



Ringvorlesung 1.07.2014
Doping bei Pferde
Teil 1

Univ. Prof. Dr. Rene van den Hoven
Universitätsklinik für Pferde Vetmeduni Vienna



vetmeduni
vienna

Veterinärmedizinische Universität Wien

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

Frage 1


■ In wie weit kann man Doping im Pferdesport mit Doping beim Menschen vergleichen?




4

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

The Sheik's trainer and anabolic steroids: racing's biggest doping scandal



Zarooni **pleaded guilty** before the Disciplinary Panel of the British Horseracing Association (BHA) to a systematic, widespread misuse of anabolic steroids at his stables. Following an **unannounced 'in training' visit** to his Newmarket stables earlier this month, blood and hair samples taken from 11 of the 45 horses tested were found to contain **Stanozolol** and **Ethylestranol**








vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

Doping bei Pferde

1. Definition, Geschichte und gesetzliche Lage
2. Medikation versus Doping
3. Regulierung
4. Pharmakologische Aspekte
5. Analytik
6. Natürliche und künstliche Umweltkontamination
7. Praxis




vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

3

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

1.
Definition
Geschichte
gesetzliche Lage



6

1. Definition laut IOC

1. Gebrauch eines Hilfsmittels (Substanz oder Methode), das potenziell gesundheitsgefährdend ist und die **sportliche Leistung des Athleten verbessert**.
2. Die Anwesenheit einer Substanz im Körper eines Athleten oder der Beweis für den Gebrauch einer Methode, bei der eine solche Substanz oder Methode in der Liste auftaucht, die dem gegenwärtigen (Medical) Code beigefügt ist.



1. Doping seit den Römern dokumentiert

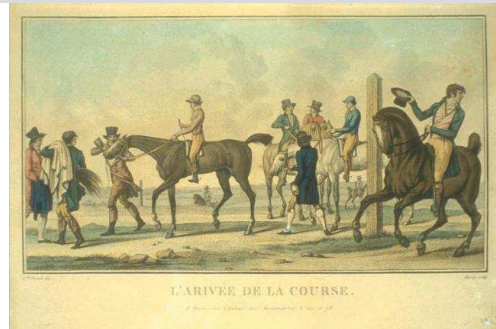


1. Veterinär relevant

- Doping ist eine verbotene Anwendung von Anregungsmitteln zur vorübergehenden Steigerung der sportlichen Leistungsfähigkeit
 - Pharmakologisch
 - Physisch
- Doping (Begriff seit 1899)
- 63000 chemische Substanzen bekannt davon > 4000 Medikamenten



1. Yankee Alchemists 1890-1910



11



9

1. Beispiel 1890 aus England

Yankee Mixtur

- Heroin 1.5 gr.
- Strychnine 2.5 gr
- Nitroglycerine 10 minims
- Tinct. Digitalis 5 minims
- Cola nut 2 oz.



1.The Hon. George Lambton vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde



Zwang the Jockey Club zu Dopingkontrolle in 1903



13

2.Konzeptänderung vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

- Zweiteiliges Regelwerk für
 - Doping
 - Medikation

- Neue internationale Terminologie:
 - Banned substances
 - Prohibited Medication substances



Frage 2 vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

■ Finden sie die Regelung, dass jede Art von Arzneimitteltherapie im Pferdesport als Doping gilt gut? Oder besteht hier der Bedarf einer Überarbeitung?



14

2.Beispiel neues Konzept vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

2013 Equine Prohibited Substances List 


*** Including any other substance with a similar chemical structure or similar biological effect(s) ***

LISTED AS	SUBSTANCE	ACTIVITY
CONTROLLED	17-Alpha-Hydroxy Progesterone FEMALES	Hormone
BANNED	17-Alpha-Hydroxy Progesterone MALES	Anabolic
BANNED	Acebutolol	Beta blocker
BANNED	Acefylline	Bronchodilator
BANNED	Acemetacin	Non-steroidal anti-inflammatory drug
BANNED	Acenocoumarol	Anticoagulant
CONTROLLED	Acepromazine	Sedative



2

Medikation versus Doping



15

2. Status quo vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

- Konzept noch nicht akzeptiert von europäischen Trab- und Rennverbände
- Konzept sollte ein Effekt auf den Strafaußmaß haben




18

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde


2. Spitzenleistung braucht Spitzenmuskel




vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

2. Transgene Mausmodelle

- MSTN Null Mutant
- IGF and IGF-Rezeptors




22

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

2. Frage 3

- Haben sie schon etwas über Gendoping gehört? Was denken sie über dieses Thema?



K	+/+	B	mh/+	C	mh/mh




20

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

3

Regulierung




23

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

2. Gene doping

- 12 January 2014: Gene doping: Sport's biggest battle?
By Tim Franks on BBC News
- NADA Austria: The Prohibited List defines gene doping as follows:
- The following, with the potential to enhance sport performance, are prohibited:
 - 1. The transfer of polymers of nucleic acids or nucleic acid analogues;
 - 2. The use of normal or genetically modified cells.



21

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

3. Regulierenden Instanzen

Human

- NADA Deutschland
- NADA Österreich
- Antidoping.ch



Veterinär

- Reitsportverbände/FEI
- Jockey Clubs/UET
- Tierschutzgesetz




3. Einbettung in Tierschutzgesetz



Beispiel aus der Schweiz

Doping: Wie bei Menschen wird auch bei Pferden versucht, die sportliche Leistung mit Medikamenten und anderen Mitteln zu steigern. Diese Praktik ist als Doping bekannt. Doping ist wegen der gesundheitsschädlichen Risiken und der Wettbewerbsverzerrung verboten (vgl. **Art. 16 Abs. 2 Bst. g TSchV**).

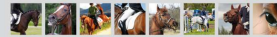


3. Prozedere im Falle eines positiven Befundes



A- Probe positiv:

- verantwortliche Person wird informiert und muss innerhalb bestimmter Frist bekannt geben, ob Sie die **B- Probe** untersucht haben will (natürlich auf eigene Kosten)
- falls nicht heißt das, dass Sie das Ergebnis der A- Probe akzeptiert



3. Tierschutzverordnung (TSchV) vom 23. April 2008 (Stand am 1. Mai 2014)



Der Schweizerische Bundesrat, gestützt auf das **Tierschutzgesetz** vom 16. Dezember 2005 (TSchG) und auf Artikel 19 Absatz 1 des Gentechnikgesetzes vom 21. März 2003, 3 verordnet:

1. Das Misshandeln, Vernachlässigen oder unnötige Überanstrengen von Tieren ist verboten.
2. Namentlich sind verboten:
 - h. **das Teilnehmen an Wettbewerben** und sportlichen Anlässen mit Tieren, bei denen **Stoffe oder Erzeugnisse** eingesetzt werden, die nach den für die **Sportverbände** maßgebenden Listen oder nach der vom BLV in einer Verordnung festgelegten Liste verboten sind



3. Sanktionen z.B. Zentrale für Traberzucht und Rennen in Österreich



1.) Strafautomatik

- Disqualifikation, Platzierung, Geld-, Sach- u. Ehrenpreise werden aberkannt
- 1 Monat Sperre für das Pferd
- 7 Tage Sperre für den Trainer (Fahrverbot)
- Sperre wird bei der UET gemeldet

2.) Beschluss des Dopingkomitees

- Urteil Abhängig der Ernsthaftigkeit und Rezidive: Geldbuße, weitere Sperren



3. Ausführung Dopingkontrolle



Probe Entnahme

- Turnier- und Rennbahntierärzte
- Evt. Amtstierärzte

Analyse

- Offizielle Laboren

Abhandlung

- Dopingcommissionen
- Gerichtshof



27



Ringvorlesung 1.07.2014 Doping bei Pferde Teil 2

Univ. Prof. Dr. Rene van den Hoven
Universitätsklinik für Pferde Vetmeduni Vienna



Veterinärmedizinische Universität Wien




vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

4. Anwesenheitsdauer im Körper

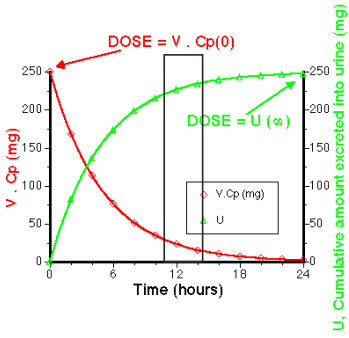

Hängt ab von:

- Dosis und Anwendung IM,IV, Oral
- PK Eigenschaften: $Cl_{(elim)}$ und $T_{1/2}$ (HWZ)
- Sensitivität des Nachweistestes
- Biologische Variabilität des Individuums



vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

4. Kumulierte Ausscheidung über dem Harn

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

4

Pharmakologische Aspekte




32

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

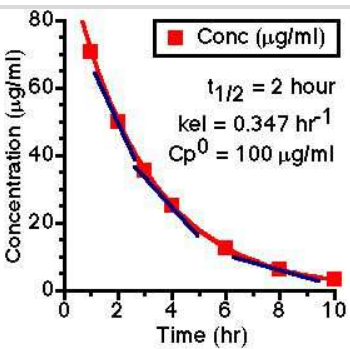

4. Anwesenheitsdauer im Körper

- nach 70 HWZ kein Spur mehr ist aber unrealistisch
- Plasmaspiegel lognormal verteilt
 - Schwankungen bei gleiche Dosis ums **14-faltiges**
 - z.B. Karenzzeit PBZ: durchschnittlich 32 St
 - 1% der Pferde braucht 80 St.



vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

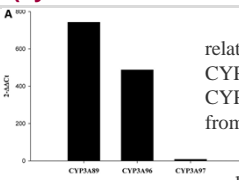
Konzentration-Zeit Kurve

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

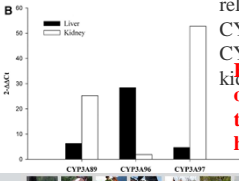

4. Varianz in dem Metabolismus (cytochrome P450 3A Family)

relative expression levels of CYP3A89, CYP3A96, and CYP3A97 genes in liver samples from 7 horses



relative expression levels of CYP3A89, CYP3A96, and CYP3A97 genes in liver and kidney samples from 3 horses.

Hepatic expression of each member of the CYP3A family varied more than 1000-fold in individual horses!!!

5. Analytik vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

Aliquotierung
von Urin oder Blut

Sedativa NSAIDs Lokalanästhetika Corticosteroide anabole Steroide Sonstige

spezielle Probenvorbereitung
Hydrolyse, Extraktion, Reinigung, Aufkonzentrierung, Derivatisierung

Analyse
GC-MS, LC-MS, Chromatogramme

5. Sensitivität des Testverfahren vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

Daumenregel: falls für eine Substanz ein ELISA Test existiert oder gerade eingeführt wurde ist die Nachweisbarkeitszeit, die vor Einführung des ELISA Tests verwendet wurde, wenigstens zu verdoppeln

5. Analytik vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

WHY DO WE NEED IMMUNOASSAY TESTS?

ADMINISTERED DRUGS

DRUG LEVEL ADMINISTERED PER HORSE

DETECTION TECHNIQUES

38

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

41

5. Hair analysis of anabolic steroids in connection with doping control – results from horse samples vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

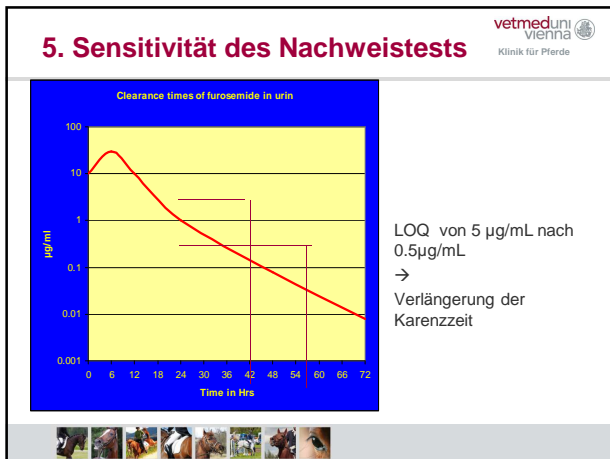
P. Anielski*J. Mass Spectrom. 2008; 43: 1001–1008

Table 1. Concentrations of testosterone propionate in horsehair after repeated applications (i.m. 4 × 60 mg, at intervals of 3 weeks); samples were taken 4 weeks after the last injection (equivalent to a period of 12 weeks after beginning of the study)

Horse	Concentration (pg/mg)	
	Segment 1: hair length 0–6 cm	Segment 2: hair length 6–12 cm
1	0.2	0.5
2	0.1	0.2
3	0.1	0.5

5. Sensitivität des Nachweistests vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

- 100-Fach Differenzen
- zB. Clenbuterol (LOQ)
 - Elisa: T1-T10 bis 7 ng/ml
 - GC/MS: T1-4 und T6-10, aber nicht T5 <1 ng/ml
- zB. Flunixin
 - TLC 1-2 T.
 - ELISA, HPLC, GC-MS: **15 T !!**



6

Natürliche und künstliche
Umweltkontamination und körpereigene
Substanzen

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

46

5. Beispiel Methodik und Karenzzeit

Substanz	HWZ (Stunden)	Nachweisgrenze ng/ml	Nachweiszeit (Stund.)
Metamizole IV	5,4	3,9	50
Dexamethason IV	7,7	EIA	51
Dexamethason IV	7,7	HPLC	13
Prothiopendyl (0.25 mg/kg)	2,4	10	--- nicht in Harn
Detomidine 30 mg	0,42	2	8 in Harn

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

- ### 6. Umwelt und Futtermittelverunreinigung
- Caffeine/ Theobromine
 - Pflanzliche und medizinische Naturprodukte
 - Clenbuterol
 - Flunixin
 - Isoxuprine
 - Ibuprofen
 - Nicotin
- vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

- ### 5. Cave mit Wartezeiten für Rückstände
- Rückstände sind Menge von Tierarzneimitteln in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs (MRL).
 - MRL-Werte dienen zum einen als Beurteilungswerte im Rahmen der chemisch-analytischen Untersuchung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs.
 - Auf Basis der MRL-Werte und **ADI** werden die **Wartezeiten** festgesetzt: Zeitspanne in der nach Behandlung eines Tieres keine Lebensmittel von diesem Tier gewonnen **gegessen** werden dürfen!!!!
- vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

6. Grenzwerte für Problemsubstanzen


	Plasma	Harn	
Estradiol (nandr)		Ratio <1	etsrane/estrene
Testosteron (Wallach)		0,02	µg/ml
Testosteron (Stute)		0,055	µg/ml
Theobromin		2	µg/ml
Salicylsäure	6,5	750	µg/ml
Arsen		0,3	µg/ml
DMSO	1	15	µg/ml
Cortisol		1	µg/ml
Hordenin		10	µg/ml
CO2	37		mmol/l
Methoxytyramine		4	µg/ml

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

7

Praxis


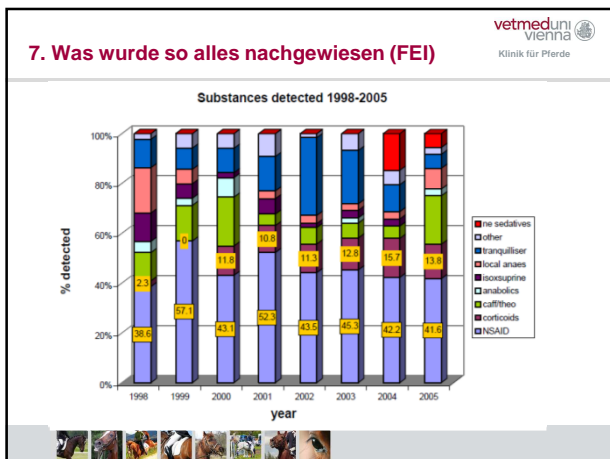


49

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

7. Leitfaden


- Waren kaum vorhanden
- Faustregel: 30 x HWT
- Für übliche Medikamente nun Karenzzeiten
- Praktische Tierarzt wird von nun von HSLC unterstützt

vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

7. Ursache positive Ergebnisse

- Karenzzeit nicht betrachtet
- Pech, biologische Variabilität
- Umweltkontamination (Cimetidine; Ibuprophen; Cocain)



vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

7. Hilfe für Tierärzte




vetmeduni
vienna
Klinik für Pferde

The „sad story“ of Kollegen Dr. vet.med .Armin Armut:

- Pferd mit Bagatellverletzung
- wird behandelt bis 7 T. für Turnier mit Procaine Penicillin (WT = 8 T.)
- Wartezeit für Procain: >13 T.
- Pferd war Dopingpositiv




The „succes story“ Kollegen Dr.vet med. Dipl.kfm.Ludwig Linkmichel

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

- verabreicht morgens 9.00 Uhr 120 IU ACTH
- Pferd rennt und Siegt um 13.00 Uhr
- Pferd war negativ im Dopingkontrolle (Blut)



© 1998 Gary Suttip



7. Controlled Medication FEI

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

Orale Behandlung mit dem Histamin H2 Rezeptor Antagonisten **Ranitidin** und dem Protonen Pumpen Inhibitor **Omeprazol** ist erlaubt und bedarf auch nicht der Verwendung eines Medikamentenblattes

Beschluss wird jährlich von FEI erneuert



vetmeduni vienna
Klinik für Pferde



© 2005 Gary Suttip

56



7. Was ist mal schief gegangen in der Praxis?

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

- **Prokain-penzilline** bei Bagdtalverletzungen
- **Theobromine** Kontaminiertes Futter
- Kontaminierter Umwelt des Pferdes
 - Nachbahrpferd wird mit **Flunixin** behandelt
 - Stroh in Doping box unsauber
- Versorgungsmitteln mit pharmakologische aktive Mitteln: **Kampfer** und Salicylsäure
- Augensalbe mit **Atropin**
- Tranquilizer zur Beruhigung beim Transport
- Behandlung mit **Flunixin** und **Metamizole**




7. unabsichtliches Doping:

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde

Also aufpassen mit

- **Procain-Benzylpenicillin**
- **Clemizol-Benzylpenicillin**
- Perkutane Resorption-Kamfer
- nicht ausreichende Absetzfrist
 - individuelle PK
 - sehr sensitive Methodik



Herzlichen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

vetmeduni vienna
Klinik für Pferde




vetmeduni
vienna 
Klinik für Pferde

Fragen?



61