

ARAŞTIRMALAR

Exsperimental Çalışmalar

A. Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Kürsüsü

TOKSİKOMANOJEN MADDELERİN VÜCUT SIVILARINDA TESPİT VE TAYİNİ

Prof. Dr. Şükrü KAYMAKÇALAN(*)

Toksikomani yapan yani psişik veya fizik bağımlılık (dependens) husule getiren maddelerin kullanılması son yıllarda birçok memleketlerde endişe verici bir tarzda artmıştır. Bu maddelerin suiistimali çeşitli sosyal, tıbbî ve hukukî problemlere yol açmaktadır. Bu nedenle bir şahsın her hangi bir ilâcı kullanıp, kullanmadığı hakkında kesin bir karara varabilmek için o şahsın vücut sıvılarında şüpheli maddenin mevcudiyetinin ispatı gerekebilir. İlâçların vücut sıvılarında tespit ve tayini akademik bakımdan da çeşitli yararlar sağlayabilir.

Genellikle ilâçların vücut sıvılarında idantifikasyonu şu amaçlarla yapılmaktadır(10) :

- a) Klinik bir teşhise yardımcı olmak.
- b) İlâç bağımlılığı olan şahıslarda tedavi programlarının uygulanışını kontrol ve takibe yardımcı olmak.
- c) Epidemiyolojik araştırmalarda bağımlılık yapan maddelerin kullanılışının yaygınlık derecesini (prevalansını) tayine yardımcı olmak.
- d) Adli tıp bakımından bazı problemlerin aydınlanmasına katkıda bulunmak.

Biz bu yazımızda bilhassa son yıllarda bağımlılık yapan maddelerin teşhis ve tespiti için geniş bir şekilde uygulanan bazı metodlardan bahsedeceğiz. Bağımlılık yapan maddelerin vücut sıvılarında tespiti için bilhassa idrar, tükürük, kan, mide muhtevası ve ter muayeneleri yapılmaktadır. Adli tıp bakımından otopside

(*) A. Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Kürsüsü.

LSD tayini için en uygun biyolojik materyel safradır(11). İdrar hariç, diğer bütün vücut sıvıları ancak ilâcın alınmasından kısa bir müddet sonra müsbet sonuç verebilir. Gerek bu nedenle, gerekse temininin kolaylığından ve bol miktarda elde edilebilmesinden pratikte halen en çok idrar muayeneleri yapılmaktadır. Ancak sonuçtan emin olabilmek için idrarın bir şahsın gözü önünde boşaltılması zorunludur. Diğer taraftan idrar muayenesinin dahi bir şahsın özel hukukuna müdahale olacağı şüphesizdir. Bu nedenle adı geçen muayeneler şahsın müsaadesi ile veya özel kanun ve tüzüklerin emrettiği hallerde uygulanabilir. İsveç'te bir mahkûmun dahi kendi teklifi olmadan idrarının muayenesine kanun izin vermemektedir(8).

Bağımlılık yapan maddelerin teşhisi için idrar muayeneleri bilhassa A.B.D.'de geniş bir şekilde uygulanmaktadır. Resmî istatistiklere göre A.B.D.'de 1973 yılında opiat grubu ilâçlara bağımlılık gösteren 98.988 şahıs mevcuttu. Bunlardan 91.268'i heroinoman olup, 5.801'i metadon kullanmakta idi. Aynı yıl A.B.D.'de toksikomanların tedavisi için 1.487 müessese mevcut olup, bunlardan 926'sı Federal hükümet tarafından işletilmektedir(13). Heroinomanlara uygulanan metadon programlarında idrar muayeneleri mecburi olarak yapılır. Böyle bir programa dahil olan bir şahsın idrarında her hafta morfin, ayda bir defa da metadon, amfetamin ve barbituratlar aranır. A.B.D.'de son zamanlarda endüstride yeni alınacak işçilerin de toksikoman olup, olmadığını tespit için bu muayeneler uygulanmaktadır. Toksikomani, epidemiyoloji bakımından bulaşıcı bir hastalığa benzetildiğinden Vietnam'dan dönen askerlere de bu kontroller uygulanmıştır.

1973 yılında A.B.D.'de bağımlılık yapan maddelerin aranması için 15 milyon idrar muayenesi yapılmıştır. Bunun 8 milyonu metadon programı ile ilgili olup, 5 milyondan fazlasını da askerlerde yapılan kontroller teşkil etmiştir. Geri kalan kısım endüstri, hapishaneler ve hekim veya hastahaneler tarafından uygulanmıştır. Metadon kliniklerinin artırılması hakkında projelerle ilgili olarak 1974 ve 1975 yıllarında idrar muayenesi için yukarıda bildirilen sayının iki misline çıkacağı öngörülmüştür(3). Kullanılan muhtelif metodlara göre değişmek üzere bir idrar muayenesinin maliyeti 20 sent ile 10 dolar arasında değişmektedir (Maliyet hesabı-

na her türlü alet, malzeme ve reaktif masraflarından **başka**, aletlerin bakım ve onarım masrafları ile teknisyen ve laboratuvar şefinin ücretleri de dahil edilmektedir). Geniş kitlelere uygulanabilen idrar muayenelerinin maliyetini ucuzlatmak için bilhassa basit aletlere lüzum gösteren ve kısa zamanda çok sayıda idrar numunesine uygulanabilen metodların geliştirilmesi için çalışmalar yapılmaktadır.

Toksikomani teşhisi için, bağımlılık yapan maddelerin biyolojik sıvılarda tespitinden önce 1955 de nalorfin pupil testi geliştirilmiştir. Bu metod ancak narkotiklerin kullanılmasını meydana çıkarabilirse de, kullanılan ilaç miktarı hakkında bir fikir vermez.

Bağımlılık yapan maddelerin idrarda teşhisi için kullanılan metodlardan bahsetmeden önce ekstraksiyon metodlarından ve sensitivite ve spesifite kavramlarından bahsetmek gerekir.

Genellikle, bağımlılık yapan maddeler vücut sıvılarından organik bir eritici yardımı ile **ekstrakte** edilir ve organik solvent uçurtularak, rezidü kurutulur. Fakat vücutta metabolize olup, idrara glükuronid veya sülfat halinde geçen maddeler ileri derecede polar olduklarından mutad organik solventlerle kolayca ekstrakte edilemezler. Bunların idrardan ayırt edilebilmesi için uygun bir iyonik veya non - iyonik (**XAD - 2**) reçinenin kullanılması gerekir.

İdrarda bulunan morfinin yüzde 90'dan fazlası **morfin - 3 - glükoronid** halindedir. Az miktarda normorfin, konjuge - normorfin, morfin eteral sülfat ve kodein de bulunabilir. Heroin vücutta 6 - monoasetilmorfin ve morfine deasetile olur. Heroin tatbikinden sonra idrardaki morfin ve morfin - glükuronid oranı **aynen** yalnız morfin tatbik edilenlerde olduğu gibidir.

Sensitivite (hassasiyet), bir test vasıtasile tespit edilebilecek olan en düşük ilaç konsantrasyonunu ifade eder. Bazan sensitivite konsantrasyon değil de, miktar olarak bildirilir. Örneğin bu test **10 µg ilacı** meydana çıkarabilir veya sensitivitesi 10 µg'dır deyimleri kullanılır. Fakat bu miktarın ne kadar vücut sıvısında olduğu belirtilmemiştir. Eğer test 10 ml. sıvıda 10 µg'yı tespit etmiş ise, sensitivite 1 µg/ml. demektir.

Spesifite, testin bir maddeyi başka maddelerden ne derece ayırt edebileceği ve muayyen bir maddenin teşhis ve tespiti için ne derece özel olduğu anlamına gelir. Bazı testler kimyasal yakınlığı olan birçok maddeleri birbirinden ayırt edemez. Örneğin metadon ve destropofoksifen bazı testlerde ayırt edilememektedir. Halbuki bunlardan ikincisi (Darvon) uyuşturucu madde kabul edilmemekte ve mutad analjezik ve antipiretiklerle müstereken çok kullanılmaktadır. Bununla beraber bazı ilâçların metabolitleri için spesifikite olmayışı, bir avantaj kabul edilebilir. Örneğin birçok testler morfin ve morfin - glüküronidi aynı zamanda meydana çıkarmaktadır.

Halen idrarda bağımlılık yapan maddelerin idantifikasyonu için kullanılan metodlar esas itibarile kromatografik, spektrofotometrik ve immünolojik olmak üzere üç guruba ayrılabilir. Ayrıca kromatografik metodlarla, spektrometrik metodların kombinasyonu olan bazı metodlarla mevcuttur. Pratikte en çok kullanılmakta olan metodların çeşitli ilâçlarla ilgili sensitivite dereceleri Tablo : I de gösterilmiştir. Bu tabloda LSD ve esrar'ın bulunmayışı son iki madde analizinin henüz rutin olarak kullanılmadığını gösterir.

TABLO : I
Biyolojik Sıvılarda Toksikomanojen Maddeler
(Muhtelif Metotlarda Sensitivite)

Kullanılan metod	Total Morfin	Barbitülat	Amfetamin	Kokain	Metadon
İnce tabaka Kromatog- rafi	0.5 — 1.5 µg	1.5 — 2.0 µg	1.0 — 2.0 µg	1.0 — 2.0 µg	1.0 — 3.0 µg
	0.5 — 0.30 µg	1.0 — 3.0 µg	1.0 — 2.0 µg	1.0 — 2.0 µg	0.1 — 1.0 µg
Otomatik Spektrofluoro- metri	0.20 µg/ml	—	—	—	—
Mas fragmen- tografi	0.0001 — 0.1 µg	0.0001 — 0.1 µg	0.001 — 0.1 µg	0.001 — 0.1 µg	0.001 — 0.1 µg
İmmünoessey	0.50 µg/ml	1.0 — 2.0 µg/ml	1.0 — 2.0 µg/ml	0.5 — 1.0 µg/ml	0.5 — 1.0 µg/ml
	0.50 µg/ml	1.5 — 2.0 µg/ml	2.0 — 2.5 µg/ml	1.0 — 1.5 µg/ml	0.50 µg/ml
	0.03 — 0.06 µg	0.05 — 0.10 µg/ml	0.10 — 0.15 µg/ml	—	—
	0.03 — 0.06 µg	—	—	0.03 — 0.06 µg/ml	0.03 — 0.06 µg/ml

I. KROMATOGRAFİK METODLAR :

İdrarda bağımlılık yapan maddelerin tespiti için en çok İnce Tabaka Kromatografisi (TLC), Gaz Kromatografisi (GS) ve Gaz - Likid Kromatografisi (GLC) kullanılmaktadır. Kromatografik metodların diğer metotlara üstünlüğü spesifiteleridir. Cevaplarda yanlış - pozitif ensidansı yüzde 1'den azdır. Bu metodlar hemen hemen bağımlılık yapan bütün maddelere uygulanabilmektedir. Amfetamin ve barbitüratlar için kromatografik metodlar diğer metotlardan daha elverişlidir.

İnce tabaka kromatografisi diğerlerinden daha basit ve ucuzdur. Aynı anda bir tek tabaka üzerinde 17'ye kadar nümunenin muayenesini yapmak mümkündür. Genellikle bütün ameliye için gerekli zaman 2 saat olarak kabul edilir. Bu metodda ekstraksiyon zaruri olduğu gibi ayrıca morfin glükuronid de hidroliz ile morfine çevrilmelidir. İdrarda bulunan morfinin yüzde 90'a kadarının glükuronid metaboliti halinde olduğu malumdur. İnce tabaka kromatografisinin özelliği kantitatif bir testten ziyade kalitatif oluşudur. Ancak «evet» veya «hayır» cevabı verir.

Gaz kromatografisi ve Gaz - likid kromatografisinde saptanacak ilaç sisteme önce likid halde ithal edilir ve sonra uçucu hale getirilir. Bazı maddelerin daha kolay volatil hale geçmesi için örneğin trimetil silil eter türevleri haline değiştirilmesi gerekir. Gaz kromatografisinin esası muhtelif maddelerin bir sütun tarafından farklı derecelerde adsorbe edilmesidir. Gaz - likid kromatografisinde ise separasyon prensibi, her ilacın likid fazla, gaz faz arasında dağılma yeteneğinin farklı oluşuna dayanır. Gaz kromatografisinde bazı maddelerin sütun materyeline adsorbsiyonu madde kaybına yol açabilir.

II. SPEKTROFOTOMETRİK METODLAR :

Spektrofotometrik metotlardan U. V. Absorbsiyon metodu örneğin barbitüratların vücut sıvılarında tespiti için kullanılmıştır. Fakat amfetaminler ve metadon gibi ışık emme kapasitesi az bazı maddelere bu metodlar uygulanamaz. Diğer taraftan vücut sıvılarında bulunabilen birçok başka ilaçlar ve endojen maddeler de yalancı - pozitif reaksiyon verebilir.

Spektrofotofluorometrik metodların esası fluorofor adı verilen birçok kimyasal maddenin özel şartlar altında floresans vermesine dayanır. Bu metodun bağımlılık yapan maddelerin tayini için idrara uygulanmasında ekstrakte edilmiş olan madde kimyasal bir reaksiyonla fluorofor hale getirilir. Örneğin morfinin hafif oksidasyonu ile elde edilen psödomorfin (2 - 2' - Bismorfin) ileri derecede floresans verebilen bir maddedir. Fluorofor hale getirilmiş materyel alette önce muayyen dalga uzunluğundaki bir ışık hüzmesine maruz bırakılır ki buna eksitasyon olayı denir. Eksitasyon sonucu fluorofor madde diğer başka bir dalga uzunluğundaki (öncekinden daha uzun) ışık hüzmeleri ile ışın verir (emission yapar) ki bu sonuncusu da bir fotosel tarafından tespit edilir.

III. KOMBİNE METODLAR :

Gaz kromatografisi ile kitle spektrometrisinin kombinasyonu aranan maddelerin direkt idantifikasyonunu sağlar. İdantifikasyon için bir referans maddesinin kitle spektrumu ile mukayese gerekir. Bu metodun bir komputer programı ile teşriki birçok ilaçların ve metabolitlerinin teşhisine imkân vermektedir.

Kitle fragmentografisinde, gaz kromatograf'tan gelen efluentin iyonize edilerek spesifik iyon deteksiyonu ile iyonların intensitesi (çokluğu) devamlı eğriler halinde kaydedilmektedir. Bu metod gaz kromatografisinden veya gaz kromatografi - kitle spektrometrisinden 10 - 1000 defa daha duyarlıdır.

IV. İMMÜNOLOJİK METODLAR :

İmmünoessey tekniği başlangıçta vücut sıvılarındaki hormonların tayini için ortaya atılmış, sonradan başka maddelere ve ilaçlara da uygulanmıştır. İmmünolojik metodların, bağımlılık yapan maddelerin idantifikasyonunda kullanılışı ilk olarak 1970 de Spector ve Parker (12)'in morfin için radyoimmünoessey'i tarifleri ile başlar. Bu metodların geniş bir şekilde uygulanabilmesi ise ancak 1971 ve 72'lerde olmuştur. FRAT ilk olarak 1971 Temmuzunda California'da Palo - Alto'da Syva Şirketi tarafından ortaya atılmıştır. EMIT aynı şirket tarafından 1972 de geliştirilmiştir. RIA testi 1972 Kasımında Hoffman - La Roche firması tarafından

«Abuscreen» adı ile piyasaya çıkarılmıştır. HI ise aynı tarihte Chicago'da Materials and Technology Systems Şirketi tarafından pratiğe sunulmuştur.

Genellikle ilaç moleküllerinin kendileri antijenik olmadığından immünolojik metodların uygulanabilmesi için ilaçlar bir protein taşıyıcıya bağlanmalıdır. Hapten rolü oynayan ilacı antijenik yapmak için pratikte sığır veya insan serum albümini olumlu sonuç vermiştir. Örneğin morfin molekülünü 2 pozisyonundaki C atomundan veya 3 ve 6 pozisyonlarındaki OH gruplarından ya hatta N atomundan proteinle bağlamak mümkündür. Morfini proteinle bağlayabilmek için genellikle aşağıdaki türevleri kullanılmaktadır : 3 - O - karboksimetilmorfin, 6 - morfenilhemisüksinat ve 2 (p - aminofenilazo) morfin. İlaçla protein konjugatı immünogen (veya antigen)'i teşkil eder ki ekseriya Freund adjuvantı ile emülsifie edildikten sonra hayvanlara zerkedilir. Kullanılan hayvan türü çoğunlukla tavşan, koyun veya kegidir. Birer hafta ara ile zerkler yapıldıktan sonra bu hayvanlardan antikorları ihtiva eden antiserumlar elde edilir. Antiserumlarda başlangıçta gerek taşıyıcı protein kısmına gerekse hapten'e karşı ayrı ayrı antikorlar bulunur. Bu antikorları klasik metodlarla ayırt etmek mümkündür. Böylece saflaştırılmış antiserumlar immünoesseyde ayırac (reagent) olarak kullanılır.

Halen bağımlılık yapan maddelerin vücut sıvılarında tayini için dört tip immünoessey uygulanmaktadır (7).

- a) RIA (Radioimmunoassay) : Radyoaktif izotop metodu.
- b) FRAT (Free radical assay technique) : Serbest radikaller metodu.
- c) EMIT (Enzyme multiplied immunoassay technique) : Enzim aktivasyonu metodu ve
- d) HI (Hemagglutination inhibition) : Hemaglutinasyon metodu.

Bunlardan ilk iki metodda işaretlenmiş ilaç molekülleri, muayyen miktarda antikor muvacehesinde işaretlenmemiş (vücut sıvılarında mevcut) ilaç molekülleri ile enkübe edilir. Bu takdirde antikorum ilacı bağlayan kısımlarında işaretlenmiş ve işaretlen-

memiş ilâç molekülleri arasında bir nevi rekabet husule gelecektir. Ortama sonradan gelmiş olan işaretlenmemiş ilâç molekülleri, bir miktar işaretlenmiş molekülü antikordaki yapışma yerinden serbest hale geçirecektir. Radyoaktif izotop metodu ile muayenesi yapılacak olan biyolojik sıvıda ne kadar çok ilâç molekülü varsa, «antikor - işaretlenmiş ilâç» kompleksinden o nispette radyoaktivite uzaklaştırılacaktır. Böylelikle izotop dilüsyon metodu esasına dayanarak biyolojik sıvıdaki ilâç miktarı hesaplanır.

Radyoaktif bir atomla işaretleme ya bizzat ilâç molekülünde yapılmakta veya ilâç molekülüne kısa zincirli bazı amino asitlerin bağlanması ile temin edilmektedir. Bu son durumda tirozin kısımları kolaylıkla ^{125}I ile işaretlenebilir.

Pratikte radyoizotop metodu ile morfin tayini için tritiumla işaretlenmiş dhidromorfin kullanılır ve antikorlar tavşandan elde edilir. Antikor morfinden başka, normorfin, kodein ve heroin arasında da ayırım yapmaz, fakat 3 - monoglukuronidmorfini teşhis etmez. Bu nedenle metodun sensitivitesi yüksek olmakla beraber tam spesifik değildir. Radyoimmünoessey ile beyindeki morfin miktarını da tayin mümkündür.

Serbest radikaller metodunun esası, ilâcın radyoizotop yerine bazı serbest radikallerle işaretlenmesidir. Örneğin NO_2 ile işaretlenmiş morfin, tavşandan elde edilmiş antiserumla reaksiyona uğratılır. Aynen radyoizotop metodunda olduğu gibi, işaretlenmiş morfin molekülleri ile işaretlenmemiş morfin molekülleri aynı antikör kısımları için yarışmaya girerler. Bir spin rezonans spektrofotometresi ile ölçülen serbest radikallerden vücut sıvılarındaki ilâç miktarı hesaplanır. Bu sistemde RIA ile aynı antikörler bahis konusu olduğundan spesifite de aynıdır. Çok az miktarda test materyeli ile çok kısa zamanda reaksiyon verir. Ancak özel bir cihaza ihtiyaç gösterir. Bu metod A.B.D.'de pek kullanılmıyor. İngiltere'de fenotiazinlerle yalancı - pozitif reaksiyon verdiği saptanmıştır.

Üçüncü immünolojik metod olan enzim aktivasyonunun esası, bir enzimin substratı ile birleştiği yere tayini yapılacak ilâcın bağlanmasına dayanır. Enzim - substrat kompleksinin aksine, enzim - ilâç kompleksi inaktiftir. Sisteme antikörleri ihtiva eden se-

rum spesifik substratla birlikte ilâve edilir. Antikorlar ilâcı enzimden çekip, almak suretile enzimin aktivasyonuna, yani substratı etkilemesine imkân verir. Kullanılan enzim genellikle lizozimdir. Substrat ise *mycoccus lysodeiktus* adında bir bakteridir. Enzim ilâktan kurtulunca bakterilerde liziz husule gelir. Çabuk, kolay ve ucuz olan bu metod morfin, metadon, kokain, barbitüratlar ve amfetamine uygulanmıştır. Sensitivitesi $\mu\text{g/ml}$ 'dir, fakat spesifitesi yoktur. Son zamanlarda EMIT testi malik dehidrogenaz enzimi ile de uygulanmaktadır (EMIT - MDH). Substrat olarak sisteme oksal asetik asid ve nikotinamid adenin dinukleotid (NADH) ilâve edilir. Antiserum enzimden morfini uzaklaştırarak enziminin aktivasyonunu sağlar.

Bir diğer immünolojik metod olan hemaglutinasyon inhibisyon testinde başlangıçta morfin molekülü eritrositlerin yüzeyine bağlanır. Morfinin eritrositlere bağlanması bis - diazobenzidin maddesi aracılığı ile yapılmaktadır. Bu şekilde morfinle kaplı eritrositler 4 derecede 1 hafta saklanabilir. Pratikte koyun eritrositleri kullanılmaktadır. Böyle bir sistemde morfin antikorları, aglutinasyona sebep olur. Biyolojik sistemde mevcut olabilen morfin ise antikorlarla bağlanacağından aglutinasyonu inhibe eder. Metodun spesifitesi önceki immünolojik metodlarla aynıdır. Sensitivitesi 0.01 nanogram civarındadır. Pahalı aletlere ihtiyaç yoktur. Yalancı - pozitif cevap sayısı düşüktür.

İmmünolojik metodlara ait ilginç bir yanılma (yalancı - pozitif reaksiyon) haşhaş tohumu ihtiva eden pasta yiyen şahısların idrarlarının 24 saat içinde morfin reaksiyonu vermesidir(4). Bu anomalinin henüz tam bir izahı yapılmamıştır. Haşhaş tohumlarının morfin veya diğer fenantren alkaloidleri ihtiva etmediği bilinir. Bununla beraber tohumların az miktarda narkotin ve noskapin ihtiva edebileceği bildirilmiş ise de bu sonuncular izokinolein grubu alkaloidlerdendir.

Radyoimmünoessey ile gönüllü şahıslarda heroinin itrahi şekli ve süresi incelenmiştir. Nontoleran bir şahısta heroinin minimal öforojenik dozu 2.5 mg. olarak kabul edilir. Beş mg. ise orta derecede bir öforojenik dozdur. Her ne kadar heroinomanlar günde kendilerine 10 - 30 mg. heroin tatbik ettiklerini iddia ederlerse de,

kaçak olarak satılan heroin dozlarının bir pakette 0.5 - 12 mg. olduğu saptanmıştır. Bir çalışmada on gönüllü şahısa birer hafta ara ile damardan 2.5 ve 5 mg. dozlarında heroin zerkedilmiştir. İlk 32 - 48 saat zarfında bütün idrarlarda morfin tespit edilmiştir. İdrarların yarısında ise morfin itrahi 56 - 64 saat devam etmiştir(5). Aynı araştırmacılar gönüllü şahıslarda heroin tatbikinden sonra plazma ve tükürükteki morfin miktarını da immünolojik metodlarla araştırmışlardır. 2.5 mg. heroinden sonra plazma ve tükürükte morfin bulunamamıştır. 5 - 10 mg. dozlardan sonra ise tükürükte 1 - 2 saat ve plazmada 2 - 4 saat müddetle morfin tespit edilebilmiştir. Kronik morfin tatbikatı olarak 4 gönüllü şahısa 3 ay müddetle günde 4 defa 30 mg. morfin cilt altından zerkedilmiştir. Bu şahıslarda morfin tatbikinden sonra plazmada morfin en az 6 saat müddetle ve tükürükte de 3 - 4 saat müddetle saptanabilmiştir(6). Bu araştırmadan çıkarılan sonuca göre heroinomani teşhisi için kan ve tükürük muayeneleri, idrar muayenesi kadar yararlı olmasa da yüksek dozda heroini kronik olarak kullananlarda işe yarayabilir.

Vücut sıvılarında LSD tayini için spektrofotometrik metod kullanılmışsa da, bu metodun spesifitesi yoktur; vücuttaki diğer indol türevleri ile çapraz reaksiyon verebilir. Son zamanlarda LSD tayini için radyoimmünoessey çalışmaları yapılmaktadır. Sığır serum albüminine bağlanan LSD ile tavşanlardan antikor elde etmek mümkündür. Antiserumun plazmada normal olarak mevcut bulunan serotonin ve triptofan karşısında da LSD ile reaksiyon vermesi, antikorların spesifik olduğunu gösterir. Bu metodla vücut sıvısında 10 µg/l. LSD tayininin mümkün olduğu bildirilmiştir(2). Başka bir araştırmacı grubu LSD'yi insan serum albüminine bağlamak suretile koyunlardan antikor elde etmişler ve trityumla işaretlenmiş LSD kullanmak suretile vücut sıvılarında LSD tayinine muvaffak olmuşlardır. Burada kullanılan antikorların da basit indol strüktürleri ile çapraz - reaksiyon vermediği, fakat ergot alkaloidleri ile reaksiyona girdiği saptanmıştır(9).

Vücut sıvılarında esrar tayini, LSD tayininden de zor olmaktadır. Bunun önemli bir nedeni esrardaki çeşitli kannabinoidlerin vücutta çabucak metabolize olmaları ve metabolitlerin de insanda bilhassa feçes ile itrah olunmalarıdır. Bununla beraber son za-

manlarda İsveçli bir araştırmacı grubu, mas - fragmentografi metodu ile plazmada Delta - 9 - THC tayinine muvaffak olmuşlardır. Gönüllü şahıslarda 10 mg. Delta - 9 - THC ihtiva eden esrar sigarası içildikten sonra plazmadaki seviye on dakikada zirveye ulaşarak 19 - 26 ng/ml. bulunmuş ve bu miktar 2 saat içinde 5 ng/ml. veya altına düşmüştür(1). Ancak bu metodun çok pahalı oluşu pratikte rutin olarak kullanılmasına olanak vermemektedir.

Esrar içildikten sonra en az 2 saat müddetle tükürükte THC bulunduğu fluoresans tekniği ile bildirilmiştir. Bunun gibi solunum havasında da kannabinoidlerin meydana çıkarılabileceği iddia edilmiş ise de teyid edilmemiştir(10). Vücut sıvılarında esrarın immünoessey ile tayini için de çalışmalar yapılmaktadır.

ÖZET .

Keyif maddesi olarak kullanılan ve bağımlılık yapan maddelerin vücut sıvılarında tespiti ve tayininin gerek akademik, gerekse pratik bakımından önemi mevcuttur. Bilhassa ilâç bağımlılığının yaygın olduğu bazı ülkelerde tedavi ve rehabilitasyon programları, idrarda bağımlılık yapan maddelerin kontrolü ile birlikte yürütülmektedir. Bu nedenle son yıllarda idrar ve diğer vücut sıvılarında bağımlılık yapan maddelerin tayini hakkında birçok yeni metodlar geliştirilmiştir. Bu yazıda toksikomanojen maddelerin vücut sıvılarında tespiti için kullanılan kromatografik, spektrofotometrik ve immünolojik metodlar hakkında bilgi verilmiştir.

SUMMARY

Detection of Dependence - Producing Drugs in Body Fluids

The detection of dependence - producing drugs in body fluids has both academic and practical importances. Especially in some countries which has a serious drug dependence problem, the treatment and rehabilitation programs ought to be implemented with

the urine controls. Therefore several methods for the detection of dependence-producing drugs in body fluids have been described in recent years. In this article some important chromatographic, spectrophotometric and immunologic methods have been discussed.

LİTERATÜR

- 1 — Agurell, S., Gustafsson, B., Holmstedt, B., Leander, K., Lindgren, I., Nilsson, I., Sandberg, F. and Asberg, M. : Quantitation of Δ^1 -Tetrahydrocannabinol in Plasma from Cannabis Smokers. *J. Pharm. Pharmac.* 25 : 554, 1973.
- 2 — Castro, A., Grettie, D. P., Bartos, F. and Bartos, D. : LSD Radioimmunoassay. *Res. Com. in Chem. Path. and Pharmacol.* 6 : 879, 1973.
- 3 — Catlin, D. H. : A Guide to Urine Testing for Drugs of Abuse. Executive Office of the President. Special Action Office for Drug Abuse Prevention. 726 Jackson Place, N. W., Washington, D. C. 20500, 1973.
- 4 — Catlin, D. H., Adler, F. L. and Liu, C. T. : Immunological studies on heroin addiction. II. Applications of a sensitive hemagglutination-inhibition test for detecting morphine to diagnostic problems in chronic addiction. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1 : 446, 1973.
- 5 — Gorodetzky, C. W., Angel, C. R., Beach, D. J., Catlin, D. H. and Yeh, S. - Y. : Validity of Screening Methods for Drugs of Abuse in Biological Fluids. I. Heroin in Urine. *Clin. Pharmacol. Therap.* 15 : 461, 1974.
- 6 — Gorodetzky, C. W. and Kullberg, M. P. : Validity of Screening Methods for Drugs of Abuse in Biological Fluids. II. Heroin in Plasma and Saliva. *Clin. Pharmacol. Therap.* 15 : 579, 1974.
- 7 — Hartwood, C. T. : Radioimmunoassay. Its Application to Drugs of Abuse. *Pharmacology*, 11 : 52, 1974.
- 8 — Holmstedt, B. : Şahsi görüşme, 28 Ocak - 1 Şubat 1974, Cenevre.
- 9 — Loeffler, L. J. and Pierce, J. V. : Radioimmunoassay for Lysergide (LSD) in Illicit Drugs and Biological Fluids. *J. Pharma. Sc.* 62 : 1817, 1973.

- 10 — Report of a WHO Meeting of Investigators. Detection of Dependence - Producing Drugs in Body Fluids. Technical Report Series No. 556. World Health Organization, Geneva, 1974.
- 11 — Robinson, A. E. : Şahsi görüşme, 28 Ocak - 1 Şubat 1974, Cenevre.
- 12 — Spector, S. and Parker, C. W. : Morphine : Radioimmunoassay. Science, 168 : 1347, 1970.
- 13 — United Nations Economic and Social Council. Commission on Narcotic Drugs. Doküman : E/CN. 7/573, 29 Kasım 1974.