

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**OPIOİDLERE BAĞLI ÖLÜMLERDE POSTMORTEM
YENİDEN DAĞILIMIN VE OPIOİD
METABOLİTLERİNİN STABİLİTESİNİN
BELİRLENMESİ**

İsmail Ethem GÖREN

**ADLİ TIP DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Doç. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU**

ADANA – 2022

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

**OPIOİDLERE BAĞLI ÖLÜMLERDE POSTMORTEM
YENİDEN DAĞILIMIN VE OPIOİD
METABOLİTLERİNİN STABİLİTESİNİN
BELİRLENMESİ**

İsmail Ethem GÖREN

**ADLİ TIP DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMANI
Doç. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TDK-2018-11050 Nolu proje ile desteklenmiştir.

ADANA – 2022

KABUL ve ONAY



ETİK BEYANI

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. / 03 / 2022

İsmail Ethem GÖREN

Kayıtlı olunan Program : Adli Tıp Doktora Programı
Tezin Konusu : Opioidlere Bağlı Ölümelerde Postmortem Yeniden Dağılımın ve Opioid Metabolitlerinin Stabilitésinin Belirlenmesi

Tezin Türü : Yüksek Lisans : ☐ Doktora: ☒

Danışmanın Adı-Soyadı : Nebile DAĞLIOĞLU

Danışmanın İletişim Bilgileri

Telefon :

E-Posta :

Öğrencinin İletişim Bilgileri

Telefon :

E-Posta :

Adresi :

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU'na,

Anabilim dalı başkanım Prof. Dr. Mete Korkut GÜLMEN'e ve hocalarım Sayın Prof. Dr. Ahmet HİLAL, Sayın Prof. Dr. Necmi ÇEKİN, Sayın Prof. Dr. Behnan ALPER'e ve Sayın Prof. Dr. Ayşe SERİN'e,

Laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen Sayın Aslı ATASOY'a ve Sayın Dr. Pınar EFEOĞLU ÖZŞEKER'e,

Deneysel uygulamalarda önemli katkıları bulunan Sayın Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU'na ve ÇÜ-SABİDAM çalışanlarına,

TDK-2018-11050 no'lu Doktora Tez Araştırma Fonu ile tezin gerçekleştirilmesinde katkıda bulunan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu'na teşekkür ederim.

Saygılarımla
İsmail Ethem GÖREN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
KABUL ve ONAY	i
ETİK BEYANI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Postmortem Toksikoloji.....	3
2.1.1. Postmortem Toksikoloji Olgu Tipleri.....	6
2.1.2. Postmortem Toksikoloji Örnekleri.....	7
2.1.2.1. Kan.....	7
2.1.2.2. İdrar.....	8
2.1.2.3. Vitröz Humor.....	8
2.1.2.4. Safra.....	8
2.1.2.5. Karaciğer.....	8
2.1.2.6. Antemortem Örnekler.....	9
2.1.2.7. Diğer Numuneler.....	9
2.2. Opioidlere Bağlı Ölümler.....	9
2.2.1. Opioidler.....	10
2.2.2. Eroin Farmakokinetiği.....	12
2.2.2.1. Absorpsiyon.....	13
2.2.2.2. Dağılım.....	14
2.2.2.3. Metabolizma.....	14
2.2.3. Morfin Farmakokinetiği.....	17
2.2.3.1. Absorpsiyon.....	18

2.2.3.2. Dağılım.....	18
2.2.3.3. Metabolizma.....	19
2.2.4. Kodein Farmakokinetiği.....	19
2.2.4.1. Absorpsiyon	19
2.2.4.2. Dağılım.....	20
2.2.4.3. Metabolizma.....	20
2.2.5. Fentanil Farmakokinetiği	20
2.2.5.1. Absorpsiyon	21
2.2.5.2. Dağılım.....	21
2.2.5.3. Metabolizma.....	21
2.2.6. Dekstrometorfan Farmakokinetiği	21
2.2.6.1. Absorpsiyon	22
2.2.6.2. Dağılım.....	22
2.2.6.3. Metabolizma.....	22
2.2.7. Kafein Farmakokinetiği.....	23
2.2.7.1. Absorpsiyon	23
2.2.7.2. Dağılım.....	24
2.2.7.3. Metabolizma.....	24
2.2.8. Parasetamol Farmakokinetiği	24
2.2.8.1. Absorpsiyon	25
2.2.8.2. Dağılım.....	25
2.2.8.3. Metabolizma.....	26
2.3. Postmortem Yeniden Dağılım (PMR).....	26
2.3.1. Toksikolojik Analiz Sonuçlarının Yorumlanmasında Postmortem Yeniden Dağılımın Önemi.....	28
2.3.2. Postmortem Kan Konsantrasyonlarının Toksisite ile İlişkisi.....	29
2.3.3. Çoklu İlaç Kullanımı veya İlaç-İlaç Etkileşimleri	30
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. Hayvan Modeli ve Uygulanan Opioid İlaçlar	31
3.2. Toksikolojik Analiz.....	32
3.2.1. Deneylerde Kullanılan Malzemeler.....	32
3.2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	32

3.2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	33
3.2.2. Örneklerin Hazırlaması ve Ekstraksiyon Aşaması	34
3.2.2.1. Kan örneğinin hazırlanması	34
3.2.2.2. Organ örneklerinin hazırlanması.....	35
3.2.3. LC-MS/MS Çalışma Şartları	36
4. BULGULAR	39
4.1. Morfin ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımı.....	39
4.2. Kodein Uygulanan Hayvan Gruplarında Kodein ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımı	40
4.3. Morfin ve Kodein Kombinasyonunda Postmortem Yeniden Dağılım.....	44
4.3.1. Kodein uygulamasının Morfin'in PMR'sine Etkisi	44
4.3.2. Morfin Uygulamasının Kodein ve Metabolitlerinin PMR'sine Etkisi.....	49
4.4. Eroin ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımı	54
4.4.1. 6-MAM Sonuçları	55
4.5. Fentanilin Eroinin Postmortem Yeniden Dağılımına Etkisi	56
4.6. Dekstrometorfan-Parasetamol-Kafein Kombinasyonunun Eroin ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımına Etkisi	61
4.7. Stabilité Sonuçları	68
5. TARTIŞMA	70
5.1. Morfin Uygulanan Hayvan Gruplarında Morfin ve Metabolitlerinin PMR'si.....	71
5.2. Kodein Uygulanan Hayvan Gruplarında Kodein ve Metabolitlerinin PMR'si....	75
5.3. Morfin ve Kodein Kombinasyonunda Postmortem Yeniden Dağılım.....	78
5.4. Eroin Uygulanan Hayvan Gruplarında Eroin ve Metabolitlerinin PMR'si	79
5.5. Fentanil Uygulanmasının Eroin ve Metabolitlerinin PMR'sine Etkisi	81
5.6. Adulteranların (Dekstrometorfan – Parasetamol – Kafein Kombinasyonunun) Eroin ve Metabolitlerinin PMR'sine Etkisi	83
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	86
KAYNAKLAR	87
EKLER	99
ÖZGEÇMİŞ	100

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 1. Eroin, morfin ve kodeinin metabolizma yolağı.....	16
Şekil 2. Kan için ekstraksiyon algoritması.....	34
Şekil 3. Organ örnekleri için ekstraksiyon algoritması	35
Şekil 4. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	44
Şekil 5. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	45
Şekil 6. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki morfinin PMR'sine etkisi.....	45
Şekil 7. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	46
Şekil 8. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki morfin konsantrasyonuna etkisi.	46
Şekil 9. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	47
Şekil 10. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	47
Şekil 11. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	48
Şekil 12. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	48
Şekil 13. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	49
Şekil 14. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	49
Şekil 15. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	50
Şekil 16. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	50
Şekil 17. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki kodein konsantrasyonuna etkisi.	51
Şekil 18. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	51
Şekil 19. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	52

Şekil 20.	Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	52
Şekil 21.	Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.	53
Şekil 22.	Eroin uygulanan D, E ve F hayvan gruplarında zamana ve örneğe göre 6-MAM pozitif sonuçların yüzde sıklığı (n=4, %).....	56
Şekil 23.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	57
Şekil 24.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	57
Şekil 25.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	58
Şekil 26.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	58
Şekil 27.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki morfin konsantrasyonuna etkisi.	59
Şekil 28.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	59
Şekil 29.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	60
Şekil 30.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	60
Şekil 31.	Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	61
Şekil 32.	Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.....	62
Şekil 33.	Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	62
Şekil 34.	Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	63
Şekil 35.	Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	63
Şekil 36.	Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki morfin konsantrasyonuna etkisi.	64
Şekil 37.	Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.....	64
Şekil 38.	Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.	65

Şekil 39. Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.....	65
Şekil 40. Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.....	66
Şekil 41. Kafenin biyolojik örneklerdeki postmortem intervale göre konsantrasyonları (kanda:ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).....	67
Şekil 42. Parasetamolün biyolojik örneklerdeki postmortem intervale göre konsantrasyonları (kanda:ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).....	68



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1.	Hayvan grupları, uygulanan ilaçlar ve dozları.....31
Tablo 2.	LC/MS/MS analiz gradient programı.....36
Tablo 3.	Analitlerin analizi için oluşturulan LC-MS/MS cihazının MRM geçişimleri ve MS/MS parametreleri.....37
Tablo 4.	Morfin uygulanan hayvan gruplarında (A) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest morfin konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).39
Tablo 5.	Morfin uygulanan hayvan gruplarında (A) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre M3G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).40
Tablo 6.	Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest morfin konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).41
Tablo 7.	Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre M3G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).41
Tablo 8.	Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest kodein konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).42
Tablo 9.	Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre K6G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).....43
Tablo 10.	Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre norkodein konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).43
Tablo 11.	Morfin + Kodein uygulanan hayvan gruplarında (C) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre K6G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).....53
Tablo 12.	Morfin + Kodein uygulanan hayvan gruplarında (C) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre norkodein konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).54
Tablo 13.	Eroin uygulanan hayvan gruplarında (D) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest morfin konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).55
Tablo 14.	Eroin uygulanan hayvan gruplarında (D) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre M3G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).55
Tablo 15.	Eroin uygulanan D, E ve F hayvan gruplarında zamana ve örneğe göre 6-MAM pozitif sonuçların yüzde sıklığı (n=4, %)56
Tablo 16.	Eroinin adulteranı olarak uygulanan deksmetorfanın (E) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre konsantrasyonları (kanda:ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).66
Tablo 17.	100 ng/mL konsantrasyondaki analitlerin postmortem kandaki stabilite sonuçları (mean %±SD).....69

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

6-AM	6-monoasetilmorfin
AChE	Asetilkolinesteraz
BuChE	Butirilkolinesteraz
BOS	Beyin-omurilik sıvısı
C6G	Kodein-6-beta-glukuronit
CE	Collision Energy
CYP450	Sitokrom P450
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
hCE	İnsan karboksilesterazı
g	Gram
IM	İntramüsküler
IN	İntranazal
IV	İntravenöz
Kg	Kilogram
KBB	Kan-beyin bariyeri
L	Litre
LC-MS/MS	Likit Kromatografi Tandem Kütle Spektrometresi
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
M3G	Morfin-3-beta-glukuronit
M6G	Morfin-6-beta-glukuronit
mg	Miligram
ml	Mililitre
NSO	Yeni sentetik opioidler
pH	Ortamdaki hidrojen konsantrasyonunun negatif logaritması
pKa	Asidik iyonlaşma sabitesinin negatif logaritması
PMR	Postmortem Yeniden Dağılım (Redistribüsyon)

ÖZET

Opioidlere Bağlı Ölümlerde Postmortem Yeniden Dağılımın ve Opioide Metabolitlerinin Stabilitésinin Belirlenmesi

Ölümden rezervuar organlardan kana veya kandan organlara pasif difüzyon yoluyla ilaç konsantrasyonlarında değişim postmortem yeniden dağılım (PMR) olarak tanımlanmaktadır. Tüm ilaçların PMR ile bir dereceye kadar etkilenebileceği, diğer katkıda bulunan faktörlerin ölüm ve örnekleme arasındaki zaman, örnek alma yeri ve tekniği, vücut enzimleri veya bakterilerin potansiyel postmortem metabolizması/üretimi ve nihayet ilacın fizikokimyasal özellikleri olduğu düşünülmektedir. PMR ile beraber toksikolojik bulguların yorumlanmasındaki zorluklardan biri de çoklu ilaç (polifarmasi) olgularında ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamik etkileşimlerinin PMR'ye etkisinin değerlendirilmesidir.

Bu çalışmada toplam 6 gruba ayrılan 96 adet rata, enjeksiyon yoluyla, eroin, kodein ve morfinin yanı sıra morfin-kodein, eroin-fentanil, eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonlarında belirli dozlarda verilerek, ölüm anı, postmortem 1. saat, 4. saat ve 24. saatlerde farklı bölgelerden doku ve vücut sıvısı örnekleri alınmıştır. Tüm örneklerle ekstraksiyon işlemi uygulanarak LC-MS/MS (sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi) cihazı ile analiz edilmiştir.

Bu çalışmada toplanan tüm biyolojik örneklerde verilen opioide ilaçların ve metabolitlerinin düzeyleri belirlenerek opioide ilaçların in-vivo postmortem farmakokinetiğinin ve doku dağılımlarının değerlendirilmesi yapılmıştır Aynı zamanda morfin-kodein, eroin-fentanil, eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein birleşimlerinde, bu ilaçların muhtemel etkileşimlerinin ana ilaç ve metabolitlerinin postmortem farmakokinetiğine etkileri de değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Postmortem redistribüsyon, yeniden dağılım, opioide, eroin, morfin, kodein, fentanil, adulteran, biyolojik numuneler, ilaç-ilac etkileşimleri

ABSTRACT

Determination of Postmortem Redistribution and Stability of Opioids and Its Metabolites in Opioid-Related Deaths

Changes in drug concentrations often occur after death by passive diffusion from the reservoir organs to the blood or from the blood to the organs. This phenomenon is called postmortem redistribution (PMR). It is thought that all drugs can be affected to some degree by PMR, and the major contributing factors are the time between death and sampling, sampling location and technique, potential postmortem metabolism/production of body enzymes or bacteria, and finally the physicochemical properties of the drug. One of the difficulties in interpreting toxicological findings together with PMR is to evaluate the effect of pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions of drugs on PMR in polypharmacy cases.

In this study, 96 rats divided into 6 groups were injected intravenously specific doses of heroin-codeine, heroin-fentanyl, heroin-dextromethorphan-paracetamol-caffeine combinations as well as heroin, codeine and morphine. Tissue and body fluid samples were collected from different regions in the time of death, postmortem 1st hour, 4th hour and 24th hours. All samples were extracted and analyzed by LC-MS/MS (liquid chromatography-tandem mass spectrometry).

In this study, in-vivo postmortem pharmacokinetics and tissue distributions of opioid drugs were evaluated by determining the levels of opioid drugs and their metabolites in all biological samples collected. Moreover, the effects of possible interactions of these drugs on the postmortem pharmacokinetics of the parent drug and its metabolites were evaluated in combinations of morphine-codeine, heroin-fentanyl, heroin-dextromethorphan-paracetamol-caffeine.

Key words: Postmortem redistribution, PMR, opioid, heroin, morphine, codeine, fentanyl, adulterant, biological samples, drug-drug interactions

1. GİRİŞ

Opioidler ilaçla ilişkili ölümlerin başlıca nedenlerindendir. Opioid sınıfındaki ilaçlardan eroin (diamorfin) ve metaboliti morfinin dünya çapında milyonlarca kişi tarafından kullanıldığı ve her yıl 69000 kişinin yüksek doz opioid alımından hayatını kaybettiği bilinmektedir ^{1,2}. Postmortem araştırma sırasında, bir adli toksikolog, legal veya illegal ilaç kullanımını saptamayı ve bu ilacın ölüm nedenine ve mekanizmasına olan katkısını değerlendirmeyi amaçlar. Bu şartlardaki önemli nokta, postmortem bir örnekteki ilaç konsantrasyonunun, ölüm sırasındaki konsantrasyonu doğru bir şekilde yansıtmayı yansıtmadığıdır. Ölümün ardından, postmortem redistribüsyon (yeniden dağılım) (PMR) olarak bilinen olay sebebiyle, kan ve diğer dokulardaki ilaç ve metabolitlerin konsantrasyonları on-beş katına kadar değişebilmektedir³⁻⁵.

Ölüme primer veya sekonder olarak etki eden ilacın veya muhtemel etkileri saptamak için adli toksikolog ve patoloğlar postmortem örneklerdeki ilaç konsantrasyonlarını yorumlamak zorundadırlar ⁶. Perimortem (ölüm anına yakın zaman) aşamada alınan biyolojik örneklerde tespit edilen ana ilaç ve metabolit konsantrasyonlarından yola çıkarak yapılacak toksikolojik analiz ile ölümün neden ve mekanizması aydınlatılabilir, fakat ne yazık ki postmortem aşamada perimortem ilaç konsantrasyonlarını öngörebilecek örnek ve data toplamak oldukça zordur ^{7,8}. Ölümünden sonra özellikle (çoğu zaman) rezervuar organlardan kana veya kandan organlara pasif difüzyon yoluyla ilaç konsantrasyonlarında değişim meydana gelmektedir ⁹. Bu olaya postmortem redistribüsyon (yeniden dağılım) (PMR) denir ^{5,10,11}. Dolayısıyla otopside plazma veya kan kompartımanlarındaki ilaç konsantrasyonları (çoğu zaman) yüksek bulunmakta ve ölüm anındaki konsantrasyonları yansıtmamaktadır. Tüm ilaçların PMR ile bir dereceye kadar etkilenebileceği ve başlıca katkıda bulunan faktörlerin ölüm ve örnekleme arasındaki zaman, örnek alma yeri ve tekniği, vücut enzimleri veya bakterilerin potansiyel postmortem metabolizması/üretimi ve nihayet ilacın fizikokimyasal özellikleri olduğu düşünülmektedir ¹²⁻¹⁴.

Yukarıda bahsedildiği gibi esas bakımından postmortem toksikolojik analizlerde ölüm anındaki konsantrasyonları öngörebilmek temel amaçtır ve ölümünden sonra bu konsantrasyonları değiştiren faktör ve süreçlerin belirlenmesi ölümün neden ve mekanizmasının aydınlatılması açısından önemlidir. Opioidlere bağlı ölümlerin mediko-

legal araştırma aşaması karmaşık olabilir ve ölümün doğru bir şekilde aydınlatılması ve raporlandırılması için opioid ilaçlarla ilgili ölümlerin araştırılması, teşhis edilmesi ve belgelendirilmesinde takip edilecek bir takım öneriler yayınlanmıştır ¹⁵. Postmortem aşamada eroin, kodein ve morfin, vücuda alındıktan sonra metabolizasyon yolları aynı olduğu olduğu için ölümler arasındaki ayrımı yapmak zor olabilir.

Adli tıp alanında, PMR'ye daha fazla veri sağlamak ve önemli referans literatürü oluşturmak için yaygın olarak kullanılan ve/veya kötüye kullanılan ilaçları araştırmaya devam etmek önemlidir. Ölüm sonrası dönemde bakteriyel etki ve diğer faktörlere bağlı olarak kandaki morfinin istikrarsızlığı göz önüne alındığında, ölüm anında madde konsantrasyonlarının daha doğru ve güvenilir karakterizasyonuna ihtiyaç vardır, çünkü adli toksikolog, patolog ve adli tıp uzmanlarının ölüm nedenini belirlemesi kritiktir. Bu da ölüm şekli veya uyuşturucu madde kullanımına dair kanıt sağlar. Morfinin postmortem farmakokinetiğinden elde edilen bilgiler, doğası gereği, eroin ve kodein gibi benzer diğer ilaçlarla dikkatli şekilde ilişkilendirilebilir. Bu çalışmada postmortem biyolojik örneklerde eroin, morfin, kodein ve bu maddelerin metabolitlerinin saptanması ve miktar analizi için hızlı ve duyarlı bir analitik metot oluşturduktan sonra venöz yolla uygulanan bu maddelerin in-vivo postmortem farmakokinetiğinin ve doku dağılımlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Toksikolojik bulguların yorumlanmasındaki zorluklardan biri de çoklu ilaç (polifarmasi) olgularının artan sıklığı göz önüne alındığında, kombinasyondaki ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamik etkileşimlerinin değerlendirilmesidir. İlaç kombinasyonun aditif veya sinerjik etkileşimleri olup olmadığının belirlenmesinin yanı sıra birbirilerinin hücreler arası taşınmasını veya klirensini (atılımı) engelleyerek toksik bir konsantrasyona ulaşım ulaşmadığının değerlendirilmesi, postmortem toksikoloji sonuçlarının yorumlanmasındaki karanlık noktaların aydınlanmasına katkı sağlayacaktır. Bu çalışmamızda morfin-kodein, eroin-fentanil, eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonlarında, bu ilaçların muhtemel etkileşimlerinin ana ilaç ve metabolitlerinin postmortem farmakokinetiğine etkileri değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Postmortem Toksikoloji

Adli toksikoloji, hukuki amaçlar için kullanılan toksikoloji uygulamaları olarak tanımlanmaktadır. 20. yüzyılın ortalarına kadar, adli toksikolojik araştırmaların ekseriyeti ölüm sonrası olgulara uygulanan pratiklere dayanıyordu. Bu nedenle analizler ölü kişilerinden alınan örnekler üzerinden gerçekleştiriliyordu. Günümüzde ilaç/toksik madde veya alkole bağlı ölümlerin aydınlatılmasında kullanılan stratejiler adli toksikologlar ve adli patologlar arasındaki sinerjik iş birliği ile yürütülmektedir ¹⁶.

Adli toksikoloji, analitik ve klinik kimya, biyokimya, anatomi, biyoloji, farmakoloji gibi çok sayıda bilimsel disiplinin çalışma alanlarını kapsar. Toksikoloğun rolü iki yönlüdür; birincisi, vücuttaki maddeleri karakterize etmek, tanımlamak ve bu maddelerin varlığı veya yokluğunun ne anlama geldiğine dair yorum sağlamak; ikincisi bireyin ölümünde veya mevcut durum ve davranışında, tespit edilen uyuşturucu veya toksik maddenin nedensel bir faktör olup olmadığını tespit etmek¹⁷.

Batı literatüründe “forensik” olarak kullanılan kelime argümanların ortaya konulduğu, polemik sanatının icra edildiği yer anlamına gelen Latince *forum* kelimesinden türetilmiştir¹⁸. Basitçe ifade etmek gerekirse adli toksikoloji, toksikolojik veri ve yorumların hukuki ortama taşınmasıdır¹⁷.

Toksik madde ve zehir bilimi olarak tanımlanan toksikoloji çalışmaları 1800’lerin başlarında başlamasına rağmen, zehir ve zehirlenme bilgisi binlerce yıldan beri var olmaktadır^{16,19}. Toksikoloji eski Yunancada okların ucuna sürülen zehir anlamına gelen *toxicon* kelimesinden türetilmiştir^{17,20}. Antik Mısır ve Grek yazıtlarında otlar, bitkiler ve gıdalardan kaynaklı zehirlenmeler bildirilmiştir. Örneğin Grekler ceza hukukları kapsamında infaz aracı olarak baldıranı kullanmışlardır. Sokrat’ın idamı bu uygulamalara verilecek en bilinen örnektir. Bununla birlikte orta çağ boyunca Avrupa’da opium (haşhaş), arsenik ve hidrosiyanik asit zehirlenmeleri bildirilmiştir^{19,21}. Toksikolojinin babası olarak kabul edilen Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541) herhangi bir maddenin, dozuna bağlı olarak ilaç veya zehir olabileceğini gözlemlemiştir. Von Hohenheim, mesleki başarılarından dolayı Romalı ünlü hekim *Celsus*’a atıp yapılarak mesleki açıdan onun da ötesinde (*para*) anlamına gelen Paracelsus adıyla günümüze kadar anılmış ve ün kazanmıştır²².

Toksikolojiyi ayrı bir bilimsel disiplin olarak kuran İspanyol hekim Mathieu J.B. Orfila (1787-1853), 1813'te, biyolojik numunelerde arseniğin tanımlanmasına yönelik metotları kısmen açıklayan "*Traité des Poisons ou Toxicologie Generale*" başlıklı kitabında zehirleri toksik etkilerine göre 6 sınıfa ayırarak kategorize etmiştir. Orfila 1840'da Fransa'daki Marie LaFarge, kocasını arsenik kullanarak öldürmekten yargılandığı "LaFarge" arsenik zehirlenmesi davasındaki uzman tanık rolüyle tanınmaktadır²³. Orfila böylece bu bilimsel disiplini bir hukuk mahkemesine taşıyarak "Adli Toksikoloji"nin babası olarak kabul edilmiştir¹⁶.

Kaza, cinayet ve suikast orjinli zehirlenme olgularında, kullanılan toksikatin ve failin tespit edilmesi hukukun tesis edilmesinde zorluklar teşkil etmekteydi. Ölüm nedenini destekleyecek sınırlı veya bilimsel kanıt olmaksızın kurban, ikinci derece kanıtlarla tanımlanırdı. Joseph Plenck (Josephi Iacobi Plenk) 1786'da yayınlanan *Elementa medicinae et chirurgiae forensis* adlı çalışmasında zehirlenmenin kanıtının biyolojik dokulardaki zehrin tanımlanması olduğunu öne süren ilk kişidir²³.

Arsenik için Marsh testi ve 1850'de alkaloidal ilaçların biyolojik matrislerden ayrılması gibi çeşitli analitik metodların gelişiminin yanı sıra enstrümantal analizler 1960'lı yıllarda geliştirilmeye başlanmıştır¹⁷. Daha yakın zamanlarda, çeşitli tireli enstrümantal platformlar ile birlikte gaz ve sıvı kromatografisi gibi spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler, örneğin gaz kromatografisi kütle spektrometrisi ve sıvı kromatografi tandem kütle spektrometrisi cihazları, postmortem örneklerde ilaç veya toksik maddeleri tespit etme yeteneğinde hızlı bir artışa yol açmıştır²⁴.

Toksik maddelerin tespit yöntemlerindeki gelişmeler bir yana Adli Toksikoloji, 1804 yılına kadar yeterince gelişme gösterememiştir²⁴. ABD'de 1877 yılında Alexander Gettler'in başkanlığında kurulan Adli Toksikoloji laboratuvarını içine alan Baş Tıbbi Muayene Ofisi (The Chief Medical Examiner Office)'nin kurulması ile modern anlamda adli toksikoloji alanının öncülüğü yapılmıştır¹⁶.

Adli toksikoloji biliminin gelişimi, bu alanda yapılacak araştırmaların teşviki ve adli toksikologların iş birliği ve koordinasyonunu sağlamak amacıyla çeşitli uluslararası birlikler kurulmuştur. Bu mesleki dernekler arasında 1963 yılında Londra'da kurulan The International Association of Forensic Toxicologists (Uluslararası Adli Toksikologlar Birliği)'nin bugün bin dört yüzün üzerinde üyesi bulunmaktadır²⁵. Ülkemizde 2018 yılında adli toksikoloji biliminin geliştirilmesi ve adli toksikologların

bu bilim dalı ile kesişen meslek dalları ile iletişimin ve koordinasyonun sağlanması amacıyla Adli ve Klinik Toksikoloji Derneği (AKTOD) kurulmuş olup, halen bilimsel faaliyetlerine devam etmektedir²⁵. Adli toksikoloji alanındaki bilimsel incelemeler, ülkemizde Adli Tıp Kurumu Kimya İhtisas Daire Başkanlıkları ve üniversite bünyelerindeki Adli Tıp Anabilim Dalları ve Adli Bilimler Enstitülerinde yer alan adli toksikologlar tarafından yürütülmektedir.

Toksikolojik muayeneler, günümüz toplumunda yaygın olarak kullanılan terapötik ajanlar, yasadışı ve tasarım ilaçların sayısının giderek artması nedeniyle ilaçla bağlı ölümlerin değerlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır. İlaç veya toksik maddeyle bağlı ölümlerin araştırılmasında otopsi materyalindeki şüphelenilen ilacın var olup olmadığının ön izleme testi ile belirlenmesinin ardından tanımlama ve miktarlandırma analizi yapılmaktadır. Biyolojik örnekteki madde miktarının belirlenmesi söz konusu olgunun maruz kaldığı bileşiğin dozunu belirleme aşamasının en önemli parçasıdır^{16,26-28}. Son bir asırda biyolojik materyallerdeki ilaçlar veya toksik maddelerin tanımlanma ve miktarını belirleme yöntemlerinin önemli ölçüde geliştirilmesine rağmen, postmortem toksikolojik olgulara ilişkin sorular halen aynıdır: İlaç ve ilaç kombinasyonu ölen kişinin davranışını değiştirdi mi, ölüme doğrudan bir rol oynadı mı veya ölüme katkıda bulundu mu veya bazı durumlarda bir ilacın yokluğu, örneğin bir anti-nöbet ilacı, ölüme etken mi yoksa ölüme yol açan (örneğin travma gibi) koşullara yol mı açtı? gibi sorular hala kafa karıştırıcıdır^{16,17}.

Postmortem toksikolojik sonuçların yorumlanmasında “mutlak” kurallar yoktur. Toksikolojik sonuçların doğru bir şekilde yorumlanması, test sonuçlarıyla ilişkili zorluklar ve yanıltıcı etkenler hakkında farkındalık ve ölümü çevreleyen koşulların toplamının dahil edilmesini gerektirir. Postmortem toksikolojik sonuçların yorumlanmasında bir ilacın ölüme oynadığı rol hakkında bir sonuca varmak için "toksik veya ölümcül" ilaç konsantrasyonlarını listeleyen bir tablodan mutlak bir şekilde yararlanılamaz. Toksikolojik sonuçların, ölüm nedenine ve/veya şekline ilişkin nihai görüşü nasıl etkileyeceğinin belirlenmesi, yalnızca laboratuvar bulgularını içermemelidir. Aynı zamanda kişinin tıbbi öyküsünü, ante-mortem veya peri-mortem klinik bulgularını, olay yeri incelemesini ve kapsamlı bir otopsi incelemesini de içermelidir. İnsan vücudunun dinamik yapısı, sadece yaşam sırasında değil, ölümden sonra da toksikolojik bulguları etkileyebilir. Sonuçların yorumlanmasını zorlaştıran

etkenlerin büyük çoğunluğu, ilaçların postmortem yeniden dağılımı gibi postmortem interval sırasında meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Etil alkol ve gamahidroksibütirik asit gibi dekompozisyon sırasında endojen oluşabilen maddeler bizi yanıltabilir. Buna benzer durumlar, adli bilimcileri yanlış bir ölüm sebebine/mekanizmasına veya yersiz bir şüpheye yönlendirebilir¹⁷.

2.1.1. Postmortem Toksikoloji Olgu Tipleri

Postmortem toksikolojik analizler otopsi olgularının tümünde rutin olarak yapılmaktadır. Otopside intravenöz ilaç kullanımına bağlı ölümlerde son enjeksiyon bölgesi gözlemlenebilir ve oral intoksikasyonlar ise midede büyük miktarda absorbe edilemeyen ilaç kalıntılarından anlaşılabilir. Ancak ilaç zehirlenmesini gösteren diğer tek anatomik bulgu akciğer tıkanıklığı ve ödemdir. Bazı durumlarda, olay yeri inceleme, nedensel ajanı veya ajanları gösterebilir. Ayrıca, bu ilaçların ölüme neden olup olmadığını belirlemek için biyolojik örneklerde bulunan maddeleri tanımlamak ve ölçmek için bir adli toksikolojik analize ihtiyaç vardır.

İlaç zehirlenmeleri dışında cinayet ve kaza orjinli ölümlerde de ilacın sekonder etkisinin belirlenmesi için toksikolojik incelemeler önemlidir. Cinayet olgularının büyük çoğunluğunun yasadışı ilaçlarla ilişkili olmasının yanı sıra katil veya kurbanın ilacın farmakolojik etkisi altında olması ihtimalinden dolayı tüm ölüm olgularında rutin olarak toksikolojik analizler gerçekleştirilmektedir. İlaç taraması özel bir cinayet olgusunun çözümünde bilgi sağlayabilmektedir. Çoğu kez kundakçılıkla ilgili ölümlerde karbon monoksit analizi yapmak amaca uygundur. Kazaya bağlı ölümlerde ilaç kullanımı ile ilintili koordinasyon kaybının belirlenmesi, olayın çözümünün önemli adli bir delili olabilir. Sürüş yeteneğini bozan alkol ve terapötik ilaçlar için kapsamlı testler yapılması kazalarda bu maddelerin potansiyel rolünü belirlemede büyük önem taşımaktadır.

Doğal nedenlere bağlı ani beklenmedik ölümlerin aydınlatılmasında bile toksikolojik analizler önemli olabilmektedir. Örneğin anatomik bulgular olsun veya olmasın nöbete bağlı ölümler meydana gelebilmektedir. Antikonvülsan ilaçların kan konsantrasyonlarını ölçmek, ölen kişinin terapötik dozda ilaç alıp almadığının belirlenmesine olanak tanımaktadır. Ayrıca tıbbi öykü bir ilacın nedensel rolünü açıklamaya imkân sağlayabilir. Tıbbi öykünün varsayılan ölüm mekanizması ve

patolojik bulgularla tutarlı olması ve tespit edilen dozun buna karşılık gelen yanıtın tutarlı olması gerekir. Örneğin saf (toleranslı olmayan) bir eroin kullanıcısının komaya girdiği ve ardından birkaç dakika içinde solumun depresyonu yaşadığı görülürse, çoğu kişi nedensel bir bağlantıyı varsayacaktır. Fakat reaksiyon, enjeksiyondan saatler sonra meydana gelirse, kişinin enjekte edilen ilaca karşı anafilaktik reaksiyondan öldüğüne dair bir patoloğun iddiasını kabul etmek zor olabilir ²⁹. İsviçre'de yapılan bir araştırma, tıbbi öykünün, olguların yaklaşık % 70'indeki ölüm sonrası verilerinin doğru yorumlanmasında önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur ³⁰. Bununla birlikte postmortem biyokimya testleri de doğal ölümlerin araştırılmasında kullanılmaktadır. Belirgin bir şekilde vitröz sıvısındaki yüksek glikoz konsantrasyonları hiperglisemiye işaret ederken, yine vitröz sıvısındaki üre nitrojen seviyeleri dehidratasyondan veya böbrek yetmezliğinden kaynaklanan ölümleri belirlemede yararlı kanıtlar sağlamaktadır.

2.1.2. Postmortem Toksikoloji Örnekleri

Adli otopsinin kritik ve sıklıkla gözden kaçan bileşenlerinden biri postmortem toksikolojik analiz için uygun örneklerin toplanmasıdır. Otopsi tamamlandıktan sonra analize uygun kaliteli örnekleri toplamak bazı olgularda zor olsa da adli patolog, gerekli tüm numunelerin adli toksikoloğa sunulmasını sağlamalıdır.

2.1.2.1. Kan

Otopside toplanması gereken en önemli örnek kandır. Kan tüm muayenelerde, sınırlı veya tamamlanmış otopsiler sırasında alınmalıdır. İdeal olarak, biri kalpten (50-100 mL) ve diğeri femoral veya iliak venler gibi periferik bir bölgeden olmak üzere iki adet kan örneği alınmalıdır. Bazı durumlarda, kalp kanı ya travma yoluyla ya da doku bölgelerinden ilaçların salınmasıyla kontamine olabilir; bu durumlarda, alternatif kan örneği analiz için kullanılabilir. 10-20 mL'den fazla periferik kan örneği toplanmamalıdır; daha büyük bir hacmin toplanması, saf bir periferik kan örneğine sahip olmayabileceğinizi gösterir. Subdural veya epidural pıhtılar varsa, bu bölgelerden de kan alınmalıdır. Bu örnekler, yaralanma ile ölüm arasında bir süre geçtiğinde faydalı olabilir. Sodyum florür (%1, w/v) ve potasyum oksalat (% 0.2, w/v) sıklıkla sırasıyla koruyucu ve antikoagülan olarak kullanılmaktadır^{27,31}.

2.1.2.2. İdrar

Otopsi yapılan tüm olgularda mevcut idrarın tümü toplanmalıdır. Birçok ilaç ve metabolit, idrarda kandan daha yüksek konsantrasyonda bulunur. İlaçlar ayrıca kullanımdan sonra günlerce veya daha uzun süre idrarda kalır. Bazı renk ve immünolojik testler, numunelere ön işlem uygulanmadan hızla gerçekleştirilebilir³².

2.1.2.3. Vitröz Humor

Vitröz humor, iyi bir stabilite sergilediği ve anatomik olarak izole edilmiş bir alanda bulunduğu için önemli bir alternatif postmortem örnektir. Bu nedenle diğer numunelere göre pütrefaktif (çürümeye neden olan) değişikliklere karşı daha dirençlidir. Vitröz sıvısında etanol analizi, postmortem kan etanol konsantrasyonlarının yorumlanmasına da yardımcı olabilir. Sodyum florür koruyucu olarak kullanılabilse de elektrolit tayini için genellikle kuruyucu içermeyen bir vitröz hümör örneği kullanılır^{16,32}.

2.1.2.4. Safra

İdrarın olmadığı durumlarda safra kesesinden toplanabilen safra, ilaç taraması için alternatif bir örnek olarak kullanılabilir. Safra, narkotikler ve benzodiazepinler gibi belirli ilaçları konsantre edebileceğinden, mevcut tüm safra toplanmalıdır³³.

2.1.2.5. Karaciğer

Karaciğer, vücutta alınan ilaçların büyük oranda metabolize edildiği organdır. Bu nedenle ana ilaçlar ve metabolitleri, karaciğerde kandan daha yüksek konsantrasyonda bulunarak kolaylıkla tespit ve tayin edilebilir. Kullanılan dozun tahminin doğru bir şekilde yapılabilmesi için ve vücut sıvılarının uygun olmadığı veya bebek ve infant ölümlerinde karşılaşılabileceği gibi sınırlı hacimlerde toplanabileceği durumlarda kapsamlı toksikolojik analiz için yararlı bir örnektir. Sistemik toksikolojik analiz için 30-50 gram arasında karaciğer örneği toplanması yeterlidir. Bununla birlikte ince bağırsaktan ilaç difüzyonu ihtimaline karşı otopside örnekleme yapılırken sağ lobun iç kısmından derin doku alınması önerilmektedir^{16,32,34}.

2.1.2.6. Antemortem Örnekler

Postmortem olguların toksikolojik analizlerinde, olguya ait antemortem hastane verilerinin ve biyolojik örneklerinin temin edilmesi, ölüm nedeninin belirlenmesinde hayati önem taşıyabilmektedir. İlaç intoksikasyonlarında tıbbi müdahale ve metabolizma, ilacın kandan tamamen uzaklaştırılmasına kadar konsantrasyondan önemli bir azalmaya neden olabilir. Bununla birlikte palyatif bakımın bir parçası olan morfin gibi analjezik etkili ilaçların uygulanması, ölüm nedeni ile ilgisi olmamasına postmortem örneklerde bu ilaçlar saptanabilir. Ancak bu örneklerin ölüm soruşturmasına dahil edilmesinde de bazı sınırlamalar vardır. Numune hacmi, sistematik toksikolojik analiz yapılmasına olanak tanımayacak düzeyde genellikle sınırlıdır. Bu nedenle antemortem örnekler, adli patoloğlarla görüşüldükten ve postmortem örnek sonuçlarından sonra ihtiyaç halinde test edilmelidir¹⁶.

2.1.2.7. Diğer Numuneler

Uçucu maddelerin inhalasyonunu içeren durumlarda sıklıkla akciğer dokusu toplanır. Kırmızı kan hücresi kaynağı olan dalak, kanın bulunmadığı veya analiz için uygun olmadığı durumlarda karbon monoksit analizi için kullanılabilir. Doz aşımalarında, mide içeriği, tabletler hala bütünlüğü bozulmamışsa, yutulan madde veya maddelerin kolayca tanımlanmasını sağlayabilir. Mide içeriğinde de büyük miktarda ilaç bulunacaktır, bu da analitik tanımlamayı kolaylaştıracaktır. Saç, uzun süreli uyuşturucu kullanımını tespit etmek için de kullanılabilir; ayrıca saçta arsenik gibi metaller tespit edilebilir¹⁶.

2.2. Opioidlere Bağlı Ölümler

Postmortem toksikolojik araştırmalar, uyuşturucu maddeye bağlı ölümlerin neden ve katkısı hakkında önemli bilgiler ortaya koymaktadır. Postmortem olgularda adli toksikologlara sorulan birincil soru genellikle “İlaç ölüme neden oldu mu veya katkıda bulundu mu? Cevap, aşağıdaki araştırmaların sistematik bir biçimde çalışılması sonrasında gelir: varsayılan dozun veya ölçülen ilaç konsantrasyonunun olası etkileri göz önünde bulundurularak tıbbi öyküyü incelemek, diğer potansiyel faktörleri dışlayarak kombinasyondaki diğer ilaçların ve farmakokinetik faktörlerin (ilaç konsantrasyonlarının zamana göre değişimi) rolünü değerlendirmek. Çoğu zaman adli

toksikolog ve patoloğlardan, ölüm anındaki ilaç miktarının veya vücuda alınan tablet sayısının tahmin edilmesi istenmektedir. Bu salt varsayıma göre, ölüm sonrası tespit edilen ilaç konsantrasyonu, ölüm anındaki miktarı yansıtmaktadır. Ancak, böyle bir ekstrapolasyonu destekleyecek neredeyse hiçbir kanıt yoktur. Literatürdeki çalışmalar, birkaç örnekleme bölgesindeki (örneğin femoral kan, kalp kanı ve viseral dokular) antemortem ve postmortem konsantrasyonların korelasyonu konusunda sınırlıdır.

Adli toksikologlar, vücutun çeşitli bölgelerinde bulunan ilaç düzeylerinin doğru bir şekilde yorumlanmasını sağlayarak sinerjik iş birliği kurduğu adli patolog ve adli tıp uzmanları ile ilaçlara bağlı ölümlerin aydınlatılmasında önemli bir rol üstlenmektedir. Postmortem yeniden dağılımın değerlendirilmesinde, ölüm sonrası vücut sıvıları ve dokularında tespit edilen yaygın ilaçların kandaki ilaç düzeylerine oranları bildirilmiştir, ancak postmortem ilaç konsantrasyonlarının, antemortem düzeylerin göstergesi olup olmadığı hala belirsizliğini korumaktadır. Bu yüzden antemortem kan konsantrasyonlarını yansıtabilecek en uygun numunenin seçilmesi elzemdir.

Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi, uyuşturucuya bağlı ölümleri, doğrudan bir veya daha fazla yasa dışı uyuşturucunun tüketiminden kaynaklanan ölümler, yani “aşırı doz” olarak tanımlar. 2020 Avrupa Uyuşturucu Raporuna göre, aşırı doz ilaca bağlı ölümlerin büyük çoğunluğunu eroin ve metabolitleri temsil etmektedir³⁵.

2.2.1. Opioidler

Opioidler, yaygın tıbbi ve yasadışı kullanımları nedeniyle adli toksikolojideki en önemli ilaç sınıflarından biridir. Opiyatlar doğal olarak elde edilirken, opioid terimi tüm doğal, yarı sentetik ve sentetik türevleri kapsar. Doğal olarak oluşan ve yarı sentetik türevlerin çoğu morfin benzeri bir yapıya sahipken, sentetik opioidler çok çeşitli kimyasal sınıflandırmaları kapsar. Yapısal farklılıklarına rağmen, hepsi çeşitli reseptör alt tiplerinde opioid reseptör aktivitesi gösterirler^{36,37}. Daha yakın zamanlarda, yeni sentetik opioidlerin (NSO'lar) ortaya çıkması, opioid kullanımının manzarasını önemli ölçüde karmaşıktırmıştır. Amerika Birleşik Devletleri, sorumsuz reçeteleme uygulamaları, yönlendirilmiş farmasötik ürünlerin mevcudiyeti ve yasadışı olarak üretilmiş ilaçlar nedeniyle bir opioid salgınının ortasındadır³⁸⁻⁴⁰. Ülke çapında opioid

kullanım bozukluğu ve ölümcül aşırı dozlardaki artışlar, adli ve klinik toksikolojiyi önemli ölçüde etkilemiştir⁴¹.

2000 yıldan uzun süredir kullanılan opiatlar, afyon haşhaş *Papaver somniferum*'dan elde edilen doğal olarak oluşan alkaloid analjeziklerdir. Olgunlaşmamış tohumun kesilmesiyle elde edilen sütlü eksüda, morfin ve kodein dahil olmak üzere farmakolojik olarak aktif birkaç bileşik içerir^{36,37}.

İlk olarak 1806'da izole edilen morfin, sonraki birçok yarı sentetik opioid analjeziklerin geliştirilmesinde birincil yapı taşı olmuştur. Opioid terimi, afyondan hazırlanan doğal ve yarı sentetik alkaloidlerin yanı sıra, yapılarından ziyade farmakolojik etkileri morfininkilere benzeyen sentetik analogları tanımlamak için kullanılır. Bu terim ayrıca, enkefalinler, endorfinler ve dinorfinler gibi doğal endojen nöropeptidleri (opiopeptinler) içerir. Yarı sentetik türev eroin ilk olarak 1874'te morfinden sentezlenmiş ve 1898'de farmasötik bir preparat olarak kullanıma sunulmuştur. Eroin, Türkiye ve Amerika Birleşik Devletleri'nde terapötik kullanım için mevcut değildir, ancak ilacın yaygın yasadışı kullanımı 1970'lerden beri devam etmektedir. Morfine benzer bir yapıya sahip olmayan ilk sentetik opioid meperidindir (1939'da tesadüfen sentezlenmiştir). Bir başka tam sentetik opioid, metadon, meperidinden kısa bir süre sonra, 1946'da sentezlenmiştir. Nalorfin ilk olarak 1942'de sentezlenmiştir. Önemli bir farmakoterapötik gelişme olan nalorfin, morfin gibi opioid agonistleri tarafından üretilen solunum depresyonunu tersine çevirebilir ve ilaca bağımlı bireylerde yoksunluğu giderebilmektedir. İlacın bu terapötik etkinliği, analjezik özellikleriyle birlikte karma agonist-antagonist etkisinden kaynaklanmaktadır. Diğer keşifler, neredeyse özel bir antagonistik bağlanma davranışına sahip olan nalokson gibi diğer ilaçların geliştirilmesine yol açmıştır. Yeni sentetik opioidlerin tasarımı, bu alandaki az yan etki ile güçlü analjeziklerin geliştirilmesini kolaylaştıracağı umuduyla, opioid reseptörleri ile etkileşimlere yönelik araştırmalarla birlikte yürütülmektedir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezine (CDC) göre, Amerika Birleşik Devletleri bir opioid salgınının ortasındadır. Opioid bağlantılı ölümlerdeki artışı üç farklı dalgaya bağlıyorlar. Birinci dalga, artan reçeteleme uygulamaları ve bol miktarda terapötik opioid kullanımı nedeniyle 1990'larda başladı. Eroine bağlı ölümlerde keskin bir artış, 2010'da ikinci dalganın başlangıcına işaret etti. Bunu, ölümcül aşırı dozların büyük ölçüde fentanil analogları (fentaloglar) dahil olmak üzere yasadışı olarak üretilmiş

sentetik opioidlerin akışına atfedildiği 2013'te üçüncü bir dalga izledi. Sentetik opioid ölümleri 2014'ten 2015'e % 70'den fazla arttı ve 2016'dan 2017'ye iki katına çıktı. CDC, 2017'de her gün 130 kadar Amerikalının opioid doz aşımından öldüğünü tahmin etmektedir. Daha yakın zamanlarda, hem opioid hem de opioid olmayan etkileri olan atipik opioidler de ortaya çıkmıştır (örneğin, mitrajinin)^{36,37}.

Opioidlerin karakteristik farmakolojik etkileri, merkezi sinir sistemindeki çeşitli bölgelerde bir şekilde seçici reseptör bağlanmasından kaynaklanmaktadır. Opioid bağlama bölgeleri açısından zengin bir bölge olan limbik sistem, öncelikle insan duygularının uyarılmasında rol oynar. Opioidler, ağrılı uyaranların iletimini bloke ederek analjezik bir etki oluşturur. Opioid ile terminal sinir uçlarındaki spesifik reseptörler arasındaki etkileşim, nörotransmitterlerin salınımını engeller, böylece ağrıyı keser. Bu, acı verici hislerin tanınmasını engeller, ağrının olumsuz duygusal bileşenini engeller ve öfori üretebilir⁴².

2.2.2. Eroin Farmakokinetiği

Eroin (diasetilmorfin), iki asetil grubunun morfinin 3- ve 6-hidroksil gruplarına bağlanmasıyla sentezlenen yarı sentetik bir opioid ilaçtır. Morfinin kendisi, afyon haşhaşının lateksinden elde edilen bir tropan alkaloididir ve *Papaver somniferum* ve ham afyonun birincil bileşenidir. Morfin, narkotik analjeziklerin prototipidir ve kronik ağrı sendromları ve miyokard enfarktüsünün tedavisi için tercih edilen ilaçtır⁴³. Kan dolaşımına girdiğinde eroin biyolojik olarak aktif ara ürün olan 6-asetilmorfinin (6-AM) oluşumu yoluyla hızla morfine hidrolize edilir⁴⁴⁻⁴⁶. Eroin, morfinden çok daha hızlı bir şekilde kan-beyin bariyerini geçtiği için morfinin sistemik iletimi için bir ön ilaç olarak düşünülebilir⁴⁷.

Eroinin tıbbi kullanımı, bağımlılık yapan özellikleri nedeniyle çoğu ülkede yasaklanmıştır, ancak diamorfin adı altında, eroin Birleşik Krallık'ta yasal olarak reçete edilen kontrollü bir uyuşturucudur (Uyuşturucuların Kötüye Kullanımı Yasası, 1971 tarafından kontrol edilen A Sınıfı bir uyuşturucudur). Diamorfinin tıbbi kullanımları, ameliyat sonrası, akut veya kronik ağrı tedavisini içerir. Eroinin yasa dışı kullanımında, ilaç hidroklorür tuzu veya baz olarak, tipik olarak intramüsküler veya intravenöz enjeksiyon, burundan insüflasyon ve sigara yoluyla uygulamalar yaygındır⁴⁸.

2.2.2.1. Absorpsiyon

Eroin, kan-beyin bariyerini hızla geçerek neredeyse anında etki sağlar ⁴⁹. Venöz kandaki pik eroin konsantrasyonlarına intravenöz (IV), intranazal (IN), intramüsküler (IM) ve inhalasyon yoluyla uygulamadan sonra 1-2 dakika içinde ulaşılır ^{50,51}. Eroin damardan veya tütsüleme yoluyla uygulandığında, 6-AM'a ve ardından morfine dönüşüm, en yüksek konsantrasyonlarla hemen hemen anında gerçekleşir ⁵⁰⁻⁵². IV enjeksiyonu takiben eroin için 1.75 – 7.6 dakika ve 06:00 için 9.3 – 49 dakika arasında değişen plazma yarılanma ömürleri bildirilmiştir^{44,46,50,52}. Morfin konsantrasyonları genellikle 2-7.8 dakikada pik yapar ve eroinden ve 6-AM'dan çok daha uzun süre plazmada saptanabilir ve 109-287 dakikalık bir yarılanma ömrü rapor edilmiştir ^{46,50,52}.

Eroinin akciğerlerden emilmesi çok hızlı gerçekleşir ve sigara gibi inhale edildikten sonra emilim hızlıca tamamlanır⁵³. İnhal edilen eroinin biyoyararlanımının yaklaşık %52 olduğu tahmin edilmektedir⁵³. Ancak kullanıcıların deneyimine ve uçucu hale getirme yöntemine, yani folyo üzerinde ısıtma veya sigara içmeye bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir^{54,55}. Eroine bağımlı bireylerde (n = 106) eroinin farmakokinetiği üzerine yapılan büyük bir çalışmada Rook ve ark. (2006), eroin, 6-AM ve morfinin inhalasyondan sonra plazma pik konsantrasyonlarının, IV uygulamadan sonraki konsantrasyonlardan ortalama iki ila dört kat daha düşük olduğunu bildirmiştir⁴⁴. İnhalasyondan sonra bildirilen daha düşük plazma konsantrasyonlarına rağmen, bu yolu izleyen subjektif etkiler, ilacın enjeksiyonuna kıyasla analjezik olarak daha olumlu olduğu değerlendirilmiştir. IV ve inhalasyon yollarından sonra eroinin kanda ortalama kalış süresinin on dakikadan az olduğu bildirilmektedir⁵⁰. IN eroinin farmakokinetik profilinin IM yolununkine benzer olduğu rapor edilmiştir. Ancak IN uygulanan eroin ve 6-AM'nin pik konsantrasyonları IM uygulamadan daha yüksek bulunmuştur^{51,56}. IM uygulanan eroinin biyoyararlanımının ortalama %380 olduğu rapor edilirken⁵⁷, IN yolla uygulanan morfinin biyoyararlanımının %100 olduğu tahmin edilmektedir ⁵⁸.

Oral alım, ilacın, mide-barsak yolunda hidroliz nedeniyle beyne yavaş ve verimsiz taşınması ve yoğun ilk geçiş metabolizmasına bağlı olarak metabolizmanın etkisi sonucu kayıp ile sonuçlanmaktadır. Sonuç olarak, bu uygulama yolunu takiben kanda eroin ve 6-AM nadiren tespit edilir^{52,57}. Oral eroin alımından sonra morfinin sistemik dolaşıma girişinin oral morfin alımından daha hızlı olduğu gösterilmiştir ⁵⁹.

Oral morfini takiben morfinin biyoyararlanımının yaklaşık %33 olduğu tahmin edilirken ⁶⁰, oral eroini takiben kronik opiat kullanıcılarında morfinin biyoyararlanımının %64-72 olduğu tahmin edilmektedir ⁵⁹.

Literatürde, eroin/morfinin kan konsantrasyonunun, eliminasyon hızının ve etki süresinin spesifik ilaç preparasyonuna, uygulama yoluna ve ayrıca uyuşturucu kullanım sıklığına bağlı olduğunu açıkça gösterilmektedir.

2.2.2.2. Dağılım

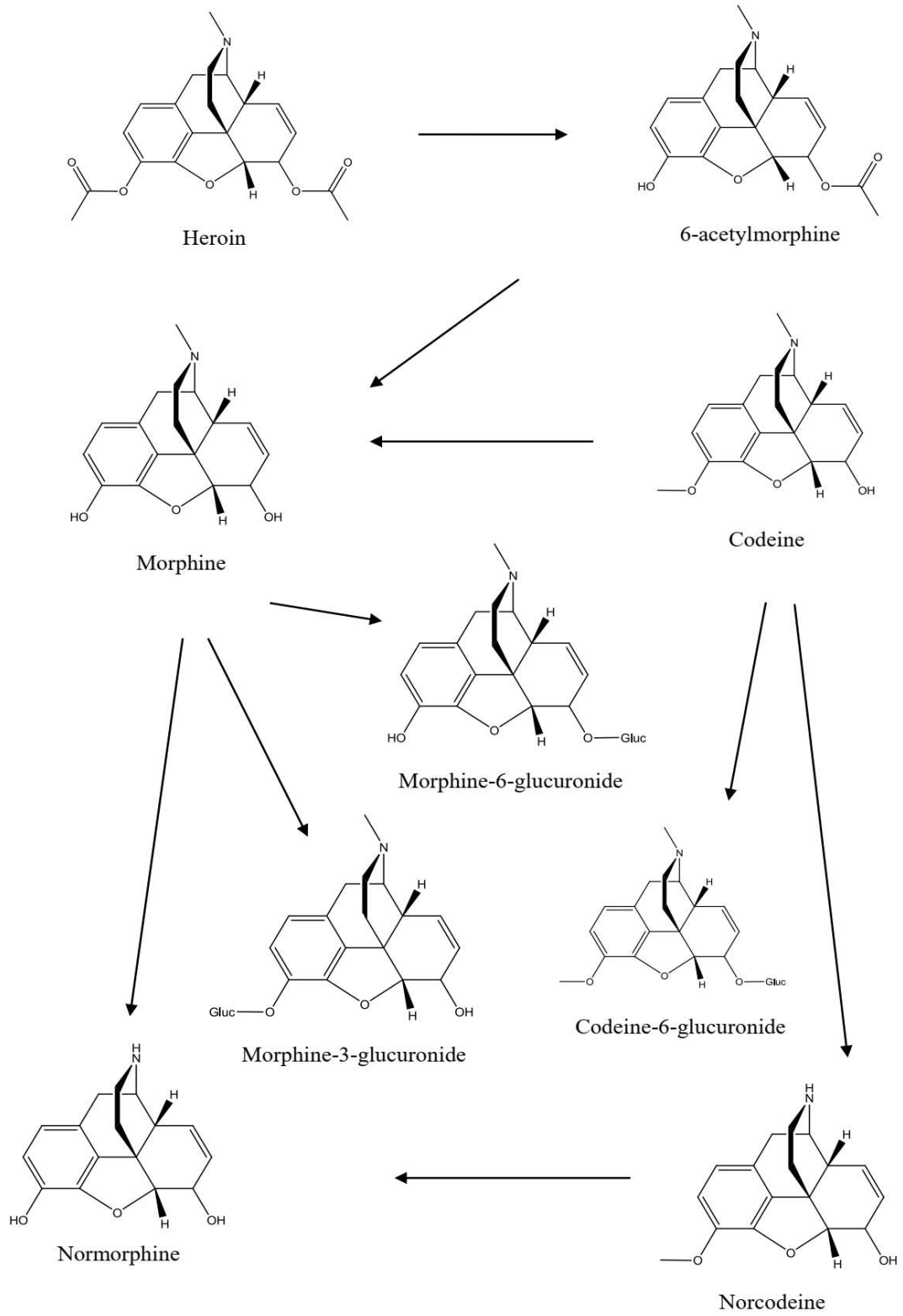
Eroin, sistemik dolaşımdan dokulara hızlıca dağılır. Eroinin pKa'sı (7.6) fizyolojik pH'a (pH 7.4) yakın olduğu için, lipofilik iyonize olmayan formda büyük bir oran mevcuttur. Dolayısıyla bu durum, absorpsiyonu kolaylaştırır ⁶¹. Eroin, IV dozunun yaklaşık %68'i beyne absorbe olarak 15-20 saniye içinde KBB (kan-beyin-bariyeri)'ni geçer ⁶². Eroin metaboliti 6-AM ayrıca oldukça lipofiliktir ve KBB'yi serbestçe geçer ⁶¹.

Eroin hızlı metabolize olması nedeniyle biyolojik sıvılarda ve dokularda nadiren tespit edilirken, beyin dokusunda stabilitesinin arttığı bildirilmektedir ⁶³. 6-AM, özellikle esteraz aktivitesi olmayan dokularda daha sık tespit edilmektedir. Beyin ve beyin omurilik sıvısındaki (BOS) 6-AM konsantrasyonlarının kan, karaciğer, akciğer ve böbrekteki karşılık gelen seviyelerden çok daha yüksek olduğu bulunmuştur ⁶⁴. Vitroz hümeör (VH) konsantrasyonlarının da tipik olarak kanda ölçülenlerden yüksek bulunduğu bildirilmiştir ^{11,65,66}.

2.2.2.3. Metabolizma

İn vivo ortamda eroin, 3-asetil grubu hızla deasetillenir ($t_{1/2} = 3.24 - 3.7$ dakika) ve 6-AM oluşur. Daha sonra daha yavaş bir hızda ($t_{1/2} = 22 - 26$ dakika)⁵³, morfine metabolize olur ^{45,46,67}. Kanda, eroinin 6-AM'a hidrolizi, kendiliğinden ⁶⁸ ve hidrolitik esteraz aktivitesi ile gerçekleşir. Esteraz aracılı hidroliz, serum butirilkolinesteraz (BuChE) ^{69,70} ve daha yavaş bir hızda eritrosit asetilkolinesteraz (AChE) tarafından katalize edilir⁷⁰. Karaciğerde bu reaksiyon insan karboksilesterazı (hCE) tarafından katalize edilir. İnsan karaciğerinde iki tip hCE tanımlanmıştır, hCE-1 ve hCE-2^{71,72}. 6-AM oluşumundaki katalitik etkinliğin sırası hCE-2 >> hCE-1 > BuChE > AChE şeklindedir ⁷⁰⁻⁷². 6-AM'nin morfine hidrolizinde, hCE-2, hCE-1 ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksek katalitik etkinliğe sahiptir ⁷¹.

hCE-1'in dokuya özgü ekspresyon sırası karaciğer >> kalp > mide > böbrekler = testis = dalak > kolon > diğer dokular (beyin, akciğer ve ince bağırsak dahil) olarak bildirmiştir⁷³. hCE-2 için ekspresyon sırası ise karaciğer > ince bağırsak > kolon > kalp şeklindedir⁷³. Kas dokusunda hem hCE-1 hem de hCE-2 ekspresyonu yoktur. Karboksilesteraz (hCE) insan plazmasında da tanımlanmıştır⁷⁴, ancak büyük olasılıkla karaciğerde sentezlenip daha sonra Golgi aygıtı yoluyla dolaşıma salgılandığı düşünülmektedir⁷⁵. hCE, insanların beyaz kan hücrelerinin makrofajlarında ve monositlerinde de eksprese olduğu bilinmektedir^{76,77}. Spesifik ve non-spesifik esteraz inhibitörleri hidrolizi engellemediği için mekanizmanın enzim aracılı olmadığı düşünülmeye rağmen, lenfositler, hücre kültürleri içinde 6-AM'nin morfine dönüştürülmesinde rol oynamıştır⁷⁸.



Şekil 1. Eroin, morfin ve kodeinin metabolizma yolağı.

2.2.3. Morfin Farmakokinetiği

Morfin, opium (afyon) bitkisinin içeriğinde en fazla bulunan analjezik afyondur ve güçlü bir ağrı kesicidir. Öforik etkisinden dolayı uyuşturucu kullanıcıları arasında eğlence amaçlı olarak yasa dışı olarak da kullanılan morfinin bağımlılık düzeyi çok yüksektir ve suiistimaline yol açan yoğun fiziksel bağımlılığa neden olabilir. Morfin, haşhaş bitkisi *Papaver somniferum*'da bulunan tohum kabuğu özü veya afyondan elde edilir ve enjekte edilebilir, hap, oral solüsyon ve fitil formlarında kullanılmaktadır. IV veya oral alımda, morfin, kan dolaşımına girerek, farmakodinamik yanıtları açığa çıkarmak için opioid reseptörlerini aktive ettiği beyne ve vücudun diğer bölümlerine ulaşır. Üç tip opioid reseptörü μ (mu), κ (kappa) ve δ (delta) bilinmektedir; yaklaşık olarak %70 homologdurlar. İki mu, üç kappa ve iki delta alt tipi vardır. Reseptörler arasındaki farklar esas olarak N ve C terminal uçlarında meydana gelir. Morfin (ve benzeri ilaçlar) varlığında yoğun bir şekilde etki gösterdiği için diğer reseptör tiplerine göre μ reseptörünün en önemli olduğu düşünülmektedir. Bir mu reseptörü, morfin gibi bir agoniste bağlandığında, reseptörün üçüncü hücre içi döngüsüne eklenen bir G proteini aktive olur (opioid reseptörleri, transmembran alanları olarak da adlandırılan yedi döngüye sahiptir)⁴³. Sigma reseptörü olarak adlandırılan dördüncü bir opiyat reseptörü bilinmesine rağmen, günümüzde tamamen ilişkisiz olduğu kabul edilmektedir⁷⁹.

Morfinin klinik etkilerinden biri, pupili besleyen parasempatik sinirler üzerindeki uyarıcı etkisinden dolayı pupiller daralmaz. Mu agonistlerinin beyin sapı solunum merkezleri üzerinde etkileri olduğu için solunum depresyonu da meydana gelir. Küçük dozlarda morfin solunum hızını düşürürken, yüksek dozlar, narkotik aşırıdoz vakalarında kabul edilen ölüm mekanizması olan solunum durmasına neden olur. Mide bulantısı ve kusma da mu reseptör aktivasyonu ile ilişkilidir^{58,80}.

Kappa reseptörlerinin aktivasyonu da analjezi üretir, ancak aynı anda mide bulantısı ve disforiye neden olur. Dinorfin adı verilen endojen olarak oluşan bir liganda bağlanırlar. Bazı çalışmalarda dinorfinin bireyin bağımlılık riskini belirlemede önemli bir rol oynayabileceğini bildirmektedir^{81,82}. Delta reseptörünün aktivasyonu ile ayrıca analjezi etkisi oluşmaktadır. Ancak bu reseptörün aktivasyonu ile nöbetler de meydana gelebilmektedir. Delta reseptörleri normalde ağrıyı hafifletmekten sorumlu olan enkefalinlere bağlanır⁸³.

2.2.3.1. Absorpsiyon

Morfin oral, epidural, subkutan, intramüsküler veya intravenöz enjeksiyon yoluyla verilebilir. Morfin konsantrasyonları genellikle 109-287 dakikalık bir yarılanma ömrü ile 2-7.8 dakikada pik yapar ve plazmada eroinden ve 6-MAM'dan çok daha uzun süre saptanabilir ^{50,52}. Morfinin oral biyoyararlanımı, yoğun ilk geçiş hepatic metabolizması nedeniyle oldukça düşüktür⁸⁴⁻⁸⁶.

2.2.3.2. Dağılım

Morfinin dağılım hacmi (Vd), insanlarda 2 ila 5 L/kg arasında değişmekle birlikte 7 L/kg'a kadar yüksek değerler gözlenebilmektedir⁸⁷. Morfinin Vd'sinin (3-5 L/kg) nispeten büyük olması nedeniyle, verilen belirli bir dozun % 2'sinden daha azının kanda dolaştığı görülmüştür⁶². Dağılım hacmi, vücuttaki ilaç miktarının plazma ilaç konsantrasyonuna bölümü olarak tanımlanır. Toplam ilaç miktarı değişmeden plazma konsantrasyonu azaldığında Vd artar; bu, ilacın plazmaya göre tercihen dokulara dağıldığını gösterir. IV uygulamadan sonra morfin, en yüksek kan akışını alan dokulara (yani akciğer, böbrek, dalak ve kas) hızla dağılır ve doku konsantrasyonları genellikle nispi kan akışını yansıtır ⁸⁸. Morfin, kan beyin bariyerini (KBB) eroinden ve 6-MAM'dan çok daha yavaş bir oranda geçer⁸⁹. Yaşam boyunca (antemortem seviyeler), diğer tahminler daha ölçülü olsa da (%20 – 35) plazmada dolaşan morfinin yaklaşık yarısının proteine bağlı olduğu tahmin edilmektedir ⁹⁰. Beyne girebilen morfin miktarı plazmada dolaşan serbest morfin miktarına bağlı olduğundan, bu matristeki konsantrasyonlar tipik olarak düşüktür ⁹¹. Bununla birlikte lipofilik yapısı nedeniyle yağ dokusunda morfin birikimi rapor edilmiştir ⁹². Morfin-3-beta-glukuronid (M3G) ve morfin-6-beta-glukuronid (M6G) oldukça polar ve minimal oranda lipofiliktir, bu nedenle BBB'yi geçme yetenekleri morfinden önemli ölçüde daha azdır. M3G (0,14 L/kg) ve M6G (0,15 L/kg) Vd'lerinin düşük olması nedeniyle dokularda genellikle çok az görülürken, bazen beyinde M6G gözlenir. Fizyolojik pH'da, pKa'sı yaklaşık 8.0 olan zayıf bir baz olan morfin birincil olarak iyonize edilir¹⁶. Morfin moleküllerinin yaklaşık %10-20'si fizyolojik pH'da non-iyonizedir ve iyonize formu lipid membrandan geçişi desteklemez ⁹³.

2.2.3.3. Metabolizma

Morfin, yaklaşık 2-3 saatlik bir yarı ömre sahiptir ve glukuronidasyon yoluyla M3G ve M6G'e metabolize olan eroinin bir metabolitidir. Morfin, CYP450 enzimleri tarafından metabolize edilerek normorfin oluşumuna neden olur, ancak bu metabolizma metabolit oluşumunun %6'sını oluşturur; bu nedenle, CYP450 enzimlerinin inhibisyonu/indüksiyonu veya genetik polimorfizmlerinin, morfinin metabolizması veya klirensi üzerinde çok az veya hiç etkisi olmamaktadır. Bu ilacın ana metabolizma yolağı, başlıca glukuronidleri oluşturan UGT2B7 metabolik yolağıdır. Glukuronidasyon işlemi tipik olarak ilaçları etkisiz hale getirirken, morfinle yapılan kapsamlı araştırmalar, morfinin ana metabolitlerinin (sırasıyla toplam metabolitlerin %50-60'ını ve %10'unu temsil eden M3G ve M6G) önemli klinik etki potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. M3G'nin analjezik özellikleri yoktur, ancak sinirlilik, halüsinasyonlar ve allodini içeren merkezi sinir sistemi toksisitesine neden olabilmektedir ^{94,95}. Ayrıca M6G, ana analjezik özellikleri açısından morfinden 50 kat daha fazla potens sergileyen aktif bir metabolittir ^{94,95}. Morfinin %5'inden daha küçük bir morfin miktarı, hepatik CYP3A4 ve daha az ölçüde CYP2C8 tarafından normorfin oluşturmak üzere N-demetile edilir. Bu metabolit farmakolojik olarak aktiftir ancak morfinden daha az potanstir ve daha düşük konsantrasyonlarda bulunur ^{43,96}.

2.2.4. Kodein Farmakokinetiği

Morfinin metilasyonu ile elde edilen yarı sentetik bir agonist olan kodein, bazı reçetesiz ilaçlar da dahil olmak üzere bir dizi farmasötik forma dahil edilen orta derecede düşük etkili bir analjeziktir. Genellikle asetaminofen veya aspirin gibi opioid olmayan analjeziklerle birlikte kullanılır. Ticari olarak temin edilebilen kodein ürünlerinden yasadışı morfin ve eroin sentezi bildirilmiştir. Kodein bir ilaç olarak yaygın olarak kullanılmasına rağmen, kodeinin yasa dışı kullanımı bildirilmiştir ^{97,98}.

2.2.4.1. Absorpsiyon

Kodein, uygulamadan 60 dakika sonra meydana gelen maksimum plazma konsantrasyonu ile gastrointestinal sistemden emilir karaciğerden ilk geçişi, ilacın çok az kaybıyla sonuçlanır. Bu aksiyon, morfinin oral alımında %90'ından fazlasının karaciğerden ilk geçişte metabolize olması ve biyoyararlanımının düşük olmasını

nedeniyle morfinin aksine kodein, ağrının giderilmesinde, oral uygulama tercih edilir⁹⁹. İntramüsküler enjeksiyonda absorpsiyon daha yavaştır ve pik plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı ortalama 30 dakikadır¹⁰⁰.

2.2.4.2. Dağılım

Kodeinin dağılım hacmi yaklaşık 3-6 L/kg aralığındadır ve dokulara geniş bir dağılım gösterir. Kodeinin pKa'sı 8.2'dir ve %7-25 oranında plazma proteinlerine bağlanır¹⁶.

2.2.4.3. Metabolizma

Kodein esas olarak karaciğerde üç yoldan biriyle metabolize edilir: ana yol olan 6-OH pozisyonunda glukuronidasyon; norkodeine N-demetilasyon (%10±20); ve morfine O-demetilasyon (%5±15). İlacın %5 ila %15'i değişmeden idrarda atılır. Diğer minör metabolitler, normorfin ve hidrokodon'dur. Kodein, kodein-6-glukuronidi (C6G) oluşturmak üzere UGT2B4 ve UGT2B7 tarafından konjuge edilir. Kodein 3-konumunda bir metoksi grubuna sahip olduğu için 3-glukuronide dönüştürülmez. Küçük miktarlarda kodein ayrıca, psikoaktif olduğuna inanılan norkodein oluşturan CYP3A4 tarafından N-demetile edilebilir. Kodeinin yarı ömrünün 1.9 – 3.9 saat olduğu bildirilmektedir¹⁰¹⁻¹⁰³.

2.2.5. Fentanil Farmakokinetiği

Fentanil, 1960'ların başında ABD'de anestezik olarak kullanılmak üzere piyasaya sürülen hızlı etkili, güçlü bir sentetik opioiddir. Beyinde, omurilikte ve düz kasta bulunan opioid mu 1 ve 2 reseptörleri ile etkileşime girer. Solunum depresyonu, diğer reseptör agonistleriyle gözlenene benzer ancak başlangıç daha hızlıdır. Morfinde de gözlemlendiği gibi, gecikmiş başlangıçlı solunum depresyonu gözlemlenebilir ve bu yanıt enterohepatik dolaşıma atfedilebilir. Fentanil oldukça lipofiliktir ve bu nedenle KBB'ni hızla geçer. Terapötik kullanım, ağrı kesici ve sedasyon gibi farmakolojik aksiyonlar üreten SSS'ni içerir. Anestezik bir ajan olarak kullanımlarına ek olarak, fentanil kronik ağrıyı tedavi etmek için klinik olarak reçete edilmektedir¹⁰⁴.

2.2.5.1. Absorpsiyon

Fentanil yüksek oranda yağda çözünür ve kan beyin bariyerini hızla geçer. Fentanilin pKa'sı 8.4'tür ve %84.4 oranında plazma proteinlerine bağlanır ¹⁰⁵.

2.2.5.2. Dağılım

Fentanil oldukça lipofiliktir ve beyin, kalp, böbrekler ve akciğerler gibi dokulara hızla dağılır, ardından kas ve yağa daha yavaş hareket eder. Fentanil, başlıca approximately-l-asit glikoproteini olmak üzere plazma proteinlerine yaklaşık %80 oranında bağlanır. Vd, 3 ila 9 L/kg arasındadır. Plazma yarı ömrü 3 ila 12 saattir ¹⁰⁶. Plazma ve beyin omurilik sıvısı arasındaki denge için yarı ömür (t_{1/2}) yaklaşık 5 dakikadır. Fentanilin yüksek oranda perfüze olan doku gruplarından kas ve yağ gibi diğer dokulara yeniden dağılımı nedeniyle plazmadaki seviyeler hızla düşer. Daha az perfüze doku doygunluğu meydana geldiğinden, fentanilin etki süresi, 3-4 saatlik eliminasyon t_{1/2} uzunluğuna yaklaşır. Fentanil, hepatik metabolizmaya ve böbreklerden atılır. Daha yüksek dozların kullanılmasıyla ilaçlar birikir ve klirens mekanizmaları doymuş hale gelerek fentanil daha uzun süre etkili hale gelir. Fentanil için klirens oranı 13 mL/dak/kg'dır, ancak bu yaşlanma ile birlikte azalmaktadır ¹⁰⁷.

2.2.5.3. Metabolizma

Fentanil karaciğer tarafından hızla inaktif metabolitlere, norfentanil, hidroksifentanil ve hidroksinorfentanile metabolize olur. Laboo ve ark. tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarına göre fentanil için birincil hepatik metabolizma yolunun CYP3A4 olduğunu göstermektedir. İntravenöz dozun yaklaşık %85'i 3-4 günlük bir süre içinde %0.4-0.6'i değişmeden, %26-55'i norfentanil olmak üzere idrarla atılmaktadır ¹⁰⁸.

2.2.6. Dekstrometorfan Farmakokinetiği

Dekstrometorfan, kodeinin narkotik olmayan sentetik bir analogudur. Öksürük ve soğuk algınlığı ilaçlarında yaygın olarak antitussif ajan olarak kullanılır ve terapötik dozlarda alındığında güvenli ve etkili kabul edilir. 2015 yılında ABD'de dekstrometorfan içeren reçetesiz ilaçlar, toplam 235 milyon pakette satılan öksürük kesici içeren tüm ilaçların %85-90'ını oluşturuyordu. Kodein, levopropoksifen ve noskapin, antitussif ajanlar olarak da kullanılan diğer opioid türevleridir.

Dekstrometorfan, ağrı yönetimi, psödobulbar etkisinin tedavisi ve psikolojik uygulamalar gibi başka tıbbi kullanımlara da sahiptir¹⁰⁹.

2.2.6.1. Absorpsiyon

Oral uygulamayı takiben dekstrometorfan, kan dolaşımına girdiği ve kan-beyin bariyerini geçtiği gastrointestinal sistemden hızla emilir¹⁰⁹.

2.2.6.2. Dağılım

Dekstrometorfan, yüksek oranda lipofilik bir ilaçtır (Log P: 4.11 ± 0.4) ve 1.5'lik bir kan/plazma oranına sahiptir, bu da 5-6 L/kg'lık bir dağılım hacmi (Vd) anlamına gelir. Plazma proteinine bağlanma oranı yaklaşık %60-70'dir ve oral uygulamayı takiben, 2-3 saatte pik serum konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Bir sıvı, tablet veya uzun süreli salımlı bir formülasyon olmak üzere yüksek oral dozlarda DXM alan beyin cerrahisi hastalarını içeren bir klinik deneyde, dekstrometorfan iyi bir bağırsak emilimi ve beyin birikimi göstermiştir. Dekstrometorfan beyin konsantrasyonları, metaboliti olan dekstrorfaninkinden 13 kat daha yüksektir ve dekstrometorfanın beyin-plazma oranı, metabolitinden beş kat daha düşüktür, bu da dekstrorfanın beyin biyoyararlanımının zayıf olduğunu göstermektedir. Dekstrometorfan ile karşılaştırıldığında, dekstrorfanın düşük lipofilik özelliği, daha düşük bir serebral biyoyararlanım ve anti-NMDA nöromodülatör etkisine katkıda bulunabilmektedir¹⁰⁹.

2.2.6.3. Metabolizma

Başlıca metabolik yollar, sırasıyla ana aktif metabolit olan dekstrorfan ve bi-demetillenmiş ürün olan 3-hidroksimorfinan, dekstrometorfanın sırasıyla O-demetilasyonunu ve N-demetilasyonunu ile oluşmaktadır. UDP glukuronosiltransferaz dekstrometorfanın glukuronid konjugatları üretir. Başlıca aktif metaboliti dekstrorfan üreten sitokrom P450 (izoenzim CYP2D6) tarafından metabolize edilir. Bununla birlikte, dekstrometorfan aynı zamanda farmakolojik aktif bir bileşiktir (Pechnick ve Polonya 2004). CYP2D6'nın ifadesi genetik olarak kontrol edilir ve bu enzim polimorfizmi, ilaç tepkisi ve toksisitesinde bir değişkenliğe katkıda bulunmaktadır. Dekstrometorfan yaygın olarak tüketildiğinden ve genellikle diğer ilaçlarla kombine

edildiğinde yasal olarak veya bileşimi belirsiz karışımlar olarak yasa dışı olarak alındığından bu durum toksisite açısından daha da önemlidir¹⁰⁹.

2.2.7. Kafein Farmakokinetiği

Kafein, dünyada en yaygın kullanılan merkezi sinir sistemi uyarıcısıdır. Kardiyovasküler, solunum, böbrek ve düz kas etkilerinin yanı sıra ruh hali, hafıza, uyanıklık, fiziksel ve bilişsel performans üzerindeki etkileri de dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik ve fizyolojik etkiye sahiptir¹¹⁰.

Kafein (1,3,7-trimetilksantin), kimyasal yapısı $C_8H_{10}N_4O_2$ ve moleküler ağırlığı 194.19 olan bir bitki alkaloididir. Saf halde, acı beyaz bir tozdur. Yapısal olarak kafein (ve diğer metilksantinler) pürinlere benzemektedir. Sağlıklı bireylerin plazmasındaki kafeinin ortalama yarı ömrü yaklaşık 5 saattir. Bununla birlikte, kafeinin eliminasyon yarı ömrü 1.5 ile 9.5 saat arasında değişebilirken, kafein için toplam plazma klirens hızının 0.078 L/saat/kg olduğu tahmin edilmektedir^{111,112}. Plazmadaki bu geniş aralık kafeinin ortalama yarı ömrü hem doğuştan gelen bireysel farklılıklardan hem de kafein metabolizmasını etkileyen çeşitli fizyolojik ve çevresel özelliklerden (örneğin hamilelik, obezite, oral kontraseptif kullanımı, sigara içme, yükseklik) kaynaklanmaktadır. Kafeinin farmakolojik etkileri, diğer metilksantinlerinkine benzerdir (çeşitli çaylarda ve çikolatalarda bulunanlar dahil). Bu etkiler, hafif merkezi sinir sistemi stimülasyonu ve uyanıklığı, entelektüel aktiviteyi sürdürme yeteneği ve reaksiyon sürelerinin azalmasını içerir¹¹³.

2.2.7.1. Absorpsiyon

Kafein'in yüzde 99'u alımdan sonraki 45 dakika içinde emilir^{114,115}. İçeceklerde (çoğunlukla kahve, çay veya alkolsüz içecekler) tüketildiğinde kafein gastrointestinal kanaldan hızla emilir. Kafein içeren sakız veya ağız mukozasından emilime izin veren diğer müstahzarlar çığnenerek daha hızlı emilim sağlanabilir¹¹³.

Pik plazma konsantrasyonları, oral alımdan 15 ila 120 dakika sonra ortaya çıkar. Zamandaki bu geniş çeşitlilik, mide boşalma süresindeki değişiklikten ve lif gibi diğer diyet bileşenlerinin varlığından kaynaklanabilir. Kafein bir kez emildiğinde, hepatik ilk geçiş etkisi yok gibi görünmektedir (yani, karaciğer, bağırsaktan genel dolaşıma

geçerken kafeini çıkarmıyor gibi görünmektedir), oral veya intravenöz yoldan uygulamayı takiben plazma konsantrasyon eğrilerindeki benzerlik ile kanıtlanmıştır¹¹³.

2.2.7.2. Dağılım

Kafein, plazma proteinlerine geri dönüşümlü olarak bağlanır ve proteine bağlı kafein, toplam plazma havuzunun yaklaşık yüzde 10 ila 30'unu oluşturur. Vücut içindeki dağılım hacmi 0.7 L/kg olup, bu değer hidrofilik olduğunu ve hücre içi doku sıvısına serbestçe dağıldığını düşündüren bir değerdir¹¹³. Bununla birlikte, kafein ayrıca tüm biyolojik zarlardan geçmek için yeterince lipofiliktir ve kan-beyin bariyerini kolayca geçer. Eliminasyonu birinci dereceden kinetikle yapılır ve tek bölmeli açık model sistemiyle yeterince tanımlanır¹¹⁴.

2.2.7.3. Metabolizma

Kafein, renal tübüller tarafından kolayca geri emildiğinden, glomerüller filtrasyondan sonra idrarla sadece küçük bir yüzdesi değişmeden atılır. İdrardaki sınırlı görünümü, kafein metabolizmasının plazma klirensinde hız sınırlayıcı faktör olduğunu gösterir. Kafein metabolizması öncelikle karaciğerde meydana gelir ve hepatik mikrozomal enzim sistemleri tarafından katalize edilir¹¹³. Sağlıklı insanlarda, tekrarlanan kafein alımı, emilimini veya metabolizmasını değiştirmez. Karaciğerde dimetilksantinler, ürik asitler, di/tri-metilallantoin ve urasil türevlerine metabolize edilir. İnsanlarda 3-etil demetilasyonun paraksantine dönüşmesi birincil metabolizma yoludur. Bu ilk metabolik adım, kafein metabolizmasının yaklaşık yüzde 75-80'ini oluşturur ve sitokrom P4501A2'yi içerir. Paraksantin, insanlarda baskın metabolittir ve plazmada teofilin veya teobromin konsantrasyonunun 10 katına kadar yükselir. Kafein, paraksantinden daha hızlı atılır, bu nedenle kafein alımından 8 ila 10 saat sonra, paraksantin seviyeleri plazmadaki kafein seviyelerini aşar¹¹³.

2.2.8. Parasetamol Farmakokinetiği

Parasetamol (asetaminofen), dünya çapında milyonlarca hasta tarafından kullanılan en yaygın analjezik ve antipiretik ilaçtır. Terapötik dozlarda güvenli ve etkili olmakla birlikte, parasetamol akut ilaç zehirlenmesinin en yaygın nedenlerinden biridir ve dünyada hekim reçetesi olmadan satılan ilaçların ölüme yol açabileceğinin bir

örneğidir. 1950 ortalarından itibaren parasetamol yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle alkol ile kombinasyon halinde yüksek dozların (hepato) toksisitesi ile terapötik dozun güvenliğini vurgulamıştır. Asetaminofen ve parasetamolün kökleri N-asetil-para-aminofenol, APAP ortak adındadır¹¹⁶. Parasetamol, para-aminofenol bileşikler, fenasetin ve asetanilid grubuna ait kimyasal bir bileşiktir¹¹⁷. Fenasetin aktif bir metabolitidir, ancak terapötik dozlardakinden farklı olarak kanserojen etkisi yoktur¹¹⁸.

Bugün parasetamol, bir eroin karışımının ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir ve parasetamol – eroin karışımı sokak pazarında oldukça çok popülerdir. Saf eroin beyazdır, acı bir tada sahiptir ve suda çözünür. Bununla birlikte, sokak “eroini” genellikle kahverengimsi bir renktir ve sadece yaklaşık %7-10 ila maksimum %20 eroin içerirken geri kalanı diğer maddelerin genellikle %50'den fazlasını parasetamol temsil eder. "Sokak" eroin satıcıları, analjezik ve antipiretik özelliklerinden dolayı parasetamolu eroinle karıştırır (ağrıyı giderir ve ateşi düşürür-sakinleştirir). Diğer analjezikler-ağrı kesicilerde olduğu gibi yan etkiler göstermez¹¹⁸.

2.2.8.1. Absorpsiyon

Ağız yoluyla alındıktan sonra parasetamol ince bağırsaktan hızlıca absorbe olurken mideden emilim ihmal edilebilir düzeydedir. Bu nedenle, emilim hızı mide boşalmasına bağlıdır. Yiyecekler midenin boşalmasını ve emilimini geciktirebilir, ancak absorbe edilen toplam miktar aynı kalır¹¹⁹. Aynı deneklerde, parasetamolün pik plazma konsantrasyonuna açken 20 dakika sonra, gıda alımında 90 dakika sonra ulaşıldı. Yüksek karbonhidratlı, ancak yüksek proteinli veya yüksek yağlı olmayan gıdalar parasetamol pik plazma konsantrasyonunu dört kat azaltır. Açlık durumunda bile, formülasyona bağlı olarak parasetamolün emilim hızı değişkendir ve maksimum plazma konsantrasyonuna 20 dakika ila 1.5 saat sonra ulaşılır¹²⁰.

2.2.8.2. Dağılım

Parasetamolün biyoyararlanımı doza bağlıdır: 500 mg doz için %63 iken 1000 mg doz için %89'a yükselir¹²⁰. Plazma terminal eliminasyon yarı ömrü 1.9–2.5 saattir ve 0.9 L/kg dağılım hacmine sahiptir^{120,121}. Protein bağlanması, %15-21'e ulaşabildiği aşırı doz koşulları dışında ihmal edilebilir düzeydedir¹²⁰. Tipik bir parasetamol dozundan sonra

serumdaki konsantrasyon genellikle 30 µg/mL'nin (200 µmol/L) altına ulaşır. 4 saat sonra, konsantrasyon genellikle 10 µg/mL'nin (66 µmol/L) altındadır¹²².

2.2.8.3. Metabolizma

Asetaminofen, glukuronidasyon, sülfatasyon ve CYP450 2E1 oksidasyonu yoluyla yaygın karaciğer metabolizmasına uğrar¹¹⁷. Asetaminofenin yaklaşık %90'ı, böbrekler yoluyla elimine edilen sülfatlanmış ve glukuronidlenmiş metabolitlere konjuge edilir¹²³. Geriye kalan asetaminofenin yaklaşık %2'si, değişmeden idrarla atılır ve geri kalanı, reaktif bir metabolit olan N-asetil-p-benzokinon imin (NAPQI) oluşturmak üzere CYP450 aracılı oksidasyona uğramaktadır^{124–127}. Normal şartlar altında, bu toksik metabolit glutatyondaki sülfidril gruplarıyla reaksiyona girerek idrarla atılmadan önce zararsız metabolitlere dönüşmektedir¹²⁸.

2.3. Postmortem Yeniden Dağılım (PMR)

Ölümden sonra, hücre ve doku otolizi ilerledikçe, hücre zarları parçalanır ve bağlanma bölgelerinden salınan ilaçlar, dokulardaki yüksek konsantrasyonlu alanlardan komşu dokulara ve kandaki daha düşük konsantrasyonlu alanlara pasif difüzyon yoluyla yeniden dağılabilmektedir¹²⁹. Genel olarak merkezi ve kalp damarlarında (pulmoner arter/ven ve vena kava) bildirilen konsantrasyonlar, ilaçların ölümden önce biriktiği merkezi organlara ve gastrointestinal sisteme yakın olmayan periferik bölgelere göre ölüm sonrasında daha fazla artış göstermektedir^{10,129,130}. Pulmoner dolaşımında bulunan ilaçlar ince duvarlı pulmoner venlerden difüze olabilir ve sol ventriküldeki konsantrasyonları önemli ölçüde yükseltebilir¹³¹. Postmortem interval arttıkça, ilaç konsantrasyonlarında bölgeye ve zamana bağlı değişikliklerin meydana gelme olasılığı da artar. Sonunda periferik kan, merkezi kan ile dengeye ulaşır ve ileri dekompozisyon durumlarında, kalp ve periferik kanda ölçülen ilaç konsantrasyonları benzerdir¹³². Yapılan çalışmalarda ayrıca kapsamlı resüsitasyon girişimlerinin ardından karşılaştırılabilir merkezi ve periferik konsantrasyonlar bildirmiştir. Kardiyak kanda ölçülen postmortem ilaç konsantrasyonlarındaki artışlardan dolayı, yanlış yorumlardan kaçınmak için postmortem erken dönemde değişime daha az maruz kalan periferik bölgelerden kan örnekleri alınması gerektiği konusunda, genel olarak fikir birliği vardır. Örneklemeye için önerilen bölge femoral vendir ve proksimal iliak ven ve vena kavadan

yüksek ilaç konsantrasyonları ile kan alınmasını önlemek için örneklemeden önce bu bölgeye proksimal olarak kros klemp konmalıdır¹³³.

Dekompozisyonun ilerlemesi, ilaç konsantrasyonlarındaki değişikliklere önemli ölçüde neden olabilir. Gastrointestinal sistem, ağız boşluğu ve akciğerlerde bulunan aerobik ve anaerobik bakteriler tarafından cesedin istila edilmesinin, çürüme sırasında meydana geldiği bilinmektedir^{134,135}. Bu bakteriler, ölüm sonrası kan ve dokularda birçok bileşiği üretme ve/veya metabolize etme yeteneğine sahiptir. Birçok ilaç metabolitinin bağırsak ve bakteriyel enzimler tarafından aktif olarak dekonjuge edildiği (örneğin M3G'den tekrar morfine dönüştürüldüğü), böylece enterohepatik resirkülasyon ve ilacın serbest formunun yapay olarak yükselmesi ile sonuçlandığı tespit edilmiştir¹³⁶. Ayrıca, ilgili enzimin doğasına göre değişen metabolik enzim aktivitesinin, erken ölüm sonrası dönemde meydana geldiği bilinmektedir¹². Postmortem interval sırasında devam eden ilaç metabolizması ve metabolit dekonjugasyonu, ana ilaç metabolit oranını yorumlanırken önemli bir husustur.

Morfinin ölüm sonrası farmakokinetiğinin (PMPK) kapsamlı bir şekilde çalışılmış olması şaşırtıcı değildir. 1988'de William Sawyer ve Robert Forney, sıçanlarda morfinin postmortem dağılımını araştırmak için bir çalışma yapmışlardır¹³⁶. Yazarlar, ölümden sonra ilaç dağılımının değişip değişmediğini belirlemek amacıyla sıçanlarda morfinin ölüm öncesi ve ölüm sonrası dağılımını araştırdı. Numuneler, ölümden önce düzenli aralıklarla morfin uygulanarak ölümden 0-96 saat sonra serbest ve toplam morfin konsantrasyonu açısından incelenmiştir. Çalışılan tüm sıçan grupları, ölüm sonrası kardiyak kan morfin konsantrasyonlarında önemli ($p < 0.05$) bir artış gösterdi. Bu değişiklikler, kan örneklerinde ölümden sonraki 5 dakika içinde tespit edildi. Karaciğer, kalp dokusu ve frontal beyinde ölümden 24 ve 96 saat sonra artan morfin seviyeleri de gözlenirken, idrardaki morfin seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, Sawyer ve Forney sadece bir morfin konsantrasyonunda (5 mg/kg) çalışmayı yaptılar. 1992'de Koren ve Klein 4 mg/kg morfin kullanarak Sawyer ve Forney'e benzer bir çalışma yaptılar ve morfin verildikten 2 saat sonra ötenazi meydana geldi. Yine, çalışmalarının kapsamı sınırlıydı ve sadece kavite kanı ölçüldü. Ayrıca ölümden sonra yüksek ölüm sonrası seviyelerin ölüm öncesi konsantrasyonların yanlış bir temsili olmasıyla birlikte morfinin önemli ölçüde yeniden dağıldığı sonucuna varmışlardır¹³⁷. Bununla birlikte, insanlarda PMR'nin kapsamı hakkında çelişkili bilgiler mevcuttur.

Gerostamouls ve ark., eroine bağı 40 ölümdede, antemortem ve Postmortem kan konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark olmadığını ve kalp kanında, femoral kan veya subklavyen kana kıyasla daha yüksek konsantrasyonlar için bir eğilim olmasına rağmen, farkın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir¹³⁸.

Yukarıda bahsedilen çalışmaların aksine, diğ er çalışmalarda morfinin PMR sergilediğini bildirilmiş ve merkezi ve periferik morfin, M3G ve M6G konsantrasyonları arasında farklılıklar bildirmiştir. Bu çalışmalarda, bir opioid (esas olarak eroin) doz aşımından şüphelenilen insan çalışmalarından elde edilen veriler kullanılmıştır¹³⁹⁻¹⁴². Çalışmalar arasındaki tutarsızlıklar için olası bir neden olarak, numuneler arasındaki numune alma yeri, numune alma süresi ve pH farkı olarak sıralanabilir. Çeşitli çalışmalar periferik ve diğ er dokulardan ziyade sadece merkezi bölge konsantrasyonlarına odaklanmıştır^{10,12,138,143,144}. Hem morfin hem de eroin hepatik metabolizmaya uğradığından, femoral vene kıyasla inferior vena kava'da daha yüksek konsantrasyon beklenmektedir. Bu çalışmalar olası postmortem olguları temsil etse de ölüm zamanı ile ölüm sonrası numune toplama zamanı arasındaki zaman aralığı, çalışmalar arasında farklılık göstererek, yanlış karşılaştırmalara ve sonuçlara yol açmaktadır. Morfin glukuronidlerin hidrolizi nedeniyle ölüm sonrası dönemde serbest morfin konsantrasyonları önemli ölçüde artabilir^{141,145}. Bağırsak florasında bulunan en baskın bakterilerden biri olan Escherichia coli, önemli bir β -glukuronidaz kaynağıdır¹⁴⁶ ve çürüyen kan ve dokularda morfin glukuronidleri, özellikle M3G'yi dekonjuge ettiğ i bilinmektedir^{141,147}. Postmortem interval sırasında morfin glukuronidlerin tekrar serbest morfine hidrolizi, zamanın bir fonksiyonu olarak oranları (örneğin M3G: Morfin) önemli ölçüde değiştirebilmektedir.

2.3.1. Toksikolojik Analiz Sonuçlarının Yorumlanmasında Postmortem Yeniden Dağılımın Önemi

İlaçların ve metabolitlerinin postmortem redistribüsyonu (yeniden dağılımı) (PMR), ölüm zamanı ile numune toplama arasında meydana gelen ilaç konsantrasyonlarındaki değişiklikleri ifade eder¹⁶. Bu tür değişiklikler ilacın farmakokinetik ve kimyasal özelliklerine, vücudun oryantasyonuna, çürümeye, ilacın dozu ve ilaç alımı ile ölüm arasındaki süreye bağılıdır. Ayrıca, antemortem farmakokinetikte görüldüğü gibi, PMR lipofilisiteden (lipid çözünürlüğü),

iyonizasyon/yük derecesinden (örn. pKa) ve dağılım hacminden etkilenir^{10,12}. Başlangıçta, ilacın yeniden dağılımının birincil kaynağının kalp dokularından difüzyon olduğu düşünülüyordu; ancak son araştırmalar, akciğerler ve karaciğer gibi katı organlardan yeniden dağıtımın da mümkün olduğunu göstermektedir¹⁴⁸. Bu nedenle, ölüm sonrası yeniden dağıtımı ele almak ve yaygın olarak kullanılan ve/veya kötüye kullanılan ilaçlar için daha güvenilir referans değerleri oluşturmak önemlidir. Bu değerler, ölüm nedenini ve şeklini belirlemede adli toksikolog ve patologlar tarafından yapılan değerlendirmeleri önemli ölçüde iyileştirecektir.

2.3.2. Postmortem Kan Konsantrasyonlarının Toksisite ile İlişkisi

Morfin konsantrasyonlarının yorumlanmasındaki en büyük sorunlardan biri, literatürde bildirilen letal konsantrasyonların genellikle belirtilen terapötik (0.08 – 0.12 mg/L) ve toksik konsantrasyonlarla (0.15 – 0.5 mg/L) örtüşmesidir. Morfinin hem farmakolojik hem de solunum depresan etkilerine tolerans hızla oluşur ve tolerans göstermeyen bireylerde ölümcül olduğu varsayılan konsantrasyonlar aktif eroin kullanıcılarına veya ilaca karşı tolerans geliştirmiş opioidlerle kronik ağrı tedavisi gören kişilere uygulanırsa otopside elde edilen morfin konsantrasyonları yanlış yorumlanabilir¹⁴⁹. 120 mg/L kadar yüksek kan morfin konsantrasyonlarının bildirildiği eroin vücut paketlenme olgularında (bodypacking) ölüm nedeni olarak aşırı doz eroin belirgin olabilir¹⁵⁰. Ancak eroin aşırı doz olgularının büyük çoğunluğunda otopside kaydedilen morfin konsantrasyonları, canlı eroin bağımlılarında veya aşırı doz dışındaki nedenlerle ölen eroin kullanıcılarında kaydedilenlerden daha düşük veya bunlara benzerdir^{91,151}. Darke ve ark., eroin aşırı doz ölümlerinde ölçülen kan morfin konsantrasyonlarının (medyan: 0.35 mg/L; aralık:0.08–3.2 mg/L; n=39), idame doz eroin alan canlı bağımlılarda ölçülenlerle (medyan: 0.09 mg/L; aralık: 0.05–1.45 mg/L; n=100) önemli ölçüde örtüştüğü gözlemlemiştir¹⁴⁵. 39 eroine bağlı ölümünün sadece dördünde, mevcut kullanıcılarda ölçülen en yüksek konsantrasyonu aşan morfin konsantrasyonları tespit edilmiştir. Eroin aşırı doz olgularında düşük kan morfin konsantrasyonunun nedenini, büyük ölçüde, tolerans kaybı ve/veya diğer ilaçların birlikte kullanılmasıyla sonuçlanan yoksunluk dönemlerine bağlanmıştır. Uyuşturucu yoksunluğunun veya azaltılmış kullanım periyodunun ardından salıverilmeyi takip eden ilk birkaç hafta içinde özellikle ilaca bağlı ölüm açısından akut bir risk olduğunu

göstermiştir. Bu çalışmalar, ölümlerin büyük çoğunluğunda opioidlerin rol oynadığını bildirmektedir^{152,153}.

2.3.3. Çoklu İlaç Kullanımı veya İlaç-İlaç Etkileşimleri

Eroin gibi yasadışı maddelerin, miktar olarak fazla görünmesi, vücuda alındığında advers etkilerinin önlenmesi, ticari kârın artışı için adulteran olarak adlandırılan farklı farmakolojik özellikteki katkı maddeleri kullanılmaktadır. Eroin ile ilişkili ölümlerin son yıllardaki artışı fentanil dahil olmak üzere sentetik opioidleri içeren adulteran kompozisyonundaki değişime dayandırılmıştır. Bu hususta 2020 yılında Tittarelli ve ark. İtalya Erken Uyarı Sisteminin güncellenmesi amacıyla yakalanan maddeler üzerinde yaptıkları çalışmada eroin örneklerinde en çok karşılaşılan adulteranların, farklı yüzdelerde sırasıyla kafein, metorfan ve parasetamol olduğunu bildirilmişlerdir. Kafein ve parasetamol kolay ulaşımı ve ucuz olması nedeniyle sokak eroin içerisinde çok kullanılan adulteranlardır¹⁵⁴. Amerika Birleşik Devletleri, eroine bağlı olduğu düşünülen opioid bağlantılı ölümlerin sayısında bir artış gördü; ancak araştırmalar, opioid salgınının yalnızca eroine ilgili olmadığını, eroin ve fentanilin bir kombinasyonundan kaynaklandığı bildirildi. Fentanil ucuza sentezlenebilmesinin yanı sıra eroine aynı fiyata satılabilmektedir. Böylece sokak düzeyindeki ilaç üreticileri, mümkün olduğu kadar çok para kazanmak ve büyük bir müşteri kitlesi oluşturmak için, eroine fentanil ile “kesmeye” başladı ve bu da kullanıcıların daha iyi bir yüksek deneyim yaşamasına neden oldu. Fentanilin artan gücü ile ülke genelinde aşırı dozlarda artışa neden olmuştur. Adli toksikologlar, patoloğlar ve adli tıp uzmanları için ek bir sorun da çok az sayıda çalışmanın, eroin ve fentanil dahil diğer adulteranların birlikte alındığında ölüm sonrası toksikolojiyi nasıl etkilediğini ele almış olmasıdır^{154,155}.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bir hayvan modeli olarak tasarlanan bu çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (SABİDAM) Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Toplantı Sayısı:2, Karar No:3, Toplantı Tarihi:13.05.2020). Ayrıca bu çalışma, TDK-2018-11050 no'lu proje önerisiyle kabul edilerek çalışmanın gerçekleştirilmesi için Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi bütçesinden mali destek sağlanmıştır.

3.1. Hayvan Modeli ve Uygulanan Opioid İlaçlar

Bu çalışmanın deneysel kısmı, Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu (The Guide for Care and Use of Laboratory Animals)'ndaki ¹⁵⁶ tavsiyelere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanı olarak ortalama 221 ± 24 g ağırlığında toplam 112 adet Wistar albino türü rat cinsiyete bakılmaksızın seçildi. Ratlar uygulanacak ilaçlara/ilaç kombinasyonlarına göre randomize şekilde seçilerek 6 araştırma ve 1 kontrol olmak üzere ($n= 6 + 1$) 7 gruba ayrıldı (Tablo 1'de açıklandığı üzere A: 10 mg Morfin, B: 20 mg/kg Kodein, C: 10 mg/kg Morfin+20 mg/kg Kodein, D: 1 mg/kg Eroin, E: 1 mg/kg Eroin + 1 mg/kg Parasetamol+1 mg/kg Kafein + 1 mg/kg Dekstrometorfan, F: 1 mg/kg Eroin+ 20 µg/kg Fentanil her bir gruba 16 adet rat seçildi).

Tablo 1. Hayvan grupları, uygulanan ilaçlar ve dozları

Grup	İlaç	Doz
A	Morfin	10 mg/kg
B	Kodein	20 mg/kg
C	Morfin	10 mg/kg
	Kodein	20 mg/kg
D	Eroin	1 mg/kg
E	Eroin	1 mg/kg
	Dekstrometorfan	1 mg/kg
	Kafein	1 mg/kg
	Parasetamol	1 mg/kg
F	Eroin	1 mg/kg
	Fentanil	20 µg/kg

Ratlar, her bir postmortem intervalde (0. saat, 1. saat, 4. saat, 24. saat) 4 adet olacak şekilde Tablo 1’de ki ilaç/ilaç kombinasyonları her bir grupta 16 adet olarak seçildi ve sevoflorane/desflorane ile anestezi altında sağ kuyruk veninden intravenöz yolla enjekte edildi. Ayrıca ileri derecede pıhtılaşmayı önlemek ve kan örneklemesini kolaylaştırmak amacıyla ötenazi öncesi her bir rata heparin (1000U/mL) enjekte edildi. İlaç enjeksiyonundan 1 saat sonra CO₂ gazı ile ötenazi yapıldı ve belirlenen postmortem intervallerde diseksiye edilmek üzere sırtüstü pozisyonda oda sıcaklığına (25 °C) bırakıldı. Tüm ratlardan belirlenen intervallerde kalp kanı, sağ ve sol femoral kan, subklavyen kan, karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve akciğer örnekleri toplandı ve oluşturulan spesifik ekstraksiyon metodu kullanılarak likit kromatografi ardışık sıralı kütle spektrometri cihazı ile hızlıca analiz edildi. Hayvanlara uygulanan opioid ilaçlar ve kombinasyondaki katkı maddeleri referans standard maddelerden izotonik solüsyonda hazırlanarak 100 µL hacimde enjektör ile uygulandı. Sağ ve sol femoral, subklavyen ve kalp kanı örnekleri enjektör yoluyla ve postmortem 24 saat intervaldeki ratlardan pıhtılaşma sebebiyle göllendirme yoluyla toplandı. Ratlarda safra olmamasına rağmen postmortem toksikolojik analizlerden örnek toplama için önerilen kılavuzlara uygun olarak karaciğer ve akciğer örnekleri sağ lobdan derin örnekleme ile toplandı. Beynin tümü ve sağ böbrek alındı.

3.2. Toksikolojik Analiz

3.2.1. Deneylerde Kullanılan Malzemeler

3.2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Morfin sülfat (Lipomed),
Morfin-3-β-glukuronid (Lipomed),
Morfin-6-β-glukuronid (Lipomed),
Kodein fosfat (European Pharmacopoeia),
Kodein-6-β-glukuronid (Lipomed),
Norkodein (Lipomed),
Fentanil (Lipomed),
Norfentanil (Lipomed),

Parasetamol (lipomed),
Eroin.HCl (diasetilmorfin hidroklorit, LGC standards),
Kafein (Dr.Ehrenstorfer),
Dekstrometorfan (Lipomed).
Metanol (Merck),
Aseton (Merck),
Amonyak (Merck),
Amonyum Format (Sigma),
Potasyum dihidrojen fosfat KH_2PO_4 (Merck),
Ultra saf su (Merck)

3.2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

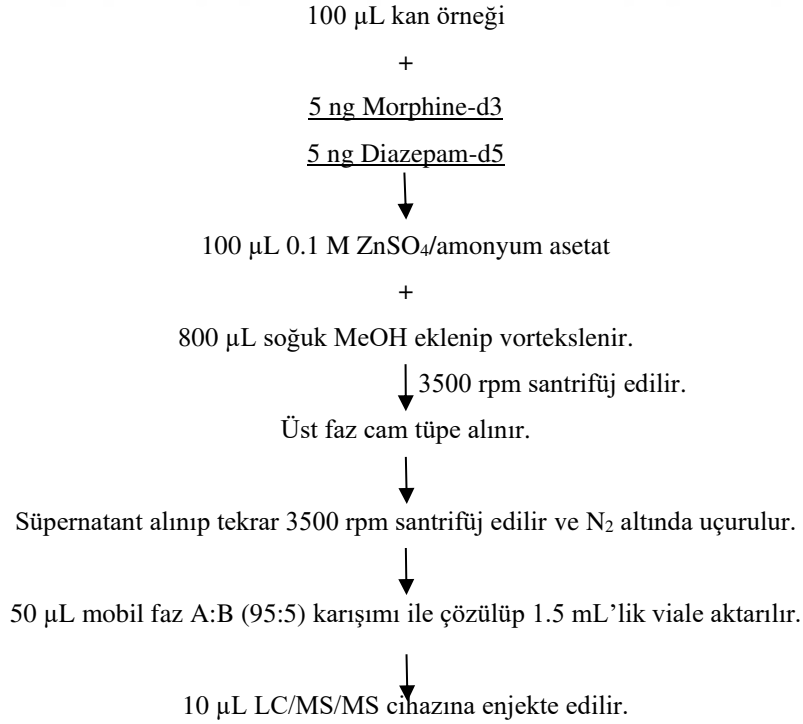
Likit Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometri (Shimadzu CBM-20A Lite UPLC, Shimadzu 8040 LC/MS/MS triple quadrupole systems),
Restek Allure PFPP 5 μm Kolon (50 x 2.1 mm)
Santrifüj (5500 devir/dak. – Hettich Universal 30F),
Ultrasonikatör (Bandelin Sonorex)
Homojenizatör (IKA Ultra turrax tube driver),
Membran filtre (Econo filter 0,22 μm PFTE, Agilent),
Vorteks (Velp Scientifica),
Hassas Terazı (Mettler-Toledo),
Örnek yoğunlaştırıcı (MD 200 Sample Concentrator)
Tüpler (Vacutainer B-D, 10 ml'lik düz cam tüp),
Vial (Agilent),
Mikropipet (Axygen),
Balon joje,
Enjektör

3.2.2. Örneklerin Hazırlaması ve Ekstraksiyon Aşaması

3.2.2.1. Kan örneğinin hazırlanması

Kan örneklerinin ekstraksiyonu sıvı-sıvı ekstraksiyon metodu kullanılarak yapıldı. Vacutainer B-D tüpünde bulunan 100 µL kan örneği düz cam tüpe (10 mL'lik) alınarak üzerine 1000 ng/mL konsantrasyonda stok internal standart (iç standart madde) (Morfin-d3 ve Diazepam-d5) karışım solüsyonundan 5 µL eklendi. Üzerine proteinlerin ve fosfolipitlerin uzaklaştırılması amacıyla 0.1 M ZnSO₄/amonyum asetat çözeltisinden 100 µL eklendi ve 800 µL (-)20 °C bekletilmiş MeOH eklenerek vorteksle karıştırılıp 3500 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz bir cam tüpe alındıktan sonra 3500 rpmde 10 dakika tekrar santrifüj edildikten sonra süpernatant yeni tüpe aktarılıp (+)50 °C'de N₂ altında uçuruldu. Kalıntı, 50 µL mobil faz A (ultra saf su içinde %0.1'lik formik asit) ve mobil faz B (MeOH) (95:5) oranında eklenerek rekonstitüye edildi ve analiz edilmek üzere LC/MS/MS cihazına 10 µL hacimde enjekte edildi. Kan ekstraksiyonu için ekstraksiyon algoritması Şekil 2 de gösterilmektedir.

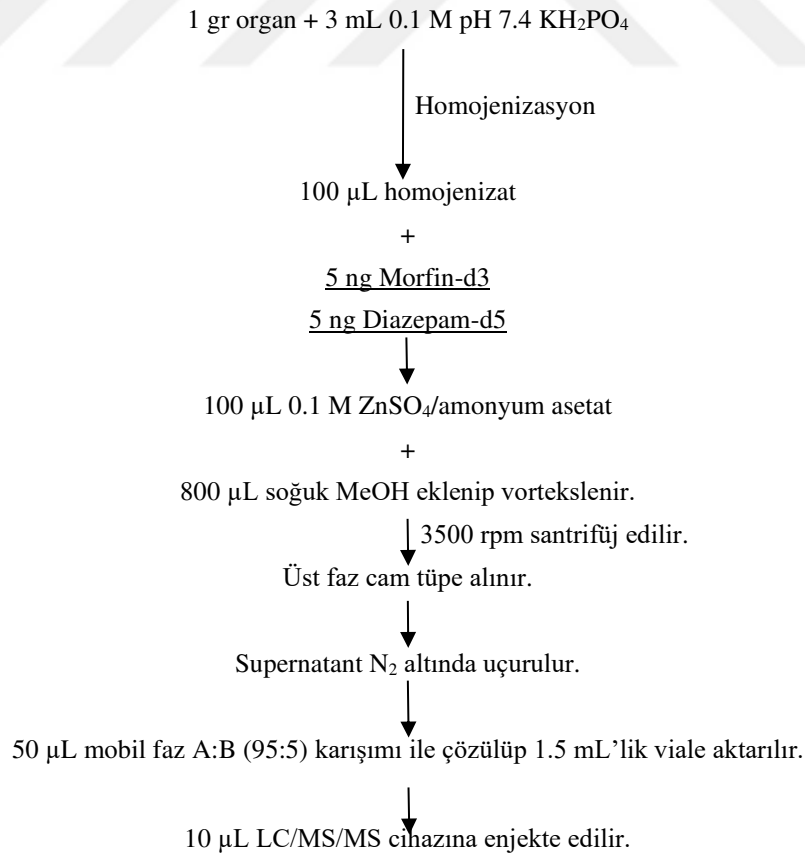
Kan Ekstraksiyonu



Şekil 2. Kan için ekstraksiyon algoritması

3.2.2.2. Organ örneklerinin hazırlanması

Organ örneklerinin ekstraksiyonu sıvı-sıvı ekstraksiyon metodu kullanılarak yapıldı. Plastik kaplarda bulunan karaciğer, akciğer kalp, böbrek ve beyin örneklerinden alınan 1 gram visceral doku örneği üzerine 3 mL 0.1 M pH 7.4 KH_2PO_4 tamponu ile 1:3 oranında (x4) dilüe edilerek (beyin, 1:1 dilüsyon) homojenizatör (IKA Ultra turrax tube driver) ile homojenize edildi. 100 μL homojenizat düz cam tüpe (10 ml'lik) alınarak üzerine 1000 ng/mL konsantrasyonda stok internal standart (iç standart madde) (Morfin-d3 ve Diazepam-d5) karışım solüsyonundan 5 μL eklendi. Üzerine proteinlerin ve fosfolipitlerin uzaklaştırılması amacıyla 0.1 M ZnSO_4 /amonyum asetat çözeltisinden 100 μL eklendi ve 800 μL (-)20 °C bekletilmiş MeOH eklenerek vorteksle karıştırılıp 3500 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz bir cam tüpe alındıktan sonra 3500 rpmde 10 dakika tekrar santrifüj edildikten sonra süpernatant yeni tüpe aktarılıp (+)50 °C'de N_2 altında uçuruldu. Kalıntı, 50 μL mobil faz A (ultra saf su içinde %0.1'lik formik asit) ve mobil faz b (MeOH) (95:5) oranında eklenerek rekonstitüye edildi ve analiz edilmek üzere LC/MS/MS cihazına 10 μL hacimde enjekte edildi. Organ ekstraksiyonu için ekstraksiyon algoritması Şekil 3 de gösterilmektedir.



Şekil 3. Organ örnekleri için ekstraksiyon algoritması

3.2.3. LC-MS/MS Çalışma Şartları

Bu çalışmada biyolojik örneklerin sıvı-sıvı ekstraksiyonundan sonra elde edilen numunelerin analizleri, Shimadzu Likit Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometri 8040 LC/MS/MS cihazı ile yapıldı.

- Kolon: Restek Allure PFPP (pentaflorofenilpropil) 5 µm 50 x 2.1 mm
- Detektör: Triple quadrupole kütle spektrometresi
- İyon Kaynağı: Elektro spre y iyonizasyon (ESI) (pozitif mod)
- Gaz Akışı: 0.4 mL/dk.
- Interface voltaj: 4.5 kV
- Nebulizing gaz akışı: 3.0 L/dak.
- Drying gaz akışı: 15.0 L/dak.
- Desolvation Line (DL) Sıcaklığı: 250 °C
- Heat Block Sıcaklığı: 400 °C
- Fırın (Oven) Sıcaklığı: 40 °C
- Maksimum Sıcaklık: 85 °C
- Collision-incuded dissociation (CID) gaz basıncı: 230 kPa
- Mobil Faz A: 1 L ultra saf su içerisinde %0.01 formik asit.
- Mobil Faz B: 1 L asetonitril içerisinde %0.01 formik asit.
- Analiz Süresi: 18 dakika
- Enjeksiyon Hacmi: 10 µL
- Gradient Programı: (Tablo 2)

Tablo 2. LC/MS/MS analiz gradient programı.

Zaman (dakika)		
0.01	Total Flow	0.4
0.01	Pumb B Conc.	5
10	Total Flow	0.4
10	Pump B Conc.	90
15	Total flow	0.4
15	Pump B Conc.	90
15.01	Pump B Conc.	5
15.01	Total Flow	0.4
18	Controller Stop	

Seçilen ilaçların, tanımlanabilmesi için ayrıntıları Tablo 3’ de verilen metoda göre Scheduled MRM (Zamanlanmış Multiple Reaction Monitoring-oklu Reaksiyon İzleme) modu kullanıldı. Tüm ilaçlar pozitif modta analiz edildi. Veriler, LabSolutions version 5.97 yazılımını kullanılarak alınmıştır.

Tablo 3. Analitlerin analizi için oluşturulan LC-MS/MS cihazının MRM geişimleri ve MS/MS parametreleri.

Analit	ncl iyon (m/z)	Fragment iyon (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)	RT (dak.)
Morfin	286.00	201.10	-30	-27	-21	2.64
		211.00	-19	-28	-22	
Morfin-3-β-glukuronid	462.10	286.25	-10	-32	-19	1.55
		185.00	-30	-49	-18	
Morfin-6-β-glukuronid	462.25	286.15	-17	-31	-19	1.67
		165.00	-18	-29	-25	
Morfin-d3	289.20	165.00	-14	-43	-30	2.61
		201.10	-19	-28	-21	
Kodein	300.20	165.20	-30	-46	-30	4.39
		153.20	-30	-47	-28	
Norkodein	286.05	268.20	-20	-21	-29	3.98
		165.05	-11	-52	-29	
Kodein-6-β-glukuronid	476.30	152.10	-19	-55	-30	3.43
		300.20	-17	-33	-20	
Eroin	370.30	113.00	-18	-40	-19	10.67
		165.10	-30	-54	-30	
6-MAM	328.20	58.150	-30	-32	-23	4.65
		165.05	-21	-43	-30	
Fentanil	337.30	211.05	-21	-28	-14	9.64
		188.15	-27	-23	-21	
Norfentanil	233.05	105.05	-27	-38	-20	6.38
		84.10	-16	-19	-16	
Parasetamol	152.20	55.10	-16	-39	-22	2.60
		110.10	-16	-17	-21	
Kafein	195.10	65.10	-16	-33	-26	4.53
		138.15	-22	-21	-25	
Dekstrometorfan	272.30	42.15	-23	-38	-15	9.76
		110.15	-13	-25	-21	
Diazepam-d5 (i standard)	290.00	215.20	-18	-25	-14	8.46
		171.10	-18	-42	-30	
		227.20	-23	-26	-25	
	290.20	198.20	-23	-34	-21	
		154.00	-30	-29	-28	

CE: collision energy, RT: alıkonma süresi, V: voltaj

Hem kan hem de organ örneklerindeki analitlerin analizi için oluşturulan analitik yöntemin validasyonu gerikazanım seçicilik, özgüllük, (absolute recover), linerite, deteksiyon limiti (LOD), kantitasyon limiti (LOQ), doğruluk (accuracy), dilüsyon doğruluğu, kesinlik (precision), matris etkisi, taşınma (carry-over) gibi analitik validasyon parametreleri değerlendirilerek uluslararası bir klavuz olan SWGTOX Adli Toksikolojide Metod Validasyonu için Standard Pratikler klavuzu¹⁵⁷ takip edilerek yapılmıştır. Her bir validasyon parametresi için elde edilen sonuçlar, bu klavuzda belirtilen kabuledilebilir aralıkta bulunmuştur.



4. BULGULAR

4.1. Morfin ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımı

10 mg/kg dozda morfin uygulanan hayvan gruplarındaki morfin ve metaboliti M3G için PMR çalışmasının sonuçları Tablo 4 ve Tablo 5’de sırasıyla görülmektedir. M6G hiçbir matriste saptanamamıştır. Her bir postmortem matristeki postmortem intervale göre gözlenen konsantrasyon farklılıkları gruplar arası anlamlılık derecesine göre Games-Howell ve Tukey post-hoc analiziyle birlikte One-way ANOVA ile değerlendirildi. Bununla birlikte herbir posmortem intervalde postmortem matrislerdeki farklılıklar yine aynı istatistiksel testler uygulanarak değerlendirildi. Buna göre sağ ve sol femoral kandaki morfin konsantrasyonları zamanla azalmıştır. Morfin konsantrasyonundaki azalış sağ ve sol femoral kana kıyasla kalp kanında ve subklavyen kanda daha az belirgin olarak gözlenmektedir. Böbrek ve akciğerdeki morfin konsantrasyonları zamanla azalırken, karaciğerde artış gözlenmiştir. Kalp ve beyin dokularındaki morfin konsantrasyonlarında anlamlı bir azalış gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4. Morfin uygulanan hayvan gruplarında (A) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest morfin konsantrasyonları (kanda: ng/mL $\pm$ SD, dokuda: ng/mg $\pm$ SD).

Morfin (A)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	4380 $\pm$ 614,7	2671 $\pm$ 127,2	1385 $\pm$ 390,7	1229 $\pm$ 134,4
Femoral kan (Sol)	4044 $\pm$ 525,3	1510 $\pm$ 72,1	1453 $\pm$ 50,6	1043 $\pm$ 81,8
Kalp kanı	1461 $\pm$ 77,7	1868 $\pm$ 135,8	1441 $\pm$ 142,1	1192 $\pm$ 89,0
Subklavyen kan	2121 $\pm$ 129,5	1253 $\pm$ 144,1	1487 $\pm$ 128,7	1975 $\pm$ 261,0
Karaciğer	1611 $\pm$ 216,8	1439 $\pm$ 83,70	1228 $\pm$ 245,3	2060 $\pm$ 349,1
Kalp	412,0 $\pm$ 110,9	360,5 $\pm$ 154,5	246,4 $\pm$ 78,0	498,8 $\pm$ 306,5
Böbrek	4630 $\pm$ 304,9	2855 $\pm$ 130,3	2744 $\pm$ 735,0	2161 $\pm$ 324,0
Akciğer	3259 $\pm$ 99,6	1480 $\pm$ 553,6	1683 $\pm$ 286,1	1239 $\pm$ 121,4
Beyin	519,5 $\pm$ 60,9	287,9 $\pm$ 94,5	165,3 $\pm$ 12,1	414,5 $\pm$ 30,1

Tablo 5. de yer alan M3G sonuçlarına göre, en yüksek konsantrasyonlar, subklavyen kan ve böbrekte saptanmıştır. Beyin ve kalp dokusundaki konsantrasyonlar diğer örneklerle kıyasla daha düşük bulunurken, kalp kanındaki konsantrasyonlar sağ ve sol femoral kandaki konsantrasyonlara göre yüksek bulunmuştur. Ölüm anındaki (0.

saat) ve postmortem 24. saatteki sağ ve sol femoral kandaki konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık bulunmakla birlikte postmortem 1. ve 4. saatlerde sağ femoral kandaki M3G konsantrasyonlarında PMR gözlenmemiştir.

Tablo 5. Morfin uygulanan hayvan gruplarında (A) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre M3G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).

M3G (A)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	1158±126,9	2305±228,9	2317±268,7	1667±54,0
Femoral kan (Sol)	2378±572,5	1730±278,2	2812±947,9	880,0±158,5
Kalp kanı	3278±1056	4703±412,1	5038±1010	1823±159,7
Subklavyen kan	14296±3029	6467±881,5	4534±1317	5379 ±2494
Karaciğer	7724±1281	3382±449,8	2367±262,0	8518±2429
Kalp	944,3±96,5	264,6±125,8	208,8±69,70	288,4±86,20
Böbrek	14415±1251	7403±1646	5040±634,0	4998±1304
Akciğer	2815±709,5	1653±865,1	2072±747,5	2086±1508
Beyin	180,9±38,00	181,2±35,80	84,9±9,200	350,7±108,0

4.2. Kodein Uygulanan Hayvan Gruplarında Kodein ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımı

20 mg/kg dozda kodein uygulanan hayvan gruplarındaki (B) serbest morfin, M3G, kodein, K6G ve norkodein için PMR çalışmasının sonuçları Tablo 6, 7, 8., 9 ve 10'de sırasıyla görülmektedir. M6G hiçbir matriste saptanamamıştır. Her bir postmortem matristeki postmortem intervale göre gözlenen konsantrasyon farklılıkları gruplar arası anlamlılık derecesine göre Games-Howell ve Tukey post-hoc analiziyle birlikte One-way ANOVA ile değerlendirildi. Bununla birlikte her bir posmortem intervalde postmortem matrislerdeki farklılıklar yine aynı istatistiksel testler uygulanarak değerlendirildi. Tablo 6 da gösterilen morfin konsantrasyonları incelendiğinde sağ ve sol femoral kanda postmortem 24. saat dahil olmak üzere zamanla anlamlı bir değişim gözlenmemekle birlikte ölüm anındaki (0. saat) sağ femoral kandaki morfin konsantrasyonu sol femoralden daha yüksek bulunmuştur. Karaciğerdeki morfin konsantrasyonlarında 4. saatten itibaren hızlı bir yükseliş mevcuttur. Bu durum subklavyen kandaki morfin konsantrasyonların zamana bağlı değişimine benzerdir.

Kalp, akciğer ve beyindeki morfin konsantrasyonları diğer matrislere düşük bulunmuştur.

Tablo 6. Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest morfin konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).

Morfin (B)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	1008±53,8	851,3±76,5	818,9±121,6	935,1±92,7
Femoral kan (Sol)	634,3±107,8	917,9±197,4	815,2±121,3	869,9±146,0
Kalp kanı	1682±913,1	1002±208,6	826,2±218,8	1290±231,8
Subklavyen kan	1153±742,1	695,4±262,1	1405±421,3	2392±336,6
Karaciğer	1325±241,3	1980±162,2	4145±913,0	6786±1337
Kalp	420,6±54,1	355,7±74,3	323,6±75,6	461,7±160,7
Böbrek	1778±332,4	1843±257,2	1476±195,0	1650±357,8
Akciğer	477,1±108,6	519,5±261,5	639,9±223,6	345,0±118,3
Beyin	201,0±59,30	370,2±282,9	462,1±140,5	216,6±30,7

Tablo 7 de M3G konsantrasyonları yer almaktadır. Buna göre tüm zaman aralıklarında beyin ve kalp dokularındaki M3G seviyeleri diğer matrislere göre düşük bulunmuştur. Sol femoral kandaki postmortem intervale göre konsantrasyon değişimi incelendiğinde 24. saatte bir düşüş söz konusudur. Karaciğerde 0. saatteki M3G seviyesi postmortem 24. saatteki ölçülen seviyenin yaklaşık yarısı kadardır. Ölüm anında alınan subklavyen kandaki ortalama konsantrasyon, diğer matrislere göre yüksek bulunmuş olup Postmortem 24. saatte anlamlı seviyede azalış söz konusudur.

Tablo 7. Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre M3G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).

M3G (B)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	8895±988,7	4126±1144	6061±1400	3112±323,81
Femoral kan (Sol)	5260±715,1	7427±2888	5214±322,1	1268±158,6
Kalp kanı	5943±1186	7058±2542	5638±1861	4220±974,9
Subklavyen kan	16476±2736	5366±1609	2220±214,8	373,4±513,0
Karaciğer	1600±515,4	2043±368,6	3556±2198	3213±400,3
Kalp	306,2±108,2	230,2±102,1	355,2±92,18	358,2±58,14
Böbrek	1763±568,9	3777±4286	2856±1845	2262±950,7
Akciğer	1461±188,9	2580±410,7	3981±638,3	1154±136,7
Beyin	311±71,6	176,5±44,86	95,72±6,25	183,7±65,45

Her bir postmortem matristeki serbest kodein konsantrasyonlarının zamana göre değişimlerinin yer aldığı Tablo 8 incelendiğinde postmortem 4 ve 24. saatlerde sağ ve sol femoral kandaki seviyelerde anlamlı bir farklılık bulunmaktadır. Subklavyen kanda ölüm anında ve postmortem 4. saatteki seviyeler diğer matrislere göre oldukça yüksek bulunmuştur. Karaciğerdeki kodein seviyelerinin 1. ve 4. saatlerde ani bir yükseliş gösterdikten sonra 24. saatte ani bir düşüş göstermesi ve akciğerdeki postmortem 1. saatteki ani konsantrasyon yükselişi dikkat çekicidir. Beyin ve kalp dokularındaki konsantrasyonlar diğer matrislere göre düşük olmakla birlikte postmortem 24. saatte serbest kodein ölçüm aralığında saptanamamıştır.

Tablo 8. Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest kodein konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).

Kodein (B)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	1539±405,1	1569±313,6	2364±773,7	1035±148,3
Femoral kan (Sol)	2200±610,1	2050±372,5	493,4±162,8	326,9±141,0
Kalp kanı	1383±129,0	1269±235,6	1991±609,2	2339±635,6
Subklavyen kan	7309±2544	2740±149,3	7166±3106	1627±250,5
Karaciğer	539,9±286,3	2485±940,2	1498±382,8	157,4±24,25
Kalp	487,9±359,5	541,5±443,7	464,2±145,0	505,3±159,2
Böbrek	2813±603,3	683,7±83,46	955,6±214,8	624,0±70,20
Akciğer	647,0±92,19	3413±1220,7	601,3±210,1	1237±898,96
Beyin	221,6±10,06	350,9±93,90	364,2±67,83	nd

nd; not detected (saptanamadı).

K6G konsantrasyonları Tablo 9’da görülmektedir. Subklavyen kanda tespit edilen K6G seviyeleri diğer matrislere göre yüksek bulunmuştur. K6G ölüm anında ve postmortem 1.saatteki kalp dokusunda saptanamamıştır. Bununla birlikte beyinde yalnızca ölüm anında toplanan örneklerde 45.41 ng/mg konsantrasyonda K6G saptanmıştır.

Tablo 9. Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre K6G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).

K6G (B)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	145,2±6,1	151,6±16,95	162,9±40,61	61,15±18,74
Femoral kan (Sol)	142,3±14,09	66,74±8,46	119,0±62,19	nd
Kalp kanı	159,6±18,14	75,44±22,33	89,6±5,96	193,0±117,0
Subklavyen kan	834,6±147,1	641,9±272,5	503,7±170,2	386,1±93,33
Karaciğer	66,24±25,53	149,6±59,65	439,1±142,8	418,4±451,3
Kalp	nd	nd	3,89±4,72	7,99±1,09
Böbrek	9,13±4,37	16,04±15,62	28,95±	48,68±12,07
Akciğer	4,29±1,47	15,04±6,87	155,5±160,3	16,67±6,77
Beyin	45,35±41,74	nd	nd	nd

Tablo 10’da görülen norkodein konsantrasyonları incelendiğinde kan örneklerine göre visceral dokulardaki konsantrasyonlar daha yüksek bulunmuştur. Hiçbir beyin dokusunda norkodein saptanamamıştır. Postmortem 24. saatte karaciğerdeki norkodein konsantrasyonlarında ani bir düşüş gözlenmiştir.

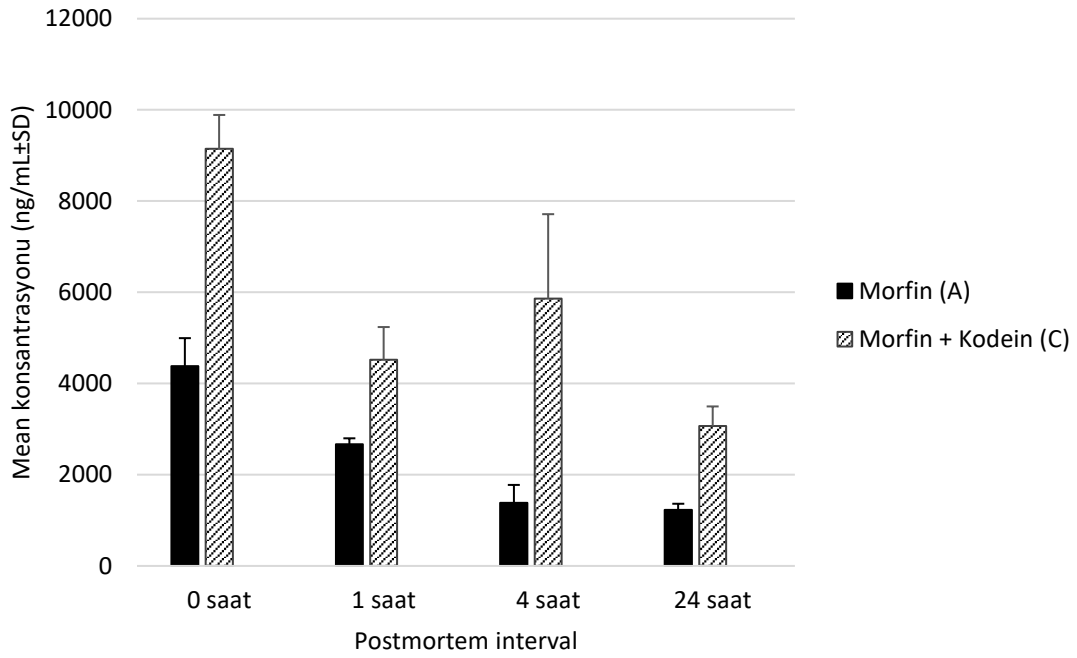
Tablo 10. Kodein uygulanan hayvan gruplarında (B) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre norkodein konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/mg±SD).

Norkodein (B)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	76,65±12,02	101,3±37,41	113,4±31,27	106,2±29,15
Femoral kan (Sol)	98,34±30,56	75,62±24,18	64,81±28,2	460,7±219,8
Kalp kanı	81,82±24,0	93,96±31,79	118,1±32,93	119,5±26,59
Subklavyen kan	129,3±62,5	102,99±34,47	231,5±95,21	75,89±23,41
Karaciğer	619,1±213,7	1516±895,6	1532±340	168,9±56,15
Kalp	345,9±138,2	360,2±118,6	581,0±210,1	561,7±257,6
Böbrek	719,7±282,2	1034±65,86	603,4±214,1	826,8±228,1
Akciğer	779,3±180,0	892,7±865,6	494,3±99,7	324,6±159,0
Beyin	nd	nd	nd	nd

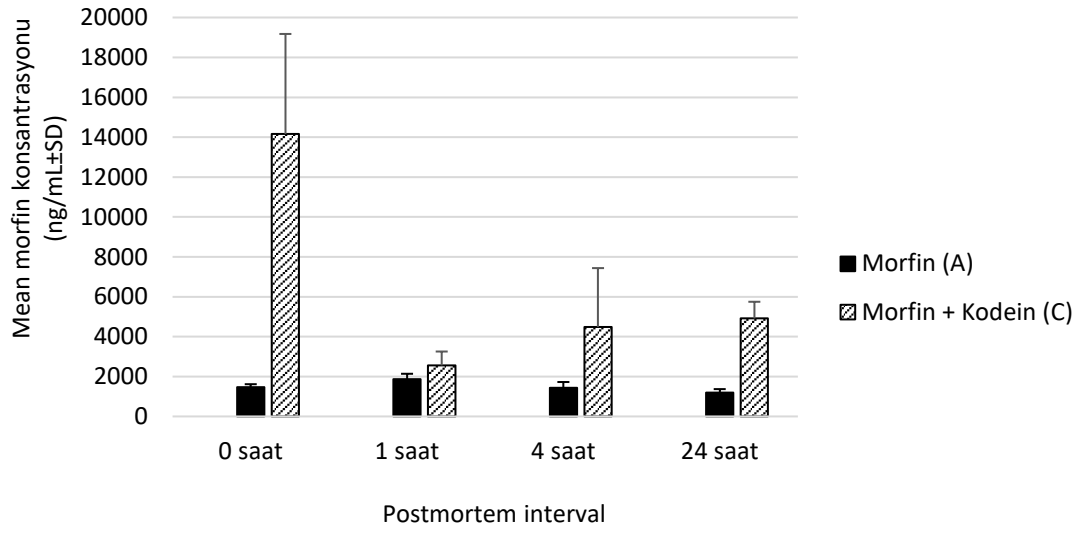
4.3. Morfin ve Kodein Kombinasyonunda Postmortem Yeniden Dağılım

4.3.1. Kodein uygulamasının Morfin'in PMR'sine Etkisi

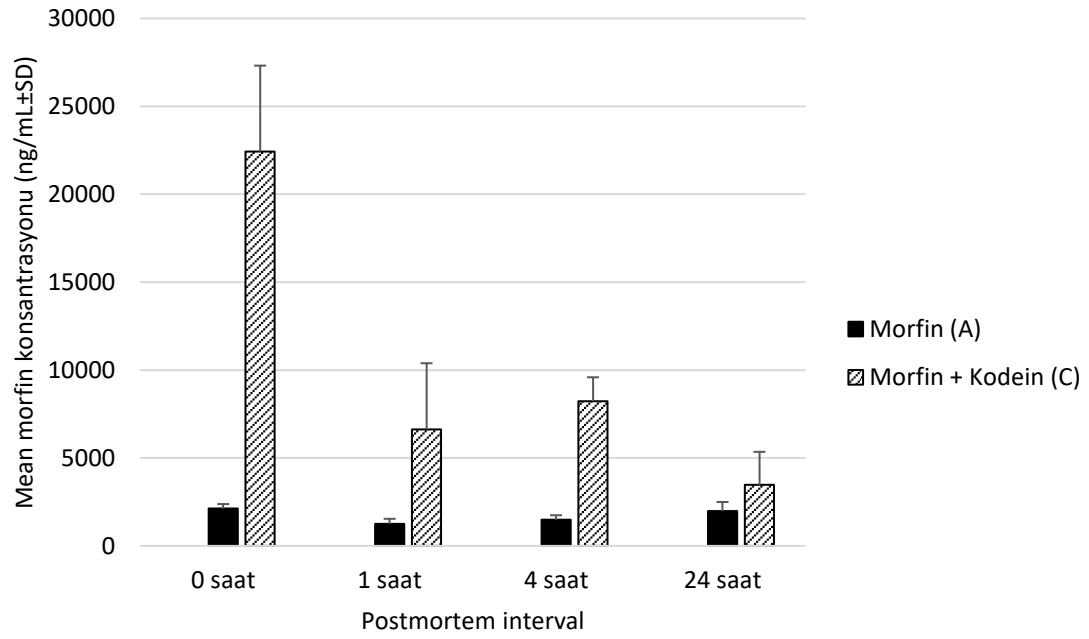
Morfin uygulanan (A) ve morfin ile birlikte kodein uygulanan (C) ratlardan alınan herbir örnekteki morfin konsantrasyonlarının postmortem intervale göre değişimi bu bölüme ait şekillerde (Şekil 4-12) görülmektedir. Kodeinin morfine dönüşümü, herbir postmortem intervaldeki morfin konsantrasyonlarının kıyaslanmasını sınırlamakla birlikte her iki gruptaki morfin konsantrasyonlarının zamana göre PMR'si değerlendirilebilmektedir. Buna göre kodein uygulamasının postmortem 24 saate göre sağ ve sol femoral kan, böbrek ve akciğer dokularındaki morfin seviyelerinde anlamlı bir değişim olmadığı gözlenmiştir.



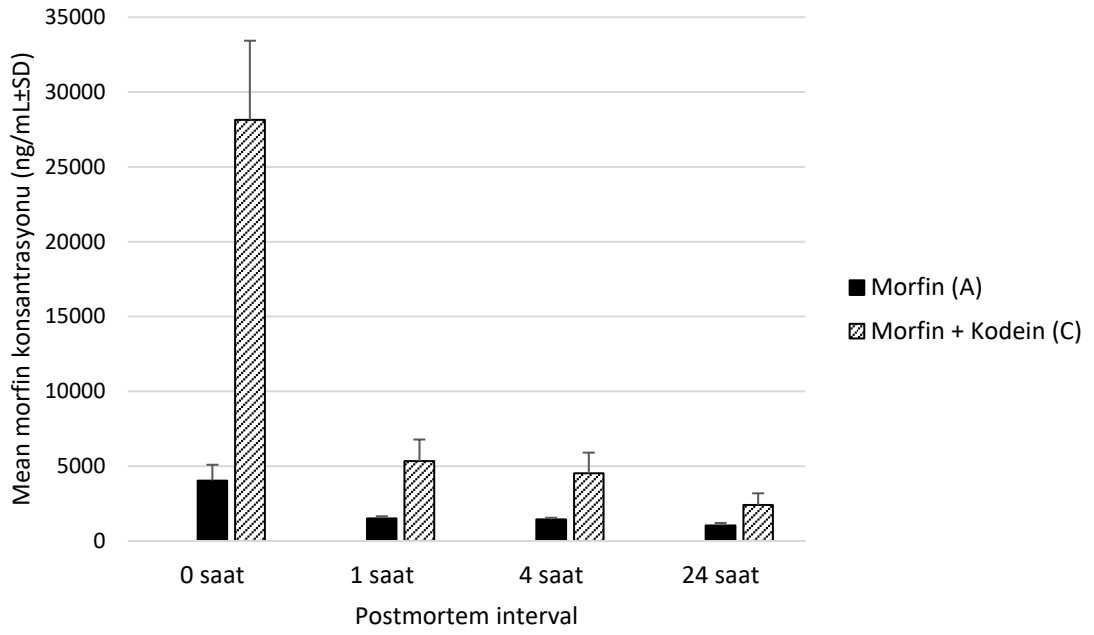
Şekil 4. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



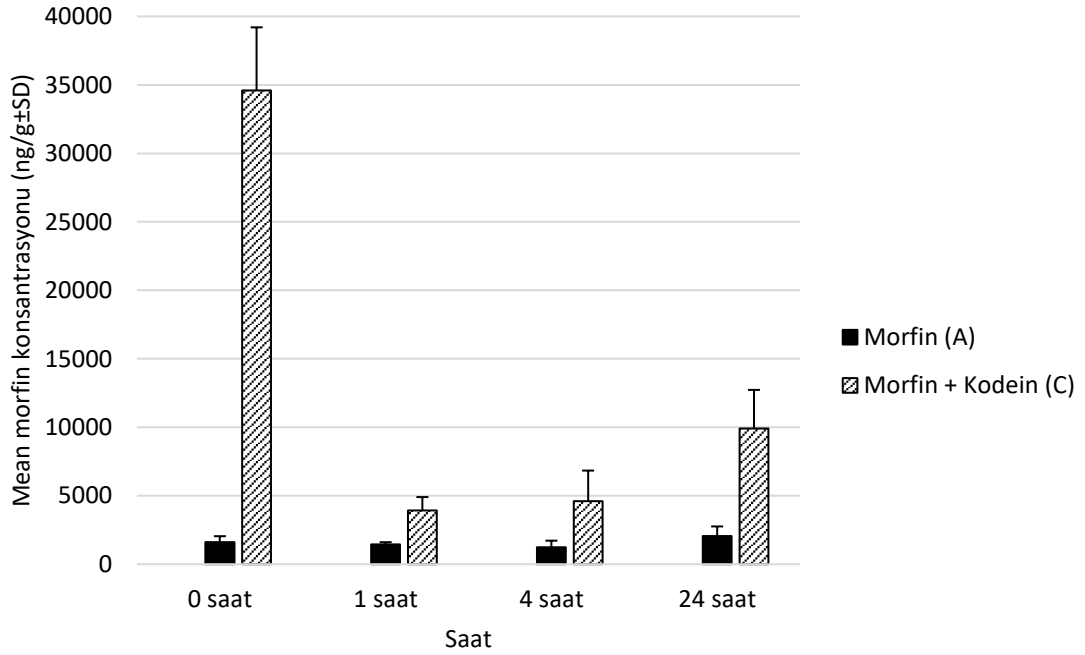
Şekil 5. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



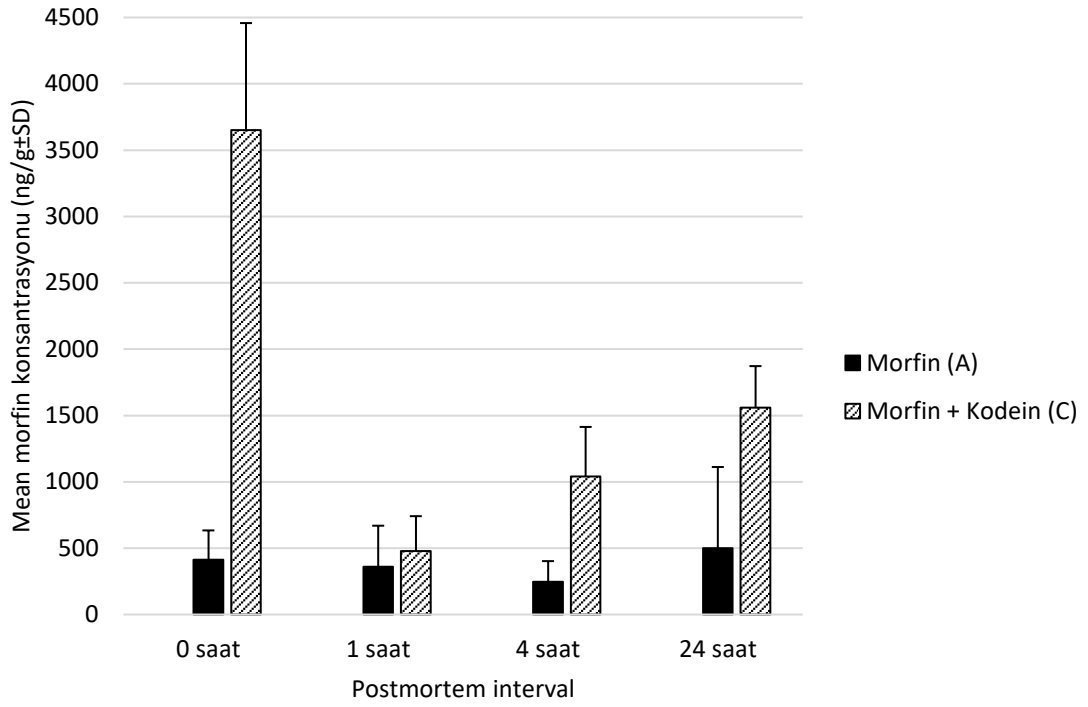
Şekil 6. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki morfinin PMR'sine etkisi.



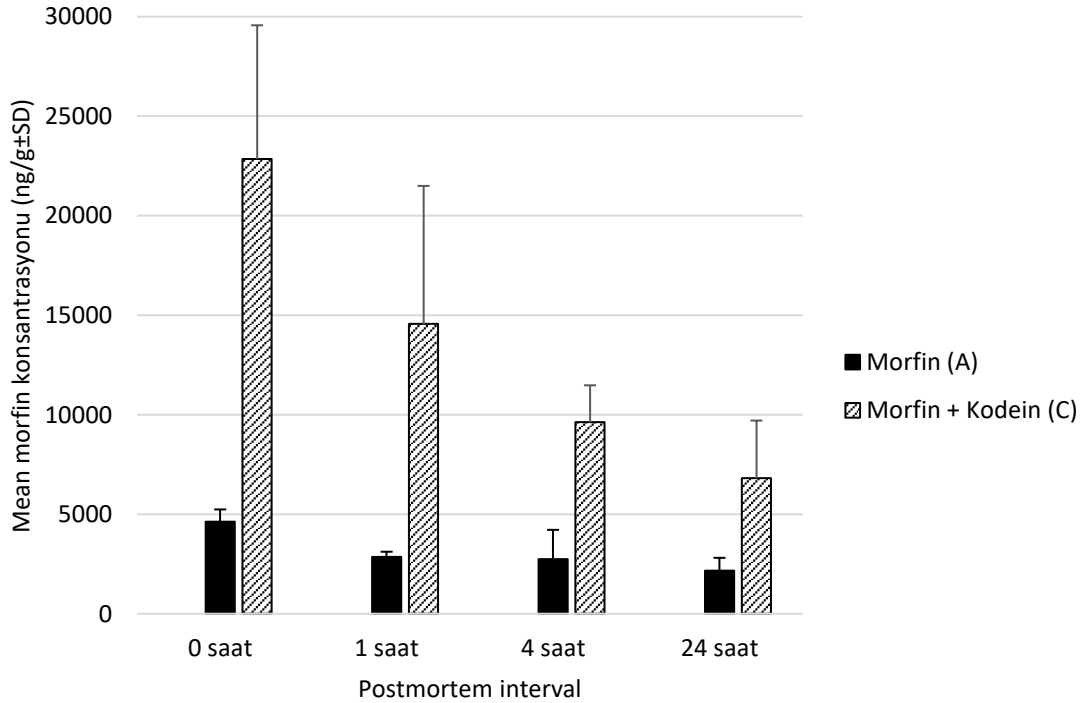
Şekil 7. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



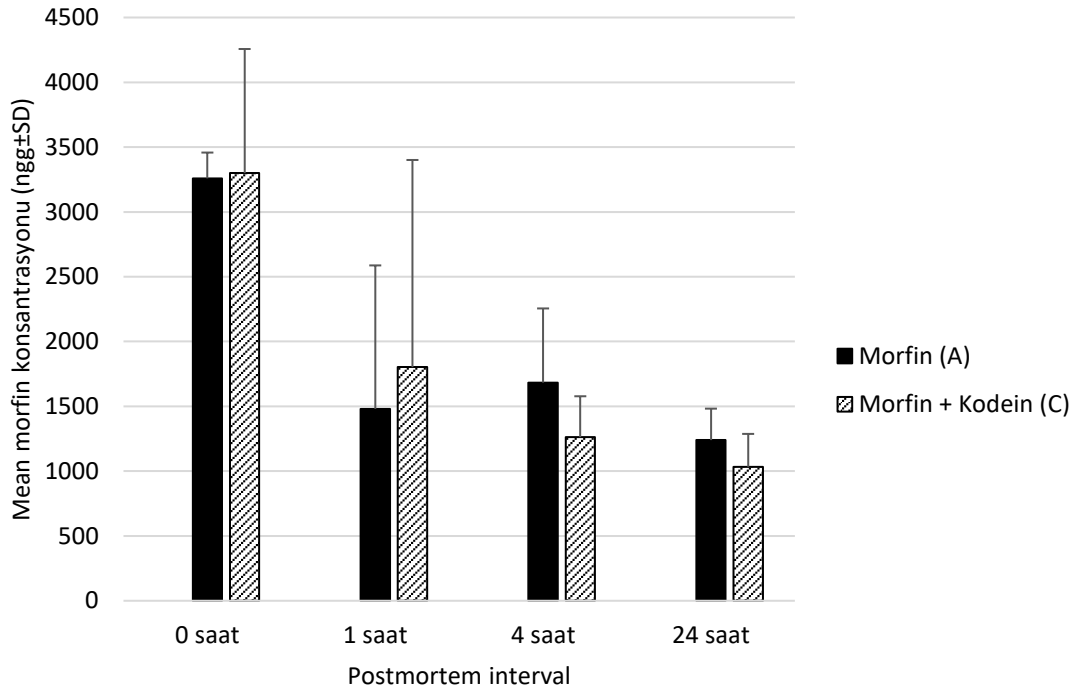
Şekil 8. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki morfin konsantrasyonuna etkisi.



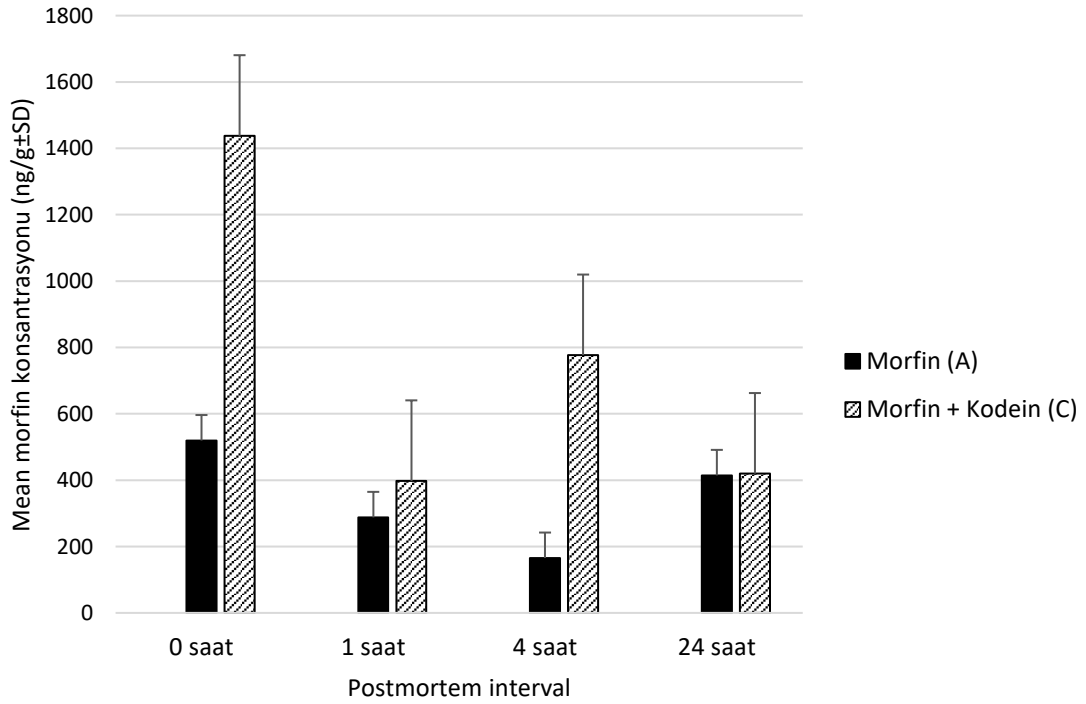
Şekil 9. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



Şekil 10. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



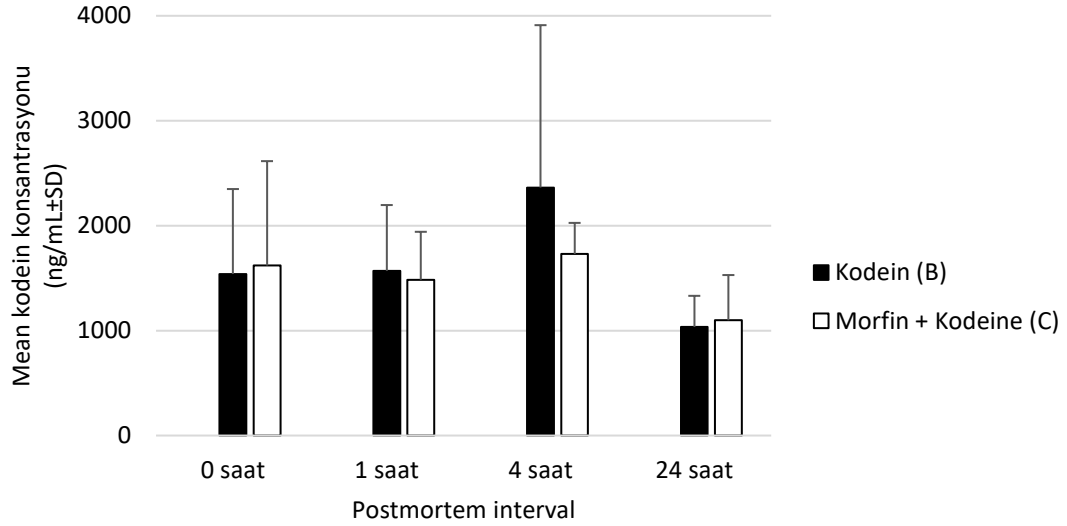
Şekil 11. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



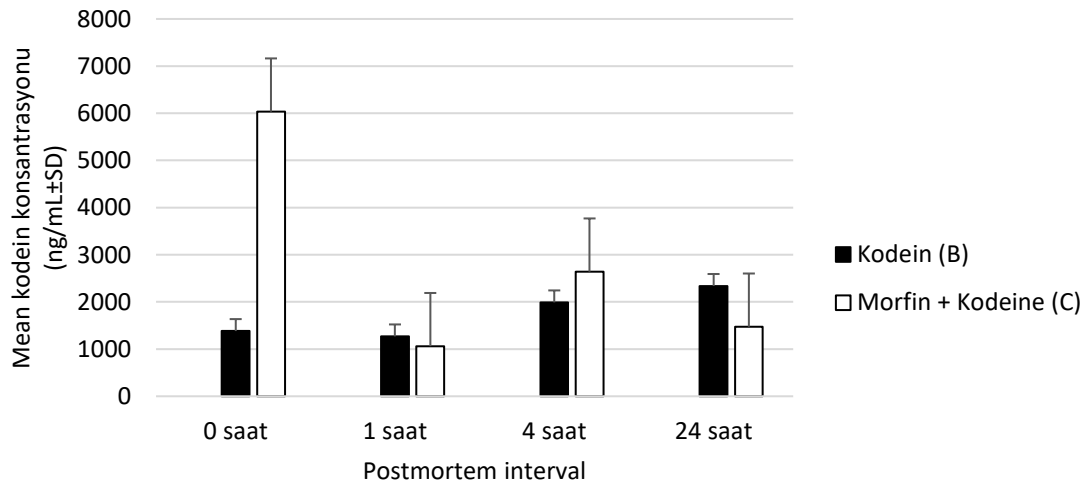
Şekil 12. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.

4.3.2. Morfin Uygulamasının Kodein ve Metabolitlerinin PMR'sine Etkisi

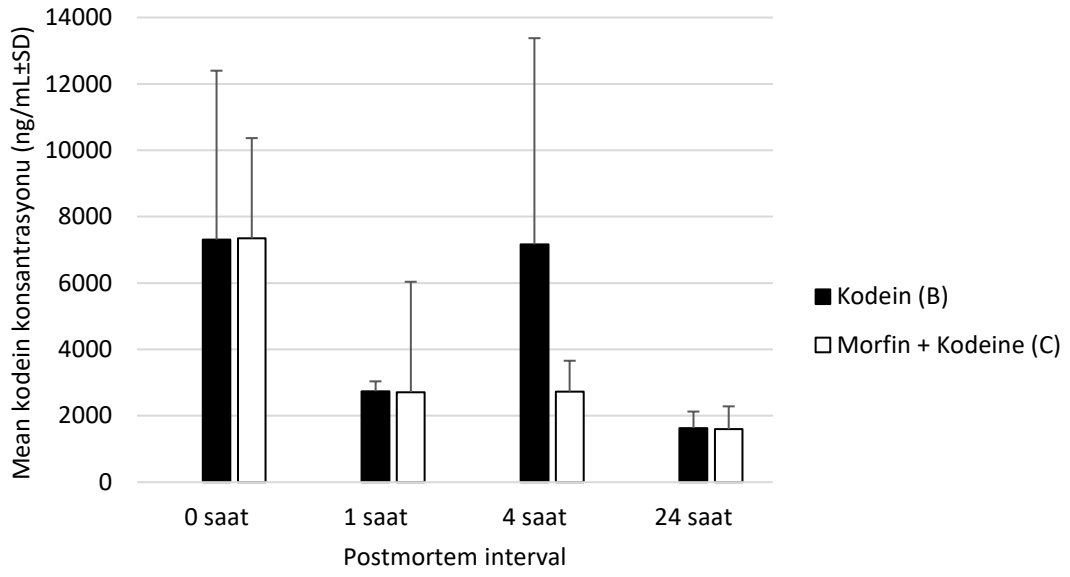
Kodein uygulanan (B) ve morfin ve kodeinin birlikte uygulandığı (C) hayvan gruplarından alınan her bir örneklerdeki kodein konsantrasyonlarının postmortem intervale göre kıyaslaması bu bölüme ait Şekil 13-21 arasındaki şekillerde gösterilmiştir.



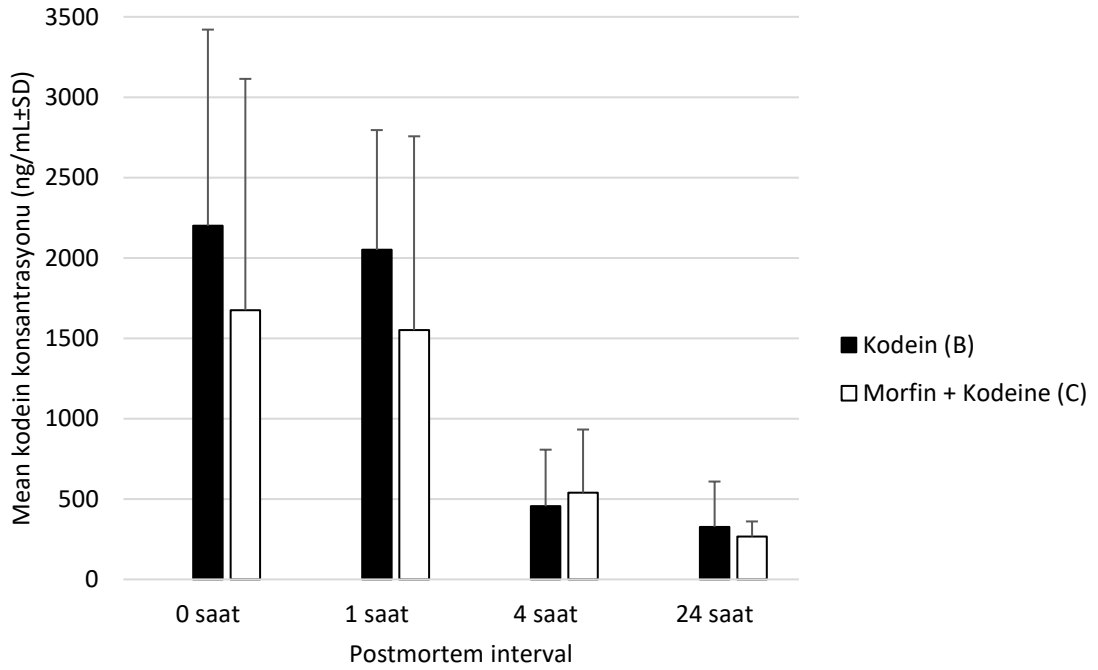
Şekil 13. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki kodein konsantrasyonuna etkisi.



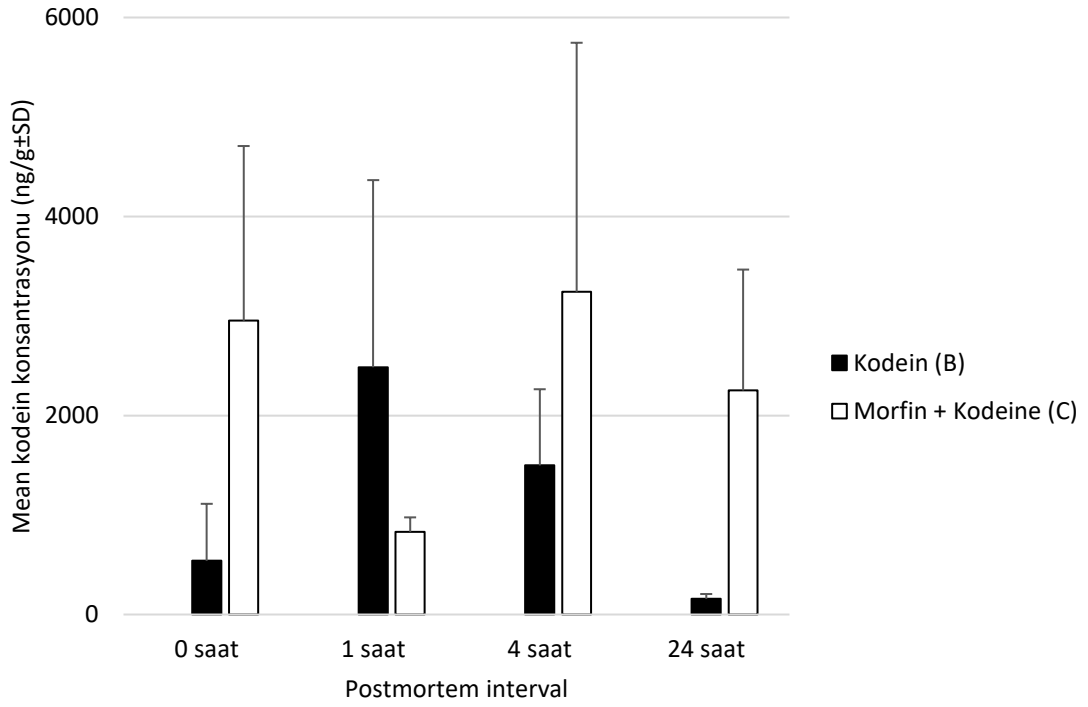
Şekil 14. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki kodein konsantrasyonuna etkisi.



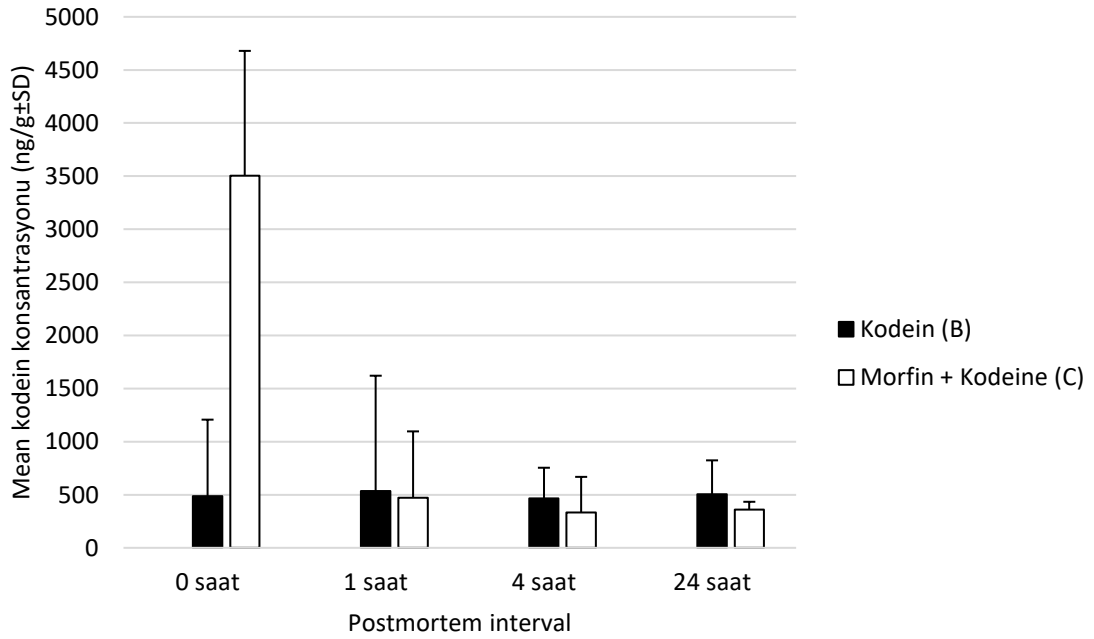
Şekil 15. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki kodein konsantrasyonuna etkisi.



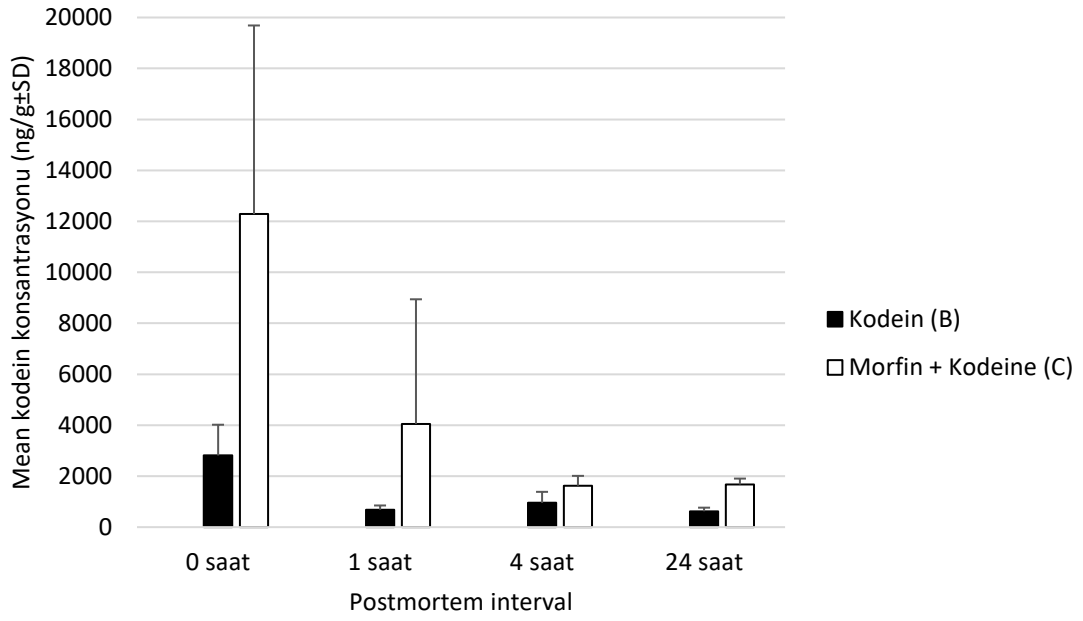
Şekil 16. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki kodein konsantrasyonuna etkisi.



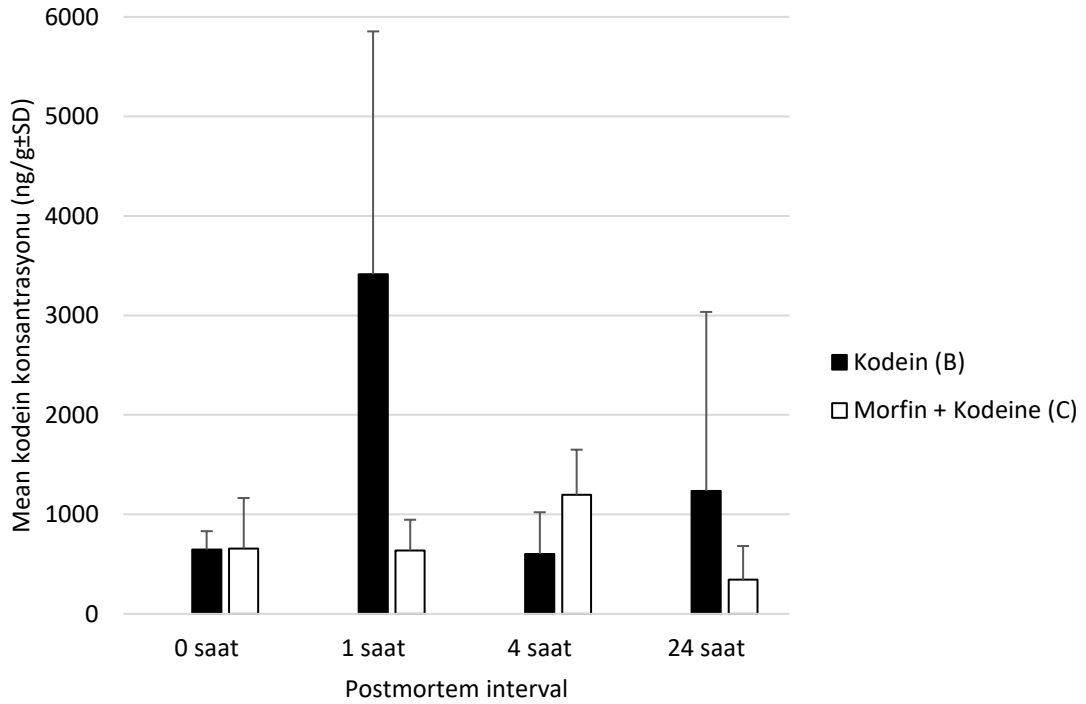
Şekil 17. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki kodein konsantrasyonuna etkisi.



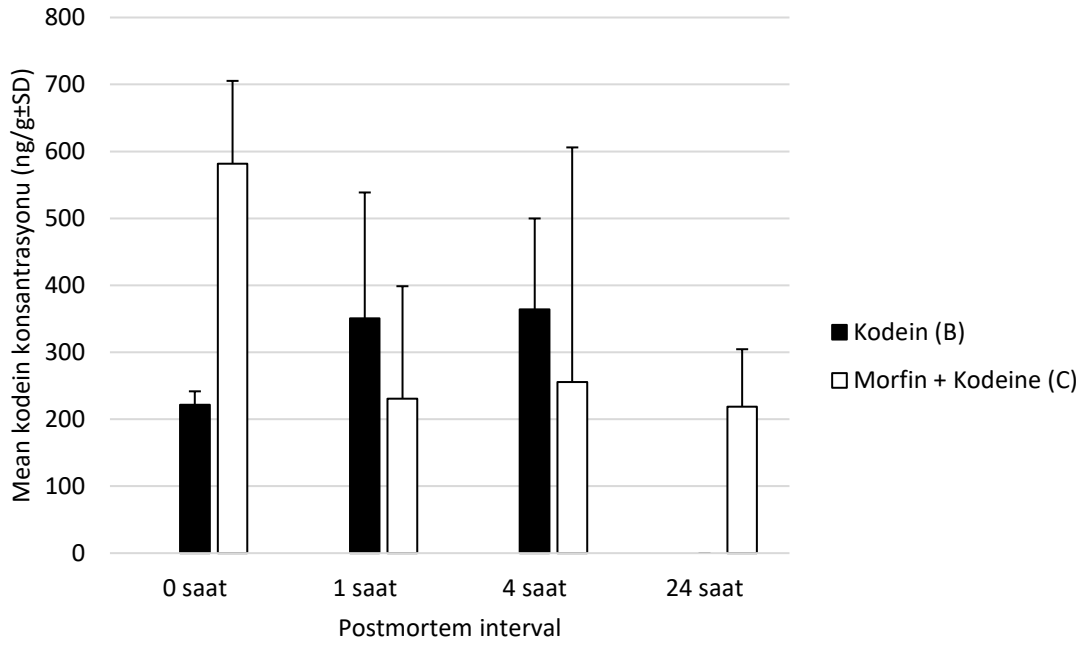
Şekil 18. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.



Şekil 19. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.



Şekil 20. Kodein ve Morfin kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.



Şekil 21. Kodein ve Morfin kombinasyonunun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki kodein konsantrasyonuna etkisi.

Tablo 11. Morfin + Kodein uygulanan hayvan gruplarında (C) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre K6G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).

K6G (C)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	131,65±23,27	144,64±20,44	132,69±8,97	4,16±7,21
Femoral kan (Sol)	578,87±176,85	137,78±79,0	158,14±48,78	2,61±5,23
Kalp kanı	144,56±31,83	150,27±28,17	156,57±83,05	104,45±67,51
Subklavyen kan	847,75±296,52	633,12±151,09	818,69±110,03	468,16±115,5
Karaciğer	432,96±104,94	332,47±91,8	276,27±31,33	552,82±107,76
Kalp	59,12±22,11	32,42±6,43	8,51±4,0	27,38±5,04
Böbrek	614,38±269,67	658,34±146,86	267,92±47,05	405,2±42,28
Akciğer	1715,65±240,68	414,97±221,85	223,06±90,94	302,17±305,62
Beyin	76,13±32,63	166,38±44,21	nd	nd

Tablo 12. Morfin + Kodein uygulanan hayvan gruplarında (C) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre norkodein konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).

Norkodein (C)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	290,70±190,86	97,16±16,57	69,76±23,66	33,88±8,72
Femoral kan (Sol)	383,29±199,89	104,05±42,42	79,60±20,25	54,12±21,78
Kalp kanı	335,15±208,00	64,20±19,70	103,60±45,97	82,58±53,65
Subklavyen kan	250,79±34,18	137,02±24,95	174,75±38,25	74,16±51,37
Karaciğer	218,36±60,92	85,87±21,84	312,74±194,19	190,48±116,63
Kalp	314,98±22,95	28,75±13,19	32,71±23,94	41,19±30,90
Böbrek	1007,99±297,53	584,24±184,75	107,30±48,00	281,74±52,24
Akciğer	716,48±474,20	200,37±49,00	73,41±55,34	66,08±32,99
Beyin	28,66±13,21	nd	nd	nd

4.4. Eroin ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımı

1 mg dozda eroin uygulanan hayvan gruplarındaki (D) morfin ve metaboliti M3G için PMR çalışmasının sonuçları Tablo 13 ve 14’de sırasıyla görülmektedir. M6G hiçbir matriste saptanamamıştır. Her bir postmortem matristeki postmortem intervale göre gözlenen konsantrasyon farklılıkları gruplar arası anlamlılık derecesine göre Games-Howell ve Tukey post-hoc analiziyle birlikte One-way ANOVA ile değerlendirildi. Bununla birlikte herbir posmortem intervalde postmortem matrislerdeki farklılıklar yine aynı istatistiksel testler uygulanarak değerlendirildi. En yüksek morfin konsantrasyonları böbrek ve akciğer dokularında gözlenmiştir. Subklavyen kandaki ve kalp dokusundaki morfin konsantrasyonlarındaa postmortem intervale göre anlamlı bir değişim gözlenmemiştir.

Tablo 13. Eroin uygulanan hayvan gruplarında (D) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre serbest morfin konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).

Morfin (D)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	53,70±7,68	94,35±12,45	63,27±7,44	23,27±6,07
Femoral kan (Sol)	22,98±7,78	25,52±8,74	28,35±10,30	*
Kalp kanı	19,35±1,71	38,80±8,85	22,83±7,79	49,96±10,16
Subklavyen kan	20,95±6,31	27,05±2,22	15,62±2,04	18,92±5,81
Karaciğer	345,2±72,73	551,9±88,74	295,5±35,43	282,94±34,04
Kalp	246,5±43,63	243,5±36,35	281,9±82,11	200,50±27,51
Böbrek	512,2±144,3	1678±303,84	1949±808,3	751,0±247,1
Akciğer	504,6±189,1	254,7±68,05	179,5±73,31	378,2±197,6
Beyin	150,2±39,15	159,0±34,14	307,3±386,8	120,8±32,81

* yetersiz örnekleme

Tablo 14. Eroin uygulanan hayvan gruplarında (D) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre M3G konsantrasyonları (kanda: ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).

M3G (D)	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	307,4±52,57	326,1±67,12	174,1±17,00	54,01±9,26
Femoral kan (Sol)	183,1±8,21	203,8±26,36	177,6±7,31	*
Kalp kanı	79,60±4,76	77,96±3,27	82,70±5,68	76,24±2,18
Subklavyen kan	170,9±11,07	177,4±3,23	115,6±18,13	94,81±7,83
Karaciğer	522,8±119,4	149,0±20,28	257,9±19,30	176,2±35,47
Kalp	57,04±8,68	46,98±10,36	67,02±49,79	114,3±18,96
Böbrek	1712±351,0	1333±154,3	575,7±167,93	758,7±237,7
Akciğer	73,89±24,50	56,87±15,73	159,0±38,86	193,1±73,36
Beyin	nd	nd	nd	nd

4.4.1. 6-MAM Sonuçları

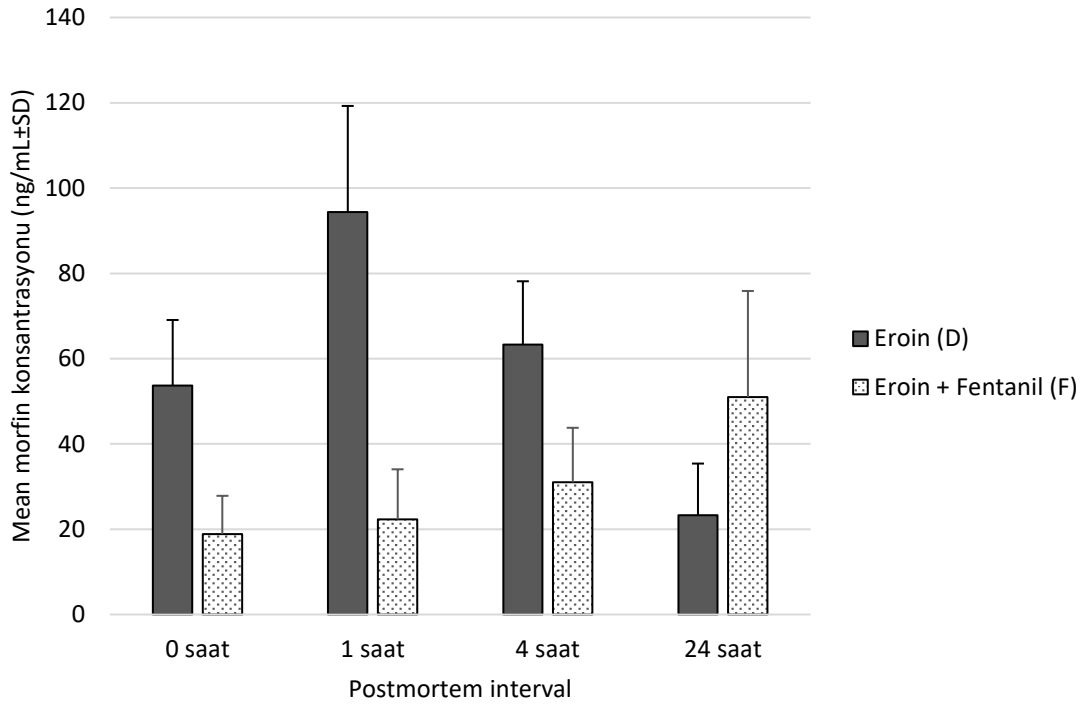
Tablo 15’de eroin (D), eroin+dekstrometorfan + parasetamol + kafein (E), eroin + fentanil (F) uygulanan hayvan gruplarında zamana ve biyolojik örneğe göre LOQ altında eser miktarda saptanan 6-MAM pozitifliğinin yüzde sıklığı verilmiştir. Fentanil uygulanan iki hayvanın ölüm anındaki (0. saat) sağ femoral kanında 5.2 – 7.4 ng/mL, beyinde 9.1 – 14.8 ng/g konsantrasyon aralığında 6-MAM saptanmıştır.

Tablo 15. Eroin uygulanan D, E ve F hayvan gruplarında zamana ve örneğe göre 6-MAM pozitif sonuçların yüzde sıklığı (n=4, %)

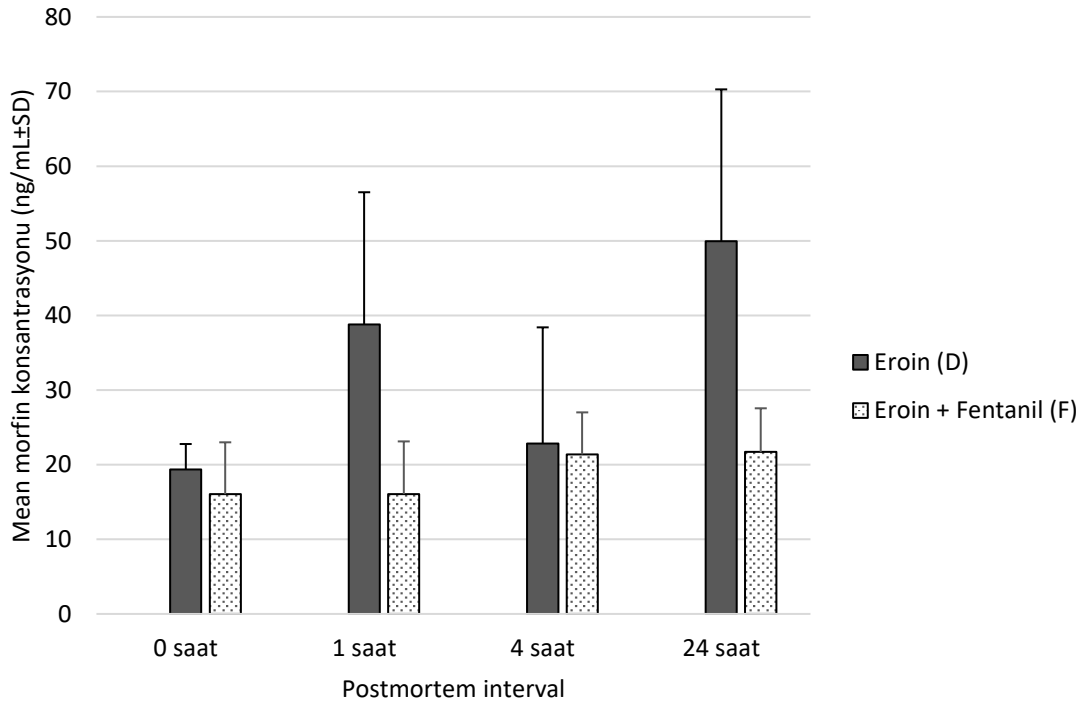
6-MAM	Postmortem interval											
	0 saat			1 saat			4 saat			24 saat		
	D	E	F	D	E	F	D	E	F	D	E	F
Femoral kan (Sağ)	100	100	75	75	75	100	50	100	100	100	100	75
Femoral kan (Sol)	100	100	100	75	75	100	75	100	75	100	75	100
Kalp kanı	75	50	75	75	75	75	50	25	50	50	25	0
Subklavyen kan	75	75	50	75	75	75	75	50	50	75	50	75
Karaciğer	50	25	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kalp	25	50	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Böbrek	75	100	100	25	50	25	100	75	75	75	50	75
Akciğer	75	50	50	50	25	50	75	50	50	50	25	25
Beyin	75	75	75	75	25	75	25	50	100	50	50	100

4.5. Fentanilin Eroinin Postmortem Yeniden Dağılımına Etkisi

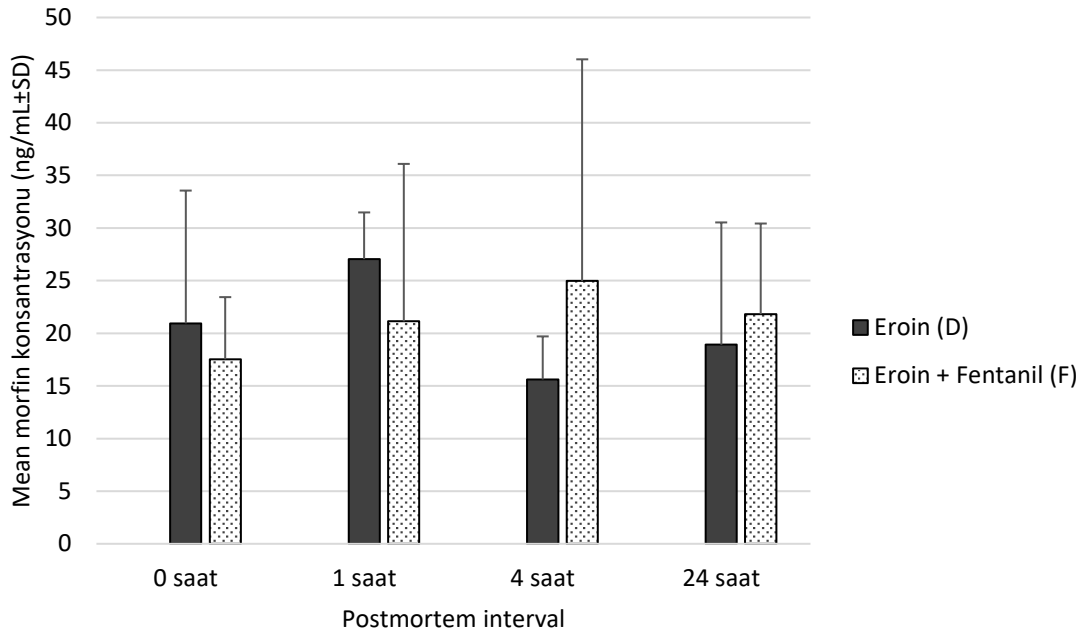
Eroin uygulanan (D) ve eroinin adulteranı olarak fentanilin birlikte uygulandığı (F) hayvan gruplarından alınan her bir örnekteki morfin konsantrasyonlarının postmortem intervale göre kıyaslaması bu bölüme ait Şekil 22 ve Şekil 30 arasındaki tüm şekillerde gösterilmiştir.



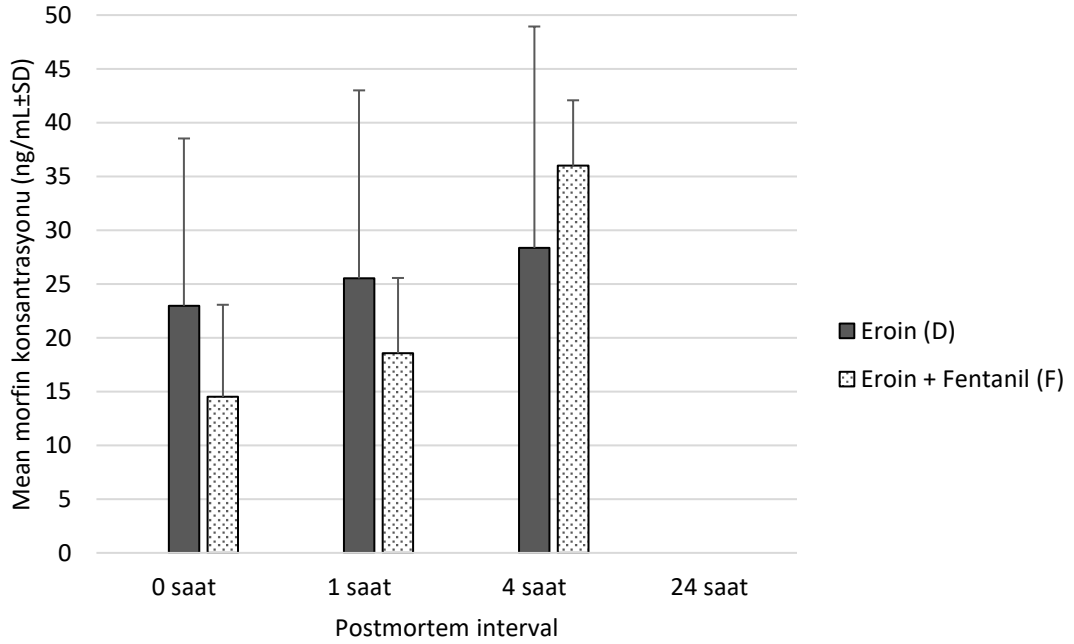
Şekil 22. Erosin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



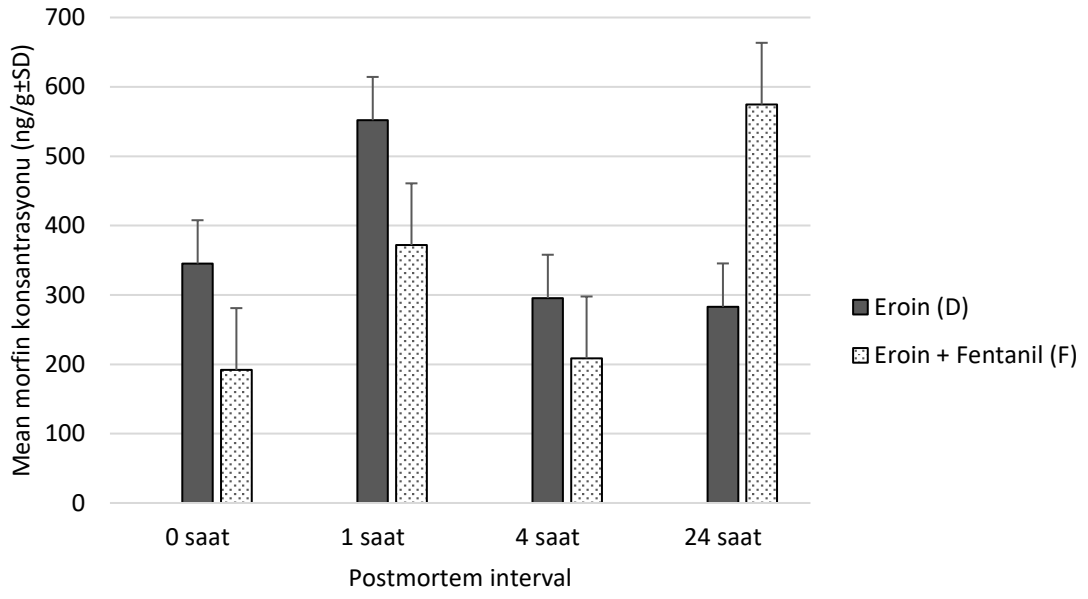
Şekil 23. Erosin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



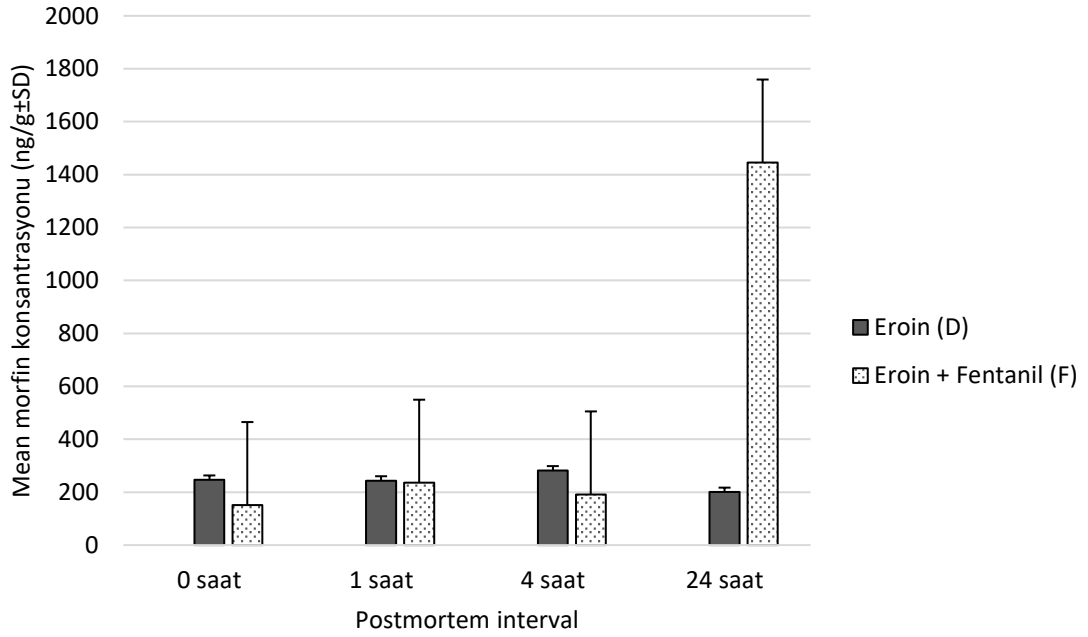
Şekil 24. Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



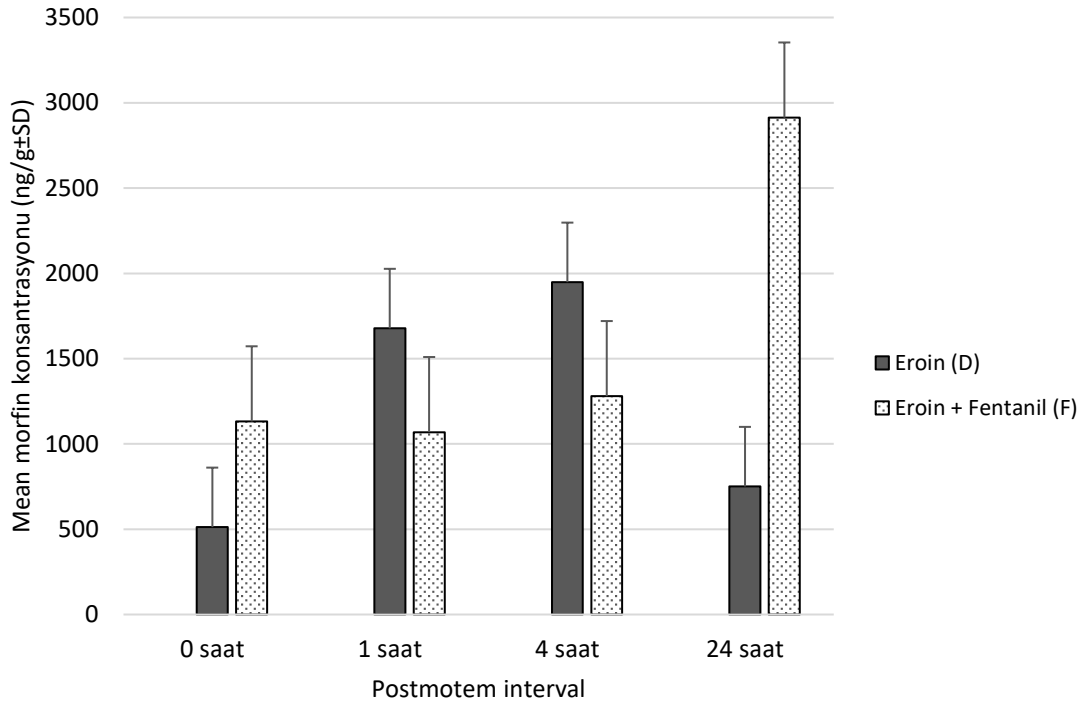
Şekil 25. Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



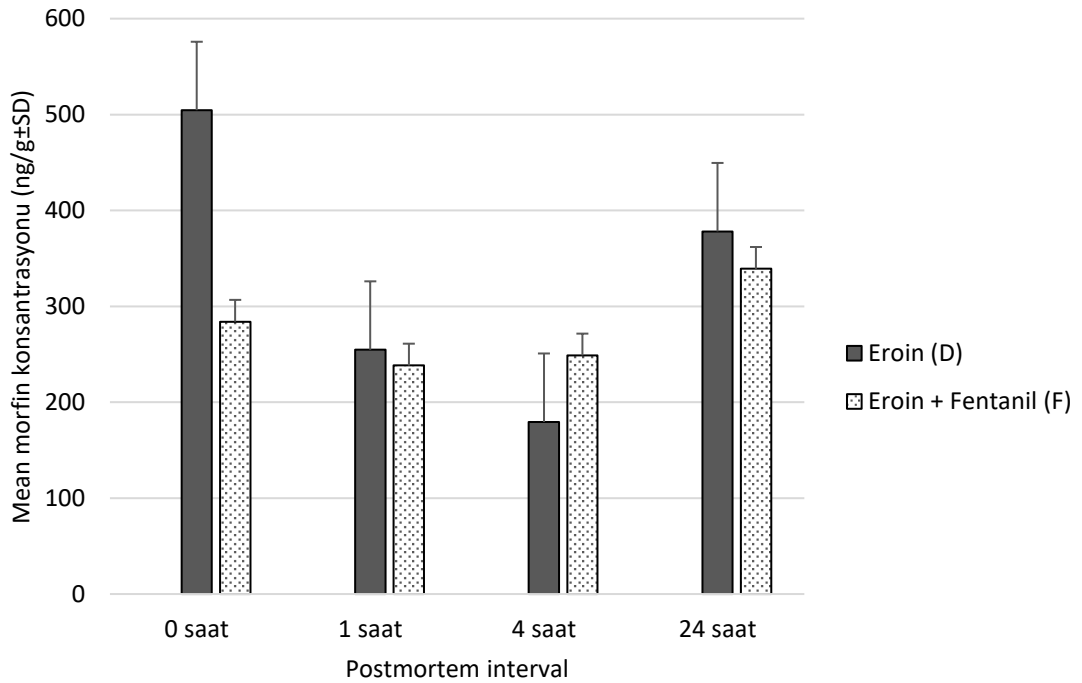
Şekil 26. Eroi ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki morfin konsantrasyonuna etkisi.



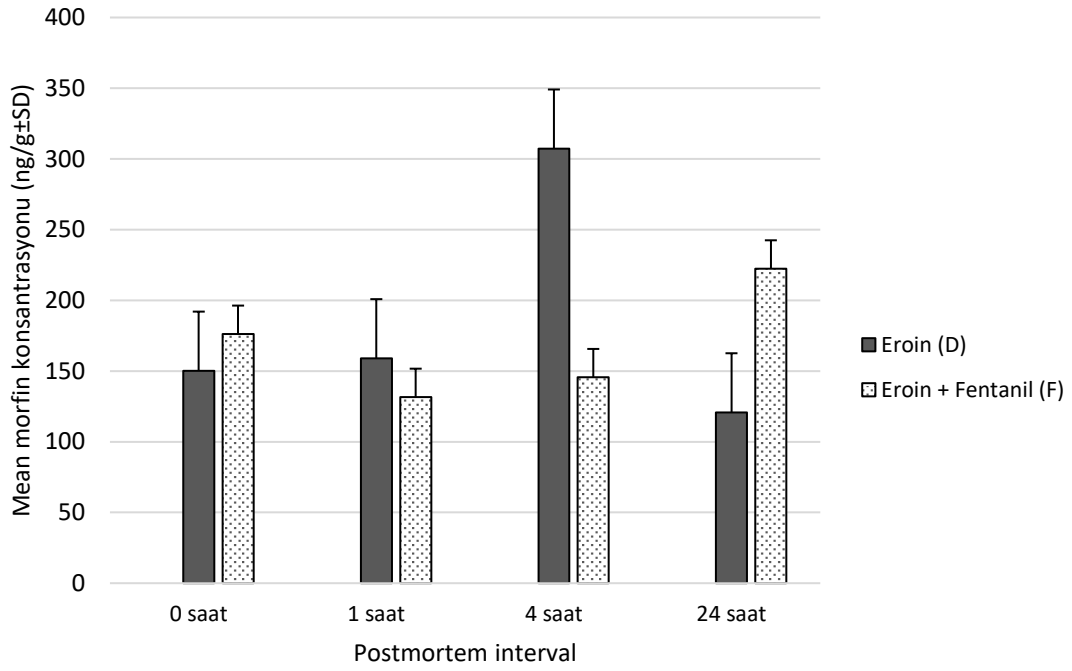
Şekil 27. Eroi ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



Şekil 28. Erosin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



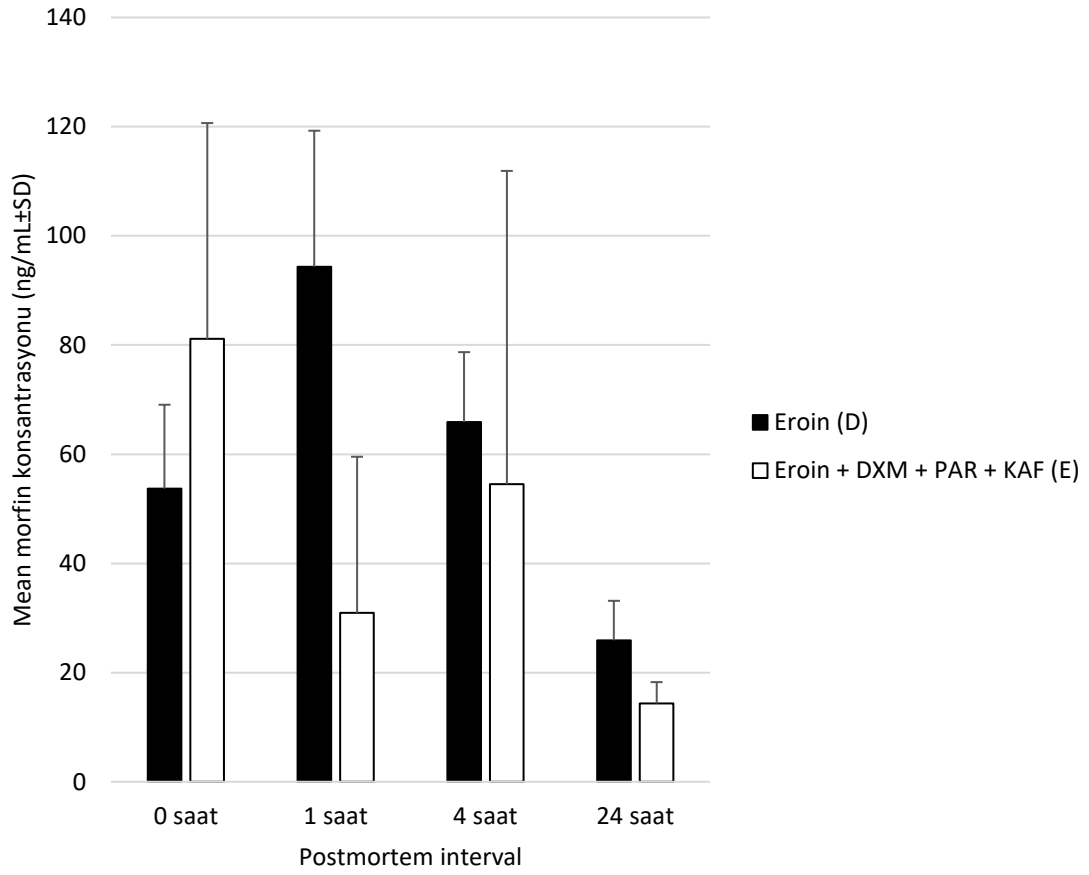
Şekil 29. Erosin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



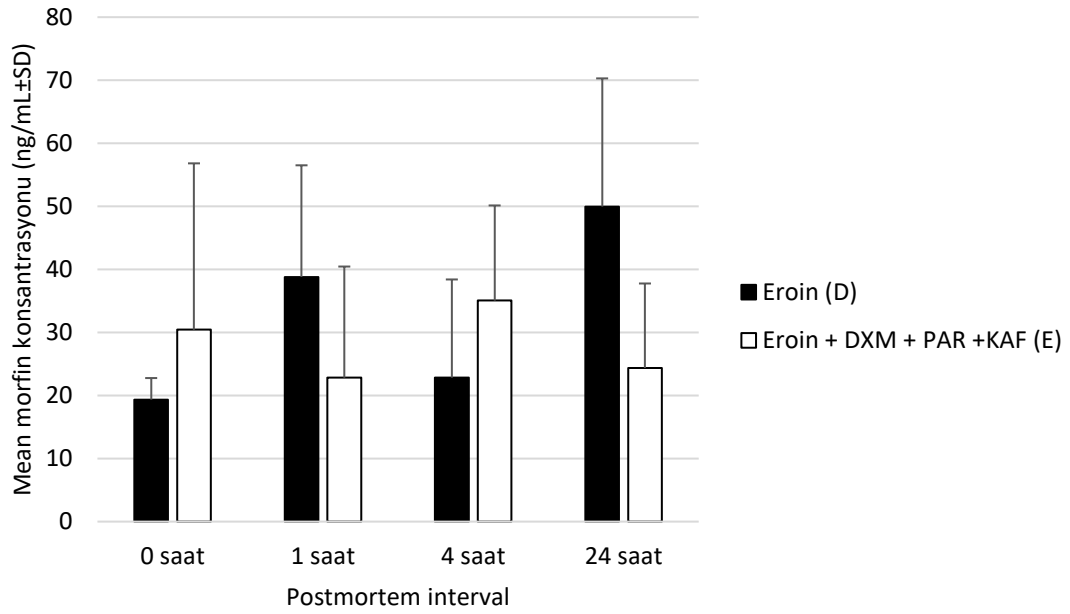
Şekil 30. Eroin ve eroin-fentanil kombinasyonun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.

4.6. Dekstrometorfan-Parasetamol-Kafein Kombinasyonunun Eroin ve Metabolitlerinin Postmortem Yeniden Dağılımına Etkisi

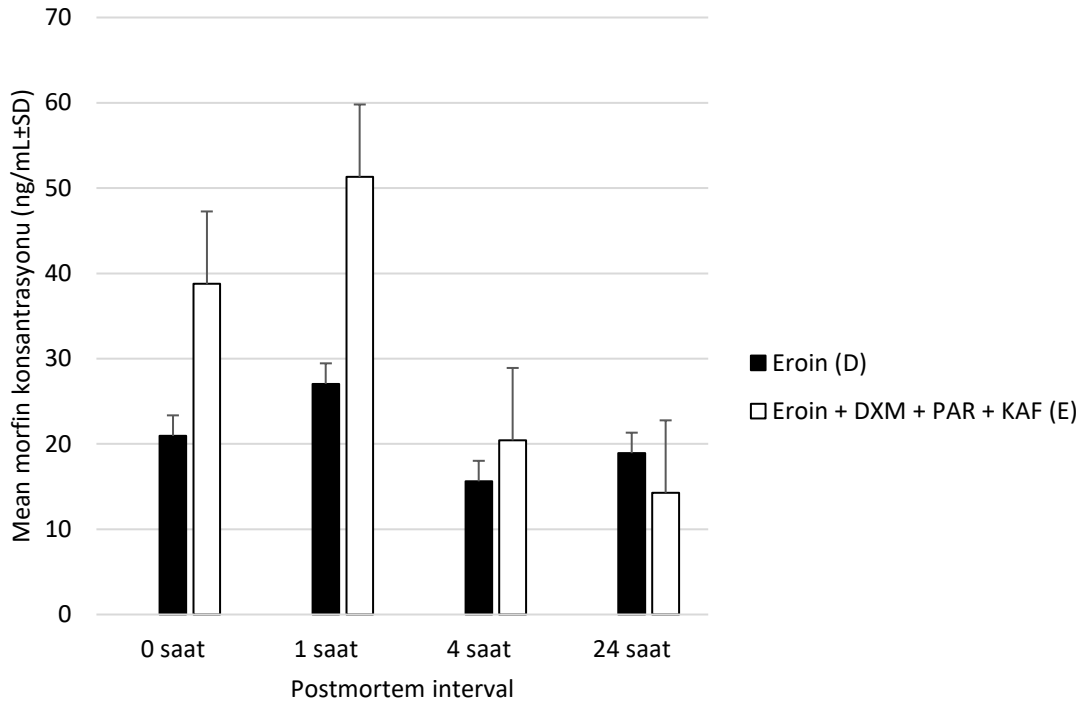
Eroin uygulanan (D) ve eroinin adulteranları olarak dekstrometorfan-parasetamol-kafeinin birlikte uygulandığı (E) hayvan gruplarından alınan her bir örneklerdeki morfin konsantrasyonlarının postmortem intervale göre kıyaslaması bu bölüme ait Şekil 31 ve Şekil 39 arasındaki şekillerde gösterilmiştir.



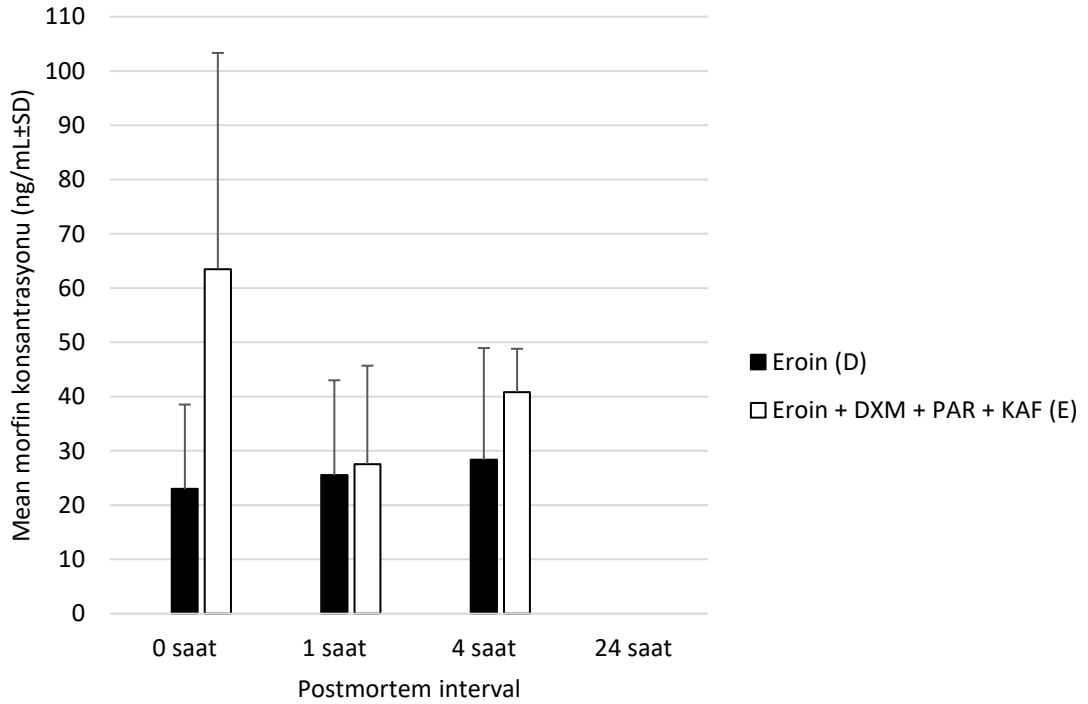
Şekil 31. Eroid ve eroid-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının sağ femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



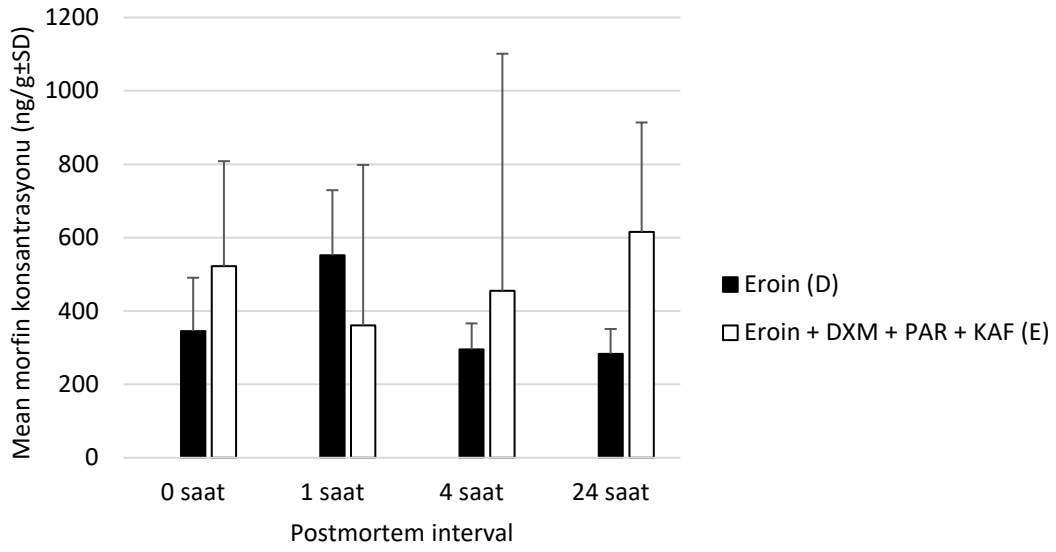
Şekil 32. Eroid ve eroid-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp kanındaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



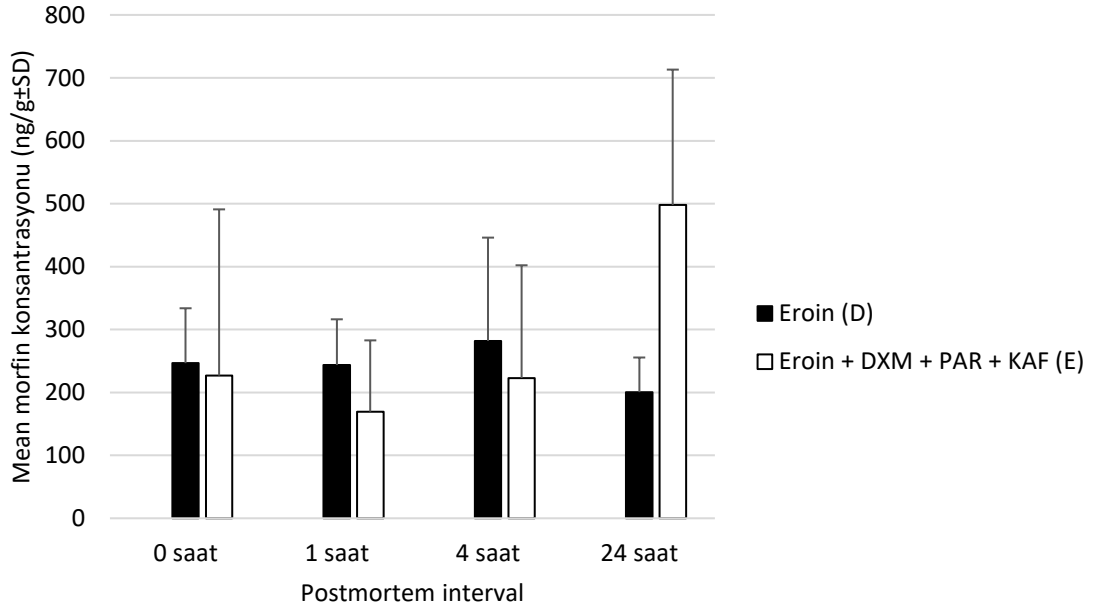
Şekil 33. Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının subklavyen kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



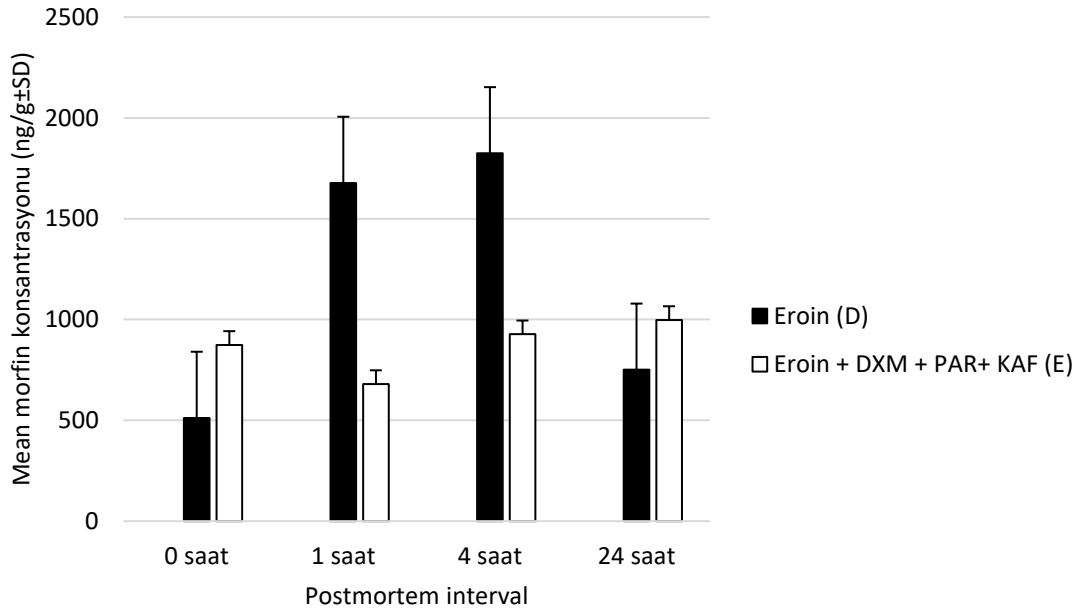
Şekil 34. Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının sol femoral kandaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



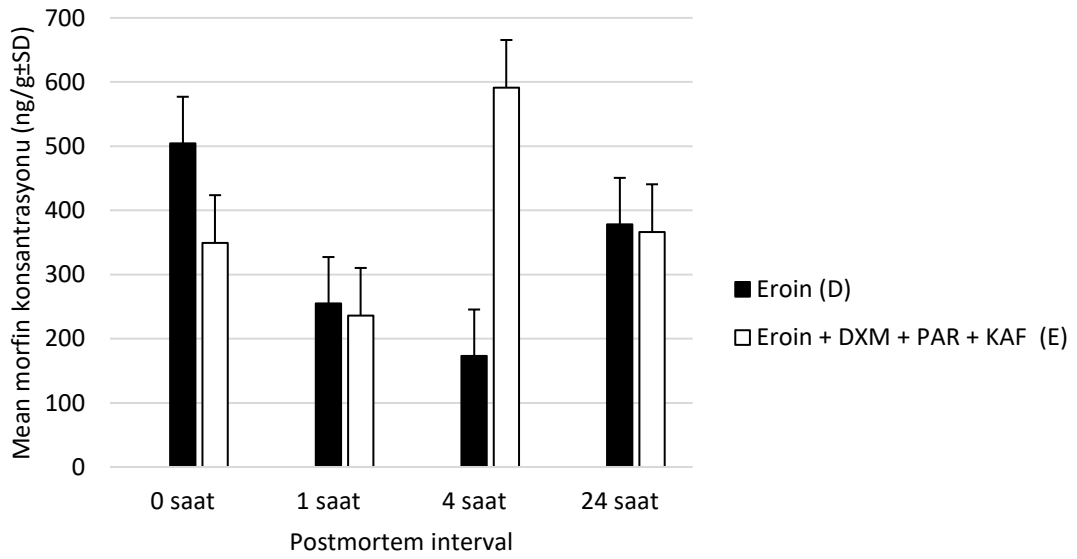
Şekil 35. Eroin ve eroin-dekstometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının karaciğerdeki morfin konsantrasyonuna etkisi.



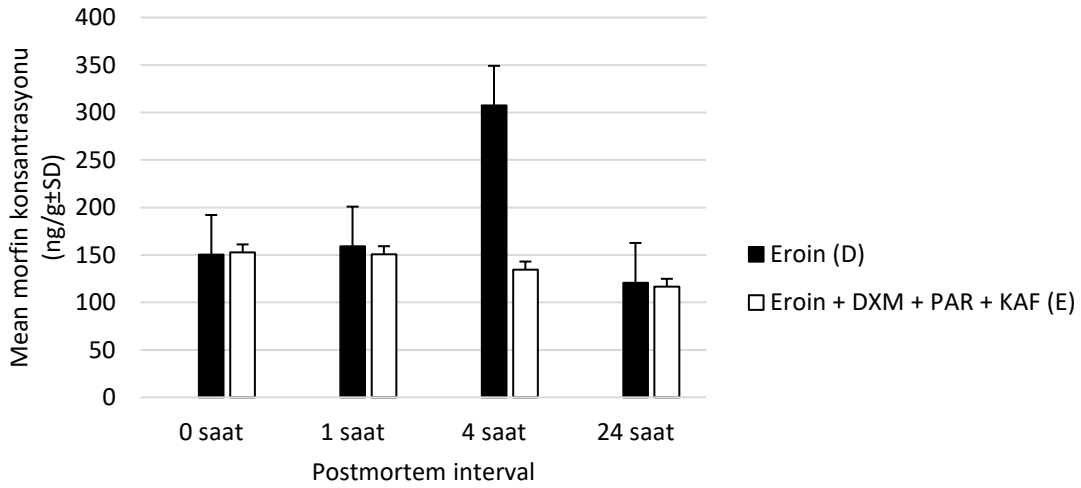
Şekil 36. Eroin ve eroin-dekstometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının kalp dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



Şekil 37. Erosin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının böbrek dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



Şekil 38. Erosin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının akciğer dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.



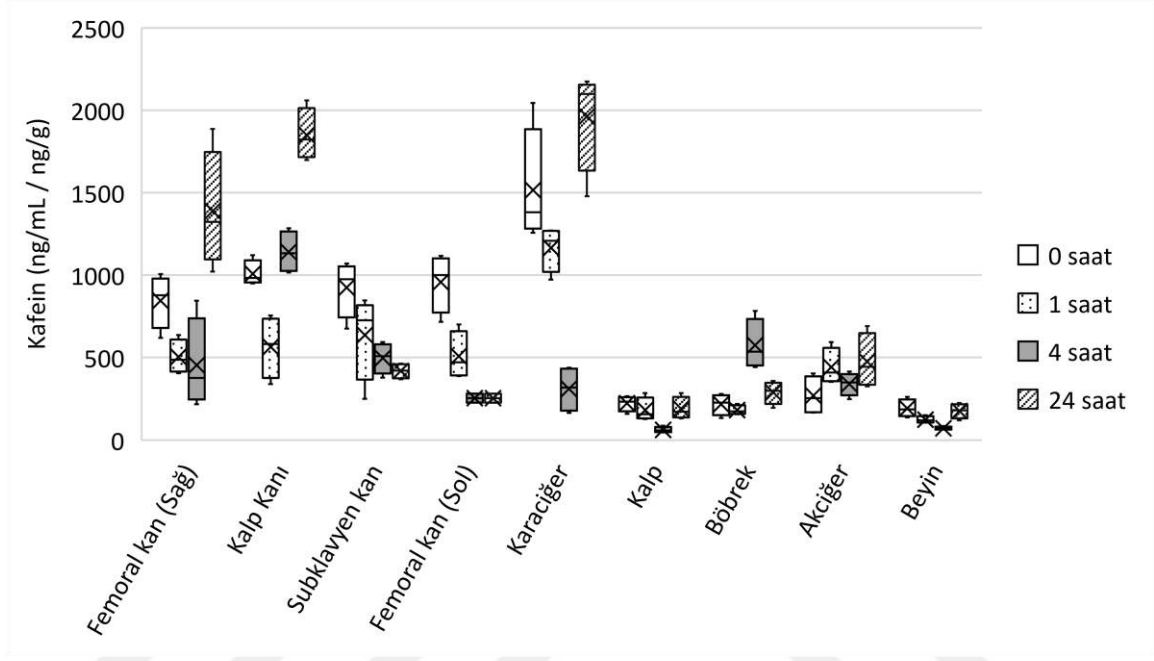
Şekil 39. Eroin ve eroin-dekstrometorfan-parasetamol-kafein kombinasyonun birlikte uygulanmasının beyin dokusundaki morfin konsantrasyonuna etkisi.

Eroin'in adulteranı olarak kafein ve parasetamol ile birlikte uygulanan dekstrometorfanın zaman göre PMR'si Tablo 16'da görülmektedir. Akciğer, beyin ve böbrekte diğer biyolojik örneklerle göre daha yüksek dekstrometorfan konsantrasyonları gözlenmiştir.

Tablo 16. Eroinin adulteranı olarak uygulanan dekstrometorfanın (E) örnekleme yeri ve postmortem intervale göre konsantrasyonları (kanda:ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).

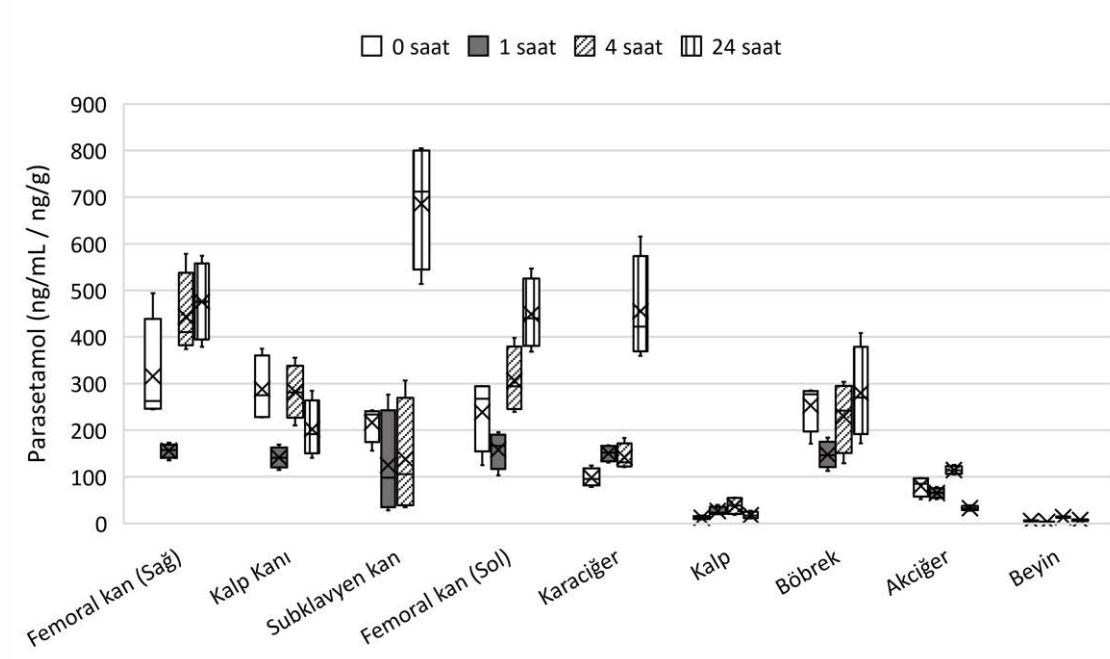
Dekstrometorfan	Postmortem interval			
	0 saat	1 saat	4 saat	24 saat
Femoral kan (Sağ)	98,44±9,03	54,80±12,29	57,55±13,13	48,42±6,65
Femoral kan (Sol)	93,73±20,92	70,67±19,01	28,83±8,34	27,89±11,89
Kalp kanı	159,5±22,60	168,5±43,22	282,5±50,85	316,2±104,9
Subklavyen kan	145,1±21,65	82,83±8,58	147,9±49,34	305,2±67,69
Karaciğer	626,5±83,81	849,7±59,49	1169±138,5	701,3±34,83
Kalp	1513±218,1	1311±180,1	1305±206,4	1855±156,4
Böbrek	5031,3±760,02	4062±721,6	4562±1155	5879±910,7
Akciğer	13812±2838,2	7974±2049	7803,2±1682	10705±841,69
Beyin	3640±547,5	2193±339,0	2932±904,4	2463±410,6

Eroin'in adulteranı olarak dekstrometorfan ve parasetamol ile birlikte uygulanan kafeinin zaman göre PMR'si Şekil 40'da görülmektedir. Kalp, akciğer, böbrek ve beyinde diğer biyolojik örneklerle göre daha düşük kafein konsantrasyonları gözlenmiştir.



Şekil 40. Kafeinin biyolojik örneklerdeki postmortem intervale göre konsantrasyonları (kanda:ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).

Eroin'in adulteranı olarak dekstrometorfan ve kafein ile birlikte uygulanan parasetamolün toplanan biyolojik örneklerle ve postmortem intervale göre PMR'si Şekil 41'de görülmektedir. Kalp, akciğer ve beyinde diğer biyolojik örneklerle göre daha düşük parasetamol konsantrasyonları gözlenmiştir.



Şekil 41. Parasetamolün biyolojik örneklerdeki postmortem intervale göre konsantrasyonları (kanda:ng/mL±SD, dokuda: ng/g±SD).

4.7. Stabilité Sonuçları

Kontrol grubundan K2 EDTA (etilendiamin tetraasetikasit)'lı tüplere toplanan 1 mL kan örneklerine 100 ng/mL konsantrasyonda analiz edilen tüm maddelerin karışımı spike edilmiş ve 5'er tekrarlı olarak (n=5) kontrol örnekleri hazırlanmıştır. Bu örnekler 4 ve 24 saatlik periyotlarda çalışmanın gerçekleştirildiği oda sıcaklığında (25±5 °C)'de bekletilerek çalışmada kullanılan metot ile analiz edilmiştir. Stabilité sonuçları Tablo 17'de görülmektedir.

Tablo 17. 100 ng/mL konsantrasyondaki analitlerin postmortem kandaki stabilite sonuçları (mean % $\pm$ SD)

Analit	4 saat (% mean $\pm$SD)	24 saat (% mean $\pm$SD)
Morfin	99.9 $\pm$ 2.18	99.4 $\pm$ 0.61
Morfin-3- β -glukuronid	98.7 $\pm$ 2.00	97.4 $\pm$ 0.57
Morfin-6- β -glukuronid	100.4 $\pm$ 2.41	100.0 $\pm$ 1.24
Kodein	100.5 $\pm$ 0.94	100.2 $\pm$ 1.07
Norkodein	99.1 $\pm$ 1.64	99.9 $\pm$ 1.00
Kodein-6- β -glukuronid	99.8 $\pm$ 1.74	98.2 $\pm$ 0.91
Eroin	98.2 $\pm$ 2.55	97.3 $\pm$ 0.80
6-MAM	97.1 $\pm$ 0.74	94.2 $\pm$ 0.36
Fentanil	99.7 $\pm$ 1.63	97.8 $\pm$ 1.41
Norfentanil	100.1 $\pm$ 2.32	99.0 $\pm$ 0.98
Dekstrometorfan	98.9 $\pm$ 1.71	98.8 $\pm$ 0.91
Kafein	100.4 $\pm$ 0.39	99.4 $\pm$ 2.12
Parasetamol	99.2 $\pm$ 1.32	99.8 $\pm$ 1.12

5. TARTIŞMA

Otopsi yapılacak cesetler otopsi yapılana kadar soğutucu dolaplarda bekletilir. Ceset teslim alındıktan sonra otopsi için 24 saat veya daha uzun bir süre bekletilebilir. PMR, postmortem toksikolojide iyi tanımlanmış bir olgudur ve ölümden sonraki ilk 24 saat içinde meydana geldiği gösterilmiştir. PMR, çoğu ilaç için önemli olsa da ilaç konsantrasyonlarının kronik ağrısı olan hastalar ile opioid kullanmamış hastalar arasında tolerans nedeniyle büyük oranda değişebildiği durumlarda opioidler/opiatlar için daha da önemli olmaktadır. Bir ilacın özelliklerinin (dağılım hacmi, lipofilite ve pKa) ilaç PMR'sine büyük ölçüde katkıda bulunduğu literatürde ayrıntılı olarak bilinmektedir. Literatürde bazık, yüksek oranda lipofilik ve 3 L/kg'dan büyük dağılım hacmi olan ilaçların PMR'ye uğrayacağı belirtilmektedir^{5,12,143,144,148}. Fakat özellikle opioidler için ilaç-ilac etkileşimi gibi faktörler PMR açısından incelenmemiştir. PMR varlığı için birden fazla ilacın tanımlandığı olgularda insan otopsi örnekleri çalışılmış^{29,144,158}, ancak ilaçların birbirlerini etkileme olasılıklarına göre değil ilaç özelliklerine göre değerlendirilmiştir. Vücudun koşulları, ilaç özellikleri, örnekleme bölgesi, ilaç-ilac etkileşimi ve ölü kişinin demografik bilgileri, bir otopsi numunesi üzerinde gerçekleştirilen bir toksikoloji sonucunun doğru yorumlanmasında dikkate alınması gereken önemli faktörlerdir. Eksternal veya bilinmeyen faktörler olmadan, yukarıda anılan faktörler ile postmortem redistribüsyon arasındaki ilişkileri gözlemlemek ve değerlendirmek için kontrollü çalışma ortamı gereklidir. Bu yüzden doz, uygulama yolu, zaman, mekân, cesedin pozisyonu, kombinasyondaki ilaçların varlığı gibi faktörlerin kontrol edilebildiği hayvansal çalışmalar, otopsi numunelerden elde edilen verilere göre olası senaryolarda daha açık gözlemlenebilir ve aydınlatılabilir veriler sağlayabilmektedir.

Stabilite sonuçları değerlendirildiğinde 4. ve 24. saatlik numunelerde önemli bir değişim olmadığı görülmüştür. Bu çalışmadaki tüm opioid ilaç ve metabolitlerinin oda sıcaklığındaki 24 saatlik stabilitesinin değerlendirildiği Al-Asmari ve Anderson tarafından yapılan çalışmada 6-MAM haricindeki tüm maddelerde önemli bir değişim olmadığı gözlenmiş, 6-MAM'da %15'den daha az bozunma olduğu görülmüştür¹⁵⁹. Bizim çalışmamızda, 6-MAM'daki oda sıcaklığındaki 24 saatlik bozunma yüzdesi % 5.8 ± 0.36 (mean $\pm$ SD)'dır (Tablo 17).

Bu çalışmada, örnekleme yeri, postmortem interval, ilaç-ilaç etkileşimi ile bu faktörlerin eroin ve metabolitleri, morfin ve metabolitleri ve kodein ve metabolitlerinin PMR'si üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Aşağıda, çalışmada hedeflenen her bir amaca yönelik elde edilen sonuçlar başlıklar halinde tartışılmıştır. Elde edilen veriler, bu faktörlerin ana ilaç ve metabolitlerinin PMR'sini nasıl etkilediğine dair ek bilgi sağlamaktadır. Bu veriler opioidlerle ilişkili ölümlerin aydınlatılmasında adli toksikolog ve adli patoloğlara yardımcı olabilir.

5.1. Morfin Uygulanan Hayvan Gruplarında Morfin ve Metabolitlerinin PMR'si

Morfin, postmortem muayenelerde yaygın olarak karşılaşılan bir opioid ilaçtır. 3 ila 4 L/kg'dan daha büyük dağılım hacmine sahip ilaçların PMR'ye uğradığı uzun zamandır bilinmektedir ^{10,12,143}. Morfinin dağılım hacmi 2 ila 5 L/kg'dır, yani bu kategoriye girer. Rat (sıçan) modelleriyle yapılan hayvan çalışmaları, zaman içinde ölüm sonrası kalp kanı konsantrasyonlarında bir artış olduğunu göstermiştir ^{136,137}, ancak tavşanlarla yapılan daha yakın tarihli bir çalışmada, toplam morfin konsantrasyonlarının zamanla veya numune alma bölgelerine göre değişmediğini göstermiştir ¹¹. Morfin ile ilgili insan çalışmaları da morfin için PMR'nin var olup olmadığı konusunda çelişkili bilgiler sunmuştur ^{131,139,142}. Kamphuis ve ark tarafından 103 otopsi olgusunun kardiyak ve femoral örneklerindeki morfin konsantrasyonları ölçülmüş ve morfin PMR'sini etkileyen en önemli değişkenin uygulama yolu olduğu bildirilmiştir ¹⁶⁰. Bu tutarsızlıkların olası nedenleri olarak özellikle insan çalışmalarında, numune alma yerleri, numune alma süresi, numune pH'ı ve bilinmeyen doz arasındaki fark sıralanabilir. Bu sorunlara yanıt olarak, bu çalışma, ratlardan yaygın olarak toplanan ölüm sonrası örneklerin (kalp kanı, sağ ve sol femoral kan, subklavyen kan, karaciğer, kalp, beyin, böbrek ve akciğer dokusu) kantitatif enstrümantal analizi ile morfinin postmortem 24 saatte yeniden dağılımındaki hem mekansal hem de zamansal değişiklikleri değerlendirmek için tasarlanmıştır. Postmortem olgu çalışmasında rutin olarak değerlendirilen çoklu postmortem örneklerin toplanması, morfin PMR'sinin daha kapsamlı bir görünümünü ve anlaşılmasını sağlar. Çoklu örnek toplanması, adli tıp uzmanlarına ve adli patoloğ ve toksikologlara otopsi toksikoloji sonuçlarının yorumlanması ve değerlendirilmesi için daha iyi destekleyici veriler edilmesine olanak

tanıyabilir. Ayrıca, diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu çalışma kontrollü bir ortamda tekrarlanabilir koşullar ve yöntemlerle, tek bir değişken olan postmortem interval ile gerçekleştirilmiştir. Bu kontrollü çalışma, birkaç bilinmeyen değişkenin (örn. doz, postmortem interval ve vücut koşulları) olduğu otopsi örnekleri kullanılarak PMR belirlenirken elde edilemeyen bilgilerin daha kesin bir şekilde değerlendirilmesine olanak tanımaktadır.

Bu çalışmada morfin uygulanan hayvan gruplarındaki sağ ve sol femoral kan örneklerindeki ortalama morfin konsantrasyonları 24 saatlik postmortem interval boyunca azalış gösterirken kalp kanında bu azalış daha az belirgindir. Akciğerdeki ve böbrekteki serbest morfin konsantrasyonlarındaki postmortem 1 saatteki ani düşüş dikkat çekicidir. 4 ve 24 saatte bu konsantrasyonlarda ortalama olarak bir dengelenme söz konusudur. Moriya ve Hashimoto tarafından yapılan çalışmada, ceset sırtüstü pozisyonda iken, akciğerlerdeki temel ilaçların (difenidramin, klorfeniramin, apronal, hidroksikodein), konsantrasyon gradyanı boyunca basitçe yayılmak yerine, ölümden sonra hızla pulmoner venöz kan yoluyla sol kardiyak odacıklara yayıldığını göstermiştir¹⁶¹. Bu, ölüm anından 1 saate kadar gözlenen hızlı düşüşü açıklamaktadır. Bununla birlikte, akciğer dokusunda ölümden sonraki 8 saatlik aralıkta kalp kan konsantrasyonunda karşılıklı ve anlamlı bir artış olmamıştır. Kalp kanı ve akciğer konsantrasyonları, ölümden 8 ila 24 saat sonra karşılaştırılabilir olduğundan, iki organ arasında dengenin kurulduğu görülmektedir. Karaciğerdeki morfin konsantrasyonları postmortem 1 ve 4. saatlerde azalış gösterirken ölüm anındaki konsantrasyona göre aynı oranda postmortem 24 saatte artış göstermiştir. Bu durum özellikle böbrek, akciğer, karaciğer ve femoral (sağ ve sol) kandaki morfinin dokuya özgü PMR'ye uğradığını ve kalp dokusu, kalp kanı ve beynin postmortem difüzyondan direkt olarak etkilenmediğini göstermektedir.

Ölüm anındaki konsantrasyonları öngörebilmek adına postmortem 24 saat interval aralığında toplanan örneklerdeki konsantrasyonları ve aynı zaman aralıklarındaki toplanan örneklerdeki morfin seviyelerinin ilişkisinin ve dağılımını anlamının yanı sıra bu örnekler arasındaki etkileşimlerin belirlenmesi de aynı derecede önemlidir. Uzun postmortem interval sırasından postmortem dekompozisyonun boyutu nedeniyle kan örnekleri toplama yeteneği azalır veya hacim sınırlı hale gelir, bu nedenle doku örnekleri (örneğin karaciğer, akciğer veya beyin) toplanır ve toksikolojik analiz için

kullanılmaktadır. Karaciğer konsantrasyonunun kalp kanına veya femoral kanına eşdeğer olduğunu söyleyebilmek önemlidir. Bu çalışmada toplanan örneklerdeki serbest morfin konsantrasyonları arasındaki en önemli fark ölüm anında ve postmortem 1 saatte gözlenmiştir. Ölüm anında sağ ve sol femoral ile böbrekte anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (sırasıyla p : 0.820, 0.959). Ölüm anındaki ve ölüm anına yakın bir postmortem intervalde konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak fark olup olmadığını belirlemek önemlidir. Çünkü femoral kanlar ve böbrek, 24 saatlik postmortem interval boyunca PMR'yi gösteren iki biyolojik numunedir. Dikkate değer bir şekilde postmortem 4. saatte sağ femoral kandaki morfin seviyeleri ile yalnızca kalp, böbrek ve beyin seviyeleri arasında önemli ölçüde farklılıklar bulunmaktadır ($p < 0.05$). Postmortem 24. saatte sağ ve sol femoral kandaki morfin seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte benzer bir durum akciğer için de geçerlidir (sırasıyla p : 0.951, 0.994). Bununla birlikte postmortem 4. saatte tüm kan örneklerinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$). Sawyer ve Forney 5 mg/kg dozda morfin uyguladığı erkek ratların postmortem 24 saatte karaciğer dokusundaki ve kardiyak kandaki morfin konsantrasyonlarında önemli bir artışın olduğu sonucuna varmıştır¹³⁶. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, bu bulgular ile uyumlu değildir. Mevcut çalışmadaki kardiyak kan konsantrasyonları, 24 saatlik zaman aralığı boyunca önemli bir değişim göstermedi ve karaciğerde ölümden 24 saat sonra konsantrasyonda önemli bir değişiklik olmamıştır. Cinsiyet ve uygulanan doz farkı, sonuçların farklı bulunmasının açıklaması olabilir. Bununla birlikte Gerostomouls ve ark. insan otopsi örneklerinde gerçekleştirdiği çalışmada kalp kanında tespit ettikleri morfin konsantrasyonları arasında anlamlı farklılık bulunmamasına rağmen morfin kalp kanında yüksek bulunmuştur¹³⁸. Mevcut çalışmanın ölüm anı dışında diğer postmortem intervallerdeki bulguları, Gerostomouls ve arkadaşlarının sonuçları, bu çalışmadan farklı olarak ortalama postmortem 59 saatlik intervalde bulunan yüksek doz eroin olgularından elde etmelerine rağmen bu çalışmanın bulgularını desteklemektedir. Uzun postmortem intervallerde olay yerinde bulunan cesetlerden alınan örneklerdeki konsantrasyonlar arasındaki farkların değerlendirilmesi, analiz için hangi matrisin seçilmesi gerektiğinin belirlenmesi açısından önem arz etmektedir. Erken postmortem intervalde ise femoral ve kalp kanına alternatif olarak matris seçiminde bu yaklaşıma ek hususların dahil edilmesi gerekebilmektedir.

İlaçların PMR'si hakkında literatürde uzun postmortem intervallerde mesaneden femoral kana ilaç difüzyonu olabileceği belirtilmiştir¹³⁸. Bu çalışmada bu iddianın aksine sağ ve sol femoral kanda postmortem 24 saatte morfin kan konsantrasyonlarında düşüş gözlenmiştir. Postmortem 1. saat gibi erken intervallerde konsantrasyon gradyanından dolayı mesaneden difüzyon sebebiyle konsantrasyon düşüşü mümkün olmakla birlikte 24 saatlik süre sonundaki femoral kandaki morfin seviyelerindeki azalışın olası açıklaması femoral ven yapısının ayrışması/bozunması nedeniyle ilacın veni çevreleyen kas dokusuna yayılımı olabilir. Buna göre, literatürdeki mevcut veriye göre kas dokusundaki ilaç konsantrasyonlarının idrar ve kandaki seviyelerine benzer olduğu bildirilirken, daha ileriki araştırmalarda bu matrisler arasında önemli ölçüde farklar bulunduğu ve bu durumun nedeninin belirlenmesi amacıyla kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir¹⁶¹. Gelecekteki araştırmalarda olası difüzyonun değerlendirilmesi amacıyla kas ve mesane idrarının da toplanan örneklerle dahil edilmesi bu durumun aydınlığa kavuşmasına yardımcı olabilir.

Sırasıyla böbrek, subklavyen kan ve karaciğerdeki M3G seviyeleri diğer dokulardakinden çok daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni olarak büyük olasılıkla morfinin karaciğerde yoğun şekilde metabolize edilmesi ve M3G'ye dönüştürülmesinin yanında atılımdan sorumlu olan böbrek dokusunda yüksek polariteye sahip bu metabolitin yoğun şekilde bulunması beklenen bir durumdur. Bununla birlikte ölüm anındaki subklavyen kanda böbrek dokusuna eşdeğer seviyede M3G tespiti dikkat çekicidir. Ayrıca, beyindeki M3G seviyeleri, incelenen diğer örneklerle kıyasla daha düşük bulunmuştur. Bu durum, muhtemelen artan polarite ve KBB'yi geçme yeteneğinin azalmasından kaynaklanmaktadır. Kalp kanındaki ve bilhassa subklavyen kandaki M3G seviyelerinin, morfinin kinetiğinden farklı olarak, genellikle femoral kandakilerden daha yüksek olması dikkat çekicidir. Postmortem toksikolojide kalp kanında tarama analizi ve femoral kanda kantitatif analiz yapmak yaygın bir uygulamadır. Yalnızca kalp kanı veya femoral kan mevcutsa, tüm testler o numunede gerçekleştirilir ve numune alma bölgesi arasındaki konsantrasyon farklılıklarını anlamak kritik hale gelir. Adli toksikologlar, patologlar veya adli tıp uzmanları, bir bireyin ölümden önce ne kadar süredir kullanmış olabileceğine dair sonuçlar çıkarmak için karaciğerdeki metabolit profilini kullanıyorsa veya yorumlama veya karşılaştırma

amacıyla kan ve diğer dokular mevcut değilse, bu sonuçların dikkate alınması olguların aydınlatılmasında önemli bir rol oynayabilir.

5.2. Kodein Uygulanan Hayvan Gruplarında Kodein ve Metabolitlerinin PMR'si

Kodein, eroin içinde hem kodein hem de asetil kodein olarak bir katkı maddesi olarak farklı oranlarda bulunur ve tipik olarak eroin alımı sonrası saptanan adulteranlardan birtanesidir^{162,163}. Ayrıca kodein, birçok ülkede tek başına veya başka ilaçlarla kombine bir halde analjezik ve öksürük kesici etkisinden dolayı yaygın olarak kullanılmakta ve adli toksikolojik analizlerde sıkça karşılaşılan bir opioid ilaçtır. Kodeinin reçetesiz olarak suiistimali, analjezik etkilerinin yanında hafif oförük ve anksiyolitik etkilerinden dolayı bağımlılığa yol açabilmektedir. Bununla birlikte eroin kullanımında adulteran olarak vücuda alınımının yanında enjeksiyon yoluyla uyuşturucu kullanıcıları arasında da yaygın olarak reçetesiz bir şekilde suiistimal edildiği bildirilmiştir^{164,165}. Kodeine bağlı ölümlere ilişkin önceki çalışmalarda kan ve idrar gibi geleneksel örnekler dışında alternatif örnekler üzerinde yapılan ve otopsi çalışmalarında sıklıkla olgu hakkındaki doz, uygulama yolu, postmortem interval gibi önemli bilgilerin yoksun olduğu bir dizi sınırlı çalışma mevcuttur. Yayınlanmış veriler geniş otopsi serileri arasındaki olgu raporu veya serilerinden türetilmiştir¹⁶⁶. Morfin dışındaki diğer kodein metabolitlerinin postmortem konsantrasyonlarının değerlendirilmesi, iki ileri derecede intoksikasyon olgusunun ve 31 adet tanımlanmamış otopsi kan örneğinde yürütülen iki ayrı çalışma ile sınırlıdır^{167,168}. Ayrıca, kodeinin PMR'sine ilişkin otopsi numunelerine dayalı yayınlanmış veriler oldukça sınırlı ve tutarsızdır¹⁶⁶.

Bu çalışmada kodein uygulanan hayvan gruplarından alınan kan örneklerindeki ortalama serbest kodein seviyeleri incelendiğinde subklavyen, sağ ve sol femoral kanlarda 24 saatlik postmortem interval boyunca kodein konsantrasyonları azalış gösterirken kalp kanında belirgin bir artış gözlenmiştir. Bununla birlikte postmortem 4 ve 24. saatlerdeki sağ femoral kandaki kodein seviyeleri sol femoral kana göre anlamlı olmamakla birlikte yüksek bulunmuştur (sırasıyla 4 ve 24 saat için p:0.322, p:0.265). Sırtüstü pozisyonda bırakılan ratlardan elde edilen bu sonuç, serbest kodein konsantrasyonlarındaki farklılığın cesedin pozisyonundan ziyade kan pH'sı, pıhtılaşma düzeyi, kan örnekleme biçimi (göllendirme vs.), postmortem dekompozisyon oranı

(venin bozularak ilacın kas dokusuna difüzyonu) vb. gibi farklı dinamiklerin difüzyonu etkilemesinden ortaya çıkabileceği düşünülebilir. Postmortem 4 ve 24 saatte sol femoral kandaki serbest kodein seviyelerindeki ani düşüş dikkat çekicidir. Postmortem 24 saat sonunda tüm matrislerdeki kodein konsantrasyonları değerlendirildiğinde en yüksek konsantrasyonlar sırasıyla kalp kanı subklavyen kan, akciğer ve sağ femoral kanda görülmekle birlikte beyinde tespit edilememiştir. Kalp dokusundaki 24 saatlik postmortem interval boyunca kodein konsantrasyonlarında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p:0.994$). Böbrek dokusundaki kodein seviyelerinde postmortem 1. saatten itibaren ani bir düşüşle birlikte 24 saate kadar bir dengelenme söz konusu olmakla birlikte ölüm anındaki ölçülen konsantrasyonlar diğer postmortem intervallerdekilere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu bulgular, sol femoral kan, kalp kanı, subklavyen kan, böbrek ve akciğerin dokuya özgü PMR'ye uğradığını, kalp ve sağ femoral kanın difüzyondan direkt olarak anlamlı derece etkilenmediğini göstermektedir.

Frost ve ark. (2016), postmortem interval bilgisinin bulunmadığı ve CYP2D6 genotipinin değerlendirildiği kodein ile ilişkili 23 otopsi olgusunun periferik ve kalp kanındaki kodein konsantrasyonlarında anlamlı bir farklılık bulunmadığı sonucuna varmışlardır. Frost ve ark. gerçekleştirdiği bu çalışmada, her olgudaki kodein metabolizmasından sorumlu CYP2D6 genotipindeki geniş farklılıklarının ve bu hususta kayda değer bir model olmamasının PMR'nin önemli bir faktörü olan postmortem intervalin kodein ve metabolitlerinin PMR'sine etkisini yok edebileceğini ileri sürmüşlerdir. Bununla birlikte bu duruma biyotransformasyon dahil farmakokinetiğin diğer parametrelerinin de etkili olabileceğini belirtmişlerdir¹⁶⁶. Kodeinin rat çalışmaları için bir sınırlama da insanda kodeinin morfine dönüşümünde CYP2D6 genotipi sorumlu iken, ratlarda bu biyotransformasyon CYP2D1 genotipi tarafından gerçekleştirilmektedir¹⁶⁹. Tolliver ve ark. tarafından yürütülen olgu serisi çalışmasında 4 adet otopsi olgusunun antemortem ve postmortem kan örneklerdeki kodein ve metabolitleri değerlendirilmiş, kalp kanı gibi merkezi kanlardaki ölçülen kodein konsantrasyonları her olguda anlamlı farklılık olmakla birlikte iliyak kan gibi periferik kandaki konsantrasyonlara göre yüksek bulunmuştur¹⁷⁰. Bu çalışmada 24 saatlik postmortem interval sonunda subklavyen ve kalp kanı gibi merkezi kandaki kodein

konsantrasyonları ve femoral kanlardaki periferik kan konsantrasyonları bu bulguyu desteklemektedir.

24 saatlik postmortem intervalde K6G konsantrasyonları diğerk matrislere göre sırasıyla karaciğerk, subklavyen kan ve kalp kanında yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni kodeinin karaciğerkdeki yoğun metabolizasyonu ile K6G'e dönüşümü ve merkezi viseral dokulardan ilaç difüzyonu ile merkezi kanlardaki ilaç konsantrasyonlarının artışının periferik göre yüksek olduğu bulgusudur. Bu bulguların aksine bu çalışmada, beyinde yalnızca ölüm anında K6G tespit edilebilmiştir. Bunun muhtemel nedeni artan polarite ve KBB'ni geçme yeteneğindeki azalıştır. Frost ve ark. yaptığı çalışmada periferik kandaki K6G ve norkodein, kalp kanına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur¹⁶⁶. Mevcut çalışmada, bu çalışmadakine benzer olarak K6G ve norkodein konsantrasyonları periferik kana göre beyindeki konsantrasyonlara göre düşüktür.

Bu çalışmada, kodein uygulanan hayvan gruplarındaki morfinin postmortem farmakokinetiğı morfin uygulanan hayvan gruplarındaki morfin kinetiğinin aksine 24 saatlik postmortem interval boyunca sağ ve sol femoral kanda değışiklik gözlenmezken, kalp kanında belirgin bir azalış, subklavyen kanda ise belirgin bir artış gözlenmiştir. Bununla birlikte karaciğerkdeki morfin konsantrasyonlarında postmortem 4. saatte ani bir yükseliş söz konusudur. Daha sonra karaciğerkdeki morfin, 4. ve 24. saatlerde kademeli bir artış göstermiştir. Kalp, böbrek, akciğerk ve beyin dokularında ölüm anından 24 saatlik postmortem interval sonunda anlamlı bir değışiklik söz konusu değildir. Bu sonuçlar kodeinden metabolize olan serbest morfinin postmortem difüzyon kinetiğinin morfinin direk uygulanmasından farklı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu farkın muhtemel sebepleri uygulanan kodeinin pH farklılığı dolayısıyla ortamdaki morfinin dağılımını etkilemesi ve mevcut kodeinin dokulardaki reseptör etkinliğinin morfinin metabolizmasını etkilemesi olabilir. Bununla birlikte aynı şekilde kodein uygulanan hayvan gruplarındaki tespit edilen M3G ile morfinin direkt uygulandığı hayvan gruplarındaki tespit edilen M3G konsantrasyonları beyin ve kalp dokuları haricinde farklılık göstermektedir.

5.3. Morfin ve Kodein Kombinasyonunda Postmortem Yeniden Dağılım

Morfin ve kodein, ağrı tedavisi için reçete edilen narkotik analjeziklerdir. Bununla birlikte kodeinin eroin kullanımında adulteran olarak vücuda alımının yanında enjeksiyon yoluyla morfin ve diğer opioid kullanıcıları arasında da yaygın olarak reçetesiz bir şekilde suiistimal edildiği bildirilmiştir^{164,171}. Bazı kullanıcılar tarafından elde edilen tolerans seviyeleri, tam kanda çok çeşitli ilaç konsantrasyonlarıyla karşılaşılmasına neden olabilir. Bu iki ilacın birbirlerinin postmortem farmakokinetiğine etkilerinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu açıdan, bu çalışmada, adli toksikologlara, patoloğlara ve adli tıp uzmanlarına otopside elde edilen materyallerdeki toksikoloji sonuçlarını yorumlamalarında yardımcı olması amacıyla sırasıyla kodeinin, morfin ve metabolitlerinin PMR'si üzerinde, morfinin de kodein ve metabolitlerinin PMR'si üzerindeki muhtemel ilaç-ilac etkileşimine dayalı etkisi kontrollü bir ortamda tekrarlanabilir koşullar ve yöntemlerle değerlendirmiştir.

Morfin ve kodeinin birlikte uygulamasının morfinin yalnız başına uygulandığı hayvan gruplarındaki morfinin PMR'sine etkisini değerlendirirken kodeinin biyotransformasyon sonucu morfine dönüşümü, her bir postmortem intervaldeki morfin seviyelerinin istatistiksel açıdan kıyaslamasını sınırlandırmasının yanında her iki gruptaki morfin konsantrasyonlarının zamana göre PMR'si değerlendirilebilir. Bu çalışmada postmortem 24 saate göre sağ ve sol femoral kan, böbrek ve akciğer dokularındaki morfin PMR'sini etkilemediği, bu örneklerle göre karaciğer, kalp dokusu, kalp kanı ve subklavyen kanda zıt bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte kodeinden dönüşerek doku ve vücut sıvılarına dağılan morfinin doz artışına bağlı PMR'yi etkilemesinin yanı sıra ortamda bulunan kodeinin de ilaç etkileşimi yoluyla başlıca bir etken olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Morfin uygulamasının kodeinin postmortem farmakokinetiğine etkisini değerlendirirken her bir postmortem intervalde two-way ANOVA istatistiksel yöntem kullanılarak değerlendirmesi yapılmıştır. Morfin uygulaması sonucu, ölüm anında kalp kanı, karaciğer, kalp dokusu, böbrek ve beyin dokusunda kodein seviyelerinde anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bununla birlikte sağ ve sol femoral kan, subklavyen kan ve akciğerde, kodeinin yalnız başına uygulamasıyla elde edilen kodein seviyeleri ile tutarlıdır. 24 saatlik postmortem interval boyunca sağ ve sol femoral kanda, subklavyen kanda ve akciğerde aradaki postmortem 1 ve 4. saatler dışında önemsiz farklılık

mevcuttur ($p>0.05$). Bununla birlikte kodein varlığında beyinde postmortem 24 zıt bir PMR'nin ortaya çıktığını söylemek mümkündür. Aynı şekilde bu durum kalp kanında da geçerlidir. Kodein varlığında morfin konsantrasyonları yorumlanırken 24 saatlik postmortem intervalde beyin ve kalp kanında zıt bir etkiye sahip olduğu göz ardı edilmemelidir.

Bu çalışmada morfin ve kodeinin neden olabileceği düşük kalp hızı, kan basıncı ve solunum depresyonu nedeniyle farmakodinamik yanıtların etkisiyle doku ve vücut sıvılarında dağılımın; dolayısıyla PMR'nin etkilenebileceği unutulmamalıdır. Bu açıdan çalışmanın sınırlamalarına bu iki ilacın tek başına ve birlikte uygulanması ile doz-yanıt ilişkisinin karakterizasyonun yapılmaması ve tekrarlı ve farklı doz uygulamasının olmayışı dahil edilebilir.

5.4. Eroin Uygulanan Hayvan Gruplarında Eroin ve Metabolitlerinin PMR'si

Eroin, opioid reseptörlerine karşı düşük afiniteye sahip bir pro-ilacıdır. Uygulama sonrasında kısa sürede 6-MAM'a deasetillenir ve bunu takiben morfine hidrolize olur. İnsan örneklerinde nadiren saptanabilen eroinin yarılanma ömrü ortalama 2-6 dakikadır. 6-MAM'ın yarılanma ömrü ise ortalama 6-25 dakikadır ve bu metabolitin kanda saptanması eroinin kısa bir süre önce alındığının işaretidir. Daha sonra 6-MAM hidroliz olarak morfine dönüşür. Eroin kullanımına bağlı ölümlerin doğru bir şekilde aydınlatılması, adli toksikolojide bir sorun teşkil etmektedir. Bu tür analizlerin sonuçlarını yorumlamak genellikle zordur. İnsan otopsi materyalinden alınan kan, vitröz sıvısı, beyin ve diğer numuneler için eroinin metaboliti morfinin PMR paternleri oluşturulmuşsa da bu seviyelerin antemortem seviyelerle ilişkisi kapsamlı bir şekilde çalışılmamıştır^{89,139}.

Eroin ve morfinin KBB'ni geçme hızı gibi farmakokinetik ve farmakodinamik yanıtlarının farklı olması postmortem farmakokinetiğinin de farklı olabileceği öngörüsünü doğurmaktadır. Morfinin eroinin bir metaboliti olması dolayısıyla çoğu zaman otopsi olgularında bu iki maddenin ayırımını yapmak zordur. Bu yüzden eroin uygulaması ile morfinin PMR'sinin kontrollü hayvansal çalışmalarla ayrı ayrı değerlendirilmesi olguların aydınlatılmasında değerli katkılar sağlayabilir.

Bu çalışmada eroin uygulamasının ardından, eroin ve metabolitlerinin PMR'sinin postmortem intervale ve biyolojik örneklerle göre değişimi değerlendirilmiştir. Daha

önceki hayvansal çalışmalardaki gibi^{11,172} bu çalışmada da hiçbir vücut sıvısı ve dokusunda M6G saptanamamıştır. Sağ ve sol femoral kan örneklerindeki morfin konsantrasyonları, sol femoral kanın postmortem 24. saatte yeterli örnek alınamadığı için kıyaslanamamış, diğer zaman aralıklarında anlamlı farklılık bulunmamakla birlikte (p:0.820) sağ femoral kandaki morfin seviyeleri 1. saatten itibaren 24 saat boyunca azalış gösterirken, sol femoral kanda ölüm anından postmortem 4. saate kadar önemli bir değişim gözlenmemiştir. Kalp kanındaki ve subklavyen kandaki morfin konsantrasyonları ölüm anından 24 saatlik postmortem intervale kadar artış gözlenmiştir. Diğer matrislere kıyasla en yüksek morfin konsantrasyonlarının gözlendiği böbrek dokusunda postmortem 1. ve 4. saatte ani bir artış gözlenmiştir (p:0.013). Bununla birlikte ölüm anındaki ile 24. saatteki böbrek morfin konsantrasyonları dengelenmiştir (p: 0.878). Maskell ve ark. bu çalışmayla aynı dozda (1 mg/kg) eroin uyguladıkları tavşanların ölüm anı, 30 dakika ve 24 saatlik postmortem örnekleri alınarak eroin metabolitlerinin PMR'sini değerlendirdikleri hayvansal çalışmada, postmortem 24 saate karaciğerde, sağ ve sol femoral kan karışımında ve böbrekteki morfin konsantrasyonunda önemli bir değişim olmadığını buna karşılık kalp kanında anlamlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir¹¹. Bu çalışmada da anlamlı olmamakla birlikte sağ femoral kanda ölüm anındaki morfin konsantrasyonları postmortem 24 saatte azalış göstermekle birlikte kalp kanı, karaciğer ve böbrekteki bulgular Maskell ve ark. tarafından yapılan çalışmayı desteklemektedir. Akciğerdeki morfin konsantrasyonları, bu çalışmada morfin uygulanan ratlardaki gibi postmortem 1. saatte ani bir azalış göstermiştir. Bu konsantrasyon düşüşü, pulmoner venöz kanın sol kardiyak odacıklara hızla difüze olduğunun bildirildiği Moriya ve Hashimoto tarafından yapılan çalışma ile aydınlatılmıştır¹⁶¹. Mevcut çalışmada, eroin uygulanan ratların kalp kanında morfin uygulanan ratlardakinin aksine ölüm anı ile postmortem 24 saatteki morfin konsantrasyonlarında anlamlı bir artış söz konusudur. Gerostomouls ve ark. insan otopsi örneklerinde gerçekleştirdiği çalışmada anlamlı farklılık bulunmamasına rağmen kalp kanında tespit ettikleri morfin konsantrasyonları diğer biyolojik örneklerle göre yüksek bulunmuştur¹³⁸. Dikkat çekici bir şekilde morfin uygulamasının aksine bu çalışmanın eroin uygulanan ratlardan elde edilen sonuçları bu bulguları desteklemektedir. Mevcut çalışmadaki bulgular, eroin uygulanan ratların sağ femoral kan, kalp kanı ve kısmen de olsa akciğer ve böbrek dokusunun PMR'ye uğradığını,

bununla birlikte karaciğer, kalp dokusu ve beyin difüzyondan direkt etkilenmediğini göstermektedir.

M3G konsantrasyonları morfin uygulanan hayvan gruplarını benzer bir şekilde böbrek dokusunda her bir postmortem intervalde anlamlı derece yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Yüksek polariteye sahip M3G'in atılımdan sorumlu organ dokusunda yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmesi beklenen bir durumdur. Bunu takiben karaciğerdeki M3G seviyeleri diğer dokulardakinden çok daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni büyük olasılıkla morfinin karaciğerde yoğun şekilde metabolize edilmesi ve M3G'ye dönüştürülmesidir. Ayrıca, ölüm anında toplanan dahil hiçbir beyin dokusunda M3G tespit edilememiştir. Bu durum, muhtemelen artan polarite, morfine göre uygulanan dozun düşük olması ve KBB'yi geçme yeteneğinin azalmasından kaynaklanmaktadır. Kalp kanındaki M3G seviyelerinde 24 saatlik postmortem interval boyunca anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p>0.05$). Morfinin eroinin bir metaboliti olması dolayısıyla çoğu zaman otopsi olgularında bu iki maddenin ayırımını yapmak zordur. Bu çalışmada her iki ilaç için ayrı ayrı mekanizma bazlı PMR araştırması yapılmış, benzerlikler ve farklılıkla ortaya konmuştur. Adli toksikologlar, patologlar veya adli tıp uzmanları tarafından eroin ve morfin ilişkili olguların aydınlatılmasında bu sonuçların dikkate alınması önemli bir rol oynayabilir.

5.5. Fentanil Uygulanmasının Eroin ve Metabolitlerinin PMR'sine Etkisi

Fentanil, son yıllarda opioid kullanıcıları arasında yaygın olarak suiistimal edilen cerrahi uygulamalarda anestezi ilaç olarak kullanılan kısa etkili ve potent narkotik analjeziktir. Son yıllarda bilhassa ABD'de, morfin ve eroine bağlı ölümlerde önemli bir artış yaşandı ve bu durum "opioide krizi" adıyla bir fenomen haline geldi. Ancak bu olgularla ilgili karşılan kanıtlar, opioide krizinde yalnızca eroin ve morfinin rol oynamadığını, bu krizin eroin ve fentanil kombinasyonundan kaynaklandığını göstermektedir. Örneğin ABD'de 2016'da opioidlerle ilişkili ölümlerin yarıya yakınının fentanil içeren eroin kullanımıyla ilişkili olduğu rapor edilmiştir¹⁷³⁻¹⁷⁵. Adulteran olarak eroine ilave edilen fentanilin eroinin postmortem farmakokinetiğine olan etkisini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çoklu ilaçların tanımlandığı insan otopsi örneklerinde PMR'nin varlığı çalışılmışsa da bu çalışmalarda ilaçların birbirlerine etkileşimleri gözardı edilerek münferit bir şekilde farmako-kinetik/dinamik

özellikleri değerlendirilmiştir. Literatürde Gleba ve Kim tarafından, fentanilin morfinin postmortem farmakokinetiğine etkisini değerlendirmek amacıyla tek doz 10 mg/kg morfine ilave olarak 10 µg/kg fentanil, enjeksiyon yoluyla uyguladığı bir çalışma bulunmaktadır¹⁷⁶. Bu çalışmada önceki bölümlerde eroin ve morfinin postmortem farmakokinetiğinde benzerliklerin yanında farklılıklar olduğu belirtilmişti. Dolayısıyla bu konuda fentanil varlığında bilhassa eroinin PMR'sinin değerlendirilmesi bu olguların toksikolojik sonuçlarının yorumlanmasında değerli katkılar sağlamaktadır.

Bu çalışmada eroin ile fentanil kombinasyonu ile eroinin yalnız başına uygulandığı hayvan gruplarından her bir postmortem intervalde alınan biyolojik numunelerdeki morfin ve M3G konsantrasyonları istatistiksel olarak değerlendirilirken gruplar arası homojenite testinin anlamlılık derecesine göre Games-Howell ve Tukey post-hoc analiziyle birlikte Two-way ANOVA kullanılmıştır. Sağ femoral kan, karaciğer, kalp, böbrek ve beyin dokusunda grafiksel farklılıklar gözlenmiştir. Sol femoral kan postmortem 24. saatte pıhtılaşmadan dolayı örneklendirilemediği için bu intervalde herhangi bir değerlendirme yapılamamıştır. 24 saatlik postmortem interval boyunca istatistiksel olarak yalnızca 24. saat kalp kanı, kalp dokusu, 1. saatteki sol femoral kan, ölüm anındaki karaciğer dokusu ve 1. ve 4. saatteki beyin dokusunda anlamlı farklılıklar mevcuttur ($p < 0.05$). Diğer tüm matrislerdeki değişimler önemsizdir. Fentanil varlığında morfinin kan konsantrasyonlarının yorumlandığı durumlarda subklavyen kanın değerlendirilmesi sadece morfin tanımlanan olgular ile eş değer konsantrasyonlar sağlayacaktır. Kanın uygun olmadığı durumlarda benzer bir şekilde akciğer dokusunun değerlendirilmesi olgunun aydınlatılmasında önemli katkılar sağlayabilir. Fentanil varlığının bilhassa karaciğer ve sağ femoral kandaki morfin seviyelerinin PMR'sinde zıt bir etkiye sahip olduğu söylenebilir. Bu sonuçlar, Gleba ve Kim tarafından morfin-fentanil kombinasyonunda gerçekleştirdikleri çalışmada¹⁷⁶ karaciğer ve femoral kandaki morfin seviyelerinde ortaya çıkan zıt değişimi desteklemesinin yanında aynı şekilde mevcut çalışmada ölüm anında toplanan karaciğerdeki morfin seviyeleri anlamlı derecede azalış göstermiştir ($p: 0.008$). Bu etkinin fentanilin morfin metabolizması üzerindeki etkisine bağlı olarak ölümden sonraki ilk saatte (dokulardaki devam eden enzim aktivitesi ile) ortaya çıkması mümkündür. Bununla birlikte postmortem 1. saatte toplanan karaciğerdeki morfin seviyelerinin anlamlı olmamakla ($p > 0.05$) birlikte azalış göstermesi bu öngörüü

desteklemektedir. Fentanil uygulandığında morfin ve metabolit konsantrasyonlarını içerecek şekilde konsantrasyon değişimlerinin artan metabolizma hızından veya düşük konsantrasyon, düşük kalp hızı, kan basıncı ve solunum depresyonu nedeniyle genel olarak daha yavaş doku dağılımından kaynaklanıp kaynaklanmadığını belirlemek için verilerin ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Mevcut çalışmanın sınırlamaları, sadece bir doz eroin ve bir doz fentanil kullanılması ve farmakodinamik yanıtların karakterize edilememesidir. Bu sonuçların çoklu uygulama değişkenleri arasında tutarlı olup olmadığını belirlemek için değişen dozlarla gelecekteki çalışmalar yapılmalıdır.

5.6. Adulteranların (Dekstrometorfan – Parasetamol – Kafein Kombinasyonunun) Eroin ve Metabolitlerinin PMR'sine Etkisi

Madde miktarının artırılarak kar artışı sağlanması, eroinin istenen etkilerinin artırılması ve vücuda uygulanmasını kolaylaştırmak amacıyla eroinin içerisine karıştırılan fentanil ve türevleri gibi sentetik opioidler dahil adulteran kompozisyonunun son yıllardaki değişimi, opioid krizinin muhtemel nedenleri arasında görülmektedir^{155,177}. Sokak eroini olarak tabir edilen karışım içerisinde en sık karşılaşılan ilaçlar parasetamol ve kafeindir¹⁷⁸. Son yıllarda fentanil haricinde bu ilaçlara deksrometorfan eklenmiştir. 2010 yılından başlatılan İtalyan Ulusal Erken Uyarı Sistemin güncellenmesi amacıyla 2020 yılında Tittarelli ve ark. tarafından yakalanan sokak eroinlerinin kompozisyonu belirlenmiş ve sırasıyla en sık karşılaşılan maddeler kafein, dekstro/levo-metorfan (rasemik karışım) ve parasetamol olarak bildirilmiştir¹⁵⁴. Önceki bölümde belirtildiği üzere, eroin adulteranlarının opioid krizindeki potansiyel rolüne dikkat çekilmişse de adulteran varlığında eroin uygulaması sonrası, eroin metabolitlerinin postmortem farmakokinetiğine etkisinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki çalışmalarda kombinasyondaki ilaçların etkileşimleri gözardı edilerek yalnız başına farmako-kinetik/dinamik özellikleri değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada 1 mg eroinin ile birlikte adulteran olarak 1'er mg kafein, parasetamol ve deksrometorfan uygulanmıştır. Eroin dahil her madde için sabit bir doz (1 mg) ve oran (%25) tercih edilmesinin nedeni eroin özelinde, ortaya çıkan verilerin hem eroinin yalnız başına uygulandığı hayvan grupları ile hem de literatürdeki mevcut veriler ile ilişkilendirilebilmesi ve yakalanan sokak eroini örneklerindeki ortalamaya

yakın bir yüzdesinin uygulanmasıdır. Eroin-fentanil kombinasyonunda olduğu gibi aynı istatistiksel analizler kullanılmış ve eroinin yalnız başına uygulandığı hayvan grupları ile adulteranlar varlığındaki kalp kanı, karaciğer, kalp dokusu ve akciğerdeki morfin konsantrasyonlarında grafiksel farklılıklar gözlenmektedir. Fentanil uygulamasının aksine 24 saatlik postmortem interval boyunca eroinin yalnız başına uygulandığı hayvan gruplarındaki biyolojik örneklerle kıyasla adulteran kombinasyonunun morfin konsantrasyonlarını artırıcı etkide bulunduğu söylenebilir. Kalp kanındaki morfin seviyeleri 0. ve 4. saatlerde artış, 1. ve 24. saatlerde azalmıştır. Sağ femoral kanda ölüm anından postmortem 4. saate kadar eroinin yalnız uygulandığı gruba göre zıt bir PMR gözlenmiştir. Karaciğerde de bu durum ölüm anı ve postmortem 1. saatte gözlenmiştir. Kalp dokusunda yalnızca postmortem 24. saatteki anlamlı artış dikkat çekicidir ($p:0.02$). Bu durum eroin-fentanil grubundakine benzerdir. Beyin, akciğer ve böbrek dokusunda postmortem 24. saat sonundaki morfin konsantrasyonlarında anlamlı bir değişim söz konusu olmadığı için PMR'den etkilenmediği söylenebilir. Beyin, akciğer ve kalp dokusu haricinde ölüm anındaki morfin konsantrasyonlarında artış gözlenmiştir. Kafein ve parasetamolün morfinin metabolizmasını yavaşlattığına dair herhangi bir veri bulunmazken, Chen ve ark. (2005) tarafından dekstrometorfanın opioid antinosisepsiyonuna (ağrı önleme) etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, ratlarda morfin ile birlikte dekstrometorfanın sistemik enjeksiyonunun periferik serumdaki morfin konsantrasyonunu artırdığı bildirilmiştir¹⁷⁹. Bu durum ile ilgili kesin mekanizma bilinmemekle birlikte Walstrom ve ark. karaciğer mikrozomal çalışmalarında dekstrometorfanın karaciğerde sitokrom P450 2D6 tarafından katalizlenen o-demetilasyon yoluyla M3G oluşumunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir¹⁸⁰. Mevcut çalışmada dekstrometorfan varlığında eroin uygulanan hayvan gruplarından ölüm anında alınan femoral kan örneklerindeki M3G seviyelerine göre, anlamlı bir düşüş söz konusudur ($p:0.016$). Walstrom ve ark. tarafından açıklanan bu mekanizma, mevcut çalışmada ölüm anındaki morfin seviyelerinin ve Chen ve ark. tarafından elde edilen bulguların muhtemel nedeni olabilir. Bu çalışmada 24 saatlik postmortem intervalde en yüksek morfin konsantrasyonları sırasıyla böbrek, karaciğer ve akciğerde tespit edilmiştir. Barbera ve ark. tarafından sunulan dekstrometorfan ve kafeinin adulteran olarak uygulandığı yüksek eroin olgusunda elde edilen morfin seviyeleri bu bulguyu desteklemektedir¹⁸¹. Fakat, Barbera ve ark. literatürdeki diğer otopsi çalışmalarında

olduğu gibi ilaç-ilaç etkileşimleri gibi farmakokinetik mekanizma ve PMR'yi gözardı ederek kafeinin sinerjik etkilerinin yanı sıra dekstrometorfanın enjeksiyon uygulamasının solunum depresyonu ile lme katkıda bulunabileceği değerlendirmesini yapmışlardır.

Bu çalışmada, son yıllarda sokak eroini içerisindeki adulteran kompozisyonun değişimi sonucu, parasetamol, kafein ve bilhassa son yıllarda sıkça karşılaşılan dekstrometorfanın adulteran olarak eroin metabolitlerinin PMR'sine olan etkisi değerlendirilmiştir. nceki bölümlerdeki gibi tek doz uygulama, doz-yanıt ilişkisinin karakterizasyonunun yapılamaması gibi var olan sınırlamalar bu çalışma için de geçerlidir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Bu çalışma, PMR araştırmasına yeni bir yaklaşım getirerek morfin, kodein ve eroinin PMR araştırmalarına önemli bir temel katkı sağlamıştır.
2. Bu çalışmada grafiksel ve istatistiksel analiz kullanılan mekanizma temelli yaklaşım, merkezi-periferik oranların yanı sıra periferik-doku oranına odaklanan mevcut çalışmalardan elde edilemeyen veri eksikliğini tamamlamıştır.
3. Çeşitli dokuların yanı sıra, femoral, kalp kanı ve subklavyen kan örneklerinin toplanmasını içeren bu yaklaşım, otopsi sırasında toplanması gereken örnekler için temel oluşturmaktadır.
4. Adli toksikologlar, patologlar ve adli tıp uzmanları eroin, kodein ve morfin ile ilişkili ölüm olgularında, bu sonuçları ölüm nedenini belirlemeye yardımcı olmak için kullanacaktır.
5. Literatüre olan katkısının yanı sıra, bu çalışmada odak bileşik olan morfinin enterohepatik sirkülasyona uğraması dolayısıyla safra bulunmayan bir tür olan ratların kullanılması, tek ve akut doz kullanılması, doz-yanıt ilişkisinin karakterizasyonun yapılamaması gibi belirsizlikler ve kısıtlılıklar mevcuttur.
6. Gelecekteki çalışmalara yukarıda anılan sınırlayıcı faktörlerin eklenmesi ve uluslararası çapta Erken Uyarı Sisteminin takip edilerek farklı opioid ilaçları (yeni sentetik opioidler) ve kombinasyonları kapsayan geniş kapsamlı hayvansal çalışmaların eklenmesi, bu çalışmadaki ve literatürdeki diğer çalışmalardaki karanlık noktaların aydınlatılmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. **World Health Organization (WHO).** Opioid overdose: preventing and reducing opioid overdose mortality. *World Heal Organ.* **2013.** <https://www.who.int/publications/i/item/opioid-overdose-preventing-and-reducing-opioid-overdose-mortality>.
2. **The Lancet.** The lethal burden of drug overdose. *Lancet.* **2013**;382(9895):833. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61844-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61844-9).
3. **McIntyre IM.** Liver and peripheral blood concentration ratio (L/P) as a marker of postmortem drug redistribution: a literature review. *Forensic Sci Med Pathol.* **2014**;10(1):91-96. <https://doi.org/10.1007/s12024-013-9503-x>.
4. **McIntyre IM, Escott CM.** Postmortem Drug Redistribution. *J Forensic Res.* **2012.** <https://doi.org/10.4172/2157-7145.1000e108>.
5. **Yarema MC, Becker CE.** Key concepts in postmortem drug redistribution. *Clin Toxicol.* **2005.** <https://doi.org/10.1081/CLT-200058950>.
6. **Drummer OH.** Postmortem toxicology of drugs of abuse. *Forensic Sci Int.* **2004**;142(2-3):101-113. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.02.013>.
7. **Lemaire E, Schmidt C, Denooz R, et al.** Popliteal Vein Blood Sampling and the Postmortem Redistribution of Diazepam, Methadone, and Morphine. *J Forensic Sci.* **2016**;61(4):1017-1028. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13061>.
8. **Staeheli SN, Gascho D, Ebert LC, et al.** Time-dependent postmortem redistribution of morphine and its metabolites in blood and alternative matrices—application of CT-guided biopsy sampling. *Int J Legal Med.* **2017**;131(2):379-389. <https://doi.org/10.1007/s00414-016-1485-2>.
9. **Brockbals L, Staeheli SN, Gascho D, et al.** Time-Dependent Postmortem Redistribution of Opioids in Blood and Alternative Matrices. *J Anal Toxicol.* **2018**;(May). <https://doi.org/10.1093/jat/bky017>.
10. **Pounder DJ, Jones GR.** Post-mortem drug redistribution - A toxicological nightmare. *Forensic Sci Int.* **1990.** [https://doi.org/10.1016/0379-0738\(90\)90182-X](https://doi.org/10.1016/0379-0738(90)90182-X).
11. **Maskell PD, Albeishy M, De Paoli G, et al.** Postmortem redistribution of the heroin metabolites morphine and morphine-3-glucuronide in rabbits over 24 h. *Int J Legal Med.* **2016**;130(2):519-531. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1185-3>.
12. **Pélissier-Alicot AL, Gaulier JM, Champsaur P, et al.** Mechanisms Underlying Postmortem Redistribution of Drugs: A Review. *J Anal Toxicol.* **2003.** <https://doi.org/10.1093/jat/27.8.533>.
13. **Rodda KE, Drummer OH.** The redistribution of selected psychiatric drugs in post-mortem cases. *Forensic Sci Int.* **2006.** <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.02.013>.
14. **Papoutsis I, Nikolaou P, Pistos C, et al.** Stability of Morphine, Codeine, and 6-Acetylmorphine in Blood at Different Sampling and Storage Conditions. *J Forensic Sci.* **2014.** <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12337>.
15. **Complete Republication: National Association of Medical Examiners Position Paper: Recommendations for the Investigation, Diagnosis, and Certification of Deaths Related to Opioid Drugs.** *J Med Toxicol.* **2014.** <https://doi.org/10.1007/s13181-013-0323-x>.

16. **Levine BS, KERRIGAN S.** *Principles of Forensic Toxicology.* (Levine BS, KERRIGAN S, eds.). Cham: Springer International Publishing; 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-42917-1>.
17. **Rohrig TP.** Introduction. In: *Postmortem Toxicology.* Elsevier; 2019:1-6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815163-1.00001-0>.
18. **Thomas WA.** *Science and Law: An Essential Alliance.* (Thomas WA, ed.). Routledge; 2019. <https://doi.org/10.4324/9780429305399>.
19. **De Vos P.** European materia medica in historical texts: Longevity of a tradition and implications for future use. *J Ethnopharmacol.* **2010**;132(1):28-47. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.035>.
20. **Stevenson A, Lindberg CA.** *New Oxford American Dictionary.* (Stevenson A, Lindberg CA, eds.). Oxford University Press; 2010. <https://doi.org/10.1093/acref/9780195392883.001.0001>.
21. **Smith S.** Poisons and Poisoners through the Ages. *Med Leg J.* **1952**;20(4):153-167. <https://doi.org/10.1177/002581725202000403>.
22. **Borzelleca JF.** Paracelsus: Herald of Modern Toxicology. *Toxicol Sci.* **2000**;53(1):2-4. <https://doi.org/10.1093/toxsci/53.1.2>.
23. **Campbell WA.** The history of the chemical detection of poisons. *Med Hist.* **1981**;25(2):202-203. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7012485>.
24. **Pappas AA, Massoll NA, Cannon DJ.** Toxicology: past, present, and future. *Ann Clin Lab Sci.* **1999**;29(4):253-262. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10528824>.
25. **TIAFT.** The International Association of Forensic Toxicologists. **2021.** <http://www.tiaft.org/>.
26. **Drug Enforcement Administration Department of Justice.** Schedules of controlled substances: extension of temporary placement of UR-144, XLR11, and AKB48 in schedule I of the Controlled Substances Act. Final order. *Fed Regist.* **2015**;80(94):27854-27856. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25985482>.
27. **Jones JT.** Advances in Drug Testing for Substance Abuse Alternative Programs. *J Nurs Regul.* **2016**;6(4):62-67. [https://doi.org/10.1016/S2155-8256\(16\)31009-2](https://doi.org/10.1016/S2155-8256(16)31009-2).
28. **Elliott SP, Stephen DWS, Paterson S.** The United Kingdom and Ireland association of forensic toxicologists forensic toxicology laboratory guidelines (2018). *Sci Justice.* **2018**;58(5):335-345. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2018.05.004>.
29. **Ferner RE.** Post-mortem clinical pharmacology. *Br J Clin Pharmacol.* **2008**;66(4):430-443. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2008.03231.x>.
30. **Harding-Pink D, Fryc O.** Assessing Death by Poisoning: Does the Medical History Help? *Med Sci Law.* **1991**;31(1):69-75. <https://doi.org/10.1177/002580249103100113>.
31. **Rohrig TP.** *Postmortem Toxicology Challenges and Interpretive Considerations.* ElsevierInc.; 2019. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-02336-4>.
32. **Dinis-Oliveira RJ, Vieira DN, Magalhães T.** Guidelines for Collection of Biological Samples for Clinical and Forensic Toxicological Analysis. *Forensic Sci Res.* **2016**;1(1):42-51. <https://doi.org/10.1080/20961790.2016.1271098>.
33. **Gören İE, Daglıoğlu N.** Postmortem Toksikolojide Safra Analizi. In: Özgünen T, ed. *Güncel Sağlık Bilimleri Çalışmaları 1.* Akademisyen Kitabevi; 2019:23-40.

34. Lappas NT, Lappas CM. Sample Handling. In: *Forensic Toxicology*. Elsevier; 2016:77-94. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799967-8.00006-2>.
35. Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi. 2020 Avrupa Uyuşturucu Raporu - Temel Sorunlar; 2020. <https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/13238/TD0420439TRN.pdf>.
36. KuKanich B, Wiese AJ. Opioids. In: *Veterinary Anesthesia and Analgesia*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2017:207-226. <https://doi.org/10.1002/9781119421375.ch11>.
37. Kerrigan S, Goldberger BA. Opioids. In: *Principles of Forensic Toxicology*. Cham: Springer International Publishing; 2020:347-369. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42917-1_22.
38. Dasgupta N, Beletsky L, Ciccarone D. Opioid Crisis: No Easy Fix to Its Social and Economic Determinants. *Am J Public Health*. **2018**;108(2):182-186. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2017.304187>.
39. Volkow ND, Collins FS. The Role of Science in Addressing the Opioid Crisis. *N Engl J Med*. **2017**;377(4):391-394. <https://doi.org/10.1056/NEJMs1706626>.
40. Compton WM, Valentino RJ, DuPont RL. Polysubstance use in the U.S. opioid crisis. *Mol Psychiatry*. **2021**;26(1):41-50. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-00949-3>.
41. McMillin GA, Johnson-Davis KL, Kelly BN, et al. Impact of the Opioid Epidemic on Drug Testing. *Ther Drug Monit*. **2021**;43(1):14-24. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000841>.
42. Trescot, Andrea M. M, Datta, Sukdeb M, Lee, Marion M, et al. Opioid Pharmacology. *Pain Physician*. **2008**. <https://doi.org/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18443637>.
43. Bicerano J, Karch M, Steven BF. *Drug Abuse Handbook*. (Karch M, FFFLM SB, eds.). CRC Press; 2006. <https://doi.org/10.1201/9781420003468>.
44. Rook EJ, van Ree JM, van den Brink W, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of High Doses of Pharmaceutically Prepared Heroin, by Intravenous or by Inhalation Route in Opioid-Dependent Patients. *Basic & Clin Pharmacol Toxicol*. **2006**;98(1):86-96. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_233.x.
45. Boerner U, Abbott S, Roe RL. The Metabolism of Morphine and Heroin in Man. *Drug Metab Rev*. **1975**;4(1):39-73. <https://doi.org/10.3109/03602537508993748>.
46. Rentsch K. Arterial and venous pharmacokinetics of intravenous heroin in subjects who are addicted to narcotics. *Clin Pharmacol Ther*. **2001**;70(3):237-246. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.117981>.
47. Rook E, Huitema A, Brink W, et al. Pharmacokinetics and Pharmacokinetic Variability of Heroin and its Metabolites: Review of the Literature. *Curr Clin Pharmacol*. **2006**;1(1):109-118. <https://doi.org/10.2174/157488406775268219>.
48. National Institute on Drug Abuse. HEROIN Research Report Series. *Res Rep*. **2007**;(June):1-8. <https://www.drugabuse.gov/download/37596/heroin-research-report.pdf?v=51a4d835474c19d304997b55486a00ec>.
49. Boix F, Andersen JM, Mørland J. Pharmacokinetic modeling of subcutaneous heroin and its metabolites in blood and brain of mice. *Addict Biol*. **2013**;18(1):1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2010.00298.x>.

50. **Jenkins AJ, Keenan RM, Henningfield JE, et al.** Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Smoked Heroin*. *J Anal Toxicol.* **1994**;18(6):317-330. <https://doi.org/10.1093/jat/18.6.317>.
51. **Skoppl G, Ganssmann B, Cone EJ, et al.** Plasma Concentrations of Heroin and Morphine-Related Metabolites after Intranasal and Intramuscular Administration. *J Anal Toxicol.* **1998**;21(2):105-111. <https://doi.org/10.1093/jat/21.2.105>.
52. **Gyr E, Brenneisen R, Bourquin D, et al.** Pharmacodynamics and pharmacokinetics of intravenously, orally and rectally administered diacetylmorphine in opioid dependents, a two-patient pilot study within a heroin-assisted treatment program. *Int J Clin Pharmacol Ther.* **2000**;38(10):486-491. <https://doi.org/10.5414/CP38486>.
53. **Rook EJ, Huitema ADR, van den Brink W, et al.** Population Pharmacokinetics of Heroin and its Major Metabolites. *Clin Pharmacokinet.* **2006**;45(4):401-417. <https://doi.org/10.2165/00003088-200645040-00005>.
54. **Kramer TH, Fine J, Ottomanelli G, et al.** Chasing the dragon: A wider perspective. *J Subst Abuse Treat.* **1991**;8(4):303. [https://doi.org/10.1016/0740-5472\(91\)90054-E](https://doi.org/10.1016/0740-5472(91)90054-E).
55. **Strang J, Griffiths P, Gossop M.** Heroin smoking by “chasing the dragon”: origins and history. *Addiction.* **1997**;92(6):673-684. <https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.1997.9266734.x>.
56. **Cone EJ, Holicky BA, Grant TM, et al.** Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intranasal “Snorted” Heroin. *J Anal Toxicol.* **1993**;17(6):327-337. <https://doi.org/10.1093/jat/17.6.327>.
57. **Girardin F.** Pharmacokinetics of high doses of intramuscular and oral heroin in narcotic addicts. *Clin Pharmacol Ther.* **2003**;74(4):341-352. [https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(03\)00199-1](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(03)00199-1).
58. **Ellison DH, Drummer O.** *Karch's Pathology of Drug Abuse.* CRC Press; 2015. <https://doi.org/10.1201/b18962>.
59. **Halbsguth U, Rentsch KM, Eich-Höchli D, et al.** Oral diacetylmorphine (heroin) yields greater morphine bioavailability than oral morphine: bioavailability related to dosage and prior opioid exposure. *Br J Clin Pharmacol.* **2008**;66(6):781-791. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2008.03286.x>.
60. **Lotsch J, Weiss M, Ahne G, et al.** Pharmacokinetic Modeling of M6G Formation after Oral Administration of Morphine in Healthy Volunteers. *Anesthesiology.* **1999**;90(4):1026-1038. <https://doi.org/10.1097/00000542-199904000-00016>.
61. **Klous MG, Brink W Van den, Ree JM Van, et al.** Development of pharmaceutical heroin preparations for medical co-prescription to opioid dependent patients. *Drug Alcohol Depend.* **2005**;80(3):283-295. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2005.04.008>.
62. **Kelly T.** *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. Fourth Edition.*; 2012. <https://doi.org/10.1080/00450618.2011.620006>.
63. **Karinen R, Andersen JM, Ripel A, et al.** Determination of Heroin and Its Main Metabolites in Small Sample Volumes of Whole Blood and Brain Tissue by Reversed-Phase Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol.* **2009**;33(7):345-350. <https://doi.org/10.1093/jat/33.7.345>.
64. **Goldberger BA, Cone EJ, Grant TM, et al.** Disposition of Heroin and Its Metabolites in Heroin-Related Deaths. *J Anal Toxicol.* **1994**;18(1):22-28. <https://doi.org/10.1093/jat/18.1.22>.
65. **Lin D-L, Chen C-Y, Shaw K-P, et al.** Distribution of Codeine, Morphine, and 6-Acetylmorphine in Vitreous Humor. *J Anal Toxicol.* **1997**;21(4):258-261. <https://doi.org/10.1093/jat/21.4.258>.

66. Wyman J, Bultman S. Postmortem Distribution of Heroin Metabolites in Femoral Blood, Liver, Cerebrospinal Fluid, and Vitreous Humor*. *J Anal Toxicol.* **2004**;28(4):260-263. <https://doi.org/10.1093/jat/28.4.260>.
67. Inturrisi CE, Max MB, Foley KM, et al. The Pharmacokinetics of Heroin in Patients with Chronic Pain. *N Engl J Med.* **1984**;310(19):1213-1217. <https://doi.org/10.1056/NEJM198405103101902>.
68. Smith PT, Hirst M, Gowdey CW. Spontaneous hydrolysis of heroin in buffered solution. *Can J Physiol Pharmacol.* **1978**;56(4):665-667. <https://doi.org/10.1139/y78-105>.
69. Lockridge O, Mottershaw-Jackson N, Eckerson HW, et al. Hydrolysis of diacetylmorphine (heroin) by human serum cholinesterase. *J Pharmacol Exp Ther.* **1980**;215(1):1-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7452476>.
70. Salmon AY, Goren Z, Avissar Y, et al. Human erythrocyte but not brain acetylcholinesterase hydrolyses heroin to morphine. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **1999**;26(8):596-600. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.1999.03090.x>.
71. Kamendulis LM, Brzezinski MR, Pindel E V, et al. Metabolism of cocaine and heroin is catalyzed by the same human liver carboxylesterases. *J Pharmacol Exp Ther.* **1996**;279(2):713-717. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8930175>.
72. Pindel E V., Kedishvili NY, Abraham TL, et al. Purification and Cloning of a Broad Substrate Specificity Human Liver Carboxylesterase That Catalyzes the Hydrolysis of Cocaine and Heroin. *J Biol Chem.* **1997**;272(23):14769-14775. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.23.14769>.
73. Satoh T, Taylor P, Bosron WF, et al. Current Progress on Esterases: From Molecular Structure to Function. *Drug Metab Dispos.* **2002**;30(5):488-493. <https://doi.org/10.1124/dmd.30.5.488>.
74. Welch RM, Brown A, Ravitch J, et al. The in vitro degradation of cisatracurium, the R, cis-R'-isomer of atracurium, in human and rat plasma. *Clin Pharmacol Ther.* **1995**;58(2):132-142. [https://doi.org/10.1016/0009-9236\(95\)90190-6](https://doi.org/10.1016/0009-9236(95)90190-6).
75. Satoh T, Hosokawa M. THE MAMMALIAN CARBOXYLESTERASES: From Molecules to Functions. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **1998**;38(1):257-288. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.257>.
76. Munger JS, Shi GP, Mark EA, et al. A serine esterase released by human alveolar macrophages is closely related to liver microsomal carboxylesterases. *J Biol Chem.* **1991**;266(28):18832-18838. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1918003>.
77. Saboori AM, Newcombe DS. Human monocyte carboxylesterase. Purification and kinetics. *J Biol Chem.* **1990**;265(32):19792-19799. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2246262>.
78. Hutchinson MR, Somogyi AA. Diacetylmorphine degradation to 6-monoacetylmorphine and morphine in cell culture: implications for in vitro studies. *Eur J Pharmacol.* **2002**;453(1):27-32. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)02365-8](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02365-8).
79. Karch, MD, FFFLM SB. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Abused Drugs*. 1th ed. (Karch, MD, FFFLM SB, ed.). CRC Press; 2007. <https://doi.org/10.1201/9781420054606>.
80. Skaer TL. Practice Guidelines for Transdermal Opioids in Malignant Pain. *Drugs.* **2004**;64(23):2629-2638. <https://doi.org/10.2165/00003495-200464230-00002>.
81. Hauser, Kurt F. Pathobiology of dynorphins in trauma and disease. *Front Biosci.* **2005**;10(1-3):216. <https://doi.org/10.2741/1522>.

82. **-Morley JE.** Anorexia of aging: physiologic and pathologic. *Am J Clin Nutr.* **1997**;66(4):760-773. <https://doi.org/10.1093/ajcn/66.4.760>.
83. **Bodnar RJ, Klein GE.** Endogenous opiates and behavior: 2004. *Peptides.* **2005**;26(12):2629-2711. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.06.010>.
84. **Lugo RA, Kern SE.** Clinical Pharmacokinetics of Morphine. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* **2002**;16(4):5-18. https://doi.org/10.1080/J354v16n04_02.
85. **Glare PA, Walsh TD.** Clinical Pharmacokinetics of Morphine. *Ther Drug Monit.* **1991**;13(1):1-23. <https://doi.org/10.1097/00007691-199101000-00001>.
86. **Oosten AW, Abrantes JA, Jönsson S, et al.** A Prospective Population Pharmacokinetic Study on Morphine Metabolism in Cancer Patients. *Clin Pharmacokinet.* **2017**;56(7):733-746. <https://doi.org/10.1007/s40262-016-0471-7>.
87. **Milne RW, Nation RL, Somogyi AA.** The Disposition of Morphine and Its 3- and 6-Glucuronide Metabolites in Humans and Animals, and the Importance of the Metabolites to the Pharmacological Effects of Morphine. *Drug Metab Rev.* **1996**;28(3):345-472. <https://doi.org/10.3109/03602539608994011>.
88. **Brunk SF, Delle M.** Morphine metabolism in man. *Clin Pharmacol Ther.* **1974**;16(1part1):51-57. <https://doi.org/10.1002/cpt1974161part151>.
89. **White JM, Irvine RJ.** Mechanisms of fatal opioid overdose. *Addiction.* **1999**;94(7):961-972.
90. **Osborne R, Joel S, Trew D, et al.** Morphine and metabolite behavior after different routes of morphine administration: Demonstration of the importance of the active metabolite morphine-6-glucuronide. *Clin Pharmacol Ther.* **1990**;47(1):12-19. <https://doi.org/10.1038/clpt.1990.2>.
91. **Kintz P, Mangin P, Lugnier AA, et al.** Toxicological Data after Heroin Overdose. *Hum Toxicol.* **1989**;8(6):487-489. <https://doi.org/10.1177/096032718900800609>.
92. **Levisky JA, Bowerman DL, Jenkins WW, et al.** Drug deposition in adipose tissue and skin: evidence for an alternative source of positive sweat patch tests. *Forensic Sci Int.* **2000**;110(1):35-46. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(00\)00146-8](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(00)00146-8).
93. **Anderson BJ, Holford NHG.** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of analgesic drugs. In: *Pain in Neonates and Infants*. 3rd Editio. Elsevier; 2007:115-130.
94. **Pragst F, Spiegel K, Leuschner U, et al.** Detection of 6-Acetylmorphine in Vitreous Humor and Cerebrospinal Fluid—Comparison with Urinary Analysis for Proving Heroin Administration in Opiate Fatalities. *J Anal Toxicol.* **1999**;23(3):168-172. <https://doi.org/10.1093/jat/23.3.168>.
95. **Pounder DJ.** The nightmare of postmortem drug changes. *Leg Med.* **1993**:163-191.
96. **Projean D, Baune B, Farinotti R, et al.** IN VITRO METABOLISM OF CHLOROQUINE: IDENTIFICATION OF CYP2C8, CYP3A4, AND CYP2D6 AS THE MAIN ISOFORMS CATALYZING N -DESETHYLCHLOROQUINE FORMATION. *Drug Metab Dispos.* **2003**;31(6):748-754. <https://doi.org/10.1124/dmd.31.6.748>.
97. **Vree TB, Wissen CPWGMV-V.** Pharmacokinetics and metabolism of codeine in humans. *Biopharm Drug Dispos.* **1992**;13(6):445-460. <https://doi.org/10.1002/bdd.2510130607>.

98. **Verwey-Van Wissen CPWGM, Koopman-Kimenai PM, Vree TB.** Direct determination of codeine, norcodeine, morphine and normorphine with their corresponding O-glucuronide conjugates by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* **1991**;570(2):309-320. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(91\)80534-J](https://doi.org/10.1016/0378-4347(91)80534-J).
99. **Dinis-Oliveira RJ.** Metabolism and metabolomics of opiates: A long way of forensic implications to unravel. *J Forensic Leg Med.* **2019**;61(December 2018):128-140. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2018.12.005>.
100. **Williams DG, Hatch DJ, Howard RF.** Codeine phosphate in paediatric medicine. *Br J Anaesth.* **2001**;86(3):413-421. <https://doi.org/10.1093/bja/86.3.413>.
101. **Thorn CF, Klein TE, Altman RB.** Codeine and morphine pathway. *Pharmacogenet Genomics.* **2009**;19(7):556-558. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32832e0eac>.
102. **Ceelen L, De Zwart L, Voets M, et al.** Postmortem redistribution of fentanyl in the rabbit blood. *Am J Forensic Med Pathol.* **2012**;33(2):119-123. <https://doi.org/10.1097/PAF.0b013e3181fbbb49>.
103. **He YJ, Brockmoller J, Schmidt H, et al.** CYP2D6 Ultrarapid Metabolism and Morphine/Codeine Ratios in Blood: Was it Codeine or Heroin? *J Anal Toxicol.* **2008**;32(2):178-182. <https://doi.org/10.1093/jat/32.2.178>.
104. **Meuldermans WE, Hurkmans RM, Heykants JJ.** Plasma protein binding and distribution of fentanyl, sufentanil, alfentanil and lofentanil in blood. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* **1982**;257(1):4-19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6214227>.
105. **Meuldermans WE, Hurkmans RM, Heykants JJ.** Plasma protein binding and distribution of fentanyl, sufentanil, alfentanil and lofentanil in blood. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* **1982**;257(1):4-19.
106. **Poklis A, Backer R.** Urine Concentrations of Fentanyl and Norfentanyl During Application of Duragesic(R) Transdermal Patches. *J Anal Toxicol.* **2004**;28(6):422-425. <https://doi.org/10.1093/jat/28.6.422>.
107. **Yaksh T, Wallace M.** Opioids, analgesia and pain management. In: Brunton L, Knollmann B, eds. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 13th ed. New York: McGraw-Hill; 2017:255-286.
108. **Labroo RB, Paine MF, Thummel KE, et al.** Fentanyl metabolism by human hepatic and intestinal cytochrome P450 3A4: implications for interindividual variability in disposition, efficacy, and drug interactions. *Drug Metab Dispos.* **1997**;25(9):1072-1080. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9311623>.
109. **Silva AR, Dinis-Oliveira RJ.** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of dextromethorphan: clinical and forensic aspects. *Drug Metab Rev.* **2020**;52(2):258-282. <https://doi.org/10.1080/03602532.2020.1758712>.
110. **GÖREN İE, DAĞLIOĞLU N.** High Risk in Energy Drinks: Caffeine. *Turkiye Klin J Forensic Med Forensic Sci.* **2019**;16(2):98-103. <https://doi.org/10.5336/forensic.2018-63828>.
111. **Brachtel D, Richter E.** Absolute bioavailability of caffeine from a tablet formulation. *J Hepatol.* **1992**;16(3):385. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(05\)80676-2](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(05)80676-2).
112. **Busto U, Bendayan R, Sellers EM.** Clinical Pharmacokinetics of Non-Opiate Abused Drugs. *Clin Pharmacokinet.* **1989**;16(1):1-26. <https://doi.org/10.2165/00003088-198916010-00001>.

113. **Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research.** *Caffeine for the Sustainment of Mental Task Performance*. Washington, D.C.: National Academies Press; 2001. <https://doi.org/10.17226/10219>.
114. **Bonati M, Latini R, Galletti F, et al.** Caffeine disposition after oral doses. *Clin Pharmacol Ther.* **1982**;32(1):98-106. <https://doi.org/10.1038/clpt.1982.132>.
115. **Liguori A.** Absorption and Subjective Effects of Caffeine from Coffee, Cola and Capsules. *Pharmacol Biochem Behav.* **1997**;58(3):721-726. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(97\)00003-8](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(97)00003-8).
116. **Koch-Weser J.** Acetaminophen. Koch-Weser J, ed. *N Engl J Med.* **1976**;295(23):1297-1300. <https://doi.org/10.1056/NEJM197612022952306>.
117. **Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, et al.** Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. *CNS Drug Rev.* **2006**;12(3-4):250-275. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2006.00250.x>.
118. **BiscevicTokic J, Tokic N, Ibrahimasic E.** Chromatography as Method for Analytical Confirmation of Paracetamol in Postmortem Material Together with Psychoactive Substances. *Acta Inform Medica.* **2015**;23(5):322. <https://doi.org/10.5455/aim.2015.23.322-325>.
119. **Ghanem CI, Pérez MJ, Manautou JE, et al.** Acetaminophen from liver to brain: New insights into drug pharmacological action and toxicity. *Pharmacol Res.* **2016**;109:119-131. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.02.020>.
120. **Forrest JAH, Clements JA, Prescott LF.** Clinical Pharmacokinetics of Paracetamol. *Clin Pharmacokinet.* **1982**;7(2):93-107. <https://doi.org/10.2165/00003088-198207020-00001>.
121. **Graham GG, Davies MJ, Day RO, et al.** The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology.* **2013**;21(3):201-232. <https://doi.org/10.1007/s10787-013-0172-x>.
122. **Sharma C, Long JH, Shah S, et al.** First evidence of the conversion of paracetamol to AM404 in human cerebrospinal fluid. *J Pain Res.* **2017**;Volume 10:2703-2709. <https://doi.org/10.2147/JPR.S143500>.
123. **Hodgman MJ, Garrard AR.** A Review of Acetaminophen Poisoning. *Crit Care Clin.* **2012**;28(4):499-516. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2012.07.006>.
124. **Larson AM.** Acetaminophen Hepatotoxicity. *Clin Liver Dis.* **2007**;11(3):525-548. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2007.06.006>.
125. **Rumack BH.** Acetaminophen Hepatotoxicity: The First 35 Years. *J Toxicol Clin Toxicol.* **2002**;40(1):3-20. <https://doi.org/10.1081/CLT-120002882>.
126. **Nelson S.** Molecular Mechanisms of the Hepatotoxicity Caused by Acetaminophen. *Semin Liver Dis.* **1990**;10(04):267-278. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1040482>.
127. **Lee WM.** Drug-Induced Hepatotoxicity. *N Engl J Med.* **2003**;349(5):474-485. <https://doi.org/10.1056/NEJMra021844>.
128. **Burke A, Smyth E, Fitzgerald G.** Analgesic-antipyretic agents; pharmacotherapy of gout. In: *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. New York: United Nations: McGraw-Hill; 2006:671-716.
129. **Yonemitsu K, Pounder DJ.** Postmortem changes in blood tranlylcypromine concentration: Competing redistribution and degradation effects. *Forensic Sci Int.* **1993**;59(2):177-184. [https://doi.org/10.1016/0379-0738\(93\)90157-6](https://doi.org/10.1016/0379-0738(93)90157-6).

130. **Dalpe-Scott M, Degouffe M, Garbutt D, et al.** A Comparison of Drug Concentrations in Postmortem Cardiac and Peripheral Blood in 320 Cases. *Can Soc Forensic Sci J.* **1995**;28(2):113-121. <https://doi.org/10.1080/00085030.1995.10757474>.
131. **Moriya F, Hashimoto Y.** Distribution of free and conjugated morphine in body fluids and tissues in a fatal heroin overdose: is conjugated morphine stable in postmortem specimens? *J Forensic Sci.* **1997**;42(4):736-740. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9243843>.
132. **Prouty RW, Anderson WH.** The forensic science implications of site and temporal influences on postmortem blood-drug concentrations. *J Forensic Sci.* **1990**;35(2):243-270. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2329329>.
133. **Forrest AR.** ACP Broadsheet no 137: April 1993. Obtaining samples at post mortem examination for toxicological and biochemical analyses. *J Clin Pathol.* **1993**;46(4):292-296. <https://doi.org/10.1136/jcp.46.4.292>.
134. **CORRY JEL.** Possible Sources of Ethanol Ante- and Post-mortem: its Relationship to the Biochemistry and Microbiology of Decomposition. *J Appl Bacteriol.* **1978**;44(1):1-56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1978.tb00776.x>.
135. **Melvin JR, Cronholm LS, Simson LR, et al.** Bacterial transmigration as an indicator of time of death. *J Forensic Sci.* **1984**;29(2):412-417. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6726153>.
136. **Sawyer WR, Forney RB.** Postmortem disposition of morphine in rats. *Forensic Sci Int.* **1988**;38(3-4):259-273. [https://doi.org/10.1016/0379-0738\(88\)90172-7](https://doi.org/10.1016/0379-0738(88)90172-7).
137. **Klein J, Koren G.** Postmortem Redistribution of Morphine in Rats. *Ther Drug Monit.* **1992**;14(6):461-463. <https://doi.org/10.1097/00007691-199212000-00004>.
138. **Gerostamoulos J, Drummer OH.** Postmortem redistribution of morphine and its metabolites. *J Forensic Sci.* **2000**;45(4):843-845. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10914581>.
139. **Skopp G, Ganssmann B, Mattern R, et al.** Postmortem distribution pattern of morphine and morphine glucuronides in heroin overdose. *Int J Legal Med.* **1996**;109(3):118-124. <https://doi.org/10.1007/BF01369670>.
140. **Bogusz MJ.** Postmortem distribution pattern of morphine and morphine glucuronides in heroin overdose. *Int J Legal Med.* **1997**;110(2):114-115. <https://doi.org/10.1007/s004140050047>.
141. **Moriya F, Hashimoto Y.** Distribution of free and conjugated morphine in body fluids and tissues in a fatal heroin overdose: is conjugated morphine stable in postmortem specimens? *J Forensic Sci.* **1997**;42(4):736-740.
142. **Prouty RW, Anderson WH.** The forensic science implications of site and temporal influences on postmortem blood-drug concentrations. *J Forensic Sci.* **1990**;35(2):243-270.
143. **Hilberg T, Bugge A, Beylich KM, et al.** An animal model of postmortem amitriptyline redistribution. *J Forensic Sci.* **1993**;38(1):81-90. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8426162>.
144. **Han E, Kim E, Hong H, et al.** Evaluation of postmortem redistribution phenomena for commonly encountered drugs. *Forensic Sci Int.* **2012**;219(1-3):265-271. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.01.016>.
145. **Darke S, Sunjic S, Zador D, et al.** A comparison of blood toxicology of heroin-related deaths and current heroin users in Sydney, Australia. *Drug Alcohol Depend.* **1997**;47(1):45-53. [https://doi.org/10.1016/S0376-8716\(97\)00070-7](https://doi.org/10.1016/S0376-8716(97)00070-7).

146. **Fish F, Hayes TS.** Hydrolysis of morphine glucuronide. *J Forensic Sci.* **1974**;19(3):676-683. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4604545>.
147. **Romberg RW, Lee L.** Comparison of the Hydrolysis Rates of Morphine-3-Glucuronide and Morphine-6-Glucuronide with Acid and β -Glucuronidase*. *J Anal Toxicol.* **1995**;19(3):157-162. <https://doi.org/10.1093/jat/19.3.157>.
148. **Hilberg T, Ripel A, Slørdal L, et al.** The extent of postmortem drug redistribution in a rat model. *J Forensic Sci.* **1999**;44(5):956-962. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10486948>.
149. **JUNG B, REIDENBERG M.** Interpretation of opioid levels: Comparison of levels during chronic pain therapy to levels from forensic autopsies. *Clin Pharmacol Ther.* **2005**;77(4):324-334. <https://doi.org/10.1016/j.clpt.2004.10.013>.
150. **Joynt BP, Mikhael NZ.** Sudden Death of a Heroin Body Packer. *J Anal Toxicol.* **1985**;9(5):238-240. <https://doi.org/10.1093/jat/9.5.238>.
151. **Monforte JR.** Some observations concerning blood morphine concentrations in narcotic addicts. *J Forensic Sci.* **1977**;22(4):718-724. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/617999>.
152. **Verger P, Rotily M, Prudhomme J, et al.** High mortality rates among inmates during the year following their discharge from a French prison. *J Forensic Sci.* **2003**;48(3):614-616. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12762532>.
153. **Binswanger IA, Stern MF, Deyo RA, et al.** Release from Prison — A High Risk of Death for Former Inmates. *N Engl J Med.* **2007**;356(2):157-165. <https://doi.org/10.1056/NEJMsa064115>.
154. **Tittarelli R, Di Luca NM, Pacifici R, et al.** Commentary - Heroin purity and adulteration: An updated snapshot from the Italian Early Warning System. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* **2020**;24(8):4461-4466. https://doi.org/10.26355/eurrev_202004_21028.
155. **Singh VM, Browne T, Montgomery J.** The Emerging Role of Toxic Adulterants in Street Drugs in the US Illicit Opioid Crisis. *Public Health Rep.* **2020**;135(1):6-10. <https://doi.org/10.1177/0033354919887741>.
156. **Albus U.** Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th edn). *Lab Anim.* **2012**. <https://doi.org/10.1258/la.2012.150312>.
157. **Scientific Working Group for Forensic Toxicology.** Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) standard practices for method validation in forensic toxicology. *J Anal Toxicol.* **2013**;37(7):452-474. <https://doi.org/10.1093/jat/bkt054>.
158. **Shepherd MF, Lake KD, Kamps MA.** Postmortem Changes and Pharmacokinetics: Review of the Literature and Case Report. *Ann Pharmacother.* **1992**;26(4):510-514. <https://doi.org/10.1177/106002809202600412>.
159. **Al-Asmari AI, Anderson RA.** Method for Quantification of Opioids and their Metabolites in Autopsy Blood by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol.* **2007**;31(7):394-408. <https://doi.org/10.1093/jat/31.7.394>.
160. **Kamphuis AEM, Borra LCP, van der Hulst R, et al.** Postmortem redistribution of morphine in humans: Important variables that might be influencing the central blood/peripheral blood ratio. *Forensic Sci Int.* **2021**;329:111094. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111094>.
161. **Moriya F, Hashimoto Y.** Postmortem diffusion of drugs from the bladder into femoral venous blood. *Forensic Sci Int.* **2001**;123(2-3):248-253. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(01\)00530-8](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00530-8).

162. **United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC).** Parameters for determining the origin of illicit heroin samples. *United Nations Off Drugs Crime*. **1985**. https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/bulletin/bulletin_1985-01-01_1_page005.html.
163. **Gill JR, Graham SM.** Ten years of “body packers” in New York City: 50 deaths. *J Forensic Sci*. **2002**;47(4):843-846. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12136995>.
164. **Arora S, Roxburgh A, Bruno R, et al.** A cross-sectional analysis of over-the-counter codeine use among an Australian sample of people who regularly inject drugs. *Drug Alcohol Rev*. **2013**;32(6):574-581. <https://doi.org/10.1111/dar.12059>.
165. **Monheit B, Pietrzak D, Hocking S.** Prescription drug abuse - A timely update. *Aust Fam Physician*. **2016**;45(12):862-866. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27903034>.
166. **Frost J, Løkken TN, Helland A, et al.** Post-mortem levels and tissue distribution of codeine, codeine-6-glucuronide, norcodeine, morphine and morphine glucuronides in a series of codeine-related deaths. *Forensic Sci Int*. **2016**;262:128-137. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.02.051>.
167. **Ferreirós N, Dresen S, Hermanns-Clausen M, et al.** Fatal and severe codeine intoxication in 3-year-old twins—interpretation of drug and metabolite concentrations. *Int J Legal Med*. **2009**;123(5):387-394. <https://doi.org/10.1007/s00414-009-0340-0>.
168. **Ai-asmari AI, Anderson RA.** Method for Quantification of Opioids and their Metabolites in Autopsy Blood by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry.pdf. **2007**;31(September).
169. **Cleary J, Mikus G, Somogyi A, et al.** The influence of pharmacogenetics on opioid analgesia: studies with codeine and oxycodone in the Sprague-Dawley/Dark Agouti rat model. *J Pharmacol Exp Ther*. **1994**;271(3):1528-1534. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7996467>.
170. **Tolliver SS, Hearn WL, Furton KG.** Evaluating the Relationship Between Postmortem and Antemortem Morphine and Codeine Concentrations in Whole Blood. *J Anal Toxicol*. **2010**;34(8):491-497. <https://doi.org/10.1093/jat/34.8.491>.
171. **Monheit B, Pietrzak D, Hocking S.** Prescription drug abuse - A timely update. *Aust Fam Physician*. **2016**;45(12):862-866.
172. **KUO C, HANIOKA N, HOSHIKAWA Y, et al.** Species difference of site-selective glucuronidation of morphine. *J Pharmacobiodyn*. **1991**;14(4):187-193. <https://doi.org/10.1248/bpb1978.14.187>.
173. **Rudd RA, Seth P, David F, et al.** Morbidity and Mortality Weekly Report Increases in Drug and Opioid-Involved Overdose Deaths — United States. *Morbidity Mortal Weekly Rep*. **2010**;65:1445-1452.
174. **-Jones H, Arms T.** Opioids: Literature Findings and Recommendations. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv*. **2018**;56(9):17-24. <https://doi.org/10.3928/02793695-20180703-01>.
175. **Jones CM, Einstein EB, Compton WM.** Changes in Synthetic Opioid Involvement in Drug Overdose Deaths in the United States, 2010-2016. *JAMA*. **2018**;319(17):1819. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.2844>.
176. **Gleba J, Kim J.** A Mechanism-Based Forensic Investigation into the Postmortem Redistribution of Morphine. *J Anal Toxicol*. **2020**;44(3):256-262. <https://doi.org/10.1093/jat/bkz093>.
177. **Rinaldi R, Negro F, Minutillo A.** The health threat of new synthetic opioids as adulterants of classic drugs of abuse. *Clin Ter*. **2020**;171(2):E107-E109. <https://doi.org/10.7417/CT.2020.2198>.

178. **Broséus J, Gentile N, Esseiva P.** The cutting of cocaine and heroin: A critical review. *Forensic Sci Int.* **2016**;262:73-83. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.02.033>.
179. **Chen S-L, Huang EY-K, Chow L-H, et al.** Dextromethorphan differentially affects opioid antinociception in rats. *Br J Pharmacol.* **2005**;144(3):400-404. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706086>.
180. **Wahlström A, Pacifici GM, Lindström B, et al.** Human liver morphine UDP-glucuronyl transferase enantioselectivity and inhibition by opioid congeners and oxazepam. *Br J Pharmacol.* **1988**;94(3):864-870. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1988.tb11598.x>.
181. **Barbera N, Busardò FP, Indorato F, et al.** The pathogenetic role of adulterants in 5 cases of drug addicts with a fatal outcome. *Forensic Sci Int.* **2013**;227(1-3):74-76. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.08.041>.



EKLER



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İsmail Ethem GÖREN

Unvanı : Araştırma Görevlisi

EĞİTİM :

Öğrenim / eğitim alınan kurum [tarih: başlangıç-bitiş]	Alınan diploma veya dereceler
Çukurova Üniversitesi-Fen Edebiyat Fakültesi (2006-2011)	Kimya Bölümü Lisans Eğitimi - Kimyager
Çukurova Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Adli Tıp Anabilim Dalı (2012- 2015)	Yüksek Lisans - Adli Tıp Bilim Uzmanlığı (MSc)
Çukurova Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Adli Tıp Anabilim Dalı (2015-2020)	Doktora (PhD) - Adli Toksikolog

Mesleki Deneyim : Araştırma Görevlisi, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri, Adli Tıp AD. (2015-Devam Ediyor).

Araştırma Alanları : Tıp, Sağlık Bilimleri, Adli Tıp, Adli Toksikoloji, Postmortem Toksikoloji, Analitik Kimya, Eczacılık, Temel Eczacılık Bilimleri, Farmasötik Toksikoloji, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik, Toksikokinetik.

Evlilik Durumu : Bekar

Yabancı Dil : İngilizce

Yüksek Lisans Tez Başlığı : İlaç Uygulanan Domuzların Postmortem Organ ve Kemiklerinde İlaç Dağılımının Belirlenmesi. 2015.

II. BİLİMSEL ARAŞTIRMA ve YAYINLAR

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

A1. Goren IE, Daglioglu N. G., Daglioglu YK, & Gülmen MK. (2020). Determination of drug distributions in decomposed and buried postmortem tissues and bones of pigs administered of drugs. *Forensic Toxicology*, 38(1), 129-140.

A2. Dengiz H, Daglioglu N, **Goren IE.** (2020). Assessment of recent alcohol consumption by detecting ethyl glucuronide and ethyl sulphate level among traffic accident patients. *Traffic injury prevention*, 1-4.

A3. Goren IE, Daglioglu N, Atasoy A, Asker S. Toxicological Analysis of Warfarin in an Adult Developing Diffuse Alveolar Hemorrhage: A Case Report and Literature Review. *Int J Sci Technol Res* **2020**;6:19–26. <https://doi.org/10.7176/JSTR/6-03-04>.

A4. Kacargil CU, Daglioglu N, **Goren IE.** Determination of Illicit Drugs in Dried Blood Spots by LC–MS/MS Method: Validation and Application to Real Samples. *Chromatographia* **2020**;83:885–92. <https://doi.org/10.1007/s10337-020-03907-x>.

A.5. Daglioglu, N, Guzel E.Y, Atasoy A. and **Gören İ.E.** Comparison of community illicit drug use in 11 cities of Turkey through wastewater-based epidemiology. *Environ Sci Pollut Res* (2020). <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11404-9>

A.6. Yavuz Guzel E, Atasoy A, **Gören İE,** Daglioglu N. Estimation of alcohol and nicotine consumption in 11 cities of Turkey using wastewater-based epidemiology. *Drug Test Anal.* **2020** Nov 17. doi: 10.1002/dta.2979. Epub ahead of print. PMID: 33201572.

A.7. Atasoy A., Dağlıoğlu N., **Gören İ.E.,** Girişbay A., Aslan R., Akgür S.A. Determination of Synthetic Cannabinoids in Randomly Urine Samples Collected from Probationers in Turkey *Forensic Science International*, cilt.1, sa.1, ss.1, **2021** (SCI Expanded İndekslerine Giren Dergi)

A.8. Çelik, S., Akbaba, M., Nazlıcan, E. **Gören İE,** et al. Association between occupational and environmental pesticide exposure in Cukurova region by hair and blood biomonitoring. *Environ Sci Pollut Res* (2021). <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15227-0>.

A9. Gören İ.E. and Dağlıoğlu N. Quetiapine Abuse in Illicit Drug Users or Sellers: To Screen or Not to Screen? *The Bulletin of Legal Medicine*, **2021**;1(26):85-91. <https://doi.org/10.17986/blm.1395>.

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:

- B1. Gören İE**, Daglioglu N. Development and Validation of an LC/MS/MS Method For Determination of New Psychoactive Drugs in Hair. 3rd Regional TIAFT Meeting in Turkey, Nevsehir/Turkey, 18-20 Oct 2018, (En iyi poster bildirisi ödülü).
- B2. Gören İE**, Aşker S, Daglioglu N. Warfarin Overdose in An Adult: Attempted Suicide Or Murder? 3rd Regional TIAFT Meeting in Turkey, Nevsehir/Turkey, 18-20 Oct 2018.
- B3.** Tolunay I, Daglioglu N, Tolunay O, **Gören İE**. Multiple Organ Failure Associated with Ecstasy: A Pediatric Case. 3rd Regional TIAFT Meeting in Turkey, Nevsehir/Turkey. 18-20 Oct 2018.
- B4.** Kacargil CU, Daglioglu N, **Gören İE**. Analysis of Illicit Drugs in Dried Blood Spots Using LC-MS/MS Method. 3rd Regional TIAFT Meeting in Turkey, 2018, Nevsehir/Turkey. 18-20 Oct 2018.
- B5.** Daglioglu N, Sahin M, Efeoglu P, **Gören İE**, Cekin N, Gulmen MK. Validation of an LC-MS-MS (QTRAP®) Method for the Rapid Screening and Identification of Drugs in Forensic Toxicology in Whole Blood Samples. 1st Regional TIAFT Meeting in Turkey, 8-10 May 2014, İzmir/Turkey.
- B6.** Kacargil CU, Dağlıoğlu N, **Gören İE**. Comparison of five different extraction solvents for analysis of illicit drugs in dried blood spots. TIAFT 2018, Gent, Belçika, 26 - 30 Ağustos 2018, ss.148.
- B7.** Dağlıoğlu N, Güzel E, Kilercioğlu S, **Gören İE**. Illicit drug consumption estimations obtained from wastewater analysis in city of Adana, Turkey. TIAFT 2018, Gent, Belçika, 26 - 30 Ağustos 2018, ss.148.
- B8.** Dağlıoğlu N., **Gören İ. E.**, Efeoglu Özşeker P. The identification of metabolites of the tryptamine derivative 5-MeO-MIPT in rat urines using LC-QTOF-MS. 8th International Conference on Medical Negligence and Litigation in Medical PRACTICE, 30 Eylül - 01 Ekim 2017.
- B9.** Dağlıoğlu N., Efeoglu Özşeker P., **Gören İ. E.**, Gülmen M. K. Drug of Abuse Testing in Blood Statistical Approach and Experimental Comparison Randox Evidence and LC MS MS. 2nd Regional TIAFT Meeting in Turkey, 30 Ekim - 02 Kasım 2016.
- B10.** Dağlıoğlu N., Efeoglu Özşeker P., **Gören İ. E.**, Gülmen M. K. Evaluation of Cases Admitted to Cukurova University Forensic Toxicology Laboratory during the

Period 2009-2014 June: A Retrospective Study. American Academy of Forensic Sciences 67th. Annual Scientific Meeting, Orlando, Amerika Birleşik Devletleri, 16-21 Şubat 2015, ss.1

B11. Efeoğlu Özşeker P., Dağlıoğlu N., **Gören İ. E.** Frequency of Alcohol and Drug of Abuse Observed in Drivers in Traffic Crash in Adana, Turkey. 2nd Regional TIAFT Meeting in Turkey, 30 Ekim - 02 Kasım 2016.

B12. Doger R., Efeoğlu Özşeker P., **Gören İ. E.**, Dağlıoğlu N. Akgur S.A. Development and Validation of LC–MS/MS Assay following SPE for Analysis of Amphetamine Type Stimulants (ATS) in Hair. 2nd Regional TIAFT Meeting in Turkey, 30 Ekim - 02 Kasım 2016.

C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

C1. **Gören İE**, Duysak Mİ, Dağlıoğlu N, Efeoğlu P, Gülmen MK. 2008 – 2012 Yılları Arasında Adli Toksikoloji Laboratuvarına Gelen Olguların Değerlendirilmesi, Cukurova Med J. **2013**;38(4):675-80.

C2. **Gören İE**, Dağlıoğlu N, Efeoğlu P, Gülmen MK. Kimyasal Savaş Ajanları ve Metabolitlerinin Biyolojik Örneklerde Adli Toksikolojik Analizi. Adli Tıp Dergisi, *J For Med.* 2014; 28(2): 154-163.

C3. **Gören İE**, Dağlıoğlu N. High Risk in Energy Drinks: Caffeine. *Türkiye Klin J Forensic Med Forensic Sci* **2019**; 16:98–103. <https://doi.org/10.5336/forensic.2018-63828>.

D. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

D1. **Gören İE**, Dağlıoğlu N, Efeoğlu P. Bölgemizde Satışı Yapılan Enerji İçeceklerinin Toksikolojik Açidan İncelenmesi, *14. Adli Bilimler Kongresi.* 11-14 Mayıs 2017, İzmir.

D2. Efeoğlu P, Dağlıoğlu N, **Gören İE**, Gülmen MK, Hilal A. Savunma silahı olarak kullanılan biber gazının toksikolojik değerlendirmesi: Bir olgu sunumu. Uluslararası katılımı *10. Anadolu Adli Bilimler Kongresi.* 30 Ekim-2 Kasım 2013, Malatya.

D3. Dağlıoğlu N, Açıkgöz N, **Gören İE**, Dıvrak D, Efeoğlu P, Gülmen MK. *Chrysomya Albiceps* (Diptera: Calliphoridae) Larvalarda Çoklu İlaç Analizi: Entomotoksikolojik Ön Çalışma. *10. Adli Bilimler Sempozyumu* 13-16 Kasım 2013, Ankara.

E. Kitap ve kitap bölümleri:

E1. Gören İ. E., Dağlıoğlu N. Postmortem Toksikolojide Safra Analizi. Güncel Sağlık Bilimleri Çalışmaları 1, Editör: Tuncay Özgünen, Akademisyen Kitapevi, Ankara, ss.23-40, 2019.

E2. Dağlıoğlu N, Gören İ. E. Zehirlenmelerde Alınan Biyolojik Numuneler: Alınması, Saklanması, Transferi, Emniyet ve Gözetim Zinciri. Acil Tıp Pratiğinde Klinik Toksikoloji, Editör: Zeynep Kekeç, EMA Tıp Kitabevi, İstanbul, ss.9-24, 2020.

Bilimsel Faaliyetler

- Editörler Kurulu Üyesi; Asia-Pacific Journal of Pharmacotherapy & Toxicology, 2021 - Devam Ediyor
- Editörler Kurulu Üyesi; International Journal of Environmental Monitoring and Analysis (Alan index), 2020 - Devam Ediyor
- Bilimsel Hakemlik; Environmental Science And Pollution Research (SCI Expanded Dergi), 2020
- Bilimsel Hakemlik; International Archives of Occupational And Environmental Health (SCI-E Kapsamındaki Dergi), Ağustos 2021

Katıldığı Kurs, Eğitim ve Seminerler

1. 2020 Online Symposium: Current Trends in Forensic Toxicology: Redefining Excellence in Forensic Science (CFSRE): (8-12 June 2020)
 - Postmortem Changes
 - Inter-Individual Variations and Toxicology Interpretation
 - Innovations in Analysis
 - Challenges of Cannabis and Cannabinoids
 - Court Testimony
2. The Operation Training for Liquid Chromatograph Triple Quadrupole Mass Spectrometer, Shimadzu Corporation, Oct 05-09 2015, Kyoto, Japan.
3. 1st Regional TIAFT Meeting in Turkey, May 8-10 2014, İzmir, Turkey.
4. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 8-16 Nisan 2013, Adana.

5. Kromatografide Son Gelişmeler ve MSMS Teknolojisi, 8 Nisan 2014. Ant Teknik, Adana.
6. Kromatografi ve Spektroskopi Çözümleri, 26 Mart 2014, Netkim, Adana.
7. Occupational Safety Training Course (İř Güvenlięi Eğitimi), Nisan 2011, Sega Safety, Adana.

Üyesi Olduğu Meslek Kuruluřları

1. The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)
2. International Association of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology
3. International Alliance of Clinical and Forensic Toxicologists
4. Adli ve Klinik Toksikoloji Derneği