

Saçta İlaç ve Madde Birikimi

Incorporation of Drug and Substances in Hair

Emre MUTLU,^a
Faruk AŞICIOĞLU^b

^aT.C. Adalet Bakanlığı,
Adli Tıp Kurumu,
^bİstanbul Üniversitesi
Adli Tıp Enstitüsü,
İstanbul

Received: 11.01.2018
Received in revised form: 24.02.2018
Accepted: 27.02.2018
Available online: 23.03.2018

Correspondence:
Emre MUTLU
T.C. Adalet Bakanlığı
Adli Tıp Kurumu, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
dremremutlu@yahoo.com

ÖZET Son yıllarda saç; adli toksikoloji, klinik toksikoloji ve klinik kimya alanlarındaki uyuşturucu testinde rutin kullanılan kan ve idrar örneklerine alternatif olan temel bir biyolojik örnek hâline gelmiştir. Saçlarda kötüye kullanılan ilaçların analitik sonuçları, kronik uyuşturucu kullanımı hakkında yararlı bilgiler sağlamaktadır. Sonuçlar, kişilerin uyuşturucu istismarının geçmişini ve ciddiyetini tahmin etmek için değerlidir ve idrar uyuşturucu analizinin yorumlanmasını kolaylaştırmak için uyuşturucu kullanımı hakkında ek bilgi temin etmektedir. Saç analizi geniş tespit penceresine sahiptir. Örnek toplanması invaziv değildir. Saç örneklerinin bir diğer avantajı, oda sıcaklığında saklanabilmeleri ve toplamadandan sonra hızlıca analiz edilmesine gerek duyulmamasıdır. Ayrıca saç analizinin gebelikte ilaç veya madde maruziyetinin saptanmasında, doping kontrolünde, alkol kullanım bozukluklarının saptanmasında kullanılabilmesi belirlenmiştir. İlaçlar veya maddelerin melaninler, lipitler ve proteinler gibi hücre içi bileşenlere bağlanarak saç içine dâhil olduğu bildirilmiştir. Saçın oluşumu sırasındaki başlıca üç etkenin (kan akımının, ter ve sebum, dış ortam) madde veya ilaçların saçta birikiminde etkili olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmada, saçta ilaç veya madde birikim mekanizmalarının ve birikimi etkileyen faktörlerin, saç analizinin uygulama alanlarının belgelenmesi ve tartışılması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Saç; ilaç; birikim; kötüye kullanım

ABSTRACT In recent years hair has become a fundamental biological specimen, alternative to the usual samples blood and urine, for drug testing in the fields of forensic toxicology, clinical toxicology and clinical chemistry. Analytical results of drugs of abuse in hair provide useful information on chronic drug use. They are valuable to presume the history and severity of individual drug abuse and to provide supplementary information on drug use to facilitate interpretation of urine drug analysis. Hair testing has larger detection window. The sample collection is non-invasive. Another advantage of hair samples is that it can be stored at room temperature and do not need to be analyzed quickly after they are collected. Hair analysis is also used for detection of gestational drug exposure, doping control and detection of alcohol abuse. It has been reported that drugs are incorporated into hair by binding to such intracellular components as melanins, lipids, and proteins. It has been proposed that drugs and substances can enter into hair during at least 3 stages: from the blood during hair formation, from sweat and sebum, and from external environment. The aim of this review is to document and discuss the mechanisms of drug or substance accumulation in hair and its influencing factors, application of hair analysis.

Keywords: Hair; drug; incorporation; abuse

Saç, homojen bir yapıya sahip gibi görünse de aslında oldukça karmaşık olan biyolojisi kısmen anlaşılmıştır.¹ Memelilerde saç; protein (%65-95), su (%15-35), lipit (%1-9) ve minerallerden (<1%) oluşan deri eklerinden biridir. Saç shaftında korteksi çevreleyen bir kütikül bulunduğu gibi, bazı saç tiplerinde santral medullayı çevreleyen ilave bir kütikülde bulunmaktadır.² Saç apokrin, sebace ve ter bezleriyle yakın ilişkide olan cildin

epidermal epitelyumunda bulunan folikülle başlamaktadır. Folikülün en iç bölgesi saç tomurcuğu olarak adlandırılmaktadır. Burası saç hücrelerinin biyosentezinin gerçekleştirildiği yerdir ve kılcal damarlarla temas hâlinindedir. Saç tomurcuğundaki hücreler, vücuttaki diğer hücre çeşitlerinden daha hızlı bir şekilde, her 23-72 saatte bir bölünmektedir. Saç tomurcuğunun hemen üstünde saçın sertleşmeye başladığı keratinojen bölge bulunmaktadır.³

Saçın anagen faz olarak adlandırılan büyüme dönemi ve katagen, telogen fazlarından oluşan duraklama dönemlerini içeren büyüme döngüsüne sahip olduğu bilinmektedir.^{3,4} Erişkin kafa derisinde bulunan yaklaşık 1 milyon saç folikülünden %85'i büyüme aşamasında, geri kalan yaklaşık %15'lik kısmı ise duraklama aşamasında bulunmaktadır.³ Saçlar için büyüme oranı saç tipine ve anatomik bölgeye bağlı olarak değişmekle birlikte, yaklaşık 0,22-0,52 mm/gün veya 0,6-1,42 cm/ay oranında bildirilmiştir.² Büyüme fazı boyunca folikül etrafındaki kılcal damarlar, saça besin maddeleri sağlamak ve aynı zamanda metal, ilaç gibi kan dolaşımı içerisinde olabilecek her tür yabancı maddeyi saça verebilmektedir. Bu maddeler saç şaftına dâhil edilmekte ve büyüdükçe saçla birlikte taşınmaktadır.⁵ Kimyasal maddeler, keratinojen bölge düzeyine göre çevreleyen dokulardan, lenf veya hücreler arası sıvılardan da kıla dâhil olabilmektedirler. Saçın, küçük molekülleri bağlama potansiyeline sahip farklı işlevsel kimyasal gruplar (örneğin; asidik, bazik vb.) içeren, kısmen kristalin yapıda, yönlendirilmiş bir polimerik ağ olduğu belirtilebilmektedir.⁵

Bu çalışmada; saçta ilaç ve madde analizinin önemi, avantajları, ilaç ve madde birikim mekanizmaları ve etkileyen faktörlerin, saç analizinin kullanım alanlarının incelemesi ve vurgulanması amaçlanmıştır.

SAÇTA İLAÇ VEYA MADDE BİRİKİMİNİN MEKANİZMASI

PASİF DİFÜZYON

Saçta ilaç veya madde birikiminin en basit mekanizması olarak basit pasif difüzyon öne sürülmüş-

tür.⁵ Bu modelde, kimyasal madde pasif difüzyonla kan akımından büyüyen saç hücresinde folikül bazaline doğru hareket etmekte ve daha sonra keratojenez sırasında kıl şaftına sıkıca bağlanmaktadır. Diğer taraftan yapılan bazı çalışmalarda, vücutta bulunan madde miktarıyla saçtaki biriken arasında her zaman pozitif korelasyon olmadığı gözlemlenerek pasif difüzyon modeline karşı çıkmıştır.⁵⁻⁷ Bu değişkenliklerin ise denekler arasındaki farmakokinetik farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.⁶ Yine pasif difüzyon modelinin sorgulandığı diğer bulgu ise saçtaki ana ilaçla metaboliti arasındaki oranlara ilişkin elde edilen sonuçlardır.⁸⁻¹⁰ Örneğin; sigara içicilerde saçtaki nikotin/kotinin oranı 10 olarak saptanmıştır.¹¹ Eroin kullanıcılarında saçta 6-monoasetilmorfinin morfine oranı üç olarak saptanırken, kokain kullanıcılarında kokain benzoilekgonin oranının 10 olduğu rapor edilmiştir.⁵ Bu çalışmalar ışığında, ana ilaç ve lipofilik metabolitlerin öncelikle saçta bulunduğu bildirilmiştir.⁵

EKSTERNAL KONTAMİNASYON

Madde veya ilaç saça eksternal kontaminasyon yoluyla da geçebilmektedir. Eksternal dağılım gösteren madde keratinize matür saç liflerine hava, su ve saça uygulanan kozmetikler yoluyla da geçebilmektedir ve saçta olan bazı eser elementlerin kaynağının bu yol olduğu belirtilmektedir.⁵ Amfetamin, kokain, eroin, marijuana ve nikotin gibi dumanla içilebilen maddelerin hava yoluyla saça girilme potansiyelleri bulunmaktadır.^{12,13} Yalancı pozitiflik durumlarının yorumlanmasında eksternal kontaminasyon hâlâ tartışmalı bir konu olmaktadır.¹⁴ Diğer taraftan, dumanın çekilmesi sureti ile içilen maddelerin pasif inhalasyonu da aktif kullanımda olan aynı mekanizmayla birikimle sonuçlanabilmektedir.^{5,15}

Lipit ortamda daha fazla çözünürlük gösteren tetrahidrokannabinol gibi maddelerin intradermal transfer yoluyla saça geçmeleri diğer bir olası mekanizma olarak bildirilmektedir. Belirli ilaçların cilt üzerinde birikmesi derin kompartman modeli aracılığıyla saça ilacın geçmesi sonucunu akla getirmiştir.

MULTİPL KOMPARTMAN MODELİ

Multipl kompartman modeli, günümüzde ilacın saçta nasıl geçtiğini açıklayan model olarak kabul edilmektedir.⁵ Bu modele göre ilaçların saçta birikmesinde önerilen etkenler;

1. Saç oluşumu boyunca kan dolaşımı,
2. Saç oluşumdan sonra ter ve sebum,
3. Saç oluşumundan sonra dış çevre ve saç ortaya çıktıktan sonra cilt yer almaktadır. Saç folikülünü çevreleyen çoklu gövde bölümlerinden de maddeler aktarılabilir.⁶

Uyuşturucu ve diğer kimyasalların saçlarda birikmesinin, birçok mekanizma aracılığıyla saç büyüme döngüsünün çeşitli dönemlerinde meydana geldiği bildirilmektedir. Bununla birlikte, kıllardaki ilacın konsantrasyonu, yeri ve bir bireyin uyuşturucu kullanımı öyküsü ile ilgili kesin bir korelasyonun çıkarılması için, bu prosedürü gerçekleştirirken etkileyen faktörlerden birikim gösteren maddenin doğası yapısı, kimyasal özelliklerine, bireyin fizyolojik özelliklerine (genetik, yaş, cinsiyet, sağlık durumu), hangi mekanizmanın baskın olacağına dikkat çekilmesi açısından önemli olduğu bildirilmiştir.

SAÇTA İLAÇ VE MADDE BİRİKİM MEKANİZMALARINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

DOZ

Saçta ilaç veya madde birikiminin, alınan dozla ilişkili olarak kandaki ilaç veya madde konsantrasyonuna bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Saçın sabit bir oranda büyüdüğü kabul edilmesiyle segmenter saç analizi yapılarak, ilaç veya madde kullanımının zaman sürecini belirleme hususunda bilimsel temel oluşturulmuştur. Bu, ilacın kan akımında bulunma zamanıyla saç shaftı boyunca bulunduğu pozisyon arasında pozitif korelasyon olduğu anlamına gelmektedir. Bazı çalışmalar, doz ile saçtaki ilaç miktarı arasında da pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir.¹⁶ Kodein verilerek erkek gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında kodeinin, alınan doz ile orantılı olarak saçın kalıcı unsurlarına hızla dağılabildiği, kodeinin bir kısmının saç büyüdükçe bağlı kaldığı

ve tek bir dozdan sonra 10. haftaya kadar distal segmentte saptanabildiği bildirilmiştir.¹⁷

TER VE SEBUM

Ter ve sebumun ilaç veya madde dağılımına katkıda bulunduğunu destekleyen bazı çalışmalar bulunmaktadır. Amfetamin, kokain, alkol, fensiklidin ve metadonun sıklıkla terde, kandakinden daha büyük konsantrasyonda olduğu saptanmıştır. Aynı dozda ilaç veya maddeye maruz kalan deneklerin saçlarındaki konsantrasyon değişkenlikleri, kısmen sekresyonlardaki bireysel farklılıklarla açıklanabilmektedir. Hatta ilaçlar bazen saç shaftının altında geniş bir alana dağılabilmekte, bu durum da sonuçlardaki bireysel farklılıklara sebep olabilmektedir. Ayrıca, yine bu modelde laboratuvarların yıkama ve ekstraksiyon prosedürleri arasındaki değişkenlikler sonuçları etkileyebilmektedir. Sekresyon aracılığıyla saçın oluşumundan sonra saçta transfer olan ve zayıf olarak bağlanan ilaç yıkamayla çıkarılabilmektedir.

KILIN PİGMENTASYONU

Melaninin kılda iki farklı çeşidinden, yani eumelanin ve pheomelaninden bahsedilmektedir. Eumelanin koyu saç pigmentasyonundan sorumlu olduğu, pheomelaninin ise açık renkli saçta daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹⁸ İnsan saçı her iki melanin çeşidini farklı miktarlarda içermekte olup bu da saç rengindeki farklılıklarla sonuçlanmaktadır. Melanin geniş oranda negatif yüklü karboksil grupları ve o-semi quinonlardan oluşan polianyonik polimerler içermektedir. Melanin katyonik mole- küllere afinite göstermektedir. Bazı yapıdaki ilaçlar fizyolojik koşullar altında pozitif yüklenmektedir, yani protonlanarak elektrostatik kuvvetler yoluyla melaninin anyonik gruplarına kapsamlı bir bağlanma gösterdiği bulunmuştur. Nötral ve asidik yapıdaki ilaçlar melaninle zayıf etkileşim göstermekte, pigmente ve pigmente olmayan kıllar arasında belirgin bir tercih sergilememektedirler. Melanositlerin pH'si üç-beş arasında olup, bazı yapıdaki ilaçların afinitesini anlamlı derecede etkilediği hayvan ve insanlarda yapılan deneyler ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir.¹⁹⁻²¹ Pigmente saçlarda sarışın veya boz renkli saçlara

göre aynı dozda ilacın daha fazla biriktiği bildirilmiştir.¹⁹ Rollins ve ark. tarafından, ofloksasin ve kodeinin sağlıklı gönüllülere verilerek yapıldığı bir çalışmada, saç rengine göre maddelerin birikme eğilimi “siyah>kahverengi>sarışın>kırmızı” şeklinde olduğu bildirilmiştir.^{22,23}

Long-Evans türü ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, ilaç ve metabolit birikiminin doza bağlı bir tavır gösterdiği saptanmıştır.^{16,24} Yine aynı çalışmada, pigmentasyonun bazı ilaç ve metabolitlerinin (kokain ve metabolitleri olan benzoilekgonin, ekgonin metil ester, benzoilekgonin, norcocaine) kılta kalma süresini etkileyebildiği belirtilmiştir.¹⁶ Sprague dawley türü ratlarda yapılan başka bir çalışmada, kıldaki kodein konsantrasyonunun doz ve zaman bağımlı artış gösterdiği rapor edilmiştir.¹⁸ Aynı çalışmada, birikim konsantrasyonunun pigmente kılta daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ratlarda yapılan diğer bir çalışmada, kıldaki metamfetamin ve amfetamin konsantrasyonunun doz ve uygulama sıklığıyla doğru orantılı olduğu bildirilmiştir.²⁵ Aynı çalışmada, pigmente kılta beyaz kıla göre metamfetamin ve amfetamin konsantrasyonu 2-10 kat daha fazla bulunmuştur.²⁵ Yeni psikoaktif maddelerden olan feniletilaminden türetilmiş 25B-NBOMe, 25C-NBOMe ve 25I-NBOMe uygulanan ratlarda; siyah kılta beyaz kıla göre daha fazla konsantrasyonda madde belirlenmiş, ayrıca siyah kılta doz bağımlı ilaç konsantrasyonunda artış saptanmıştır.²⁶ Ratlara sentetik kannabinoid JWH-073 verilerek yapılan bir çalışmada, pigmente ve pigmente olmayan kıllarda yapılan analizde, madde konsantrasyonu yönünden kıllar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.²⁷ Başka bir çalışmada, sentetik kannabinoid olan AM-2201 uygulanan ratlarda pigmente ve pigmente olmayan kıllarda madde dağılımı açısından fark saptanmamıştır.²⁸ Kannabinoidler bazik yapıda olmadıklarından pigmentasyondan, etkilenmemektedirler.²⁹

İLACA BAĞLI FAKTÖRLER

İlacın Lipofilitesi

İlacın ve metabolitlerinin polaritesi de yine birikimi etkileyen önemli faktörlerdendir.³⁰ Daha polar olan benzoilekgonin, morfin veya amfetaminin

daha lipofilik olan kokain veya 6-monoasetilmorfin veya metamfetaminde daha az derecede saçta geçtiği belgelenmiştir. Kokain verilen ratlarda yapılan kıl analizinde, kokainin benzoilekgoninden anlamlı derecede daha fazla kılta biriktiği belirlenmiştir.¹⁶ Lipofilik moleküller membrana daha kolay penetre olabilmekte ve konsantrasyon gradientine bağlı olarak matriks hücrelerine penetre olabilmektedir. Ayrıca, ilacın kimyasal yapısıyla vücutta kalma süresi arasında da ilişki saptanmıştır. Polaritesi yüksek ilaçlar daha uzun süre saçta kalabilmektedirler. Örneğin; trisiklik antidepresanların daha polar metabolitleri, ana ilaca göre saçtan daha yavaş elimine edilmektedirler.

İlacın Melanin Afinitesi

Melanin pigmentinin saçta ilaç birikiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Örneğin; yeni psikoaktif maddelerden olan feniletilaminden türetilmiş 25B-NBOMe, 25CNBOMe ve 25I-NBOMe uygulanan ratlarda; siyah kılta beyaz kıla göre daha fazla konsantrasyonda madde belirlenmiş, ayrıca siyah kılta doz bağımlı ilaç konsantrasyonunda artış saptanmıştır.²⁶

Membran Permeabilitesi

İlaç birikiminde diğer bir etken olarak membran permeabilitesi görünmektedir. Saç matriksi kandan daha asidiktir, bu nedenle bazik moleküllerin geçmesi için asidik veya nötral yapıda olanlardan daha elverişli bir ortam söz konusudur. Kokain ve amfetamin asetilmorfin bazik yapıdadır; asidik ve nötral olanlardan daha kolay saçta birikim sergilemektedir. 9-tetrahidrokannabinollerin asidik karboksil metabolitleri ufak izler hâlinde saçta geçmektedir. Benzer şekilde, asidik yapıdaki salisilik asit ve valproik asit gibi ilaçlar da saçta az miktarda belirlenmektedir.

Saçta İlaç ve Madde Analizi

Kuşkusuz kan ve idrar, ilaç analizi için seçilen rutin örnekler arasında yer almaktadır. Ek olarak, insan saçları da ilaçlara ve ksenobiyotiklere maruziyetin ölçülmesinde ve varlıklarının açığa çıkarılmasında kullanılmaktadır. Saçın segmental analizi bireysel ilaç dozaj öyküsünün yeniden oluşturulmasında

kullanılmaktadır. Günümüzde kan ve idrarın yanında, ilaç analizinde saçın alternatif ve temel örnek olduğu kabul edilmiştir.⁵ Saçtaki analiz, kan ve idrar örneklerinden elde edilen sonuçların yorumlanması ve desteklenmesi yönüyle de önem taşımaktadır.²⁷

Saç analizinin avantajları

1. Saç shaftının uzunluğuna bağlı olarak, idrar veya kanla karşılaştırıldığında (birçok ilaç için iki-dört gün) saçın uzun süreli tayin penceresine sahip olmasıdır (günlerden yıllara).^{5,31}

2. İlaçlar, kan ve idrarda ölçülebilir konsantrasyonlarda olmasalar dahi saçın uzun ömrü boyunca saçta kalabildiğinden, saçtan uzun vadeli ilaç dozaj öyküsünün değerlendirilebilmesidir.³²

3. Saçın invaziv olmayan ve bireye ağrı, korku, acı vermeyen yöntemlerle örnek olarak toplanabilmesidir.³³

4. Örnek alımının izole ortam gerektirmemesi nedeni ile taklit ve değiştirmeyi engelleyen koşullar altında gerçekleştirilebilmesidir.

5. Saç analizinin intrauterin hayatta dahi çevresel toksik maddelere maruziyetin değerlendirilebilmesinde kullanılabilir olmasıdır.^{2,34,35}

6. Doping kontrolünde, ilacın kötüye kullanımının saptanmasında, klinik toksikoloji ve klinik kimya gibi geniş kullanım alanı bulunması, ayrıca ilaç kötüye kullanım tedavi programlarına uyumun değerlendirilmesinde uygun bir örnek olarak sayılmasıdır.²

7. Saçtan ilaç veya madde analizi sensitivitesi oldukça yüksek bir yöntemdir. Örneğin; oral alınan tek doz kodein dahi insan saçında saptanabilmektedir.¹⁷

Saç analizinin dezavantajları

Saç analiz sonuçlarını yorumlamak diğer örneklerde olduğu gibi kolay olmamaktadır.³⁵ Çünkü ilaç metabolizması dışında fizyolojiyle ilişkili bireysel farklılıklar mevcuttur. Saçın büyüme oranı, melaninin içeriği, yaşam tarzındaki farklılıklar, şampuan kullanılması, güneşe maruz kalma miktarı, kozmetik kullanımı sonuçları etkileyebilmektedir. Bu özelliklere bağlı olarak, asıl ilaç alım miktarıyla

kantitatif saç sonuçları arasında oldukça karışık bir ilişki bulunabilmektedir.⁴

MADDE VE İLAÇ ANALİZİ İÇİN SAÇIN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI

Saç toplama için tercih edilen bölge çoğu araştırmacı için verteks olmuştur.⁵ Başın diğer bölgele- rindeki kıllarla karşılaştırıldığında; verteks saçının saç büyüme hızında daha az değişkenlik görül- mekte, büyüme evresindeki kılların sayısı daha sabit bulunmakta, yaş ve cinsiyet gibi faktörlerden daha az etkilenmektedir.² Verteks saçları, büyü- mede en standart ve büyüme evresinde en tutarlı olan bölgedir. Öte yandan; saçlar hava, su ya da toz- dan gelen kirleticilerin yanı sıra ter sekresyonla- rına maruz kalmakta ve kozmetik uygulamalar saçın kontaminasyonuna sebep olarak analiz sonuçlarında değişikliklere, yanlışlara yol açabil- mektedir.⁵ Örnek büyüklüğünün genellikle 100- 200 mg saç arasında olması ve özellikle de kesitsel analiz yapılması durumunda en uygun numuneyi elde etmek için saçların mümkün olduğunca kafa derisine yakın kesilmesi gerekmektedir. Saç ör- nekleri, ortam sıcaklığında alüminyum folyo, zarf veya plastik torba içinde kuru bir yerde saklanma- lıdır.

YALANCI POZİTİFLİK

Saç, vücudun dışında olan bir örnektir ve dış kon- taminasyona maruz kalmaktadır. Solunum yoluyla vücuda girilebilecek herhangi bir madde (sigara veya gaz/buhar inhalasyonu), kıl shaftı tarafından pasif emilim yoluyla saç analizinde pozitif sonuç- lar meydana gelmesinin olası bir sebebi olarak dü- şünülmelidir. Aynı şekilde, birey tarafından işlenmiş herhangi bir sıvı veya katı madde saçlara aktarılabilir. Bu nedenle, analiz öncesinde, çevresel maddelere pasif olarak maruz kalma so- nucu gelişen yanlış pozitiflikleri önlemek için saçın dekontaminasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır.^{14,24} Saç numuneleri için dekontaminasyon prosedürleri arasında 1. Metanol, etanol, aseton vb. ile yıkama, 2. Sodyum dodesil sülfat çözeltisi veya diğer deter- janlarla yıkama, 3. Organik çözücüler ve fosfat tam- ponları ile tekrarlanan yıkamalar yer almaktadır. Ayrıca, kontaminasyonun neden olduğu yalancı pozitiflik durumlarını önlemek için; 1. Neme bağlı

kontaminasyon gelişmesinin önlenmesi, yani saçların kuru kalmasının sağlanması, 2. İlaç kullanımını kontaminasyondan ayıran benzersiz metabolitlerin saptanması, 3. Saç renginden, dokudan, hasardan veya kozmetik tedaviden kaynaklanan sapsmalara bağlı ilaç alımının ayırt edilmesi gibi öneriler getirilmiştir.

SAÇIN YIKAMA VE EKSTRAKSİYON İŞLEMLERİ

Yıkamanın amacı; saç saftı etkilenmeden ekstrenal kontaminasyon yoluyla epidermal tabakalara nüfuz eden ilaçların yanı sıra, saç yüzeyindeki yabancı kirletici maddeleri, kir ve yağları gidermektir. Bununla birlikte, yıkama işlemi sırasında hem normal birikim gösteren ilaçların uzaklaştırılması hem de haricî olarak biriktirilen ilaçların çıkarılmasının mümkün olduğu rapor edilmiştir.

Saç numunelerinin yıkanmasından sonra, saçta kalan herhangi bir ilaç veya madde erişilemeyen saç alanındaki ilaç fraksiyonunu tanımlamaktadır. Bu ilaçlar ekstraksiyon/sindirim prosedürleri ile saç matrisinden çıkarılır ve içeriden alınan ilaçları temsil etmektedir. İlaç veya maddeler için saç ekstraksiyon prosedürleri alkali, enzimatik ve asidik ekstraksiyon olmak üzere üç kategoriye ayrılmaktadır.

SAÇ ANALİZ YÖNTEMLERİ

Saç analizinde en sık kullanılan analitik yöntem; seçicilik, duyarlılık ve özgüllük açısından diğer yöntemlerden üstün olduğu bildirilen gaz kromatografi-kütle spektrometresi [gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)]'dir.⁵ GC-MS, opiyat, kokain ve ilgili ilaçlar; amfetaminler, kannabinoidler, diğer istismar edilen maddeler, benzodiazepinler, terapötik ilaçlar, böcek öldürücüler ve diğer çevresel kirliliğe yol açan maddelerin yanı sıra doping maddelerinin saç analizleri için de kullanılmıştır.

SAÇ ANALİZİNİN UYGULAMA ALANLARI İLAÇ VEYA MADDE KULLANIM GEÇMİŞİNİN DOĞRULANMASI

Saç analizleri; zaman içinde uyuşturucuya maruz kalma ile ilgili bilgi sağlamakta, son kullanılan uyuşturucu kullanımından başka geçmişe ait bilgi

istenildiği durumlarda, kişinin bildirdiği uyuşturucu kullanım öyküsünü doğrulamada faydalı olabilmektedir.³⁶ Saçla kontrol testleri sayesinde bir uyuşturucu bağımlısının madde kötüye kullanma gerçeğini gizlemesi mümkün olmamaktadır. Birkaç günde bir uyuşturucu kullanan bir bağımlı vaka-sında bu gerçek, idrar ve kan testleriyle tekrarlan-sa bile kanıtlanamamaktadır.²

Saç analizleri ayrıca, bir kişinin uyuşturucu kullanımının geriye dönük bir takvimini de gösterebilmektedir. Bunun için çok kesitli analiz gerek-mekte ve kısa periyotlar boyunca uyuşturucu kullanımını ölçmek için bir miktar saç telinin kesitlere bölünmesi söz konusu olmaktadır. Örneğin; ilk analizde pozitif olan kişilerde kesitsel analiz yapılarak, bireyin daha önceki birkaç ay boyunca uyuşturucu kullanımını veya uzak durma iddiasını doğrulamak mümkün olabilmektedir.

Uyuşturucu ilaçların kesitsel analizi üzerine yapılan en kapsamlı çalışmalar, rehabilitasyon merkezlerindeki hastaları içermektedir. Segmental saç analizi, önceki ilaç öyküsünü ve son dönemlerdeki yoksun bırakmayı doğrulamak için kullanılmaktadır. Tedaviye iyi uyulması durumunda, en düşük ilaç konsantrasyonları kök bölgesine en yakın kesimlerde bulunmakta, böylece uyuşturucu kullanımı veya yakın zamandaki yoksunluğu doğrulanmaktadır.^{2,37}

Saç analizinin uyuşturucu alımındaki göreceli değişiklikleri doğru bir şekilde izlemek için uygun olduğu bildirilmiştir.³⁸ Bazı çalışmalarda, aynı kişide ilaç dozunun iki katına çıkmasının saçın ilaç içeriğini iki katına çıkardığı, ancak bunun kan ve idrar ilaç seviyesi için geçerli olmadığı gösterilmiştir.^{2,16,18,39} Yakın gözetim altında sürekli sabit dozda metadon alan hastaların saçlarında, metadon düzeyleri belirgin bir sabitlik sergilemiştir.⁴⁰

Gestasyonel İlaç ve Madde Maruziyetinin Belirlenmesi

Uyuşturucu tüketen insanların artması, mutlaka bu ilaçların etkisi altındaki gebe kadınların artmasına da neden olmaktadır. Kısa ve uzun vadeli problemlerden dolayı uyuşturucuya maruz kalan kadınlar için doğumdan hemen sonra bu durumun belirlenmesi sayesinde yenidoğanların uygun müdahale ve izlemi yapılabilmektedir.^{41,42}

Yenidoğanlarda geniş algılama penceresi geliştirilerek, annenin uyuşturucu kullanım paterni ve sıklığı konusunda bilgi sağlanabileceği bildirilmiştir.² Vinner ve ark., uyuşturucu bağımlısı annelerden doğan bebeklerin tüylerinde istismar edilen çeşitli ilaçları saptamışlardır.⁴³ Annenin saçının son 3 cm'sinde ölçülen nikotin ile yenidoğanda saptanan arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir.⁴⁴

SAÇTA NİKOTİN BELİRLENMESİ

Nikotin ve ana metaboliti olan kotinin saçta yerleşmektedir.^{11,45,46} Aktif sigara içicilerin, pasif içicilere karşı saçları daha yüksek konsantrasyonda nikotin ve kotinin içermektedir.³⁴ Çünkü bunlar sistematik olarak pasif içicilerde birikmekte, kotinin metaboliti sigara kullanımını ayırt etmede kullanılmamaktadır. Bu belirteçlerin yüksek konsantrasyonları, aynı zamanda sigara içen bir ailede yaşayan çocukların saçlarında da görülmektedir. İn vitro deneylerde, nikotinin dumanın akım yönüne göre, saçta proksimalden distale bir konsantrasyon farkına sebep olduğu gösterilmiştir.⁴⁷

Bazı çalışmalarda, nikotin ve kotinin yenidoğanların saçında saptanmıştır.^{7,8} Kırık anne/bebek çifti üzerinde yapılan çalışmada, sırasıyla yenidoğan ve annenin saçlarında nikotin konsantrasyonları 0,15-11,8 ve 0,37-63,5 ng/mg olarak bulunmuştur.⁴⁴ Bu çalışma, yenidoğan ve annenin saçındaki nikotin konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunduğu göstermiştir.³⁴ Aktif ve pasif sigara içen annelerin bebeklerinin saçlarında nikotin ve kotinin bulunmuş, ayrıca heriki yenidoğan grubunun saçlarında her iki maddenin konsantrasyonları eşit derecede yüksek saptanmıştır.⁴⁸

ALKOLÜN KÖTÜYE KULLANIMININ SAPTANMASI

Alkole bağlı sorunlar göz önüne alındığında, aşırı alkol tüketiminin teşhisi daha fazla önem kazanmaktadır. Bu amaçla kullanılan yöntemler, artmış karaciğer enzimi aktivitesi, artmış eritrosit ortalaması hücre hacmi veya karbonhidrattan eksik transferrin varlığı gibi yöntemlerdir.^{2,49,50} Ancak, bu göstergeler patolojik nedenleri de gösterebilmektedir.

Etanol tüketim belirteçleri etilglukuronid, fosfatidiletanol veya yağ asidi etil esterleridir. Alkol tüketiminin saptanması için saçlar üzerinde yapılan ilk çalışmalarda etilglukuronid üzerine yoğunlaşmıştır.⁵ Yapılan çalışmalarda, saçta etilglukuronid varlığı her zaman alkol tüketimi ile ilişkilendirilmiş iken, negatif sonuçların alkol kötüye kullanımını kesin olarak dışlamadığı bildirilmiştir.^{51,52} Yapılan araştırmalar, alkol tüketiminin izlenmesinde yağ asidi etil esterlerin kullanımını önermişlerdir.^{53,54} Çünkü yağ asidi etil esterleri, etanol varlığında saç köklerinde sentezlenebilmektedir. Etanol ve serbest yağ asitleri, trigliseridler, lipoproteinler veya fosfolipitlerin varlığında yağ asidi etil esterleri karaciğerde yağ asidi etil ester sentaz tarafından oluşturulmakta, ayrıca bu enzimin saç köklerinde de bulunduğu bildirilmektedir.^{54,55} Yağ asit etil esterlerinin alkole bağlı organ hasarıyla ilişkili bulunması, ilgi çekici olarak nitelendirilmiştir. Kandaki yağ asidi etil esterlerinin, aktif alkol alımının veya alkol alımının tamamlanmasından sonra en az 24 saat geçtiğinin bir belirteci olarak kullanılabilirliği öne sürülmüştür.^{3,49,51} Hiç alkol kullanmayan ve sosyal içicilerin saçlarında yağ asidi etil esterleri saptanmaz iken, alkoliklerin saçında yağ asidi etil esterlerinin bulunması, ağır alkol tüketiminin belirlenmesi için uygun bir belirteç olabilecekleri sonucunu düşündürmüştür.^{31,50,52} Alkol yoksunluğu tedavisi sırasında yapılan saç analizinde, distalden proksimal kök segmentine doğru yağ asidi etil ester içeriğinde azalma bildirilmiştir.⁵⁴

DOPİNG UYGULAMALARININ DOĞRULANMASI

Sporcular yağsız vücut kitlesini, dayanıklılığı, agresiviteyi artırdığı ve egzersizler arasında daha kısa bir yenilenme süresi sağladığı için hem endojen hem de ekzojen anabolik steroidleri kullanmaktadırlar.² Saç analizinin doping uygulamalarında en önemli kullanım yeri, karşılaşmadan birkaç gün önce bir ilacın veya maddenin kullanımının bırakılmasına bağlı gelişen yalancı negatif sonuçları belirlemek olabilmektedir.^{56,57} Ayrıca sporcularda saçın segmental analizi tekli idrar analizinin aksine, ilaç veya madde kullanımının sıklığını ve geçişini, tekrarlayan kötüye kullanımları gösterebilmektedir.⁵⁸

İnsan saçında anabolik steroidlerin tanımlanmasıyla ilgili yeterli veri bulunmamaktadır.⁵⁹ Saçta testosteron konsantrasyon bulgularının yorumlanması idrardakinin aksine zor olabilmektedir. Çünkü, testosteronun fizyolojik konsantrasyonları ile istismar eden kişiler arasında bulunan konsantrasyonunun oldukça yakın olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, testosteron belirlenmesinde tanımlayıcı olarak; saçta testosteron esterlerinin bulunması, doping yüklemesiyle mümkün olabilmektedir çünkü esterler şüphesiz ekzojen maddelerdir.^{60,61}

Saç analizinin diğer bir avantajı ise aynı üriner metabolit (norandrosteron and noretiokholanolon) oluşmasına sebep olan nandrolon ve diğer 19-norsteroidlerin (norandrostenedion ve norandrostenediol) kötüye kullanımının ayırt edilebilmesine imkân sağlamasıdır.⁶² Bu durum idrarda açık olarak mümkün değil iken, saçta esas maddenin ana yapısının tanımlanması mümkündür. Kortikosteroidler belirli spor dallarında sporcuların performanslarını artırmak için kullanılmaktadır. Bu ilaçların saçta ilk tanımlanması, prednizon ile uzun süre tedavi edilen bir hastada gerçekleşmiştir.⁶³

Sporcuların uzun süreli araştırılması durumunda saç analizleri, doping uygulamalarını belgelemek için tercih edilen çözüm olarak görünmektedir.² Beta-2-agonistler; sempatomimetik özelliklerinden, uyarıcı etkilerinden ve daha yüksek dozajlarda anabolik ajanlar benzeri aktivitelerinden dolayı spor dallarında yasaklanmıştır; zira lipogenez azaltılmakta, lipoliz ve glikojenoliz artmaktadır.⁶⁴ Aynı zamanda, proteinden “turn over”ını düşürerek protein yıkılmasını düşürmektedirler.⁶⁵ Beta agonistlerden salbutamol solunum kapasitesini artırmakta, klenbuterol ise kas kütlesini artırmaktadır. Salbutamol, astımlı hastalarda terapötik özelliklerinden dolayı bronkodilatör olarak yaygın kullanılmaktadır. Bununla birlikte, salbutamol ve terbutalin gibi bronkodilatörlerin sadece inhaler formlarına, ilgili tıbbi otoriteye yarışma öncesi yazılı olarak bildirilmesi suretiyle müsaade edilmektedir. İlacın tıbbi bir reçete ile birlikte belirli terapötik amaçlarla kullanılmasına izin verildiği durumlarda idrar testinden kaçmak kolay görünmektedir. Yine de segmental saç analizinin, sporcuların doping tutumunu açıkça belgeleyebileceği bildirilmektedir.⁶⁴

SÜRÜCÜ EHLİYETİNİN YENİDEN DÜZENLENMESİ

Sürücü belgesi psikoaktif maddelere bağımlılık veya etkisi altında sürüş nedeni ile reddedilen, iptal edilen veya askıya alınan kişiler herhangi bir uyuşturucu madde suiistimalinden vazgeçtiğini iddia ettiğinde, tekrar ehliyetini alabilmesi için bir tıbbi komitenin yaşadışı uyuşturucu maddelerden fiilen ve tamamen uzak durulduğunu teyit etmesi ve uyuşturucu istismarının gelecekte yeniden ortaya çıkma riskini dışlaması gerekmektedir. Tıbbi komitenin klinik kararını desteklemek için kabul edilebilir bir kronolojik pencereyle ilaçlardan yoksun kalmanın objektif kanıtını sağlamak amacıyla saç analizleri, kişilerin toksikolojik davranışlarını geriye dönük olarak araştırmayı amaçlayan bir klinik ve laboratuvar testleri paneline dâhil edilmiştir. Saç analiziyle idrar tahlilleri karşılaştırıldığında, saç testlerinin çok daha yüksek bir diagnostik sensitivite gösterdiği bildirilmiştir.

İdrar ve kan testi ile karşılaştırıldığında saç testinin en önemli pratik avantajı, analiz edilen saç shaftının uzunluğuna bağlı olarak haftalardan aylara kadar geniş algılama penceresine sahip olmasıdır. Saç analizinden elde edilen kalitatif sonuçların uzun süreli madde veya ilaç kullanımının değerlendirilmesinde geçerli olduğu hususunda bir mutabakat bulunmaktadır.⁴ Türkiye’de saç analizinden geçmişe dönük uyuşturucu madde kullanımının saptanmasında faydalanılmaktadır. İtalya ve Almanya, sürücü ehliyetinin yeniden düzenlendiği vakalarda bu yaklaşımı kullanmaktadır.⁶⁶

ADLİ OLAYLARDA MADDE VE İLAÇ ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İlaç veya madde kullanımı, kişinin davranışları değiştirerek adli olaylara sebebiyet verdiği bilinen bir durumdur. Son dönemlerde cinsel saldırı, hırsızlık gibi madde ve/veya ilacın kolaylaştırdığı suçlarda artış rapor edilmiştir. Adli olaylarla ilişkili ilaç veya maddeler arasında; benzodiazepinler, hipnotikler, sedatifler, anestetikler, esrar, ekstazi, liserjik asit veya sık etanol tüketimi gösterilmektedir.³⁷ Düşük dozajları nedeni ile, gama hidroksi bütirik asit hariç; kahve, alkolsüz içecekler (kola) veya alkollü kokteyl gibi içeceklere gizlice uygulanmaları nispeten basit olmaktadır. Bu maddelerin çoğu amne-

zik özelliklere sahiptir ve bu nedenle mağdurlar suçun meydana geldiği koşulları doğru bir şekilde hatırlayamamaktadır. Genellikle etkileri kısa süreli olduğundan, kişiyi hızla etkisiz hâle getirmektedirler. Bu durumlarda, kan idrarda az çıkabilmektedirler. Hatta bu uyarıdan dolayı, suçun rapor edilmesinde gecikme durumlarında klasik biyolojik örneklerden madde veya ilaç elimine edileceğinden saçın değerli bir örnek teşkil edeceği öne sürülmektedir.² Günümüzde sıvı kromatografi-MS/MS yöntemiyle tek doz çoğu sedatifin kullanımının saptanması mümkün olmaktadır.⁶⁷

SONUÇ

Uyuşturucu ve kronik alkol kullanımı, gestasyonel ilaç ve madde maruziyeti, doping kullanımı, adli olaylarda ilaç ve madde etkisinin saptanması hususlarında saç analizinin değeri giderek artmaktadır. Bu durum, saç analizinin adli bilimler alanında ve klinik uygulamalarda giderek artan oranda kullanılmasından anlaşılmaktadır.

Saç analizleri, toksikolojide klasik (idrarda, kan) testlere ek olarak yararlı olabilmektedir. Numuneler daha kolay elde edilebilmektedir. Geniş bir saptama penceresi bulunması, vücut sıvıları ve diğer dokulara göre daha fazla stabiliteye sahip olması sayesinde saçlar ilaç/madde kullanım öyküsünü daha doğru bir şekilde ortaya koyabilmektedir.

Sonuçların, özellikle eksternal kontaminasyon, kozmetik uygulamalar veya etnik açıdan (kıldaki

pigment dağılımı, kılın yüzey tabakasının inceliği, gövde çapı, kesit kısımlarının şekli, dalga ve kıvrımcılık oranları) önyargılar nedeni ile yorumlanması konusunda hâlâ tartışmalar bulunmasına rağmen; geliştirilmiş analitik teknoloji, gelişmiş hassasiyet ve doğruluk ile sonuçlanarak daha iyi bilimsel anlayış ve test yorumu sağlamaktadır. Bu ilerlemeler saç analizinin faydalı ve objektif bir delil aracı olarak kullanılmasını daha da ileriye götürecektir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu; **Tasarım:** Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu; **Denetleme/Danışmanlık:** Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu; **Analiz ve/veya Yorum:** Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu; **Kaynak Taraması:** Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu; **Makalenin Yazımı:** Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu; **Eleştirel İnceleme:** Emre Mutlu, Faruk Aşıcıoğlu.

KAYNAKLAR

- Kintz P, Villain M, Cirimele V. Chemical abuse in the elderly: evidence from hair analysis. *Ther Drug Monit* 2008;30(2):207-11.
- Kintz P, Villain M, Cirimele V. Hair analysis for drug detection. *Ther Drug Monit* 2006;28(3):442-6.
- Pragst F, Balıkova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta* 2006;370(1-2):17-49.
- Balíková M. Hair analysis for drugs of abuse. Plausibility of interpretation. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2005;149(2):199-207.
- Boumba VA, Zivrou KS, Vougiouklakis T. Hair as a biological indicator of drug use, drug abuse or chronic exposure to environmental toxicants. *Int J Toxicol* 2006;25(3): 143-63.
- Henderson GL. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Forensic Sci Int* 1993;63(1-3):19-29.
- Brajenović N, Karačonić IB, Mikolić A, Stasenکو S, Piasek M. Tobacco smoke and pregnancy: segmental analysis of nicotine in maternal hair. *Arch Environ Occup Health* 2013;68(2):117-22.
- Ashford K, Westneat S. Prenatal hair nicotine analysis in homes with multiple smokers. *Nurs Clin North Am* 2012;47(1):13-20.
- Chetianukomkul T, Toriba A, Kizu R, Kimura K, Hayakawa K. Hair analysis of nicotine and cotinine for evaluating tobacco smoke exposure by liquid chromatography-mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 2004;18(9):655-61.
- Pichini S, Altieri I, Pellegrini M, Pacifici R, Zuccaro P. Hair analysis for nicotine and cotinine: evaluation of extraction procedures, hair treatments, and development of reference material. *Forensic Sci Int* 1997;84(1-3):243-52.
- Klein J, Blanchette P, Koren G. Assessing nicotine metabolism in pregnancy--a novel approach using hair analysis. *Forensic Sci Int* 2004;145(2-3):191-4.
- Uematsu T, Sato R, Fujimori O, Nakashima M. Human scalp hair as evidence of individual dosage history of haloperidol: a possible linkage of haloperidol excretion into hair with hair pigment. *Arch Dermatol Res* 1990;282(2):120-5.
- Koren G, Klein J, Forman R, Graham K. Hair analysis of cocaine: differentiation between systemic exposure and external contamination. *J Clin Pharmacol* 1992;32(7):671-5.
- Blank DL, Kidwell DA. Decontamination procedures for drugs of abuse in hair: are they sufficient? *Forensic Sci Int* 1995;70(1-3):13-38.
- Romano G, Barbera N, Lombardo I. Hair testing for drugs of abuse: evaluation of external cocaine contamination and risk of false positives. *Forensic Sci Int* 2001;123(2-3):119-29.

16. Hubbard DL, Wilkins DG, Rollins DE. The incorporation of cocaine and metabolites into hair: effects of dose and hair pigmentation. *Drug Metab Dispos* 2000;28(12):1464-9.
17. Rollins DE, Wilkins DG, Krueger GG. Codeine disposition in human hair after single and multiple doses. *Eur J Clin Pharmacol* 1996;50(5): 391-7.
18. Gygi SP, Joseph RE Jr, Cone EJ, Wilkins DG, Rollins DE. Incorporation of codeine and metabolites into hair. Role of pigmentation. *Drug Metab Dispos* 1996;24(4):495-501.
19. Rothe M, Pragst F, Thor S, Hunger J. Effect of pigmentation on the drug deposition in hair of grey-haired subjects. *Forensic Sci Int* 1997;84(1-3):53-60.
20. Henderson GL, Harkey MR, Zhou C, Jones RT, Jacob P 3rd. Incorporation of isotopically labeled cocaine into human hair: race as a factor. *J Anal Toxicol* 1998;22(2):156-65.
21. Kronstrand R, Förstberg-Peterson S, Kågedal B, Ahlner J, Larson G. Codeine concentration in hair after oral administration is dependent on melanin content. *Clin Chem* 1999;45 (9):1485-94.
22. Rollins DE, Wilkins DG, Krueger GG, Augsburg MP, Mizuno A, O'Neal C, et al. The effect of hair color on the incorporation of codeine into human hair. *J Anal Toxicol* 2003;27(8):545-51.
23. Wilkins DG, Mizuno A, Borges CR, Slawson MH, Rollins DE. Ofloxacin as a reference marker in hair of various colors. *J Anal Toxicol* 2003;27(3):149-55.
24. Marrinan S, Roman-Urrestarazu A, Naughton D, Levari E, Collins J, Chilcott R, et al. Hair analysis for the detection of drug use-is there potential for evasion? *Hum Psychopharmacol* 2017;32(3).
25. Han E, Park Y, Kim E, Lee S, Choi H, Chung H, et al. The dependence of the incorporation of methamphetamine into rat hair on dose, frequency of administration and hair pigmentation. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010;878(28):2845-51.
26. Nisbet LA, Venson R, Wylie FM, Scott KS. Application of a urine and hair validated LC-MS-MS method to determine the effect of hair color on the incorporation of 25B-NBOMe, 25C-NBOMe and 25I-NBOMe into hair in the rat. *J Anal Toxicol* 2017;41(6):559-65.
27. Kim J, In S, Park Y, Park M, Kim E, Lee S, et al. Deposition of JWH-018, JWH-073 and their metabolites in hair and effect of hair pigmentation. *Anal Bioanal Chem* 2013;405(30): 9769-78.
28. Kim J, Park Y, Park M, Kim E, Yang W, Baeck S, et al. Simultaneous determination of five naphthylindole-based synthetic cannabinoids and metabolites and their deposition in human and rat hair. *J Pharm Biomed Anal* 2015;102: 162-75.
29. Auwärter V, Wohlfarth A, Traber J, Thieme D, Weimann W. Hair analysis for delta9-tetrahydrocannabinolic acid a--new insights into the mechanism of drug incorporation of cannabinoids into hair. *Forensic Sci Int* 2010;196(1-3):10-3.
30. Nakahara Y, Kikura R. Hair analysis for drugs of abuse. XVIII. 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) disposition in hair roots and use in identification of acute MDMA poisoning. *Biol Pharm Bull* 1997;20(9):969-72.
31. Baumgartner MR. [Detection of consumption behaviour of psychotropic substances and alcohol by hair analysis]. *Ther Umsch* 2011;68(5):269-73.
32. Klausz G, Kass K, Sótónyi P, Róna K. [Hair analysis of abused and therapeutic drugs in forensic toxicology]. *Orv Hetil* 2006;147(45): 2181-6.
33. Mieczkowski T. Hair analysis for detection of psychotropic drug use. *Mayo Clin Proc* 2006;81(4):568-9.
34. Antunes MV, da Silva CF, Finger MA, Moore C, Linden R. Correlation analysis between cotinine hair concentrations from active smokers and nicotine intake and dependence. *Ther Drug Monit* 2015;37(3):405-7.
35. Kintz P, Cirimele V, Dumestre-Toulet V, Ludes B. Doping control for nandrolone using hair analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2001;24(5-6):1125-30.
36. Baumgartner MR, Guglielmo R, Fanger M, Kraemer T. Analysis of drugs of abuse in hair: evaluation of the immunochemical method VMA-T vs. LC-MS/MS or GC-MS. *Forensic Sci Int* 2012;215(1-3):56-9.
37. Boumba VA, Di Rago M, Peka M, Drummer OH, Gerostamoulos D. The analysis of 132 novel psychoactive substances in human hair using a single step extraction by tandem LC/MS. *Forensic Sci Int* 2017;279:192-202.
38. Ferrari A, Tiriferri I, Palazzoli F, Verri P, Vandelli D, Marchesi F, et al. Hair analysis to monitor abuse of analgesic combinations containing butalbital and propyphenazone. *J Pharm Biomed Anal* 2015;115:576-9.
39. Henderson GL, Harkey MR, Zhou C, Jones RT, Jacob P 3rd. Incorporation of isotopically labeled cocaine and metabolites into human hair: 1. dose-response relationships. *J Anal Toxicol* 1996;20(1):1-12.
40. Yang J, Li J, Xu G, Zhang J, Chen Z, Lu Z, et al. Elevated hair cortisol levels among heroin addicts on current methadone maintenance compared to controls. *PLoS One* 2016;11(3): e0150729.
41. Lendoiro E, González-Colmenero E, Concheiro-Guisán A, de Castro A, Cruz A, López-Rivadulla M, et al. Maternal hair analysis for the detection of illicit drugs, medicines, and alcohol exposure during pregnancy. *Ther Drug Monit* 2013;35(3):296-304.
42. Friguls B, Joya X, Garcia-Serra J, Gómez-Culebras M, Pichini S, Martínez S, et al. Assessment of exposure to drugs of abuse during pregnancy by hair analysis in a Mediterranean island. *Addiction* 2012;107(8): 1471-9.
43. Vinner E, Vignau J, Thibault D, Codaccioni X, Brassart C, Humbert L, et al. Neonatal hair analysis contribution to establishing a gestational drug exposure profile and predicting a withdrawal syndrome. *Ther Drug Monit* 2003;25(4):421-32.
44. Kintz P, Kieffer I, Messer J, Mangin P. Nicotine analysis in neonates' hair for measuring gestational exposure to tobacco. *J Forensic Sci* 1993;38(1):119-23.
45. Kintz P. Gas chromatographic analysis of nicotine and cotinine in hair. *J Chromatogr* 1992;580(1-2):347-53.
46. Mizuno A, Uematsu T, Oshima A, Nakamura M, Nakashima M. Analysis of nicotine content of hair for assessing individual cigarette-smoking behavior. *Ther Drug Monit* 1993;15(2):99-104.
47. Nilsen T, Zahlsen K, Nilsen OG. Uptake of nicotine in hair during controlled environmental air exposure to nicotine vapour: evidence for a major contribution of environmental nicotine to the overall nicotine found in hair from smokers and non-smokers. *Pharmacol Toxicol* 1994;75(3-4):136-42.
48. Koren G, Klein J, McMartin K. Diagnosing intrauterine exposure to cocaine by hair testing: six years of clinical use. *Ther Drug Monit* 1998;20(5):478-80.
49. Kulaga V, Pragst F, Fulga N, Koren G. Hair analysis of fatty acid ethyl esters in the detection of excessive drinking in the context of fetal alcohol spectrum disorders. *Ther Drug Monit* 2009;31(2):261-6.
50. Kulaga V, Gareji J, Fulga N, Koren G. Agreement between the fatty acid ethyl ester hair test for alcohol and social workers' reports. *Ther Drug Monit* 2010;32(3):294-9.
51. Jurado C, Soriano T, Giménez MP, Menéndez M. Diagnosis of chronic alcohol consumption. Hair analysis for ethyl-glucuronide. *Forensic Sci Int* 2004;145(2-3):161-6.
52. Auwärter V, Sporkert F, Hartwig S, Pragst F, Vater H, Diefenbacher A. Fatty acid ethyl esters in hair as markers of alcohol consumption. Segmental hair analysis of alcoholics, social drinkers, and teetotalers. *Clin Chem* 2001;47(12):2114-23.
53. Hastedt M, Bossers L, Krumbiegel F, Herre S, Hartwig S. Fatty acid ethyl esters in hair as alcohol markers: estimating a reliable cut-off point by evaluation of 1,057 autopsy cases. *Forensic Sci Med Pathol* 2013;9(2):184-93.
54. Pragst F, Auwärter V, Sporkert F, Spiegel K. Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Sci Int* 2001;121(1-2):76-88.
55. Wurst FM, Alexson S, Wolfersdorf M, Bechtel G, Forster S, Alling C, et al. Concentration of fatty acid ethyl esters in hair of alcoholics: comparison to other biological state markers and self reported-ethanol intake. *Alcohol Alcohol* 2004;39(1):33-8.
56. Anielski P. Hair analysis of anabolic steroids in connection with doping control--results from horse samples. *J Mass Spectrom* 2008;43(7): 1001-8.
57. Kintz P, Cirimele V, Dumestre-Toulet V, Villain M, Ludes B. Doping control for methenolone using hair analysis by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002;766(1):161-7.
58. Jung H, Lee N, Kim J. The estimation of mineral contents in oriental supplements consumed by elite athletes. *J Exerc Nutrition Biochem* 2013;17(4):161-7.
59. Kintz P, Cirimele V, Sachs H, Jeanneau T, Ludes B. Testing for anabolic steroids in hair from two body-builders. *Forensic Sci Int* 1999;101(3):209-16.
60. Thieme D, Grosse J, Sachs H, Mueller RK. Analytical strategy for detecting doping agents in hair. *Forensic Sci Int* 2000;107(1-3):335-45.
61. Kintz P, Cirimele V, Jeanneau T, Ludes B. Identification of testosterone and testosterone esters in human hair. *J Anal Toxicol* 1999;23(5):352-6.
62. Kintz P, Cirimele V, Ludes B. Discrimination of the nature of doping with 19-norsteroids through hair analysis. *Clin Chem* 2000;46(12): 2020-2.
63. Cirimele V, Traquai A, Kintz P, Ludes B. First identification of prednisone in human hair by liquid chromatography-ionspray mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1999;23(3):225-6.
64. Kintz P, Dumestre-Toulet V, Jamey C, Cirimele V, Ludes B. Doping control for beta-adrenergic compounds through hair analysis. *J Forensic Sci* 2000;45(1):170-4.
65. Giannetti L, Ferretti G, Gallo V, Necci F, Giorgi A, Marini F, et al. Analysis of beta-agonist residues in bovine hair: Development of a UPLC-MS/MS method and stability study. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2016;1036-1037:76-83.
66. Tagliaro F, Valentini R, Manetto G, Crivellente F, Carli G, Marigo M. Hair analysis by using radioimmunoassay, high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis to investigate chronic exposure to heroin, cocaine and/or ecstasy in applicants for driving licences. *Forensic Sci Int* 2000;107(1-3):121-8.
67. Kim J, Lee S, In S, Choi H, Chung H. Validation of a simultaneous analytical method for the detection of 27 benzodiazepines and metabolites and zolpidem in hair using LC-MS/MS and its application to human and rat hair. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Sci* 2011;879(13-14):878-86.