

Tükürük Kalıntılarından Cilt Sürüntü Yöntemi İle Amilaz Tespiti

Msc. Günay YILDIZ*, Prof. Dr. M. Fatih YAVUZ**, Yrd. Doç. Dr. Mahmut AŞIRDİZER***
Yrd. Doç. Dr. M. Sunay YAVUZ****

* İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, Cerrahpaşa- İstanbul;

** İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü ve Adalet Bakanlığı Adli Tıp Kurumu Başkanlığı, Cerrahpaşa- İstanbul;

*** Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı, Manisa.

**** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanlığı, Isparta.

Özet

Günümüzde cinsel saldırı olgularının ve müessir fiillerin sayısında önemli bir artış bulunmaktadır. Bu tür saldırı olgularında, eylemin tanınmasında gerekli delillerin toplanması önem taşır. Bu çalışmada, saldırgan tarafından cilt üzerinde oluşturulmuş ısırık yaraları ya da aşk öpücüğü gibi lezyonlar çevresinde veya saldırı olayında karşı koyuşa bağlı olarak sanıkta oluşabilecek ısırık izleri etrafında ya da zorla oral seks iddiaları bulunduğu, tükürük kalıntılarının tespitinde kullanılabilecek amilaz tayinine ait kolorimetrik bir yöntem tanıtılmıştır. Çalışmada, cilt üzerinde oluşturulan ısırık ve aşk öpücüğü lezyonlarında 1-72, saatler arasında değişen sürelerde amilaz tayini yapılmış ve cilt üzerinde amilaz aktivitesinin 72 saate kadar kalabildiği saptanmıştır.

Kolorimetrik amilaz tespitinin, cinsel saldırılar, çocuk istismarı ve müessir fiillerde lezyonun ve eylemin tanınmasında kullanılabilecek ekonomik ve güvenilir bir yöntem olabilecek nitelikte olduğu görüşüne varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Amilaz tayini, tükürük, kolorimetrik yöntem, cinsel saldırı.

The Identification of Amylase Recovered

From Retains of Saliva by Dermal Swabbing

Summary

As there is a significant increase in sexual assault and physical violence cases, it has great importance to collect evidence to define the action. In this study, a colorimetric method for quantitative determination of amylase from saliva retains becoming as a result of bites, love kisses or forced oral penetration is presented. The analysis was performed on lesions of bite and love kiss on skin in varying periods ranging 1 to 72 hours. The method revealed that amylase can be quantitatively detected up to 72 nd hour after contamination. As a result, it is concluded that, colorimetric detection of amylase is a cheap and reliable method which can be used in defining the lesions and also the action in sexual assault and physical violence cases.

Key words: Amylase, saliva retains, colorimetric method, sexual assault

Giriş

Gerek etkili eylemlerde, gerekse cinsel suçlarda saldırgan tarafından cilt üzerinde oluşturulmuş ısırık veya aşk öpücüğü gibi lezyonlar veya bir cinsel saldırı olayında zorlamalar veya oral seks iddialarında söz konusu bölgelerdeki tükürük kalıntılarının tespiti olayın ortaya çıkartılmasını önemli ölçüde sağlayabilir.

Günümüzde gerek cinsel saldırı olgularının, gerekse etkili eylemlerin sayısında önemli bir artış bulunduğu belirtilmekte olup; ülkemizde cinsel suçlarla ilgili kesin istatistiklere ulaşılamamakla birlikte Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm şiddet suçlarının %5.5 ini cinsel saldırı suçlarının oluşturduğu bildirilmektedir (1-3).

Cinsel suçların bu kadar belirgin artışına karşın, yine Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir başka çalışmada, cinsel saldırı olaylarında faillerin yakalanma oranı %3.5 olduğu ve ancak cinsel saldırı merkezlerinin bulunduğu yerleşim alanlarında bu oranın %69 olarak gerçekleşebildiği kaydedilmiştir (4). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise cinsel suçlardan dolayı sanık konumundaki kişilerin %29.61'inin mahkemelerde delil elde edilemediği için beraat ettikleri belirtilmektedir (5).

Cinsel suçlarda sanığın yakalanabilmesi ve mahkeme aşamasında suçluluğunun kanıtlanabilmesi, cinsel suç mağdurlarının zamanında ve özenli olarak yapılacak muayeneleri ve yine mağdurun elbiseleri ve vücudundaki delillerin toplanması vazgeçilmez bir gerekliliktir.

Cinsel suça maruz kaldığı iddia edilen bir kişinin vücudunda belirlenebilecek en önemli delil, sperm ve seminal sıvı (semen) dir. Vaginal sıvıda spermatozoaların gösterimi ve semen saptanması ve yine semende genetik ve enzimatik tayinlerin sonucu olayın belirlenmesinde en değerli bulgulardan biridir ve bu yönde her geçen gün yeni bilgilere ulaşılabilmektedir (1,2,6,7).

Ancak cinsel saldırı mağdurunun üzerinde semen kalıntılarına rastlamak mümkün olamayabilir. Bu durumlarda saldırganın cilt üzerinde oluşturulmuş olabileceği ya da saldırıya uğrayan kişinin kendini savunma amaçlı olarak sanık üzerinde bırakacağı ısırık izlerinin direkt, radyolojik veya dijital şekillendirme metotları ile incelenmesi, delil tespitinde değerlidir. Yine, cinsel suçlarda, saldırgan tarafından cilt üzerinde oluşturulmuş ısırık yaraları ya da aşk öpücüğü gibi lezyonlar çevresinde veya cinsel saldırı olayında karşı koyuşa bağlı olarak sanıkta oluşabilecek ısırık izleri etrafında ya da oral seks iddiaları bulunduğu, tükürük kalıntılarının tespiti olayın aydınlatılmasını önemli ölçüde sağlayabilir (8-10).

Tükürük, renksiz, opak, yoğunluğu 1003-1009 olan, düşük salgılama oranlarında hipotonik, yüksek salgılanma oranlarında izotonik, viskozitesi 19-35 arasında, pH ı ortalama 6.4-6.9 arasında olan bir sıvıdır. Genel olarak %99.3-%99.7 si su,kalan kısmı organik (amilaz, mukus, maltaz, sodyum ve potasyum rodanür, glikoprotein, mukopolisakkarit) ve inorganik (sodyum, potasyum, kalsiyum, klor, bikarbonat, kalsiyum karbonat, sülfat, asit ve alkali fosfatlar, karbondioksit, oksijen, azot ve erimiş amonyak) maddelerden oluşur. Ek olarak, az miktarda genelde IgA olmak üzere globulin, submandibular bezin salgısında kan gruplarına ait faktörler, submandibular ve parotis bezleri salgılarında lizozim bulunur. Bukkal mukoza üzerinde yayılmış çok sayıda küçük bezler olmakla birlikte tükürük temel olarak üç çift bezden salgılanır. Parotis bunların en büyüğü olup seröz salgısında, müköz bezlerin dört katı kadar amilaz bulunur. Glandula submandibularis mikst tip olmasına karşın daha fazla seröz salgısı bulunan bir bezdir ve salgıladığı müsin D- glikozid bağlarıyla serin ya da treonin ile bağlanarak kan grubu faktörlerini oluşturur. Glandula sublingualis ise, müsin salgısı zengin mikst tür bir bezdir (11-14).

İnsanda tükürük salgılanması hem merkezi sinir sisteminin kontrolü ile hem de kondasyonel reflekslere bağlıdır. Daha doğrusu bu iki mekanizma bir arada çalışır ve günlük ortalama üretimi 600-1500 cc kadardır (12,14,15).

Tükürüğün içinde bulunan amilazlar, E.C. adlandırmasına göre, "hidrolazlar" grubunun "karbonhidratlar (glikozilazlar)" alt grubunun "polisakkaridazlar" alt grubuna ait, komşu glikoz rezidülerde lokalize olan 1 ve 4 nolu karbon atomları yoluyla birbirine bağlanan, α -D-glukoz birimlerinden oluşan, nişasta ve glikojen gibi karmaşık karbonhidratları parçalayan bir enzimdir. Başlıca iki tip amilaz tanımlanmış olup, ilki bir poliglukan zincirinin sadece terminal indirgeyen ucuna etki eden ve ekzoamilaz adı ile de anılan β -amilaz, ikincisi ise bir poliglukan zincirin herhangi bir yerinde α -1,4 bağlarına saldıran endoamilaz olarak da bilinen α -amilazdır. β -amilaz, hayvansal, bakterial veya bitkiselidir. α -amilaz ise, insan ve hayvan doku ve sıvılarında görülür. Ayrıca α -1,4 glucanomaltohydro-lase ve α -1,4 glucanoglucanohydrolase (γ -amilaz) da tanımlanmış olup, α -amilaz dışındakilerin klinik önemi bulunmamaktadır (16-18).

Diğer enzimlerde olduğu gibi α -amilazın da büyük bir kısmı protein yapılıdır (19).

Amilaz bir metallo enzim olup, enzimdeki metal iyonlarının varlığı NMR (Nükleer Manyetik Rezonans), ESR (Elektrik Spin Rezonans), PRH (Proton Relaksasyon Hızı) teknikleri ile incelenebilir (20).

α -Amilaz, aktivasyon için kalsiyum bağlayan ve mutlaka gereksinim duyan ekstrasellüler bir enzimdir. Özellikle klorür olmak üzere bromür, iyodür, nitrat, kolat, veya hidrojen fosfat gibi çeşitli anyonların varlığında da aktive olur (17,20).

İnsan plazmasında normal olarak görülen amilazlar, 6.9-7.0 optimum çalışma pH'ına sahip, molekül ağırlıkları 40 000-50 000 D, bazı kaynaklara göre ise 55 000-60 000 D olan, bu nedenle böbreklerden temizlenen tek protein ve glomerüllerden kolayca geçerek idrar ile önemli bir miktarı atılabilen tek plazma proteini olma özelliği bulunan küçük moleküllerdir (12,16,18,20).

Amilaz vücutta bir çok organ ve dokuda mevcut olup, en yüksek konsantrasyon pankreastadır. Pankreas α -amilaz (P tipi), pankreasın acinar hücreleri tarafından sentezlenir ve doudenuma salgılanır. Pankreas amilazı işlevini tamamladıktan sonra tripsin aktivitesi ile parçalanır ve çok az bir kısmı feçeste amilaz aktivitesi gösterir. Tükürük amilazı ise (S tipi), tükürük bezleri tarafından salgılanan, aynı zamanda terde, süt salgılayan meme bezlerinde, akciğerlerde, fallop tüpünde, karaciğerde bulunduğu ve bu organlarda sentezlenebileceği bildirilen, daha yüksek molekül ağırlıklı, sülfhidril içeren, nişasta ve glikojeni oligosakkaritlere parçalayan ve bu arada çok az maltoz ve glukoz üreten, optimal tesir pH'ı hemen hemen nötral (6.9) olup, 6.5-7 arasında değişen, midedeki hidroklorik asit ile parçalanmış bir enzimdir (12,16-18,21,22).

Normal bireylerde serum ve idrarda bulunan α -amilaz, baskın şekilde P tipi ve S tipi orijinlidir (16,17).

Multipl 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 (18).

Çizgili kaslardan, yağ dokusundan, gözyaşından, ovaryumdan semenden, testislerden, kolostrumdan ve süttten alınan ekstratlerde de zayıf olmakla birlikte amilaz aktivitesine rastlanılmıştır (16-18).

Nadiren bazı kişilerin serumunda makroamilazlar gözlenmiş olup, bunlar genellikle IgA, IgG, diğer normal veya anormal yüksek moleküler kitle plazma proteinleri ile normal tükürük amilazı arasında oluşmuş komplekslerdir. (16-18).

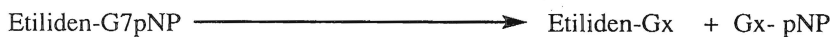
Çalışmamızda, tükürükte bulunan amilaz enziminin cilt üzerinde eser kalıntılarını belirleyebilmek için bu enzimle yönelik bir kit kullanılarak söz konusu lezyonlardaki tükürük amilazının varlığı süre ve lokalizasyon açısından değerlendirilmiştir. Lokal olarak kol, boyun ve penis bölgelerinde tükürük kalıntılarında amilazının varlığını ortaya koymak ve eylemden sonra cilt üzerinde kalabilme süresini belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızın ilk aşamasında 26 yaşında erkek gönüllü yer almış, ikinci aşamasında 7 erkek gönüllü çalışmaya katılmıştır.

İlk aşamada 26 yaşındaki gönüllüden cinsel saldırı veya zorlama vakalarında tükürük bulaşma ihtimali daha kuvvetli olan ön kol, boyun ve penis bölgelerinden önce temiz halde iken kontrol amaçlı ve daha sonra ise bu bölgelerin tükenmez kalem ile yuvarlak içine alınmasını takiben ağızdan direkt olarak alınan tükürük elie yayılıp sürülerek ve sürülme saati kaydedilerek 1- 2- 6- 12- 24- 36- 48- 60-72 nci saatlerde örnekleme yapıldı. Her deney birer hafta aralıkla üç kez tekrarlandı. Örnek alımında, örneklemenin hemen öncesinde üzerine bir kaç damla %0.9 NaCl (serum fizyolojik) damlatılmış ekivyonlar kullanıldı.

Çalışmada, tıbbi tahlil laboratuvarlarındaki rutin uygulamada, serum, heparinli plazma ve idrarda amilaz aranmasında kit reaktifinin direkt teması şeklinde kullanılan bir yöntem olan kolorimetrik metod ve belirli süreler sonunda tükürükteki amilaz enziminin varlığının tespiti amacıyla amilaz varlığını kantitatif olarak gösterebilen bir kolorimetrik metod kiti kullanılmıştır. Bu kitin çalışma prensibi aşağıda gösterilmiştir (23).





(G: Glukoz, pNP: Paranitrofenol, x: 2-5)

Alınan swablar kit prosedüründe belirtildiği en çok ilk 10 dakika içerisinde olmak üzere küçük boy deney tüpüne konulmuş 1 ml reaktif ile swab çubuğu deney tüpü içerisinde sağa-sola döndürülerek 10 saniye muamele edildi. Swab reaktif ile temas eder etmez kronometreye basıldı. 10 saniye sonunda swab yine sağa sola döndürülerek deney tüpü kenarına sıkıştırılıp çıkartıldı ve hemen deney tüpü içeriği 1 ml'lik cam küvete aktarıldı. Cam küvet yine en kısa zamanda önceden havaya karşı sıfırlanmış, 405 nm ve 37 °C a ayarlanmış ısı ayarlı spektrofotometreye konuldu. Kronometre takip edilerek birinci dakikada ilk delta ($\Delta 1$) absorbans değeri alındı. İkinci ve üçüncü dakikalarda da $\Delta 2$ ve $\Delta 3$ absorbans değerleri kaydedildi.

Kullandığımız kitte, α -amilaz enzimi ile parçalanıp 7 birimlik glukoz molekülünü keserek Gx- pNP ürününü oluşturan ve bu ürünü de α -glukozidaz enzimi ile glukoz ve pNP' ye dönüştüren p-nitrofenil-maltoheptaosit-etil:den substrat olarak kullanılmıştır.

Kantitatif değerler, kit prosedüründe belirtildiği üzere ΔA değeri hesaplanması ve bu değerinde kit prosedüründe belirtilen 4712 sabitiyle çarpımı ile elde edilmiştir.

Bu hesaplamada kullanılan formül;

$$\begin{aligned} |\Delta 1| - |\Delta 2| &= \Delta a & |\Delta 2| - |\Delta 3| &= \Delta b \\ \Delta A &= (\Delta a + \Delta b) / 2 & \text{SONUÇ} &= \Delta A * 4712 \text{ dir.} \end{aligned}$$

Çalışmamızın ilk aşamasında alınan örneklerin sonuçları arasında büyük farklılıklar olduğunun gözlenmesi üzerine, bu çalışma bir ön çalışma olarak değerlendirildi ve bu kez yaşları 25-32 arasında değişen 7 erkek gönüllü üzerinde daha yöntem kullanılarak sadece penil swablar ile çalışmaya devam edildi. Yine bölge temiz iken kontrol örnekleri alındı. Bu kez sodyum ve klor iyonlarının amilaz aktivitesini arttırdığı şeklindeki bilgiler ışığında sonuçların etkilendiğini düşünerek, ekivyonların üzerine NaCl yerine distile su damlatıldı (17,24). Bu aşamadaki ölçümler daha önceki aşamada yer alan gönüllü üzerinde 6- 12- 24- 48 ve 72 saatlerde, diğer gönüllülerde yeterli sayıda kit temin edilemediği için yalnızca 6 ncı ve 24 ncü saatlerdeki ölçüm değerleri saptanarak gerçekleştirildi.

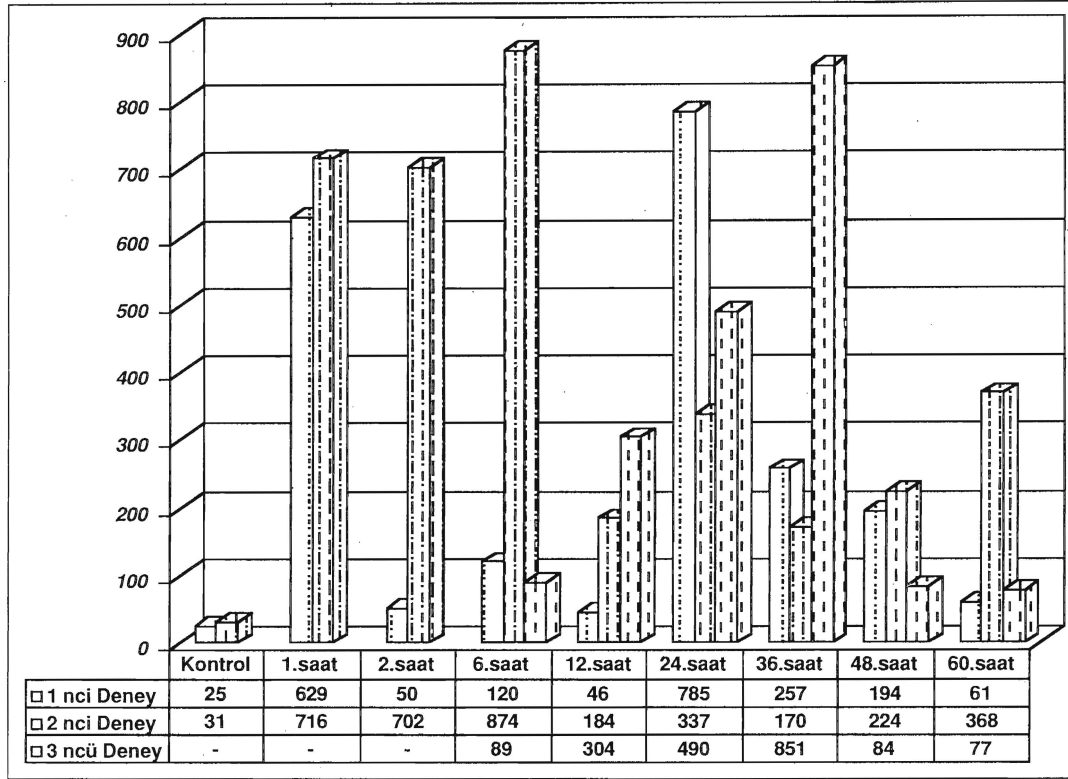
Çalışmanın istatistiksel hesaplaması x^2 yöntemi ile yapıldı.

Bulgular

Çalışmamızın ilk aşamasında, tek bir gönüllünün vücudunun ön kol, boyun ve penis bölgelerinden tükürük bulaştırılmadan önce (kontrol) ve tükürük bulaştırıldıktan sonraki 1nci- 2 ncı- 6 ncı- 12 ncı- 24 üncü- 36 ncı- 48 ncı ve 60 ncı saatlerinde ekivyona NaCl damlatılarak örnekler alınmıştır. Alınan örneklerin kolorimetrik metod kullanılarak belirlenen amilaz seviyeleri kontrol gruplarında önkol için 20 U/l, boyun için 28 U/l, penis için 22 U/l olarak belirlenmiş, 60 saate kadar yapılan diğer ölçümlere ait değerler Grafik-1, Grafik-2 ve Grafik-3'de gösterilmiştir. Ön kol, boyun ve penis bölgesinden alınan swablar arasında tükürüğün cilt üzerinde kalma süresi bakımından bir fark görülmemekle birlikte aynı saatlere ait yapılan farklı deney değerleri arasında belirgin farklılıklar olduğu izlenerek bir bias olduğu düşünülmüştür.

Bunun üzerine çalışmamızın ikinci aşamasında amilazı aktive ettiği ve sonuçlar üzerinde etkili olduğu tezinden hareketle NaCl yerine distile su kullanılmış, aynı gönüllünün yalnızca penis bölgesinden tükürük bulaştırılmadan ön-

ce (kontrol) ve tükürük bulaştırıldıktan sonraki 6 ncı- 12 nci- 24 üncü- 48 nci ve 72 nci saatlerinde, diğer gönüllülerin yine yalnız penis bölgesinden tükürük bulaştırılmadan önce (kontrol) ve tükürük bulaştırıldıktan sonraki 6 ncı ve 24 üncü saatlerinde örnekler alınmıştır. Distile su kullanılan bu bölümde kontrol grubu değerleri maksimum 16 U/l olarak belirlenmiş olup, tek gönüllü ile yürütülen çalışmada 6 ncı, 12nci, 24 üncü, 48 nci ve 72 nci saatlerindeki tükürükteki amilaz aktivitesinin kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmasında anlamlı şekilde yüksek olduğu izlenmiş ($p<0.05$), amilaz aktivitesinin zamana bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir (Tablo 1).

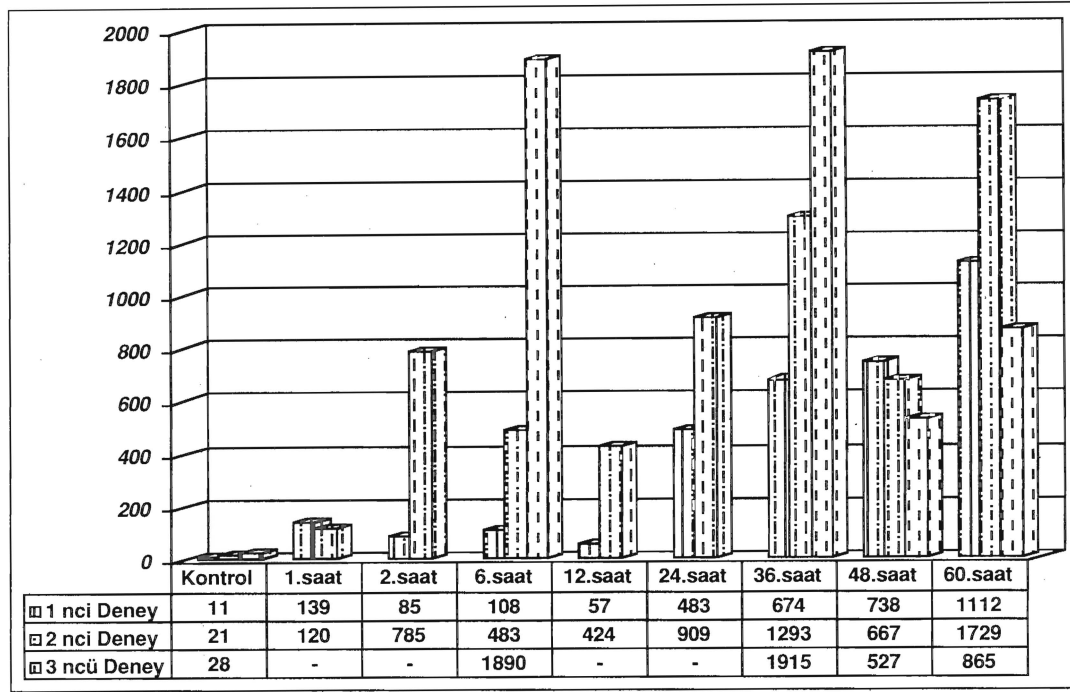


Grafik 1: Deneyin ilk aşamasında tek gönüllüden ekivyon üzerine NaCl damlatılarak alınmış önkol swablarında amilaz düzeyi (U/l)

Tablo 1: Tek kişide ekivyon üzerine damıtık su damlatılarak alınmış penis swablarında amilaz düzeyinin (U/l) kontrol grubu ile karşılaştırılması ($p<0.05$)

	KONTROL	6. SAAT	12.SAAT	24.SAAT	48.SAAT	72.SAAT
1. DENEY	16	1802	1291	1312	1696	1243
2. DENEY	11	1618	2094	1291	1439	1347
ORTALAMA	13.5	1710	1693	1302	1568	1295

7 gönüllü üzerinde yürütülen çalışmada ise, amilaz aktivitesinin kişiler arasında farklılık gösterdiği belirlenmekle birlikte 6 ncı saatte yapılan ölçümlerden elde edilen değerler ve 24 ncü saatte yapılan ölçümlerden elde edilen değerler, kontrol grubu değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). 6 ncı saatte yapılan ölçümlerden elde edilen değerler ile 24 ncü saatte yapılan ölçümlerden elde edilen değerler birbirleri ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 2, Grafik 4, Grafik 5).

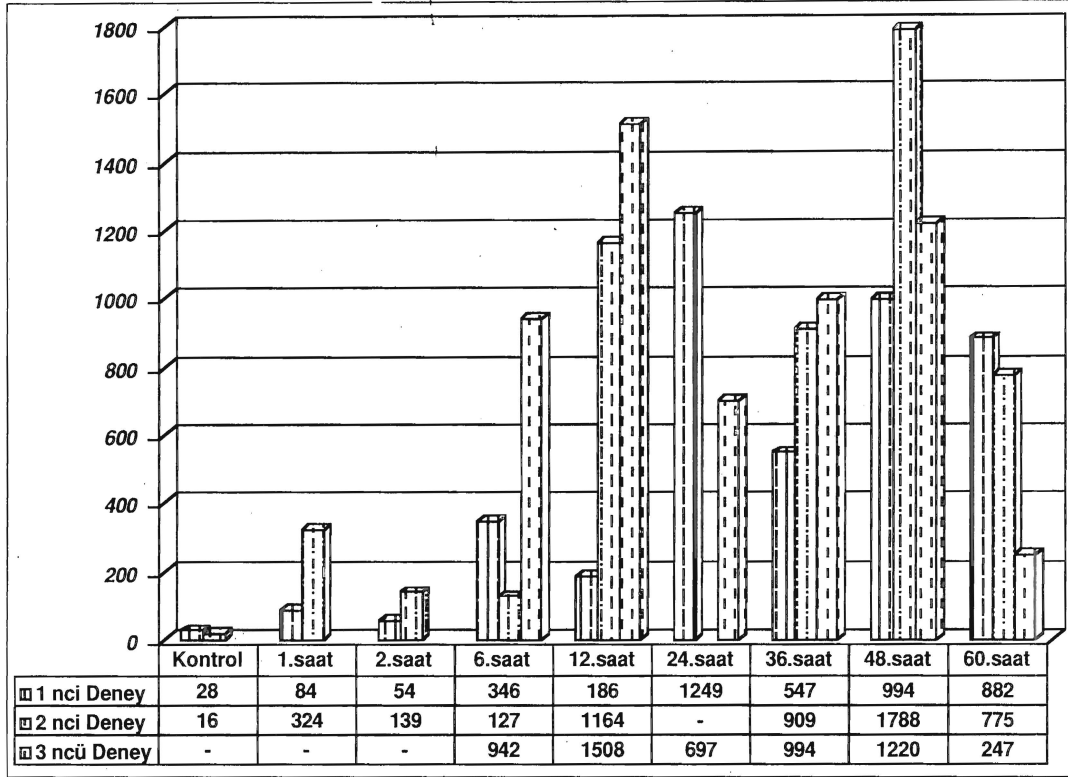


Grafik 2:
Deneyin ilk aşamasında tek gönüllüden ekivyon üzerine NaCl damlatılarak alınmış boyun swablarında amilaz düzeyi (U/l)

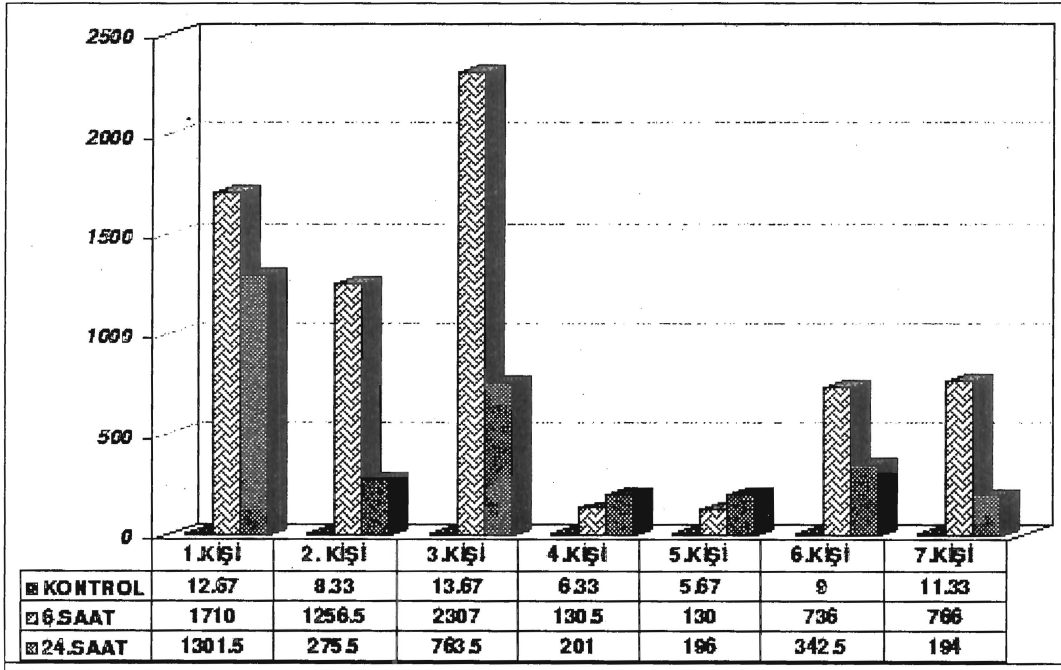
Tablo 2: Farklı kişilerden alınan penil swablarda amilaz düzeyinde (U/l)
6. saat ve 24. saatteki yükselişler ($p < 0.05$)

ÖLÇÜM ZAMANI		1. KİŞİ	2. KİŞİ	3. KİŞİ	4. KİŞİ	5. KİŞİ	6. KİŞİ	7. KİŞİ	ORTALAMA ±SD
KONTROL GRUBU	1.D	16	16	16	5	5	7	9	9.57 ± 3.08
	2.D	11	2	11	7	5	9	14	
	3.D	11	7	14	7	7	11	11	
	ORT	12.67	8.33	13.67	6.33	5.67	9.00	11.33	
6. SAAT	1.D	1802	1401	2280	148	128	581	1585	1005.14 ± 807.81
	2.D	1618	1112	2334	113	132	891	1347	
	ORT	1710.00	1256.50	2307.00	130.50	130.00	736.00	766.000	
24. SAAT	1.D	1312	266	635	182	140	504	155	467.71 ± 419.36
	2.D	1291	285	892	220	252	181	233	
	ORT	1301.50	275.50	763.50	201.00	196.00	342.50	194.00	

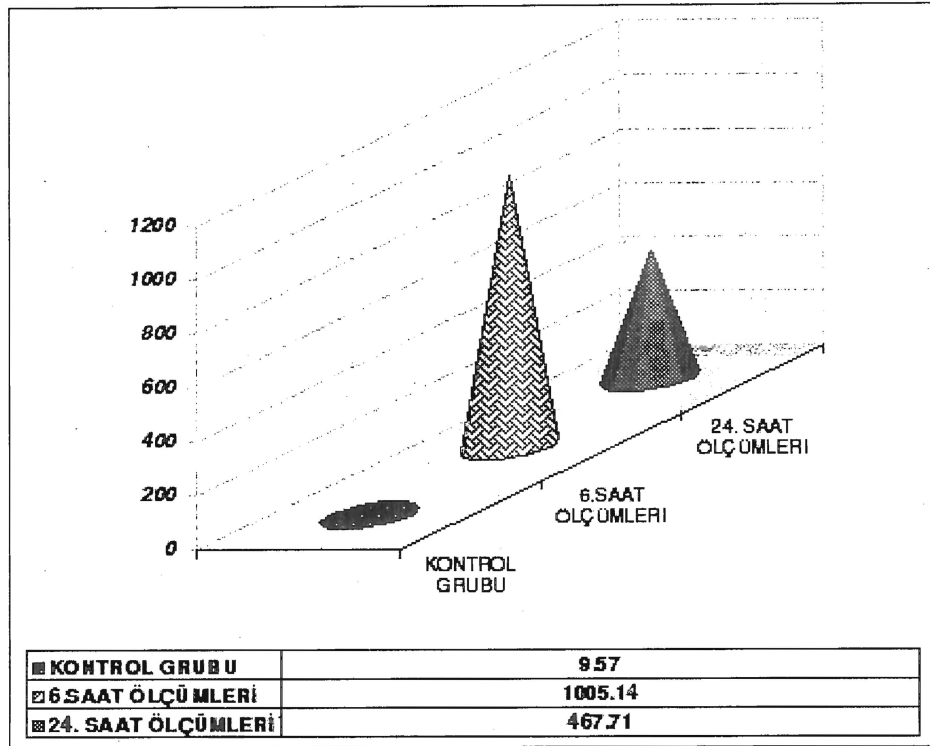
(D: Deney, ORT: Ortalama)



Grafik 3: Deneyin ilk aşamasında tek gönüllüden ekivyon üzerine NaCl damlatılarak alınmış penis swablarında amilaz düzeyi (U/l)



Grafik 4: Farklı kişilerden alınan penil swablarda amilaz düzeyinde (U/l)
6. saat ve 24. saatteki yükselişlerin grafiksel görünümü



GRAFİK 5: Farklı kişilerden alınan penil swablarda amilaz düzeyleri ortalamalarının (U/l) grafiksel görünümü

Tartışma ve Sonuç

Tükürüğün adli olaylarda önemli bir delil olabileceğini düşünen bilim adamları bu yönde çalışmalarını hızla geliştirmektedirler.

Elloit ve arkadaşları, ısırıklarda identifikasyona yardımcı olmak amacıyla, oral bakterilerin bir ısırma sırasında transfer olabilecekleri düşüncesinden hareketle tükürükteki mikroorganizmaların çoğunluğunu oluşturan Streptococcus genusuna dahil St. Salivarius' u "Pyrolysis Mass Spectrometry" ile incelemişler ve elde ettikleri spektrumların istatistiksel analizleriyle mikroorganizmaların kimliğinin belirlenebileceğini ve aralarındaki farkların tespit edilebileceğini ve böylece identifikasyonun yapılabileceğini belirtmişlerdir (25).

Sweet ve ark. cinsel saldırı ve ısırık gibi olaylarda mağdur konumdaki kişinin derisine bulaşan tükürük lekelerinin izolasyonunda, lezyon bölgesinden önce distile suya batırılmış ekivyon ile, daha sonra da ikinci bir kuru ekivyon ile swab olarak DNA Ekstraksiyonu uygulamışlardır. Chelex-100 ve takiben Slot-Blot yöntemini kullanmışlar ve bu yöntemi ıslak filtre kağıdı ve ıslak pamuk kullanılan swab yöntemleri karşılaştırdıklarında, daha duyarlı sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir (26).

İkinci bir çalışmalarında Sweet ve ark. kadavralardan 24 ve 48 saat sonra çift swab kullanarak aldıkları tükürük numunelerini modifiye Chelex Ekstraksiyon Metodu ile DNA ekstre etmişler, Slot-Blot tekniği ile miktar tayini yapmışlar, DNA izolasyonunun konsantrasyonunun zamana bağlı olarak değiştiğini, ilk 24 saatte önemli ölçüde azalan konsantrasyonun 24 saat- 48 saat zaman aralığında sabit kaldığını belirlemişler ve eser miktarda tükürük kalıntılarının bile olduğu bir vakanın, adli tıp yönünden değerli bir tanı aracı olabileceğini bildirmişlerdir (27).

Tsutsumi ve ark. bir şempanzenin bir çocuğu T-shirt üzerinden ısırmasını takiben, T-shirt' ü mavi nişasta agoroz jel plak kullanarak varsayımsal tükürük testi ile incelemişler, hem kan lekelerinin saçıldığı, hem de kan lekelerinin saçılmadığı bölgelerde pozitif sonuçlar almışlar, ayrıca şempanzeler de ABH kan grubu antijenlerine sahip ol-

duklarından araştırmalarını bu yöne kanalizettilerinde, çocuğun kan lekeleri O grubunda iken, şempanzenin tükürüğünde A antijeni bulmuşlardır (28).

Keating ve ark, cinsel saldırı olgularında, penil, vaginal ve meme swabları almışlar, Phadebas tabletler kullanarak tükürüğü gösteren amilaz seviyelerini tayin etmişler, cinsel saldırı ile numune alımı arasındaki maksimum süreyi, penil swablar için 16 saat, vaginal swablar için 35 saat ve meme swabları için 30 saat olarak belirlemişler, penis ve dişi genitalyanın oral yolla uyarılması şeklinde iddia edilmiş fiillerden sonra aldıkları vaginal ve penil swabların %42 sinde amilazın tükürük seviyelerini saptadıklarını belirtmişlerdir (29).

Bir başka çalışmasında Keating, cinsel tacizlerde durumundan şüphe edilen kişilerin yakın bir zamanda anal, oral veya vaginal cinsel ilişkide bulunup bulunmadıklarını, bulundularsa kiminle bulunduklarını belirlemek amacıyla, tükürük, kan, feçes, semen ve vaginal sekresyonlardan swablar almıştır (30). Penil swabda tükürük varlığını göstermek için Phadebas testini uygulamış, belirlenen en uzun süre olarak suç işlendiği belirtilen saatten 60 saat sonra numunede amilaz aktivitesi saptamış ve bunlardan bazılarında ABO kan grubu sistemi ile gruplandırma yapabilmiştir. Aynı çalışmada oral yolla cinsel ilişki düşünüldüğünde, amilaz identifikasyonunun daha faydalı olduğunu ve tükürüğün gruplandırılmasının bazen mümkün bulunduğunu saptamış, penil swablar üzerinde semen bulunmasının cinsel eylemin yakın bir zamanda meydana geldiğini göstermediğini, ancak vakit kaybetmeden alınan swablarda penisin dış kısmında tükürük veya vaginal sekresyon gibi başka bir vücut sıvısı ile bulaşmış olan semenin cinsel saldırının zamanının belirlenmesinde değerli olabileceğini vurgulamıştır.

Çalışmamızda, amilaz aktivitesinin kişiler arasında farklılık gösterdiği saptanmış ve tek kişi üzerinde yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre, eğer yıkanma söz konusu değilse amilaz aktivitesinin zamana bağlı olarak azalmakla birlikte penis üzerindeki tükürük kalıntılarının 72 saate kadar tespit edilebildiği belirlenmiştir. Yedi kişi üzerinde yapılan çalışmada ise 6 ncı ve 24 ncü saatlerde belirlenen amilaz aktivitesi, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak, cilt üzerindeki tükürük kalıntılarında, kolorimetrik yöntemle kantitatif olarak amilaz tayini, cinsel saldırılarda, ısırmanın eşlik ettiği çocuk istismarı olgularında ve diğer müessir fiillerde, lezyonun ve eylemin tanımlanmasında ve dolayısıyla olayın aydınlatılmasında da kullanılabilecek ekonomik ve güvenilir bir yöntem olarak görülmektedir.

Kaynaklar

1. Demirçin Karagöz S, Ege B. Semen Kontamine Vaginal Materyalde Proteinaz K ile Spermatozoa İzolasyonu ve ABO(H) Grup Tayini. Adli Tıp Bülteni, 1997; 2(3): 118-23.
2. Eşiyok B, Yorulmaz C, Günay Balcı Y. Cinsel Saldırıların Postkoital İnterval. Adli Tıp Dergisi, 2001; 15(2): 84-92.
3. Peter LM, Whitehill DJ. Management of Female Sexual Assault. Am Fam Physician, 1998; 58(4): 920-6.
4. Tintinalli JE, Hoelzer M, Oak R. Clinical Findings and Legal Resolution in Sexual Assault. Am Emerg Med, 1985; 14(7): 447-53.
5. Çekin N, Hilal A, Bilgin N, Alper B, Gülmen KM, Savran B, Sarica AD. Adana' da Ağır Ceza Mahkemesine Yansıyan Cinsel Suçların İncelenmesi. Adli Tıp Bülteni, 1998; 3(3): 81-5.
6. Keil W, Bachus J, Tröger HD. Evaluation of MHS-5 in Detecting Seminal Fluid in Vaginal Swabs. Int J Med, 1996; 108: 186-90.
7. Allard JE. The Collection of Data Form Findings in Cases of Sexual Assault and the Significance of Spermatozoa on Vaginal, Anal and Oral Swabs.
8. Afşin H. Adli Diş Hekimliğinde Isırık İzlerinin Analizi. Klinik Adli Tıp, 2001; 1(2): 31-45.
9. Kogon SL, MacLean DF. Long-Term Validation. Study Bitewing Dental Radiographs for Forensic Identification. J Forensic Sci, 1996; 41(2): 230-2.
10. Naru AS, Dykes E. The Use of a Digital Imaging Technique to Aid Bite Mark Analysis. J Forensic Sci Soc, 1996; 36(1): 47-50.
11. Yeğin MM. Biyokimya-I, Atatürk Üniversitesi Yayınları No:653. Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum. 1989: 144-7.
12. Akgün N. Fizyoloji, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No:38, 8 ncı Baskı. Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir. 1988: 490-507.
13. Harper HA. Fizyolojik Kimyaya Bakış, 14 ncü Baskı, Çev: Menteş NK, Menteş G. Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir. 1976: 297-301.
14. Orten JM, Neuhaus OW. Human-Biochemistry, 10th Edition. Mosby Company, St Louis. 1982: 523-33.
15. Smith EL, Hill RL, Lehman IR, Lefkowitz RJ, Handler P, White A. Principles of Biochemistry- Mammalian Biochemistry, 7th Edition. McGraw Hill International Book Company, Singapore. 1983: 310-1.
16. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition, WB Saunders Company, Philadelphia. 1994: 852-6.
17. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 9th Edition. WB Saunders Company, Philadelphia. 1996: 523-4.
18. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, WB Saunders Company, Philadelphia. 1982: 625-30.
19. Dixon M, Webb EC. Enzymes, 2nd Edition, Academic Press Inc Publishers, New York. 1964: 453,802.
20. Palmer T. Enzim Bilgisi, Çev: Cengiz S, Cengiz M, Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı Basım ve Cilttevi, İstanbul. 1994: 528.
21. Kaya N. Biokimya, Atatürk Üniversitesi Yayınları No:743, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum. 1993: 84-105.
22. Hoşrik VE, Atalay A. Alfa Amilaz Enziminin Bacillus Subtilis' ten Saflaştırılması ve Kinetik Özellikleri. Biyokimya Dergisi. 1983; 8: 32.

23. Yenson M. Klinik Biyokimya Laboratuvarı Çalışmaları, İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları No:139, 5 nci Baskı, Çeliker Matbaacılık, İstanbul. 1982; 55-79.
24. Haldane JBS. Enzymes, 1st Ed., The MIT Press Massachusetts Institute of Technology Cambridge, Massachusetts. 1965: 16-156.
25. Eliot TR, Rogers AH, Haverkamp JR, Groothuis D. Analytical Pyrolysis of Streptococcus Salivarius as an Aid to Identification in Bite-Mark Investigation. Forensic Sci Int, 1984; 26: 131-7.
26. Sweet D, Lorente M, Lorente JA, Valenzuela A, Villanueva E. An Improved Method to Recover Saliva from Human Skin: The Double Swab Technique. J Forensic Sci. 1997; 42(2): 320-2.
27. Sweet D, Lorente M, Lorente JA, Valenzuela A, Villanueva E. Forensic Identification Using DNA Recovered from Saliva on Human Skin. Adv Forensic Haemogenetics. 1996; 6: 325-7.
28. Tsutsumi H, Katsumata Y. Forensic Study on Stains of Blood and Saliva in a Chimpanzee Bite Case. Forensic Sci Int. 1993; 61: 101-10.
29. Keating SM, Higgs DF. The Detection of Amylase on Swabs from Sexual Assault Cases. J Forensic Sci Soc. 1994; 34: 89-93.
30. Keating SM. Information from Penil Swabs in Sexual Assault Cases. Forensic Sci Int. 1989; 43: 63-81

İletişim Adresi: Prof. Dr. M. Fatih YAVUZ,
İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü,
34303 Cerrahpaşa- İstanbul