T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

NORMOSPERMİK VE AZOSPERMİK SEMEN LEKELERİNİN FARKLI ZAMAN DİLİMLERİNDE MULTİSPEKTRAL ADLİ MUAYENE SİSTEMİ İLE FARKLI KUMAŞ TİPLERİNDE TESPİT EDİLEBİLİRLİĞİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Kübra KÖRBIÇAK DURMUŞ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sadık TOPRAK

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Öğr. Gör. Dr. Mehmet Ali MALKOÇ

İSTANBUL
2026

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

NORMOSPERMİK VE AZOSPERMİK SEMEN LEKELERİNİN FARKLI ZAMAN DİLİMLERİNDE MULTİSPEKTRAL ADLİ MUAYENE SİSTEMİ İLE FARKLI KUMAŞ TİPLERİNDE TESPİT EDİLEBİLİRLİĞİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Kübra KÖRBIÇAK DURMUŞ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sadık TOPRAK

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Öğr. Gör. Dr. Mehmet Ali MALKOÇ

İSTANBUL
2026

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak her zaman destek olan, sadece bilimsel değil hayat tecrübelerini de aktararak yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Sadık Toprak'a; tezimin planlanması, yazımı ve sonuçlandırılması aşamalarında büyük katkı sağlayan, mesleki tecrübelerini büyük bir cömertlikle paylaşan ikinci tez danışmanım Öğr. Gör. Dr. Mehmet Ali Malkoç'a, tezimin istatistiksel analizlerinin planlanması ve değerlendirilmesi aşamalarında değerli katkı ve yönlendirmeleri için Cerrahpaşa Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Günay Can'a,

Üroloji ile ilgili her soru ve sorunumda desteklerini esirgemeyen Üroloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU'na, örnek toplama aşamasında büyük destek veren Androloji Bilim Dalı'ndan Kimyager (PhD) Gülşan AKTAN ve biyolog Aşkın YÜKMEN'e

Asistanlık sürecim boyunca her sorunumda bir hocadan öte bir baba gibi manevi destek veren, bilimsel bakış açımın gelişmesine sağladığı katkılar, yol göstericiliği ve huzur dolu çalışma ortamını sağladığı için Anabilim Dalı Başkanımız Prof Dr. Nadir ARICAN'a

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. İmdat ELMAS, Prof. Dr. Nevzat ALKAN, Prof. Dr. Ayşen Ufuk SEZGİN ve klinik adli tıbbi tecrübelerinden faydalandığım, birlikte çalıştığımız süre boyunca desteğini esirgemeyen Uzm. Dr. Cüneyt Destan CENGER'e,

Uzmanlık eğitimim kapsamında Adli Tıp Kurumu'nda geçirdiğim bir yıllık süre boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, mesleki gelişimime önemli katkılar sunan Prof. Dr. İbrahim ÜZÜN, Uzm. Dr. Hasan AĞRITMIŞ ve Uzm. Dr. Halit ÇAKIR'a,

Birlikte yürüdüğümüz bu yolda bana hem arkadaş hem de bir rehber olan arkadaşlarım Uzm. Dr. İlayda ŞAM, Uzm. Dr. Melis Begüm KAPTANOĞLU ARI, Uzm. Dr. Yusuf KALEM, Uzm. Dr. Oğuz Can ERTAŞ, Uzm. Dr. Zarif Asucan ŞENBAŞ, Uzm. Dr. İrem KILIÇ AREL, Dr. Halime GEÇGİL AHAT, Dr. Adil Han DOĞAN ve Adli Tıp Kurumu'ndaki tüm uzman ve asistan arkadaşlarıma, her ihtiyaç duyduğumda yardımını esirgemeyen dostum Uzm. Dr. Murat Bahadır EYİGÜN'e,

Çalışma ortamımızı güzelleştiren, terapi niteliğinde olan Türk kahvesi buluşmalarımızı hayatım boyunca özleyeceğim Doç. Dr. Nurcan ORHAN, Uzm. Hem. Dilber ERDOĞDU DEMİRAL, İnci TAN, Selvi SUİÇMEZ, Deniz SOLMAZ ERGÜN ve Emine ÖZKURT'a,

Sadece tez yazım sürecinde değil her daim yanımda olan değerli hayat arkadaşım Uzm. Dr. Mehmet Akif DURMUŞ'a,

Varlıklarıyla bana güç veren, sabırları ve sevgileriyle her zaman yanımda olan çocuklarım Yavuz Selim, Tuğrul Mülk ve Çağrı Aliya'ya,

Her kararıma saygı duyup beni destekleyen babama, ablalarıma, yeğenlerime, kardeşime, halama ve sevgili kuzenim Ceyda'ya,

Bizleri cennetten izleyen her başarımda imzası olan yegâne kişi rahmetli anneme en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Mortui vivos docent

Kübra KÖRBIÇAK DURMUŞ

2026

İSTANBUL

İÇİNDEKİLER TABLOSU

TEŞEKKÜR……..……...I
İÇİNDEKİLER …...……..…….……...III
KISALTMALAR/SEMBOLLER LİSTESİ …….…….……V
ŞEKİLLER LİSTESİ ……...…….……VI
FOTOĞRAFLAR LİSTESİ…….……VII
GRAFİKLER LİSTESİ……...…….…...…VIII
TABLOLAR LİSTESİ……..…….…...IX
ÖZET……..1
ABSTRACT……....2
I. GİRİŞ VE AMAÇ……3
II. GENEL BİLGİLER……5
A. Cinsel Şiddetin Tanımı ve Epidemiyolojisi……..5
B. Cinsel Şiddetin Tıbbi Belgelendirilmesi……...5
C. Cinsel Şiddet Olgularında Biyolojik Delillerin Yeri…….6
D. Biyolojik Delillerin Sınıflandırılması……...6
E. Cinsel Saldırı Olgularında Seminal Sıvı Varlığının Önemi…….…….7
F. Seminal Sıvının Biyolojisi, Bileşimi ve Sınıflandırılması…….…….…….8
G. Seminal Sıvı Lekelerine Yönelik Yapılan Testler …….…….……9
a) Asit Fosfataz Testi ……10
b) Prostat Spesifik Antijen (PSA/p30) ve İmmünokromatografik Testler …….10
c) Mikroskobik İnceleme……...…11
d) Kumaş Üzerindeki Lekelerde DNA İzolasyonu, Genetik Analiz ve Kumaşlardan Biyolojik Materyalin Toplanması ……...…11
H. Adli Işık Kaynaklarının Kullanımı ve Çalışma Prensibi…….……13
a) Işığın Özellikleri……13
b) Elektromanyetik Spektrum……13
c) Ultraviyole ışık……..15
d) Renk Bariyer Filtreleri…….……..15
e) Substratın Floresans Üzerindeki Etkisi …….……17
f) Floresan Parlatıcılar…….……...…17
g) Yıkamanın Etkisi…….……..18
h) Alternatif Işık Fotoğrafçılığı……..……18
i) Seminal Sıvıda Floresans……...19

III. GEREÇ VE YÖNTEM……..……...21
A. Biyolojik Örneklerin Temini ve Seçim Kriterleri…….……..21
B. Tekstil Materyalleri (Zemin Özellikleri) …….……..21
C. Görüntüleme Sistemi: Forenscope® Multispektral Adli Muayene Sistemi ……...22
D. Deneysel Prosedür ve Görüntüleme Protokolü …….....23
E. Görüntü Analizi ve Veri İşleme: ImageJ™ …….……26
F. İstatistiksel Analiz ……27
IV. BULGULAR ……..29
A. Seminal Leke Alan Analizi Sonuçları ……...……29
B. Seminal Leke Işıma Yoğunluğu (Floresans) Analizi Sonuçları …….……33
1. Viskon Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi …….……35
2. İpek Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi …….……35
3. Pamuk Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi …….……36
4. Polyester Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi ……37
5. Mikst Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi ……..37
6. Seminal Leke Işıması Kumaş Türleri Arası İkili Karşılaştırmaların Zamana ve Spermatozoa Hücresi Varlığına Göre Değerlendirilmesi ……38
V. TARTIŞMA ……..…44
A. Leke Alanı ile İlgili Analizler ……44
B. Leke Parlaklığı ile İlgili Analizler ……47
1. Viskon Kumaş ……48
2. İpek Kumaş …….……48
3. Pamuk Kumaş …….……49
4. Polyester Kumaş ……..……50
5. Mikst Kumaş ……50
6. Kumaş Türlerinin Parlaklık Performansı Açısından Zaman ve Grup Bağımlı İkili Karşılaştırmaları ……51
7. Kumaş Türlerinin Parlaklık Performansı Açısından İkili Karşılaştırmaları ……53
C. Beklenmeyen Bir Bulgu: Grupların Varyanslarındaki Farklılaşma ……...……55
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER ……57
KISITLILIKLAR ……..……58
KAYNAKLAR ……..……59

KISALTMALAR/SEMBOLLER LİSTESİ

ALS — Alternate Light Sources

ANOVA — Analysis of Variance

AP — Asit Fosfataz

ATR — Attenuated Total Reflectance

DNA — Deoksiribonükleik Asit

DSÖ — Dünya Sağlık Örgütü

DTT — Dithiothreitol

FTIR — Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GCP — Good Clinical Practice

HSD — Honestly Significant Difference

IR — Infrared

NIH — National Institutes of Health

PCR — Polymerase Chain Reaction

PSA — Prostat Spesifik Antijen

PVC — Polyvinyl Chloride

ROI — Region of Interest

SDS — Sodium Dodecyl Sulfate

SPSS — Statistical Package for the Social Sciences

STR — Short Tandem Repeats

UV — Ultraviolet

VIS — Visible

WHO — World Health Organization

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sperm Hücresinin Anatomisi……...8
Şekil 2. Seminal Sıvı Bileşenlerinin Kaynağa Göre Dağılımı…….…….8
Şekil 3. Erkek Ürogenital Sistemi…….9
Şekil 4. Elektromanyetik Spektrum…….…….13
Şekil 5. Işığın Uyarıcı ve Bariyer Filtre ile Yayılımı……....16

FOTOĞRAFLAR LİSTESİ

Fotoğraf 1. Düz ve Temiz Muşamba Üzerine Yerleştirilen Kumaşlar / Örnekler……..…..23
Fotoğraf 2. Düz ve Temiz Muşamba Üzerinde Kurumaya Bırakılan Kumaşlar / Örnekler….24
Fotoğraf 3. Görüntülemenin Yapıldığı Karanlık Oda ve Multispektral Adli Muayene Sistemi Forenscope® ……...24
Fotoğraf 4. Aynı örneğin farklı zamanlarda çekilmiş fotoğrafları……25
Fotoğraf 5. ImageJ Set Scale fonksiyonu ile mekânsal kalibrasyon ……26
Fotoğraf 6. Background Subtraction ve Mean Gray Value ölçümü …….27

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1. Azospermik Grupta Kumaşların Zamanla Leke Alanı Değişimi……30
Grafik 2. Normospermik Grupta Kumaşların Zamanla Leke Alanı Değişimi……30

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Kumaşların tekstil özellikleri…….22
Tablo 2: Normospermik ve Azospermik Grupların Zamana bağlı Leke Alanı Açısından Karşılaştırması…..…….31
Tablo 3. Kumaş Türlerine Göre Ortalama Leke Alanı ve Standart Sapma Değerleri……..31
Tablo 4: Kumaş türlerine göre leke yüzey alanı bakımından ikili karşılaştırmalar (Tukey HSD)……32
Tablo 5: Normospermik (n=16) ve Azospermik (n=16) Grupların Tüm Zaman Dilimlerindeki Floresans Parlaklık (Mean) Karşılaştırması……34
Tablo 6: Viskon kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması……..…35
Tablo 7: İpek kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması……..……36
Tablo 8: Pamuk kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması. ……36
Tablo 9: Polyester kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması. ……37
Tablo 10: Mikst kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması. ……38
Tablo 11: Tüm Zaman Dilimlerinde Kumaş Çiftlerinin Azospermik ve Normospermik Gruplara Göre Karşılaştırılması……39
Tablo 12: Kumaş Türlerinin Parlaklık (Mean Gray Value) Bakımından İkili Karşılaştırılması (Post-Hoc Testi- Pairwise Comparisons) …….……43

ÖZET

Normospermik Ve Azospermik Semen Lekelerinin Farklı Zaman Dilimlerinde Multispektral Adli Muayene Sistemi İle Farklı Kumaş Tiplerinde Tespit Edilebilirliği

Amaç: Cinsel saldırı suçlarının adli soruşturulmasında fail ile mağdur arasındaki fiziksel temasın ortaya konulması büyük ölçüde biyolojik delillerin doğru şekilde tespit edilmesine ve yorumlanmasına bağlıdır. Bu bağlamda tekstil yüzeyleri üzerindeki seminal lekelerin görünürlüğü ve saptanabilirliği adli biyoloji açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada, beyaz renkli farklı kumaş tipleri üzerinde oluşturulan normospermik ve azospermik seminal sıvı lekelerinin 450 nm dalga boyundaki mavi ışık altında tespit edilebilirliğinin değerlendirilmesi amaçlandı. Ayrıca lekelerin zamana bağlı parlaklık değişimleri ve yayılım alanlarının karşılaştırılması hedeflendi.

Yöntem: İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Androloji Kliniği'ne başvuran ve semen analizi için örnek veren olguların seminal sıvı örnekleri kullanıldı. Örnekler benzer kalınlıktaki beyaz renkli viskon, ipek, polyester, pamuk ve mikst kumaşlara standart hacimde uygulanarak 9 farklı zaman diliminde multispektral adli muayene sistemi ile görüntülendi. Görüntülerde leke alanı ve floresans yoğunluğu ölçümleri ImageJ programı kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Spermatozoa varlığının seminal leke alanı üzerinde 4. saatten 6. aya kadar olan zaman noktalarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı saptandı. Her iki grupta da leke alanı değişimi anlamlı bulunmadı. Parlaklık değerlerinin ise zamanla her iki grupta anlamlı biçimde arttığı ve özellikle ileri zaman noktalarında normospermik örneklerin azospermik örneklere göre daha yüksek parlaklık değerleri gösterdiği belirlendi. Kumaş türleri arasında leke alanı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı.

Sonuç: Mavi ışık altında multispektral görüntüleme, beyaz kumaşlar üzerindeki seminal lekelerin tahribatsız olarak değerlendirilmesinde etkili bir yöntemdir. Spermatozoa varlığının leke alanı üzerinde belirleyici olmadığı, ancak floresan yoğunluğu üzerinde daha belirgin etkiler oluşturduğu görülmüştür. Kumaş tipinin hem leke yayılımı hem de parlaklık düzeyi üzerinde önemli etkisi olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: cinsel saldırı, seminal sıvı, azospermi, normospermi, multispektral görüntüleme, Forenscope, mavi ışık, adli biyoloji.

ABSTRACT

Detection of Normospermic and Azoospermic Semen Stains on Different Fabric Types at Different Time Intervals Using a Multispectral Forensic Sexual Assault Examination System

Objective: In forensic sexual assault investigations, establishing physical contact between the perpetrator and the victim heavily relies on accurately detecting and interpreting biological evidence. The visibility and detectability of seminal stains on textile surfaces are especially important in forensic biology. This study aimed to assess the detectability of normospermic and azoospermic seminal fluid (semen) stains on various types of white fabrics under blue light at a wavelength of 450 nm. Additionally, the study compared changes over time in stain brightness and spread area.

Methods: Seminal fluid samples obtained from individuals who presented to the Andrology Clinic, Department of Urology, Istanbul Faculty of Medicine, for semen analysis were used in this study. The samples were applied in a standardized volume and similar thickness onto white viscose, silk, polyester, cotton, and blended fabrics, and imaged at nine different times points. Stain area and fluorescence intensity were measured using ImageJ software.

Results: The presence of spermatozoa did not lead to a statistically significant difference in seminal stain area at any time point between the 4th hour and the 6th month. Stain area change was not statistically significant. Brightness values increased significantly over time in both groups, and normospermic samples had higher brightness values than azoospermic samples, especially at later time points. A statistically significant difference in stain area was observed among different fabric types.

Conclusion: Multispectral imaging under blue light at 450 nm proved to be an effective non-destructive method for evaluating seminal stains on white fabrics. While the presence of spermatozoa was not a determining factor for stain area, it had a more pronounced effect on brightness/fluorescence intensity. In addition, fabric type significantly influenced both stain spread and brightness level. These findings suggest that multispectral imaging may contribute to forensic practice in the detection and interpretation of seminal stains, particularly on low-contrast textile surfaces in sexual assault cases.

Keywords: sexual assault, seminal fluid, azoospermia, normospermia, multispectral imaging, Forenscope, blue light, forensic biology

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Cinsel saldırı suçlarının adli soruşturulmasında, fail ile mağdur arasındaki fiziksel temasın ortaya konulması ve olayın çözümlenmesi büyük ölçüde biyolojik delillerin güvenilir biçimde tespit edilmesine, belgelenmesine ve yorumlanmasına bağlıdır. Bu bağlamda, olay sırasında mağdurun veya şüphelinin üzerinde bulunan tekstil materyalleri; biyolojik sıvıların transferi, tutulması ve çevresel faktörlere karşı korunması açısından kritik öneme sahip birincil delil kaynakları olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte tekstil yüzeylerinin lif kompozisyonu, dokuma veya örme yapısı, yüzey pürüzlülüğü ve absorpsiyon kapasitesi; semen gibi vücut sıvılarının makroskopik olarak tespit edilmesini güçleştirmekte, bu durum klasik görsel inceleme yöntemlerinin duyarlılığını önemli ölçüde sınırlandırmaktadır (1).

Beyaz ve açık renkli tekstil ürünleri, leke ile zemin arasındaki kontrastın minimal olması nedeniyle biyolojik delil tespiti açısından en problemli materyaller arasında yer almaktadır(2). Seminal sıvı kuruma süreci sonrasında çoğu zaman şeffaf ya da yarı saydam bir film tabakası oluşturarak zeminle bütünleşmekte; bu nedenle geleneksel çıplak gözle inceleme yöntemiyle bu tür lekelerin fark edilmesi çoğu olguda mümkün olmamaktadır. Bu sınırlılık, adli incelemelerde alternatif optik yöntemlerin ve farklı dalga boylarında ışık uygulamalarının kullanımını zorunlu hâle getirmiştir(3).

Vanderberg ve ark. yaptığı çalışmada belirli dalga boylarında ışık uygulandığında, çıplak gözle görünmeyen biyolojik lekelerin karakteristik optik özellikler sergileyebildiği; özellikle adli ışık kaynakları (Alternate Light Sources, ALS) kullanılarak floresans temelli görünürlük sağlanabildiği bildirilmiştir. Bu bağlamda, 450 nm dalga boyundaki mavi ışığın seminal sıvının içerdiği belirli kimyasal bileşenler nedeniyle uyarıcı etki göstererek, uygun filtreleme koşullarında lekenin zemin dokusundan ayırt edilmesini sağladığı ifade edilmiştir (4).

Adli ışık kaynakları altında gözlenen floresansın kaynağına ilişkin literatürlerde, bu fenomenin spermatozoa varlığından ziyade seminal plazma içeriğiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Seminal plazma içerisinde bulunan flavinler (Vitamin B2 metabolitleri), kolin gibi protein dışı bileşenlerin yanı sıra bakteriyel metabolik ürünlerin (özellikle Pseudomonas türleri) floresans oluşumunda rol oynadığı belirtilmiştir (1). Spermatozoa varlığı veya

yokluğunun, semende bulunan floresan bileşiklerin mavi ışık altındaki floresans yanıtına etkisini doğrudan değerlendiren çalışmalar literatürde sınırlı düzeydedir.

Cinsel saldırı delili olan herhangi bir örnekte spermatozoa hücresinin mikroskobik olarak gösterilmesi incelenen materyaldeki vücut sıvısının semen olduğunun kanıtlanmasında altın standart kabul edilir (5). Faillerin vazektomili olması veya patolojik nedenlere bağlı olarak azospermi tablosu gösterebilmesi, spermatozoa hücresi içermeyen seminal örneklerin de biyolojik delil olarak değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan Forenscope Multispektral Adli Muayene Sistemi, farklı dalga boylarında ışık üretimi ile seçici filtreleme imkânı sağlayarak, biyolojik lekelerin optik davranışlarının çok bantlı olarak değerlendirilmesine olanak tanımaktadır(6). Multispektral yaklaşım, leke ile zemin arasındaki kontrastın yalnızca renk farklılığına değil; aynı zamanda dalga boyuna bağlı yansıma, absorbsiyon ve floresans özelliklerine göre değerlendirilmesini mümkün kılmaktadır. Özellikle mavi ışık spektrumu altında gözlenen görünürlük artışı, biyolojik lekelerin non-destrüktif olarak lokalize edilmesi açısından adli uygulamalarda önemli bir avantaj sunmaktadır (7).

Bu çalışmanın amacı; adli incelemelerde zemin rengi ile leke arasındaki düşük kontrast nedeniyle tespiti en güç materyallerden biri olan beyaz renkli farklı tip kumaşlar üzerinde, kuruduğunda çıplak gözle görülemeyen semen lekelerinin Forenscope® Multispektral Adli Muayene Sistemi kullanılarak 450 nm dalga boyu (mavi ışık) ve uygun filtreleme koşulları altında tespit edilebilirliğini değerlendirmektir. Bu kapsamda, beş farklı beyaz kumaş türü üzerinde oluşturulan normospermik ve azospermik semen lekelerinin mavi ışık altındaki görünürlüğü, zamana bağlı parlaklık değişimleri ve leke alanı özelliklerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi hedeflenmektedir.

II. GENEL BİLGİLER

A. Cinsel Şiddetin Tanımı ve Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), cinsel şiddeti; mağdur ile fail arasındaki ilişki, olay yeri veya ortam fark etmeksizin, zor kullanılarak, tehditle veya kişinin rızası olmaksızın gerçekleştirilen her türlü cinsel eylem, eylem girişimi, istenmeyen cinsel yorumlar veya ticari amaçlı cinsel istismar eylemleri olarak tanımlamaktadır. Küresel bir halk sağlığı sorunu ve ağır bir insan hakları ihlali olarak kabul edilen bu durum, güncel veriler ışığında endişe verici boyutlara ulaşmıştır. DSÖ'nün yayınladığı güncel küresel tahmin raporlarına göre; dünya genelinde kadınların yaklaşık %30'unun (her üç kadından birinin), yaşamları boyunca partner şiddetine veya partner dışı cinsel şiddete maruz kaldığı bildirilmektedir. Ancak cinsel saldırı suçlarında, mağdurların yaşadığı travma, toplumsal damgalanma korkusu ve adli süreçlere duyulan güvensizlik nedeniyle, resmi makamlara yansıyan vaka sayısının gerçek insidansın çok altında kaldığı ve bu durumun bir 'buzdağı' fenomeni oluşturduğu bilinmektedir (8).

B. Cinsel Şiddetin Tıbbi Belgelendirilmesi

Cinsel saldırı olgularında tıbbi belgelendirme, yalnızca mağdurun klinik değerlendirilmesi açısından değil, aynı zamanda adli sürecin bilimsel verilerle desteklenmesi açısından da temel öneme sahiptir. Adli tıbbi muayene kapsamında öykü alma, yaralanmaların kaydı, uygun anatomik bölgelerden örnek toplanması, biyolojik delillerin korunması ve bunların laboratuvar incelemesine uygun şekilde aktarılması birlikte yürütülmesi gereken işlemlerdir. Özellikle cinsel saldırı olgularında adli tıbbi muayenenin, vücut sıvısı tanımlama ve DNA incelemeleri için gerekli biyolojik örneklerin elde edilmesini sağladığı; bu nedenle olayın aydınlatılmasında merkezi bir rol oynadığı bildirilmektedir(9,10).

Tıbbi belgelendirmenin değeri, yalnızca delil toplamakla sınırlı değildir; aynı zamanda örneklerin uygun zamanda, doğru teknikle ve zincirleme koruma ilkelerine uygun biçimde alınmasını da içermektedir. Cinsel saldırı başvurularında temas ile örnekleme arasındaki sürenin kısa olduğu durumlarda, saldırgana ait DNA’nın saptanma olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiş olup ayrıca örnek hazırlama ve yayma tekniğinin spermatozoa saptanabilirliğini etkileyebildiği gösterilmiştir. Bu nedenle standartlaştırılmış ve dikkatli yürütülen bir tıbbi belgelendirme süreci, biyolojik delilin adli değerini doğrudan etkilemektedir(10–12).

C. Cinsel Şiddet Olgularında Biyolojik Delillerin Yeri

Cinsel saldırı soruşturmalarında biyolojik deliller, olayın biyolojik izlerini ortaya koymaları, fail-mağdur temasını desteklemeleri ve uygun durumlarda kimliklendirme çalışmalarına olanak sağlamaları nedeniyle özel bir öneme sahiptir. Adli incelemelerde seminal sıvı, kan, tükürük, vajinal sıvı ve epitel hücreleri gibi örnekler olayın niteliğine göre farklı ağırlıkta delil değeri taşıyabilmektedir. Son yıllardaki derlemelerde, özellikle cinsel saldırı olgularında seminal sıvı ve vajinal sıvı analizinin hem vücut sıvısı tanımlaması hem de sonraki DNA incelemeleri açısından temel bir rol oynadığı vurgulanmaktadır(13,14).

Bununla birlikte biyolojik delilin adli değeri, yalnızca örneğin varlığına değil; doğru bölgeden, uygun zamanda ve uygun yöntemle elde edilmesine de bağlıdır. Adli tıbbi muayenede toplanan örneklerde pozitif semen testi ve kısa temas sonrası başvurunun erkek DNA profili elde edilme olasılığını artırdığı; buna karşın semen negatif örneklerin bir kısmında dahi erkek DNA'sı saptanabildiği bildirilmiştir. Bu bulgular, biyolojik delillerin cinsel saldırı olgularında vazgeçilmez olduğunu ancak değerlendirmelerinin çok katmanlı yapılması gerektiğini göstermektedir(9,15).

D. Biyolojik Delillerin Sınıflandırılması

Adli bilimlerde biyolojik deliller genel olarak kan, seminal sıvı, tükürük, vajinal sıvı, menstrual kan, idrar ve diğer hücresel materyaller gibi canlı kökenli örnekler olarak ele alınmaktadır (13). Güncel adli derlemelerde bu örneklerin, olayın türüne göre hem vücut sıvısı tanımlaması hem de kaynağın belirlenmesi amacıyla incelendiği; özellikle cinsel suçlarda seminal sıvı, vajinal sıvı ve tükürüğün ön plana çıktığı belirtilmektedir. Bu sınıflandırma, hangi örneğe hangi ön testin, doğrulama testinin ya da moleküler yöntemin uygulanacağını belirlemek açısından işlevseldir(16).

Biyolojik deliller, yalnızca örnek türüne göre değil, aynı zamanda hücresel içeriklerine göre de değerlendirilebilir. Hücre içeren örnekler DNA profillemesi açısından daha doğrudan değer taşırken, hücresel olmayan veya düşük hücre içerikli biyolojik sıvılar kimyasal, immünolojik ve spektroskopik yöntemlerle tanımlanabilmektedir. Bu nedenle biyolojik delillerin sınıflandırılması, laboratuvar sürecinin planlanması ve sonucun doğru yorumlanması açısından temel bir basamaktır (17).

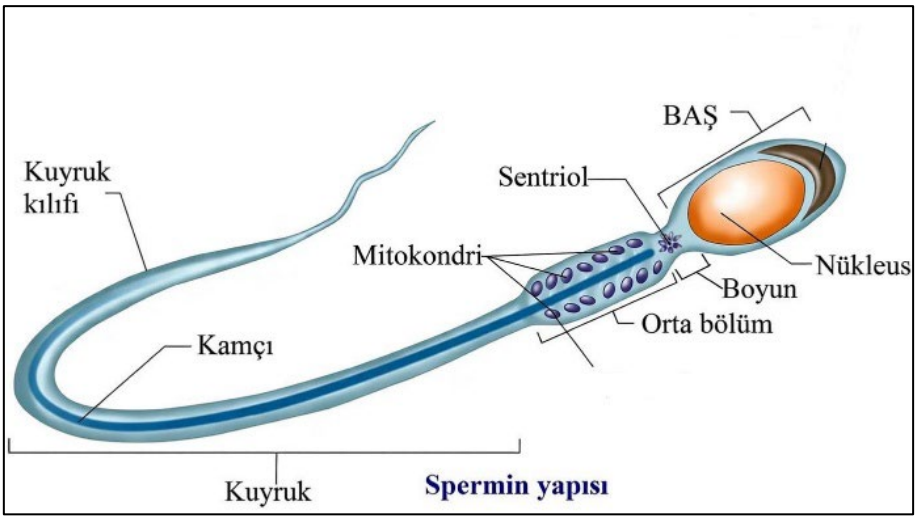
E. Cinsel Saldırı Olgularında Seminal Sıvı Varlığının Önemi

Seminal sıvı ve spermatozoa varlığının gösterilmesi, cinsel saldırı olgularında en kritik biyolojik delil başlıklarından biridir. Adli literatürde seminal sıvı tespiti, iddia edilen cinsel temasın biyolojik olarak desteklenmesinde temel bulgu olarak kabul edilmekte; spermatozoanın gösterilmesi ise hem semen varlığını doğrulayan hem de uygun koşullarda failin kimliklendirilmesine katkı sağlayan yüksek değerli bir bulgu olarak değerlendirilmektedir(18). Ancak her olguda spermatozoa saptanması mümkün değildir. Spermatozoa bulunmayan ya da düşük düzeyde bulunan örneklerde, Prostat Spesifik Antijen ve Semenogelin gibi seminal biyobelirteçlerin incelemeye katkı sağlayabildiği gösterilmiştir(14). Ayrıca seminal sıvı negatif örneklerin bir kısmında erkek DNA'sı saptanabilmesi, yalnızca mikroskobik spermatozoa varlığına odaklanmanın bazı olgularda yetersiz kalabileceğini göstermektedir (19). Bu nedenle seminal sıvının hem hücresel bileşenleri hem de hücresel olmayan fraksiyonu adli değerlendirmede birlikte ele alınmalıdır.

Spermatozoa saptanabilirliği zamanla azaldığından, uygun örnekleme bölgesinin ve zamanlamanın bilinmesi de önemlidir. Prospektif bir çalışmada, spermatozoanın en yüksek oranda posterior forniksten saptandığı, spermatozoa sayısının zamanla anlamlı biçimde azaldığı ve ayrıca dış genital bölgeden alınan sürüntü örneklerinde de gösterilebildiği bildirilmiştir(18). Bu veriler, seminal sıvı ve spermatozoa araştırmasının standart, dikkatli ve çok yönlü bir yaklaşım gerektirdiğini göstermektedir.

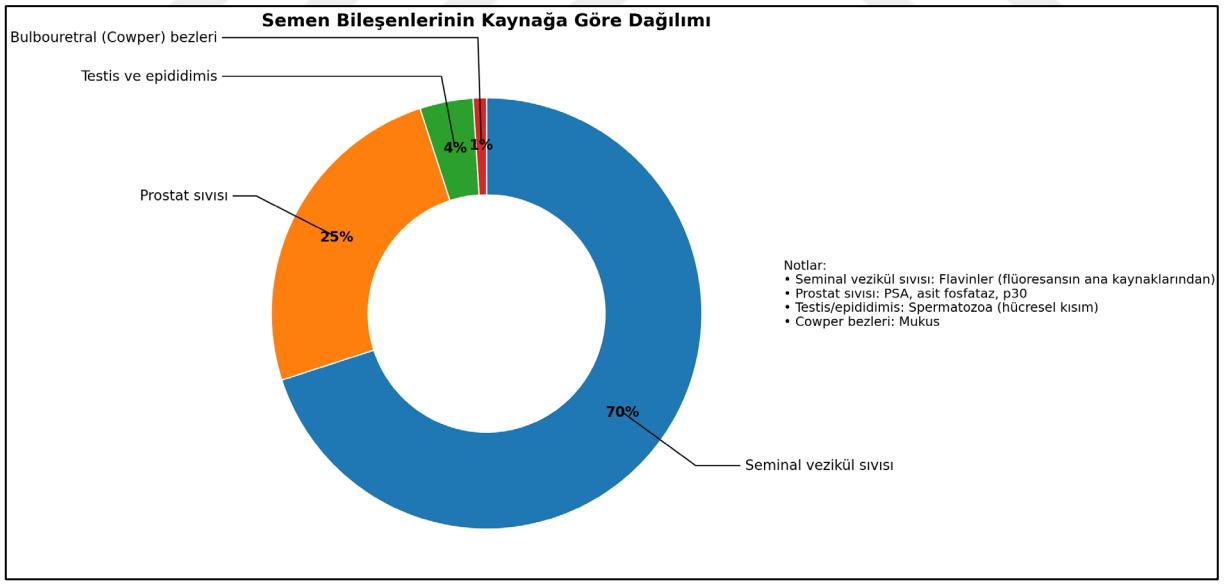
F. Seminal Sıvının Biyolojisi, Bileşimi ve Sınıflandırılması

Seminal sıvı, yapısal ve fonksiyonel açıdan karmaşık bir biyolojik sıvı olup hücresel yapı ve sıvı kısım olmak üzere iki temel bileşenden oluşmaktadır. Hücresel bileşeni, genetik bilgiyi taşıyan ve üreme fonksiyonunda görev alan spermatozoalardan meydana gelir (Şekil 1). Spermatozoalar morfolojik özelliklerine göre baş, orta kısım ve kuyruk olmak üzere üç ana bölümde incelenir. Baş kısmı, genetik materyali oluşturan kromozomları içeren nükleusu ve fertilizasyon sürecinde rol oynayan enzimleri barındıran akrozomu kapsar. Orta kısım (gövde), spermatozoanın hareketi için gerekli enerjinin sağlanmasında görevli yoğun mitokondri içeriği ile karakterizedir. Kuyruk bölgesi ise flagellum yapısı sayesinde spermatozoanın ileri yönlü hareketini mümkün kılan temel yapısal unsurdur. Bu morfolojik organizasyon, spermatozoanın fertilizasyon yeteneğini ve biyolojik işlevselliğini doğrudan belirleyen temel özellikleri yansıtmaktadır(20).



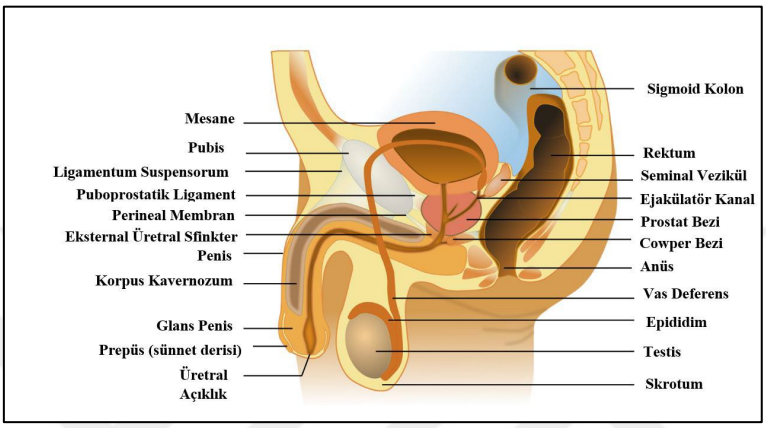
Şekil 1. Sperm Hücresinin Anatomisi (21)

Ejakülasyon sırasında dışarı atılan bu sıvının hacimsel olarak yalnızca %2–5'lik kısmı testislerden köken alan sperm hücrelerinden oluşurken, geri kalan büyük çoğunluğu yardımcı cinsiyet bezlerinin salgılarından meydana gelir (Şekil 2).



Şekil 2. Seminal Sıvı Bileşenlerinin Kaynağa Göre Dağılımı (Şekil yazar tarafından oluşturulmuştur)

Erkek ürogenital sistemi farklı salgıları üreten farklı glandüler yapılara sahiptir (Şekil 3) ve salgıların yaklaşık %60–70'i seminal veziküllerden (fruktoz, flavinler ve pıhtılaşma proteinleri), %20–30'u prostat bezinden (asit fosfataz, prostat spesifik antijen ve çinko), yaklaşık %5'i ise bulboüretral bezlerden salınan mukustan kaynaklanmaktadır(22). Dolayısıyla biyolojik bir delil olarak seminal sıvı, sadece üreme hücrelerinden ibaret olmayıp, zengin bir biyokimyasal karışımdır.



Şekil 3. Erkek Ürogenital Sistemi(23)

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) yayımladığı en güncel kılavuza göre semen analizinde kullanılan parametreler yeniden tanımlanmıştır. Buna göre ejakülatta mililitre başına ≥16 milyon spermatozoa hücresi bulunması alt referans sınırı olarak kabul edilmekte ve bu durum normospermi şeklinde tanımlanmaktadır. Buna karşılık, santrifüj sonrası elde edilen peletin mikroskobik incelemesinde hiç spermatozoa hücresine rastlanmaması durumu azospermi olarak değerlendirilmektedir(24). Özellikle vazektomi (vas deferens ligasyonu) uygulanmış bireylerde veya obstrüktif patolojilerde görülen azospermi olgularında, testis kaynaklı spermatozoa hücrelerinin ejakülata geçişi engellenmiş olmasına rağmen, ejakülatın hacmini ve biyokimyasal özelliklerini belirleyen seminal vezikül ve prostat bezlerine ait salgıların üretimi devam etmektedir. Bu nedenle vazektomi sonrası elde edilen semen örnekleri spermatozoa içermese dahi fruktoz, flavinler ve prostat kaynaklı proteinler gibi seminal plazma bileşenlerini korumaktadır. Söz konusu özellikler, bu tür semen örneklerinin adli incelemelerde hücresel unsurlardan bağımsız olarak biyokimyasal delil niteliğini sürdürmesine olanak sağlamaktadır(20) .

G. Seminal Sıvı Lekelerine Yönelik Yapılan Testler

Olay yerinde örneklerin incelenmesinde hangi yöntemin hangi sırayla kullanılacağını belirlemek için bu yöntemlerin çalışma prensiplerini anlamak büyük önem arz etmektedir.

a) Asit Fosfataz Testi

Asit Fosfataz (AP), prostat bezi epiteli tarafından sentezlenen ve seminal plazmada diğer vücut sıvılarına kıyasla son derece yüksek konsantrasyonlarda (kanda bulunduğundan ortalama 400 kat daha fazla) bulunan bir glikoproteindir(25). Bu enzimin semendeki yoğunluğu, onu adli serolojide şüpheli lekelerin taranmasında kullanılan birincil biyokimyasal belirteç haline getirmiştir. Testin temel prensibi kolorimetrik (renk değişimine dayalı) bir reaksiyondur; şüpheli leke üzerine damlatılan kimyasal ayıraçtaki substrat (genellikle sodyum alfa-naftil fosfat), ortamda asit fosfataz enzimi varsa hidrolize uğrar. Açığa çıkan naftol, bir diazo boyası (örneğin Fast Blue B tuzu) ile birleşerek saniyeler içinde parlak mor/pembe renkli bir kompleks oluşturur. Reaksiyonun hızı ve renk şiddeti, ortamdaki enzim yoğunluğuyla, dolayısıyla semenin varlığıyla doğru orantılıdır. Her ne kadar AP testi, yüksek duyarlılığı ve olay yerinde hızlı uygulanabilirliği nedeniyle yaygın kullanılsa da adli bilimlerde ön tarama testi olarak sınıflandırılmaktadır. Bunun temel nedeni, asit fosfataz aktivitesinin sadece semene özgü olmamasıdır. Ergenlik sonrası dönemde vajinal sekresyonlarda, bazı bitkisel materyallerde (karnabahar, mantar vb.) ve bakteriyel kaynaklarda da düşük seviyelerde AP aktivitesi görülebilmekte, bu durum yalancı pozitif sonuç riskini doğurmaktadır(26). Öte yandan, AP testi spermatozoa hücresine değil, prostat sıvısındaki enzime dayandığı için, çalışmamızın odak noktası olan azospermik (spermatozoa içermeyen) ve vazektomili bireylerin örneklerinde de pozitif sonuç vermektedir. Ancak enzimin protein yapısında olması nedeniyle zamanla, ısıyla veya nemle bozulma olabilmesi, eski lekelerde testin güvenilirliğini azaltan önemli bir faktördür(16).

b) Prostat Spesifik Antijen (PSA/p30) ve İmmünokromatografik Testler

Prostat Spesifik Antijen (PSA), diğer adıyla p30, prostat bezinin asiner epitel hücreleri tarafından sentezlenen ve seminal plazmada yoğun olarak bulunan (0.5 – 3.0 mg/mL) bir glikoproteindir(27). Adli biyoloji laboratuvarlarında, asit fosfataz gibi tarama testlerinden pozitif sonuç alınan şüpheli lekelerin, insan semeni içerdiğini kesin olarak kanıtlamak amacıyla doğrulama testi olarak kullanılır. Günümüzde bu amaçla en yaygın kullanılan yöntem, gebelik testlerine benzer bir prensiple çalışan immünokromatografik kartuş testleridir. Bu yöntemde; leke ekstrakte edildikten sonra test kasetine damlatılır. Eğer örnekte PSA antijeni varsa, kaset içindeki mobil monoklonal antikorlarla birleşerek bir kompleks oluşturur ve test (T) bölgesinde gözle görülür bir renk bandı meydana getirir. Bu bandın oluşumu, lekenin kesinlikle semen olduğunu doğrular (28). PSA testinin adli incelemelerdeki en büyük avantajı, hedef molekülün

spermatozoa hücresi değil, seminal plazma içerisinde çözünmüş bir protein olmasıdır. Bu özellik, testin azospermik (sperm içermeyen) veya vazektomi operasyonu geçirmiş bireylerden kaynaklanan lekelerde de güvenle kullanılabilmesini sağlar. Yapılan çalışmalar, PSA testlerinin çok eski (30 yıla kadar) kurumuş lekelerde dahi pozitif sonuç verebildiğini göstermiştir(29). Ancak bu yöntemin dezavantajı, lekenin bulunduğu kumaştan küçük bir parçanın kesilmesini (destrüktif yöntem) ve suda çözdürülmesini gerektirmesidir. Ayrıca, çok yüksek yoğunluktaki taze semen lekelerinde, aşırı antijen yüklemesi nedeniyle testin yanlışlıkla negatif sonuç verdiği 'High Dose Hook Effect' (Yüksek Doz Kanca Etkisi) görülebilmektedir. Bu durum, antikorların aşırı antijenle doygunluğa ulaşması sonucu bant oluşumunun engellenmesinden kaynaklanır ve örneğin seyreltilerek tekrar çalışılmasını gerektirir (30).

c) Mikroskobik İnceleme

Adli serolojide bir lekenin semen olduğunu kanıtlamanın en kesin ve tartışmasız yolu, spermatozoa hücrelerinin mikroskop altında morfolojik olarak tanımlanmasıdır. Bu işlem, genellikle 'Christmas Tree' (Noel Ağacı) boyama yöntemi kullanılarak gerçekleştirilir. Bu teknikte kullanılan Nükleer Fast Red boyası, spermatozoa başlarını (çekirdek) kırmızı/pembe renge boyarken; Pikroindigokarmine boyası kuyruk ve boyun kısımlarını yeşil/mavi renge boyar. Mikroskobik incelemede kırmızı baş ve yeşil kuyruk yapısının bir arada görülmesi, başka hiçbir biyolojik materyalle karıştırılamayacak kadar spesifik bir görüntü oluşturur. Bu nedenle sitolojik inceleme, failin DNA kaynağını doğrudan göstermesi açısından adli tıpta 'Altın Standart' (Gold Standard) olarak kabul edilmektedir(5). Ancak mikroskobik incelemenin delil değeri, tamamen ejakülatın hücresel içeriğine bağımlıdır. Vazektomi operasyonu geçirmiş bireylerde veya testis patolojilerine bağlı azospermi vakalarında, ejakülat içerisinde spermatozoa hücresi bulunmaz. Bu tür durumlarda, olay yerindeki leke aslında biyokimyasal olarak semendir ancak mikroskop altında hücre görülemediği için sonuç negatif veya tespit edilemedi olarak raporlanabilir. Bu kısıtlılık, spermatozoa hücresi içermeyen ancak DNA profili elde edilebilecek epitel hücreleri barındıran lekelerin gözden kaçmasına neden olabilir. Dolayısıyla azospermik vakalarda mikroskopi yetersiz kalmakta ve lekenin tespiti için kimyasal testlere veya optik yöntemlere (Adli Işık Kaynakları) ihtiyaç duyulmaktadır (1).

d) Kumaş Üzerindeki Lekelerde DNA İzolasyonu, Genetik Analiz ve Kumaşlardan Biyolojik Materyalin Toplanması

Adli ışık kaynakları veya kimyasal testlerle yeri tespit edilen semen lekelerinin genetik analize tabi tutulabilmesi için öncelikle kumaş yüzeyinden laboratuvar ortamına aktarılması

gerekir. Kumaşın emiciliği, dokuma sıklığı ve iplik türü, spermatozoa hücrelerinin liflerin derinliklerine ne kadar hapsolacağını belirler. Literatürde en yaygın kullanılan örnek alma yöntemleri şunlardır:

- Kesme: Lekenin bulunduğu kumaş bölgesinin steril bir bistüri veya makas ile kesilerek doğrudan tüpe alınmasıdır. En yüksek DNA verimini sağlayan yöntemdir(31).
- Swab ile Alma: Lekenin steril su veya tampon çözelti ile ıslatılmış pamuk çubuklarla yüzeyden silinmesidir. Kumaşın bütünlüğünün korunması gereken durumlarda tercih edilir.
- Bant ile Kaldırma: Özellikle lifli ve pürüzlü yüzeylerdeki (örn: kadife, polar) yüzeysel hücresel materyali toplamak için kullanılır(32).

Semen lekelerinin DNA analizindeki en kritik aşama, spermatozoa hücrelerinin mağdura ait vajinal epitel hücreleri vb. diğer hücrelerden ayrıştırılmasıdır. Kumaş üzerindeki lekeler genellikle karışım halindedir. Bu ayrımı sağlamak için 1985 yılında Gill ve arkadaşları tarafından geliştirilen "Diferansiyel Ekstraksiyon" yöntemi altın standart olarak kullanılmaktadır (33). Bu yöntemin prensibi, spermatozoa hücresinin baş kısmındaki yoğun disülfit bağlarının (protaminler), diğer vücut hücrelerine göre kimyasallara çok daha dirençli olmasıdır. Kumaş örneği, Proteinaz K ve deterjan (SDS) içeren bir tamponla muamele edilir. Bu işlem epitelyal hücreleri patlatır ve DNA'larını açığa çıkarır, ancak spermatozoa çekirdeği sağlam kalır. Santrifüj yapılarak epitelyal DNA üst sıvıya (süpernatant), sağlam spermatozoalar ise dibe (pelet) çöktürülür. Elde edilen spermatozoa peleti, disülfit bağlarını kırmak için Dithiothreitol (DTT) adı verilen güçlü bir kimyasal ile muamele edilerek spermatozoa DNA'sı izole edilir (32). İzole edilen DNA'nın miktar tayini (Real-Time PCR / Quantifiler) yapıldıktan sonra, kimliklendirme için kısa tekrar dizileri (STR - Short Tandem Repeats) analizi uygulanır(31).

Adli genetikte kullanılan ticari kitler otozomal STR bölgelerini çoğaltarak kişiye özgü DNA profili oluşturulmasını sağlar(34). Spermatozoa hücresi içermeyen Azospermik semen lekelerinde ise, spermatozoa DNA'sı bulunmadığı için STR profili elde edilemez. Ancak, bu lekelerde seminal plazmadan kaynaklı eser miktarda epitel hücresi veya lökosit bulunması durumunda, düşük kopya sayılı (LCN) DNA analizi denenebilir, fakat başarı şansı düşüktür(35).

Kumaşlar, sadece biyolojik materyali taşıyan pasif bir zemin değildir; aynı zamanda içerdiği kimyasallarla DNA analizini engelleyebilen (inhibitör) bir yapıda olabilir. Özellikle kot (denim) kumaşlarında bulunan indigo boyası, deri (deri ceket vb.) ürünlerinde bulunan

tanenler ve sentetik kumaşlardaki bazı bitim işlemleri (apreler), PCR reaksiyonunda görevli Taq polimeraz enzimini bloke ederek analizin başarısız olmasına neden olabilir. Bu nedenle, kumaştan alınan örneklerde manyetik boncuk teknolojisi gibi inhibitörleri uzaklaştıran ileri saflaştırma yöntemlerinin kullanılması elzemdir (36).

H. Adli Işık Kaynaklarının Kullanımı ve Çalışma Prensibi

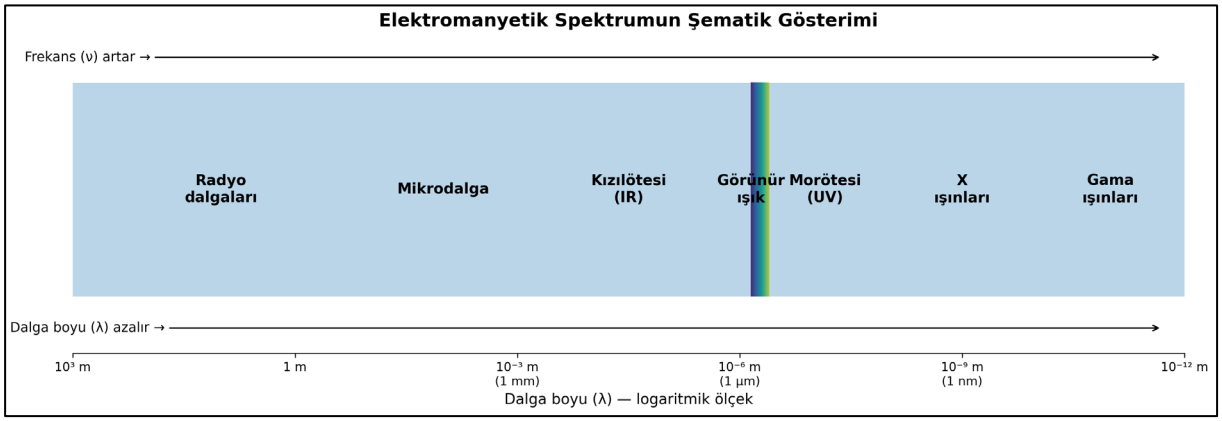
a) Işığın Özellikleri

Işık, uzayda dalga hareketi şeklinde yayılır. Bu dalga hareketi nedeniyle her ışık kaynağı; dalga boyu (wavelength), frekans (frequency) ve hız (speed) olmak üzere üç temel değişken ile tanımlanır. Bu üç değişken aşağıdaki eşitlik ile birbirleriyle ilişkilidir: $\lambda.\nu = c$

Bu eşitlikte "c", ışığın hızını (m/s) ifade etmektedir ve aynı ortam içerisinde ölçüldüğünde sabit bir değere sahiptir. Örneğin, vakum ortamında ölçülen herhangi bir ışık kaynağının hızı her zaman aynıdır. "λ", dalga boyunu (m) temsil eder ve ardışık iki dalga tepesi arasındaki mesafeyi ifade eder. "ν" ise frekans olup, birim zamanda meydana gelen dalga tepesi sayısını (cycle/s) tanımlar. Dalga boyu ile frekans arasında ters orantılı bir ilişki bulunmaktadır(37).

b) Elektromanyetik Spektrum

Her bir ışık türü, sahip olduğu dalga boyuna göre sınıflandırılmaktadır. Elektromanyetik spektrumun tamamı (elektromanyetik radyasyonun tüm frekans aralığı), X-ışınlarından (1–200 nm) başlayarak ısı enerjisine (2.000–12.000 nm) kadar uzanan geniş bir aralığı kapsamaktadır(Şekil 4). Görünür ışık ise yaklaşık 400–700 nm dalga boyu aralığında yer almakta olup, elektromanyetik spektrumun yalnızca küçük bir bölümünü oluşturmaktadır(38)



Şekil 4. Elektromanyetik Spektrum (Şekil yazar tarafından oluşturulmuştur)

Bir ışık kaynağı bir yüzeye yönlendirildiğinde, yüzey ile ışık arasındaki etkileşim sonucunda ortaya çıkan elektromanyetik radyasyon temel olarak dört farklı süreçle açıklanabilir: yansıma (reflection), iletim (transmission), soğurulma (absorption) ve daha uzun dalga boyunda yeniden ışık yayımı (emission). Yansıma, ışığın yüzeyden geri saçılması sonucu meydana gelmekte olup, gözlemci tarafından algılanan renk büyük ölçüde yansıyan ışığın dalga boyuna bağlıdır. Bir yüzeyin belirli bir renkte algılanması, diğer dalga boylarının soğurulması ve yalnızca ilgili dalga boyunun yansıtılması ile ilişkilidir. Bu bağlamda, beyaz renkli yüzeyler görünür spektrumun tamamına yakınını yansıtırken, siyah yüzeyler ışığın büyük bölümünü soğurarak minimum yansıma göstermektedir(39).

İletim, ışık ışınlarının cisim içerisinden geçmesi durumunda meydana gelir ve bu durum genellikle cismin saydam ya da yarı saydam (transparan veya translüsan) özellikte olması halinde gözlenir. Işık yayımı (emisyon) ise, ışık ışınlarının bir dalga boyundan daha uzun bir dalga boyuna dönüştürülmesiyle gerçekleşir. Bu dönüşüm sonucunda oluşan ışık, floresans olarak tanımlanır. Floresans olgusu, cisim aktif bir ışık kaynağına maruz kaldığı sürece kesintisiz olarak meydana gelebilmektedir(40). Floresans oluşumundan sorumlu olan kimyasal bileşikler floroforlar olarak adlandırılmaktadır. Floroforlar, kimyasal yapıları ve polaritelerine bağlı olarak radyasyonu soğurabilmekte ve daha uzun bir dalga boyunda ışık yayabilmektedir(41). Ortamdaki floroforlar, ışık kaynağının soğurulmasıyla uyarılmakta (excitation) ve bu uyarılmış hâlin ardından, başlangıçtaki temel enerji düzeylerine geri dönerken soğurdukları fazla enerjiyi daha uzun dalga boyunda ışık olarak açığa çıkarmaktadır. Floroforun uyarılmış hâlde sahip olduğu titreşimsel enerjiyi kaybetmesiyle birlikte, floresans emisyonu gözlenmektedir. Uyarım dalga boyu tepe noktası ile emisyon dalga boyu tepe noktası arasındaki fark Stokes kayması olarak tanımlanmaktadır (42). Floresans emisyonu, her zaman uyarıcı ışığa kıyasla daha uzun bir dalga boyunda meydana gelmektedir.

Yayılan floresans ışığının şiddeti, gelen uyarıcı ışığa göre görece daha zayıf olduğundan, floresansın gözlemlenebilmesi, ancak uyarıcı ışığın engellendiği bariyer filtreler aracılığıyla mümkün olmaktadır. Floroforlar, birden fazla dalga boyu ile uyarılabilmekte ve kullanılan uyarım ışığının dalga boyuna bağlı olarak farklı floresans özellikleri sergileyebilmektedir(4) (43). Bu kapsamda olay yeri inceleme personeli, alternatif ışık kaynakları (ALS) aracılığıyla belirli dalga boylarında aydınlatma yapabilmekte; farklı renk ve yoğunlukta bariyer filtrelerin birlikte kullanımıyla çok sayıda ışık–filtre kombinasyonu oluşturarak potansiyel delil niteliğindeki materyallerin tespitine katkı sağlayabilmektedir.

c) Ultraviyole Işık

Ultraviyole (Ultraviolet, UV) ışık, görünür ışığa kıyasla daha kısa dalga boyuna sahip olup herhangi bir renk bilgisi içermemektedir. UV ışıkla gerçekleştirilen aydınlatma, biyolojik materyallerde floresans ve fosforesans oluşumunu tetikleyebilme özelliğine sahiptir (44) Kısa dalga UV ışığı (shortwave UV; 180–254 nm), özellikle gece görüş özellikli optik sistemlerle birlikte kullanılarak, işlem görmemiş latent parmak izlerinin video görüntüleme sistemleri aracılığıyla tespit edilmesinde kullanılmaktadır. Uzun dalga UV ışığı (longwave UV; 365–415 nm) ise kan lekelerinin saptanmasında etkin bir dalga boyu aralığı olarak rapor edilmiştir(45).

Springer ve arkadaşları, UV ışık kaynağı kullanımıyla benzer renkteki bir zemin üzerinde bulunan hem renkli hem de renksiz lekelerin kolaylıkla ayırt edilebildiğini bildirmiştir(46).

Bununla birlikte, UV ışığın diğer alternatif ışık kaynaklarına kıyasla en önemli dezavantajı, yüksek enerji düzeyine sahip olmasıdır. Özellikle kısa dalga UV radyasyonu, kimyasal bağların kırılmasına ve biyolojik lekelerde bulunan DNA'nın zarar görmesine yol açabilmektedir. Uzun süre UV radyasyonuna maruz kalan biyolojik lekelerin zamanla bozulabildiği ve floresans özelliklerini kaybedebildiği bildirilmektedir(44).

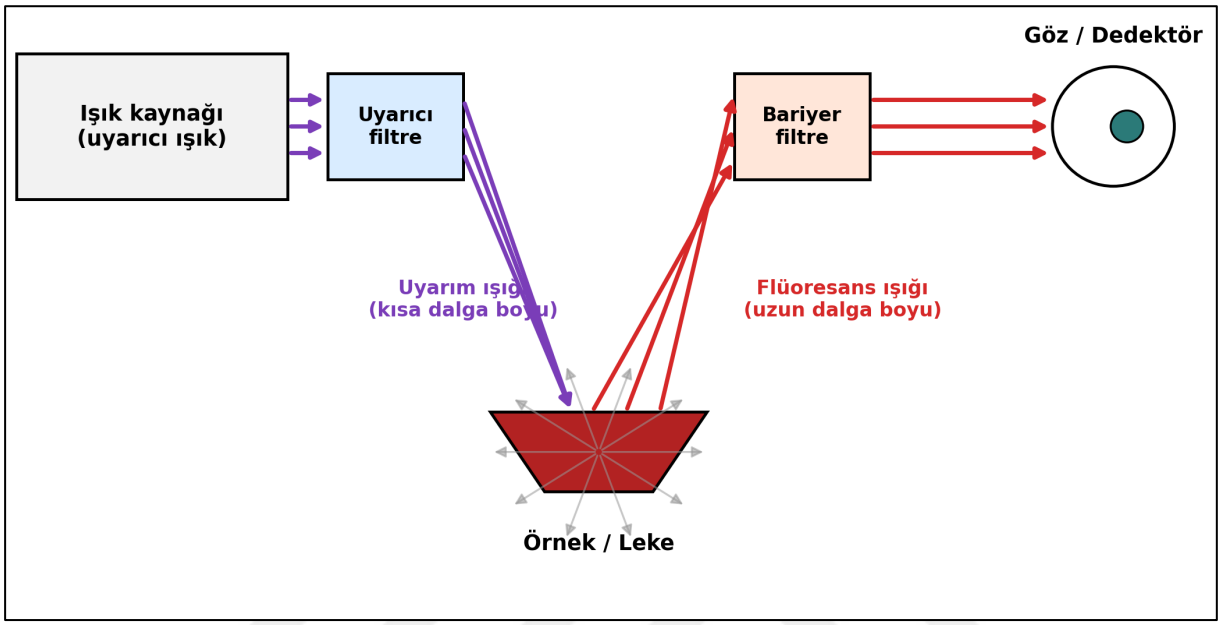
Santucci ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, uzun dalga UV ışık kaynağı olan Wood lambasının (Wood's lamp, WL; 320–400 nm), beyaz ve siyah pamuklu kumaşlar üzerindeki semen lekelerinin tespitinde yetersiz kaldığı gösterilmiştir(47). Çalışmada incelenen semen örneklerinin, ıslak ya da kuru olmalarına bakılmaksızın herhangi bir floresans oluşturmadığı rapor edilmiştir. Ayrıca Wood lambasının, diğer vücut sıvılarıyla test edildiğinde özgüllüğünün düşük olduğu ve merhem ile kremler gibi maddelerde yalancı pozitif sonuçlara neden olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, 450 nm dalga boyuna sahip bir alternatif ışık kaynağı olan Bluemaxx BM500 sisteminin, beyaz pamuklu kumaşlar üzerindeki tüm semen lekelerinin tespitinde pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir(44).

Bu bulgular, semen lekelerinin tespitinde UV ışığın sınırlılıklarını ve görünür-mavi dalga boylarına sahip alternatif ışık kaynaklarının önemini ortaya koymaktadır.

d) Renk Bariyer Filtreleri

Biyolojik lekelerde oluşan floresans emisyonunun görselleştirilebilmesi, renk bariyer filtreleri kullanılmaksızın mümkün değildir. Uyarıcı ışık, bir yüzey üzerine yönlendirildiğinde

ışığın yalnızca bir bölümü yüzeyde bulunan floroforlar tarafından soğurulmakta; soğurulmayan ışık ise dalga boyu değişmeden yansıtılmaktadır(48). Renk ve yoğunluk bakımından farklılık gösteren bariyer filtreler, bu yansıyan uyarıcı ışığı bloke ederek, yalnızca daha uzun dalga boyunda yayılan floresans ışığın algılanmasını sağlamaktadır (Şekil 5).



Şekil 5: Işığın Uyarıcı ve Bariyer Filtre ile Yayılımı (Şekil yazar tarafından oluşturulmuştur.)

Uygun bariyer filtrenin kullanılması, alternatif ışık kaynağından (Alternate Light Source, ALS) gelen uyarıcı ışığın engellenmesini sağlayarak, yayılan floresans ışığın görünürlüğünü belirgin biçimde artırmaktadır. Buna karşılık, dalga boyu ile bariyer filtre seçiminin hatalı yapılması durumunda, floresans sinyali maskelenebilmekte ve leke tespit edilememektedir(49).

Gardner'a göre, insan derisi üzerindeki ısırık izleri ve ekimozların araştırılmasında sarı bariyer filtre ile kullanılan mor ışık (415–485 nm) en etkili kombinasyonlardan biridir. Mavi ışık (455–520 nm) ile yapılan aydınlatmanın ise çoğu biyolojik sıvı, lif ve kılın floresans göstermesine neden olduğu, bu floresansın turuncu bariyer filtre kullanılarak gözlemlenebildiği bildirilmektedir. Ayrıca turuncu/kırmızı ışık (570–700 nm) ile kırmızı bariyer filtre kullanımının, delil niteliğindeki nesneler üzerinde bulunan mürekkep izlerinin görüntülenmesinde etkili olduğu belirtilmektedir (50).

Hooker ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, spektrofotometre kullanımının, uygun renk bariyer filtrenin seçimini optimize edebileceği sonucuna varılmıştır.

Leke ile zemin arasındaki kontrastın yetersiz olduğu durumlarda, daha yüksek kontrast sağlayan bir interferans filtrenin tercih edilmesiyle ek detayların elde edilebileceği bildirilmiştir(51). Bu yaklaşım, özellikle beyaz ve açık renkli kumaşlar üzerinde düşük kontrastlı semen lekelerinin multispektral sistemler yardımıyla daha etkin biçimde belgelenmesi açısından önem taşımaktadır.

e) Substratın Floresans Üzerindeki Etkisi

Biyolojik materyallerin depolandığı substratın özellikleri, lekenin görünürlüğünü potansiyel olarak maskeleyebilmektedir. Fiedler ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, taşınabilir adli ışık kaynağı Lumatec Superlight 400 kullanılarak, geniş bir dalga boyu spektrumu altında giysiler üzerindeki semen ve tükürük lekeleri incelenmiştir. Çalışmada, semen ve tükürük miktarının, leke ıslak olduğu sürece görünür olduğu bildirilmiştir(52). Bununla birlikte, floresans tespitini etkileyen en önemli faktörün kumaş rengi olduğu; koyu renkli kumaşların ışığı absorbe ederek biyolojik materyalin tespit edilme olasılığını azalttığı vurgulanmıştır. Saf siyah kumaşlar üzerinde bulunan lekelerin, 320–700 nm aralığındaki uyarım dalga boylarında görünür olmadığı rapor edilmiştir. Buna karşın, çalışmada test edilen kumaş türlerinin (pamuk, polyester, poliamid ve spandeks) floresans üzerinde belirgin bir etki oluşturmadığı belirtilmiştir.

Seidel ve arkadaşları, 320–700 nm aralığında çalışan bir cıva ark lambası (mercury-arc lamp) kullanarak, sırlı seramik, cam, PVC, ahşap, metal, taş, laminant, halı ve pamuk gibi farklı yüzeyler üzerinde seri seyreltilmiş semen örneklerinin tespit edilebilirliğini araştırmıştır. Çalışma sonucunda, 415 nm dalga boyundaki mor ışık ve turuncu bariyer filtre kombinasyonu altında semen lekelerinin sarı-yeşil tonlarında floresans oluşturduğu belirlenmiştir. Semen lekelerinin laminant yüzeyinde 1:100 seyreltmeye kadar gözlemlenebildiği; diğer yüzeylerde ise 1:10 seyreltmenin ötesinde görünür bir floresans tespit edilemediği bildirilmiştir(53).

f) Floresan Parlatıcılar

Floresan parlatıcılar; deterjanlar, yumuşatıcılar, sabunlar, tekstil ürünleri ve diş macunları gibi birçok günlük üründe yaygın olarak bulunan bileşenlerdir. Yaygın deterjanlarla tekrar tekrar yıkanan kumaşlarda, zaman içerisinde tespit edilebilir düzeyde floresan parlatıcı birikimi meydana gelmektedir (54). UV ışık varlığında floresan parlatıcılar iki temel sürece uğramaktadır: fotodegradasyon ve fotoizomerizasyon. Fotodegradasyon, bir molekülün foton

etkisiyle daha düşük molekül ağırlıklı parçalara ayrılması olarak tanımlanmaktadır ve bu süreç floresan parlatıcının floresans özelliğini kaybetmesine neden olmaktadır(55).

Fotoizomerizasyon ise fotodegradasyonun bir türü olup, cis ve trans izomerlerinin oluşumuyla karakterizedir. Cis izomeri floresans üretmezken, trans izomeri aydınlatmadan sonra birkaç saniye boyunca görünür bir floresans sergilemekte ve zamanla sönümlenmektedir. Alternatif ışık kaynakları (ALS), daha uzun dalga boyları ve daha düşük enerji seviyeleri nedeniyle fotodegradasyon oluşturmamaktadır. Bu nedenle, UV dışındaki ışık kaynakları kullanılarak yapılan floresans incelemelerinde, floresan parlatıcılardan kaynaklanan sinyallerin dikkate alınması gerekmektedir(54).

g) Yıkamanın Etkisi

Kobus ve arkadaşları yıkamanın semen lekelerinin floresans şiddeti üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışma sonuçları, eski semen lekelerinin, yıkama sonrasında daha yeni lekelerle karşılaştırıldığında daha güçlü floresans gösterebileceğini ortaya koymuştur. Bu durumun olası açıklaması, semen içerisindeki floresan bileşenlerin zamanla uzaklaştırılmaya karşı daha dirençli hâle gelmesidir. Aynı kumaşlar, asit fosfataz (AP) reaktifi kullanılarak da test edilmiştir. Yıkama sonrasında zayıf floresans gösteren semen lekelerinin AP testi açısından negatif sonuç verdiği bildirilmiştir(56).

Buna karşılık, Vandenberg ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada, deterjan kullanılmaksızın soğuk suyla yapılan nazik bir makine yıkaması sonrasında, beyaz polyester üzerindeki seminal lekenin Polilight® ile yapılan incelemede negatif sonuç verdiği rapor edilmiştir(4). Bu bulgu, semen floresansının basit bir yıkama işlemiyle tamamen ortadan kalkabileceğini düşündürmektedir.

h) Alternatif Işık Fotoğrafçılığı

Olay yeri inceleme uzmanları; parmak izleri, alet izleri, ısırık izleri, kan sıçrama paternleri ve ayakkabı izi gibi çok sayıda delil türünü belgelemek amacıyla adli fotoğrafçılık tekniklerinden yararlanmaktadır. Yakın plan fotoğrafların, kimliklendirme amacıyla kullanılabilmesi için inceleme kalitesinde olması gerekmektedir. Olay yeri fotoğrafçılığına benzer şekilde, alternatif ışık kaynaklarıyla yapılan fotoğrafçılık da fiziksel stabilite, ışık kontrolü ve alan derinliği gibi parametrelere bağlıdır. Kameranın zor bir açıdan tutulması gereken durumlarda tripod kullanımı önerilmektedir(57).

Işık miktarı, olay yeri koşullarında sıklıkla sınırlayıcı bir faktördür. Aşırı ışık kullanımı fotoğraflarda yanık alanlar oluşmasına yol açarken, yetersiz ışık ise görüntü netliği ve detay kaybına neden olmaktadır. Geleneksel olay yeri fotoğrafçılığında tutarlı aydınlatma sağlamak amacıyla sıklıkla dahili flaş kullanılmaktadır(58). Buna karşılık, floresans emisyonunun kaydedildiği ALS fotoğrafçılığında aktif ışık kaynağı olarak doğrudan ALS kullanılmaktadır(4).

Alan derinliği, ALS fotoğrafçılığında dikkate alınması gereken bir diğer önemli parametredir. Alan derinliği, fotoğraf üzerinde kabul edilebilir netlikte görünen bölgeyi ifade eder ve diyafram açıklığı (f-stop) ile kontrol edilmektedir. Geniş diyafram açıklığı (küçük f-stop değeri) dar alan derinliği oluştururken, dar diyafram açıklığı (büyük f-stop değeri) daha geniş bir alan derinliği sağlamaktadır. Lens, f-stop değeri değiştirilerek görüntünün farklı bölgelerine odaklanabilmektedir. Renk bariyer filtreleri kamera lensine takılmakta ve renkli gözlükler benzeri bir işlev görmektedir. İnceleme kalitesinde bir fotoğraf elde edilebilmesi için tüm görüntünün net olması arzu edildiğinden, uygun f-stop değerinin seçimi kritik öneme sahiptir(59).

Işık kaynağı ile obje arasındaki mesafe de önemli bir değişkendir. Lincoln ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, insan derisi dâhil olmak üzere tüm yüzeylerde floresans görünürlüğünün, ışık kaynağının hedef yüzeye yaklaştırılmasıyla arttığı bildirilmiştir. Buna karşın, ışık kaynağının yüzeye göre açısının floresans görünürlüğü üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir(60).

i) Seminal Sıvıda Floresans

Semen lekelerinin görselleştirilmesinde UV ışık kullanımının köklü bir geçmişi bulunmakla birlikte, seminal sıvıda floresansa neden olan bileşenler üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Adli analizlerde semen varlığının değerlendirilmesinde genellikle seminal asit fosfataz, spermatozoa ve prostat spesifik antijenler temel parametreler olarak kullanılmaktadır(61). Flavinler, mavi ışığı absorbe edebilen protein grubu bileşikler olup floresans özellikleri ilk kez 1959 yılında tanımlanmıştır. Flavinler üzerine gerçekleştirilen ilk çalışmada, boğa semeninin kullanıldığı bildirilmiştir (62). Flavinler, suda çözünebilen küçük moleküller olup 460–530 nm dalga boyu aralığında floresans yaymaktadır (63)(64). White ve arkadaşlarına göre, UV ışıkla uyarılan örneklerde gözlenen yeşilimsi floresans,

spermatozoalardan ziyade seminal plazma ile ilişkilidir(62). Riboflavin, flavinin fosforile formu olup, Kodentsova ve arkadaşları insan seminal plazmasındaki riboflavin konsantrasyonunun kan plazmasına kıyasla 3 ila 50 kat daha yüksek olduğunu ve bu düzeyin doğrudan vitamin B2 alımı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir(65).

Son yıllarda flavinlerin ışıkla indüklenen indirgenmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Aerobik koşullarda flavin stabilitesini korurken, elektron vericilerin varlığında flavin zamanla tamamen indirgenmiş forma dönüşmektedir. Bu ışıkla indüklenen indirgenme reaksiyonunun, mutagenez gibi çeşitli biyolojik etkilerden sorumlu olduğu belirtilmiştir (63). Bununla birlikte, flavinlerin seminal sıvıdaki floresansın tek kaynağı olup olmadığı hâlen netlik kazanmamıştır.

III.GEREÇ VE YÖNTEM

A. Biyolojik Örneklerin Temini ve Seçim Kriterleri

Bu tez çalışması, insan kaynaklı biyolojik materyal kullanımı içerdiğinden, İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'na başvurulmuş ve 15.09.2024 tarihli, 2864897 sayılı karar ile etik kurul onayı alınmıştır (Ek-1). Çalışmaya biyolojik örnek (semen) vererek katılan tüm gönüllülerden, çalışma protokolü hakkında detaylı bilgi verildikten sonra 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' imza altına alınmıştır. Çalışmanın tüm aşamaları, Dünya Tabipler Birliği Helsinki Bildirgesi prensiplerine ve İyi Klinik Uygulamalar (GCP) kılavuzuna uygun olarak yürütülmüştür.

Çalışma grubu, toplam 32 adet insan semen örneğinden oluşturulmuştur. Çalışma grubumuz İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Androloji Kliniği'ne başvuran ve seminal analiz için örnek veren olguların seminal sıvı örnekleri alınarak oluşturulmuştur. Kumaşlara nüfuz ettirildikten sonra örnekler biyolojik örnek imha kurallarına uyularak imha edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan numuneler Dünya Sağlık Örgütü (WHO) laboratuvar kriterlerine göre sınıflandırılmış olup, 16 adet Normospermik ve 16 adet Azospermik örnekten oluşmaktadır. Çalışmaya dahil edilen tüm örneklerin seçiminde standardizasyonu sağlamak amacıyla aşağıdaki dahil etme kriterleri uygulanmıştır:

- Hacim (Volüm): Deneysel uygulamada yeterli materyal sağlanması amacıyla, semen hacmi 2.5 mL ve üzerinde olan örnekler tercih edilmiştir.
- Viskozite: Lekelerin kumaş üzerindeki yayılım davranışının benzer olması için, hiperviskozite göstermeyen, normal likefaksiyon süresine ve normal viskoziteye sahip örnekler kullanılmıştır.
- Hücresel Doğrulama: Azospermik olarak etiketlenen örneklerin tamamında, santrifüj sonrası yapılan mikroskobik incelemelerde spermatozoa hücresine rastlanmadığı kesin olarak teyit edilmiştir. Normospermik grupta ise spermatozoa konsantrasyonunun standart referans değerlerin üzerinde olduğu doğrulanmıştır.

B. Tekstil Materyalleri (Zemin Özellikleri)

Semen lekelerinin tespiti ve floresans karakteristiklerinin incelenmesi amacıyla, günlük hayatta giyim sektöründe en sık karşılaşılan lif türlerini temsil eden 5 farklı tipte beyaz renkli kumaş kullanılmıştır. Zemin renginin floresans üzerindeki etkisini minimize etmek ve kontrol

edilebilir bir değişken oluşturmak adına tüm kumaşlar beyaz renkte seçilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm kumaş örneklerinin kalınlıkları dijital kumaş kalınlık ölçer (mikrometre) ile ölçülmüş; deneylerde kalınlıkları birbirine yakın değerlerde olan kumaşlar seçilerek kullanılmıştır. Böylece kumaş kalınlığına bağlı emilim farklılıklarının sonuçlar üzerindeki olası etkisi azaltılarak değişkenler standardize edilmiştir. Çalışmada kullanılan kumaş türleri ve içerik oranları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1: Kumaşların tekstil özellikleri

Lif tipi / içeriği	Renk	Özellik
%100 Pamuk (Cotton)	Beyaz	Doğal selülozik lif
%100 Polyester	Beyaz	Sentetik lif
%100 İpek (Silk)	Beyaz	Doğal protein esaslı lif
%100 Viskon (Viscose)	Beyaz	Rejenere selülozik lif
Karışım (%60 Pamuk – %40 Polyester)	Beyaz	Karışım (miks) lif

C. Görüntüleme Sistemi: Forenscope® Multispektral Adli Muayene Sistemi

Çalışmamızda, biyolojik lekelerin yüzey üzerinde tespiti, detaylı analizi ve belgelenmesi amacıyla Forenscope® Multispektral Adli Muayene Sistemi (Forenscope, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Bu sistem; gelişmiş optik lens donanımı, yüksek hassasiyetli görüntü sensörü ve bu donanımları kontrol eden bütünleşik bilgisayar yazılımından oluşan profesyonel bir görüntüleme ünitesidir.

Sistem, Ultraviyole (UV-A, UV-B, UV-C) bandından başlayarak Görünür Işık (VIS) ve Kızılötesi (IR) spektrumuna kadar uzanan geniş bir dalga boyu aralığında (örneğin; UV, Violet, Blue, Cyan, Green, Orange, Red, IR) aydınlatma kapasitesine sahiptir. Cihazın en önemli teknik avantajı, seçilen dalga boyuna uygun olan bariyer filtrenin, bilgisayar kontrolüyle otomatik olarak lensin önüne getirilmesidir. Bu teknoloji, manuel filtre değişiminden kaynaklanabilecek zaman kaybını ve hata payını ortadan kaldırarak, lekenin anlık olarak yüksek çözünürlüklü ekran üzerinde izlenmesine olanak tanır.

Çalışmamız kapsamında, özellikle semen lekelerinin tespiti için sistemin 'Mavi Işık' (Blue Band, 440-460 nm) aydınlatma modu tercih edilmiştir. Bu mod aktif edildiğinde, sistem otomatik olarak 550 nm (Turuncu) bariyer filtresini devreye sokarak, semendeki flavinlerin yaydığı floresans görüntüsünü arka plan yansımasından izole etmektedir. Elde edilen

görüntüler, sistemin bilgisayar ünitesinde 4K çözünürlükte işlenmiş ve dijital arşivleme standartlarına uygun olarak kayıt altına alınmıştır.

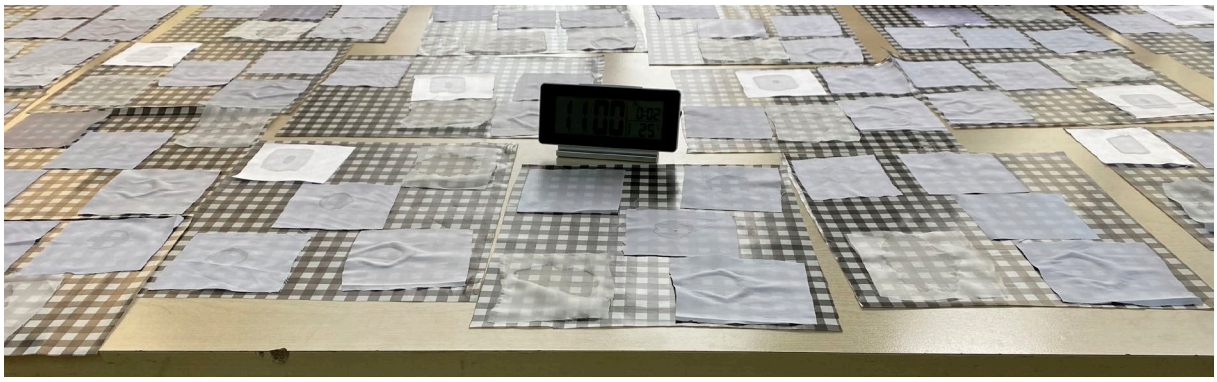
D. Deneysel Prosedür ve Görüntüleme Protokolü

Çalışmada kullanılan 5 farklı kumaş türü, uygulama alanını standardize etmek amacıyla 10x10 cm boyutlarında kare parçalar halinde kesilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan kumaş örnekleri düz ve temiz bir muşamba üzerine yerleştirilerek kontaminasyon ve yüzeyden emilim riskine karşı önlemler alınmıştır (Fotoğraf 1)



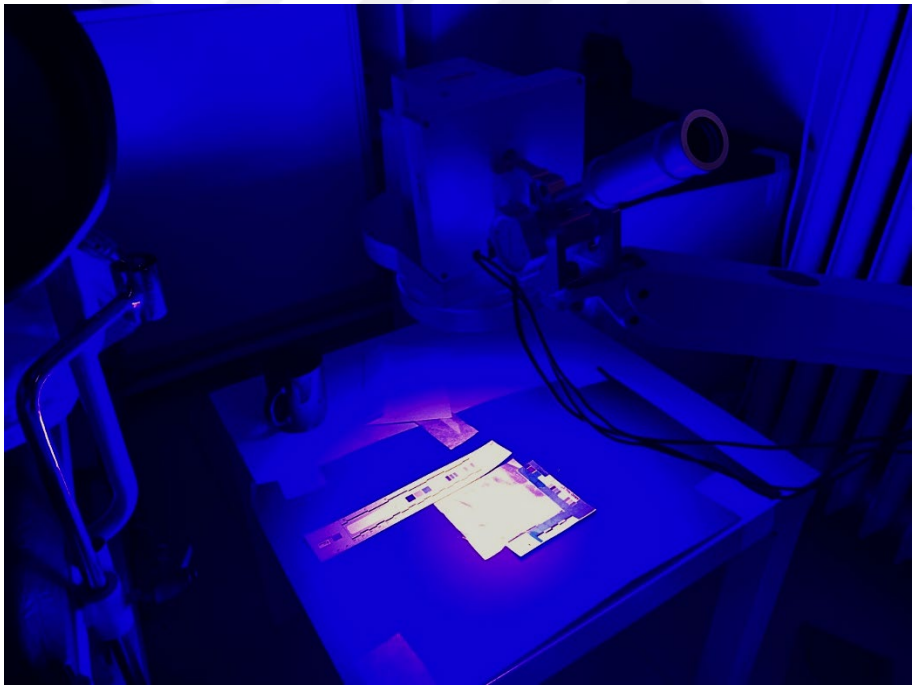
Fotoğraf 1. Düz ve Temiz Muşamba Üzerine Yerleştirilen Kumaşlar / Örnekler

Biyolojik materyalin kumaşlara uygulanması aşamasında, insan hatasını minimize etmek ve miktar standardizasyonunu sağlamak amacıyla hassas mikropipet kullanılmıştır. Her bir kumaş örneğinin tam orta noktasına, 0.5 mL (500 µL) hacminde semen örneği dikey pozisyonda damlatılmıştır. Uygulama sırasında, lekenin kumaş üzerindeki yayılım alanını etkileyebilecek olan damlatma hızı ve yüksekliği tüm örnekler için sabit tutulmuştur. Bu prosedür hem normospermik hem de azospermik örneklerin tamamı için aynı çevre koşullarında ve aynı anda tekrarlanmıştır. Örnekler toplandıktan sonra -18^0 °C'de muhafaza edilmiştir. Analiz öncesinde örneklerin eş zamanlı çözünmesini sağlamak amacıyla oda sıcaklığına alınmış, çözünmenin tamamlanmasının ardından kumaş yüzeylerine eş zamanlı olarak uygulanmıştır. İlk görüntülemenin gerçekleştirileceği 4. saate kadar örnekler oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Fotoğraf 2).



Fotoğraf 2. Düz ve Temiz Muşamba Üzerinde Kurumaya Bırakılan Kumaşlar / Örnekler

Floresans görüntüleme işlemlerinin tamamı, ortam ışığından kaynaklanabilecek optik gürültüyü ve hatalı pozlamayı engellemek amacıyla tamamen karanlık bir odada gerçekleştirilmiştir. Kumaş örnekleri, zemin yansımasını minimize etmek ve leke kontrastını maksimize etmek için mat siyah karton zemin üzerine yerleştirilmiştir(Fotoğraf 3).



Fotoğraf 3. Görüntülemenin Yapıldığı Karanlık Oda ve Multispektral Adli Muayene Sistemi Forenscope®

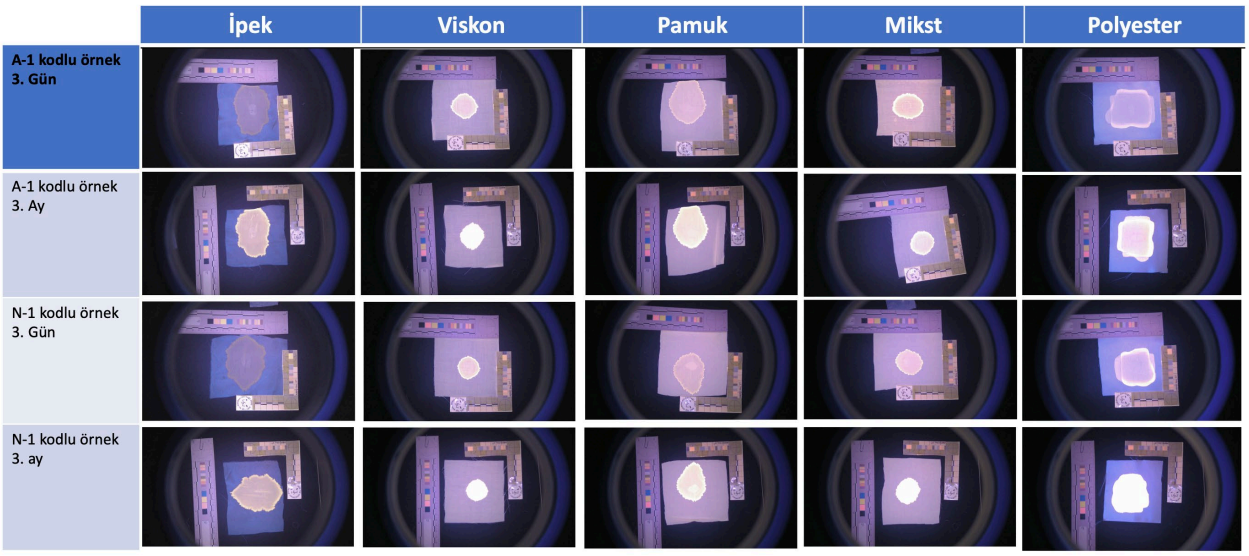
Görüntülerin mekansal kalibrasyonunun sağlanması ve leke boyutlarının dijital ortamda doğru ölçülebilmesi amacıyla, her bir kumaş örneğinin yanına dikey ve yatay eksende referans oluşturacak iki adet metrik cetvel konumlandırılmıştır. Fotoğraflama mesafesi ve açısı, bu cetveller referans alınarak her çekimde sabit tutulmuştur.

Lekelerin kuruması ve çevresel faktörlere maruz kalmasıyla oluşabilecek floresans değişimlerini izlemek amacıyla uzun vadeli bir takip çizelgesine sadık kalınmıştır. Örnekler, oda sıcaklığında doğrudan ışığa maruz kalmayacakları şekilde doğal kurumaya bırakılmış ve ilk görüntüleme işlemi uygulamanın 4. saatinde gerçekleştirilmiştir. Takip eden süreçte, lekelerin yaşlanma etkilerini belgelemek amacıyla Multispektral Adli Muayene Sistemi-Forenscope® cihazı ile şu zaman aralıklarında seri fotoğraflama yapılmıştır:

- Akut Dönem: 4. Saat, 18. Saat
- Erken Dönem: 3. Gün, 4. Gün, 8. Gün
- Orta Dönem: 16. Gün, 1. Ay
- Geç Dönem: 3. Ay, 6. Ay

Elde edilen tüm görüntülerde, cihazın sabit açısı ve sabit ışık şiddeti korunmuş; böylece zaman içinde leke parlaklığında (intensite) meydana gelen değişimlerin objektif olarak karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Fotoğraf 4. Aynı örneğin farklı zamanlarda çekilmiş fotoğrafları



E. Görüntü Analizi ve Veri İşleme: ImageJ™

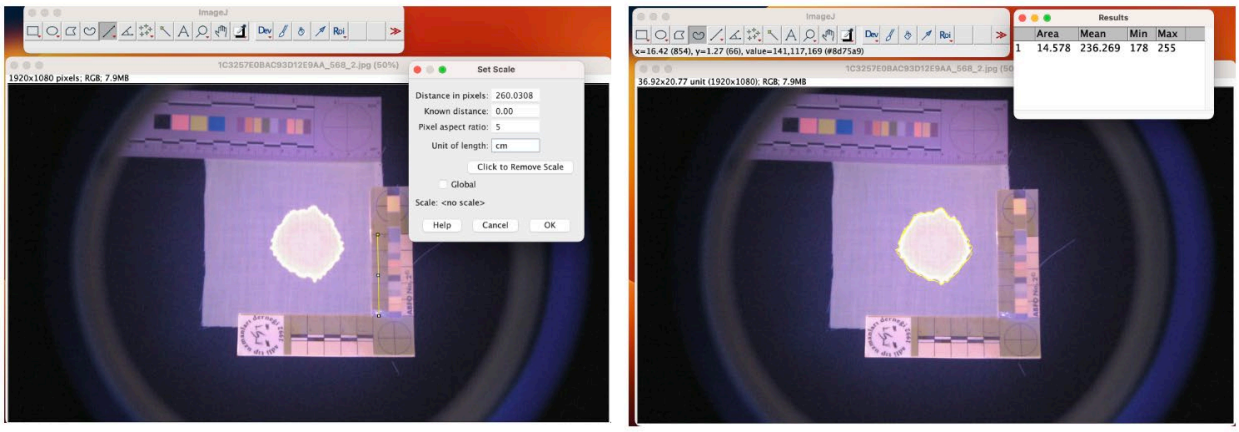
Forenscope multispektral adli muayene sistemi kullanılarak elde edilen yüksek çözünürlüklü dijital görüntülerin leke alanı ve leke floresans şiddetinin nicel olarak ölçülmesi amacıyla ImageJ™ programı kullanılmıştır. ImageJ™ (v1.54), Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüleri (National Institutes of Health, NIH) tarafından geliştirilmiş, kamuya

açık bir görüntü işleme yazılımıdır. Program; 8-bit, 16-bit ve 32-bit görüntülerin görüntülenmesi, düzenlenmesi ve analiz edilmesine olanak sağlamaktadır.

Verilerin doğruluğunu ve standardizasyonunu sağlamak amacıyla şu analiz protokolleri izlenmiştir:

1. Mekansal Kalibrasyon: Ölçümlere başlamadan önce, her fotoğrafta yer alan metrik cetvel referans alınarak 'Set Scale' fonksiyonu kullanılmış ve görüntüdeki piksel değerleri gerçek fiziksel uzunluğa (cm) dönüştürülmüştür. Sonrasında serbest seçme yöntemiyle (Freehand selection) seçilen alanın cm^2 cinsinden değeri (Measure) bulunmuştur. İstatistiksel analiz yapılırken cm^2 cinsinden bulunan değerler 10 ile çarpılarak virgülden kurtarılmıştır ve virgülden sonraki değer ihmal edilmeden analiz yapılmıştır.

Fotoğraf 5. ImageJ Set Scale fonksiyonu ile mekânsal kalibrasyon



2. Net Floresans Şiddeti ve Arka Plan Düzeltmesi: Farklı kumaş türlerinin ışığı yansıtma kapasiteleri birbirinden farklıdır. Bu durumun yaratacağı ölçüm hatasını engellemek amacıyla 'Arka Plan Çıkarma' (Background Subtraction) yöntemi uygulanmıştır. Arka plan düzeltmesi, ImageJ yazılımında bulunan Rolling Ball algoritması kullanılarak gerçekleştirilmiş ve böylece görüntüdeki homojen olmayan aydınlatma ile kumaş dokusundan kaynaklanan düşük frekanslı arka plan sinyalleri giderilmiştir. Semen lekelerinin kumaş yüzeyinde düzensiz ve heterojen bir dağılım göstermesi nedeniyle, leke sınırlarının daha doğru temsil edilebilmesi için ROI (Region of interest) belirlemede freehand (serbest çizim) aracı tercih edilmiştir. ROI sınırları iki bağımsız araştırmacı tarafından çizildi, ölçümler arasındaki uyum Cohen's Kappa ile değerlendirildi ve güçlü uyum bulundu (κ=0,81, $p<0,001$). Her görüntü üzerinde iki farklı ölçüm yapılmıştır:

ROI_{Leke} (Mean Gray Value -Leke): Semen lekesinin sınırları içerisindeki ortalama parlaklık değeri.

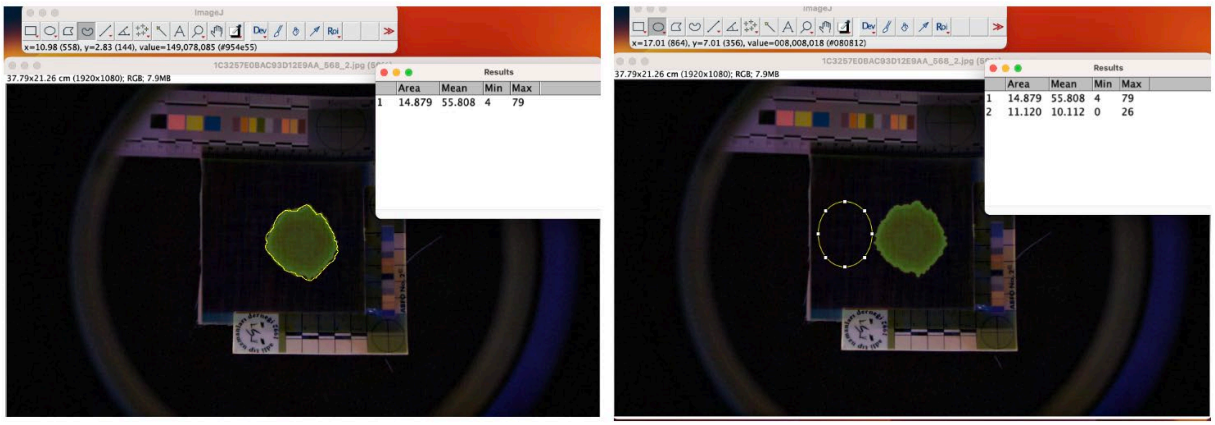
ROI_{Zemin} (Mean Gray Value-Zemin): Aynı kumaş üzerinde leke bulunmayan, temiz yüzeyin ortalama parlaklık değeri.

Hesaplama: Analizlerde kullanılan nihai veri, leke parlaklığından zemin parlaklığının çıkarılmasıyla elde edilen net fark değeridir.

Mean Gray Value= ROI_{Leke} (Mean Gray Value -Leke) - ROI_{Zemin} (Mean Gray Value-Zemin)

Bu yöntem sayesinde, kumaşın kendi dokusundan veya renginden kaynaklanan optik gürültü veriden arındırılmış ve sadece biyolojik lekeye ait gerçek floresans şiddeti tespit edilmiştir.

Fotoğraf 6. Background Subtraction ve Mean Gray Value ölçümü



F. İstatistiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi IBM SPSS Statistics 31.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA, İstanbul Üniversitesi Lisanslı) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Verilerin analizinde parametrik test yöntemleri tercih edilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli değişkenler için ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (SS), kategorik değişkenler için sayı (n) ve yüzde (%) olarak ifade edilmiştir.

Çalışmanın hipotezlerini test etmek amacıyla aşağıdaki istatistiksel yöntemler uygulanmıştır:

1. Gruplar Arası Karşılaştırma: Normospermik ve Azospermik gruplar arasında, leke yüzey alanı (Area-cm^2) ve floresans yoğunluğu (Mean Gray Value) bakımından anlamlı bir fark olup olmadığının belirlenmesinde Bağımsız Örneklem t-testi (Independent Samples t-test) kullanılmıştır.

2. Kumaş Türlerinin Karşılaştırılması: Beş farklı kumaş türü (viskon, ipek, pamuk, polyester, mikst) arasındaki farkların analizinde Tekrarlı Ölçümler için Karma Varyans Analizi (Mixed Design ANOVA) kullanılmıştır. Varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı fark saptandığında ($p < 0.05$), farkın hangi kumaş türlerinden kaynaklandığını belirlemek amacıyla çoklu karşılaştırma (post-hoc) testlerinden Tukey HSD **(Honestly Significant Difference)** testi kullanılmıştır.

3. Zamana Bağlı Değişim Analizi: Örneklerin 4. saatten 6. aya kadar olan süreçteki floresans yoğunluğu değişimlerinin ve zamanın etkisinin incelenmesinde Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi (Repeated Measures ANOVA) ve ikili zaman karşılaştırmalarında Eşleştirilmiş t-testi (Paired Samples t-test) kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizlerde güven aralığı %95, anlamlılık düzeyi ise $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. $p < 0.001$ düzeyindeki değerler ileri düzeyde anlamlılık olarak değerlendirilmiştir.

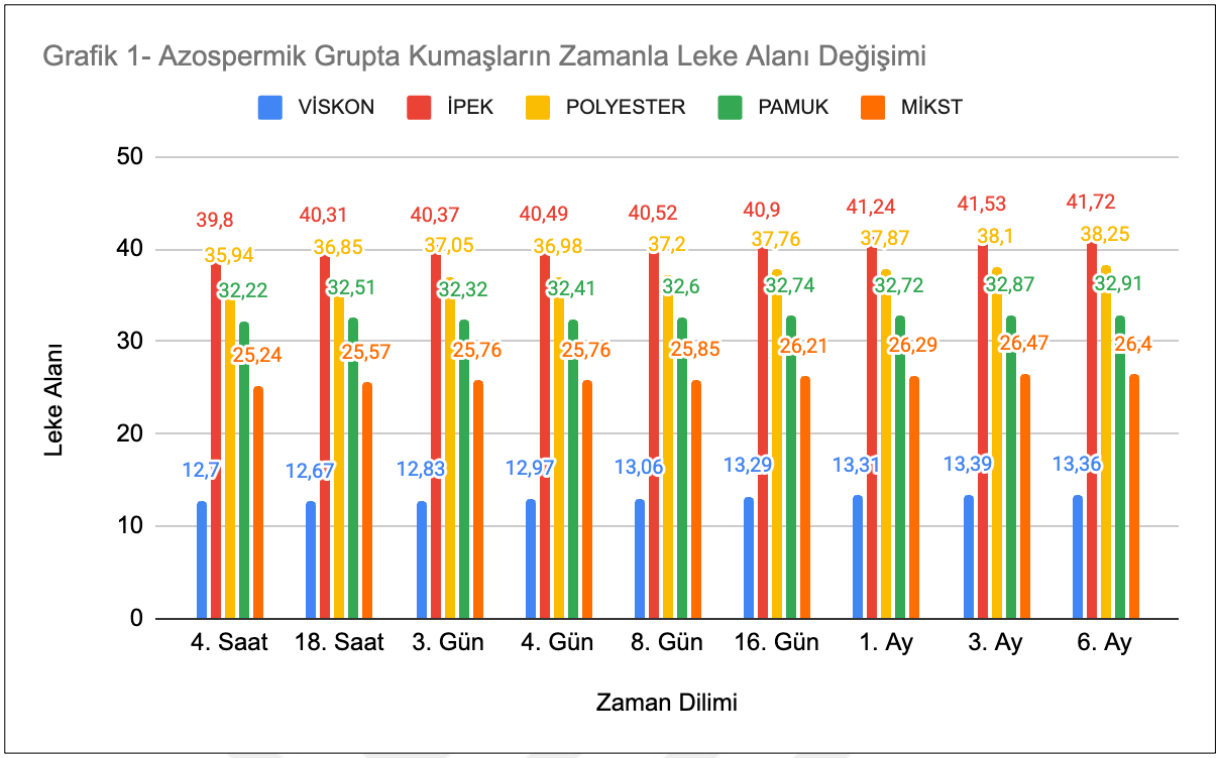
IV. BULGULAR

Bu çalışmada, 16'sı azospermik ve 16'sı normospermik olmak üzere toplam 32 olgudan alınan biyolojik materyaller kullanılmıştır. Örnekler beş farklı tekstil yüzeyine uygulanarak 4. saat ile 6. ay arasındaki dokuz farklı zaman diliminde Multispektral Adli Muayene Sistemi ForenScope® kullanılarak görüntülenmiştir. Görüntü analizi aşamasında ImageJ™ yazılımı kullanılmış; lekelerin optik yoğunluk (Mean Gray Value) ve yayılım alanı (Area-cm^2) verileri elde edilerek gruplar arası ve zamana bağlı değişimler istatistiksel yöntemlerle analiz edilmiştir.

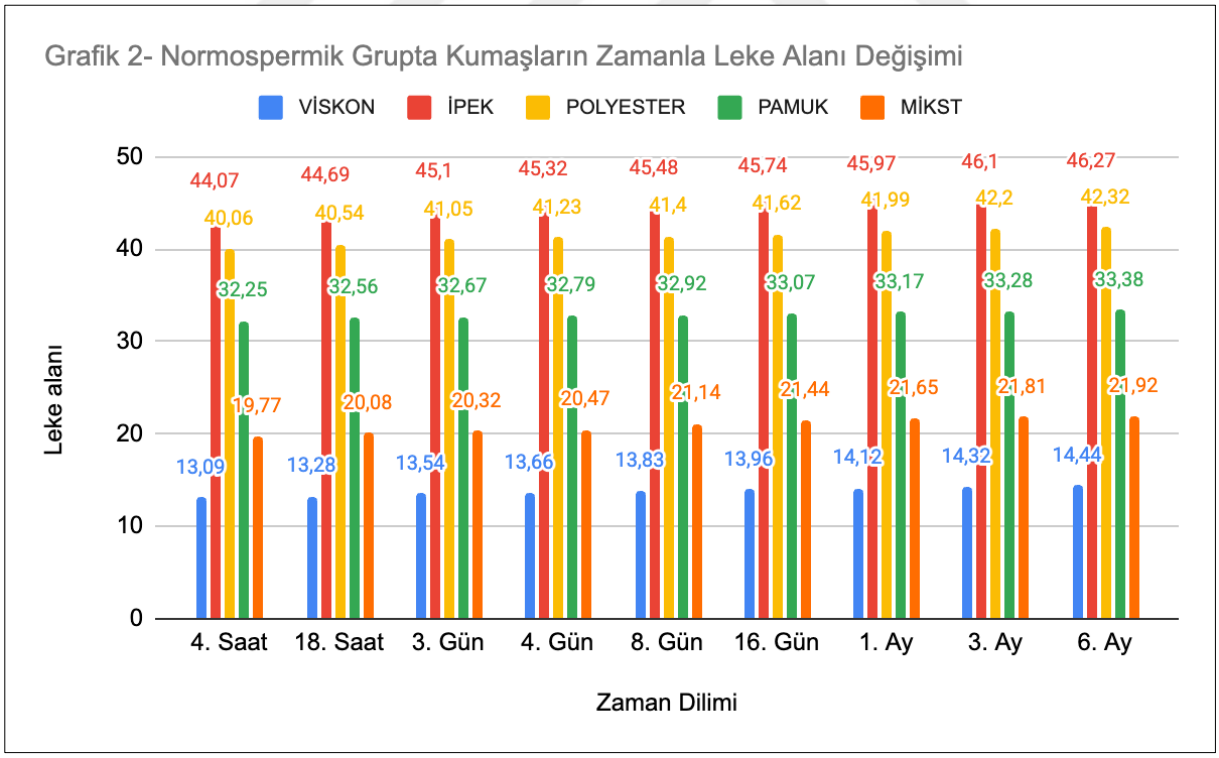
A. Seminal Leke Alan Analizi Sonuçları

Tüm kumaş türleri birlikte değerlendirildiğinde, spermatozoa varlığının seminal leke alanı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür (Grafik 3). Ölçümün yapıldığı 4. saatten başlayarak 6. ay sonuna kadar tüm zaman noktalarında gruplar arası karşılaştırmalarda p-değerlerinin 0,05'in üzerinde olduğu saptanmıştır ($p>0,05$). Tüm kumaş türlerinde her iki grupta da 4. saatten 6. aya kadar genel olarak hafif bir artış eğilimi izlenmiştir, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Grafik 1 ve Grafik 2).

Çalışma verileri incelendiğinde, hem azospermik (Grafik 1) hem de normospermik (Grafik 2) gruplarda kumaş türlerinin leke yayılım alanında belirgin rol oynadığı görülmüştür. Her iki grupta da ipek kumaş, en geniş leke alanını (40-46 cm^2) göstererek öne çıkmıştır. İpeği polyester, pamuk ve mikst takip etmiştir. Viskon ise her iki grupta da en düşük yayılım alanına (12-14 cm^2) sahip olup, lekeyi en dar bölgede tutan kumaş olmuştur. Leke alanlarının zamanla değişimi incelendiğinde, her iki grupta da 4. saatten 6. aya kadar leke boyutlarında anlamlı bir artış gözlenmemiştir ($p>0,05$). Leke alanları ilk saatlerde stabilize olmuş ve uzun vadede (6. aya kadar) bu durum korunmuştur. Normospermik (Grafik 2) ile azospermik grup (Grafik 1) kıyaslandığında, özellikle ipek ve polyester kumaşlarda normospermik grubun leke alanlarının istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olsa da biraz daha geniş olduğu görülmüştür. Örneğin, 6. ay verilerinde ipek kumaşta leke alanı azospermik grupta 41,72 cm^2, normospermik grupta ise 46,27 cm^2 şeklinde bulunmuştur.



Grafik 1. Azospermik Grupta Kumaşların Zamanla Leke Alanı Değişimi



Grafik 2. Normospermik Grupta Kumaşların Zamanla Leke Alanı Değişimi

Tablo 2. Normospermik ve Azospermik Grupların Zamana bağlı Leke Alanı Açısından Karşılaştırması

Zaman Dilimi	p Değeri
4. Saat	0,755
18. Saat	0,769
3. Gün	0,69
4. Gün	0,657
8. Gün	0,616
16. Gün	0,654
1. Ay	0,622
3. Ay	0,631
6. Ay	0,609

Tablo 3'te kumaş türlerine göre alan değerlerinin dağılımı incelendiğinde, her iki grupta da en geniş leke alanlarının ipek ve polyester kumaşlarda, en düşük leke alanlarının ise viskon kumaşta gözlendiği belirlenmiştir.

Tablo 3. Kumaş Türlerine Göre Ortalama Leke Alanı ve Standart Sapma Değerleri

Kumaş Türü	Ortalama Alan (Area)-SS
Viskon	13,435 ± 2,7
Mikst	23,452 ± 8,2
Pamuk	32,745 ± 7,3
Polyester	39,356 ± 12
İpek	43,088 ±10,3

ANOVA testi sonucunda kumaşlar arasında fark saptanmasının ardından, bu farkın hangi kumaş çiftleri arasında olduğunu belirlemek amacıyla Tukey HSD Çoklu Karşılaştırma (Pairwise Comparisons) testi yapılmıştır.

Kumaş türlerine yönelik ikili karşılaştırmalar Tablo 4'te gösterilmiştir. Kumaş türleri arasında leke alanı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,001$). Viskon kumaşın hem azospermik hem de normospermik grupta diğer tüm kumaş türlerinden anlamlı derecede farklı olduğu görülmüştür. Azospermik grupta viskon ile ipek ($p=0,019$), polyester ($p=0,004$), pamuk ($p=0,002$) ve mikst ($p=0,001$) kumaşlar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Normospermik grupta ise viskon ile diğer tüm kumaş türleri arasındaki farkların ileri düzeyde anlamlı olduğu saptanmıştır (tüm karşılaştırmalar için $p<0,001$).

Tablo 4. Kumaş türlerine göre leke yüzey alanı bakımından ikili karşılaştırmalar (Tukey HSD)

(I) Kumaş Türü	(J) Karşılaştırılan Kumaş	Ortalama Fark (I-J)	p Değeri
Viskon	İpek	-29,6538	p<0,001
	Polyester	-25,9215	
	Pamuk	-19,3100	
	Mikst	-10,0177	
İpek	Viskon	29,6538	
	Polyester	3,7323	
	Pamuk	10,3438	
	Mikst	19,6361	
Polyester	Viskon	25,9215	
	İpek	-3,7323	
	Pamuk	6,6115	
	Mikst	15,9038	
Pamuk	Viskon	19,3100	
	İpek	-10,3438	
	Polyester	-6,6115	
	Mikst	9,2923	
Mikst	Viskon	10,0177	
	İpek	-19,6361	
	Polyester	-15,9038	
	Pamuk	-9,2923	

B. Seminal Leke Işıma Yoğunluğu (Floresans) Analizi Sonuçları

Semen içeriğinde spermatozoa varlığının, leke floresans parlaklığı (Mean Gray Value) üzerindeki etkisi öncelikle tüm kumaş türleri birleştirilerek genel grup düzeyinde, ardından her bir kumaş türü özelinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Bu kapsamda normospermik (n=16) ve azospermik (n=16) gruplar, 4. saatten 6. aya kadar toplam 9 zaman diliminde karşılaştırılmıştır.

Tüm kumaş türleri birleştirilerek yapılan genel analiz Tablo 5'te gösterilmiştir. Erken zaman dilimlerinde (4. saat ve 18. saat) normospermik ve azospermik gruplar arasında Mean Gray Value açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (4. saat $p=0,790$; 18. saat $p=0,181$). Üçüncü gün ölçümünde gruplar arasındaki fark sınır düzeyde bulunmuş ($p=0,053$), dördüncü günden itibaren ise normospermik grupta Mean Gray Value değerlerinin azospermik gruba kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür (4. gün $p=0,006$). Sekizinci günden itibaren gruplar arasındaki fark ileri düzeyde anlamlılık düzeyine ulaşmış ($p<0,001$) ve bu anlamlılık 16. gün, 1. ay ve 3. ay ölçümlerinde de korunmuştur (tüm zaman noktalarında $p<0,001$). Altıncı ay ölçümünde de normospermik grubun daha yüksek parlaklık değerleri sergilediği ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0,001$).

Tablo 5. Normospermik (n=16) ve Azospermik (n=16) Grupların Tüm Zaman Dilimlerindeki Floresans Parlaklık (Mean) Karşılaştırması

Zaman Dilimi	Grup	Ortalama (Mean)	Standart Sapma	p Değeri
4. Saat	Azospermik	20,44	10,82	0,79
	Normospermik	20,01	9,3	
18. Saat	Azospermik	29,13	11,97	0,181
	Normospermik	31,55	10,81	
3. Gün	Azospermik	35,65	12,7	0,053
	Normospermik	39,39	11,49	
4. Gün	Azospermik	42,4	13,48	0,006
	Normospermik	48,1	12,14	
8. Gün	Azospermik	48,98	14,02	0,000
	Normospermik	57,31	11,98	
16. Gün	Azospermik	56,48	15,57	0,000
	Normospermik	65,15	12,22	
1. Ay	Azospermik	65,01	16,4	0,000
	Normospermik	73,13	11,44	
3. Ay	Azospermik	72,26	15,94	0,000
	Normospermik	80,35	10,35	
6. Ay	Azospermik	78,75	17,2	0,001
	Normospermik	86,41	9,59	

Bu bulgulara göre, iki grup arasındaki ayrışmanın erken dönemde belirgin olmadığı; ancak lekenin yaşlanma sürecinde, özellikle dördüncü günden itibaren normospermik grup lehine anlamlı bir parlaklık farkının ortaya çıktığı ve ilerleyen zamanlarda devam ettiği gözlenmiştir.

Genel tabloda görülen farklılaşmanın, her kumaşta aynı anda gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Aşağıda her bir kumaş türü için tüm zaman dilimlerini içeren detaylı analiz tabloları sunulmuştur.

1. Viskon Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi

Viskon kumaşta yapılan analizlerde, gruplar arası farkın erken dönemlerde anlamlı olmadığı görülmüştür. Tablo 6'da sunulan verilerde dördüncü saatten 8. güne kadar yapılan karşılaştırmalarda p-değerleri 0,05'in üzerinde seyretmiş; 8. Gün, 16. gün ve 1. ay ölçümlerinde fark sınırda düzeyde izlenmiştir. Üçüncü ay ölçümünde normospermik grubun Mean Gray Value değerinin azospermik gruba kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirlenmiş (p=0,032), altıncı ay ölçümünde de bu farkın sürdüğü görülmüştür (p=0,030).

Tablo 6. Viskon kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması

Zaman Dilimi	Azospermik (Ort.)	Normospermik (Ort.)	p Değeri
4. Saat	35,63	30,56	0,59
18. Saat	45,63	43,19	0,886
3. Gün	53,00	56,44	0,747
4. Gün	59,75	62,88	0,342
8. Gün	65,38	70,38	0,058
16. Gün	70,00	76,56	0,087
1. Ay	76,19	83,13	0,065
3. Ay	79,56	88,06	0,032
6. Ay	82,94	91,94	0,030

2. İpek Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi

İpek kumaşta yapılan karşılaştırmalar tablo 7'de gösterilmiştir. Gruplar arası fark, erken dönem ölçümlerinde (4. saat, 18. saat ve 3. gün) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Dördüncü gün ölçümünde normospermik grubun Mean Gray Value değeri azospermik gruba göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuş (p=0,040), 8. Gün ve 1. ay ölçümünde fark sınırda düzeyde kalmıştır. On altıncı gün ölçümünde gruplar arası fark tekrar anlamlı bulunmuş (p=0,039). Buna karşın 3. ay ve 6. ay ölçümlerinde gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı düzeyde saptanmamıştır.

Tablo 7. İpek kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması.

Zaman Dilimi	Azospermik (Ort.)	Normospermik (Ort.)	p Değeri
4. Saat	11.81	13.56	0,336
18. Saat	18.25	22.88	0,102
3. Gün	25.13	29.81	0,094
4. Gün	30.50	36.13	0.040
8. Gün	36.31	42.63	0,059
16. Gün	44.38	53.50	0.039
1. Ay	54.38	63.81	0,063
3. Ay	68.69	77.13	0,114
6. Ay	67.56	77.06	0,299

3. Pamuk Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi

Tablo 8'de pamuk kumaşta yapılan analizler gösterilmiştir. Zaman noktalarının büyük bölümünde normospermik ve azospermik gruplar arasında Mean Gray Value açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. 8. Gün ve 16. gün ölçümlerinde anlamlı fark bulunmuş olup, 3. ay ve 6. ay p değerleri 0,05'in üzerinde olmakla birlikte sınırda seyretmiş; diğer zaman dilimlerinde ise normospermik grup lehine anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 8. Pamuk kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması.

Zaman Dilimi	Azospermik (Ort.)	Normospermik (Ort.)	p Değeri
4. Saat	22,31	18,56	0,133
18. Saat	29,94	27,25	0,376
3. Gün	35,31	35,94	0,789
4. Gün	40	44,06	0,115
8. Gün	45,25	52,63	0,011
16. Gün	50,81	58,44	0,027
1. Ay	60,19	66,19	0,160
3. Ay	66,31	74,06	0,063
6. Ay	71,69	80,44	0,056

4. Polyester Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi

Polyester kumaşta yapılan karşılaştırmalar Tablo 9'da gösterilmiş. Tüm kumaşlar arasında farkın en erken saptandığı polyester kumaş olup, zaman dilimi 18. saat olmuştur (p=0,013). Üçüncü gün ve dördüncü gün ölçümlerinde gruplar arası fark anlamlı bulunmamış sınırda bulunmuş; sekizinci gün (p=0,043) ölçümlerinde normospermik grup lehine anlamlı fark izlenmiştir. 16. gün, 1. ay, 3. ay ve 6. ay ölçümlerinde p-değerlerinin 0,05'in üzerinde olduğu görülmüştür.

Tablo 9. Polyester kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması.

Zaman Dilimi	Azospermik (Ort.)	Normospermik (Ort.)	p Değeri
4. Saat	12,56	15,44	0,237
18. Saat	21.50	29.19	0.013
3. Gün	30,31	37,19	0,081
4. Gün	40,06	49,13	0,075
8. Gün	51.00	61.25	0.043
16. Gün	62,38	70,44	0.146
1. Ay	71.06	78.75	0,197
3. Ay	78,38	85,31	0,225
6. Ay	84,94	91,63	0,256

5. Mikst Kumaşta Seminal Leke Işıma Analizi

Mikst kumaşta yapılan analizler tablo 10'da gösterilmiştir. Erken dönem (4. saat ve 18. saat) ölçümlerinde gruplar arası fark anlamlı bulunmamıştır. Üçüncü günden itibaren normospermik grubun Mean Gray Value değerinin daha yüksek olduğu ve gruplar arası farkın anlamlı hale geldiği görülmüştür (3. gün p=0,002; 4. gün p=0,006). Sekizinci gün ve 16. gün ölçümlerinde fark ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur (p<0,001). 1. ay (p=0,001), 3. ay (p=0,010) ve 6. ay (p=0,035) ölçümlerinde de normospermik grup lehine anlamlılık devam etmiştir.

Tablo 10. Mikst kumaşta Normospermik ve Azospermik grupların zamana bağlı karşılaştırması.

Zaman Dilimi	Azospermik (Ort.)	Normospermik (Ort.)	p Değeri
4. Saat	19,88	21,94	0,495
18. Saat	29,50	33,06	0,157
3. Gün	35,31	42	0,002
4. Gün	41,69	48,31	0,006
8. Gün	47,06	58,25	0.000
16. Gün	53,31	66,25	0,000
1. Ay	62,13	72,75	0,001
3. Ay	68,38	77,19	0.010
6. Ay	73,75	81,88	0.035

6. Seminal Leke Işıması Kumaş Türleri Arası İkili Karşılaştırmaların Zamana ve Spermatozoa Hücresi Varlığına Göre Değerlendirilmesi

Seminal lekelerin parlaklık (Mean) değerleri üzerinden kumaş türlerinin birbirlerinden ayrışma düzeylerini saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırma (Post-Hoc) sonuçları Tablo 11'de gösterilmiştir. Azospermik ve Normospermik gruplar için tüm zaman dilimlerinde analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, kumaşlar arası optik farkların spermatozoa varlığına ve leke yaşına bağlı olarak dinamik bir değişim sergilediğini göstermektedir.

- Erken Dönem Bulguları (4. Saat - 18. Saat)

4. Saatte: Her iki grupta da Viskon kumaşın; İpek, Polyester ve Pamuk ile olan parlaklık farkı istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı saptanmıştır ($p<0,001$). Normospermik grupta Pamuk - Mix ve İpek - Pamuk gibi çiftler arasında 4. saatte başlayan anlamlı farklar ($p<0,001$), Azospermik grupta henüz oluşmamıştır.

18. Saatte: Azospermik grupta Viskon - Polyester farkı ortadan kalkarken ($p=0,402$), Normospermik grupta bu farkın halen anlamsız olduğu ($p=0,998$) görülmüştür. Ancak Polyester - Pamuk ve Pamuk - Mix çiftleri her iki grupta da $p<0,001$ değeriyle keskin bir şekilde ayrışmaya başlamıştır.

- Orta Dönem Bulguları (3. Gün - 16. Gün)

3. Günden itibaren: Her iki grupta da Polyester - Pamuk ve Pamuk - Mix arasındaki farklar kararlı bir şekilde anlamlılığını ($p<0,001$) sürdürmüştür.

4., 8. ve 16. Günlerde: Normospermik grupta kumaş çiftlerinin büyük çoğunluğu birbirlerinden anlamlı farklarla ayrılırken (örneğin Normospermik 8. gün Polyester - Pamuk $p<0,001$), Azospermik grupta aynı çift için farkın anlamsızlaştığı ($p=0,463$) saptanmıştır. Bu durum, 1. haftadan itibaren spermatozoa varlığının kumaşın yansıtıcı karakterini özgünleştirdiğini göstermektedir.

- Geç Dönem Bulguları (1. Ay - 6. Ay)

1. Ayda: Normospermik grupta Viskon; İpek, Pamuk ve Mix kumaşlardan anlamlı derecede ayrışırken ($p < 0,05$), Azospermik grupta Viskonun Mix kumaş ile olan farkı ortadan kalkmıştır ($p=0,069$).

6. Ayda; çalışmanın son evresinde Normospermik grupta kumaş türleri arasındaki ayrışma maksimum seviyeye ulaşmıştır. Viskon kumaş; İpek, Polyester, Pamuk ve Mix kumaşların tamamından $p<0,001$ değeriyle ileri düzeyde anlamlı bir farkla ayrılmıştır.

Buna karşın Azospermik grupta 6. ayda Viskon - Polyester ($p=0,998$), Viskon - Mix ($p=0,892$) ve Polyester - Mix ($p=0,978$) arasındaki farklar tamamen kaybolarak istatistiksel olarak anlamsız hale gelmiştir.

Tablo 11. Tüm Zaman Dilimlerinde Kumaş Çiftlerinin Azospermik ve Normospermik Gruplara Göre Karşılaştırılması

Zaman Dilimi	Kumaş Çiftleri (I vs J)	Azospermik (p)	Normospermik (p)
4. Saat	Viskon - İpek	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Polyester	p<0,0001	p<0,001
	Viskon - Pamuk	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Mikst	p<0,05	p<0,05
	İpek - Polyester	p>0,05	p>0,05
	İpek - Pamuk	p>0,05	p<0,001
	İpek - Mikst	p<0,001	p<0,001

	Polyester - Pamuk	p>0,05	p<0,05
	Polyester - Mikst	p>0,05	p<0,001
	Pamuk - Mikst	p>0,05	p<0,001
18. Saat	Viskon - İpek	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Polyester	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Pamuk	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Mikst	p>0,05	p>0,05
	İpek - Polyester	0,002	p<0,001
	İpek - Pamuk	p>0,05	p>0,05
	İpek - Mikst	p<0,001	p<0,001
	Polyester - Pamuk	p<0,001	p<0,001
	Polyester - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Pamuk - Mikst	p<0,001	p<0,001
3. Gün	Viskon - İpek	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Polyester	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Pamuk	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Mikst	p>0,05	p>0,05
	İpek - Polyester	p<0,001	p<0,001
	İpek - Pamuk	p>0,05	p>0,05
	İpek - Mikst	p<0,001	p<0,001
	Polyester - Pamuk	p<0,001	p<0,001
	Polyester - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Pamuk - Mikst	p<0,001	p<0,001
4. Gün	Viskon - İpek	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Polyester	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Pamuk	p<0,001	p<0,001
	Viskon - Mix	p>0,05	p>0,05
	İpek - Polyester	p<0,001	p<0,001
	İpek - Pamuk	p>0,05	p>0,05
	İpek - Mix	p<0,001	p<0,001
	Polyester - Pamuk	p<0,001	p<0,001
	Polyester - Mix	p>0,05	p>0,05
	Pamuk - Mix	p<0,001	p<0,001

8. Gün	Viskon - İpek	0,003	p<0,001
	Viskon - Polyester	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Pamuk	p>0,05	p<0,001
	Viskon - Mikst	p>0,05	p>0,05
	İpek - Polyester	p>0,05	p<0,001
	İpek - Pamuk	p>0,05	p>0,05
	İpek - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Polyester - Pamuk	p>0,05	p<0,001
	Polyester - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Pamuk - Mikst	p>0,05	p>0,05
16. Gün	Viskon - İpek	p<0,05	p<0,001
	Viskon - Polyester	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Pamuk	p>0,05	p<0,001
	Viskon - Mikst	p>0,05	p<0,05
	İpek - Polyester	p>0,05	p<0,001
	İpek - Pamuk	p>0,05	p>0,05
	İpek - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Polyester - Pamuk	p>0,05	p<0,05
	Polyester - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Pamuk - Mikst	p>0,05	p>0,05
1. Ay	Viskon - İpek	p>0,05	p<0,001
	Viskon - Polyester	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Pamuk	p<0,05	p<0,001
	Viskon - Mikst	p>0,05	p<0,05
	İpek - Polyester	p<0,05	p<0,001
	İpek - Pamuk	p>0,05	p>0,05
	İpek - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Polyester - Pamuk	p>0,05	p<0,05
	Polyester - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Pamuk - Mikst	p>0,05	p>0,05
3. Ay	Viskon - İpek	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Polyester	p>0,05	p>0,05
	Viskon - Pamuk	p>0,05	p<0,001

	Viskon - Mikst	p>0,05	p<0,05
	İpek - Polyester	p<0,001	p<0,001
	İpek - Pamuk	p>0,05	p>0,05
	Polyester - Pamuk	p>0,05	p<0,001
6. Ay	Viskon - İpek	p>0,05	p<0,001
	Viskon - Polyester	p>0,05	p<0,001
	Viskon - Pamuk	p<0,05	p<0,001
	Viskon - Mikst	p>0,05	p<0,001
	İpek - Polyester	p<0,001	p<0,001
	İpek - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Polyester - Pamuk	p>0,05	p<0,05
	Polyester - Mikst	p>0,05	p>0,05
	Pamuk - Mikst	p>0,05	p<0,001

Zaman ve grup farklılığı göz önüne alınmadan "pairwise comparisons" yöntemi ile analiz edilerek Mean Gray Value açısından kumaş türleri arasındaki farklılıklar değerlendirildiğinde, kumaş türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). Elde edilen veriler Tablo 12'de gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre Mean Gray Value ortalamaları viskon kumaşta 65,208±0,607; polyester kumaşta 53,917±0,607; mikst kumaşta 51,813±0,607; pamuk kumaşta 48,882±0,607 ve ipek kumaşta 44,205±0,607 olarak hesaplanmıştır.

İkili karşılaştırmalar incelendiğinde, sadece polyester ve mikst kumaşın benzerlik gösterdiği ($p=0,144$), diğer kumaş türlerinin anlamlı derecede farklı performans sergiledikleri görülmüştür.

Tablo 12. Kumaş Türlerinin Parlaklık (Mean Gray Value) Bakımından İkili Karşılaştırılması (Post-Hoc Testi- Pairwise Comparisons)

(I) Kumaş Türü	(J) Kumaş Türü	p Değeri
Viskon	İpek	p<0,001
	Polyester	p<0,001
	Pamuk	p<0,001
	Mikst (Mix)	p<0,001
İpek	Viskon	p<0,001
	Polyester	p<0,001
	Pamuk	p<0,001
	Mikst (Mix)	p<0,001
Polyester	Viskon	p<0,001
	İpek	p<0,001
	Pamuk	p<0,001
	Mikst (Mix)	p=0,144
Pamuk	Viskon	p<0,001
	İpek	p<0,001
	Polyester	p<0,001
	Mikst (Mix)	p=0,007
Mikst (Mix)	Viskon	p<0,001
	İpek	p<0,001
	Polyester	p=0,144
	Pamuk	p=0,007

Çalışmamızın dikkat çekici bir diğer bulgusu, normospermik ve azospermik grupların floresans parlaklık değerlerine ait standart sapmaların zaman içinde farklı seyir göstermesidir. Normospermik grupta 4. saatte 9,3 olan standart sapma, 6. ay sonunda 9,59 ile hemen hemen aynı seviyede kalırken; azospermik grupta aynı değer 10,82'den 17,2'ye belirgin bir artış göstermiştir (Tablo 5). Zaman ilerledikçe normospermik grupta standart sapmanın sabit kalması, buna karşın azospermik grupta belirgin biçimde artması, iki grubun varyanslarının zaman içinde çok farklı seyrettiğini ortaya koymaktadır.

V.TARTIŞMA

Bu çalışmada, adli öneme sahip seminal lekelerin dijital görüntü analizi yöntemiyle zamana, kumaş türüne ve spermatozoa varlığına bağlı değişimleri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

Grafik 1-3 ve Tablo 2 ve 3'de gösterilen veriler dikkate alındığında seminal leke yayılımının spermatozoa varlığından (Normospermi/Azospermi) bağımsız olduğu ($p > 0,05$), ancak kumaşın lif morfolojisi ve emicilik özelliklerine göre istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklar sergilediği saptanmıştır ($p < 0,001$).

Tablo 4-11'deki veriler dikkate alındığında; leke parlaklık değerlerinin hem spermatozoa varlığına hem de zamana bağlı olarak dramatik bir değişim gösterdiği; özellikle 4. günden itibaren Normospermik lekelerin Azospermiklerden, 8. günden itibaren ise tüm lekelerin başlangıç değerlerinden anlamlı derecede daha yüksek parlaklık seviyelerine ulaştığı saptanmıştır ($p < 0,001$). Viskon kumaşın en dar yayılım alanında en yüksek parlaklığı, ipek ve polyesterin ise en geniş alanda daha geç olgunlaşan bir parlaklık profilini temsil ettiği belirlenmiştir. 6 aylık takip süresince leke alanlarının (Area) fiziksel olarak stabil kaldığı, buna karşın optik özelliklerin (Mean) doğrusal bir artışla karakterize olduğu ortaya konulmuştur. Bu bulgular, multispektral adli muayene sistemi ile dijital görüntüleme ve ImageJ™ temelli analizlerin, seminal lekelerin hem içeriği hem de yaşı hakkında zarar vermeden bilgi sunabilen güvenilir bir ön inceleme aracı olma potansiyelini desteklemektedir.

A. Leke Alanı ile ilgili analizler

Çalışmamızda tespit ettiğimiz spermatozoa varlığının yayılım alanını etkilememesi, seminal plazmanın sıvı dinamiği ve viskozite özelliklerinin, içerdiği hücresel yükten daha baskın bir rol oynayabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Literatürde lekede tespit edilen sıvının semen olduğunun kanıtlanması için spermatozoa varlığı en önemli doğrulayıcı kriter olarak kabul edilse de (66), lekenin kumaş üzerindeki fiziksel yayılım mekanizması açısından plazma içindeki su ve protein içeriğinin lifler arasındaki kapiller hareketi belirleyen ana unsurlar olduğu öngörülmektedir (67). Literatürde yapılan çalışmada da ifade edildiği üzere, seminal plazma bileşenlerinin fiziksel davranışı, hücresel içerikten bağımsız olarak benzer bir yayılım profili çizebilmektedir (68). Bu durum, azospermik

vakalarda leke boyutuna bakarak bir içerik tahmini yapmanın yanıltıcı olabileceği ihtimalini düşündürmektedir. Grafik 1 ve 2 verilerinde 4. saatten 6. aya kadar geçen süreçte leke alanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Bu bulgu, seminal lekelerin fiziksel sınırlarının kuruma tamamlandıktan sonra yüksek bir stabilite sergilediğine işaret edebilir. Williams biyolojik lekelerin tekstil yüzeylerinde kuruduktan sonra çevresel faktörlere karşı dirençli bir yapı oluşturduğunu belirtmiştir(69). Çalışmamızda gözlenen bu boyutsal stabilite, adli incelemelerde leke boyutunun zaman tahmininden ziyade, dökülen sıvı hacmi hakkında (kumaş türü biliniyorsa) daha güvenilir bir veri sunabileceği ihtimalini güçlendirmektedir.

- **Viskon Kumaş** örneklerinde gözlenen minimal yayılım alanları, bu lif türünün yüksek absorpsiyon kapasitesiyle ilişkilendirilebilir. Wang ve arkadaşları selülozik tabanlı kumaşların sıvıyı hızla lif yapısına hapsederek yanal yayılımı kısıtladığına dikkat çekmişlerdir(70) Benzer şekilde, Agrawal ve arkadaşları tekstil yüzeylerinde biyolojik sıvı davranışını inceleyen çalışmalarında selüloz esaslı liflerin yüksek emiciliğinin sıvının kumaş içerisine çekilmesini artırdığını ve yüzey yayılımını sentetik liflere kıyasla daha sınırlı hale getirdiğini göstermiştir(71). Çalışmamızda viskon kumaş üzerinde gözlenen daha dar leke alanları, bu liflerin yüksek emicilik özelliğine bağlı olarak sıvının lif yapısı içerisinde tutulmasıyla açıklanabilir ve literatürde bildirilen bulgularla uyum göstermektedir.

- **İpek ve Polyester** kumaşlarda saptanan geniş yayılım alanlarının ise, liflerin pürüzsüz morfolojisinden kaynaklanan düşük sürtünme direnci ve fitilleme etkisiyle açıklanabileceği değerlendirilmektedir. Zapata ve arkadaşları tarafından vurgulandığı üzere, pürüzsüz ve hidrofobik karakter sergileyen yüzeylerde biyolojik sıvıların lif içine nüfuz etmek yerine lifler arası boşluklarda ilerleme eğiliminde olması, leke alanının olduğundan daha geniş algılanmasına sebebiyet verebilmektedir(72). kumaş yapısındaki lif ve iplik boşluklarında meydana gelen kapiler fitilleme hareketinin sıvının lif yüzeyi boyunca ilerlemesine ve nihai leke alanının genişlemesine yol açabildiğini göstermiştir(70). Çalışmamızda ipek ve polyester kumaşlarda gözlenen daha geniş yayılım alanları bu mekanizma ile uyumludur.

- **Pamuk** liflerinin doğal bükümlü ve lümenli yapısının, seminal sıvıyı hem emme hem de belirli bir oranda lifler arası boşluklarda tutma eğiliminde olduğu öngörülebilir. Taştekin ve arkadaşları pamuklu kumaşlardaki bu dengeli emilim karakteristiğinin, lekenin dış sınırlarda sabitlenmesine yardımcı olabileceğini belirtmiştir(74). Benzer şekilde Nolan ve ark., pamuk

liflerinin gözenekli yapısının biyolojik materyalin lif yapısı içerisinde tutulmasına olanak sağladığını bildirmiştir(75). Selülozik liflerin yüksek emiciliği ve iç lümen yapısı, sıvının lif içerisine hızla çekilmesine ve yüzeydeki serbest yayılımın sınırlanmasına yol açabilmektedir. Bu mekanizma, pamuklu yüzeylerde oluşan lekelerin daha stabil sınırlar göstermesine ve ölçümler arasındaki varyansın diğer kumaş türlerine kıyasla daha düşük olmasına katkıda bulunabilir. Çalışmamızda pamuk kumaşında gözlenen daha düşük varyasyon değerleri, bu lif yapısal özellikleri ile uyumlu görünmektedir. Viskon da selüloz temelli bir lif olmasına rağmen, doğal pamuk liflerinden farklı olarak rejenere bir lif olup daha homojen ve silindirik bir morfolojiye sahiptir. Pamuk liflerinde bulunan bükümlü yapı ve iç lümen kanalları sıvının lif içerisine çekilerek daha stabil sınırlar oluşturmasına katkı sağlarken, viskon liflerinde bu morfolojik özelliklerin bulunmaması sıvı dağılımının daha değişken olmasına neden olabilmektedir(76). Bu durum pamuk kumaşında gözlenen düşük varyansın viskonda aynı ölçüde ortaya çıkmamasını açıklayabilir.

- **Pamuk ve polyester liflerinin birleşiminden oluşan mikst kumaşlarda**, farklı yüzey enerjilerine ve ıslanabilirlik özelliklerine sahip liflerin aynı dokuda bulunması, sıvı hareketinin daha heterojen bir biçimde gerçekleşmesine neden olabilir. Zapata ve arkadaşlarının da vurguladığı üzere, karışım kumaşlarda lifler arası farklı emicilik ve kapiller taşınım özellikleri, biyolojik sıvıların yayılım paternini tek tip lif yapısına sahip kumaşlara kıyasla daha değişken hale getirebilmektedir (72). Çalışmamızda mikst kumaşta azospermik örneklerde normospermik gruba göre sayısal olarak daha geniş leke alanları gözlenmiştir. Bu durum, spermatozoa hücrelerinin yokluğunda seminal plazmanın daha homojen bir sıvı fazı olarak davranması ve heterojen lif yapısına sahip yüzeylerde lifler arası boşluklar boyunca daha serbest yayılabilmesi ile ilişkili olabilir. Buna karşılık normospermik örneklerde hücresel içeriğin artması, sıvının viskoelastik davranışını ve lokal akış paternini değiştirerek yayılımı kısmen sınırlandırmış olabilir. Ancak iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamış olması ($p>0,05$), bu bulgunun kesin bir ayrım olarak değil, yalnızca örüntü düzeyinde değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle mikst kumaşta gözlenen ters yönlü eğilim, doğrulanması gereken dikkat çekici ancak temkinli yorumlanması gereken bir bulgu niteliğindedir.

B. <u>Leke Parlaklığı ile ilgili analizler</u>

Tablo 5'teki ortalama değerler incelendiğinde; 4. Saat dışındaki tüm zamanlarda Normospermik lekelerin Azospermik lekelere kıyasla daha yüksek parlaklık skorları sergilediği ve bu makasın zaman ilerledikçe korunduğu görülmektedir.

- Normospermik gruptaki bu belirgin parlaklık artışının, seminal plazma matrisi içerisindeki spermatozoa hücrelerinin yarattığı mikroskobik yüzey pürüzlülüğünden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Aobaoma ve arkadaşları ALS (Alternatif Işık Kaynağı) ve yapay zeka entegrasyonu ile yaptıkları çalışmada, seminal floresanın şiddetinin ve optik karakterinin numunenin hücresel yoğunluğuyla ilişkili olabileceğine değinmişlerdir(77). Bu bağlamda, spermatozoa hücrelerinin kuruyan protein filmi içerisinde ek yansıtıcı yüzeyler oluşturarak dijital sensörler tarafından daha yüksek "gri değer" (parlaklık) olarak kaydedilmesine sebebiyet verdiği öngörülebilir.
- Wei ve arkadaşları ATR-FTIR spektroskopisi kullanarak yaptıkları çalışmada, spermatozoa içermeyen semen numunelerinin spektral şiddetinin hücreli numunelere göre farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir(78). Bizim bulgularımızda saptanan Mean değeri farklılığı, bu moleküler düzeydeki ayrımın makroskobik ve dijital bir yansıması olarak değerlendirilebilir. Bu durum, olay yerinde tespit edilen seminal lekelerin sadece varlığının değil, parlaklık seviyeleri üzerinden spermatozoa konsantrasyonu hakkında da (normospermik veya azospermik) bir ön tahmin yürütülebileceği ihtimalini akla getirmektedir.
- Her iki grubun da (azospermik ve normospermik) 6 aylık süre zarfında kendi içinde doğrusal bir parlaklık artışı sergilediği görülmektedir. Bununla birlikte, Normospermik ve Azospermik gruplar arasındaki parlaklık farkının, özellikle 4. günden itibaren tüm zaman dilimlerinde istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir hal alması ($p < 0,001$), bu optik ayrımın leke yaşlandıkça daha belirgin ve kalıcı bir karakter kazandığını düşündürmektedir. Suttipasit, azospermik vakaların adli tıptaki teşhis zorluklarına dikkat çekmiş; spermatozoa hücresinin görsel olarak tespit edilemediği durumlarda tanısal sürecin karmaşıklaştığını ifade etmiştir(15). Çalışmamızda saptanan, özellikle ilk haftadan itibaren stabilize olan bu parlaklık farkı; dijital görüntü analizinin azospermik numuneleri normospermiklerden ayırt etmede, örneğe zarar vermeyen ve tamamlayıcı bir parametre olarak kullanılabileceği ihtimalini destekler niteliktedir. Bu bulgu, klasik görsel muayenede gözden kaçabilecek biyolojik içerik farklarının, dijital parlaklık (Mean) verileri üzerinden objektif bir şekilde izlenebileceğine işaret etmektedir.

1. Viskon Kumaş

Viskon kumaş üzerindeki seminal lekelerin parlaklık (Mean) değerleri incelendiğinde, bu kumaşın kısa vadeli analizlerden ziyade uzun vadeli tespitlerde daha güvenilir bir performans sergilediği saptanmıştır. Tablo 6 verilerine göre; 4. saatten 1. aya kadar olan süreçte Normospermik ve Azospermik örnekler arasındaki fark istatistiksel anlamlılık sınırına ($p<0,05$) ulaşamamış, ancak 3. aydan itibaren bu fark istatistiksel olarak anlamlı hale gelmiştir ($p < 0,05$). Viskon kumaşta saptanan bu fark, liflerin yapısal özellikleriyle ilişkilendirilebilir. Viskon, selülozik tabanlı ve yüksek derecede emici bir lif türüdür. Taştekin ve arkadaşları selülozik kumaşlarda seminal plazmanın sıvı kısmının hızla lif lümenine emildiğini, ancak proteinler ve hücresel bileşenlerin lif yüzeyinde daha yoğun bir tabaka oluşturma eğiliminde olduğunu belirtmiştir(74). 3. aydan itibaren farkın netleşmesi ($p=0,032$), lekenin su içeriğini tamamen kaybetmesi ve protein matrisinin lif yüzeyinde kararlı bir yansıtıcı tabaka oluşturmasıyla açıklanabilir. Aobaoma ve arkadaşları tarafından vurgulanan hücresel içeriğin optik yansımayı güçlendirme teorisiyle uyumludur(77). Lekenin taze olduğu erken evrelerde (ilk 1 ay), seminal plazma ve spermatozoa hücreleri liflerin derinliklerine homojen bir şekilde yayılmaktadır. Bu yayılım, başlangıçta Normo ve Azo örneklerinin birbirine çok yakın parlaklık değerleri vermesine neden olarak spermatozoa varlığını maskelemiş olabilir. Viskon kumaş üzerindeki dijital parlaklık analizleri, özellikle eski tarihli lekelerin (3-6 aylık) Normospermik/Azospermik ayrımında, taze lekelere göre daha yüksek ayırt edicilik sunmaktadır. Bu bulgu, viskon içerikli delillerin incelenmesinde "bekleme süresinin" analize engel teşkil etmediğini, aksine kontrastı artırdığını göstermektedir.

2. İpek Kumaş

Çalışmada incelenen zeminler arasında İpek, en düşük ortalama parlaklık (Mean Gray Value) değerlerini veren ve seminal lekeyi en çok yutan kumaş türü olarak saptanmıştır. İpek kumaş, çalışmanın ilk saatlerinden itibaren viskon gibi yüksek yansıtıcı yüzeylerden $p<0,001$ düzeyinde ayrışmıştır. İpeğin protein yapılı doğal lifleri, seminal plazmanın sıvı fazını hızla emerek lif derinliklerine hapseder. Nabi ve arkadaşları ipek gibi pürüzsüz ama emici doğal liflerin, biyolojik sıvının yüzeyde bir film tabakası oluşturmasını engellediğini, bunun da dijital görüntülemede düşük kontrastla sonuçlandığını belirtmiştir(67). Bulgularımızda 4. saatte görülen bu keskin fark, ipeğin yutucu karakterinin bir sonucu olabilir. İpeğin 4. günde Polyester'den $p<0,001$ ile ayrılması, ipeğin sentetik rakiplerine göre adli tespitte ne kadar dezavantajlı olabileceğini göstermektedir. Normospermik grupta 6. aya gelindiğinde bile ipek kumaşın viskon ve polyester karşısındaki p-değerleri $p<0,001$ olarak kalmıştır. Bu,

spermatozoa hücrelerinin varlığının bile ipek kumaşın düşük yansıtma kapasitesini kurtarmaya yetmediğini gösterir. İpeğin lif yapısı, spermatozoa hücrelerini lif derinliklerinde maskeleyebilir ve bu durum yüzeyde görüntü analizi yazılımları tarafından algılanabilecek parlak odak noktalarının oluşmasını sınırlayabilmektedir (4). İpek kumaşların protein bazlı lif yapısı, biyolojik sıvıların lif yapısı içerisinde hızla absorbe edilmesine ve bu materyalin lif derinliklerinde tutulmasına neden olabilmektedir. Bu durum biyolojik materyalin yüzeyde oluşturduğu optik sinyalin azalmasına ve floresans yoğunluğunun düşük seviyelerde ölçülmesine yol açabilmektedir. Doğal liflerde biyolojik materyalin lif yapısı içerisinde tutulması ve zamanla yüzey sinyalinin azalması, literatürde biyolojik materyalin maskelenmesi veya kaybı şeklinde tanımlanan bir süreçle açıklanmaktadır(80). Çalışmamızda da benzer şekilde, ipek kumaşın altıncı ay sonunda diğer kumaş türlerine kıyasla daha düşük floresans parlaklığı göstermesi, biyolojik materyalin lif derinliklerinde tutulması ve yüzey sinyalinin zayıflaması ile ilişkili olabilir. İpek ve mikst kumaşların karşılaştırılması incelendiğinde, altıncı ayda azospermik grupta ipek ile mikst kumaş arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p = 0,255$) görülmüştür. Bu durum, spermatozoa bulunmayan örneklerde biyolojik materyalin yüzeyde oluşturduğu optik sinyalin sınırlı olması nedeniyle farklı kumaş türlerinin zaman içerisinde benzer floresans değerleri gösterebileceğini düşündürmektedir. Buna karşın normospermik grupta ipek ve mikst kumaşlar arasındaki farkın daha belirgin olması, spermatozoa içeren örneklerde kumaş lif yapısının biyolojik materyalin yüzeyde tutulması ve optik olarak tespit edilmesi üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Sentetik lif içeren mikst kumaşların daha düşük emicilik özellikleri nedeniyle biyolojik materyalin yüzeyde daha uzun süre kalmasına izin verebildiği ve bu durumun optik tespit yöntemlerinde daha yüksek floresans sinyali oluşturabildiği literatürde de belirtilmektedir (56,75).

3. Pamuk Kumaş

Pamuklu kumaş üzerindeki seminal lekelerin parlaklık (Mean) değerleri incelendiğinde, Normospermik ve Azospermik gruplar arasındaki farkın zaman içerisinde oldukça değişken bir seyir izlediği görülmektedir. Tablo 8 verilerine göre, 4. saatten 4. güne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamış; fark ancak 8. ve 16. günlerde Normospermik lehine anlamlılık kazanmıştır. Ancak bu anlamlılık kalıcı olmamış, 1. aydan itibaren (3. ve 6. ayda sınırda kalmak üzere) fark tekrar istatistiksel güven sınırının dışına çıkmıştır. Pamuk lifleri doğal olarak bükümlü ve gözenekli bir yapıya sahiptir. Nolan ve arkadaşları, pamuklu liflerin biyolojik sıvıları ve hücreleri lif boşluklarına hapsetme konusundaki yüksek kapasitesine dikkat çekmiştir(75). Miranda ve arkadaşları, yüzey pürüzlülüğü arttıkça optik kontrastın düştüğünü

belirtmiştir(7) Çalışmamızda, spermatozoa hücrelerinin pamuğun derin dokularına nüfuz ederek yüzeyde yansıtıcı bir tabaka oluşturamamış olması, Mean değerleri arasındaki farkın maskelenmesine yol açmış olabilir. Pamuklu kumaşta farkın çıkmamasında, vaka sayısının (örneklem büyüklüğü) gruplar arası küçük varyasyonları yakalamada yetersiz kalmış olabileceği değerlendirilmektedir. Örneklem sayısı artırıldığında veya daha dar bir odak alanında (ROI) analiz yapıldığında bu farkın anlamlılık kazanabileceği öngörülmektedir.

4. Polyester kumaş

Polyester kumaş üzerindeki seminal lekelerin parlaklık analizi, sentetik yüzeylerin erken dönem adli incelemelerdeki avantajını ortaya koymaktadır. Tablo 9 verilerine göre; 18. saat ölçümünde Normospermik ve Azospermik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,013). Ayrıca 8. günde de bu anlamlılık (p=0,043) devam etmiştir. Ancak, 16. günden itibaren başlayan süreçte fark istatistiksel anlamlılığını yitirmiş ve 6. aya kadar "Fark Yok" şeklinde stabilize olmuştur. Polyesterin hidrofobik yapısı, seminal plazmanın lif içine emilmesini engelleyerek spermatozoa hücrelerinin yüzeyde birikmesine neden olur. Zapata ve arkadaşlarının belirttiği gibi, bu durum erken evrelerde yüksek bir optik yansıma farkı yaratmaktadır(72). Çalışmamızdaki 18. saat bulgusu, polyesterin taze lekelerde erken teşhis için en uygun yüzeylerden biri olduğunu kanıtlamaktadır. Leke yaşlandıkça (1. ay ve sonrası), her iki grubun parlaklık değerleri 70-90 Mean seviyelerine yaklaşmıştır. Bu yüksek parlaklık seviyelerinde, dijital sensörler spermatozoa hücrelerinin yarattığı mikro-kontrastı ayırt edemez hale gelmiş olabilir. Bu durum, yöntemin çok parlak yüzeylerdeki ayırt edicilik tavanına ulaştığını göstermektedir. Uzun vadede her iki numunedeki protein kristalleşmesi, pürüzsüz polyester lifleri üzerinde benzer bir yansıtıcı film oluşturmuş olabilir. Bu homojenleşme, 1. aydan itibaren p değerlerinin yükselmesine (p=0,197'den p=0,256'ya kadar) ve farkın belirsizleşmesine yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Görüntü analizinde kullanılan "Region of Interest" (Analiz Alanı) seçimi, polyester gibi yansımanın kumaşın her yerinde farklılaştığı yüzeylerde sonuçları etkilemiş olabilir. Lekenin en parlak noktası yerine tüm alanın ortalamasının (Mean) alınması, spermatozoa hücrelerinin yarattığı yerel parlaklık artışlarını genel ortalamanın içinde eritmiş olabilir.

5. Mikst (Mix) Kumaş

Mikst kumaş üzerindeki seminal lekelerin analizi, hibrit lif yapısının spermatozoa tespiti üzerindeki olumlu etkisini ortaya koymaktadır. Tablo 10 verilerine göre; ilk iki ölçümde (4.

saat ve 18. saat) anlamlı bir fark oluşmazken, 3. günden itibaren (p=0,002) başlayan anlamlılık, 6. aya kadar (p=0,035) kesintisiz ve kararlı bir şekilde devam etmiştir.

Mikst kumaşta polyester liflerinin varlığı, spermatozoa hücrelerinin kumaş yüzeyinde kalmasını sağlayarak optik yansımayı artırırken; pamuk liflerinin hidrofilik doğası plazma matrisinin fazlasını emerek lekenin aşırı yayılmasını ve seyreltilmesini engellemiştir. Zapata ve arkadaşları, sentetik içerikli liflerin biyolojik sıvıları yüzeyde tutma eğiliminin optik tespiti kolaylaştırdığını belirtmiştir(72). Bu çalışmadaki bulgular, hibrit kumaşların her iki lif tipinin avantajlarını birleştirerek spermatozoa yoğunluğunu optik olarak kararlı bir seviyede tuttuğunu göstermektedir.

İlk 18 saatte anlamlı farkın çıkmaması, sıvının henüz tam kurumamış olması ve Virkler ile Lednev'in tanımladığı üzere biyolojik materyalin liflerin interstisyel (boşluklu) alanlarına doğru mekanik göçünün devam etmesiyle ilişkilendirilebilir(1). Ancak 3. günden itibaren kuruma ve fiksasyonun tamamlanmasıyla, spermatozoa hücreleri yansıtıcı birer odak noktası haline gelerek Azospermik gruptan net bir şekilde ayrışmıştır. Çalışmamızda kullanılan mavi ışık (450 nm) uyarımı, mikst kumaş üzerindeki leke morfolojisinin kontrastını belirginleştirmiştir. Aobaoma ve arkadaşları hücresel yoğunluğun yarattığı optik sinyal farkının, doğru dalga boyu uyarısıyla yansıtıcı yüzeylerde maksimuma ulaştığını vurgulamıştır(77). Mikst kumaştaki polyester liflerinin yansıtıcı karakteri, mavi ışık altında spermatozoa varlığını daha görünür kılmış olabileceği düşünülmektedir. Mikst kumaş bulguları, olay yerinden elde edilen karma lifli delillerde dijital parlaklık analizinin, leke yaşından bağımsız olarak (3. günden itibaren) yüksek bir güvenilirlikle spermatozoa varlığını (Normospermik/Azospermik ayrımı) saptayabildiğini göstermektedir.

6. Kumaş Türlerinin Parlaklık Performansı Açısından Zaman ve Grup Bağımlı İkili Karşılaştırmaları

Çalışmamızda, farklı kumaş türleri arasında yapılan ikili karşılaştırmalar, semen lekelerinin substrata bağlı davranışının hem zaman hem de spermatozoa hücresi varlığına göre değişkenlik sergilediğini göstermektedir. Elde edilen p-değerleri incelendiğinde, özellikle erken dönem ölçümlerinde (4. saat ve 18. saat) Viskon kumaşın diğer kumaş türlerinden belirgin biçimde ayrıştığı görülmektedir. Hem azospermik hem normospermik gruplarda Viskon–İpek, Viskon–Polyester ve Viskon–Pamuk karşılaştırmalarında $p<0,001$ düzeyinde

anlamlılık saptanması, Viskon lif yapısının seminal sıvının yüzeydeki dağılım karakteristiğini belirgin biçimde etkilediğini düşündürmektedir.

Tekstil liflerinin sıvı emilim kapasitesi ve kapiller yayılım özellikleri, biyolojik sıvıların yüzeyde oluşturduğu morfolojiyi doğrudan etkilemektedir. Schlagetter ve Glynn, farklı kumaş türlerinin semen tespit performansını anlamlı biçimde etkilediğini ve özellikle sentetik veya yarı sentetik liflerin seminal bileşenleri farklı biçimde absorbe ettiğini bildirmiştir(48). Çalışmamızda Viskon kumaşın çoğu zaman diliminde diğer kumaşlardan ayrışması, literatürde bildirilen lif temelli farklılıklarla uyumludur.

Erken dönemde (4. saat) Normospermik grupta Polyester–Pamuk karşılaştırmasında ($p=0,026$) anlamlı fark saptanırken, Azospermik grupta bu farkın görülmemesi, spermatozoa hücresel bileşenlerinin substratla etkileşiminin sıvı fazdan farklı olabileceğini düşündürmektedir. Semen içeriğinde bulunan proteinler ve hücresel yapılar, lif yüzeyine tutunma davranışını değiştirebilmektedir. Raman spektroskopi çalışmalarında semen bileşenlerinin substrat interferansından farklı düzeylerde etkilendiği ve hücresel yoğunluğun spektral ayrışmayı etkileyebildiği bildirilmiştir (81). Bu durum, normospermik örneklerde bazı kumaş çiftlerinde erken ayrışma gözlenmesini açıklayabilir.

18. saat ve 3. gün verileri incelendiğinde kumaşlar arası bazı farklılıkların ortadan kalktığı, bazı yeni farklılıkların ise ortaya çıktığı görülmektedir. Özellikle 3. günde hem azospermik hem normospermik grupta İpek–Polyester ve Polyester–Pamuk karşılaştırmalarında anlamlılık saptanması, kuruma sürecinin leke morfolojisini yeniden şekillendirdiğini göstermektedir. Miranda ve arkadaşları biyolojik sıvıların nemli dönemde düşük floresans gösterdiğini, kuruma sonrasında ise optik özelliklerin stabilize olduğunu bildirmiştir (7). Kuruma sürecinin lifler arasındaki sıvı dağılımını değiştirmesi, kumaş çiftleri arasındaki farkların zamana bağlı olarak yeniden ortaya çıkmasına neden olmuş olabilir. 8. gün ve 16. gün sonuçları, kumaşlar arası ayrışmanın özellikle normospermik grupta daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Örneğin 8. günde Normospermik grupta Viskon–Mikst ($p=0,036$), İpek–Polyester ($p<0,001$) ve Polyester–Pamuk ($p<0,001$) karşılaştırmalarında anlamlı fark bulunurken, Azospermik grupta daha sınırlı sayıda farklılık görülmektedir. Bu durum, spermatozoa hücrelerinin zamanla kuruyarak yüzeyde yoğunlaşması ve substrat ile etkileşiminin artması ile açıklanabilir. Literatürde hiperspektral görüntüleme çalışmalarında biyolojik bileşimin substrat ayrışmasında önemli rol oynadığını göstermiştir (82)(83).

Çalışmamızda normospermik örneklerde zaman ilerledikçe daha fazla kumaş çifti arasında anlamlı fark saptanması bu bulguyla uyumludur. 1. ay ve 3. ay verileri değerlendirildiğinde, bazı kumaş çiftlerinde farkların ortadan kalktığı, bazılarında ise kalıcı hale geldiği görülmektedir. Özellikle İpek–Polyester karşılaştırmasının hem azospermik hem normospermik grupta ileri dönemlerde de anlamlı kalması, bu iki lif tipinin seminal sıvı ile etkileşim mekanizmalarının belirgin biçimde farklı olduğunu düşündürmektedir. Genellikle protein esaslı doğal lifler ile sentetik liflerin sıvı tutulum özellikleri farklılık göstermektedir. Polilight ile yapılan floresans çalışmalarında da bazı kumaş türlerinin arka plan özellikleri nedeniyle semen tespitinde farklı performans gösterdiği bildirilmiştir(56).

6. ay verileri, kumaşlar arası farklılıkların tamamen ortadan kalkmadığını, aksine bazı karşılaştırmalarda (örneğin Polyester–Pamuk, Pamuk–Mikst) anlamlılığın devam ettiğini göstermektedir. Bu durum, kurumuş ve stabilize olmuş seminal kalıntının lif yapısına göre kalıcı morfolojik ve optik farklılıklar oluşturduğunu düşündürmektedir. Beckwith ve arkadaşları pamuk kumaşta seminal materyalin belirli koşullarda uzun süre tespit edilebilirliğini koruduğunu bildirmiştir(84). Çalışmamızda pamuklu kumaşın bazı karşılaştırmalarda ileri dönemlerde dahi ayrışma göstermesi literatürle uyumludur.

Bu bulgular, adli incelemelerde semen lekesinin değerlendirilmesinde yalnızca lekenin varlığının değil, kumaş tipinin ve leke yaşının da analitik yoruma dahil edilmesi gerektiğini göstermektedir. Özellikle alternatif ışık kaynağı ve görüntü analizi temelli yöntemlerde substrat etkisinin göz ardı edilmesi, yanlış negatif ya da yanlış pozitif yorumlara yol açabilir.

7. Kumaş Türlerinin Parlaklık Performansı Açısından İkili Karşılaştırmaları

Çalışmamızda kumaş türleri arasında parlaklık (Mean Gray Value) açısından istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklar saptanmıştır ($p < 0,001$). Tablo 11'deki ikili karşılaştırmalar, kumaşların lif yapılarının seminal leke görünürlüğü üzerindeki belirleyici rolünü somutlaştırmaktadır.

Zaman ve grup farklılığı göz önüne alınmaksızın gerçekleştirilen pairwise comparisons analizinde, Mean Gray Value açısından kumaş türleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). Ortalama parlaklık değerlerinin viskon > polyester > mikst > pamuk > ipek şeklinde sıralanması, semen lekelerinin floresans davranışının substratın lif yapısı ve optik özellikleriyle doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda viskon kumaşın en yüksek Mean Gray Value ortalamasına sahip olması (65,208±0,607), bu kumaşın rejenere selülozik yapısının hem sıvı emilim hem de yüzeyde floresan bileşenlerin homojen dağılımı açısından avantaj sağladığını düşündürmektedir. Selülozik liflerin hidrofilik karakteri, seminal plazma içeriğindeki flavin türevleri ve protein fraksiyonlarının lifler arasında tutulmasını kolaylaştırmakta; bu durum alternatif ışık kaynağı altında daha güçlü ve homojen bir ışıma profili oluşturabilmektedir. Adli ışık kaynaklarıyla yapılan çalışmalarda, özellikle selülozik bazlı açık renkli kumaşlarda biyolojik sıvıların daha yüksek kontrast verdiği bildirilmiştir (56).

Polyester ve mikst kumaş arasında anlamlı fark saptanmamış olması (p=0,144), sentetik lif içeriğinin floresans performansında belirleyici rol oynadığını düşündürmektedir. Polyester lifler hidrofobik yapıda olmakla birlikte yüzeyde sıvının daha sınırlı penetrasyonuna neden olur; bu durum bazı çalışmalarda yüzeyde daha yoğun lokal floresans alanları oluşmasına yol açtığı şeklinde yorumlanmıştır (82). Mikst kumaşın %40 polyester içermesi, bu iki kumaşın optik davranışlarının birbirine yaklaşmasına neden olmuş olabilir. Çalışmamızdaki sonuç, lif kompozisyonunun floresans şiddetini doğrudan etkilediğini düşündürmektedir.

Pamuk kumaşın polyester ve viskona kıyasla daha düşük Mean Gray Value göstermesi, doğal selülozik liflerin daha yüksek absorptif kapasitesi nedeniyle floresan bileşenlerin liflerin derin tabakalarına dağılmasından kaynaklanabilir. Literatürde pamuk kumaşın biyolojik sıvıyı absorbe etme kapasitesinin yüksek olduğu, bu nedenle yüzey kontrastının zaman zaman azalabildiği bildirilmiştir(48). Çalışmamızda pamuk ile mikst kumaş arasındaki anlamlı fark (p<0,001), polyester oranındaki artışın yüzeydeki optik yoğunluğu artırabileceğini düşündürmektedir.

İpek kumaşın en düşük Mean Gray Value ortalamasına sahip olması (44,205±0,607) dikkat çekicidir. Protein esaslı doğal bir lif olan ipek, ışık yansıma ve absorpsiyon özellikleri bakımından selülozik liflerden farklı davranmaktadır. Raman ve floresans temelli çalışmalar, protein bazlı substratların biyolojik sıvı tespitinde arka plan interferansı oluşturabileceğini göstermiştir(81)(85) Bu durum, ipek kumaşta semen lekesinin floresans kontrastının nispeten düşük ölçülmesini açıklayabilir.

Genel analizde yalnızca polyester–mikst çiftinde anlamlı fark bulunmaması, diğer tüm kumaş çiftlerinin istatistiksel olarak ayrışması, substrat etkisinin semen lekesinin optik karakteristiği üzerinde güçlü bir belirleyici olduğunu göstermektedir. Bu bulgu, adli

incelemelerde kullanılan alternatif ışık kaynaklarının performansının yalnızca biyolojik materyalin varlığına değil, substratın fiziksel ve kimyasal özelliklerine de bağlı olduğunu göstermektedir. Schlagetter ve Glynn, farklı yüzey tiplerinde semen lekelerinin farklı yoğunlukta floresans verdiğini ve substrat etkisinin göz ardı edilmemesi gerektiğini vurgulamıştır(48).

C. Beklenmeyen Bir Bulgu: Grupların Varyanslarındaki Farklılaşma

Zaman ilerledikçe normospermik grubun standart sapması sabit kalırken (9.3'ten 9.59'a) azospermik grupta standart sapmanın istikrarlı bir şekilde yükselmesi (10.82'den 17.2'ye), yani azospermik grubun zaman geçtikçe kendi içinde daha değişken sonuçlar vermesi; sperm hücrelerinin seminal plazmanın bozunma sürecini standardize edici bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Sperm hücrelerinin kuruma sürecinde protein matrisi içinde oluşturduğu çapraz bağlar (cross-linking), lekenin yapısal bütünlüğünü koruyarak bireyler arası biyokimyasal farklılıkları maskeleyebilir. Nitekim Peter ve arkadaşları, insan seminal plazmasında bulunan semenogelin I ve II proteinlerinin transglutaminaz enzimi aracılığıyla çapraz bağlanabildiğini ve bu çapraz bağların semenin yapısal bütünlüğünde kritik rol oynadığını göstermişlerdir. Bu mekanizma, normospermik grupta gözlenen düşük varyansı açıklayabilir (86).

Azospermik örneklerde gözlenen yüksek varyans ise, sperm hücrelerinin yokluğunda her bireyin seminal plazmasının kendine özgü biyokimyasal bileşiminin (flavin konsantrasyonu, protein içeriği, pH, tuz dengesi) zamanla daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Nitekim Cheng ve arkadaşları, azospermik hastaların seminal plazmalarında, normospermik bireylerle kıyaslandığında, 931 farklı metabolitin değiştiğini ve bu metabolitlerin özellikle lipid ve amino asit metabolizması yollarında yoğunlaştığını bildirmişlerdir. Farklı bireylerin seminal plazmaları, yaşlanma sürecinde farklı oranlarda bozulmakta ve bu durum, azospermik grupta giderek artan bir heterojeniteye yol açmaktadır(87).

Bu bulgu, adli incelemelerde yalnızca ortalama parlaklık değerlerinin değil, aynı zamanda varyansın da dikkate alınması gerektiğine işaret etmektedir. Özellikle eski tarihli lekelerde (6 ay ve üzeri), azospermik bir örneğin parlaklık değerinin düşük çıkması durumunda

geniş varyans nedeniyle kesin yorum yapmanın güç olabileceği; buna karşın normospermik örneklerde dar varyans sayesinde daha güvenilir tahminler yapılabileceği değerlendirilmektedir. Gelecek çalışmalarda, bu varyans farklılığının altında yatan biyokimyasal mekanizmaların araştırılması, seminal lekelerin yaş ve içerik tahmininde yeni yaklaşımlar geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Görüntüleme Tekniklerinin Geliştirilmesi: Bu çalışmada kullanılan mavi ışık kaynağı ve ImageJ analizinin başarısı, farklı kumaş türlerinde değişkenlik göstermiştir. Gelecek çalışmalarda, özellikle pamuk ve ipek gibi zorlu yüzeylerdeki kontrast sorununu minimize etmek amacıyla; mavi ışık uyarımıyla birlikte kullanılan filtre kombinasyonlarının optimize edilmesi ve analizlerin dar bant spektral görüntüleme sistemleri üzerinden yapılması önerilmektedir.

- Kumaşın Fiziksel Parametrelerinin İncelenmesi: Çalışmamızda kumaşın lif tipi (viskon, polyester vb.) temel değişken olarak alınmıştır. Ancak kumaşın kalınlığı (gramaj), dokuma sıklığı ve iplik büküm sayısı gibi fiziksel özelliklerin, seminal sıvının lif içindeki dikey ve yatay göçünü doğrudan etkilediği düşünülmektedir. Gelecek araştırmalarda "kumaş kalınlığı" ve "dokuma yapısı" ile optik parlaklık değerleri arasındaki korelasyonun incelenmesi, adli tıp literatürüne önemli bir katkı sağlayacaktır.

- Otomatik Sınıflandırma Modelleri: Görüntü analizinden elde edilen Mean Gray Value verilerinin, yapay zeka ve makine öğrenmesi algoritmaları (örneğin Karar Ağaçları veya Yapay Sinir Ağları) ile birleştirilerek; lekenin hem "türü" (Normo/Azo) hem de "yaşı" (TSD) hakkında otomatik tahmin yapan yazılım modellerinin geliştirilmesi önerilmektedir.

- Çevresel Faktörlerin Etkisi: Lekelerin sadece oda sıcaklığında değil; farklı nem, sıcaklık ve ışık maruziyeti (UV ışınları, güneş ışığı) gibi "olay yeri" koşullarına benzer ortamlarda bekletilerek, dijital parlaklık değerlerindeki değişimlerin takip edilmesi, yöntemin saha uygulamalarındaki geçerliliğini artıracaktır.

KISITLILIKLAR

Çalışmamız, dijital görüntü analizinin seminal lekelerin tespitindeki potansiyelini ortaya koymakla birlikte, elde edilen sonuçların yorumlanmasında dikkate alınması gereken bazı kısıtlılıklara sahiptir:

- **Kumaşın Fiziksel Deformasyonları:** İpek gibi hassas ve kaygan dokulu kumaşlarda zamanla meydana gelen kırışıklıklar, ışığın yansıma açısını değiştirerek dijital analizde "yalancı parlaklık" alanları oluşturmuştur. Bu durum, görüntü işleme sürecinde gerçek leke parlaklığı ile kumaşın dokusal parlamasını ayırt etmeyi güçleştiren temel bir fiziksel kısıtlılıktır.
- **Kumaş Gramajı ve Dokuma Sıklığı:** Çalışmada temel değişken olarak lif türü (pamuk, polyester vb.) ele alınmıştır. Ancak kumaşların kalınlığı (gramajı) ve iplik sıklığı gibi parametreler standardize edilmemiştir. Kumaş kalınlığının, seminal sıvının liflerin derinliğine emilme miktarını etkileyerek yüzey yansımasını (Mean Gray Value) doğrudan değiştirebileceği düşünülmektedir.
- **Işık Kaynağı ve Çevresel Koşullar:** Analizler sadece belirli bir açıda konumlandırılmış mavi ışık (450 nm) uyarımı altında gerçekleştirilmiştir. Farklı ışık şiddetleri, ortam aydınlatması veya kamera sensör kalitesindeki değişimlerin dijital çıktıları etkileyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.
- **Örneklem Büyüklüğü ve İstatistiksel Sınırlar:** Pamuklu kumaş gibi bazı örnek gruplarında, 1. aydan sonra Normo-Azo farkının istatistiksel anlamlılığını yitirmesi, örneklem sayısının (vaka sayısı) bu yüzeylerdeki küçük varyasyonları yakalamada kısıtlı kalmış olabileceğini düşündürmektedir.
- **Leke Yayılım Alanı (Area) Kontrolü:** İpek ve polyester gibi yayılım potansiyeline sahip kumaşlarda, sıvının geniş bir alana yayılması birim alandaki biyolojik materyal yoğunluğunu düşürmüştür. Bu durum, "ortalama parlaklık" (Mean) değerlerinin, lekenin gerçek hücresel konsantrasyonunu tam olarak yansıtmamasına neden olmuş olabilir.
- **Çevresel Maruziyet:** Lekeler laboratuvar ortamında, kontrollü sıcaklık ve nem koşullarında muhafaza edilmiştir. Olay yerindeki gibi yüksek ısı, güneş ışığı (UV maruziyeti) veya dış mekân koşullarının lekenin optik karakterini nasıl etkilediği bu çalışma kapsamında değerlendirilmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Virkler K, Lednev IK. Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. Forensic Sci Int 2009;188(1–3):1–17.

2. Clarke E, Hassan L. Forensic Semen Identification in Sexual Assault Investigations. Am J Med Sci Pharm Res 2025;7(05):1–5.

3. Marshall PL. An Introduction to Forensic Serology, Biological Evidence Evaluation, and Time Since Intercourse Intervals. In: Marshall PL, editor. Advances in Forensic Biology and Genetics. 1st ed. Singapore: Springer; 2025. p. 3–22.

4. Vandenberg N, Van Oorschot RAH. The use of Polilight in the detection of seminal fluid, saliva, and bloodstains and comparison with conventional chemical-based screening tests. J Forensic Sci 2006;51(2):361–70.

5. Allery JP, Telmon N, Mieusset R, Blanc A, Rougé D. Cytological Detection of Spermatozoa: Comparison of Three Staining Methods. J Forensic Sci 2001;46(2):349–51.

6. Forenscope. SAFE & SAFE Pro System - Forenscope [Internet]. [Erişim tarihi: 22 Aralık 2025]. Erişim adresi: https://forenscope.com/tr/urunler/adli-tip/safe-safe-pro-system/

7. Miranda GE, Prado FB, Delwing F, Daruge E. Analysis of the fluorescence of body fluids on different surfaces and times. Sci Justice 2014;54(6):427–31.

8. World Health Organization. Violence against women prevalence estimates, 2018 [Internet]. Geneva: WHO; 2021 [Erişim tarihi: 19 Aralık 2025]. Erişim adresi: https://iris.who.int/items/9d3c9ac0-698a-4a22-9375-99f67088f85a

9. Riem A, Chierto E, Aneli S, Lupariello F, Gino S, La Porta M, et al. So much promise, so little delivery: Underuse of biological evidence collected from sexual assault victims treated in an Italian specialised hospital centre. Forensic Sci Int Genet 2026;81:103377.

10. Gaskell M, Guiness J, Hamm A, Hanford GO, Marshall A, Sullivan K. Verification of intimate and non-intimate recovery of DNA within Sexual Assault Referral Centres (SARCs). Forensic Sci Int 2025;11:100620.

11. Fonneløp AE, Johannessen H, Heen G, Molland K, Gill P. A retrospective study on the transfer, persistence and recovery of sperm and epithelial cells in samples collected in sexual assault casework. Forensic Sci Int Genet 2019;43:102153.

12. Nittis M, Cochrane C, Hughes R, Franco M. Preparing semen slides in cases of sexual assault: Do they who smear first smear best? J Forensic Leg Med 2021;79:102130.

13. Hegde C, Shekhar R, Paul PM, Pathak C. A review on forensic analysis of bio fluids (blood, semen, vaginal fluid, menstrual blood, urine, saliva): Spectroscopic and non-spectroscopic technique. Forensic Sci Int 2025;367:112343.

14. Gamblin AP, Morgan-Smith RK. The characteristics of seminal fluid and the forensic tests available to identify it. WIREs Forensic Sci 2020;2(3):e1363.

15. Suttipasit P. Forensic Spermatozoa Detection. Am J Forensic Med Pathol 2019;40(4):304–11.

16. Harbison S, Fleming R. Forensic body fluid identification: state of the art. Res Rep Forensic Med Sci 2016;6:11–22.

17. Schulte J, Egger S, Kron S, Scheurer E, Schulz I. Evaluating novel and conventional cell-separation techniques for sexual assault investigations. J Forensic Sci 2025;70(5):1704–20.

18. Astrup BS, Thomsen JL, Lauritsen J, Ravn P. Detection of spermatozoa following consensual sexual intercourse. Forensic Sci Int 2012;221(1–3):137–41.

19. Bonsu DNO, Mitchell N, Jeanes C, Henry J. Investigation of a Y-chromosome screening approach for sexual assault evidence using the QIAGEN Investigator Casework GO! kit. J Forensic Sci 2025;70(3):1133–48.

20. Owen DH, Katz DF. A review of the physical and chemical properties of human semen and the formulation of a semen simulant. J Androl 2005;26(4):459–69.

21. Biyoloji Dersim. Gametogenez 1-Spermatogenez [Internet]. [Erişim tarihi: 9 Nisan 2026]. Erişim adresi: https://www.biyolojidersim.com/gametogenez-1-spermatogenez/

22. Hall JE, Hall ME. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 14th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021.

23. Vikipedi. Erkek üreme sistemi [Internet]. [Erişim tarihi: 26 Şubat 2026]. Erişim adresi: https://tr.wikipedia.org/wiki/Erkek_%C3%BCreme_sistemi

24. Boitrelle F, Shah R, Saleh R, Henkel R, Kandil H, Chung E, et al. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. Life (Basel) 2021;11(12):1368.

25. Herman Y, Feine I, Gafny R. Acid phosphatase test on Phadebas® sheets — An optimized method for presumptive saliva and semen detection. Forensic Sci Int 2018;288:218–22.

26. Allard JE, Davidson G, Baird A, Boyce M, Jones S, Lewis J, et al. The relevance of false positive acid phosphatase reactions indicative of the presence of seminal fluid from oral and vaginal samples. Sci Justice 2023;63(4):477–84.

27. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. J Urol 2002;167(3):1226–30.

28. Hochmeister M, Budowle B, Rudin O, Gehrig C, Borer U, Thali M, et al. Evaluation of Prostate-Specific Antigen (PSA) Membrane Test Assays for the Forensic Identification of Seminal Fluid. J Forensic Sci 1999;44(5):1057–60.

29. Mameli A, Scudiero CM, Delogu G, Ghiani ME. Successful analysis of a 100 years old semen stain generating a complete DNA STR profile. J Forensic Leg Med 2019;61:78–81.

30. Yokota M, Mitani T, Tsujita H, Kobayashi T, Higuchi T, Akane A, et al. Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test for forensic examination of semen. Leg Med (Tokyo) 2001;3(3):171–6.

31. Lee HC, Ladd C, Scherczinger CA, Bourke MT. Forensic applications of DNA typing: Part 2: Collection and preservation of DNA evidence. Am J Forensic Med Pathol 1998;19(1):10–8.

32. Butler JM. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. 1st ed. San Diego: Academic Press; 2011.

33. Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic application of DNA ‘fingerprints’. Nature 1985;318(6046):577–9.

34. Jobling MA, Gill P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. Nat Rev Genet 2004;5(10):739–51.

35. Budowle B, Eisenberg AJ, Van Daal A. Validity of low copy number typing and applications to forensic science. Croat Med J 2009;50(3):207–17.

36. Opel KL, Chung D, McCord BR. A Study of PCR Inhibition Mechanisms Using Real Time PCR. J Forensic Sci 2010;55(1):25–33.

37. Hecht E. Optics. 5th ed. Harlow: Pearson; 2017.

38. Langer M. What is a light source? IEEE Explore [Internet]. 1997 [Erişim tarihi: 23 Aralık 2025]. Erişim adresi: https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/609316/

39. Andres Callegari F. Thick Lenses Systems between Arbitrary Index of Refraction Optical Media. A Simple Optical Model for the Human Eye. Int J Phys 2021;9(6):259–68.

40. Smith FG, King TA, Wilkins D. Optics and Photonics: An Introduction. 2nd ed. West Sussex: John Wiley & Sons; 2007.

41. Lakowicz JR. Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3rd ed. New York: Springer; 2006.

42. Abbyad P, Childs W, Shi X, Boxer SG. Dynamic stokes shift in green fluorescent protein variants. Proc Natl Acad Sci U S A 2007;104(51):20189–94.

43. Wawryk J, Odell M. Fluorescent identification of biological and other stains on skin by the use of alternative light sources. J Clin Forensic Med 2005;12(6):296–301.

44. Marin N, Buszka J. Alternate light source imaging: Forensic photography techniques. 1st ed. London: Routledge; 2013.

45. Houck MM, Siegel JA. Fundamentals of Forensic Science. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press; 2015.

46. Springer E, Almog J, Frank A, Ziv Z, Bergman P, Gui Qiang W. Detection of dry body fluids by inherent short wavelength UV luminescence: preliminary results. Forensic Sci Int 1994;66(2):89–94.

47. Santucci KA, Nelson DG, McQuillen KK, Duffy SJ, Linakis JG. Wood's lamp utility in the identification of semen. Pediatrics 1999;104(6):1342–4.

48. Schlagetter TG, Glynn CL. The Effect of Fabric Type and Laundering Conditions on the Detection of Semen Stains. Int J Forensic Sci 2017;2(2):000122.

49. Stoilovic M. Detection of semen and blood stains using polilight as a light source. Forensic Sci Int 1991;51(2):289–96.

50. Gardner RM. Practical Crime Scene Processing and Investigation. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2012.

51. Hooker RH, Creer KE, Brennan JS. Microspectrophotometry in the development and photography of fluorescing marks. Forensic Sci Int 1991;51(2):297–304.

52. Fiedler A, Rehdorf J, Hilbers F, Johrdan L, Stribl C, Benecke M. Detection of Semen (Human and Boar) and Saliva on Fabrics by a Very High Powered UV-/VIS-Light Source. Open Forensic Sci J 2008;1:12–5.

53. Seidl S, Hausmann R, Betz P. Comparison of laser and mercury-arc lamp for the detection of body fluids on different substrates. Int J Legal Med 2008;122(3):241–4.

54. Lloyd JBF. Forensic Significance of Fluorescent Brighteners: Their Qualitative TLC Characterisation in Small Quantities of Fibre and Detergents. J Forensic Sci Soc 1977;17(2–3):145–52.

55. Carr S. Forensic Science: The Future of Body Fluid Identification. Meas Control 2009;42(10):310–3.

56. Kobus H, Silenieks E, Scharnberg J. Improving the effectiveness of fluorescence for the detection of semen stains on fabrics. J Forensic Sci 2002;47(4):819–23.

57. Mendis NDNA. Forensic Photography: Concepts and Applications for better crime scene examination. Medico-Legal J Sri Lanka 2021;9(1):47.

58. Gouse S, Karnam S, Girish H, Murgod S. Forensic photography: Prospect through the lens. J Forensic Dent Sci 2018;10(1):2–7.

59. Robinson EM. Crime Scene Photography. 3rd ed. Academic Press; 2016.

60. Lincoln CA, McBride PM, Turbett GR, Garbin CD, MacDonald EJ. The use of an alternative light source to detect semen in clinical forensic medical practice. J Clin Forensic Med 2006;13(4):215–8.

61. Butler JM. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation. 1st ed. San Diego: Academic Press; 2015.

62. White IG, Lincoln GJ. The yellow pigmentation of bull semen and its content of riboflavin, niacin, thiamine and related compounds. Biochem J 1960;76(2):301–6.

63. Song SH, Dick B, Penzkofer A. Photo-induced reduction of flavin mononucleotide in aqueous solutions. Chem Phys 2007;332(1):55–65.

64. Ghisla S. Fluorescence and optical characteristics of reduced flavins and flavoproteins. Methods Enzymol 1980;66:360–73.

65. Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Evdokimov VV. Riboflavin content in male spermoplasm. Bull Exp Biol Med 2003;135(3):258–60.

66. Pang BCM, Cheung BKK. Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen. Forensic Sci Int 2007;169(1):27–31.

67. Nabi AG, Mateen RM, Khalid A, Tariq A, Parveen R. Persistence of Semen on five different fabric types in various water environments. Forensic Sci Int 2021;327:110944.

68. Orphanou CM. The detection and discrimination of human body fluids using ATR FT-IR spectroscopy. Forensic Sci Int 2015;252:e10–6.

69. Williams GA. Body fluid identification: A case for more research and innovation. Forensic Sci Int Rep 2020;2:100096.

70. Wang F, Gallardo V, Michielsen S, Fang T. Dynamics of blood falling on three types of cotton fabrics and resulting bloodstains. Forensic Sci Int 2025;374:112543.

71. Agrawal P, Barnet L, Attinger D. Bloodstains on woven fabric: Simulations and experiments for quantifying the uncertainty on the impact and directional angles. Forensic Sci Int 2017;278:240–52.

72. Zapata F, Ortega-Ojeda FE, García-Ruiz C. Revealing the location of semen, vaginal fluid and urine in stained evidence through near infrared chemical imaging. Talanta 2017;166:292–9.

73. Tastekin B, Akcan R, Evran E, Tamer U, Zengin HY, Yildirim MS, et al. Estimation of time since deposition of semen stain on different fabric types using ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics. Forensic Sci Int 2024;354:111885.

74. Nolan A, Speers SJ, Murakami J, Chapman B. A pilot study: The effects of repeat washing and fabric type on the detection of seminal fluid and spermatozoa. Forensic Sci Int 2018;289:51–6.

75. Morton WE, Hearle JWS. Physical properties of textile fibres. 4th ed. Cambridge: Woodhead Publishing; 2008.

76. Aobaom S, Kongnapakdee T, Romgaew T. Enhanced semen stain detection through the synergistic integration of a prototype artificial intelligence (AI) model and polilight technique. Forensic Sci Int 2025;377:112667.

77. Wei X, Yu K, Wu D, Huang P, Sun Q, Wang Z. Species identification of semen stains by ATR-FTIR spectroscopy. Int J Legal Med 2021;135(1):73–80.

78. Hughes DA, Szkuta B, van Oorschot RAH, Conlan XA. The impact of substrate characteristics on the collection and persistence of biological materials, and their implications for forensic casework. Forensic Sci Int 2024;356:111951.

79. Açıkgöz G. Raman spektroskopisi ve yüzeyde zenginleştirilmiş Raman spektroskopisi (SERS) tekniklerinin adli tıp uygulamalarındaki üstünlüklerinin incelenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Kahramanmaraş: Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyomühendislik ve Bilimleri Ana Bilim Dalı; 2017.

80. Giulietti N, Discepolo S, Castellini P, Martarelli M. Correction of Substrate Spectral Distortion in Hyper-Spectral Imaging by Neural Network for Blood Stain Characterization. Sensors (Basel) 2022;22(19):7311.

81. Edelman G, van Leeuwen TG, Aalders MCG. Hyperspectral imaging for the age estimation of blood stains at the crime scene. Forensic Sci Int 2012;223(1–3):72–7.

82. Beckwith S, Murakami J, Chapman B. The persistence of semen on cotton fabric in various water environments. Aust J Forensic Sci 2020;52(2):155–64.

83. Casey T, Mistek E, Halámková L, Lednev IK. Raman spectroscopy for forensic semen identification: Method validation vs. environmental interferences. Vib Spectrosc 2020;109:103065.

84. Peter A, Lilja H, Lundwall Å, Malm J. Semenogelin I and semenogelin II, the major gel-forming proteins in human semen, are substrates for transglutaminase. Eur J Biochem 1998;252(2):216–21.

85. Cheng J, Tang Y, Zhao Q, Weng J, Fang Z, Qi Y, et al. Seminal Plasma Metabolomic Profiling Reveals Key Metabolic Signatures Linked to Spermatogenic Potential in Non-Obstructive Azoospermia with Cryptorchidism. Metabolites 2026;16(2):147.