



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ENDOJEN GHB SEVİYESİNİN TÜRK POPÜLASYONUNDA BİREYLERDEN ALINAN SAÇ ÖRNEKLERİNDE BELİRLENMESİ

Şareza BUCUKA

DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Halide Nihal AÇIKGÖZ

ANKARA

2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENDOJEN GHB SEVİYESİNİN TÜRK POPÜLASYONUNDA
BİREYLERDEN ALINAN SAÇ ÖRNEKLERİNDE
BELİRLENMESİ

Şareza BUCUKA

DİSİPLİNERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

“Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından #TYL-2024-3236 nolu proje kapsamında ve TÜBİTAK 2210 A Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı tarafından desteklenmiştir.”

DANIŞMAN

Doç. Dr. Halide Nihal AÇIKGÖZ

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. Nebile Dağlıoğlu

ANKARA

2025

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**Endojen GHB Seviyesinin Türk Popülasyonunda Bireylerden Alınan Saç Örneklerinde Belirlenmesi**” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Şareza BUCUKA

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalında

Şareza BUCUKA tarafından hazırlanan “Endojen GHB Seviyesinin Türk Popülasyonunda Bireylerden Alınan Saç Örneklerinde Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16.01.2025

Prof. Dr. Nergis CANTÜRK
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Halide Nihal AÇIKGÖZ
Ankara Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Taner AKAR
Gazi Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen Aktan
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Endojen GHB seviyesinin Türk Popülasyonunda Bireylerden Alınan Saç Örneklerinde Belirlenmesi

Gama- hidroksibütirat veya gama-hidroksibütirik asit (GHB) memelilerde merkezi sinir sisteminde (MSS) ve dokularda bulunan endojen bir moleküldür. Gama-hidroksibütirat (GHB) yapısal olarak nörotransmitter gama-aminobütirik asit (GABA) ile ilişkilidir ve insan beyinde GABA'nın bir metaboliti olarak bulunmaktadır. Endojen GHB konsantrasyonları saç, kan, idrar gibi örneklerde tespit edilebilmektedir. Bu konsantrasyonlar cinsiyete, yaşa, popülasyona göre değişebilmektedir. GHB maddesini adli analizlerde önemli kılan nokta vücutta doğal olarak üretilen bir madde olmakla birlikte, harici alımlarda kötüye kullanımı olan bir madde olmasıdır. GHB'nin endojen varlığı yani her insanda bulunması, kullanıcı olmayan kişilerden alınan örneklerde dahi pozitif sonuç verebilmesi analitik sonucun yorumlanmasını zorlaştırır. Adli olaylarda saç, kan, idrar gibi örneklerde yapılan analizlerde vücuda dışarıdan alınan (eksojen) miktar ile kişinin vücudunda var olan (endojen) miktarın ayrımını yapmak önemlidir.

Yüksek lisans tez projemizde Türk popülasyonunda 18 yaş üstü sağlıklı ve herhangi bir madde kullanıcısı olmayan 73 bireyden toplanan saç örnekleri, endojen GHB seviyesinin belirlenmesi amacıyla sıvı kromatografi- tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile analiz edilmiştir. Tez çalışmamız Türk popülasyonunda endojen GHB seviyelerini araştıran ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Analiz sonucunda endojen GHB konsantrasyonları 0.965-5.434 ng/mg (ortalama 1.857 ± 0.860) aralığında bulunmuştur. Elde edilen endojen GHB seviyelerinin, yaş, cinsiyet ve sigara kullanımı gibi faktörlere bağlı olarak anlamlı bir farklılık gösterip göstermediği istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Kadın ve erkek bireylerin endojen GHB seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Sigara kullanan bireyler ve kullanmayan bireyler arasında da anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Yaş grupları arasında yapılan analizlerde, 18-29 yaş grubu ile 30-50 yaş grubu ve 50 yaş üstü bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Anahtar Sözcükler: Adli Toksikolojik Analiz, Endojen GHB, LC-MS/MS, Saç Örnekleri

SUMMARY

Determination of Endogenous GHB Levels in Hair Samples from Individuals in the Turkish Population

Gamma-hydroxybutyrate or gamma-hydroxybutyric acid (GHB) is an endogenous molecule found in the central nervous system (CNS) and tissues of mammals. Structurally related to the neurotransmitter gamma-aminobutyric acid (GABA), GHB is present in the human brain as a metabolite of GABA. Endogenous GHB concentrations can be detected in biological samples such as hair, blood, and urine, and these concentrations may vary depending on factors such as sex, age, and population. The forensic significance of GHB lies in its dual nature: it is a naturally produced substance in the body and also a drug with a potential for abuse. The endogenous presence of GHB in all individuals complicates the interpretation of analytical results, as even samples from non-users may yield positive results. In forensic cases, distinguishing between exogenous GHB intake and endogenous levels in samples such as hair, blood, and urine is critical.

In this master's thesis project, hair samples collected from 73 healthy individuals over the age of 18 with no history of substance use within the Turkish population. These samples were analyzed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) to determine endogenous GHB levels. This thesis represents the first study investigating endogenous GHB levels in the Turkish population. The analysis revealed that endogenous GHB concentrations ranged between 0.965 and 5.434 ng/mg, with a mean value of 1.857 ± 0.860 ng/mg. The association between endogenous GHB levels and factors such as age, sex, and smoking status was statistically evaluated. No significant differences were observed in endogenous GHB levels between male and female participants or between smokers and non-smokers. However, statistically significant differences were detected among age groups, specifically between individuals aged 18–29, 30–50, and over 50 ($p < 0.05$).

Keywords: Endogenous GHB, Forensic Toxicological Analysis, Hair Samples, LC-MS/MS

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1.GİRİŞ	1
1.1. GHB'nin Tarihçesi ve Kullanım Alanları	1
1.2. Yasal Düzenlemeler ve Kullanım Yaygınlığı	3
1.3. Farmakodinamik	6
1.4. Farmakokinetik	7
1.5. Toksisite ve Bağımlılık	9
1.6. Endojen Konsantrasyonlar	12
1.7. Analitik Yöntemler	15
1.8. Amaç	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM	20
2.1. Gereçler	20
2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	20
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	20
2.2. Yöntem	21
2.2.1. Örneklem Seçimi	22
2.2.2. Örneklerin Toplanması	23
2.2.3. Cihaz Optimizasyonu	23
2.2.4. Yöntem Validasyonu	25
2.2.4.1. Kalibrasyon Modeli	25
2.2.4.2. Tespit Sınırı (limit of detection/ LOD) ve Tayin Sınırı (limit of quantification/LOQ)	26
2.2.5. Gerçek Örneklerin Hazırlanması	26
2.2.5.1. Ekstraksiyon Metodu	26
2.2.6. İstatiksel Analiz	27
3. BULGULAR	28
3.1. Kromatogramlar	28
3.2. Kalibrasyon Modeli	29
3.2.1. Tespit Sınırı (Limit of Detection/LOD) ve Tayin Sınırı (Limit of Quantification/LOQ)	30
3.3. Türk Popülasyonunda Endojen GHB Konsantrasyonları	30
3.3.1. Cinsiyetlere Göre Konsantrasyonlar	30
3.3.2. Yaş Gruplarına Göre Konsantrasyonlar	31
3.3.3. Sigara Kullanımına Göre Konsantrasyonlar	33

3.3.4. Tüm Grupların Genel Değerlendirmesi	34
3.4. Validasyon Parametreleri	35
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
KAYNAKÇA	44
EKLER	54
Ek-1. Etik Kurul Onayı	54
Ek.2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu	55
ÖZGEÇMİŞ	56



ÖNSÖZ

Gama-hidroksibütirik asit (GHB) memelilerde merkezi sinir sisteminde (MSS) ve dokularda bulunan endojen bir moleküldür. GHB maddesini adli analizlerde önemli kılan nokta vücutta doğal olarak üretilen bir madde olmakla birlikte, harici alımlarda kötüye kullanımı olan bir madde olmasıdır. Çalışmamızda, endojen seviyeler ve eksojen maruziyetten kaynaklanan seviyeler arasında ayırım yapılmasına yardımcı olması amacıyla Türk popülasyonundaki endojen GHB seviyeleri saç örneklerinde belirlenmiştir.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde emeği olan kıymetli danışman hocalarım Doç. Dr. Halide Nihal AÇIKGÖZ ve Prof. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU'na teşekkür ederim. Çalışmanın laboratuvar ve analiz kısımlarında destek ve yardımları için Öğr. Gör. İsmail Ethem GÖREN'e ve Öğr. Gör. Aslı Atasoy AYDIN'a, Yüksek lisans eğitimim boyunca desteği için Arş. Gör. Dr. Kenan Can TOK'a teşekkür eder ve minnettarlığımı sunarım.

Tez çalışmasının gerçekleşmesine maddi olarak katkı sağlayan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Son olarak her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Şareza BUCUKA

Aralık-2024

SİMGELER VE KISALTMALAR

1,4-BD	1,4-Butandiol
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BHB	Beta-Hidroksibütirat
BM	Birleşmiş Milletler
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GABA	Gama-Aminobutirik Asit
GBL	Gama-Bütrolakton
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
GHB	Gama-Hidroksibütirik Asit
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi
LLE	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon
LOD	Tespit Sınırı (Limit of detection)
LOQ	Tayin Sınırı. (Limit of quantification)
MRM	Çoklu Reaksiyon İzleme
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PMI	Ölümden Sonraki Zaman Aralığı
TCA	Trikloroasetik Asit
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Gama -Hidroksibutirik Asidin Kimyasal Yapısı (Who, 2012).	3
Şekil 1.2. Gbl Ve 1,4-Bd'nin Ghb'ye Dönüşümü Adh: Alkol Dehidrogenaz Aldh: Aldehit Dehidrogenaz (Andresen Ve Ark., 2011'den Esinlenilmiştir.)	5
Şekil 2.1. Yöntemin Temel Aşamaları	21
Şekil 3.1. Total Kromatogram	28
Şekil 3.2. GHB Kromatogramı (2 ng/mg)	28
Şekil 3.3. İnternal Standart (Ghb-D6) Kromatogramı (2 ng/mg)	29
Şekil 3.4. GHB Maddesine Ait Kalibrasyon Grafiği	29
Şekil 3.5. Cinsiyete Göre Ghb (ng/mg) Konsantrasyonları	31
Şekil 3.6. Yaş Gruplarına Göre GHB Konsantrasyon Dağılımı	32
Şekil 3.7. Sigara Kullanımı Ve Cinsiyetin Endojen GHB Konsantrasyonlarına Göre Kıyaslanması	33
Şekil 3.8. Sigara Kullanımının Ve Yaş Gruplarının Endojen GHB Seviyelerine Göre Kıyaslanması	34

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Gradient Elüsyon A Ve B Mobil Fazlarına Göre Akış Ve Zaman	23
Çizelge 2.2. LC-MS/MS Cihaz Parametreleri	24
Çizelge 2.3. GHB Ve GHB-d6'nın Mrm Çiftleri	24
Çizelge 3.1. Yaş, Cinsiyet Ve Sigara Kullanımına Göre Ghb Konsantrasyonları (ng/mg)	35
Çizelge 4. Endojen GHB Seviyelerini Saç Örneklerinde Belirleyen Araştırmalar	38



1.GİRİŞ

1.1. GHB'nin Tarihçesi ve Kullanım Alanları

Gama-hidroksibütirat (GHB), merkezi sinir sisteminde (MSS) endojen olarak üretilen kısa zincirli bir yağ asididir ve inhibitör nörotransmitter Gama-aminobütirik asidin (GABA) bir öncüsü ve metaboliti olarak işlev görür (Busardò ve ark., 2015). GHB ilk olarak 1874 yılında Alexander Saytzeff tarafından sentezlenmiştir (Saytzeff, 1874). 1960'lı yıllara gelindiğinde vücutta üretilen endojen bir bileşik olduğu keşfedilmiştir (Bessman ve Fishbein, 1963). Yirminci yüzyılın ortalarında Prof. Henri Laborit ve ekibi tarafından anestezik ve sedatif özellikleri nedeniyle anestezi araştırmalarında kullanılmıştır (Laborit, 1964). Ancak 1980'li yıllara gelindiğinde GHB kötüye kullanımı ile dikkat çekmeye başlamıştır.

1980'li yıllarda GHB, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) diyet takviyesi olarak satışa sunulmuş ve özellikle vücut geliştiriciler tarafından, büyüme hormonlarının salınımını artırarak anabolik etkiler sağladığı gerekçesiyle kullanılmıştır (Andresen ve ark., 2011). Ayrıca, GHB'nin afrodizyak etkisi, kilo kaybına neden olması ve uyku düzenleyici özelliklere sahip olması, tüketimini yaygınlaştırmıştır (Gallimberti ve ark., 2000; Fuller ve Hornfeldt, 2003). Ancak, bu dönemde çok sayıda zehirlenme vakası raporlanmış ve sonucunda ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), 1990 yılında GHB'nin tüketiciye satışını yasaklamıştır (ElSohly ve Salamone, 1999). Yasal yasaklamalara rağmen, GHB'nin kötüye kullanımı engellenememiştir. "Sıvı ekstazi" veya "sıvı x" sokak isimleri ile satılan GHB, özellikle eğlence ortamlarında ve özel etkinliklerde bir parti ilacı olarak popülerlik kazanmıştır. GHB, alkolle birlikte tüketilerek yaygın kullanıma ulaşmış ve bu eğilim, ABD'den Avrupa'ya hızla yayılmıştır (Andresen ve ark., 2011). GHB, genellikle küçük plastik şişelerde şeffaf ve tatsız bir sıvı formda bulunmaktadır (Madea ve Mußhoff, 2009). Düşük dozlarda alımı, hafif düzeyde öfori, anksiyetenin azalması, sosyal etkileşimde artış ve cinsel dürtüde yükselme gibi etkiler

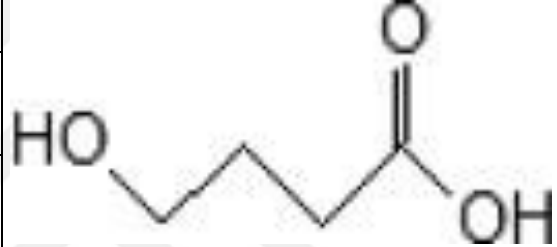
göstermektedir (Brown ve ark., 2011). Ancak, yüksek dozlarda tüketimi, kullanıcının derin bir uyku haline girmesine neden olmaktadır (Nicholson ve Balster, 2001).

Güçlü sedatif ve amnezi etkileri nedeniyle GHB, uyuşturucuyla kolaylaştırılmış cinsel saldırı vakalarında kullanım yaygınlığı ile dikkat çekmektedir (Elian, 2000; Stillwell, 2002; Kintz ve ark., 2003; Negrusz ve Gaensslen, 2003; Abramowitz, 2004). Bu tür vakalar, mağdurun gönüllü ya da zorla ilaç kullanımına maruz kalmasıyla ortaya çıkmaktadır (ElSohly, 2001). GHB, bireyin ilacı aldıktan sonraki 10-15 dakika içinde derin bilinçsizliğe geçmesine neden olmaktadır (Galloway ve ark., 2000). GHB kullanımı sırasında oluşan hafıza kaybı, mağdurun yaşananları hatırlayamamasına yol açarak saldırganın olayı gizlemesine yardımcı olmaktadır. GHB'nin bu tür vakalarda suçlular tarafından tercih edilmesinin nedenleri sadece bunlarla sınırlı değildir. Yapısal olarak GHB'nin renksiz, kokusuz ve hafif sabunsu tadı olması ve bu tadın kolaylıkla maske edilebilmesi, kolayca içeceklerle eklenebilir olması da tercih edilmesine neden olmaktadır (Steuer ve ark., 2021).

GHB, ayrıca çeşitli terapötik alanlarda potansiyel faydalar sunan bir maddedir. Bu alanlar; Obstetrik kullanım, anestezi uygulamaları, narkolepsi ve katapleksi tedavisi, alkol ve opiyat yoksunluğu tedavisi şeklinde sıralanabilir (WHO, 2012). Klinik çalışmalar, GHB'nin uyku felci ve halüsinasyon gibi semptomları azaltmada etkili olduğunu göstermiştir (Broughton ve Mamelak, 1979; Lammers ve ark., 1993). Sodyum oksibat olarak bilinen GHB'nin sodyum tuzu, 2002 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından narkolepsi ile ilişkili katapleksi tedavisinde kullanılmak üzere onaylanmıştır (Xyrem International Study Group, 2005). Xyrem®, ülkemizde de kırmızı reçeteli ilaçlar sınıfındadır (Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, 2021).

GHB'nin alkol yoksunluğundaki etkileri, tremorları hafifletmesi ve alkol tüketimini azaltması ile dikkat çekmiştir (Gallimberti ve ark., 1989; Nimmerrichter ve ark., 2002). Etken maddesi GHB'nin sodyum tuzunun sıvı formülasyonu olan Alcover®, İtalya ve Avusturya'da alkol yoksunluk sendromunu hafifletmek ve alkol bağımlılığını tedavi etmek için kullanılmaktadır (Busardo ve Jones, 2015). Opiyat yoksunluğu tedavisinde ise GHB'nin etkilerine ilişkin veriler sınırlıdır (Gallimberti ve ark., 1993). Çeşitli

çalışmalarda GHB'nin dopamin seviyelerini düzenleyerek yoksunluk semptomlarını hafifletebileceği  ne sürülse de bu bulguların klinik önemi tartışmalıdır (Rosen ve ark., 1996). GHB'nin klinik uygulamaları, potansiyel faydaları ve kötüye kullanım riski arasında dikkatli bir denge kurulmasını gerektirmektedir. GHB'nin bağımlılık potansiyeli, solunum depresyonu, bilinç kaybı ve koma gibi yan etkilerinin riski nedeniyle teröpatik kullanımı sınırlıdır (Abid ve ark., 2022). Bununla birlikte, narkolepsi ve katapleksi tedavisindeki etkinliği ve alkol yoksunluk sendromlarında gösterdiği başarı, GHB'nin terapötik potansiyelini ortaya koymaktadır.

IUPAC Adı: 4-Hidroksibutirik asit	
Moleküler Formülü: C4H8O3	
Moleküler Ağırlığı: 104.11g/mol	
Kaynama Noktası: 193-197 �C	

şekil 1.1. Gama -Hidroksibutirik asidin kimyasal yapısı (WHO, 2012).

1.2. Yasal Düzenlemeler ve Kullanım Yaygınlığı

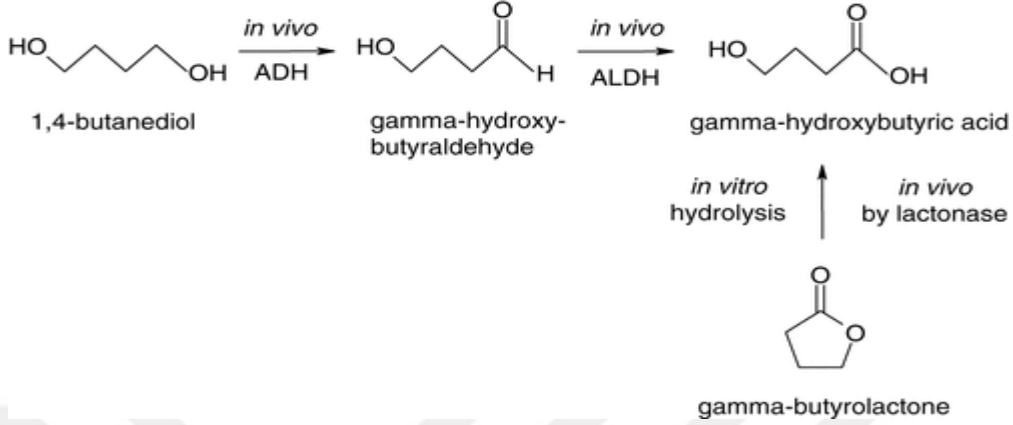
GHB'nin eğlence amaçlı kötüye kullanımı ve uyuşturucu ile kolaylaştırılmış suçlarda kullanım yaygınlığı, farklı ülkelerde çeşitli yasal düzenlemeler ve kısıtlamaların hayata geçirilmesine neden olmuştur (Carter ve ark., 2009). ABD Gıda ve İlaç Dairesi, GHB'yi Kontrollü Maddeler Listesi'nin I. Kategorisine Mart 2000'de eklemiştir (Andresen ve ark., 2011). Bu yasa "Hillory J. Farias and Samantha Reid Date-Rape Drug Prohibition Act of 2000" yasası olarak da bilinir (Weiss ve Colyer, 2010). Ayrıca ABD'de, etken maddesi GHB'nin sodyum tuzu olan Xyrem  ilacının kötüye kullanımını ve dağıtımını önlemek için geniş kapsamlı bir risk yönetim programı olan Xyrem Success Programı mevcuttur. Bu program, Xyrem  ilacının dağıtımını sınırlamaktadır ve doktorlar ile hastaları ilacın doğru kullanımı konusunda eğiterek kötüye kullanımın önlenmesini sağlamaktadır (Andresen ve ark., 2011).

Mart 2001'de GHB, Birleşmiş Milletler (BM) 1971 Psikotrop Maddeler Sözleşmesi'nin IV. Kategorisine eklenmiş ve bu durum, tüm Avrupa Birliğine (AB) üye ülkeleri GHB'yi psikotrop maddelerle ilgili mevzuatları çerçevesinde kontrol altına alma yükümlülüğü altına sokmuştur (Busardo ve Jones, 2015). Türkiye 1971 BM Psikotrop Maddeler Sözleşmesi'ne taraf olan ülkelerden biridir (Sarigüzel, 2020). Bu bağlamda GHB Türkiye'de kontrol altına alınarak yasadışı üretimi, dağıtımı ve ticareti yasaklanan maddeler arasındadır (Kleiman ve Hawdon, 2011). Bunların yanında GHB'nin sodyum tuzu olan sodyum oksibat, Avrupa İlaç Ajansı tarafından izlenen kontrollü bir maddedir (Tay ve ark., 2022).

GHB'nin üretimi ve satışına yönelik uluslararası düzenlemeler, kötüye kullanımın GHB'nin öncülleri olan GBL (gama-bütirolakton) ve 1,4-BD'ye (1,4-bütandiol) kaymasına neden olmuştur (Hillebrand ve ark., 2008; Wood ve ark., 2011). GBL ve 1,4-BD, GHB ile benzer etkilere sahip olduğundan dolayı kullanıcılar tarafından tercih edilmektedir ve vücutta kısa sürede GHB'ye dönüştürülmektedir (Lettieri ve Fung, 1978). Ayrıca GBL'den GHB üretimi de basit bir sentez yolu ile yapılabilir. Üretim süreci, GBL'nin sodyum hidroksit ve su ile eşit oranlarda oda sıcaklığında karıştırılması ile başlayıp sona ermektedir (Hearne ve ark., 2017).

GBL ve 1,4-BD, otomotiv, tekstil, elektronik, ilaç ve polimer üretimi gibi çeşitli endüstrilerde yaygın olarak kullanılan endüstriyel maddelerdir. 1,4-BD ve GBL maddelerinin kötüye kullanım potansiyelleri nedeniyle, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu maddeleri uluslararası sözleşmenin I. Kategorisi altında sınıflandırılarak kontrol edilmesini önermiş ancak birçok üye devlet, bu kimyasalların kontrol altına alınmasının endüstriyel uygulamalara yönelik bir engel teşkil edeceğini öne sürerek kabul etmemiştir (Tay ve ark., 2022). Bu durum nedeniyle, GBL ve 1,4-BD uluslararası bir kontrol mekanizmasına tabi değildir; ancak, bazı ülkelerde endüstriyel kullanım haricinde kötüye kullanılmasını önlemek amacıyla çeşitli düzenleyici önlemler uygulanmaktadır (Andresen ve ark., 2011). Örneğin, Fransa'da GBL ve 1,4-BD'nin kamuya saf halde veya konsantrasyonu yoğunluğunun %10'undan fazla olan ürünler içinde (100 mL üzeri kaplarda) sunulması veya satışı yasaklanmıştır (Dufayet

ve ark., 2023). GBL Türkiye’de öncül olarak kontrol edilen maddeler arasındadır (Corkery ve ark., 2015).



Şekil 1.2. GBL ve 1,4-BD'nin GHB'ye dönüşümü ADH: Alkol dehidrogenaz ALDH: Aldehit dehidrogenaz (Andresen ve ark., 2011'den esinlenilmiştir.)

Gamma-hidroksibutirik asit (GHB) kullanımının yaygınlığı ile ilgili veriler sınırlıdır. Kullanım oranı farklı popülasyonlar ve bölgeler arasında değişiklik göstermektedir. Avrupa genelinde özellikle Hollanda, Norveç, İspanya ve Birleşik Krallık'ta daha yüksek seviyelerde kullanım bildirilmiştir (Kunst ve Gebhardt, 2018; Kennedy ve ark., 2021; Ugarte ve ark., 2023). 2022 yılında yayımlanan Avrupa uyuşturucu raporunda 18 Avrupa ülkesi, 60 kilografa ve 16,000 litreye karşılık gelen GHB (gama-hidroksibütirat) veya prekürsörü (öncülü) GBL (gama-bütürolakton) için 2000 adet ele geçirme vakası bildirilmiştir (EMCDDA, 2022). Ayrıca GHB'nin, 2020 yılında Euro-DEN Plus hastaneleri tarafından bildirilen beşinci en yaygın uyuşturucu olduğu belirtilmiştir (Dufayet ve ark., 2023).

Türkiye’de GHB “Ci(G)” olarak adlandırılmaktadır (Ozer vd., 2017). Ülkemizde GHB maddesinin kötüye kullanımı ile ilgili yeterince araştırma ve veri bulunmamaktadır. 2001 yılında anket yolu yapılan uluslararası bir araştırma da Türkiye’deki Adana, Ankara, Diyarbakır, İstanbul, İzmir ve Samsun illerinde yaşayan 15-17 yaş arası 6149 öğrencinin yüzde 1’i GHB kullandığını belirtmiş, bunların yüzde 4’ü GHB maddesini arkadaşlarıyla kullandığını söylemiştir (Hibell vd., 2004).

Günümüze daha yakın bir tarihte yayımlanan Bulut'un (2019) olgu sunumunda ise yirmi beş yaşında erkek bir kullanıcının üç yıldır ekstazi, esrar ve GHB kullandığı belirtilmiştir. Kullanıcı GHB'yi kendini daha mutlu hissetmek, kaygı ve sıkıntıdan kurtulmak, insanlarla daha rahat iletişim kurabilmek, özgüvenli hissetmek, cinsel açıdan performans artışı olarak sıralamış ve GHB'nin diğer maddelere göre daha ucuz ve kolay ulaşılabilir olduğunu ifade etmiştir (Bulut, 2019).

1.3. Farmakodinamik

GHB, insan beyinde, kanda, idrarda ve periferik dokularda doğal olarak bulunan bir hidroksi karboksilik asittir (Roth ve Giarman, 1970). Hem GABA'nın metabolik bir ürünü hem de öncül maddesi olarak işlev görmektedir (Maitre, 1997). GHB, esas olarak merkezi sinir sistemi üzerinde bir depresan olarak etki gösterir ve doza bağlı olarak sedasyondan anesteziye kadar değişen etkiler üretmektedir. Düşük dozlarda öfori ve rahatlama sağlarken, yüksek dozlarda ciddi sedasyon, solunum depresyonu ve komaya yol açabilmektedir (Morse ve ark., 2012). GHB'nin performans ve davranış üzerindeki etkileri, alımdan 15-30 dakika sonra başlamaktadır ve doza bağlı olarak 1 ila 6 saat arasında sürebilmektedir. GHB'nin doz-etki eğrisi oldukça dik bir yapıya sahiptir, bu da küçük doz artışlarının davranışsal etkilerde ve toksisite seviyelerinde orantısız artışlara yol açtığı anlamına gelmektedir (Busardo ve Jones, 2015). Eğlence amaçlı kullanımda, genellikle 1-2 gramlık GHB dozları öfori ve iyilik hali hisleri oluşturmak için yeterli olmaktadır. Ancak, daha yüksek dozlarda tüketim bireylerde uyku haline neden olmakta ve kandaki GHB konsantrasyonu 100 mg/L'nin üzerine çıktığında konuşma ve motor koordinasyonda belirgin bozulmalar ortaya çıkmaktadır (Nicholson ve Balster, 2001). Bu etkiler büyük ölçüde, GHB'nin beyindeki spesifik reseptörlerle, özellikle GABA_B reseptörü ile etkileşiminden kaynaklanmaktadır (Kaupmann ve ark., 2003).

GABA_B reseptörleri ile etkileşim, GHB'nin farmakodinamiğinde merkezi bir öneme sahiptir. GHB, bu reseptörlerde kısmi agonist aktivite göstererek beyin inhibitör nörotransmisyonunu düzenlemektedir (Liechti ve ark., 2016). Bu etkileşim, GHB'nin sedatif ve anksiyolitik etkilerine katkıda bulunur ve özellikle alkol gibi diğer merkezi

sinir sistemi depresanları ile kullanıldığında solunum depresyonu riskini artırır (Jung ve ark., 2023) GHB'nin nörofarmakolojik etkileri arasında motor aktivite ve bilişsel işlevlerde değişiklikler yer almaktadır. Hayvan çalışmalarında, GHB'nin azalmış motor aktiviteye ve öğrenme ile hafıza üzerinde bozulmalara yol açtığı gösterilmiştir; bu durumun GABAerjik sistemler üzerindeki etkilerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Castelli ve ark., 2004). Ayrıca, glutamat reseptörleri (NMDA) ile etkileşimin, hayvan çalışmalarında gözlemlenen GHB kaynaklı katapleksi etkisini açıklayabileceği düşünülmektedir (Koek ve France, 2008).

Bunun yanında GHB'nin belirli nörosteroidlerin salınımını artırdığı ve bu nörosteroidlerin, GHB'nin davranışsal etkilerinin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. (Kaupmann ve ark., 2003). Farmakokinetik özellikler, GHB'nin farmakodinamiği üzerinde önemli bir rol oynar. GHB hızla emilerek kan-beyin bariyerini geçer ve etkilerinin hızlı bir şekilde başlamasına neden olur (Frisoni ve ark., 2023). Temel olarak böbrek yoluyla elimine edilen GHB, yüksek dozlarda doğrusal olmayan farmakokinetik özellikler sergilemektedir (Morse ve ark., 2012). Bu doğrusal olmayan farmakokinetik, özellikle doz ve etki arasındaki ilişkinin net olmadığı aşırı doz vakalarında, GHB'nin etkilerinin yorumlanmasını zorlaştırmaktadır (Dave ve ark., 2017). GHB'nin diğer maddelerle, özellikle alkolle olan etkileşimleri geniş çapta incelenmiştir. GHB ve alkolün birlikte alınması, sedatif etkilerin artmasına, solunum depresyonu riskinin yükselmesine ve aşırı doz olasılığının artmasına neden olabilmektedir. (Thai ve ark., 2006; Jung ve ark., 2023).

1.4. Farmakokinetik

GHB, oral yolla alındığında gastrointestinal sistemden hızlı ve etkin bir şekilde emilir. Emilim süreci, GHB'nin yüksek lipofilik özelliği ve düşük moleküler ağırlığı sayesinde kolaylaşmaktadır (Busardo ve Jones, 2015). Yapılan çalışmalar, GHB'nin farmakokinetiğinin doğrusal olmadığını ve doz miktarı ile diğer maddelerin, özellikle etanolün, varlığından etkilendiğini göstermektedir (Liechti ve ark., 2016). Düşük dozlarda GHB'nin elimine edilmesi büyük ölçüde metabolik yollarla gerçekleşirken, yüksek dozlarda böbreklerden atılım daha belirgin bir rol oynamaktadır (Felmlee ve

ark., 2010). GHB farmakokinetiğindeki doğrusal olmayan yapı, kapasite sınırlı emilim ile açıklanmaktadır. Bu, doz arttıkça emilim verimliliğinin azaldığı anlamına gelmektedir ve özellikle yüksek dozlarda GHB'nin etkilerinin tahmin edilmesini zorlaştırabilmektedir (Lam ve ark., 2010).

GHB, gastrointestinal sistemden emildikten sonra vücutta geniş bir şekilde dağılım göstermektedir. Bu bileşiğin yüksek dağılım hacmi (Vd), dokulara kapsamlı bir şekilde penetre olduğunu göstermektedir (Busardò ve Jones, 2019). GHB'nin yaklaşık 4.7 olan pKa değeri, fizyolojik pH koşullarında büyük ölçüde iyonize olmasına neden olmaktadır. Bu iyonizasyon durumu, bileşiğin biyolojik zarları geçme kapasitesini ve vücut dokuları arasında dağılımını etkileyebilmektedir (Follman ve Morris, 2019). Özellikle, GHB'nin kan-beyin bariyerini geçişi, monokarboksilat taşıyıcıları (MCT'ler) aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu taşıyıcı sistemler, GHB'nin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkilerinin oluşumunda kritik bir rol oynamaktadır ve bu süreç, GHB'nin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Wang ve ark., 2008).

GHB, vücutta başlıca karaciğer tarafından metabolize edilir ve bu süreç, GHB'nin enzimatik olarak süksinik semialdehite ve ardından süksinata dönüşmesini içermektedir (Bhattacharya ve Boje, 2007). GHB metabolizması, doyumluk kinetiği ile karakterize edilmektedir; bu durum, metabolik enzimlerin yüksek konsantrasyonlarda doyum hale gelmesi nedeniyle, belirli bir eşik dozdan sonra farmakokinetik süreçlerin doğrusal olmayan bir seyir izlemesine yol açmaktadır (Felmlee ve ark., 2018). Daha yüksek dozlarda, GHB'nin metabolik yollarındaki doyumluk nedeniyle metabolik klerens oranı azalır, bu da plazma konsantrasyonlarının daha uzun süre yüksek kalmasına neden olmaktadır. Bu özellik, GHB'nin farmakokinetik profilinin incelenmesini ve doz-yanıt ilişkisinin anlaşılmasını karmaşık hale getirmektedir (Wang ve ark., 2006).

GHB'nin vücuttan eliminasyonu esas olarak böbrekler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Düşük dozlarda, alınan GHB'nin büyük bir kısmı karaciğerde metabolize edilerek süksinata dönüştürülür ve yalnızca küçük bir bölümü (%1-2) değişmeden idrarla

atılmaktadır (Busardò ve Jones, 2019). Ancak, yüksek dozlarda metabolik yolların doygun hale gelmesi nedeniyle, renal klerens (böbreklerden atılım) daha baskın bir eliminasyon yolu haline gelir. Bu, doz arttıkça metabolik sistemlerin kapasitelerinin sınırlı olmasından kaynaklanmaktadır (Felmlee ve ark., 2010). GHB'nin yarı ömrü oldukça kısa olup genellikle 0.5 ile 1 saat arasında değişir. Bu kısa yarı ömür, farmakokinetik çalışmalar sırasında plazma örneklerinin zamanında toplanmasını gerektirmektedir ve doğru sonuçların elde edilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Busardò ve Jones, 2019).

GHB'nin farmakokinetik profili, özellikle etanol gibi diğer maddelerle eş zamanlı kullanıldığında önemli ölçüde değişebilmektedir. Araştırmalar, GHB ve etanolün birlikte alındığında, GHB'nin biyoyararlanımını artırdığını, zirve plazma konsantrasyonlarını yükselttiğini ve eliminasyon yarı ömrünü uzattığını göstermektedir (Liechti ve ark., 2016). Bu etkileşim, GHB'nin farmakokinetik özelliklerini daha karmaşık hale getirerek, plazma konsantrasyonlarının daha uzun süre yüksek kalmasına yol açabilmektedir. Eğlence amaçlı kullanım sırasında çoklu madde tüketiminin yaygın olduğu düşünüldüğünde, bu tür etkileşimlerin anlaşılması, GHB'nin toksik etkilerinin değerlendirilmesi ve potansiyel risklerin yönetimi açısından son derece önemlidir.

1.5. Toksisite ve Bağımlılık

GHB zehirlenmesi, alınan dozun büyüklüğüne ve eş zamanlı kullanılan diğer maddelere bağlı olarak değişkenlik gösteren bir dizi klinik semptomla kendini belli etmektedir. En yaygın belirtiler arasında belirgin sedasyon, solunum depresyonu, bradikardi (kalp hızında yavaşlama), hipotansiyon (düşük kan basıncı) ve hipotermi (vücut sıcaklığında düşüş) bulunmaktadır (Gunja ve ark., 2008). GHB'nin toksik etkilerinin temelinde, farmakodinamik özellikleri ve metabolik süreçleri yer almaktadır. GHB, merkezi sinir sistemi üzerindeki etkilerini esas olarak GABA_B reseptörlerine bağlanarak gösterir. Bu reseptörlerde kısmi agonist olarak işlev görmesi, inhibitör nöro transmisyonu artırarak MSS depresyonuna yol açmaktadır (Follman ve Morris, 2022). Bu depresan etkiler, sedasyon, solunum

depresyonu ve bilinç kaybı gibi semptomlarla kendini göstermektedir. Bununla birlikte, GHB'nin karaciğerde hızlı bir şekilde süksinik semialdehite metabolize edilmesi ve bu metabolitin trikarboksilik asit (TCA) döngüsüne entegre edilmesi, metabolik yolların doygun hale gelmesine ve toksik birikimlerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Galicia ve ark., 2019).

GHB'nin diğer MSS depresanlarıyla, özellikle etanol ile alınması, toksisiteyi önemli ölçüde artıran bir etkileşim yaratmaktadır (Heier ve ark., 2022). Etanol, GHB'nin farmakokinetik ve farmakodinamik profilini değiştirerek plazma konsantrasyonlarının daha uzun süre yüksek kalmasına ve solunum depresyonu riskinin ciddi oranda artmasına neden olmaktadır (Rodriguez-Cruz ve Morris, 2021). Araştırmalar, GHB ve etanolün birlikte alınmasının, her iki maddenin tek başına alındığında ölümcül olmayan dozlarda dahi ölümcül etkilere yol açabileceğini göstermektedir (Liakoni ve ark., 2016; Hockenhull ve ark., 2017).

GHB bağımlılığının nörobiyolojik temelleri, GABA_B reseptörleri ile etkileşimi ve dopaminerjik sistem üzerindeki etkileri ile yakından ilişkilidir. GHB'nin mezolimbik dopamin yollarında dopamin salınımını artırdığı, bunun ödül ve pekiştirme mekanizmalarına katkıda bulunarak bağımlılık potansiyelini artırdığı gösterilmiştir (von Theobald ve ark., 2017). Gama-hidroksibütirat bağımlılığının yaygınlığı, sistematik izleme çalışmaları ve uzun vadeli takip eksiklikleri nedeniyle tam olarak belirlenememiştir (Kamal ve ark., 2016). GHB bağımlılığının Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'daki kesin oranları bilinmemektedir ancak özellikle anksiyete, depresyon ve duygu durum bozuklukları gibi eşlik eden psikiyatrik hastalıkları bulunan bireylerde bu maddenin bağımlılık potansiyelinin arttığı belirtilmiştir (Kamal ve ark., 2017). Bunun yanında Hollanda'da yapılan kapsamlı bir araştırmada, GHB kullanan ve bu nedenle profesyonel yardım arayışına giren bireylerin sayısının, 2007 yılında her 100.000 kişide 4 iken, 2014 yılına gelindiğinde her 100.000 kişide 48'e yükseldiği belirtilmiştir (Van Laar ve ark., 2010). Aynı çalışmada, bağımlılık tedavi merkezlerinde GHB detoksifikasyonu amacıyla tedavi altına alınan hasta sayısının, 2008 yılında 63 kişi iken 2015 yılında 837'ye ulaştığı belirtilmiş ve bu artışın, bağımlılık tedavisi alan toplam bireyler içerisindeki oranının %0,1'den %1,2'ye

yükseldiği rapor edilmiştir. Eğlence amaçlı GHB kullanımı, özellikle belirli alt kültürlerle ilişkilendirilmekte olup, genellikle cinsel deneyimleri artırmak amacıyla tercih edilmektedir (Palamar ve Halkitis, 2006). Araştırmalar, GHB kullanıcılarının bu maddeyi sıkça ekstazi veya metamfetamin gibi diğer maddelerle karıştırarak etkilerini artırmaya çalıştıklarını ortaya koymaktadır (Uys ve Niesink, 2005; Barker ve ark., 2007). Bu tür kombinasyonlar, aşırı doz ve bağımlılık riskini artırdığı gibi, çapraz bağımlılık gibi sorunlara yol açarak tedavi sürecini daha da karmaşık hale getirmektedir (Uys ve Niesink, 2005).

GHB yoksunluğu, şiddetli semptomlarla karakterizedir. GHB'nin etkisinin hızlı başlaması ($T_{max} = 25-40$ dk) ile kısa yarı ömrü ($T_{1/2} = 30-60$ dk) nedeniyle, kullanıcılar yoksunluk semptomlarını önlemek için genellikle her 2-3 saatte bir GHB tüketmektedirler (Dijkstra ve ark., 2017). GHB yoksunluğunda sıkça görülen belirtiler arasında anksiyete, titreme, terleme, uykusuzluk ve psikomotor ajitasyonu bulunmaktadır (Wolf ve ark., 2021). Yoksunluk belirtileri genellikle son dozdan sonraki saatler içinde başlamakta ve birkaç gün boyunca devam ederek detoksifikasyon sürecini zorlaştırmaktadır (von Theobald ve ark., 2017). Bazı vakalarda belirtiler üç haftaya kadar sürebilmektedir, bu da GHB'nin uzun süreli fiziksel bağımlılık potansiyelini ortaya koymaktadır (Wojtowicz ve ark., 2008).

GHB bağımlılığı ve yoksunluğunun tedavisi, multidisipliner bir yaklaşım gerektiren karmaşık bir süreçtir. Geleneksel detoksifikasyon yöntemleri arasında benzodiazepinlerin kullanımı yaygın olmakla birlikte, bu tedavi yönteminin her hastada aynı derecede etkili olmadığı belirtilmiştir (Ghio ve ark., 2014). Benzodiazepinlerin GHB yoksunluk belirtilerini yeterince hafifletemediği ve bu nedenle alternatif tedavilerin araştırıldığı belirtilmiştir (Beurmanjer ve ark., 2020). Örneğin, bir GABA_B reseptör agonisti olan baklofen, GHB yoksunluk belirtilerinin yönetiminde etkili bir seçenek olarak değerlendirilmektedir (Habibian ve ark., 2019). Bununla birlikte Beurmanjer ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, farmasötik GHB ile gerçekleştirilen detoksifikasyonun, benzodiazepin azaltımına kıyasla daha az şiddetli yoksunluk belirtilerine neden olabileceğini göstermiştir. Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada, şiddetli GHB yoksunluğu vakalarında tiyopental koma kullanımının bir

tedavi seçeneği olarak önerilmiştir çünkü tiyopentalinin farmakolojik özellikleri sayesinde, merkezi sinir sisteminde sedasyon ve nöroprotektif etkiler sağlayarak, yoksunluk belirtilerinin kontrol altına alınmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (Vos ve ark., 2021). Kontrollü bir şekilde farmasötik GHB kullanımı da özellikle benzodiazepin tedavisine direnç gösteren yoksunluk semptomlarının yönetiminde, etkili olduğu görülen tedavi yöntemlerinden biridir (De Jong ve ark., 2012; Meyer ve ark., 2014; van Noorden ve ark., 2015). Örneğin Hollanda'da, farmasötik GHB (Xyrem®) kullanılarak yapılan detoksifikasyon uygulamaları, bu yöntemin potansiyel etkinliğini destekleyen olumlu sonuçlar sunmuştur (van Noorden ve ark., 2015).

1.6. Endojen Konsantrasyonlar

Endojen gama-hidroksibütirik asit düzeylerinin araştırılması hem doğal bir metabolit hem de kötüye kullanılan bir madde olması nedeniyle, adli toksikoloji alanında önemli bir odak noktası haline gelmiştir. İnsanlarda GHB'nin endojen konsantrasyonları genellikle düşük düzeylerde seyrederek. Çeşitli çalışmalarda bu seviyelerin, kullanılan metodolojiye ve incelenen popülasyona bağlı olarak idrarda 0,3-10 mg/L, kanda 0,5-2,3 mg/L , saçta 0.1-12 ng/mg aralığında olduğu rapor edilmiştir (Capote ve ark., 2015; Paul ve ark., 2006; Busardò ve Jones, 2018). Bu bulgular, özellikle adli toksikolojide, endojen ve eksojen GHB kaynaklarını ayırt edebilmek için uygun eşik değerlerin belirlenmesinin kritik önem taşıdığını göstermektedir (Busardò ve Jones, 2018; Steuer ve ark., 2023).

Endojen GHB düzeyleri, diyet, metabolik aktivite, yaş ve diğer dışsal faktörler gibi çeşitli değişkenlerden etkilenebilmektedir. Örneğin, etanol tüketiminin karaciğer ve beyinde GHB düzeylerini artırdığı, bu durumun farmakokinetik bir etkileşimle GHB'nin etkilerini artırabileceği gösterilmiştir (Thai ve ark., 2006). Bunun yanı sıra, yaşın endojen GHB seviyeleri üzerindeki etkisi çeşitli çalışmalarla incelenmiştir. LeBeau ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırma, yaş ile idrardaki GHB konsantrasyonları arasında ters bir ilişki bulunduğunu belirtmiştir (LeBeau ve ark.,

2006). Benzer şekilde cinsiyetlere göre endojen seviyelerin farklılık gösterdiğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (Shi ve ark., 2016; Vaiano ve ark., 2016).

Ek olarak, biyolojik örneklerin toplanma ve saklanma yöntemleri de ölçülen GHB seviyelerini etkileyebilir. Kim ve arkadaşları, örneklerin taşıma sırasında veya uygun olmayan saklama koşullarında in vitro GHB üretiminin artabileceğini ve bu durumun idrardaki GHB seviyelerini yapay olarak yükseltebileceğini vurgulamıştır (Kim ve ark., 2022). Bu bağlamda, biyolojik örneklerin analizinde standardize protokollerin uygulanması, doğru değerlendirme için kritik önem taşımaktadır.

GHB'nin endojen olarak bulunması, klinik ve adli değerlendirmelerde doğru yorum yapılmasını zorlaştırmaktadır. Elliott, biyolojik sıvılarda ölçülen GHB seviyelerinin yorumlanmasının, özellikle şüpheli aşırı doz veya zehirlenme vakalarında güçlük yarattığını belirtmiştir (Elliott, 2004). Sağlıklı bireylerde, endojen GHB konsantrasyonlarının tipik olarak kan ve idrarda 10 mg/L'nin altında olduğu belirtilmektedir. Bu eşik değerler, endojen ve eksojen GHB kaynaklarını ayırt etmede bir referans noktası olarak kullanılabilir (Elliott, 2004).

Adli toksikoloji bağlamında, özellikle ölüm sonrası analizlerde, GHB'nin doğal kaynaklı mı yoksa dışarıdan alım sonucu mu oluştuğunun belirlenmesi önemlidir. Garff ve arkadaşları, farklı biyolojik matrislerde GHB konsantrasyonlarının kantitatif olarak belirlenmesinin, doğal ve dış kaynaklı seviyeler arasında ayırım yapılmasına yardımcı olabileceğini vurgulamıştır (Garff ve ark., 2017). Adli ve klinik değerlendirmeler için, GHB konsantrasyonları için numune bazlı eşik değerlerin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Araştırmalar, saçta tespit edilen GHB konsantrasyonlarının genellikle düşük seviyelerde olduğunu ve bu durumun hem vücudun doğal üretimini hem de potansiyel dışsal maruziyeti yansıtabileceğini göstermektedir. Kintz ve arkadaşları, sağlıklı bireylerde saçtaki endojen GHB konsantrasyonlarının 0.5 ila 12.0 ng/mg arasında değiştiğini ve bu seviyelerin bireylerin saç rengi veya cinsiyetiyle anlamlı bir ilişki göstermediğini bildirmiştir (Stout ve ark., 2010). Bu çalışma, endojen GHB

seviyelerinin genetik veya çevresel faktörlerden bağımsız olarak nispeten sabit olduğunu öne sürmektedir. Benzer şekilde, Gouille ve arkadaşları da saç örneklerinde GHB'nin endojen seviyelerini doğrulamış ve bu konsantrasyonların, doğal metabolik süreçlerden veya çevresel maruziyetten kaynaklanabileceğini belirtmiştir (Gouille ve ark., 2003). Endojen GHB'nin saçta birikimi, biyolojik metabolizma ve saç büyüme dinamikleri ile doğrudan ilişkilidir. GHB'nin vücutta GABA metabolizması yoluyla üretildiği ve bu süreçte oluşan düşük konsantrasyonların kan dolaşımı yoluyla saç köklerine taşındığı bilinmektedir. Bu bağlamda, saç örnekleri, uzun dönemli birikimlere dair bilgi sağlaması açısından diğer biyolojik örneklerden ayrılmaktadır.

GHB'nin saçta tespit edilmesi, özellikle adli toksikolojik analiz sonuçlarının yorumlanmasında değerli bir araç olarak kullanılmaktadır. Örneğin, Busardò ve arkadaşları, cinsel saldırıya maruz kalan bir mağdurdan alınan saç örneklerini segmental analiz yöntemiyle incelemiş ve saç gövdesinin farklı bölgelerinde ortalama 0.73 ± 0.03 ng/mg GHB konsantrasyonu tespit etmiştir (Busardò ve ark., 2016). Segmental analiz, GHB'nin zaman içindeki maruziyetini değerlendirmede önemli bir yöntemdir. Çalışmanın sonuçları, bu konsantrasyonların diğer çalışmalarda bildirilen endojen seviyeler aralığında olduğunu göstermiştir. Bu, maruziyetin endojen ve eksojen kaynaklarını ayırt etmek için kapsamlı bir analiz gerektiğine işaret etmektedir. Adli toksikolojik analizlerde GHB'nin saçta tespit edilmesi, özellikle madde kötüye kullanımı veya cinsel saldırı gibi durumlarda geçmişe dönük bir inceleme yapılmasına olanak tanır. Ancak, bu verilerin yorumlanmasında bazı sınırlamalar bulunmaktadır. GHB'nin saçta doğal olarak bulunmasının yanı sıra çevresel faktörler, analiz yöntemlerindeki farklılıklar ve bireysel biyolojik değişkenlikler de tespit edilen konsantrasyonların doğru bir şekilde yorumlanmasını zorlaştırabilir.

Gama-hidroksibütirat, hem endojen üretimi hem de dışarıdan alımı ile ilişkili karmaşık bir metabolik profile sahiptir. Richard ve arkadaşlarının çalışması, GHB'nin ölüm sonrası dönemde biyolojik örneklerdeki seviyelerinin artabileceğini, bunun da metabolik süreçlerin ölüm sonrası devam etmesinden kaynaklanabileceğini öne sürmüştür (Richard ve ark., 2005). Bu durum, adli toksikolojide GHB konsantrasyonlarının doğru bir şekilde yorumlanmasını zorlaştırmakta, çünkü ölüm

sonrası artışlar her zaman önceden kullanımın bir göstergesi olmayabilir ve bunun yerine ölüm sonrası sentezi yansıtabilir.

GHB'nin metabolizması, belirli dehidrojenazlar aracılığıyla süksinik aside dönüşümünü içerir. Bu süreç, GHB'nin vücutta enerji metabolizmasında yer alan Krebs döngüsüne katılmasına olanak tanır (Liechti ve ark., 2016). Ancak, ölüm sonrası dönemde, metabolik enzimlerin aktif kalması nedeniyle GHB'nin metabolizması değişken bir şekilde devam edebilir. Liechti ve arkadaşları, GHB'nin diğer ilaçların varlığıyla metabolik süreçlerinin etkileşime girdiğini ve bu durumun GHB'nin biyolojik örneklerdeki konsantrasyonlarını etkileyebileceğini belirtmiştir.

Castro ve arkadaşlarının çalışması, ölüm sonrası dönemde GHB'nin biyolojik dokularda nasıl davrandığını anlamının, ölüm zamanı tahminlerinde önemli bilgiler sağlayabileceğini göstermiştir (Castro ve ark., 2016). Bu çalışmada, GHB'nin ölüm sonrası biyolojik matrislerdeki bozulma ve dönüşüm süreçlerinin, ölüm sonrası interval (PMI) tahminlerinin doğruluğunu artırabileceği vurgulanmıştır. Örneğin, kan ve saç gibi farklı biyolojik örneklerin analizi, GHB'nin dokular arasındaki dağılımını ve metabolizmasını karşılaştırarak daha kesin bir PMI değerlendirmesi yapılmasına olanak tanıyabilir.

1.7. Analitik Yöntemler

Biyolojik numunelerde GHB tespiti ve kantitatif analizi hem klinik hem de adli toksikoloji için kritik öneme sahiptir. Terapötik ve eğlence amaçlı kullanım potansiyeline sahip olan GHB analizlerinde, endojen seviyeler ile eksojen maruziyetin ayırt edilmesinin önemi nedeniyle doğru tespit için güçlü analitik yöntemlerin uygulanmasını gerektirmektedir. Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), biyolojik sıvılarda GHB'nin analizi için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bu teknik, volatilitiyi ve tespit edilebilirliği artırmak amacıyla türevlendirme işlemini takiben GHB konsantrasyonlarının hassas bir şekilde tespit edilmesini sağlamaktadır (Couper ve Logan, 2000). Analitik doğruluğun artırılmasında iç standartların

kullanımı da önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle döteryumlu iç standartlar, GHB analizi sırasında metodolojik hataları minimize etmektedir. Elliott (2004) tarafından yapılan çalışmalar, GHB-d6 gibi döteryumlu iç standartların kullanılmasının, özellikle ölüm sonrası (postmortem) örneklerde miktar tayinindeki doğruluğu ve güvenilirliği önemli ölçüde artırdığını göstermiştir.

Sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE), GHB'nin karmaşık biyolojik matrislerden izole edilmesine olanak tanıyan yaygın bir numune hazırlama tekniğidir. Bu işlem, genellikle bir organik çözücü ile bir sulu faz arasında GHB'nin ayrışmasını içerir ve bu sayede analitin konsantrasyonu ve saflığı analiz öncesinde artırılır (Stout ve ark., 2010). GHB'nin düşük endojen konsantrasyonları ve diğer biyolojik bileşiklerle etkileşim potansiyeli, analitik tekniklerin yüksek hassasiyet ve seçicilikle uygulanmasını gerekli kılmaktadır. LC-MS/MS'nin çoklu reaksiyon izleme (MRM) yeteneği, karmaşık biyolojik ortamlar arasında GHB'nin seçici olarak tespit edilmesine olanak tanımaktadır.

Steuer ve ark. (2021) yaptığı bir çalışmada, GHB'nin serum ve idrardaki tespit penceresini genişletmek için hedeflenmemiş bir metabolomik analiz yaklaşımı kullanılmıştır. Bu çalışmada, tam tarama analizi ve MS/MS deneyimlerinin birleştirilmesiyle elde edilen veri, düzenli sistem uygunluk testleriyle güvenilirlik açısından optimize edilmiştir. Hedeflenmemiş metabolomik analiz, yalnızca GHB'nin değil, aynı zamanda onun metabolitlerinin ve biyolojik sistemdeki diğer ilgili bileşiklerin de tespit edilmesini sağlamış ve GHB metabolizmasının daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. Bu yöntem, GHB'nin metabolik yollarının incelenmesi ve farmakokinetik özelliklerinin daha geniş bir perspektiften değerlendirilmesi açısından büyük bir potansiyel taşımaktadır.

Saudan ve arkadaşları (2007), GHB'nin izotop oranı kütle spektrometrisi (GC/C/IRMS) ile analizini gerçekleştirmiştir. Bu yöntem, GHB'nin düşük konsantrasyonlarda dahi tespit edilmesine olanak tanımış, ancak idrar örneklerindeki 100 mg/L altındaki seviyelerde bazı sınırlamalar ortaya çıkarmıştır. Çalışma, karbon izotop oranı analizinin, GHB'nin kaynaklarının belirlenmesi ve düşük seviyelerde

hassas tespit yapılması için önemli bir araç olduğunu vurgulamıştır. Bu yaklaşım, özellikle GHB'nin endojen ve eksojen kaynaklarının ayrıştırılması gereken adli toksikoloji vakalarında yararlı olabilir.

Gama-hidroksibütirat (GHB) analizinde özgüllük ve hassasiyetin artırılması, özellikle karmaşık biyolojik matrislerde maddenin doğru bir şekilde tespit edilmesi için kritik bir ihtiyaçtır. Kumi ve arkadaşları (2006), GHB tespiti için bromlu 2,3-dimetil-2-kinoksalinil-4-il (Br-DMEQ) ile türevleme yöntemini incelemiş ve ardından ince tabaka kromatografisi (TLC) uygulamıştır. Çalışma, türevleme işleminin analitik duyarlılığı ve seçiciliği artırdığını göstermiştir. Bu yöntem, özellikle adli toksikoloji bağlamında, düşük konsantrasyonlarda GHB'nin daha güvenilir bir şekilde tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. Derivatizasyonun sunduğu avantajlar, biyolojik matrislerdeki interferansları azaltarak GHB'nin özgün bir şekilde saptanmasını kolaylaştırmaktadır.

Bertol ve arkadaşları (2012), saç örneklerinde GHB tespiti için gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ve sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemlerini doğrulamış ve her iki yöntemin de düşük konsantrasyonlar için uygunluğunu incelemiştir. Çalışma, LC-MS/MS yönteminin özellikle hassas miktar tayini için daha avantajlı olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, özellikle ilaçla kolaylaştırılmış cinsel saldırı (DFSA) vakalarında, GHB'nin saç gibi biyolojik numunelerde doğru bir şekilde tespit edilmesinin önemini vurgulamaktadır. Busardò ve Jones (2015), GHB tespitinde kullanılan analitik yöntemlerin kapsamlı bir incelemesini sunmuş ve endojen ile eksojen konsantrasyonların ayrımında karşılaşılan zorluklara dikkat çekmiştir. Özellikle GHB'nin hızlı metabolizması ve biyolojik sistemlerde doğal olarak bulunması, ölçülen seviyelerin yorumlanmasını karmaşıktırmaktadır. Çalışma, klinik ve adli toksikolojide güvenilir sonuçlar elde etmek için standartlaştırılmış protokollerin ve eşik değerlerin gerekliliğini vurgulamıştır. Standart protokollerin eksikliği, GHB analizinin tekrarlanabilirliğini ve karşılaştırılabilirliğini sınırlandıran önemli bir faktördür.

Hassan ve Cooper (2015), postmortem kan ve idrarda GHB ve Beta-hidroksibütiratın (BHB) eş zamanlı analizi için bir yöntem geliştirmiş ve bu yöntemi doğrulamıştır. Çalışma, postmortem biyolojik matrislerde endojen üretimin sonuçları nasıl karmaşıklştırabileceğini ortaya koymuştur. Özellikle ölüm sonrası sentezlenen GHB'nin, önceden kullanım ile karıştırılmaması için analiz yöntemlerinin dikkatli seçilmesi gerektiği belirtilmiştir. Bu bağlamda, biyolojik örneklerin türüne ve analizin amacına uygun yöntemlerin seçilmesi büyük önem taşımaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar, GHB metabolizmasıyla ilgili yeni biyobelirteçlerin tanımlanmasına yönelik önemli adımlar atmıştır. Wang ve arkadaşları (2022), retrospektif bir metabolomik analiz yaparak GHB tüketimiyle ilişkili potansiyel biyobelirteçleri tanımlamıştır. Çalışma, GHB'nin metabolik yollarının daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılması ve bu yollarla ilişkili belirteçlerin tespit yeteneklerini artırabilecek şekilde geliştirilmesi gerektiğini vurgulamıştır. Metabolomik analiz, GHB tüketiminin dolaylı göstergelerini sunarak, özellikle düşük seviyelerdeki tespitlerde büyük bir potansiyel taşımaktadır.

Steuer ve arkadaşları (2023), idrarda amino asit ve yağ asidi konjugatları gibi yeni biyobelirteçlerin varlığını incelemiş ve bu konjugatların bazı durumlarda niteliksel belirteçler olarak kullanılabileceğini belirtmiştir. Ancak çalışma, bu belirteçlerin stabilite sorunları nedeniyle adli toksikolojik analizlerde pratik uygulamalarını sınırlayabileceğini de göstermiştir. Bu tür sorunlar, biyobelirteçlerin uzun vadeli saklama ve analiz süreçlerinde doğruluk ve hassasiyetle ilgili potansiyel kısıtlamalar yaratmaktadır.

1.8. Amaç

Bu çalışmadaki temel amacımız Türk popülasyonunda 18 yaş üstü kadın ve erkek bireylerden toplanan saç örneklerinde endojen GHB seviyesinin belirlenmesidir. Endojen seviyenin Türk popülasyonu için belirlenmesi, yasa dışı madde olarak da kullanılan GHB için maruziyetinden kaynaklanan seviyeler ile endojen seviyeler arasında ayırım yapılmasına katkı sağlayacaktır.

İkincil amaç cinsiyet ve yaş değişkenlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olup olmadığının tespit edilmesidir. Daha önce İtalya ve Çin’de yapılan çalışmalarda kadın ve erkek bireylerin endojen GHB seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit etmiştir. Her iki çalışmada da erkeklerde bulunan seviye kadınlarda tespit edilen seviyeden daha yüksek bulunmuştur (Shi vd., 2016; Vaiano vd., 2016). Bu çalışma ile ülkemizde de kadın- erkek bireylerin saç örneklerindeki endojen GHB seviyeleri arasında fark olup olmadığı istatistiksel olarak analiz edilecektir. İtalya’da yapılan çalışmada katılımcılar yaş gruplarına göre sınıflandırılmış ve yapılan analizlerde kadın ve erkek 30 yaş altı bireylerin GHB seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Vaiano vd., 2016). Araştırmada İtalya’daki araştırma referans alınarak (Vaiano vd., 2016) gönüllülerin yaşlarına göre de 3 gruba ayrılması planlanmaktadır: 18-29, 30-50 ve 50 yaş üstü. Bu sayede yaş değişkenine göre anlamlı bir farklılık olup olmadığını değerlendirmek amaçlanmaktadır. Bunların yanında gönüllü bireylerin sigara kullanımının konsantrasyonlara anlamlı bir etkisinin olup olmadığı araştırılacaktır. Araştırmamız Türkiye’de endojen GHB seviyelerinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Sıvı Kromatografisi ardışık kütle spektrometresi (Shimadzu 8050 LC-MS/MS cihazı)
- C18 , 2.7µm, 2.1 x 100 mm kolon (HALO)
- Pipet (Transferpette)
- Pipet Uçları (Tarsons)
- Epondorf tüp
- Vial ve vial kapağı
- Cam İnsert
- Amber şişe (100 cc)
- Vorteks (VELP SCIENTIFICA)
- Santrifüj (NUVE NF1200R)
- Ultrasonik Banyo (HY Teknoloji)
- Hassas Terazı (RADWAG)

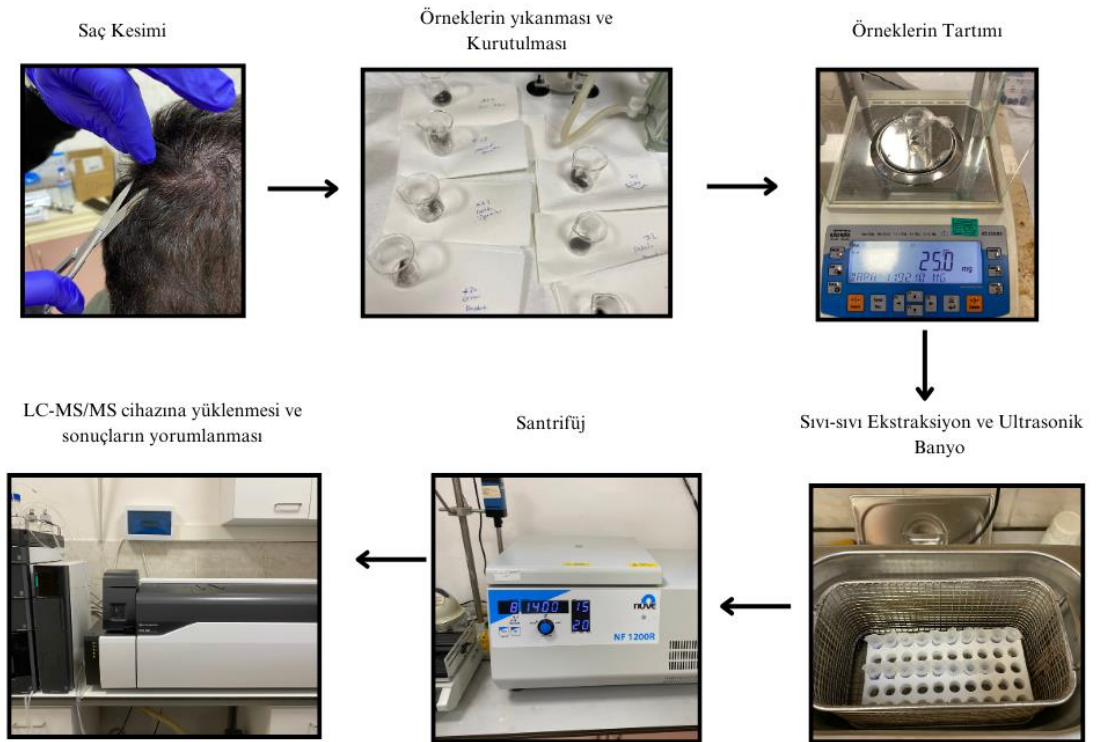
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Metanol (Merck/LC grade)
- Ultra Saf su (Merck/ LC grade)
- Diklorometan (Merck/ LC grade)
- GHB (Lipomed)
- GHB-d6 (internal standart/Chiron/ 1000 µg salt/mL in methanol, 1 mL)
- Amonyum Asetat (Merck/LC grade)
- Asetonitril (Merck/LC grade)

2.2. Yöntem

Yöntemimizin temel aşamaları;

- Saç örneklerin toplanması
- Toplanan örneklerin yıkanması
- Bir gün oda sıcaklığında kurutulması,
- Kurutulan örneklerin küçük parçalara kesilmesi (1mm)
- Analiz için 25 mg tartılması
- Sıvı sıvı ekstraksiyon
- Ultrasonik banyo
- Santrifüj
- Örneklerin viallere aktarılması
- LC-MS/MS cihazında analiz edilmesi
- Sonuçların istatistiksel olarak yorumlanması şeklindedir.



Şekil 2.1. Yöntemin Temel Aşamaları

2.2.1. Örneklem Seçimi

Araştırma kapsamında çalışmaya 18 yaş üstü sağlıklı ve madde kullanım geçmişi olmayan 73 birey dahil edilmiştir. Katılımcılar araştırmacının çevresinden başlanarak kartopu örneklem modeli ile seçilmiştir. Örneklem büyüklüğü çalışmaya başlamadan önce %80 güç ve 0.05’lik bir hata payı verilip R 3.0.1 (GNU Free Software) açık kaynak programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Araştırma kapsamında yapılacak anket formunda kullanıcılardan;

- Cinsiyetleri,
- Yaş grupları (18-29, 30-50, 50 yaş üstü),
- Sigara kullanıcısı olup olmadıkları,
- Düzenli olarak kullandıkları bir ilacın olup olmadığı,
- Varsa hangi ilaç/ilaçları kullandığı,
- Saçlarında boya/açıcı işlem olup olmadığı bilgileri alınmıştır.

Araştırma kapsamının dışında olan bireyler ise şu şekildedir;

- Xyrem® ilacını kullanan bireylerden örnek alınmamıştır.
- Anksiyete tedavisi gören ve bu yüzden benzodiazepinler grubundan ilaç kullanan bireyler dahil edilmemiştir.
- Antidepresan tedavisi gören bireyler dahil edilmemiştir.
- Epilepsi hastaları, bipolar bozukluk gibi hastalıklara sahip, düzenli ilaç kullanan hastalar dahil edilmemiştir.
- Madde ve/veya alkol bağımlılığı olan bireyler araştırmaya dahil edilmemiştir.

2.2.2. Örneklerin Toplanması

Saç örneklerini toplama süreci “Society of Hair Testing (SoHT)” kılavuzunda önerilen şekilde gerçekleştirilmiştir (Liakoni ve ark., 2016; Hockenhull ve ark., 2017). Saç örneği yaklaşık bir kurşun kalem kalınlığında, posterior vertex bölgesinden kafa derisine mümkün olduğunca yakın olarak dekontamine edilmiş bir makas yardımı ile kesilmiştir. Alınan saç örneği uç kısmı belirlenerek alüminyum folyo içerisine konulup, analize kadar zarf içerisinde ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Etik kurul onay kararımız ekler bölümüne eklenmiştir.

2.2.3. Cihaz Optimizasyonu

GHB için cihaz optimizasyonu ESI iyonizasyon metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihaza maddenin taratılmasından sonra pik sinyalleri negatif modda görüldüğünden, yöntem boyunca negatif iyon modu kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 40 derecedir. C18, 2.7 μ m, 2.1 x 100 mm kolon (HALO) kullanılmıştır. Örnekler cihaza 10 μ L enjekte edilmiştir. Her örnek için cihazdaki analiz süresi 5.5 dakika olarak belirlenmiştir.

Gradient elüsyon aşamasında mobil faz A olarak 1.25 mM Amonyum asetat ve mobil faz B olarak likit kromatografi saflığında asetonitril seçilmiştir. Akış oranları Çizelge 2.1’ de , LC-MS/MS cihaz parametreleri Çizelge 2.2.’ de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Gradient elüsyon A ve B mobil fazlarına göre akış ve zaman

Zaman (dakika)	%A	%B	Akış (mL/dk)
0.00	50	50	0,3
1.75	0	100	0,3
3.50	0	100	0,3
3.51	50	50	0,3
5.00	50	50	0,3

Çizelge 2.2. LC-MS/MS cihaz parametreleri

	Değer	Ayar	Birim
Pompa sistemi A modu	Binary Gradient		
Nebülizatör gaz akışı	3,0	3,0	L/dk
Kurutma gaz akışı	10,0	10,0	L/dk
Isıtma gaz akışı	10,0	10,0	L/dk
Arayüz voltajı		4,0	kV
Arayüz akımı	2,5		uA
Dedektör voltajı		1,72	kV
IG vakumu	2,0e-03		Pa
PG vakumu	1,1e+02		Pa

Analitik metodun optimizasyonunda 10 µg/mL konsantrasyonlarda referans standartlar kullanılmıştır. Öncül, yavru iyonlar ve kütle spektroskopisindeki çarpışma enerjileri optimize edildikten sonra seçilen analitler için (-ESI) MRM çiftleri belirlenmiştir. MRM çiftleri Çizelge 2.3.' de belirtilmiştir.

Çizelge 2.3. GHB ve GHB-d6'nın MRM Çiftleri

	Öncül iyon (precursor m/z)	Yavru iyon (product m/z)
GHB	103.40	57.10
	103.40	85.00
GHB-d6	109.10	61.20
	109.10	90.20

2.2.4. Yöntem Validasyonu

Yöntem validasyonu, SWGTOX kılavuzu takip edilerek gerçekleştirilmiştir (SWGTOX, 2013). Validasyon sırasında, kör (blank) numuneler kullanılmıştır. Kör numuneler, saç örneklerinin bir hafta boyunca metanol içinde bekletilerek endojen GHB'nin uzaklaştırılması yoluyla hazırlanmıştır. Bu işlem, analiz sırasında dışsal kontaminasyon ve endojen kaynaklı etkilerin en aza indirilmesini sağlamak ve ölçüm sonuçlarının güvenilirliğini artırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Kalite kontrol (QC) örnekleri ve kalibrasyon noktaları hazırlanırken kör numunelerin içerisine GHB ve internal standart (GHB-d6) belirlenen konsantrasyonlarda eklenmiştir. Üç farklı ekstraksiyon metodu denenmiş ve GHB için en iyi geri kazanımı sağlayan metot tercih edilmiştir. Üç farklı konsantrasyonda (Düşük:0.25 ng/mg, orta: 0.8 ng/mg, yüksek:3.50 ng/mg) kalite kontrol numuneleri ve standart çözeltiler hazırlanarak, kesinlik, doğruluk, matriks etkisi, taşınma, geri kazanım parametreleri belirlenmiştir.

GHB için ana stok metanolde 100 µg/mL konsantrasyonunda, çalışma solüsyonları ise metanol içerisinde 10000 ng/mL ve 1000 ng/mL konsantrasyonlarında hazırlanmıştır.

2.2.4.1. Kalibrasyon Modeli

GHB maddesi için kalibrasyon modelini oluşturmak amacıyla 0.1, 0.2, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 2.5, 3.75, 5 konsantrasyonlarında örnekler hazırlanmıştır. Her birine internal standart olarak 5 µL GHB-d6 eklenmiştir. Her nokta 2 tekrarlı çalışılmıştır.

2.2.4.2. Tespit Sınırı (limit of detection/ LOD) ve Tayin Sınırı (limit of quantification/LOQ)

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan stok çözeltilerden elde edilen sonuçlara göre en düşük LOD ve LOQ değerleri belirlenmiştir. Tespit ve miktar belirleme aşağıda verilen formülasyonlara göre yapılmıştır.

$$LOD = (3.3 \times \sigma) / m$$

- σ : En düşük konsantrasyondaki sinyalin standart sapması
- m : Kalibrasyon eğrisinin eğimi

$$LOQ = (10 \times \sigma) / m$$

- σ : En düşük konsantrasyondaki sinyalin standart sapması
- m : Kalibrasyon eğrisinin eğimi

2.2.5. Gerçek Örneklerin Hazırlanması

18 yaş üstü herhangi bir madde kullanıcısı olmayan sağlıklı bireylerden toplanmış 73 saç örneğinin 0-3 cm'lik kısmı; sırasıyla saf su, metanol ve diklorometan ile 5'er dakika bekletilerek yıkanmıştır. Yıkanan saç örnekleri bir gün boyunca filtre kağıdının içine konularak oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmıştır. Kuruyan saç örnekleri temiz bir makas ile 1 mm'lik uzunluklarda kesilmiştir. Kesilen saç örnekleri 25 mg tartılıp ependorf tüplerine konmuştur.

2.2.5.1. Ekstraksiyon Metodu

25 mg saç örneğinden endojen GHB'nin ayrılması amacıyla sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. 3 farklı metot denenerek hedef bileşiğin matristen etkili bir şekilde izole edilmesini sağlamak ve analitik doğruluğu artırmak için aşağıda verilen yöntem optimize edilmiştir.

25 mg saç örneği üzerine 400 µL saf su, 100 µL metanol çözücüler eklenmiştir. Daha sonra 2 ng/mg konsantrasyonunda hazırlanan gerçek örnekler 10 mg/L GHB stok çözeltisinden 5 µL, 10 mg/L internal standart (GHB-d6) stok çözeltisinden 5 µL eklenmiştir. Örnekler 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda bekletildikten sonra, 14000 rpm de 15 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında, oluşan üst faz dikkatlice alınarak viallere aktarılmıştır. Ardından, her bir vialden 10 µL'lik bir örnek hacmi LC-MS/MS cihazına enjekte edilmiştir.

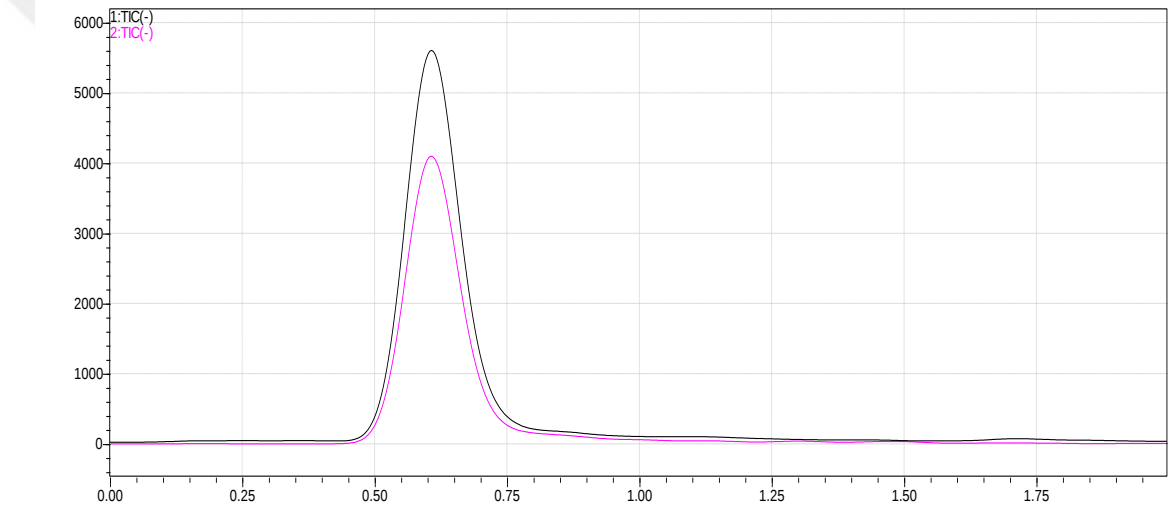
2.2.6. İstatiksel Analiz

Elde edilen analiz sonuçları, istatistiksel açıdan karşılaştırmalı bir değerlendirmeye tabi tutulmuştur. İstatistiksel analizler, SPSS sürüm 26 (SPSS V26) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz kapsamında, sonuçlar cinsiyet (kadın/erkek), yaş grupları (18-29, 30-50, 50 yaş üstü) ve sigara kullanımı (evet/hayır) gibi bağımsız değişkenler arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla karşılaştırılmıştır. İkili gruplar arasındaki karşılaştırmalar, sürekli bağımlı değişkenin normal dağılıp dağılmadığına bağlı olarak iki bağımsız değişkenler arasındaki istatistiksel analiz için Mann-Whitney U Testi veya student t testi kullanılmıştır. Üç veya daha fazla bağımsız değişkenlerin analizinde ise Kruskal Wallis veya One Way ANOVA testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

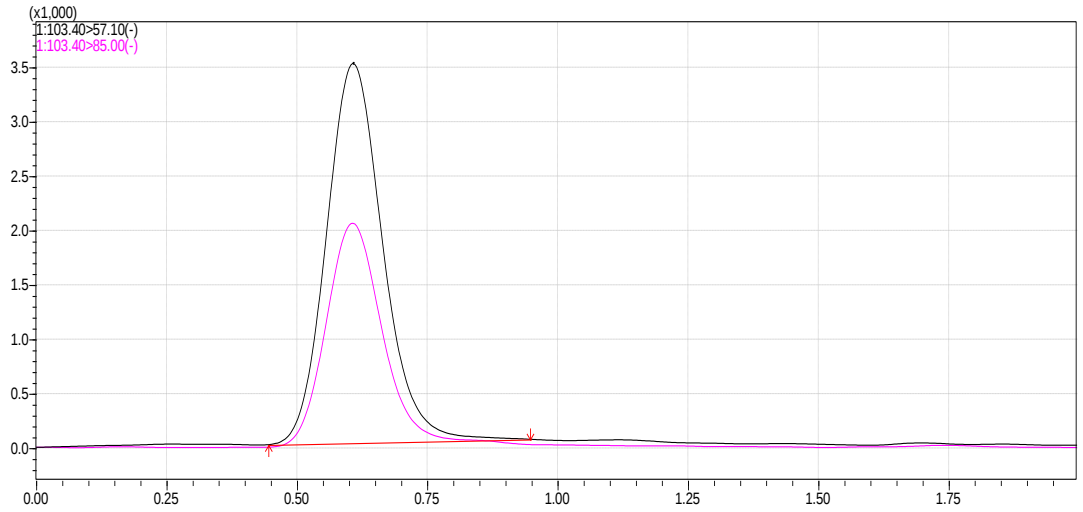
3. BULGULAR

3.1. Kromatogramlar

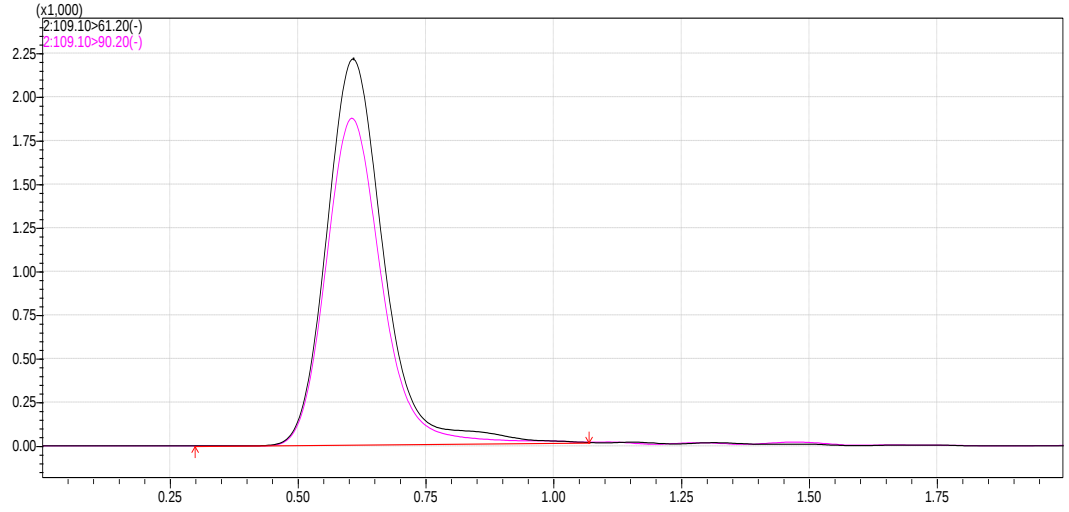
Kromatogramlarda GHB'nin ve internal standardın (GHB-d6) C18 , 2.7 μ m, 2.1 x 100 mm analitik kolon (HALO) üzerindeki retansiyonu başarılı bir şekilde gözlemlenmiştir. Alıkonma süresi (rt) her iki madde için de 0.62 dk olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.1. Total Kromatogram



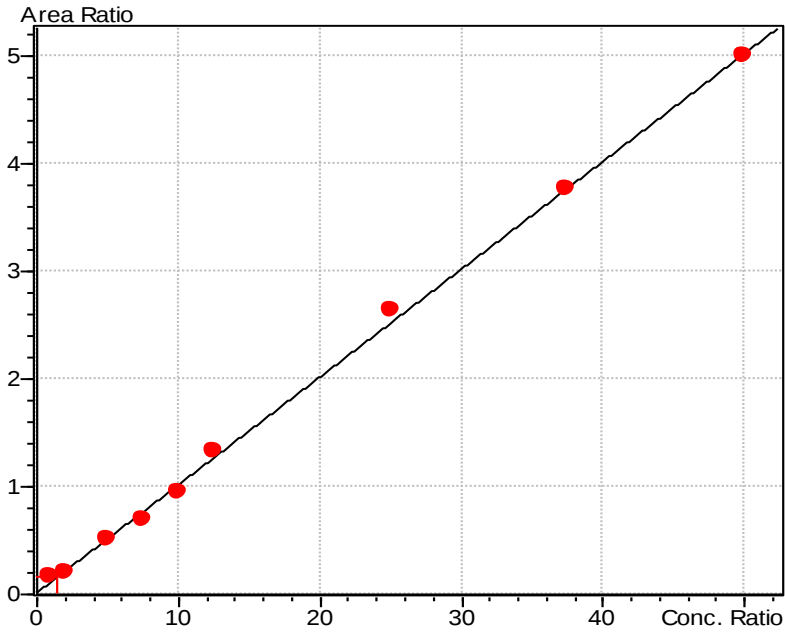
Şekil 3.2. GHB kromatogramı (2 ng/mg)



Şekil 3.3. İnternal Standart (GHB-d6) kromatogramı (2 ng/mg)

3.2. Kalibrasyon Modeli

GHB maddesi için kalibrasyon modelini oluşturmak amacıyla 0.1, 0.2, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 2.5, 3.75, 5 konsantrasyonlarında 9 kalibrasyon noktası belirlenmiştir. Her bir konsantrasyon için 2 tekrarlı örnekler hazırlanıp LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. Pik sinyalleri belirlendikten sonra korelasyon katsayı (r^2) değeri 0.998 olan kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.



Şekil 3.4. GHB maddesine ait kalibrasyon grafiği

3.2.1. Tespit Sınırı (Limit of Detection/LOD) ve Tayin Sınırı (Limit of Quantification/LOQ)

Analitik yöntemin hassasiyetini ve doğruluğunu değerlendirmek amacıyla, 9 farklı konsantrasyondan oluşan kalibrasyon grafiği kullanılarak Tespit Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ) değerleri hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda, yöntem için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.02 ng/mg ve 0.07 ng/mg olarak belirlenmiştir.

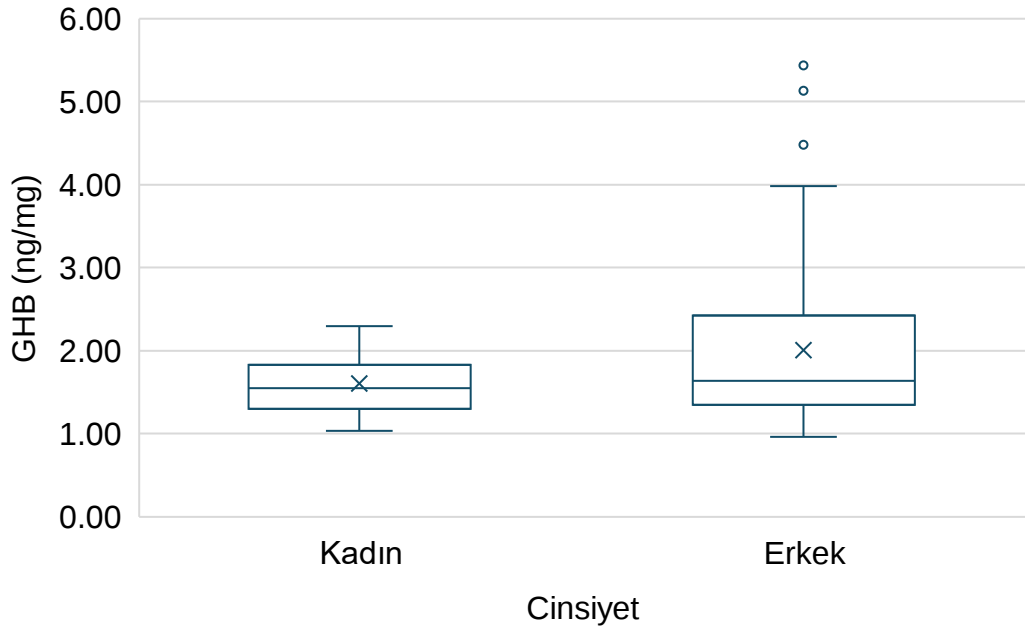
3.3. Türk Popülasyonunda Endojen GHB Konsantrasyonları

Çalışmamızda 46 erkek 27 kadın olmak üzere toplam 73 kişinin saçlarında endojen GHB seviyeleri belirlenmiştir. Türk popülasyonunda endojen GHB seviyeleri 0.965-5.434 ng/mg (ortalama 1.857 ± 0.860) aralığında bulunmuştur.

3.3.1. Cinsiyetlere Göre Konsantrasyonlar

Çalışmamızda, endojen GHB seviyelerinin cinsiyete bağlı olarak anlamlı bir farklılık gösterip göstermediği istatistiksel açıdan incelenmiştir. Bu amaçla, verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle SPSS V26 programında Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Analiz sonucunda, p değeri 0.05'ten büyük olarak hesaplanmıştır. Bu durum, Türk popülasyonunda kadın (n= 27) ve erkek (n=46) bireyler arasında saç örneklerinde belirlenen endojen GHB seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını göstermektedir. Şekil 3.5'te cinsiyete göre konsantrasyonlar (ng/mg) görülmektedir.

Cinsiyetler arasındaki farklılık yaş grupları bazında incelenirken Independent Samples t-testi kullanılmıştır. 18-29 yaş grubunda kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bununla birlikte 30-50 yaş grubunda ve 50 yaş üstü grubunda cinsiyetler arasında anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 3.5. Cinsiyete göre GHB (ng/mg) konsantrasyonları

3.3.2. Yaş Gruplarına Göre Konsantrasyonlar

Yaş gruplarını genel olarak kıyaslarken Kruskal- Wallis H testi kullanılmıştır. Yaş grupları 18-29 (n=33), 30-50 (n=30) ve 50 yaş üstü (n=10) şeklindedir.

- 18-29 ile 30-50 yaş grupları arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$).
- 18-29 yaş grubu ile 50 yaş üstü grubu arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$)
- 30-50 yaş grubu ile 50 yaş üstü grupları arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır.
- 18-29 yaş grubunda diğer iki yaş grubuna göre daha düşük endojen GHB seviyeleri belirlenmiştir.

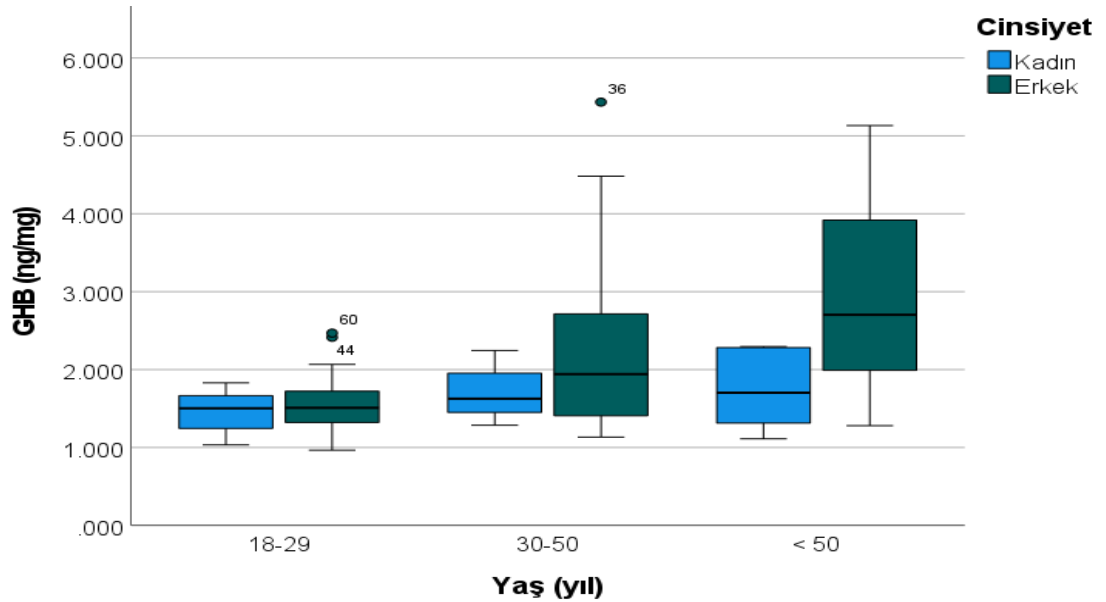
Yaş gruplarına göre konsantrasyonların cinsiyetler bazında karşılaştırılmasında Independent Samples t-testi kullanılmıştır.

Kadınlarda;

- 18 – 29 ile 30-50 grupları arasında p değeri=0.499 tespit edildiğinden anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.
- 30-50 ile 50 yaş üstü gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır (p=0.060).
- 18-29 ile 50 yaş üstü grupları arasında ise anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0.005). 50 yaş üstü kadınlarda endojen GHB seviyeleri 18-29 yaş grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir.

Erkeklerde;

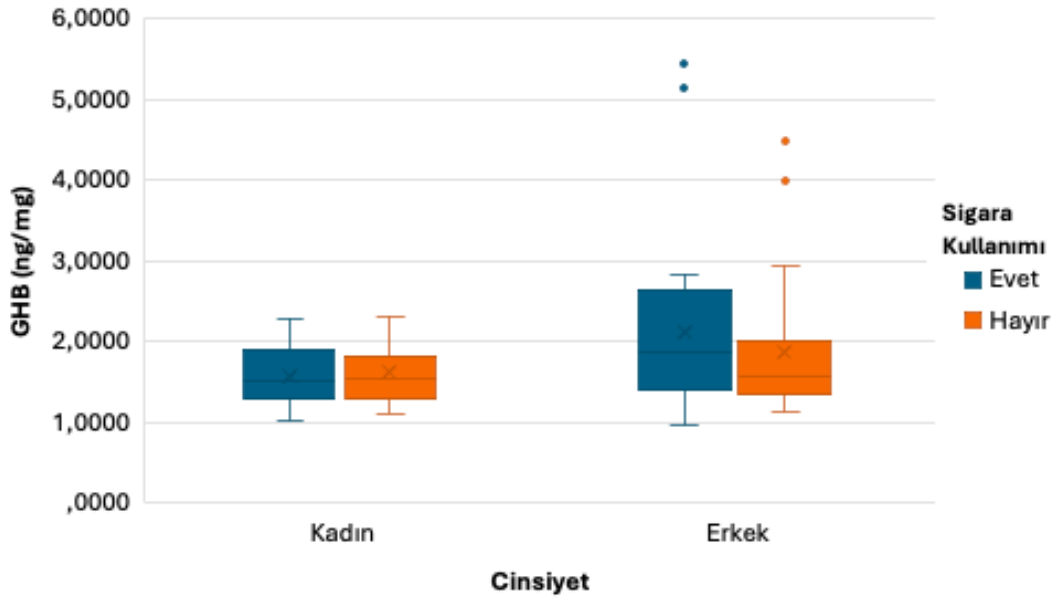
- Erkeklerde tüm yaş grupları arasında endojen GHB seviyeleri arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p<0.001).
- En yüksek endojen GHB konsantrasyonları 50 yaş üstü grubunda bulunmaktadır.
- 18-29 yaş grubunda diğer iki yaş grubuna kıyasla daha düşük GHB seviyeleri tespit edilmiştir.



Şekil 3.6. Yaş gruplarına göre GHB konsantrasyon dağılımı

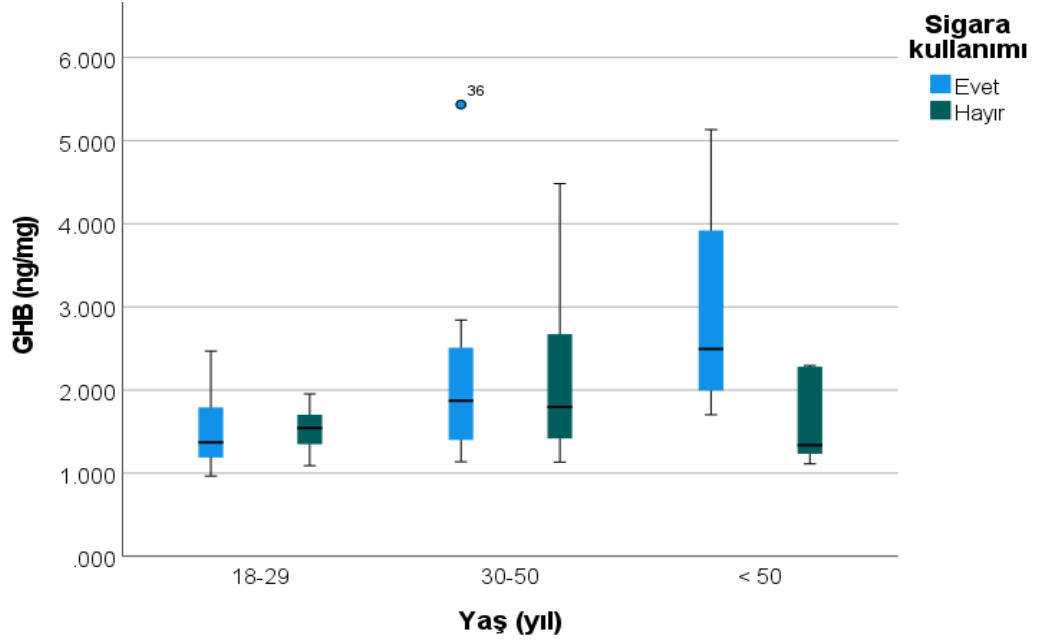
3.3.3. Sigara Kullanımına Göre Konsantrasyonlar

Sigara kullanımının endojen GHB seviyelerine etkisinin olup olmadığı Mann-Whitney U testi kullanılarak hesaplanmıştır. Sigara kullanımının etkisine bakıldığında sigara kullanan (n=32) ve sigara kullanmayan (n= 41) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 3.7. Sigara kullanımı ve cinsiyetin endojen GHB konsantrasyonlarına göre kıyaslanması

Toplam 27 kadın örneğinde sigara kullanan (n=8) ve sigara kullanmayan (n=19) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Benzer şekilde sigara kullanıcısı olan (n=24) ve kullanmayan erkekler (n=22) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.



Şekil 3.8. Sigara kullanımının ve yaş gruplarının endojen GHB seviyelerine göre kıyaslanması

Sigara kullanımı yaş gruplarına göre kıyaslandığında ise hiçbir yaş grubu arasında kullanıcı olanlar ile olmayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

3.3.4. Tüm Grupların Genel Değerlendirmesi

Türk popülasyonunda endojen GHB seviyeleri kadınlarda 0.965-2.469 ng/mg aralığında (ortalama 1.605 ± 0.377), erkeklerde ise 0.965-5.434 ng/mg aralığında (ortalama 2.006 ± 1.021) tespit edilmiştir. Yaş gruplarına bakıldığında; 18-29 yaş grubunda 0.965-2.469 ng/mg aralığında (ortalama 1.532 ± 0.350), 30-50 yaş grubunda 1.134-5.434 ng/mg aralığında (ortalama 2.120 ± 1.022), 50 yaş üstü grubunda ise 1.112-5.134 ng/mg aralığında (ortalama 2.143 ± 1.188) tespit edilmiştir. Sigara kullanan grupta endojen GHB seviyeleri 0.965-5.434 ng/mg (ortalama 1.986 ± 1.023), sigara kullanmayan grupta ise 1.091-4.483 ng/mg aralığında (ortalama 1.756 ± 0.705) belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. Yaş, Cinsiyet ve Sigara kullanımına göre GHB konsantrasyonları (ng/mg)

		Ortalama (mean)	Aralık (Range)
Yaş	18-29	1.532±0.350	(0.965-2.469)
	30-50	2.120±1.022	(1.134-5.434)
	<50	2.143±1.188	(1.112-5.134)
Cinsiyet	Kadın	1.605±0.377	(1.034-2.297)
	Erkek	2.006±1.021	(0.965-5.434)
Sigara kullanımı	Evet	1.986±1.023	(0.965-5.434)
	Hayır	1.756±0.705	(1.091-4.483)

3.4. Validasyon Parametreleri

GHB'nin analizi için oluşturulan analitik yöntemin validasyonu geri kazanım, 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 kılavuz olan SWGTOX Adli Toksikolojide Metod Validasyonu için Standart Pratikler kılavuzu takip edilerek yapılmıştır (SWGTOX, 2013). Her bir validasyon parametresi için elde edilen sonuçlar, bu kılavuzda belirtilen kabul edilebilir aralıkta bulunmuştur.

4. TARTIŞMA

Gama-hidroksibütirat (GHB), merkezi sinir sisteminde (MSS) endojen olarak üretilen kısa zincirli bir yağ asididir. Endojen konsantrasyonlar saç, kan, idrar gibi biyolojik numunelerde farklı miktarlarda tespit edilebilmektedir (Busardò ve Jones, 2019). GHB doğal bir metabolit olmasının yanında vücuda dışarıdan uyuşturucu madde olarak veya tıbbi nedenlerle de alınabilmektedir. GHB'nin sodyum tuzu (sodyum 4-hidroksibütirat), farmasötik bir ürün olarak geliştirilip Alcover® ve Xyrem® adı ile tescillendirilmiştir. Alcover® alkol yoksunluk sendromunu hafifletmek ve alkol bağımlılığını tedavi etmek için kullanılırken; Xyrem® katepleksili narkolepsi bozukluğu olan kişilerin tedavisi için reçete edilmektedir (Gallimberti ve ark., 1989; Dauvilliers ve ark., 2007). Saçta endojen gamma-hidroksibutirik asit (GHB) düzeylerinin analizi adli kimya ve toksikoloji alanında, endojen üretim ile eksojen maruziyeti ayırt etmedeki zorluklar nedeniyle önem kazanan bir araştırma alanıdır (Busardò ve ark., 2018). GHB'nin saçtaki endojen seviyelerin varlığı, özellikle ilaçla kolaylaştırılmış cinsel saldırı gibi vakalarda uyuşturucu kullanımına dair iddiaların değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu bağlamda, saçta bulunan GHB düzeylerinin doğru şekilde yorumlanabilmesi için endojen ve eksojen kaynakların net bir şekilde ayrıştırılması gerekmektedir.

2022 Avrupa uyuşturucu raporunda, GHB kullanımının son yıllarda Avrupa ülkelerinde arttığı bildirilmiştir. Aynı raporda, 2020 yılında Euro-DEN Plus hastaneleri tarafından bildirilen beşinci en yaygın psikoaktif madde olduğu belirtilmiştir (EMCDDA, 2022). Ülkemizde de kullanımının yaygınlaştığını belirten kaynaklar bulunmaktadır (Ozer ve ark., 2017; Bulut, 2019) ancak GHB maddesinin kötüye kullanımının genel popülasyon içindeki yaygınlığı açısından yeterli sayıda veri bulunmamaktadır. GHB'nin maliyetinin ucuz olması, düşük dozlarda öforik, daha yüksek dozlarda bilinç kaybı oluşturması yüzünden cinsel saldırılarda mağdura verilmesi maddenin kötüye kullanımını arttıran nedenlerdendir (Bertol ve ark., 2015). GHB maddesinin kötüye kullanımının gerçekleştiği olası bir vakada, yapılacak olan analiz sonucunun doğru yorumlanması endojen seviyelerin varlığının bilinmesi sebebiyle oldukça önemlidir.

Saç örnekleri GHB analizinde diğer biyolojik numunelerden daha avantajlıdır. Çünkü GHB'nin kısa yarılanma ömrü kan ve idrar gibi diğer numunelerde tespit edilmesini zorlaştırmaktadır. Saçta ise akut maruziyetinde dahi tespit edilebileceğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (Bertol ve ark., 2015; Kintz, 2016). Özellikle cinsel saldırı vakalarında maruziyet genelde bir kereliktir ve olayın adli mercilere taşınması, olaydan hemen sonra olmamaktadır. Mağdurun GHB maddesi etkisinde olup olmadığı, kan ve idrar örneklerinde olaydan 12 saat sonrasında tespit edilemezken (Brennan ve Hout, 2014), saç numunelerin de günler ya da aylar sonra tespit edilebilmektedir (Busardò ve ark., 2016). Kronik GHB kullanımında kişinin kullanım süresi saç örneklerinin segmental analizi ile tahmin edilebilmektedir. Hem kronik hem de akut maruziyetin saç örneklerinde belirlenebilmesi nedeniyle, araştırmamızda endojen GHB seviyelerini belirlemek için saç örnekleri üzerinde çalışılmıştır. Amacımız endojen GHB seviyelerinin Türk popülasyonunda belirlenmesi ve bu doğrultuda yapılacak toksikolojik analizlerde sonuçların doğru yorumlanmasına katkıda bulunmaktır.

Saç örneklerinde endojen GHB seviyelerini belirlemek için 'cut-off' eşik değeri araştıran farklı ülkelerde araştırmalar mevcuttur (Kintz ve ark., 2003; Shi ve ark., 2016; Vaiano ve ark., 2016; Thomas ve ark., 2020). Örneğin; Fransa'da 2003 yılında yayımlanan bir araştırmada toplam 24 kişiden toplanan saç örneklerinin ilk 3 cm'sinde 0,5 ila 12,0 ng/mg aralığında endojen GHB tespit edilmiştir (Kintz ve ark., 2003). Vaiano ve ark. (2016) İtalya'da 150 kişiden alınan saç örneklerinde endojen GHB seviyesini 0.27-2.84 ng/mg aralığında tespit etmiştir, aynı çalışmada cinsiyet ve yaş değişkenine göre anlamlı farklılıklar görülmüştür. Çin popülasyonunda 66 kişiden alınan saç örnekleriyle yapılan bir başka çalışmada, endojen GHB seviyeleri 0.28–4.91 ng/mg aralığında tespit edilmiştir ve bu çalışma da kadın ve erkek bireylerin endojen seviyelerinde anlamlı farklılık bulmuştur (Shi ve ark., 2016). Thomas ve ark. (2020) tarafından Amerika'da 214 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada ise seviye 0,4–5,47 ng/mg aralığında tespit edilmiştir. Bazı araştırmalar endojen GHB seviyelerinin yaş, cinsiyet ve popülasyona göre aralığın değişebildiğini göstermiştir (Haller ve ark., 2006; Shi ve ark., 2016; Vaiano ve ark., 2016). Örneğin, Haller ve ark. (2006)

yaptıkları çalışmada, endojen GHB seviyelerini Kafkas ırkında diğer etnik kökenli gruplara göre daha düşük bulduklarını belirtmiştir.

Çizelge 4. Endojen GHB Seviyelerini Saç Örneklerinde Belirleyen Araştırmalar

Yıl	Ülke	Araştırmacılar	Analiz Metodu	Örnek sayısı	Bulunan Seviyeler (ng/mg)
2003	Fransa	Kintz ve ark.	GC-MS/MS	24	0.5-12.0
2015	İtalya	Bertol ve ark.	HPLC-MS/MS	30	0.58 -5.09
2016	Çin	Shi ve ark.	GC-MS/MS	66	0.28–4.91
2016	İtalya	Vaiano ve ark.	GC-MS/MS	150	0.27-2.84
2019	Almanya	Martz ve ark.	LC-MS/MS	88	0.619-1.388
2020	ABD	Thomas ve ark.	LC-MS/MS	214	0,4–5.47

Araştırmamız sonucunda Türk popülasyonundaki (n=73) saç örneklerinde, endojen GHB seviyeleri 0.965-5.434 ng/mg (ortalama 1.857 ± 0.860) aralığında bulunmuştur. Literatürde yapılan diğer araştırmalarda endojen GHB seviyeleri 0,1 ile 12 ng/mg arasında bir dağılım göstermiştir ve sonucumuz diğer araştırmalarla uyumludur. Bu bakımdan araştırmamızdan elde edilen sonuçlar literatürdeki diğer araştırmalar ile uyumludur. Araştırmamızda endojen seviyelerin belirlenmesinin ardından yapılan istatistiksel analizlerde, kadın ve erkek bireyler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında; Kintz ve ark. (2003) çalışmalarında (n=24) kadın ve erkek bireyler arasında anlamlı farklılık bulamamıştır. Bertol ve ark. (2015) çalışmalarında (n=30) benzer şekilde cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık bulamamıştır. Saç segmentlerinde endojen GHB seviyelerini belirleyen bir diğer çalışmada da (n=88) cinsiyetler arasında farklılık bulunamamıştır (Martz ve ark., 2019). Çalışmamız bu araştırmaların sonucu ile uyumludur ancak Çin popülasyonunda (n=66) Shi ve ark. (2016) yaptığı çalışmada erkek bireylerin endojen GHB seviyelerini kadın bireylerden anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde İtalyan

popülasyonunda (n=150) Vaiano ve ark. (2016) yaptığı çalışmada da erkek bireylerin endojen GHB seviyeleri kadın bireylerden daha yüksek bulunmuştur. Thomas ve ark. (2020) Amerika’da yapılan araştırmada (n=214) erkeklerin GHB seviyelerinin kadınlardan daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamız bu anlamda literatürdeki bu üç çalışmanın sonuçlarıyla farklılık göstermektedir. Araştırmamızda kadın (n=27) ve erkek (n=46) bireylerin sayısının eşit olmaması, istatistiksel analiz sonuçlarını etkileyebilecek önemli bir faktör olarak değerlendirilebilir. Kadın ve erkek bireylerin eşit ya da benzer sayılarda yer aldığı bir örnekleme yapılacak analizlerin, daha güvenilir ve dengeli sonuçlar sağlayacağını düşünmekteyiz.

Araştırmamızda yaş grupları arasında istatistiksel farklar incelendiğinde, 18-29 yaş grubu (n=33) ile hem 30-50 yaş grubu (n=30) hem de 50 yaş üstü grubu (n=10) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p= 0.009$, $p= 0.031$, sırasıyla p değerleri). 18-29 yaş grubunda ortalama olarak daha düşük endojen GHB seviyeleri belirlenmiştir. Vaiano ve ark. (2016) çalışmasında yaş gruplarını benzer şekilde gruplandırmıştır ve 30 yaş altı grupta en yüksek GHB seviyelerini tespit etmişlerdir. Çalışmamızın bulguları bu açıdan da uyum göstermemektedir. Araştırmamızda yaş gruplarını cinsiyetler bazında değerlendirdiğimizde, erkeklerde tüm yaş grupları arasında endojen GHB seviyeleri arasında anlamlı fark bulunmuştur. 50 yaş üstü erkek grubunun endojen GHB seviyelerinin ortalaması diğer iki gruba göre daha yüksektir. Erkek bireylerde yaş grubu arttıkça endojen GHB seviyelerinin artmış olması dikkat çekici bir bulgudur ve literatürde benzer bir sonuca rastlanmamıştır. Kadınlarda yaş grupları kendi aralarında incelendiğinde ise, yalnızca 18-29 yaş grubu ile 50 yaş üstü grubundaki seviyeler arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Erkeklerin sonuçlarına benzer şekilde 50 yaş üstü grubundaki endojen GHB seviyelerinin ortalaması daha yüksektir. Vaiano ve ark. (2016) yaş gruplarını cinsiyet bazında değerlendirdiğinde ise, erkek bireylerde 30 yaş altı grubunda ortalama olarak en yüksek endojen seviyelerin tespit edildiğini belirtmişlerdir. Kadınlarda ise tüm yaş gruplarında yakın aralıklarda endojen GHB seviyeleri tespit edildiğinden anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Çalışmamızın sonuçları farklılık göstermektedir. Ancak çalışmamızda 50 yaş üstü (n=10) grubunda diğer gruplara kıyasla daha az kişi bulunmaktadır. Bu bağlamda sonuçların değerlendirilmesinde dikkatli olunması gerektiğini ve daha anlamlı sonuçlar için yaş gruplarının eşit dağıldığı bir çalışmaya

ihtiyaç duyulduğunu belirtmekteyiz. Bunların yanında yaş grupları arasında farklılık bulunmayan çalışmalar da bulunmaktadır. Bertol ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamıştır. Benzer şekilde Martz ve ark. (2019) da yaş grupları arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığını belirtmişlerdir. Araştırmamızın sonuçları bu çalışmalarla da uyum göstermemektedir. Yapılan araştırmalar ve çalışmamız, yaş faktörünün endojen GHB seviyeleri üzerindeki etkisinin tartışmalı olduğunu ve bu alanda daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Araştırmamız kapsamında, bireylerin sigara kullanıp kullanmamasının endojen GHB seviyelerinde bir etkisi olup olmadığı istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Çalışmamızda sigara kullanan kişiler (n=32) ve kullanmayan (n=41) bireylerin endojen GHB seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Literatürde sigaranın etkisini araştıran bir çalışma bulunmaktadır (Moriya ve ark., 2006). Çalışmada idrar örneklerindeki (n=20) endojen GHB seviyeleri araştırmış ve sigara içen bireylerin seviyelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Moriya ve ark. (2006), nikotinin merkezi sinir sistemi (MSS) üzerindeki uyarıcı etkilerinin endojen GHB oluşumunda artışa neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ancak, çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular bu hipotezle uyum göstermemektedir. Araştırmamızda, sigara kullanımının saç örneklerinde ölçülen endojen GHB seviyeleri üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, sigara kullanımının GHB biyosentezi üzerindeki etkilerinin daha karmaşık mekanizmalara bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Konuya ilişkin daha geniş katılımcı gruplarını kapsayan yürütülecek ileri araştırmalar, endojen GHB üretimini etkileyen faktörlerin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Çalışmamızın analitik yönteminin hassasiyetini ve doğruluğunu değerlendirmek amacıyla, 9 farklı konsantrasyondan oluşan kalibrasyon grafiği kullanılarak Tespit Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ) değerleri hesapladık. Araştırma sonucunda, yöntem için LOD ve LOQ değerlerini sırasıyla 0.02 ng/mg ve 0.07 ng/mg olarak belirledik. Literatürdeki benzer çalışmaların LOD ve LOQ değerleri incelendiğinde, elde ettiğimiz bu değerlerin yüksek bir hassasiyeti temsil ettiği görülmektedir (Moriya ve ark., 2006; Shi ve ark., 2016; Vaiano ve ark., 2016; Thomas ve ark., 2020). Bu

durum, yöntemin özellikle düşük konsantrasyonlardaki GHB seviyelerini tespit etme ve nicelendirme kapasitesinin güvenilir olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, araştırmamız belirli bir popülasyon ve sınırlı bir örneklem büyüklüğü ile gerçekleştirilmiştir. Bu durum, elde edilen sonuçların genelleştirilmesini sınırlamakta ve daha geniş, demografik açıdan çeşitlilik içeren örneklerle yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir., Yaş, cinsiyet ve sigara kullanımı gibi gruplar arasındaki örneklem sayılarının eşit olmaması, istatistiksel analiz sonuçlarını etkileme potansiyeline sahip başka bir kısıtlılıktır. Araştırmamız, yalnızca saç numunelerinde endojen GHB seviyelerine odaklanmış olup, kan ve idrar gibi diğer biyolojik numuneler incelenmemiştir. Bu durum GHB seviyelerinin kapsamlı bir analizinin yapılmasını engellemektedir. Ayrıca, GHB seviyelerini etkileyebilecek diyet, yaşam tarzı, genetik farklılıklar ve çevresel faktörler gibi bireysel ve çevresel değişkenler detaylı bir şekilde incelenmemiştir. Çalışma, referans değerlerin oluşturulmasında önemli bir başlangıç niteliğinde olsa da daha geniş bir örneklem büyüklüğü üzerinde ve idrar, kan gibi biyolojik numunelerde gerçekleştirilecek daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gama-Hidroksibutirat (GHB), kötüye kullanımı giderek artan bir psikoaktif maddedir ve özellikle cinsel saldırı vakalarıyla ilişkili olarak dikkat çekmektedir (EMCDDA, 2022). Bu madde, aynı zamanda insan vücudunda endojen olarak üretildiği için, adli toksikoloji analizlerinde özel bir öneme sahiptir. Adli değerlendirmelerde, bireyin doğal metabolizmasından kaynaklanan endojen GHB seviyeleri ile dışarıdan alınan eksojen GHB'nin ayrımının yapılması önem taşımaktadır (Busardò ve Jones, 2019). Bu ayrımın doğru bir şekilde yapılması, adli toksikolojik analizlerin sonuçlarının doğru yorumlanmasını sağlamak ve adli süreçlere yardımcı olmak açısından önem arz etmektedir.

Yüksek lisans tez çalışmamızda, Türk popülasyonunda sağlıklı ve herhangi bir madde kullanım geçmişi olmayan 73 bireyden alınan saç örnekleri analiz edilmiş ve endojen GHB seviyelerinin aralığı belirlenmiştir.

- Türk popülasyonunda endojen seviyeler 0.965-5.434 ng/mg (ortalama 1.857 ± 0.860) aralığında bulunmuştur. Yapılan diğer araştırmalar, endojen GHB seviyelerinin 0,1 ile 12 ng/mg arasında bir dağılım gösterdiğini ortaya koymuştur (Thomas ve ark., 2020). Çalışmamızın bulguları bu aralıkla uyumlu olup, literatürdeki verileri desteklemektedir.
- Ayrıca çalışmamızda endojen seviyelerin yaş cinsiyet ve sigara kullanımına bağlı olarak değişkenlik gösterip göstermediği istatistiksel olarak incelenmiştir;
- Yapılan istatistiksel analizlerin sonucunda, kadın ve erkek bireylerin endojen seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.219$). Yaş gruplarında ise 30-50 yaş grubu ile 50 yaş üstü grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p=0.813$); 18-29 yaş grubu ile 30-50 yaş grubu ve 50 yaş üstü grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p=0.09$, $p=0.031$, sırasıyla p değerleri).
- Sigara kullanımına bakıldığında ise, kullanıcı olan grup ile kullanıcı olmayan grubun endojen seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p<0.05$)

Elde ettiğimiz veriler, GHB'nin saçta doğal olarak mevcut olan düzeylerinin tanımlanmasına ve adli toksikolojik analizlerde kesim değerinin oluşturulmasına yardımcı olacak olmasıyla katkı sağlayacaktır. Çalışmamız, Türk popülasyonunda endojen GHB seviyelerinin araştırıldığı ilk çalışması olması nedeniyle literatüre önemli bir katkı sunacaktır. Araştırmamız, hem adli toksikoloji alanındaki bilgi birikimine hem de ilerleyen çalışmalara referans değeri sağlayacak niteliktedir. Daha geniş bir popülasyon üzerinde gerçekleştirilecek çalışmalar, endojen gama-hidroksibutirat (GHB) seviyelerinin yanı sıra bu seviyeleri etkileyen faktörlerin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Ayrıca, saçın yanı sıra kan ve idrar gibi diğer biyolojik numunelerde Türk popülasyonu üzerinde yapılacak araştırmalar, endojen GHB seviyelerinin daha kapsamlı bir şekilde belirlenmesine olanak tanıyacaktır.

KAYNAKÇA

Abid, M., Kietzerow, J., Iwersen-Bergmann, S., Schnitgerhans, T. ve Andresen-Streichert, H. (2022) "Characteristics and dose-effect relationship of clinical gamma-hydroxybutyrate intoxication: A case series", *Journal of Forensic Sciences*, 67(1), 416-427.

Abramowitz, M. Z. (2004) "GHB and date rape", *British Journal of Psychiatry*, 185(2), 176-177.

Andresen, H., Aydin, B. E., Mueller, A. ve Iwersen-Bergmann, S. (2011) "An overview of gamma-hydroxybutyric acid: pharmacodynamics, pharmacokinetics, toxic effects, addiction, analytical methods, and interpretation of results", *Drug Testing and Analysis*, 3(9), 560-568.

Barker, J. C., Harris, S. L. ve Dyer, J. E. (2007) "Experiences of Gamma Hydroxybutyrate (GHB) Ingestion: A Focus Group Study", *Journal of Psychoactive Drugs*, 39(2), 115-129.

Bertol, E., Mari, F., Vaiano, F., Romano, G., Zaami, S., Baglìo, G. ve Busardò, F. P. (2015) "Determination of GHB in human hair by HPLC-MS/MS: Development and validation of a method and application to a study group and three possible single exposure cases", *Drug testing and analysis*, 7(5), 376-384.

Bessman, S. P. ve Fishbein, W. N. (1963) "Gamma-hydroxybutyrate, a normal brain metabolite", *Nature*, 200(4912), 1207-1208.

Beurmanjer, H., Luykx, J. J., De Wilde, B., van Rompaey, K., Buwalda, V. J. A., De Jong, C. A. J., Dijkstra, B. A. G. ve Schellekens, A. F. A. (2020) "Tapering with Pharmaceutical GHB or Benzodiazepines for Detoxification in GHB-Dependent Patients: A Matched-Subject Observational Study of Treatment-as-Usual in Belgium and The Netherlands", *CNS Drugs*, 34(6), 651-659.

Bhattacharya, I. ve Boje, K. M. K. (2007) "Feasibility of D-glucuronate to enhance γ -hydroxybutyric acid metabolism during γ -hydroxybutyric acid toxicity: pharmacokinetic and pharmacodynamic studies", *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 28(1), 1-11.

Brennan, R. ve Hout, M. C. V. (2014) "Gamma-Hydroxybutyrate (GHB): A Scoping Review of Pharmacology, Toxicology, Motives for Use, and User Groups", *Journal of Psychoactive Drugs*.

Broughton, R. ve Mamelak, M. (1979) "The Treatment of Narcolepsy-Cataplexy with Nocturnal Gamma-Hydroxybutyrate", *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques*, 6(1), 1-6.

Brown, P. C., Alfonso, J. ve Dunn, M. E. (2011) "Gamma Hydroxybutyrate Use: Exploring the Influence of Outcome Expectancies Through Memory Modeling: Gamma Hydroxybutyrate Expectancies", *The American Journal on Addictions*

Bulut, H. (2019) "Yeni Bir Psikoaktif Madde, Gama Hidroksibütirat (GHB): Bir Olgu Sunumu", *Nöropsikiyatri Arşivi*, 56(3), 229-231.

Busardo, F. ve Jones, A. (2015) "GHB Pharmacology and Toxicology: Acute Intoxication, Concentrations in Blood and Urine in Forensic Cases and Treatment of the Withdrawal Syndrome", *Current Neuropsychopharmacology*, 13(1), 47-70.

Busardò, F., Kyriakou, C., Napoletano, S., Marinelli, E. ve Zaami, S. (2015) "Clinical applications of sodium oxybate (GHB): From narcolepsy to alcohol withdrawal syndrome", *European review for medical and pharmacological sciences*, 19, 4654-4663.

Busardò, F. P. ve Jones, A. W. (2019) "Interpreting γ -hydroxybutyrate concentrations for clinical and forensic purposes", *Clinical Toxicology*, 57(3), 149-163.

Busardò, F. P., Pichini, S., Zaami, S., Pacifici, R. ve Kintz, P. (2018) "Hair testing of GHB: an everlasting issue in forensic toxicology", *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 56(2), 198-208.

Busardò, F. P., Vaiano, F., Mannocchi, G., Bertol, E., Zaami, S. ve Marinelli, E. (2016) "Twelve months monitoring of hair GHB decay following a single dose administration in a case of facilitated sexual assault", *Drug testing and analysis*, 9(6), 953-956.

Carter, L. P., Pardi, D., Gorsline, J. ve Griffiths, R. R. (2009) "Illicit gamma-hydroxybutyrate (GHB) and pharmaceutical sodium oxybate (Xyrem®): Differences in characteristics and misuse", *Drug and Alcohol Dependence*, 104(1), 1-10.

Castelli, M. P., Pibiri, F., Carboni, G. ve Piras, A. P. (2004) "A Review of Pharmacology of NCS-382, a Putative Antagonist of γ -Hydroxybutyric Acid (GHB) Receptor", *CNS Drug Reviews*, 10(3), 243-260.

Castro, A. L., Tarelho, S., Dias, M., Reis, F. ve Teixeira, H. M. (2016) "Comparison of endogenous GHB concentrations in blood and hair in death cases with emphasis on the post mortem interval", *International journal of legal medicine*, 130(4), 959-965.

Cooper, G. A. A., Kronstrand, R. ve Kintz, P. (2012) "Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair", *Forensic Science International*. (Proceedings of the Society of Hair Testing (SoHT) annual meeting in Chamonix (21-26 March 2011).), 218(1), 20-24.

Corkery, J. M., Loi, B., Claridge, H., Goodair, C., Corazza, O., Elliott, S. ve Schifano, F. (2015) "Gamma hydroxybutyrate (GHB), gamma butyrolactone (GBL) and 1,4-butanediol (1,4-BD; BDO): A literature review with a focus on UK fatalities related to

non-medical use”, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 53, 52-78.

Dauvilliers, Y., Arnulf, I. ve Mignot, E. (2007) “Narcolepsy with cataplexy”, *The Lancet*, 369(9560), 499-511.

Dave, R. A., Follman, K. E. ve Morris, M. E. (2017) “ γ -Hydroxybutyric Acid (GHB) Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Semi-Mechanistic and Physiologically Relevant PK/PD Model”, *The AAPS Journal*, 19(5), 1449-1460.

De Jong, C. A. J., Kamal, R., Dijkstra, B. A. G. ve De Haan, H. A. (2012) “Gamma-Hydroxybutyrate Detoxification by Titration and Tapering”, *European Addiction Research*, 18(1), 40-45.

Dijkstra, B. A., Kamal, R., van Noorden, M. S., de Haan, H., Loonen, A. J. ve De Jong, C. A. (2017) “Detoxification with titration and tapering in gamma-hydroxybutyrate (GHB) dependent patients: the Dutch GHB monitor project”, *Drug and Alcohol Dependence*, 170, 164-173.

Dufayet, L., Bargel, S., Bonnet, A., Boukerna, A. K., Chevallier, C., Evrard, M., Guillotin, S., Loeuillet, E., Paradis, C., Pouget, A. M., Reynoard, J. ve Vaucel, J.-A. (2023) “Gamma-hydroxybutyrate (GHB), 1,4-butanediol (1,4BD), and gamma-butyrolactone (GBL) intoxication: A state-of-the-art review”, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 142, 105435.

Elian, A. A. (2000) “A novel method for GHB detection in urine and its application in drug-facilitated sexual assaults”, *Forensic Science International*, 109(3), 183-187.

ElSohly, M. A. (2001) “Drug-facilitated sexual assault”, *Southern Medical Journal*, 94(6), 655-656.

ElSohly, M. A. ve Salamone, S. J. (1999) “Prevalence of Drugs Used in Cases of Alleged Sexual Assault”, *Journal of Analytical Toxicology*, 23(3), 141-146.

EMCDDA (2022) *European drug report 2022: trends and developments*. LU.

Felmlee, M. A., Morse, B. L., Follman, K. E. ve Morris, M. E. (2018) “The Drug of Abuse Gamma-Hydroxybutyric Acid Exhibits Tissue-Specific Nonlinear Distribution”, *The AAPS Journal*, 20(1), 21.

Felmlee, M. A., Wang, Q., Cui, D., Roiko, S. A. ve Morris, M. E. (2010) “Mechanistic Toxicokinetic Model for γ -Hydroxybutyric Acid: Inhibition of Active Renal Reabsorption as a Potential Therapeutic Strategy”, *The AAPS Journal*, 12(3), 407-416.

Follman, K. E. ve Morris, M. E. (2019) “Treatment of γ -Hydroxybutyric Acid and γ -Butyrolactone Overdose with Two Potent Monocarboxylate Transporter 1 Inhibitors, AZD3965 and AR-C155858 | Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics”, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 370(1), 84-91.

Follman, K. E. ve Morris, M. E. (2022) “Treatment of γ -Hydroxybutyrate Overdose with the GABAB Antagonist SGS742”, *The Journal of Pharmacology and*

Experimental Therapeutics, 382(1), 21-30.

Frisoni, P., Corli, G., Bilel, S., Tirri, M., Gasparini, L. C., Alfieri, L., Neri, M., De-Giorgio, F. ve Marti, M. (2023) "Effect of Repeated Administration of γ -Valerolactone (GVL) and GHB in the Mouse: Neuroadaptive Changes of the GHB and GABAergic System", *Pharmaceuticals*, 16(9), 1225.

Fuller, D. E. ve Hornfeldt, C. S. (2003) "From Club Drug to Orphan Drug: Sodium Oxybate (Xyrem) for the Treatment of Cataplexy", *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 23(9), 1205-1209.

Galicía, M., Dargan, P. I., Dines, A. M., Yates, C., Heyerdahl, F., Hovda, K. E., Giraudon, I., Wood, D. M., Miró, Ò., Anand, J. S., Bonnici, J., Caganova, B., Eyer, F., Jürgens, G., Kabata, P. M., Liakoni, E., Liechti, M. E., Mégarbane, B., Moughty, A., O'Connor, N., Paasma, R., Persett, P. S., Pöld, K., Radenkova-Saeva, J., Scholz, I., Vallersnes, O. M., Waring, W. S. ve Zacharov, S. (2019) "Clinical relevance of ethanol coingestion in patients with GHB/GBL intoxication", *Toxicology Letters*, 314, 37-42.

Gallimberti, L., Cibir, M., Pagnin, P., Sabbion, R., Pani, P. P., Pirastu, R., Ferrara, S. D. ve Gessa, G. L. (1993) "Gamma-hydroxybutyric acid for treatment of opiate withdrawal syndrome", *Neuropsychopharmacology*, 9(1), 77-81.

Gallimberti, L., Gentile, N., Cibir, M., Fadda, F., Canton, G., Ferri, M., Ferrara, S. D. ve Gessa, G. L. (1989) "Gamma-hydroxybutyric acid for treatment of alcohol withdrawal syndrome", *The Lancet*, 334(8666), 787-789.

Gallimberti, L., Spella, M. R., Soncini, C. A. ve Gessa, G. L. (2000) "Gamma-hydroxybutyric acid in the treatment of alcohol and heroin dependence", *Alcohol*, 20(3), 257-262.

Galloway, G. P., Frederick-Osborne, S. L., Seymour, R., Contini, S. E. ve Smith, D. E. (2000) "Abuse and therapeutic potential of gamma-hydroxybutyric acid", *Alcohol*, 20(3), 263-269.

Ghio, L., Cervetti, A., Respino, M., Murri, M. B. ve Amore, M. (2014) "Management and Treatment of Gamma Butyrolactone Withdrawal Syndrome: A Case Report and Review", *Journal of Psychiatric Practice®*, 20(4), 294.

Gunja, N., Doyle, E., Carpenter, K., Chan, O. T., Gilmore, S., Browne, G. ve Graudins, A. (2008) " γ -Hydroxybutyrate poisoning from toy beads", *Medical Journal of Australia*, 188(1).

Habibian, S., Ahamad, K., McLean, M. ve Socias, M. E. (2019) "Successful Management of Gamma-hydroxybutyrate (GHB) Withdrawal Using Baclofen as a Standalone Therapy: A Case Report", *Journal of Addiction Medicine*, 13(5), 415-417.

Haller, C., Thai, D., Jacob Iii, P. ve Dyer, J. E. (2006) "GHB urine concentrations after single-dose administration in humans", *Journal of analytical toxicology*, 30(6), 360-364.

Hearne, E., Alves, E. A., Van Hout, M. C. ve Grund, J.-P. C. (2017) "Home

Manufacture of Drugs: An Online Investigation and a Toxicological Reality Check of Online Discussions on Drug Chemistry”, *Journal of Psychoactive Drugs*, 49(4), 279-288.

Heier, E.-C., Eyer, F., Rabe, C., Geith, S., Dargan, P. I., Wood, D. M., Heyerdahl, F., Dines, A. M., Giraudon, I., Erik Hovda, K., Yates, C., Vallersnes, O. M., Miró, Ò., Liechti, M. E., Zellner, T. ve Group, on behalf of the E.-D. R. (2022) “Clinical effect of ethanol co-use in patients with acute drug toxicity involving the use of central nervous system depressant recreational drugs”, *European Journal of Emergency Medicine*, 29(4), 291.

Hillebrand, J., Olszewski, D. ve Sedefov, R. (2008) “GHB and its precursor GBL: an emerging trend case study”, *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Lissabon (EMCDDA Thematic Papers)*.

Hockenhull, J., Murphy, K. G. ve Paterson, S. (2017) “An observed rise in γ -hydroxybutyrate-associated deaths in London: Evidence to suggest a possible link with concomitant rise in chemsex”, *Forensic Science International*, 270, 93-97.

Jung, S., Kim, M., Kim, S. ve Lee, S. (2023) “Interaction between γ -Hydroxybutyric Acid and Ethanol: A Review from Toxicokinetic and Toxicodynamic Perspectives”, *Metabolites*, 13(2), 180.

Kamal, R. M., Dijkstra, B. A. G., de Weert-van Oene, G. H., van Duren, J. A. M. ve de Jong, C. A. J. (2017) “Psychiatric comorbidity, psychological distress, and quality of life in gamma-hydroxybutyrate-dependent patients”, *Journal of Addictive Diseases*, 36(1), 72-79.

Kamal, R. M., van Noorden, M. S., Franzek, E., Dijkstra, B. A., Loonen, A. J. ve De Jong, C. A. (2016) “The neurobiological mechanisms of gamma-hydroxybutyrate dependence and withdrawal and their clinical relevance: a review”, *Neuropsychobiology*, 73(2), 65-80.

Kaupmann, K., Cryan, J. F., Wellendorph, P., Mombereau, C., Sansig, G., Klebs, K., Schmutz, M., Froestl, W., Van Der Putten, H., Mosbacher, J., Bräuner-Osborne, H., Waldmeier, P. ve Bettler, B. (2003) “Specific γ -hydroxybutyrate-binding sites but loss of pharmacological effects of γ -hydroxybutyrate in GABAB(1)-deficient mice”, *European Journal of Neuroscience*, 18(10), 2722-2730.

Kennedy, R., Murira, J., Foster, K., Heinsbroek, E., Keane, F., Pal, N., Chalmers, L. ve Sinka, K. (2021) “Sexualized drug use and specialist service experience among MSM attending urban and rural sexual health clinics in England and Scotland”, *International Journal of STD & AIDS*, 32(14), 1338-1346.

Kintz, P. (2016) “A novel approach to document single exposure to GHB: hair analysis after sweat contamination”, *Journal of analytical toxicology*, 40(7), 563-564.

Kintz, P., Cirimele, V., Jamey, C. ve Ludes, B. (2003) “Testing for GHB in hair by

GC/MS/MS after a single exposure. Application to document sexual assault”, *Journal of Forensic Science*, 48(1), 1-6.

Kleiman, M. A. ve Hawdon, J. E. (2011) “Convention on Psychotropic Substances, 1971”, *Encyclopedia of Drug Policy*, 170-171.

Koek, W. ve France, C. P. (2008) “Cataleptic effects of γ -hydroxybutyrate (GHB) and baclofen in mice: mediation by GABAB receptors, but differential enhancement by N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor antagonists”, *Psychopharmacology*, 199(2), 191-198.

Kunst, L. E. ve Gebhardt, W. A. (2018) “Prevalence and Psychosocial Correlates of Party-Drug Use and Associated Problems among University Students in the Netherlands”, *Substance Use & Misuse*, 53(12), 2077-2088.

Laborit, H. (1964) “Sodium 4-hydroxybutyrate”, *International journal of neuropharmacology*, 3(4), 433-IN8.

Lam, W. K., Felmlee, M. A. ve Morris, M. E. (2010) “Monocarboxylate Transporter-Mediated Transport of γ -Hydroxybutyric Acid in Human Intestinal Caco-2 Cells”, *Drug Metabolism and Disposition*, 38(3), 441-447.

Lammers, G. J., Arends, J., Declerck, A. C., Ferrari, M. D., Schouwink, G. ve Troost, J. (1993) “Gammahydroxybutyrate and Narcolepsy: A Double-Blind Placebo-Controlled Study”, *Sleep*, 16(3), 216-220.

Lettieri, J. ve Fung, H. L. (1978) “Improved pharmacological activity via pro-drug modification: comparative pharmacokinetics of sodium gamma-hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone”, *Research communications in chemical pathology and pharmacology*, 22(1), 107-118.

Liakoni, E., Walther, F., Nickel, C. H. ve Liechti, M. E. (2016) “Presentations to an urban emergency department in Switzerland due to acute γ -hydroxybutyrate toxicity”, *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, 24(1), 107. Liechti, M. E., Quednow, B. B., Liakoni, E., Dornbierer, D., Von Rotz, R., Gachet, M. S., Gertsch, J., Seifritz, E. ve Bosch, O. G. (2016) “Pharmacokinetics and pharmacodynamics of γ -hydroxybutyrate in healthy subjects”, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 81(5), 980-988.

Madea, B. ve Mußhoff, F. (2009) “Knock-out drugs: their prevalence, modes of action, and means of detection”, *Deutsches Ärzteblatt International*, 106(20), 341.

Maitre, M. (1997) “The γ -hydroxybutyrate Signalling System in Brain: Organization and Functional Implications”, *Progress in Neurobiology*, 51(3), 337-361.

Martz, W., Annika Nebel, Nebel, A. ve Veit, F. (2019) “Variation of intraindividual levels of endogenous GHB in segmented hair samples.”, *Forensic Science International*, 302, 109913-109913.

Meyer, R., Jenewein, J. ve Boettger, S. (2014) "Management of Gamma-Butyrolactone Dependence with Assisted Self-Administration of GBL", *Case Reports in Neurological Medicine*, 2014, 1-3.

Moriya, F., Nishimura, H., Furumiya, J. ve Hashimoto, Y. (2006) "Effects of drinking and smoking on endogenous levels of urinary γ -hydroxybutyric acid, a preliminary study", *Legal Medicine*, 8(4), 231-234.

Morse, B. L., Vijay, N. ve Morris, M. E. (2012) " γ -Hydroxybutyrate (GHB)-Induced Respiratory Depression: Combined Receptor-Transporter Inhibition Therapy for Treatment in GHB Overdose", *Molecular Pharmacology*, 82(2), 226-235.

Negrusz, A. ve Gaensslen, R. E. (2003) "Analytical developments in toxicological investigation of drug-facilitated sexual assault", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376(8), 1192-1197.

Nicholson, K. L. ve Balster, R. L. (2001) "GHB: a new and novel drug of abuse", *Drug and Alcohol Dependence*, 63(1), 1-22.

Nimmerrichter, A. A., Walter, H., Gutierrez-Lobos, K. E. ve Lesch, O. M. (2002) "Double-blind controlled trial of γ -hydroxybutyrate and clomethiazole in the treatment of alcohol withdrawal", *Alcohol and Alcoholism*, 37(1), 67-73.

van Noorden, M. S., Kamal, R. M., Dijkstra, B. A., Mauritz, R. ve de Jong, C. A. (2015) "A case series of pharmaceutical gamma-hydroxybutyrate in 3 patients with severe benzodiazepine-resistant gamma-hydroxybutyrate withdrawal in the hospital", *Psychosomatics*, 56(4), 404-409.

Ozer, U., Batmaz, M. ve Akbas, I. (2017) "Gamma-hydroxybutyrate (GHB): an Emerging Substance of Abuse", *Dusunen Adam The Journal of Psychiatry and Neurological Sciences*, 30(1), 73.

Palamar, J. J. ve Halkitis, P. N. (2006) "A qualitative analysis of GHB use among gay men: Reasons for use despite potential adverse outcomes", *International Journal of Drug Policy*, 17(1), 23-28.

Richard, D., Ling, B., Authier, N., Faict, T. W., Eschali r, A. ve Coudor , F. (2005) "GC/MS Profiling of γ -Hydroxybutyrate and Precursors in Various Animal Tissues Using Automatic Solid-Phase Extraction. Preliminary Investigations of Its Potential Interest in Postmortem Interval Determination", *Analytical Chemistry*, 77(5), 1354-1360.

Rodriguez-Cruz, V. ve Morris, M. E. (2021) " γ -Hydroxybutyric Acid–Ethanol Drug-Drug Interaction: Reversal of Toxicity with Monocarboxylate Transporter 1 Inhibitors", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 378(1), 42-50.

Rosen, M. I., Pearsall, H. R., Woods, S. W. ve Kosten, T. R. (1996) "The effect of

gamma-hydroxybutyric acid on naloxone-precipitated opiate withdrawal”, *Neuropsychopharmacology*, 14(3), 187-193.

Roth, R. H. ve Giarman, N. J. (1970) “Natural occurrence of gamma-hydroxybutyrate in mammalian brain”, *Biochemical Pharmacology*, 19, 1087-1093.

Sarigüzel, M. (2020) “Kenevir’in Küresel Uyuşturucu Kontrol Sistemine Yönelttiği Tehdit”, *International Journal of Disciplines In Economics and Administrative Sciences Studies (IDEA studies)*, 6(24), 1075-1094.

Shi, Y., Cui, X., Shen, M. ve Xiang, P. (2016) “Quantitative analysis of the endogenous GHB level in the hair of the Chinese population using GC/MS/MS”, *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 39, 10-15.

Steuer, A. E., Raeber, J., Simbuerger, F., Dornbierer, D. A., Bosch, O. G., Quednow, B. B., Seifritz, E. ve Kraemer, T. (2021) “Towards Extending the Detection Window of Gamma-Hydroxybutyric Acid—An Untargeted Metabolomics Study in Serum and Urine Following Controlled Administration in Healthy Men”, *Metabolites*, 11(3), 166.

Stillwell, M. (2002) “Drug-Facilitated Sexual Assault Involving Gamma-Hydroxybutyric Acid”, *Journal of Forensic Sciences*, 47(5), 1-2.

Stout, P. A., Simons, K. D. ve Kerrigan, S. (2010) “Quantitative analysis of gamma-hydroxybutyrate at endogenous concentrations in hair using liquid chromatography tandem mass spectrometry.”, *Journal of Forensic Sciences*, 55(2), 531-537.

SWGTOX (2013) “Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) standard practices for method validation in forensic toxicology”, *Journal of Analytical Toxicology*, 37(7), 452-474.

Tay, E., Lo, W. K. W. ve Murnion, B. (2022) “Current Insights on the Impact of Gamma-Hydroxybutyrate (GHB) Abuse”, *Substance Abuse and Rehabilitation*, 13, 13-23.

Thai, D., Dyer, J. E., Benowitz, N. L. ve Haller, C. A. (2006) “Gamma-hydroxybutyrate and Ethanol Effects and Interactions in Humans”, *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 26(5), 524-529.

von Theobald, L., Rousselet, M., Cholet, J., Debar, H., Boels, D., Victorri-Vigneau, C. ve Grall-Bronnec, M. (2017) “Inpatient Gamma-Hydroxybutyrate Detoxification: A Case Report Describing Day-to-day Therapeutic Management”, *Journal of Addiction Medicine*, 11(3), 231.

Thomas, J. L., Strickland, E. C., Lloyd, E. W., Donnelly, C. C., Rankoth, A., Pieczonka, S. M., Colpoys, C., Michael A. Smith, Smith, M. J., Smith, M. A., LeBeau, M. A., Montgomery, M. A., Karas, R. P., Peters, E. M. ve Miller, M. L. (2020) “Endogenous GHB in Segmented Hair Part I: Inter-individual Variation for Group Comparisons.”, *Journal of Analytical Toxicology*, 44(7), 628-636.

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (2021) *KIRMIZI REÇETEYE TABİ İLAÇLAR*.

Ugarte, A., de la Mora, L., García, D., Martínez-Rebollar, M., de Lazzari, E., Torres, B., Inciarte, A., Ambrosioni, J., Chivite, I., Solbes, E., de Loredó, N., Del Carlo, G. F., González-Cordón, A., Blanco, J. L., Martínez, E., Mallolas, J. ve Laguno, M. (2023) “Evolution of Risk Behaviors, Sexually Transmitted Infections and PrEP Care Continuum in a Hospital-Based PrEP Program in Barcelona, Spain: A Descriptive Study of the First 2 Years’ Experience”, *Infectious Diseases and Therapy*, 12(2), 425-442.

Uys, J. D. K. ve Niesink, R. J. M. (2005) “Pharmacological aspects of the combined use of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy) and gamma-hydroxybutyric acid (GHB): a review of the literature”, *Drug and Alcohol Review*, 24(4), 359-368.

Vaiano, F., Serpelloni, G., Furlanetto, S., Palumbo, D., Mari, F., Fioravanti, A. ve Bertol, E. (2016) “Determination of endogenous concentration of γ -hydroxybutyric acid (GHB) in hair through an ad hoc GC–MS analysis: A study on a wide population and influence of gender and age”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 118, 161-166.

Van Laar, M., Cruts, A., Van Ooyen-Houben, M., Meijer, R. ve Brunt, T. (2010) “Netherlands National Drug Monitor: NDM Annual Report 2009”, *Trimbos Institute, Utrecht, The Netherlands*.

Vos, C. F., Pop-Purceanu, M., van den Berg, M. J. W. ve Schellekens, A. F. A. (2021) “Successful Treatment of Severe, Treatment Resistant GHB Withdrawal through Thiopental-Coma”, *Substance Abuse*, 42(1), 33-38.

Wang, Q., Darling, I. M. ve Morris, M. E. (2006) “Transport of γ -Hydroxybutyrate in Rat Kidney Membrane Vesicles: Role of Monocarboxylate Transporters”, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(2), 751-761.

Wang, X., Wang, Q. ve Morris, M. E. (2008) “Pharmacokinetic Interaction between the Flavonoid Luteolin and γ -Hydroxybutyrate in Rats: Potential Involvement of Monocarboxylate Transporters”, *The AAPS Journal*, 10(1), 47-55.

Weiss, K. G. ve Colyer, C. J. (2010) “Roofies, Mickies and Cautionary Tales: Examining the Persistence of the ‘Date-Rape Drug’ Crime Narrative”, *Deviant Behavior*, 31(4), 348-379.

WHO, W. H. O. (2012) “Gamma-hydroxybutyric acid (GHB) critical review report”, *Expert committee on drug dependence 35th meeting, hammamet, tunesia. 4-8 june 2012*.

Wojtowicz, J. M., Yarema, M. C. ve Wax, P. M. (2008) “Withdrawal from gamma-hydroxybutyrate, 1, 4-butanediol and gamma-butyrolactone: a case report and systematic review”, *Canadian journal of emergency medicine*, 10(1), 69-74.

Wolf, C. J. H., Beurmanjer, H., Dijkstra, B. A. G., Geerlings, A. C., Spoelder, M., Homberg, J. R. ve Schellekens, A. F. A. (2021) “Characterization of the GHB Withdrawal Syndrome”, *Journal of Clinical Medicine*, 10(11), 2333.

Wood, D. M., Brailsford, A. D. ve Dargan, P. I. (2011) “Acute toxicity and withdrawal syndromes related to gamma-hydroxybutyrate (GHB) and its analogues gamma-butyrolactone (GBL) and 1,4-butanediol (1,4-BD)”, *Drug Testing and Analysis*, 3(7-8), 417-425.

Xyrem International Study Group (2005) “Further evidence supporting the use of sodium oxybate for the treatment of cataplexy: a double-blind, placebo-controlled study in 228 patients”, *Sleep Medicine*, 6(5), 415-421.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı

İNSAN ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU	
ETİK KURULUN ADI	ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İNSAN ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
AÇIK ADRES	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA
TELEFON	0312 595 82 27
FAKS	0312 310 63 70
E-POSTA	tipinsanetik@ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Başvuru No: 2023000409-1(2023/409) Endojen GHB seviyesinin Türk Popülasyonunda Bireylerden Alınan Saç Örneklerinde Belirlenmesi	
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/AD/ SOYADI	Doç. Dr. Halide Nihal AÇIKGÖZ	
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/AD/ SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Adli Bilimler	
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:07-458-23	Tarih: 27 Temmuz 2023
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

İNSAN ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU	
ÇALIŞMA EŞAĞI	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Hakan ERGÜN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kararı	Araştırma ile İlgili
Prof. Dr. Hakan ERGÜN	Tıbbi Farmakoloji	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Berna ARDA	Tıp Tarihi ve Etik	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Hatice İLGİN RUHİ	Tıbbi Genetik	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Sevim AYDIN	Histoloji ve Embriyoloji	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Berna SAVAŞ	Tıbbi Patoloji	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Yüksel ÖRÜN	Tıbbi Onkoloji	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Cihangir AKYOL	Genel Cerrahi	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Başak Ceyda MEÇO	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Doç. Dr. Emel OKULU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Doç. Dr. Zehide Çiler BÜYÜKATALAY YALDIZ	Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Doç. Dr. Rengin YILMAZ	Nöroloji	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Doç. Dr. Serkan AKBULUT	Cerrahi Onkoloji	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Doç. Dr. Mine YILDIRIM	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒
Dr. İrem KAR	Biyostatistik	A.O. Tıp Fakültesi	E ☐ H ☒

Funda
A.U.T.

Ek.2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Araştırmanın adı: Endojen GHB seviyesinin Türk Popülasyonunda Bireylerden Alınan Saç Örneklerinde Belirlenmesi

Sorumlu Araştırmacı: Şareza Bucuka

Araştırmanın Yürütüleceği Yer: Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü

Sayın gönüllü,

Yukarıda adı yazılı araştırmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunuyorsunuz. Bu araştırmada yer almayı kabul etmeden önce, araştırmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme çerçevesinde özgürce vermeniz gerekmektedir. Aşağıdaki bilgileri lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınız olursa sorunuz ve açık yanıtlar isteyiniz.

Araştırmamızın amacı, Ankara’da yaşayan kadın ve erkek bireylerin saç örneklerindeki GHB (gama-hidroksibütrik asit) seviyelerini incelemektir. GHB, vücutta doğal olarak bulunan bir bileşiktir ve bazı durumlarda dışarıdan alınarak kötüye kullanımı olan bir maddedir. Çalışmamızda madde ve/veya alkol bağımlılığı olmayan, sağlıklı bireylerden toplanan saç örneklerinde doğal GHB seviyeleri ölçülerek bir sınır değeri oluşturmak ve cinsiyet, yaş değişkenlerine göre anlamlı bir farklılık olup olmadığı tespit edilmek istenmektedir.

Bu amaçla bu çalışmaya sizin de gönüllü olarak katılmanızı teklif ediyoruz. Bu çalışmaya sizin gibi 18 yaş üstü toplam 73 bireyin dahil edilmesi planlanmaktadır. Çalışmaya katılmayı kabul ederseniz size kısa bir anket uygulayacağız ve başınızın arka kısmından yaklaşık bir kurşun kalem kalınlığına denk saç örneğini saç derinize mümkün olduğu kadar yakın şekilde makasla keserek alacağız. Anketi doldurmanız yaklaşık 5 dakika sürecektir.

Bu araştırma toplam 12 ay sürmesi planlanmaktadır. Ayrıca, bu çalışmaya sizde dahil 73 erişkin birey katılacaktır.

Bu araştırmada yer almak tümüyle sizin isteğinize bağlıdır. Bu çalışma size ve bağlı olduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumunuza herhangi mali bir yük getirmeyecektir. Size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Bu araştırmanın sonuçları bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından araştırmadan çıkarılmanız halinde, sizle ilgili veriler kullanılmayacaktır. Ancak veriler bir kez anonimleştikten sonra araştırmadan çekilmeniz mümkün olmayacaktır. Araştırmadan çekilmeniz tedavinizi hiçbir şekilde etkilemeyecektir. Sizden elde edilen tüm bilgiler gizli tutulacak, araştırma yayınlandığında da varsa kimlik bilgilerinizin gizliliği korunacaktır.

Merak ettiğiniz bir şey olursa veya bir yan etkiden şüphelendiğinizde günün 24 saatinde - numaralı telefondan sorumlu araştırmacıyı arayabilir ve istediklerinizi sorabilirsiniz.

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllülere verilmesi gereken bilgileri içeren toplam 1 sayfa metni okudum (ya da sözlü olarak dinledim). Eksik kaldığını düşündüğüm konularda sorularımı araştırmacılara sordum ve doyurucu yanıtlar aldım. Yazılı ve sözlü olarak tarafıma sunulan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anladığım kanısındayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğim konusunda karar vermem için yeterince zaman tanındı. Bu çalışmada bana ne olacağını, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi, imzaladığım bu formun bir kopyasının bana verileceğini biliyorum. Bu koşullar altında, araştırma kapsamında elde edilen şahsıma ait bilgilerin bilimsel amaçlarla kullanılmasını, gizlilik kurallarına uyulmak kaydıyla sunulmasını ve yayınlanmasını, hiçbir baskı ve zorlama altında kalmaksızın, kendi özgür irademle kabul ettiğimi beyan ederim.

Bu bilgiler ışığında elde edilen örneğimin;

- ☐ Başka bilimsel çalışmalarda kullanılmamasını
- ☐ Kimliğimin gizli tutularak bilimsel amaçlı diğer çalışmalarda da kullanılmasına izin veriyorum.

Gönüllünün;

Araştırmacının;

Adı- soyadı:

Adı- soyadı:

Tarih:

Tarih:

İmza:

İmza:

ÖZGEÇMİŞ

