

YARIŞ ATLARINDA PERFORMANSI ARTIRMAK AMACIYLA KULLANILAN İLAÇLAR VE KONTROL YÖNTEMLERİ

Tevhide Sel¹

Hilal Ergun²

Drugs used to improve performance in race horses and their control methods.

Summary: *From ancient historical times man has used various substances he believed to increase physical strength and performance. Various categories of drugs affecting the performance of horses are also used and these are classified as doping. As an example, stimulants, depressants, narcotic analgesics, local anesthetics and tranquilisers can be given, the use of these in horses being illegal in races throughout the world. These drugs affect the performance of the horse differentially and have various side-effects. In order to prevent or decrease the illegal use of doping, the analytic methods used for the control of these drugs must be very sensitive.*

In this study, the metabolism, application, toxic effects and analytic methods of the drugs used to improve performance in race horses have been studied.

Özet: *Tarihin çok eski dönemlerinden itibaren insanlar fiziksel güç ve performansı artırdığına inanılan çeşitli maddeler kullanmışlardır. Atlarda da performansı etkileyen çeşitli kategorideki ilaçlar kullanılmakta ve doping adı altında sınıflandırılmaktadır. Örneğin: stimulanlar, depresanlar, narkotik analjezikler, tranklizanlar ve lokal anestezipler, bu ilaçların dünyadaki tüm yarışlarda kullanımı yasaktır. Bu ilaçların performans üzerine etkileri farklı olup yan etkileri de vardır. Yarış koşullarına aykırı olduğundan doping yapılmasını önlemek veya kullanımı azaltmak için kontrolde kullanılan analiz yöntemlerinin çok hassas olması gerekir.*

Bu çalışmada yarış atlarında performansı arttırmak amacıyla kullanılan ilaçların metabolizmaları, kullanım yolları, toksik etkileri ve analiz yöntemleri incelenmiştir.

Giriş

Tarihin çok eski dönemlerinden itibaren insanlar fiziksel güç ve performansı artırdığına inanılan çeşitli maddeler kullanmışlardır

1 Araş. Gör. Dr., Biyokimya Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Ankara.

2 Prof. Dr., Biyokimya Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Ankara.

(7,15). Atlarda ise, Romalılar savaş arabaları atlarına hızlarını artırmak için hidromel adını verdikleri bal ve su karışımı vermekteydiler (15). Daha sonraki dönemlerde, özellikle at yarışlarının popüler hale gelmesiyle birlikte, güç ve hız kazandırıcı yapay maddelerin kullanımı istemik olarak yaygınlaşmış ve günümüzdeki konumuna ulaşmıştır (7, 15).

18. yüzyılda genellikle depressant dopingler kullanılmaktaydı ve amaç diğer atları durdurmaktır. Kullanılan maddeler arsenik, kurşun mermiler, opium gibi zehirli maddelerdi. Bunun yanında yarış öncesi atlar viski ile de doze edilmekteydi (15). 19. yüzyıl sonlarına doğru önemli birçok uyarıcı dopingler geliştirilmiştir. Bugün uyarıcı dopingler olarak bildiğimiz ilaçlar ise Amerika Birleşik Devletlerinde doğmuş üretilmiş ve 1900 yıllarında Avrupa'ya getirilmiştir (15,16). 1903 yılında İngiltere'de doping kullanımı Jockey Kulübünce suç kabul edilmiştir (1,15). Bu tarihte İngiltere'yi takiben Fransa'da da doping kullanımı yasaklanmış, fakat yasaklar pek etkili olamamıştır. Ve 1906'da Fransız antrenörler her yarışta ABD'lerine yenilmek istemediklerinden doping kullanmaya başlamışlardır (15).

1910 yılına kadar çeşitli dopinglerin kullanımı o kadar yaygınlaşmıştır ki, aynı tarihlerde Avusturyalı at yarışları otoriteleri dopingleri tesbit etme çabalarına başlamışlardır (15). Kısa bir süre sonrada 1912 yılında Fransa'da Bourbon Rose adlı atta ilk defa doping kullanımı tesbit edilmiş ve at yarış dışı bırakılmıştır (1,15).

İlk ciddi doping taramaları 1930'larda Prof. James Munch tarafından Farelerde Straub testi ile başlatılmıştır. Prof. James Munch tarafından yarış öncesi yapılan bu test ile daha çok morfin benzeri ilaçlar tesbit edilmekteydi. Farelerdeki Straub reaksiyonu kuyruğun S şeklini alması bu tür ilaçların kullanıldığını göstermekteydi (15). İlk sistemli test ise 1960'ların ortalarında ABD'de Dr. Richard Ray ve arkadaşlarınca Gaz Kromatografisi ile Elektron Capture Deteksiyonunun uygulanmasıyla yapılmıştır (1,15).

Organizmanın gücünü geçici bir süre için artırmak amacı ile kullanılan uyarıcı maddeler doping olarak tanınmaktadır. Doping çeşitli kurum ve araştırmacılar tarafından değişik biçimlerde tanımlanmaya çalışılmaktadır (7,9,15). Örneğin: Alman Spor Hekimleri Birliği yarışmada performansı artırmak amacıyla verilen, etkin olan veya olmayan her türlü maddeyi doping olarak kabul etmektedir (7).

Diğer taraftan bazı spor otoriteleri, her türlü ilaç veya yapay uyarıcının kullanılmasını yasaklamaktadır (7,9).

Atlarda performansı etkileyen çeşitli katagorideki ilaçlar kullanılmaktadır. Dopinglerin veya yasal olmayan ilaçların çeşitli yollar-
dan kullanılması sonucu kan veya idrarlarında mevcudiyeti söz ko-
nusudur (15).

Yarış atlarında kullanılan çeşitli katagorideki ilaçlar ve kullanım amaçları:

1. Kazandırmak için ilaç uygulanması

- a) Akut : Amfetamin, kokain, narkotikler gibi kısa etkili uyarıcılar.
- b) Kronik : Vitamin veya anabolik steroidlerin haftalarca devam eden dozlarda verilmesi.

2. Kaybettirmek için ilaç uygulanması

Depresantlar; yüksek dozda trankilizan, sedatif veya depresant verilmesi

3. Normal performansı yeniden düzenlemek için. (tedavi amacıyla)

- a) Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar; Fenilbutozon ve benzeri ilaçlar kontrol altında uygulanmalarıyla kabul edilebilen ilaçlardır.
- b) Kortikosteroidler; Eklem ağrılarında intraartiküler olarak bazen uygulanır. Kullanımı nadiren kabul edilir.
- c) Lokal anestezipler; hissizleştirerek veya dondurarak sinir veya eklem bölgesini bloke eder, kullanımı yasaktır.
- d) Sıvı ve elektrolit uygulanması; sıklıkla kabul edilir.

4. Yanlışlıkla kullanılan dopingler (yanlışlıkla pozitif sonuç bulunması)

- a) Procain penisilin kullanımı sonucu prokain pozitif çıkabilir.
- b) Pelet yemlerindeki coca kabuklarından ileri gelen kafein pozitif bulunması
- c) Gliseril-guaiacolate'den ileri gelen Robaxin pozitif.
- d) Bitkilerden ileri gelen pozitifler veya yanlış pozitifler.

5. Uygulanan diğer ilaçları maskelemek için,

dipyron ve tiamin uygulanması ile kullanımı yasal olmayan ilaçların varlığı maskelenir.

6. Uygulanan diğer ilaçları sulandırmak için,
Diüretikler; Furasemid, Ethakrinik asit, Hidroklortiasit

7. Diğerleri

“Kan dopingi”

“Bikarbonat dopingi”

1984 yılında yarış kurallarına göre yasak olarak bildirilen maddelerin listesi (9):

- Sentral sinir sistemi üzerine etki eden ilaçlar
- Otonom sinir sistemi üzerine etki eden ilaçlar
- Kardiovasküler sistemi üzerine etki eden ilaçlar
- Gastrointestinal fonksiyonlar üzerine etki eden ilaçlar
- İmmun sistem üzerine etki eden ilaçlar
- Antibiyotikler, sentetik antibakteriyel ve antiviral ilaçlar
- Antihistaminler
- Antimalarial ve antiparazitik ajanlar
- Antipiretikler, analjezik ve antienflamator etkili ilaçlar
- Diüretikler
- Lokal anestezikler
- Kas gevşeticiler
- Solunum uyarıcılar
- Cinsiyet hormonları, anabolik ajanlar, kortikosteroid
- Kanın pıhtılaşmasına etki eden maddeler
- Hücre için zehir etkili maddeler

Dopinglerin Uygulanış Yolları

Bazı ilaçlar yağlı solusyonlar şeklinde subkutan (deri altına) enjekte edilmektedir, örneğin: Adrenalin. Bu özellikle yarıştan hemen önce yapılmakta ve jokey startla birlikte bacağı ile enjeksiyon yerine vurarak ilacı çok çabuk dağıtmakta ve çabuk etki göstermesini sağlamaktadır (15).

Intramuskuler (kas içi) (IM) ilaç verilmesinde genellikle boyun ve gluteal kas bölgesine enjeksiyon yapılır (15).

Fentanyl gibi bazı ilaçlarda intravenöz (damar içi) (İV) verilmektedir. İV verilen ilaçlar İM ve SC verilen ilaçlara göre daha hızlı emilmektedir (15, 22).

Peros (ağız yoluyla) verilen ilaçlar yavaş emilmekte, bazende tam emilim olmamaktadır. Örneğin Sentral Sinir Sistem stimulanlarından Metilfenidat ağız yoluyla kullanılmaktadır (15).

Doğrudan sinir ve eklemlere enjeksiyonlarda verilmektedir. Örn. kortikosteroidler intraartiküler olarak kullanılmaktadır (15).

Bazı ilaçlarda deriye yüzeysel olarak uygulanmaktadır. Örn. Dimetilsülfoksit (DMSO) (3,15).

Rektal yolla infüzyon veya süpozitivar olarakta ilaç verilebilir. Ayrıca inhalasyon şeklinde solunum ile de dopingler kullanılabilir (7,9,15).

Dopinglerin Etki Mekanizmaları

Orijini ne olursa olsun, dopinglerin etkilerini gösterebilmeleri için vücutta spesifik reseptörlerle, pompalarla veya diğer sistemlerle etkileşmeleri gerekir (15).

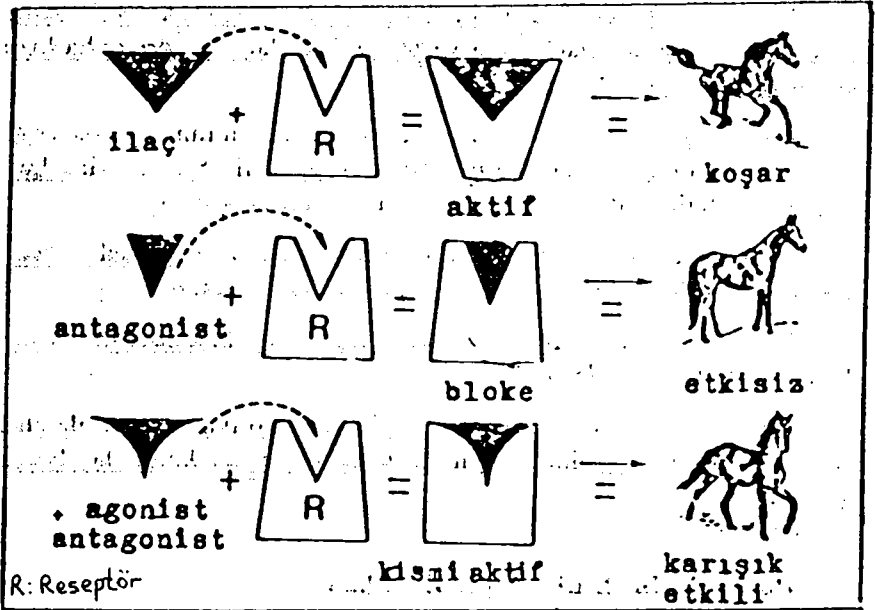
Reseptörler ya hücre içinde ya da hücre dışında lokalize olmuştur. İlaç reseptöre 1 dk. dan az süre bağlı kalır ve reseptörün konfigürasyonunu değiştirir (Şekil 1). Sonra ayrılarak yeni bir ilacın bağlanmasını sağlar (15). Kortikosteroidler etkilerini hedef hücreleri içinde reseptöre bağlanarak gösterirler (Şekil 2).

Lasix, Furosemid gibi bazı ilaçlar böbrekte klor (Cl) iyonlarının geri emilme pompasını bloke ederek etki gösterirler (Şekil 3) (15).

Lokal anestezipler ise hücre membranındaki sodyum kanalını bloke ederek bölgede anesteziyi sağlar (Şekil 4) (15).

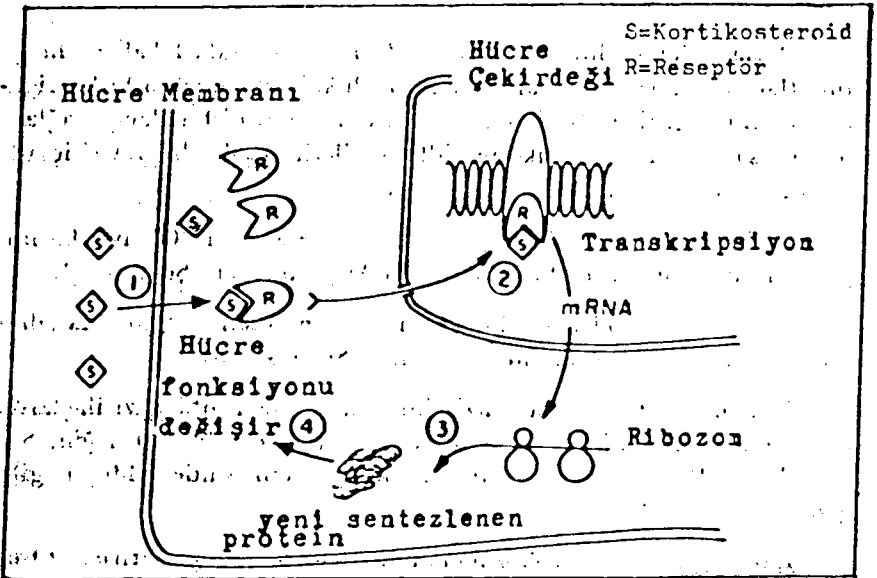
Kafeinin fosfodiesteraz enzimini bloke etmesi gibi bazı ilaçlarda enzimlerin etkilerini bloke ederek etki gösterirler (15). Örneğin, Salisilatların Prostaglandin sentezini inhibe etmesinde olduğu gibi (Şekil 5 ve 6) (12, 15).

Bazı ilaçlarda neurohormonlar üzerinden etki gösterirler. Örn. Apomorfın neurohormon olarak Dopamin, Rezerpin ise Norepinefrin veya Serotonin salınımına neden olur (Şekil 7) (15).



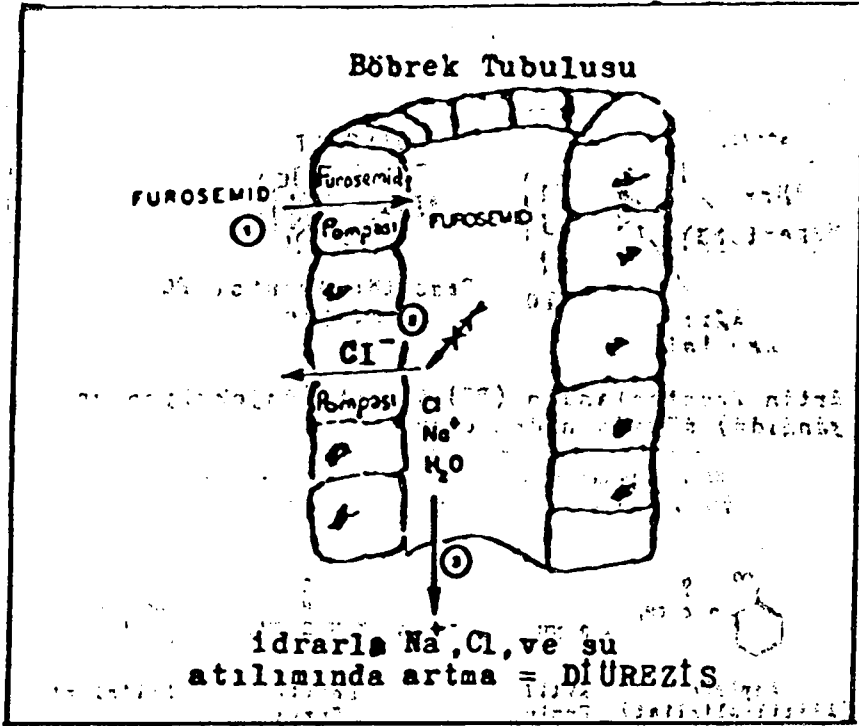
Şekil 1. Atlarda Doping Olarak Kullanılan İlaç-Reseptör-Cevap İlişkileri.

Figure 1. Drug-Receptor-Response Interactions of Drugs Used as Doping in Horses.

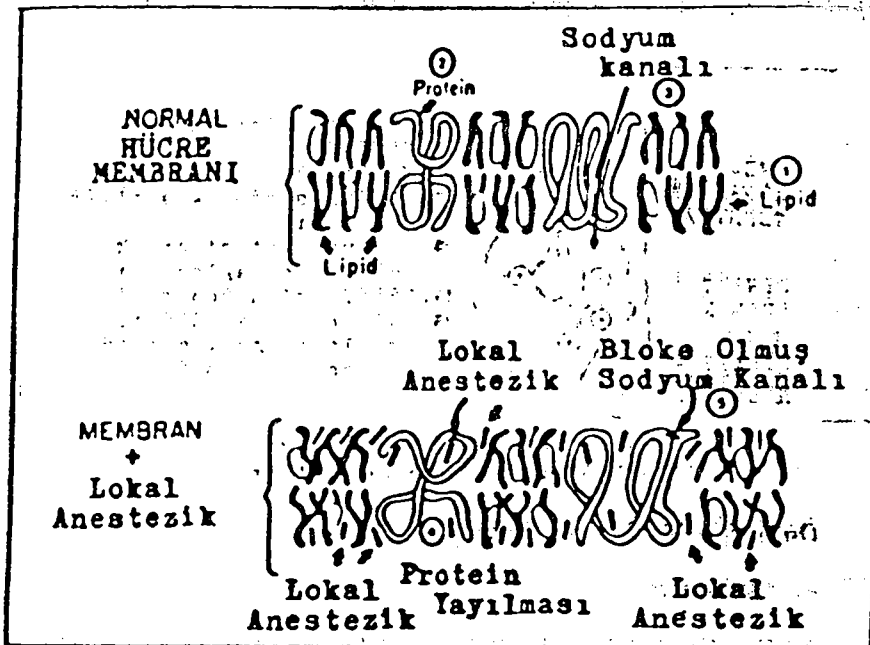


Şekil 2. Kortikosteroidlerin Etki Mekanizması.

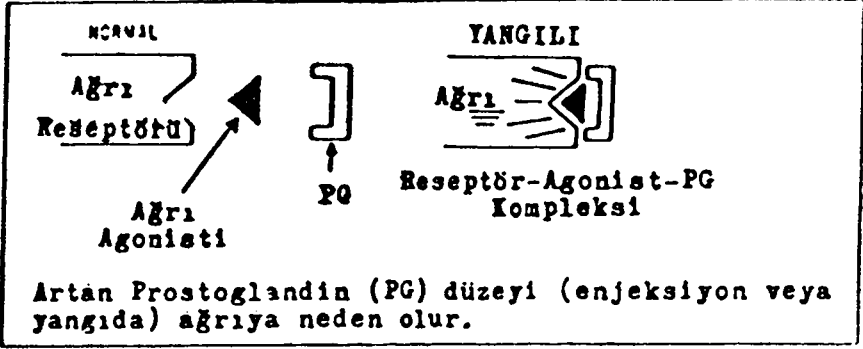
Figure 2. Mechanism of Action of the corticosteroids.



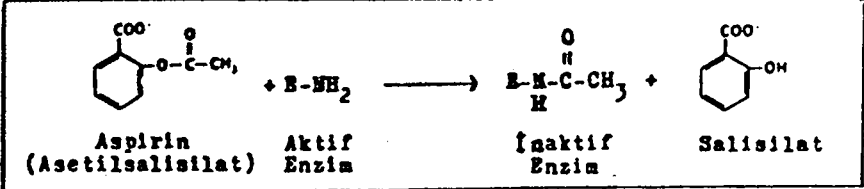
Şekil 3. Furosemid'in Etki Mekanizması.
Figure 3. Mechanism of Action of the Furosemide.



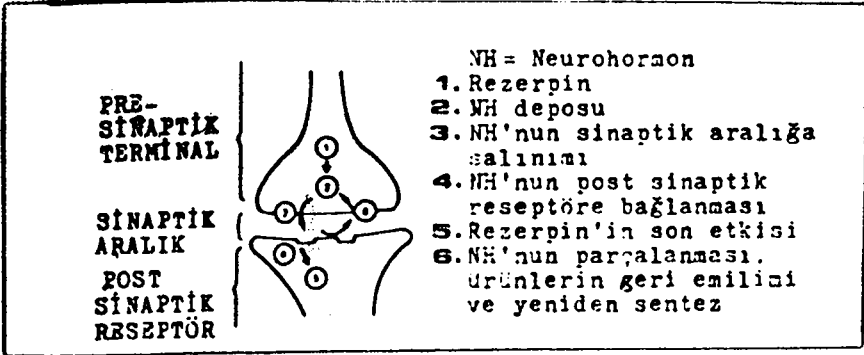
Şekil 4. Lokal Anesteziklerin Etki Mekanizması.
Figure 4. Mechanism of Action of the Local Anesthetics.



Şekil 5. Prostaglandinlerin Ağrı Oluşturma Mekanizması.
Figure 5. The Pain-causing Mechanism of Prostaglandine.



Şekil 6. Aspirinin PG Sentezinde Rol Alan Siklooksijenaz Enzimini İnhibe Etmesi.
Figure 6. The Inhibition by Aspirine of Cyclooxygenase Which is Involve in PG Synthesis.



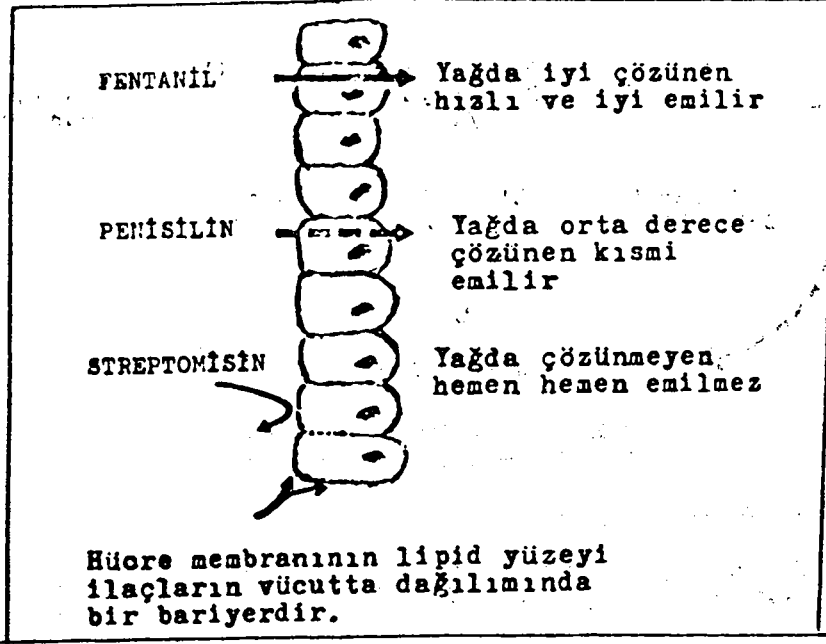
Şekil 7. Rezerpinin Etki Mekanizması.
Figure 7. Mechanism of Action of the Rezerpine.

Dopinglerin Metabolizmaları

a) Emilimleri:

Verilen ilacın iyi emilmesi için yağda çözünür olması gerekir.

Yağda çözünen ilaçlar hücrenin lipid membran yüzeyinden kolaylıkla emilirler ve hızla vücuda dağılarak etkilerini gösterirler (Şekil 8) (15).



Şekil 8. İlaç Emiliminin Şematik Gösterilmesi.

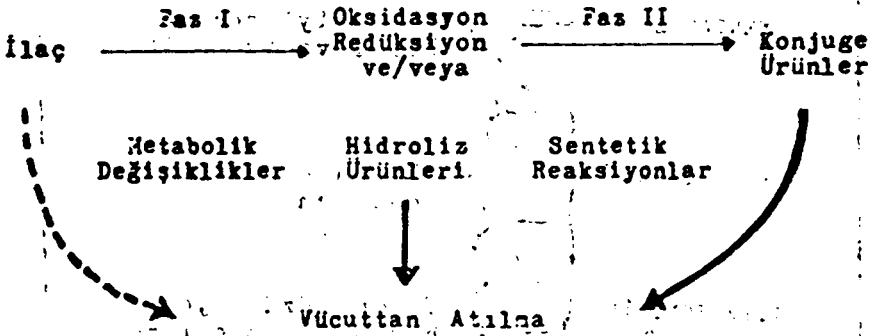
Figure 8. Schematic Representation of Drug Absorption.

b) Metabolize Olmaları:

Yağda çözünen ilaçlar kolaylıkla emilmekle beraber, vücuttan uzaklaştırılmaları emilimleri kadar kolay değildir. Genelde ilaçların metabolize olduğu yer karaciğerdir. Bunun yanında bazı ilaçlar böbrek, akciğer ve barsak duvarında da metabolize olabilirler. Procaine gibi bazı ilaçlarda atlarda kan plazmasında (kandaki esteraz enzim sisteminde) metabolize olurlar (15).

İlaçların karaciğerde metabolize olmaları iki ayrı fazda olur (Şekil 9). İlk fazda metabolik değişikliklerin etkisiyle ilaç molekülüne OH, NH₂ veya COOH gibi gruplar eklenerek ilacın sudaki çözünürlüğü artırılır. Bu arada ilacın farmakolojik etkileride değişir. Farmakolojik aktivite genellikle azalır, bazende artarak, orjinal ilaçtan daha toksik hale gelir. İlk fazda meydana gelen değişiklik ile ilacın vücut-

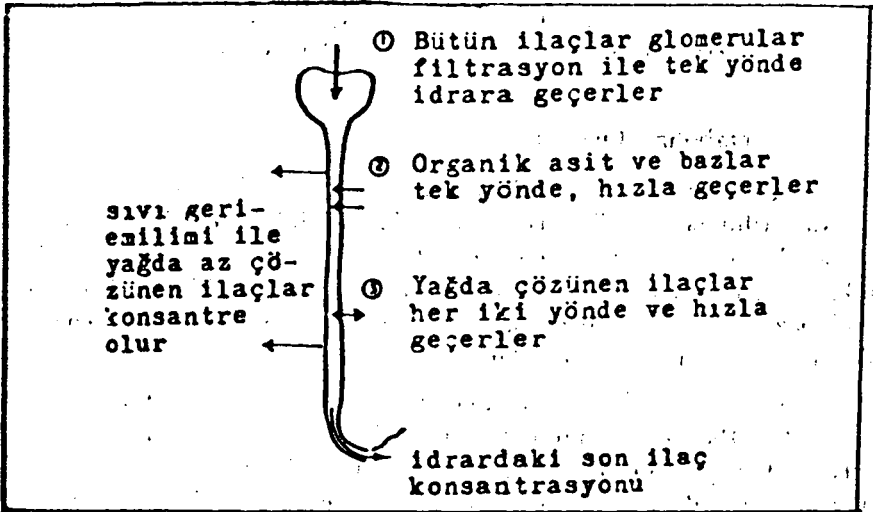
tan atılmasının kolaylaşması ikinci faz ile tamamlanır ve suda çözünen konjugasyon ürünleri meydana gelir. Konjugasyon genellikle glukuronik asit ile olmaktadır. Konjuge ürünlerin farmakolojik etkileri yoktur (15).



Şekil 9. İlaçların Metabolizma Yolları.
Figure 9. General Metabolism of Drugs.

c) Vücuttan Atılmaları:

Atılarda ilaçların atılımında esas yol idrardır. İdrara geçiş üç yolla olur (Şekil 10). Birinci ve en önemli yol glomerular filtrasyondur, bü-



Şekil 10. İlaçların Vücuttan Atılma Yolları.
Figure 10. Excretion of Drugs.

tün ilaçlar ve metabolitleri bu yolla idrara geçer. İkinci olarak özel organik asit ve baz pompaları ile asidik ve bazik ilaçlar idrara pompalanırlar. Örn. Penisilin (organik asit) değişmeden doğrudan idrara pompalanır, bu şekle diğer bir örnek Furosemiddir (15). Üçüncü şekilde ise basit diffüzyon ile ilaç idrara geçer. Bu tür ilaçlar yağda çözünen ilaçlardır. Böbrekten idrara geçtiği gibi kolaylıkla geri emilebilirler. Bu tür ilaçların idrardaki konsantrasyonu idrarın pH'na (asitliğine) bağlıdır, idrarın hacminin değişmesinden etkilenmez (15).

d) Yan Etkileri:

Kullanılan bu ilaçların doping etkileri farklı olup yan etkileride vardır. Uyarıcıların uzun süreli kullanımı sersemlik, konvülsiyon gibi performansı olumsuz yönde etkiler, ağrı, yorgunluk ve sıcak stresi algılanmadığından yaşamı tehlikeye sokan ağır durumlar ortaya çıkar (7,15). Örneğin Kokain beyni uyararak yorgunluğa duyarlılığı maskelemektedir. Vazokonstriksiyon ve kalp hızında artma sonucu kan basıncında artma olur. Isı düzenleme merkezi üzerine doğrudan etkisi sonucu vücut ısısında artma görülür. Bu özellikle sıcak iklimlerde koşan atlarda sıcak çarpmasına neden olmaktadır (15). Atlarda tam bir uyarıcı etki sağlayan amfetamin verildiğinde tremor, uykusuzluk, huzursuzluk, motor aktivitede artma görülmektedir. Bu etkiler beyin korteksinin uyarılması sonucudur. Dolaşım sisteminde genellikle kan basıncı artar, koşudan sonra düzensiz kalp vurumları görülür (15).

Detomidine gibi narkotik olmayan yatıştırıcı (Sedatif) analjeziklerin yüksek dozlarında hipoksi ve siyanoza paralel solunum depresyonunda görülür. Kaslarda tremor ve terleme diğer yan etkilerdir (15).

Alkol, üre, fenol gibi maddelerin lokal anestezi olarak kullanılmalarında sinir hücrelerinde yıkımlar oluşmaktadır.

Sinir hücrelerinin yıkımıyla oluşan anestezi kalıcı olmaktadır. Lokal anesteziğin etkisiyle atlarda sinirlerin blokajı yanında beyin uyarılmaktadır. Bu etkisiyle performans üzerinde etkili olmaktadır. Fakat lokal anesteziğin kullanılmaları sonucu ayaklarda ve eklemelerde zedelenmeler olabilmektedir. Oluşabilecek zedelenmelerde atın düşme riskini artırmaktadır. Bunun sonucu hem atın hem jockeynin ciddi yaralanmaları hatta ölümleri şekillenebilmektedir (15).

Anabolik steroidlerin (ör: Beldenon, Nondrelone) ciddi yan etkilerinin beklenen faydadan daha önemli olduğu bildirilmektedir (6, 7,13,15). Bu yan etkileri dikkate alınarak doping olarak kullanımları yasaklanmıştır (7,9,10). Anabolik steroidlerin esas ciddi yan etkileri genç atlarda görülmektedir. Epifizyal olgunluğun üzerinde kemik büyümesi sonucu, premature epifizyal kapanma görülmektedir. Bunun yanında artan vücut ağırlığının baskısı sonucu epifizitis meydana gelmektedir. Artan kas kitlesine karşılık, kemik büyümekte fakat direnci aynı oranda olmamaktadır. Tendonların zayıf kalması sonucu, kemik tendon rupturu görülebilmektedir. Ayrıca gelecekte üreme kapasitesinde azalma olmaktadır. Kas kitlesinde ve kuvvetinde artışa karşılık testislerde küçülme, fokal dejenerasyon ve normal spermatozoa yapma kabiliyetinde azalma olmaktadır (13,15).

Anabolik steroidlerin metillenmiş derivelere kullanılması karaciğerde ciddi toksisitelere neden olmaktadır. Hatta uzun süre kullanıldıklarında karaciğer kanseri görülmektedir (6,15).

Klorpromazin, Asetilpromazin gibi Fenotiazin tranklizanlar hipotalamik hormonların salgılanmasına etki etmektedirler. Folikül Stimulan Hormon (FSH) ve Lutein Hormon (LH) salgılamasını bloke ederek ovulasyonu ve östrus siklusunu baskılamaktadır. Bunun sonucu infertilite ve yalancı gebeliğe neden olmaktadır (15).

Kortikosteroidler uzun süreli eforlarda sürrenal bezlerin yetersiz hale geldiği düşünülerek doping amacıyla kullanılmaktadır (7). Fakat eklem bozukluklarını neden olmaktadır. Kortikosteroidler kullanımı ile eklem kıkırdağında azalmaya karşılık matrik sentezi şekillenmekte, proteoglikan miktarında azalma sonucu kıkırdağın dayanıklılığında azalma olmaktadır. Bu durumda at koşturulduğunda Kondrosit ölümü, eklem yüzünde erozyon ve fonksiyon kaybı sonucu "kuru eklem" kortikosteroid artropatileri meydana gelmektedir (15). Bilinen ciddi komplikasyonları dikkate alınarak doping amacıyla kullanılmaları yasaklanmıştır (7).

İnsanlarda non-steroid antiinflamatuar ilaçların (Fenilbutazon, Salisilik asit vs.) kendisi toksik etki oluştururken, atlarda metabolizması çok hızlı olduğundan metabolitleri toksik etkiye neden olmaktadır. Atlarda özellikle mide, böbrek ve ince barsaklarda birikerek toksik etkiler meydana getirirler (15).

Dopinglerin Kontrol Kuralları

Zararlı yan etkileri yanında yarış koşullarına aykırı olduğu için doping yapılmasını önlemek ve her geçen gün sayıları artan, perfor-

mans artırıcı yapay yollara başvurmayı engellemek için bugün dünyada bu maddelerin uygulanması ile ilgili kurallar mevcuttur. 1986'da ilaç uygulanması ile ilgili 4 tür kural bildirilmiştir (1,17,21).

1. Hiç Kalıntı Bulunmayacak Kuralı:

Bu kurala göre hiçbir vücut sıvısında herhangi bir ilaç bulunmayacaktır. Bu kural İngiltere, Kanada ve Avustralya da uygulanmaktadır. Bu ülkelerde belli ilaçlar için vücuttan uzaklaşma süreleri bellidir (1,17,21).

2. Tolerans Sınırı Kuralı:

İlaçlar için belli sınırlar konulmaktadır. Örn: Fenilbutazon için tolerans sınırı 2 ug/ml dir (1,15,17,21).

3. Zaman Kuralı:

Belli ilaçlar yarıştan önce belli bir zamandan sonra kullanılmazlar.

Örn: New York'ta fenilbutazon yarıştan önce 48 st. Pentazosin yarıştan önce 72 st ve prokain yarıştan önce 7 gün verilmemelidir. Ancak bu kuralın uygulanıp uygulanmadığını denetlemek çok zordur (1,15,17,21).

4. Serbest Kuralı:

Bazı maddelerin deteksiyonu çok pahalı veya zor olacağından dikkate alınmamaktadır (1,15,17).

Bu dört kuralın birlikte uygulanması önerilmektedir. Ancak kurallar karışık ve sürekli tartışılan bir konudur. Almanya'da 1987 yılında hayvanlarda doping maddelerinin kullanılması tamamen yasaklanmış ve cezaya bağlanmıştır (20).

Doping amacı ile Kullanılan İlaçların Kimyasal Yöntemlerle Analizleri

Sadece yasakların konulması yaptırıda tam etkili olamamaktadır. Kullanımı azaltmak için kontrolde kullanılan analiz yöntemlerinde çok hassas olması gerekir. Örneğin İngiltere'de 1976 yılına kadar etkili bir test olmadığı için anabolik steroidler yaygın olarak kullanılmaktaydı. Fakat 1976'da yeni bir test (Radioimmunoassay)in anabolik steroidlerin aranmasında kullanılmasıyla bir hafta içinde pozitif numune % 12'den sıfıra inmiştir (15,18,21).

a) Analizler İçin Seçilecek Materyal:

Analiz için seçilecek materyal önemli olup idrar veya kan numuneleri denenmektedir. Nadiren salya veya ter numuneleride kullanılmaktadır. Genellikle yarış öncesi kan numunesi yarış sonrasında idrar numunesi alınmaktadır. Bu test materyalinin avantaj ve dezavantajları vardır (1,8,9,15). Numune almak için koşan atlardan biri seçilir, bu kazanan at, favori olupta kaybeden at veya diğer atlardan biri olur (15).

İdrarın Avantajları:

- Büyük miktarlarda elde edilebilir.
- İlaç konsantrasyonu kandakinden daha yüksek bulunabilir.
- İlacın metabolik ürünleri kandakinden daha fazla ve konsantrasyonları daha yüksek olabilir.

İdrarın Dezavantajları:

- Toplanması zor.
- İdrardaki ilacın konsantrasyonu ile kandaki ilacın konsantrasyonu arasında bir ilişki yoktur.
- Bazı ilaçlarla konsantrasyon dilue edilmekte ve kullanılan ilaç maskelenmektedir.

Kanın Avantajları:

- Kolay toplanabilir.
- Kanda ilaç tesbit edildiğinde farmakolojik etkileri tahmin edilebilir.

Kanın Dezavantajları:

- Hacim küçüktür.
- Kandaki ilaç ve metabolik ürünlerin konsantrasyonu düşüktür.

b) Analiz Materyalini Toplama Zamanının Önemi:

Kan veya idrar numuneleri yarış öncesi veya yarış sonrası toplanabilir. Yarış öncesi genellikle kan, yarış sonrası ise idrar numunesi toplanmaktadır (1,8,9,15). Bununla beraber yarış öncesi zaman daha kısıtlıdır ve atlar yarış stresi içindedir. Yarış sonrası ise zaman daha geniştir, daha rahat bir ortamda numune toplanabilir. Yarış öncesi alınan kan numunelerinde doping analizleri için basit, hızlı, ucuz ve

duyarlı teknik gerekir. Çünkü yasal olmayan ilaçların kandaki konsantrasyonu düşük olduğundan teknik olarak yarış öncesi analizler kısıtlıdır. Bunun yanında yarış öncesi yapılan doping analizleri yasal olmayan ilaç uygulamaları önlemede etkilidir. Fakat pahalı tip analizlerdir (1,8,15). Ülkelere göre değişmekle beraber yarış sonrası ve idrar numunesi alınması tercih edilmektedir (8,15).

c) Analiz Yöntemleri:

Doping analizinde en sık başvurulan biyokimyasal analizlerdir (7). Kullanımı azaltmak için analiz yöntemlerinin çok küçük miktarlardaki doping maddelerini ortaya çıkarabilecek duyarlılıkta olması gerekir (1,8,10,14,15,18). Örneğin Radioimmunoassay (RIA), ELISA, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektromu (GC-MS) ölçüm hassasiyetleri 1 ppb ve daha alt sınırdaki analiz yöntemleridir (1,8,9,10,14,18,19,22). Ancak yarışlarda eşitliği sağlamak ve doping kullanımını önlemek için eser miktardaki maddelerin analizlerini gerçekleştirip, doping yapıp yapılmadığını kontrol etmek gerekmektedir. Doping maddelerinin veya bunların metabolitlerinin, idrarda ve kanda saptanabilmesine olanak veren en hassas yöntem GC-MS dir. Diğer yöntemlerle doping maddeleri izlenmekte, analizde doping kuşkusu uyanırsa daha ince ayırım yapabilen GC-MS ile teyid yoluna gidilmektedir (1,8,9,10,14,15,19). GC-MS'de numune referans madde örneği ile karşılaştırılır, sonuç yine pozitif olduğu takdirde doping yapıldığına hükmedilir (Şekil-11) (1,15).

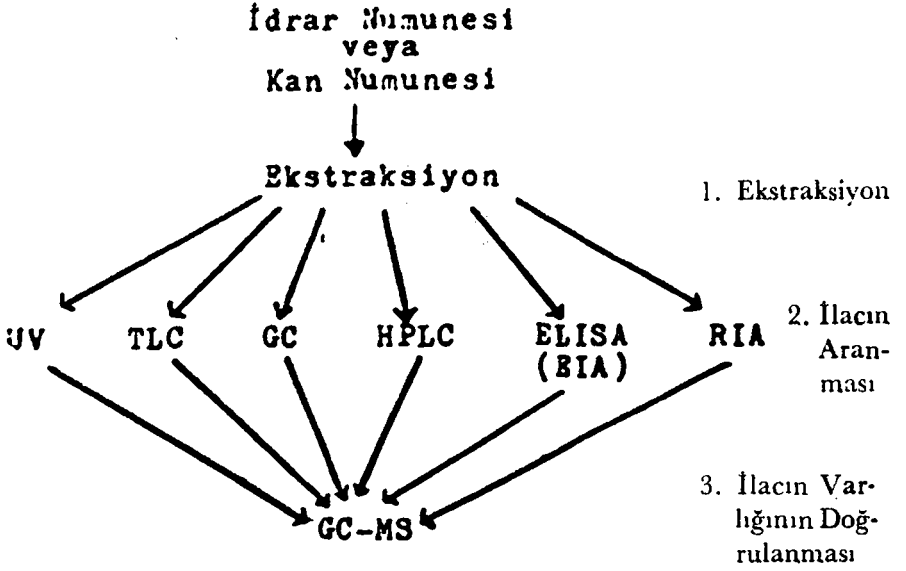
Doping Analizinde Kullanılan Bazı Hassas Metodların Çalışma Prensipleri

Radioimmunoassay (RIA):

RIA yönteminde, reaksiyon sırasında antikorun serbest bağlanma yüzeyine bağlanmak üzere işaretli ve işaretli olmayan antijen molekülleri yarışarak, antijen-antikor kompleksi meydana getirirler. Bağlı işaretli antijen miktarı, işaretli olmayan antijen ile ters orantılıdır. Bağlı ile serbest kısımlar denge haline geçtikten sonra ayrılırlar ve her iki fraksiyondaki radioaktivite ölçümü yapılarak numunedeki antijen konsantrasyonu ölçülür (14,22).

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Biyolojik numunedeki antijen (ilaç) varsa, pleyttteki antikora bağlanır. Bu durumda sonradan eklenen enzim işaretli antijen antikora



Şekil 11. Genel Doping Test Şeması.
Figure 11. General Doping Testing Scheme.

bağlanamaz ve ortama substrat eklenince renk oluşmaz. Numunede antijen olmadığı durumda, enzim işaretli-antijen antikora bağlanır, ortama substrat ilave edilince renk oluşur. Oluşan renk konsantrasyonu ile numunedeki ilaç miktarı ters orantılıdır (8,19).

Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography) (HPLC):

Hareketli faz olarak kullanılan sıvı çözücü, güçlü bir pompa yardımıyla tüm sistemden geçirilir. Sonra ilave edilen numune hareketli faz yardımıyla kolona (sabit faz) geçer ve orada ayrılır. Ayrılan maddeler peşpeşe kolonu terk ederek detektöre ulaşırlar ve burada genellikle optik özellikleri vasıtasıyla (UV absorpsiyonu, ışığı kırması, floresans göstermesi) konsantrasyonlarıyla orantılı olarak elektrik akımı oluştururlar. Kuvvetlendirilen bu akım bir kaydedici tarafından piklerden oluşan kromatograma dönüştürülür. Retensiyon zamanı (R_t) değerlerine göre kalitatif, pik alanlarının madde konsantrasyonu ile orantılı olmasından yararlanarak kantitatif analiz yapılır (4,11,15).

Gaz Kromatografisi (GC):

Hareketli faz gaz (örn: azot veya helyum) olup, basınç altında çelik bir tüpten sağlanır ve aletin enjektör kısmına bir boru ile gelir. Numune enjektörle bu kısma verildiği zaman burada buharlaşır ve taşıyıcı gaz ile kolona geçer. Kolonda ayrılma olayı gerçekleşir, ayrılan maddeler farklı zamanlarda peşpeşe kolonu terk ederek detektöre ulaşırlar. Burada değişik şekillerde, örneğin bir hidrojen/hava alevinde yakılarak (Flameionisation Detector, FID) veya etrafından geçtiği kızgın bir telin iletkenliğini değiştirerek (Thermal Conductivity Detector, TCD) elektrik akımına dönüştürülür. Akım elektronik bir kısımda kuvvetlendirildikten sonra kaydedici (redorer) (tarafından milivolt olarak zamana karşı kaydedilir) tarafından piklerden oluşan kromatograma dönüşür. Retensiyon zamanı (Rt) değerlerine göre kalitatif, pik alanlarının madde konsantrasyonu ile orantılı olmasından yararlanarak kantitatif analiz yapılır (1,4,11,15).

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometrisi (GC-MS):

Gaz kromatografisine, kütle spektrofotometrisinin bağlanmasıyla numunelerin kütle spektrumları alınabilir. GC'den gelen numune vakum odasına alınarak elektron bombardımanına tutulur. Bu sırada molekülden elektronlar kopar ve sonuçta + yüklü iyonlar elde edilir, bir kısmı elektronların etkisiyle başka parçalanmalarada uğrar. + yüklü iyonlar bir magnetik alan içerisinde hızlandırılırlar ve kütle/yük (m/e) oranlarına göre ayrılırlar. Ayrılan iyonlar detektörde kayıtlı edilirler. Kütle spektrumları bilinen benzer yapıdaki madde spektrumları ile mukayese edilerek tayin yapılır (1,4,10,11,15).

Sonuç

Doping olarak kullanılan Rezerpin, Salisilik asit, Opium, Kafein gibi maddeler normalde atların yediği yemlerinde ve dolayısıyla idrarlarında bulunur (2,5,15). Bu nedenle yemlerde de bulunan yasak maddelerin idrardaki eşik değerleri tesbit edilmelidir.

Doping analizi sırasında dikkat edilecek en önemli nokta yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların ortaya çıkmasıdır. Bu nedenle analiz laboratuvarları yeterli araç-gereç ve bilgi birikimine sahip olmalıdır. Bu konuda standart getirmek ve homojeniteyi sağlamak için bazı kurallar getirilmeli ve doping analizi yapmaya yetkili laboratuvarlar belirlenmelidir.

Kaynaklar

1. **Blake, J.W., Tobin, T.** (1986). *Testing for Drugs in Horses*. J. Eq. Vet. Sci., 6 (2): 93-97.
2. **Chapman, D.I.** (1969). *Comp. Biochem. Physiol.*, 30, 325-345.
3. **Craig, A.M., Blythe, L.L., Appell, L.H., Slizeski, L.M.** (1987). *Evaluation of the potential for interference by dimethyl sulfoxide (DMSO) in drug detection in racing animals*. J. Vet. pharmacol. Therap. 10. 298-304.
4. **Goodley, P.** (1989). *Multidimensional Gas Chromatography and Hyphenated Techniques, Chapter 5. In High Resolution Gas Chromatography. Eds., K.J. Hyver, 3rd Ed. Hewlett-Packard Co, U.S.A., pp. 5-13/5-23.*
5. **Haywood, P.E., Teale, -P., Moss, M.S.**(1990). *The excretion of theobromine in Thoroughbred racehorses after feceling compounded cubes containing cocoa husk-establishment of a threshold value in horse urine*. Equine Veterinary Journal, 22 (4): 244-246.
6. **Johnson, F.L., Lerner, K.G., Siegel, M., Thomas, E.D., Feagler, J.R., Majerus, P.W. and Hartmann, J.R.** (1972). *Association of Androgenic Anabolic Steroid Therapy with Development of Hepatocellular Carcinoma*. The Lancet, 2: 1273-1276.
7. **Kalyon, T.A.** (1990). *Spor hekimliği*, GATA Basımevi.
8. **McDonald, J. et al** (1988). *Immunoassay Detection of Drugs in Racing Horses III. Detection of Morphine in Equine Blood and Urine by a one Step ELISA Assay. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*. 59 (2): 259-278.
9. **Moss, M.S.**, (1986). *The analysis of Drugs and their Metabolites*. Analytical Proceedings, 23, 48-50.
10. **Schancer, W., Donike, M.** (1992). *Metabolism of Boldenone in man: Gas Chromatographic/Mass Spectrometry Identification of urinary Excreted Metabolites and Determination of Excretion rates-Biological Mass Spectrometry*. 21, 3-16.
11. **Shoog, D.A.**, (1985). *Principles of Instrumental Analysis*, Third Ed. Stanford University.
12. **Strayer, L.** (1988). *Biochemistry, 3rd Ed.* W.H. Freeman and Company, New York. pp 992.
13. **Swerczek, T.W.** (1975). *Immature Germ Cells in the Semen of Thoroughbred Stallions*. J. Reprod. Fert. Suppl. 23: 135-137.
14. **Tai, C.L., et al** (1988). *Radioimmunoassay for Etorphine in Horses with a 125 analog of etorphine*. Am. J. Vet. Res., 49 (5): 622-628.
15. **Tobin, T.** (1981). *Drugs and The Performance Horse*. Charles C. Thomas. Publisher, Springfield, Illinois.
16. **Tobin, T., Kamerling, S.G., Anderson, R.L.** (1985). *Drugs and race-horse performance, Trends in Pharmacological Sciences*, 6 (3): 129-132.
17. **Tobin, T.**, (1986). *Medication Control: Rules*. J. Eq. Vet. Sci., 6 (4): 191-195.

18. **Tobin, T.** (1986). *Medication Control : The Efficacy and Cost of Drug Testing.* J. Eq. Vet. Sci., 6(6): 333-336.
19. **Tobin, T.** (1990). *Test of Time. The Blood-Horse*, 17, 6188-6190.
20. **Wagner, von H.D.** (1988): *Rechtliche Aspekte im Doping von Pferden.* Tierärztliche Umschau, 43, 146-147.
21. **Woods, W.E., et all.** (1985). *Efficacy of testing for illegal medication in horses.* JAVMA, 187 (9): 927-930.
22. **Woods, W.E. et all.** (1986). *High-Sensitivity Radicimmunoassay Screening Method for Fentanyl.* Am. J. Vet. Res. 47 (10): 2180-2183.