilmesi sayesinde olay yerine götürölerek yerinde analize imkân sağlamaktadır. Ayrıca altyapı gerektirmemesi, kullanım kolaylığı ile alanında uzmanlaşmış personele ihtiyaç duymaması sayesinde muayene aşamasında sağlık merkezinde de kullanılabilmektedir.

Tez kapsamında geliştirilen biyokimyasal kalorimetrik amilaz ve asit fosfataz tespit kitinin hızlı ve kolay yorumlanabilir sonuçlar verebilme özelliği sayesinde daha soruşturmanın başından itibaren sağlıklı yorumlar yapılabilmesi mümkün olacaktır. Muayene sırasında semen ve tükürük varlığını gösteren hızlı test kitinin kullanılmasının hızlı bir biçimde sonuçların raporlanabilmesini ve adaletin kısa sürede tecelli etmesine katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

Tez çalışmasında semen tespiti asit fosfataz, tükürük tespiti için ise amilaz enzimlerinden biyomarker olarak yararlanılmıştır. Her iki enzimin tespiti için kullanılan reaktif çözeltiler hassasiyetin arttırılması amacıyla özel bir jel matrikse hapsedilmiştir. Reaktiflerin matrikse emdirilmesiyle aşağıdaki avantajlar elde edilmiştir:

- Sıvı çözeltili formu kit kullanıcı açısından zorluk oluşturmaktadır. Jel matriks destek ortamı ise daha katı bir form olması nedeniyle pratiklik sağlamaktadır.
- Jel içerisindeki çözeltilerin oksijenle teması azaltılmıştır.
- Bozulma etkenleri ile temasının azaltılması ile kolay muhafaza sağlanmıştır.
- Jel içerisindeki çözeltilerin buharlaşma ile çözücülerinde meydana gelebilecek kayıplar azaltılmıştır.

- Hassasiyet testleri sonucunda hassasiyet artışı sağlanmıştır.
- Zamanla enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen kayıplara rağmen tespit sağlanabilmiştir.

Tez çalışmasının en büyük amaçları asit fosfataz ve amilaz tespitinin hassasiyetlerinin artırılmasıdır. Literatür verilerine bakıldığında asit fosfataz tespiti için test çalışmasında kullanılan reaktif ile analizde, 1/1000 seyreltme oranında ancak dakikalarca beklenildiği takdirde renk değişimi görülebildiği söylenmektedir [62]. Tez çalışmasında geliştirilen matriks destekli yöntem ile 1/70.000 seyreltme oranında bile kısa sürede gözle görülen renk değişimi tespit edilmiştir.

Amilaz tespitinde ise yapılan bir çalışmada nişasta iyot testi ile maksimum 1/50 oranında seyreltmelere kadar tespit sağlanabilmiştir. Aynı çalışmada en hassas yöntem olan Phadebas reaktifi ancak 1/100 hassasiyete kadar dedeksiyon yapabilmiştir [98]. Tez çalışmasında klasik nişasta iyot testinin özel matriksle desteklenmesiyle 1/900 seyreltme oranına kadar gözle görünür sonuç alınabilmiştir.

Zamana bağlı olarak enzimlerde yaşanan aktivite kayıplarına göre yapılan analizlerde 72. saatte dahi neredeyse ilk anda yapılan analizlerdeki kadar renk farkı gözlenmiştir. Deri üzerinden elde edilen tükürük örneklerinde yapılan bir çalışmada amilaz aktivitesi özellikle ilk saatte hızla düşerek 72. saat sonunda yok denecek kadar azalmıştır [85]. Tez çalışmasında azalan bu aktiviteye rağmen tespitin sağlanmasıyla biyolojik numunelerin olayın sonrasında da etkili kanıt olabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Burtis C.A. ve Ashwood E.R., (1994). Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, WB Saunders Company, Philadelphia.
- [2] Tietz N.W., (2008). Fundamentals of Clinical Chemistry, Sixth Edition, Saunders Elsevier, Saint Louis.
- [3] Sarıkaya E., Higasa T., Adachi M. ve Mikami B., (2000). "Comparison of degradation abilities of α - and β -amylases on raw starch granules", Process Biochemistry, 35: 711-715.
- [4] Crabb W.D. ve Mitchinson C., (1997). "Enzymes involved in the processing of starch to sugars", Trends Biotechnology, 15:349-352.
- [5] Maldonado H.G. ve Lopez O. P., (1995). "Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review", Food Science and Nutrition, 35:373-403.
- [6] Windish W.W. ve Mhatra N.S., (1965). "Microbial amylase", Adventure Applied Microbial., 7:273-304.
- [7] Palmer T., (1998). Enzim Bilgisi, ikinci Baskı, Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı Basım ve Ciltevi, İstanbul.
- [8] Akgün N., (1988). Fizyoloji, Sekizinci Baskı, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, İzmir.
- [9] Kaya N., (1990). Biyokimya, Birinci Baskı, Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum.
- [10] Hoşrik V.E. ve Atalay A. (1983). "Alfa Amilaz Enziminin Bacillus Subtilis' ten Saflaştırılması ve Kinetik Özellikleri", Biyokimya Dergisi, 8: 32.
- [11] Henry J.B., (1996). Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Ninth Edition. WB Saunders Company, Philadelphia.
- [12] Gürlen V.S., (2005). Tükürüğün Biyokimyası, İşlevleri ve Ağız Sağlığı Açısından Önemi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD., İzmir.
- [13] Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tükürük Bezleri, <http://kbb.uludag.edu.tr/HB-tukurukbez.htm>, 20 Nisan 2015.
- [14] Larman M., (1985). "Simple Test for Caries Susceptibility", Int. Dent. J., 35(2), 109-117.

- [15] Avery J.K., (2001). Development, Structure and function of Salivary Glands in Oral development and Histology, Third Editon, Thieme, New York.
- [16] Levine R.S., (1989). "The Nature of Saliva", Dental Update, 1989:3-6.
- [17] Chicharro J.L., Lucia A., Perez M., Vaquero AF. ve Urena R., (1998). "Saliva Composition and Exercise", Sports Medicine, 26:17-27.
- [18] Walsh N.P., Laing S.J., Oliver S.J., Montague J.C., Walters R. ve Bilzon J.L.J., (2004). "Saliva Parameters as Potential Indices of Hydration Status During Acute Dehydration", Medical Science Sports Exercise, 1535-1542.
- [19] Aps J.K.M. ve Martens L.C., (2005). "The Physiology of Saliva and Transfer of Drugs Into Saliva", Forensic Science International, 150:119-31.
- [20] Messenger B., Clifford M.N. ve Morgan L.M., (2003). "Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide and Insulin-Like Immunoreactivity Following Sham-Fed and Swallowed Meals, Journal of Endocrinology, 177:407-12.
- [21] Şengün A., (1997). Sakız Çiğnemenin Bakteri Plağı pH'sı Tükürük Akış Hızı, pH'sı, Tamponlama Kapasitesi Ca, PO₄ ve Total Protein Konsantrasyonlarına Etkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- [22] Booth R.E., Johnson J.P. ve Stockand J.D., (2002). "Aldosterone", Advanced in Physiology Education, 26:8–20.
- [23] Grant D.A., Stern I.B. ve Listgarten M.A., (1988). Saliva in Periodontics in The Tradition of Gottlieb and Orban, Sixth Edition, The CV Mosby Company, Saint Louis.
- [24] Carranza FA., (1990). Glickman's Clinical Periodontology, Seventh Edition, WB. Saunders Company, Philadelphia.
- [25] Edgar W.M., (1992). "Saliva: its Secration, Composition and Fonction", British Dental Journal, 172:305-312.
- [26] Lagerlöf F. ve Oliveby A., (1994). "Caries- Protective Factors in Saliva", Advanced Dental. Research, 8:229-238.
- [27] Edgar W.M. ve O'Muallane D.M., (1990). Saliva and Dental Health, First Edition, Latimer Trend Company Ltd., Plymouth.
- [28] Chiappin S., Antonelli G., Gatti R. ve Elio F.D.P., (2007). "Saliva specimen: A New Laboratory Tool for Diagnostic and Basic Investigation", Clinica Chimica Acta., 383:30–40.
- [29] Jensdottir T., Nauntofte B., Buchwald C. ve Bardow A., (2005). "Effects of Sucking Acidic Candy on Whole-Mouth Saliva Composition", Caries Research, 39: 468–74.
- [30] Kalk W.W., Vissink A., Stegenga B., Bootsma H., Nieuw A.A.V. ve Kallenberg C.G., (2002). "Sialometry and Sialochemistry: A Non-Invasive Approach for Diagnosing Sjogren's Syndrome", Annals of Rheumatic Diseases, 61:137-44.

- [31] Hu S., Denny P., Denny P., Xie Y., Loo J.A., Wolinsky L.E, Li Y., McBride J., Ogorzalek L.R.R, Navazesh M ve Wong D.T., (2004). "Differentially Expressed Protein Markers In Human Submandibular And Sublingual Secretions", *International Journal of Oncology*, 25:1423–30.
- [32] Kennedy B., Dillon E., Mills P.J. ve Ziegler MG., (2001). "Catecholamines in Human Saliva", *Life Science*, 69:87–99.
- [33] Van Nieuw A.A.V., Bolscher J.G. ve Veerman E.C.I., (2004). "Salivary Proteins: Protective And Diagnostic Value in Cariology", *Caries Research*, 38:247–53.
- [34] Sönmezoğlu M., Baysal B., Ergen A. ve Barut S.G., (2005). "Detection and Evaluation of Salivary Antibodies to Helicobacter Pylori in Dyspeptic Patients", *Int. J. Clin. Pract.*, 59:433–6.
- [35] Huang C.M., (2004). "Comparative Proteomic Analysis of Human Whole Saliva", *Arch. Oral Biol.*, 49:951–62.
- [36] Edgar W.M., (1990). "Saliva and Dental Health. Clinical Implications of Saliva: Report of a Consensus Meeting", *Br. Dent. J.*, 169:96-98.
- [37] Tabak L.A., (2001). "A Revolution in Biomedical Assessment: The Development of Salivary Diagnostics", *J. Dent. Educ.*, 65:1335–9.
- [38] Gunay Y., Yavuz M., Fatih Y.M., Mahmut A. ve Sunay Y.M., (2003). "Tükürük Kalıntılarından Cilt Sürüntü Yöntemi ile Amilaz Tespiti", *Adli Tıp Dergisi*, 17:1-10.
- [39] Antranikian G., (1992). *Microbial degradation of natural products*, First Edition, VCH publishing, Weinheim.
- [40] Rüdiger A., Sunna A. ve Antranikian G., (1994) "Enzymes from extreme thermophilic and hyperthermophilic archaea and bacteria", *Carbohydrases*, 946-961.
- [41] Swinkels J.J.M., (1985). "Composition and properties of commercial native starches", *Starch*, 37:1-5.
- [42] Yenson M., (1981). *İnsan Biyokimyası*, Birinci baskı, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul.
- [43] Lehninger A.L., (1982). *Principles of Biochemistry*; First printing, Worth Publisher, New York.
- [44] Bailey J.E. ve Ollis D.F., (1977). *Biochemical Engineering Fundamentals*, International Student Edition, McGraw Hill Kogakusha, Ltd., Tokyo.
- [45] Menevşe A. ve Menevşe S., (1982). *Temel Biyokimya*, Birinci baskı, A.İ.T.İ.A., Ankara.
- [46] Bağdatlıoğlu N., Gıda Kimyası-II Oligo ve Polisakkaritler, <http://www2.bayar.edu.tr/muhendislik/gida/docs/databank/oligove%20polisakkaritler.pdf>, 20 Nisan 2015.
- [47] Bergmeyer H.U., (1974). *Methoden Der Enzymatischen Analyse*, First Edition, Verlag Chemie, Weinheim.

- [48] Gökhan İ.H., (1977). "Sıçan Böbrek ve Karaciğer Alkali Fosfataz Üzerine Metil ve Etil Parationun Tesirleri", Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 30:23-24.
- [49] Tietz N.W., (1986). Textbook of Clinical Chemistry, First Edition, WB Saunders Company, Philadelphia.
- [50] Barman T.E., (1969). Enzyme Handbook, Vol 2, First Edition, Springer-Verlag, Berlin.
- [51] Calbreath D.F., (1992). Clinical Chemistry: A Fundamental Textbook, First Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- [52] Gundlach G. ve Luttermann-Semmer E., (1987). "The Effect of pH and Temperature on the Stability and Enzymatic Activity of Prostatic Acid Phosphatase. Studies on the Optimization of a Continuous Monitored Determination of Acid Phosphatase", Journal of Clinical Biochemistry, 25(7): 441-446.
- [53] Vincent J.B., Crowder M.W. ve Averill B.A., (1991). "Spectroscopic and Kinetics Studies of a High-Salt-Stabilized form of the Purple Acid Phosphatase from Bovine Spleen", Biochemistry, 30:3025-3034.
- [54] Curtius H.C. ve Roth M., (1974). Clinical Biochemistry: Principles and Methods, Vol. II., First Edition, Walter de Gruyter, Berlin.
- [55] Richterich R. ve Colombo J.P., (1978). Klinische Chemie: Theorie, Praxis, Interpretation, Fourth Edition, S. Karger, Basel.
- [56] Hollander V.P., (1971). Acid Phosphatase: In Bayer P.D. The Enzymes, Vol:IV , Third Edition, Academic Press, New York.
- [57] Solak H.F. ve Küpeli Ş., (1991). "Erkek İnfertilitesinde Seminal Asit Fosfatazın Önemi", A.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası, 44(2): 11-24.
- [58] Öztürk S., (1993). Sığır Dalak Asit Fosfatazının Kısmen Saflaştırılması, Fizikokimyasal ve Kinetik Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [59] Huben R.P., (1989). "Early Detection of Prostate Cancer", Seminars in Surgical Oncology, 5:201-204.
- [60] Siddal J.K., Cooper E.H., Newling D.W.W., Robinson M.R.G. ve Whelan P., (1986). "An evaluation of the Immunochemical Measurement of Prostatic Acid Phosphatase and Prostatic Specific Antigen in Carcinoma of the Prostate", European Urology, 12:123,130.
- [61] Webb J.L., (1966). Enzyme and Metabolic Inhibitors, Vol:II. First Edition, Academic Press, New York.
- [62] Redhead P. ve Brown M.K., (2013). "The Acid Phosphatase Test Two Minute Cut-Off: An Insufficient Time to Detect Some Semen Stains", Science and Justice, 53:187–191.

- [63] Gölge Z.B., Yavuz M.F. ve Başkan T.M., (2000). "Hukukçuların ve polislerin ırza geçme ile ilgili ceza sistemine bakış açılarının değerlendirilmesi", Adli Tıp Bülteni, 5 (1): 5-11.
- [64] Lehman D., (1991). Sexual Assault In Pernoll, ML. Current Obstetrics and Gynecologic Diagnosis and Treatment, Seventh Edition, Prentice Hall International, New Jersey.
- [65] Polat O., Topaloğlu Ş. ve Kesim N.Z., (1994). "Irza Geçme ve Irza Tasaddi Suçlarında Psiko-sosyal Faktörlerin Araştırılması", Adana 1. Adli Bilimler Kongresi, 12-15 Nisan 1994, 388-390.
- [66] Yılmaz Z., (2005). Anayasa TCK-CMK İnfaz Kanunu, Birinci Baskı, Seçkin Yayınevi, Ankara .
- [67] Symes L., (2011). "Abuse across the lifespan: prevalence, risk, and protective factors", Nurs. Clin. North Amer. 46(4):391-411.
- [68] Troiano M., (2011). "Child abuse", Nurs. Clin. North Amer., 46(4):413-22.
- [69] Demirci Ş., Doğan K.H., Erkol Z. ve Deniz İ., (2008). "Konya'da Cinsel İstismar Yönünden Muayenesi Yapılan Çocuk Olguların Değerlendirilmesi", Türkiye Klinikleri J. Foren. Med., 5, 43-49.
- [70] Eckert L.O., Sugar N. ve Fine D., (2004). "Factors impacting injury documentation after sexual assault: role of examiner experience and gender", Amer. J. Obstet. Gynecol., 190(6):1739-43.
- [71] Özdemir B. ve Celbis O., (2012). "Cinsel Saldırıya Uğramış Çocukta Erken ve Geç Muayene Bulgularının Değerlendirilmesi", Medicine Science, 1(1):55-64.
- [72] Finkelhor D., (1994). "The international epidemiology of child sexual abuse", Child Abuse Negl., 18: 409-17.
- [73] Finkelhor D., (1994). "Current information on the scope and nature of child sexual abuse", Future Child., 4: 31-53.
- [74] Gould F., Clarke J., Heim C., Harvey P.D., Majer M. ve Nemeroff C.B., (2012). "The effects of child abuse and neglect on cognitive functioning in adulthood", J. Psychiatr. Res., 45(4):500-506.
- [75] Christian C.W., (2011). "Timing of the medical examination", J. Child Sex Abuse, 20(5):505-20.
- [76] Black M.C., Basile K.C., Breiding M.J., Smith S.G., Walters M.L., Merrick M.T. ve Stevens M.R., (2011), The National Intimate Partner and Sexual Violence Survey: 2010 summary report.
http://www.cdc.gov/ViolencePrevention/pdf/NISVS_Report2010-a.pdf, 13 Mayıs 2015.
- [77] R Rennison C.A., (2002), Rape and sexual assault: Reporting to police and medical attention 1992-2000,
<http://bjs.ojp.usdoj.gov/content/pub/pdf/rsarp00.pdf>, 13 Mayıs 2015.

- [78] United Nations General Assembly, "In-depth Study on All Forms of Violence against Women: Report of the Secretary-General" http://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/61/122/Add.1, 13 Mayıs 2015.
- [79] Global Status Report on Violence Prevention 2014, http://www.unodc.org/documents/justice-and-prison-reform/crimeprevention/9789241564793_eng.pdf, 13 Mayıs 2015.
- [80] Tintinalli J.E., Hoelzer M. ve Oak R., (1985). "Clinical Findings and Legal Resolution in Sexual Assault", Amer. Emerg. Med., 14(7): 447-53.
- [81] Adalet Bakanlığı Adli Sicil ve İstatistik Genel Müdürlüğü, Adli İstatistikler 2012, http://www.adlisicil.adalet.gov.tr/istatistik_2012/Adalet_ist_2012.pdf, 13 Mayıs 2015.
- [82] Çekin N., Hilal A., Bilgin N., Alper B., Gülmen K.M., Savran B. ve Sarıca A.D., (1998), "Adana'da Ağır Ceza Mahkemesine Yansıyan Cinsel Suçların İncelenmesi", Adli Tıp Bülteni, 3(3): 81-5.
- [83] Erciyes Üniversitesi, ÇİTEM Referans Oldu, http://hastaneler.erciyes.edu.tr/orta_haber/citem/citem.htm, 13.05.2015.
- [84] Milli Eğitim Bakanlığı, Çocuk İstismarı Eğitimleri İle İlgili Sunumlar, http://mebk12.meb.gov.tr/meb_iys_dosyalar/23/01/144705/dosyalar/2015_02/24020826_m.zip?CHK=838e7edc7d8639a16f0267732eef340f, 13.05.2015.
- [85] Kılıççioğlu D.B., Beyaztaş F.Y., Aydın H. ve Aker A., (2005). "Sürüntü Yöntemiyle Deri Üzerindeki Tükürük Kalıntılarında Amilaz Enzim Aktivitesinin Tespiti", Journal of Forensic Medicine, 19(3): 23-28.
- [86] Seyaloğlu H.İ. ve Çetin G., (2007). "Semen Tespitinde Farklı Yöntemlerin Karşılaştırılması", Journal of Forensic Medicine, 21(3): 1-12.
- [87] Old J., Schweers B.A., Boonlayangoor P.W., Brian F.B, Miller K.W.P. ve Reich K., (2012). "Developmental Validation of RSIDTM-Semen: A Lateral Flow Immunochromatographic Strip Test for the Forensic Detection of Human Semen", J. Forensic Sci., March, Vol. 57, No. 2.
- [88] Yokota M., Mitani T., Tsujita H., Kobayashi T., Higuchi T., Akane A. ve Nasu M., (2001). "Evaluation of prostat specific antigen (PSA) membran test for forensic examination of semen", Legal Medicine, 3:171-176.
- [89] Schiff A.F., (1978). "Reliability of the Acid Phosphatase Test for the Identification of Seminal Fluid", J. Forensic Sci., 23:4.
- [90] Pang B.C.M. ve Cheung B.K.K., (2007). "Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen", Forensic Science International, 169:27-31.
- [91] Afşin H., (2001). "Adli Diş Hekimliğinde Isırık İzlerinin Analizi", Klinik Adli Tıp, 1(2): 31-45.
- [92] Kogon S.L. ve MacLean D.F., (1996). "Long-Term Validation Study Bitewing Dental Radiographs for Forensic Identification", J. Forensic Sci., 41(2): 230-2.

- [93] Naru A.S. ve Dykes E., (1996). "The Use of a Digital Imaging Technique to Aid Bite Mark Analysis", J. Forensic Sci. Soc., 36(1):47-50.
- [94] Po, R., "Water Absorbent Polymers: A Patent Survey", J.M.S-Rev. Macromol. Chem. Phys., 34(4), 604, 1994.
- [95] Hayrabolulu H., Şen M., (2010), Akrilik Asit Sodyum Tuzu/Galaktomannan Yarı İç İçe Girmiş Ağ Yapılarının Süper Emici Davranışı, 3. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresi ve Sergisi, 12 – 14 Mayıs 2010, Kocaeli, 208.
- [96] Özkahraman B., (2009), Sıcaklığa Duyarlı Kopolimerik Hidrojeller ile Sulardan Boyar Madde ve Ağır Metal Uzaklaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [97] Sivri Ç., (2008), "Süper Emici Malzemeler: Üretimi Ve Nonwoven Sektöründe Kullanımı", Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 1: 47-50.
- [98] Myers J.R. ve Adkins W.K., (2008). "Comparison of Modern Techniques for Saliva Screening", Journal of Forensic Sciences, 53(4):862–867.
- [99] Etcheberria E., Gonzalez P., Dawson W. ve Spann T., (2007), An Iodine-Based Starch Test to Assist in Selecting Leaves for HLB Testing, <http://ufdc.ufl.edu/IR00004230/00001>, 13 Mayıs 2015.
- [100] Laux D.L., (2011). "Development of biological standards for the quality assurance of presumptive testing reagents", Science and Justice, 51:143–145.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İlknur SARI
Doğum Tarihi ve Yeri : 18.08.1990 Bakırköy
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ilknursari@live.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2013
Lise	Sayısal	İhsan Mermerci Lisesi	2008

YAYINLARI

Bildiri

1. **İ. Sarı**, M. Cemek, M. Topuzoğulları, T. Kocaman, A. Hazini, S. Göneş, A. Önül, E. Karaman, H.B. Konuk. Asit fosfataz ve amilazın pratik tespiti. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, VII. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 28-30 Mayıs 2015, Samsun.
2. S. Göneş, M. Cemek, Z.Ö. Özdemir, T. Kocaman, A. Önül, D. Ortaç, **İ. Sarı**, H.B. Konuk, E Karaman. Fonksiyonel Özelliğe Sahip Jelatin Sentezi ve Karakterizasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, VII. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 28-30 Mayıs 2015, Samsun.
3. A. Hazini, M. Cemek, **İ. Sarı**, A. Onul, D. Onat, S. Alpdagtas, "Honey and propolis based wound dressing: A promising biomaterial for skin wound healing," International Symposium on Sustainable Development ISSD 2014. Biotechnology for Sustainable Development. Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. May 15-18, 2014.
4. Cemek M., A.Hazini, A. Onul, I. Isildak, D. Onat, **I. Sarı**, S. Alpdagtas, S. Gones, (2014). "Cardiac markers and ischemia modified albumin on acute myocardia infarction" International Symposium on Sustainable Development ISSD 2014, Biotechnology for Sustainable Development, May 15-18, 2014, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

Proje

1. İnsan Akciğer Kanserinde Nitrik Oksitin Tümör Gelişimi Üzerine Etkisi, Araştırmacı, KAP, 2013.

Burs

1. TÜBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı