

Doping in de sport: uitdagingen voor de analytisch chemicus

Prof. Dr. ir. P. Van Eenoo

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

DoCoLab – korte voorstelling



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

DoCoLab – korte voorstelling

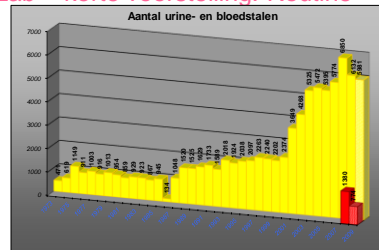
- Routine

- sinds 1973
- Belac ISO17025
- WADA –geaccrediteerd
- enige in BeNeLux
- accreditatie
 - ISL
 - Ringtesten
 - Ethische code



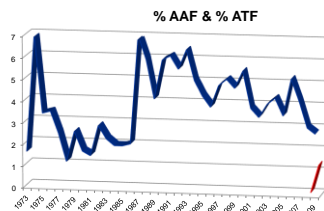
DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

DoCoLab – korte voorstelling: Routine



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

DoCoLab – korte voorstelling: Routine



Wereldwijd: 1.5%
DoCoLab: 4.5%

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

DoCoLab – korte voorstelling: Research

- Onderzoek

- 2004-2009: >50 A1 publicaties
- Voornaamste expertise gebieden:
 - Ontwikkeling van (LC-MS) methodes
 - Lagere detectielimieten
 - Directe injectie (sneller, kleiner volume urine, kleinere MU)
 - Open methodes
 - Steroïdmetabolisme
 - Endogene steroïden
 - Designersteroïden/prohormonen
 - Het chimere muismodel
- Kwaliteitszorg



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

De lijst – concentraties (1)

- Verboden middelen en methodes: OOC

- Anaboliserende substanties (1 – 10 ng/ml)
- Hormonen en gerelateerde
- β -agonisten (2 – 100 ng/ml)
- Hormoon antagonisten en modulators (50 ng/ml)
- Diuretica en andere maskeer middelen (2-250 ng/ml)
- M1: Verbetering van het zuurstoftransport
- M2: Chemische en fysieke manipulatie
- M3: Genetische doping



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

De lijst (2)

- Verboden middelen en methodes: IC

- Alles OOC
- Stimulantia (500 ng/ml)
- Narcotica (10-200 ng/ml)
- Cannabinoiden
- Glucocorticosteroiden (30 ng/ml)



- Verboden middelen in specifieke sporten: IC

- Alcohol
- Beta-blokkers (500 ng/ml)

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Uitdagingen:

-Nieuwe Substanties

- Designer/zwarte markt substanties
- Generische
- EPO-analogen
- Endogene substanties

-Nieuwe Klassen

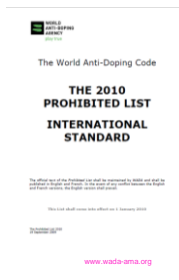
- Recente toevoegingen: selectieve androgeen receptor modulators

-Oude klassen – Nieuwe Focus

- Bloedtransfusies

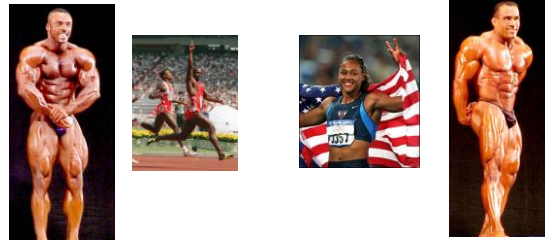
- (Nabije) toekomst

- SARM's...
- Gentherapie – Genopding



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

S1. Anaboliserende Substanties

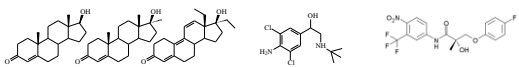


DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Anaboliserende Substanties

- Exogene anabole steroïden
- Endogene anabole steroïden
- Andere anaboliserende substanties
- Voorbeelden:

- stanozolol, boldenone, trenbolone, methyltestosteron, THG, etc.
- testosterone, DHEA, androstenedione, norandrosterone
- clenbuterol, zilpatanol, zeranol, SARMS



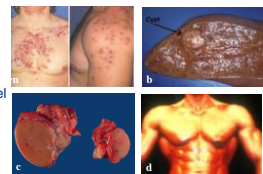
DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Neveneffecten door gebruik?

- mannelijke gebruikers: vervrouwelijken
- vrouwelijke gebruikers: vermannelijken

Andere neveneffecten:

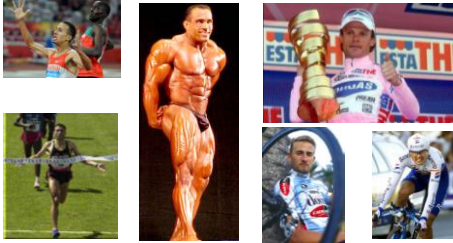
- Acne (*een*)
- Liver cystes (*b*)
- krimpen van de testis (*c*)
- Gynaecomastia (*d*)
- Degeneratie van het beenderstelsel
- Cardiovasculaire aandoeningen
- stemverzwaring (*vrouw*)
- Baardgroei (*wrouw*)
- kaalheid (*man*)



(c) Melnik, Jovan & Grahic (2007) J. Drugs Dermatol. 6: 5
 (d) 100-117. ©1997 Elsevier van Willem Blomveld
 (©) Prof. Dr. P. Weckx (Disselhof)

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

S2. Hormonen



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S2. Hormonen



• Erythropoietine (EPO)

- Aanmaak RBC
- Bloeddikte, bloeddruk ↑, bloedconters, hartaanval, beroerte

• Groeihormoon (HGH) en insuline-groefactoren (IGF)

- Opbouw spiermassa (combinatie AAS)
- Hart-en vaatziekten, abnormale beendergroei, spier- en gewrichtspijnen, Creutzfeldt-Jakob



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S2. Hormonen

• Gonadotrofines (LH en hCG)

- Stijging aanmaak testosteron
- ♀: hyperstimulatie eierstokken en cystes
- ♂: allergie, misselijkheid, gynaecomastia



• Insuline

- Inductie van aanmaak GH
- Hypoglycemie, hypothermie, infarct

• Corticotropines (ACTH)

- Stijging endogene cortico's, euforie
- Waterretentie, hyperglycemie, bloeddruk verhoging

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S2. Hormonen

Waarom wordt EPO gebruikt in sport?

- stijging van rode bloed cellen
- stijging van weefsel bevoorraading met zuurstof
- Verzekeren van de uithoudingsprestatie



Langlauer Eero Mäntyranta

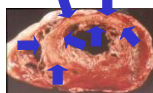
- Legaal alternatief: training op grote hoogte!

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S2. Hormonen

wat zijn de gezondheidsrisico's van EPO?

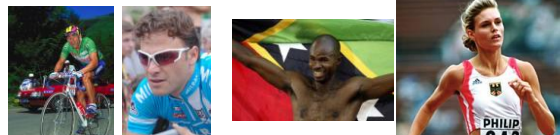
- verhoogde bloeddikte
- verhoogd risico op hoge bloeddruk
- verhoogd risico op van thromboembolische aandoeningen, e.g. infarct, hartstilstand



- Opgelet: EPO-gebruik kan levensbedreigend zijn!

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S3. β 2-Agonisten



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S3. β 2-Agonisten

Voorbeelden

- Clenbuterol
- Salbutamol, salmeterol, terbutaline, formoterol

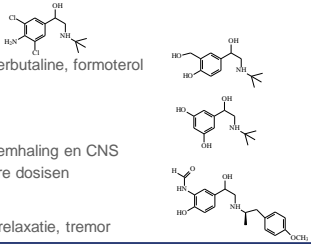
TTN

Doel

- Stimulerende werking ademhaling en CNS
- Spieropbouwend in hogere dosisen

Neveneffecten

- Verhoging hartslag, spierrelaxatie, tremor



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

S4. Hormoon antagonisten en modulators



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

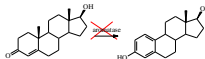
S4. Hormoon antagonisten en modulators

Voorbeelden

- Tamoxifen, exemestaan, cyclofenil

Doel

- Bvb. Aromatase-inhibitie



Neveneffecten

- Afhankelijk van gebruikte type
- Gebruikt in chemotherapie

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

S5. Diuretica en maskeermiddelen



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

S5. Diuretica en maskeermiddelen

Voorbeelden

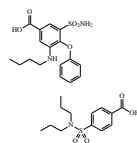
- Furosemide, bumetanide, triamterene
- Probenecid, epitestosteron, HES

Doel

- Maskeren van gebruik van andere middelen
- Verhoging volume urine; daling concentratie
- Gewichtsverlies
- Accentuering spieren
- Blokkeren excretie; T/E

Neveneffecten

- Uitdroging, hartritmestoornissen, spierkrampen,...



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

S6. Stimulantia



Tom Simpson, † 1967

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

S6. Stimulantia

• Voorbeelden

- › Amfetamine, cocaïne, efedrines, XTC, modafinil



• Doel

- › euforie
- › Onderdrukking vermoeidheid
- › Verhogen alertheid en agressiviteit



• Neveneffecten

- › Slaapstoornissen, hartkloppingen, nervositeit, daling eetlust

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S7 & S8. Narcotica en Cannabinoïden



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S7 & S8. Narcotica en Cannabinoïden

• Voorbeelden

- › Morfine, heroïne, cannabis



• Doel

- › pijnstillend
- › gevaaronderdrukkend

• Neveneffecten

- › Verslavend, ademhalingsonderdrukking, psychische gevolgen

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S9. Glucocorticosteroïden



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

S9. Glucocorticosteroïden

• Voorbeelden

- › Dexamethasone, fluticasone, triamcinolone

• Doel

- › ontstekingsremmend
- › euforie

• Neveneffecten

- › Slapeloosheid, vertraagde wondgenezing, suikerziekte, beenderontkalking

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

P1 & P2. Alcohol en Beta-blokkers



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

P1 & P2. Alcohol en Beta-blokkers

- **Voorbeelden**
 - propranolol, acebutolol, atenolol
 - ethanol
- **Doel**
 - Kalmerende invloed op motoriek
- **Neveneffecten**
 - Vermoeidheid, ademhalingsproblemen, inwerking op hartmotoriek

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

M1-M3. Verboden methodes



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

M1-M3. Verboden methodes

- **Verbetering van zuurstoftransport**
 - Homologe/autologe bloedtransfusies
 - HBOCs, RSR-13, PFC's
- **Manipulaties**
 - Chemisch (e.g. proteases) en fysisch (e.g. "peer")
- **Genetische doping**
 - Expresie van genen (EPO, GHG, IGF-1, myostatin)
 - op hartmotoriek

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

M1-M3. Verboden methodes

wat is bloeddoping?

- Illegale methode van manipulatie
- Directe verhoging van rode bloed cellen en daardoor zuurstoftransfer

Twee verschillende methodes:

- afname van eigen bloed en latere herinjectie
- bloedname van een bloedgever en herinjectie wanneer gewenst



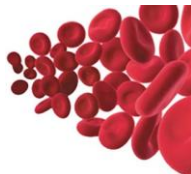
medisch doel: behandeling van enorme bloedverliezen

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

M1-M3. Verboden methodes

Wat zijn de gezondheidsrisico's van bloeddoping?

- verhoogde bloeddruk
- verhoogd risico op thromboses
- risico op een transfusie-accident door allergieën of incompatibiliteit
- risico op ernstige infecties zoals hepatitis of hi-virus

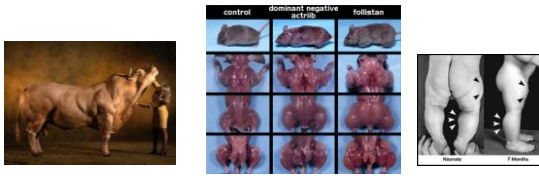


DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Myostatin deficientie/receptor blockage



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

M1-M3. Genetische doping Wat is gentherapie?

- Genen coderen voor het bouwplan van proteïnen : de bouwstenen van het lichaam
- Gentherapie tracht de informatie van de genen te veranderen



- medisch doel: corrigeren van niet-functionerende genen die leiden tot erfelijke ziektes of de ontwikkeling verstoren
- maar: gebruik van het therapeutisch idee voor dopingdoelinden wordt gevreesd

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Human Genome Research Institute

M1-M3. Genetische doping Waarom genetische doping gebruiken in sport?

Potentiele doelen:

- verhoogde erythropoïetin productie → uithouding prestatie
- Stimulering van spiergroei factor → kracht 1, snelheid
- gebruik in de sport is momenteel nog niet gerapporteerd!

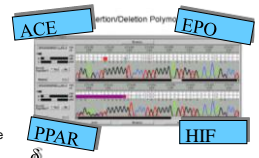
DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Human Genome Research Institute

M1-M3. Genetische doping

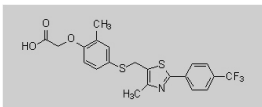
Genen ivm uithoudingsvermogen

- Angiotensine convertende enzym (ACE):
 - beïnvloedt vasoconstrictie of vasodilatatie
- Erythropoïetin (EPO):
 - stimuleert erythropoïese
- Peroxisome proliferator-activated receptor δ (PPAR δ):
 - encodeert enzymen van de vetzuuroxidatie
- Hypoxia-inducible factors (HIF):
 - voor veranderingen in beschikbare zuurstof



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

M1-M3. Genetische doping: GW1516 en ICAR



- Activeren genetische schakels, waardoor het lichaam "denkt" dat het aan sport heeft gedaan
- Tegen obesitas en spierziekten
- Klinische trial fase (GSK)
- Doping: opbouw type I spiervezels +uithouding muizen op rad stijgt met 75%
- Massaspectrometrische methode: Thevis, et al. Rapid Commun Mass Spectrom, 23(2009)1139-46.

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Technieken: Nu

- GC-MSⁿ
- Immunologische testen (hCG, hGH)
- LC-MSⁿ
- Gelelectroforese/immunoblotting/chemiluminescentie
- GC/C/IRMS
- Flowcytometrie



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Technieken: Nu

- Anaboliserende substanties
- Hormonen en gerelateerde
- β -agonisten
- Hormoon antagonisten en modulators
- Diuretica en andere maskeer middelen
- M1: Verbetering van het zuurstoftransport
- M2: Chemische en fysieke manipulatie
- M3: Genetische doping
- Stimulantia
- Narcotica
- Cannabinoiden
- Glucocorticosteroiden
- Alcohol
- Beta-blokkers

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Technieken: Nu

Chromatografie-massaspectrometrie

- Anaboliserende substanties
- Hormonen en gerelateerde
- β -agonisten
- Hormoon antagonisten en modulators
- Diuretica en andere maskeer middelen
- M1: Verbetering van het zuurstoftransport
- M2: Chemische en fysieke manipulatie
- M3: Genetische doping
- Stimulantia
- Narcotica
- Cannabinoiden
- Glucocorticosteroiden
- Alcohol
- Beta-blokkers

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Technieken: Nu

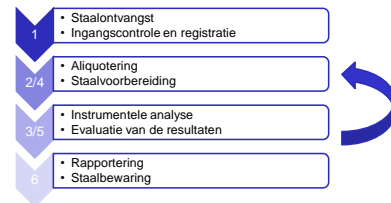
- Anaboliserende substanties
- **Hormonen en gerelateerde**
- β -agonisten
- Hormoon antagonisten en modulators
- Diuretica en andere maskeer middelen
- **M1: Verbetering van het zuurstoftransport**
- M2: Chemische en fysieke manipulatie
- **M3: Genetische doping**
- Stimulantia
- Narcotica
- Cannabinoiden
- Glucocorticosteroiden
- Alcohol
- Beta-blokkers

Chromatografie-massaspectrometrie

Immunologische technieken

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Routine:



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Routine:

- 1 • Staalontvangst
- Ingangscntrole en registratie

- Chain-of-Custody (ADAN – DoCoLab)
- Verzegeling
- A/B-staal
- Volume
- Medicatie
- Aanduiding gevraagde analyses



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Routine:

- 2/4 • Aliquotering
- Staalvoorbereiding

- Volume...

- pH, dichtheid en hCG: 1.0ml
 - Diuretica/beta blokkers: 1.0 ml
 - Anabolica GC/MS: 2.0 ml
 - Anabolica/Corticosteroiden LC/MS: 3.0 ml
 - Narcotica/Stimulantia: 3.0 ml
- } OOC: 10 ml } IC: 13 ml

- EPO: 18 ml

- Maar...Bevestiging (2^{de} analyse)

T/E=4: 9-15 ml, Norandrosteron: 18 ml, EPO: 20 ml, THC: 6 ml, andere: 2-5 ml

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.UGent.be/>

Routine: 2/4

- Aliquotering
- Staalvoorbereiding

- Extractie

- pH
- hydrolyse
- organisch solvent
- mengen
- indampen
- heroplossen



Routine: 3/5

- Instrumentele analyse
- Evaluatie van de resultaten

- LC/MS

- Anabolica, corticosteroiden, hormoon antagonisten en modulatoren
- Diuretica (en beta-blokkers)

- GC/MS

- Anabole steroïden, THC
- Stimulantia, narcotica

- Immunologie

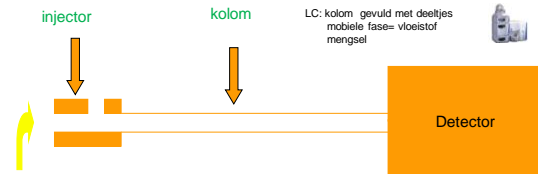
- hCG
- EPO

Chromatografie

GC: kolom = capillair (15-30 m)
mobile fase= gas (He)
oven

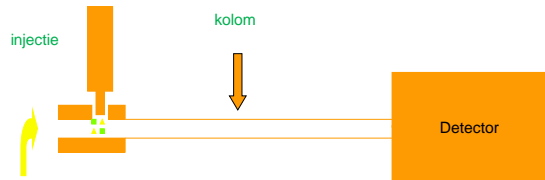


LC: kolom gevuld met deeltjes
mobile fase= vloeistof
mengsel

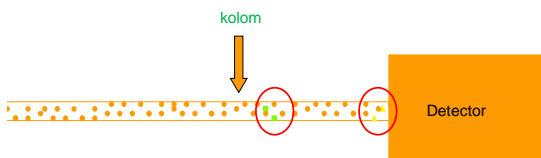


constant debiet van mobiele fase: ●●●●●

Chromatografie



Chromatografie

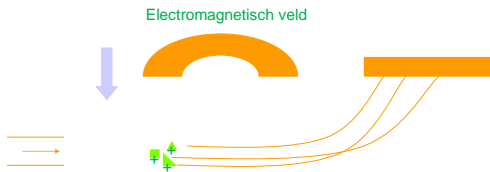


Massaspectrometrie

electron bombardment



Massaspectrometrie



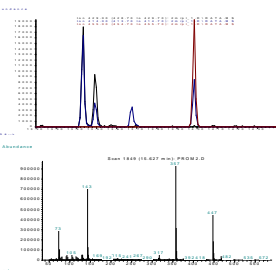
DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Massaspectrometrie



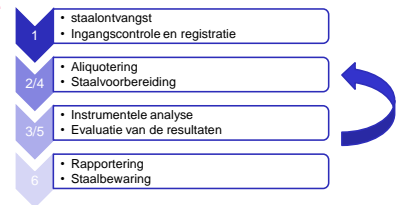
DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Voorbeeld:



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Routine:



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 1: verbetering O₂-transport

- Indirect

- Bloed parameters UCI

- HCT en Hgb

- > 50 % en > 17 g/dl (♂) ; 47 % en 16 g/dl (♀)

- %reticulocytes (<0,20 %)

- Stimulation index = Hb (g/l) - 60 √ reti (%)

- > 133 (♂) ; 123 (♀)

- Totale Hgb Mass

Proner N et al. Medicine & Science in Sports & Exercise 37 (2005) 564
Scumacher YO et al. Clin. J. Sport Med 18 (2008) 172-173

- Bloedpaspoort



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 1: verbetering O₂-transport

- Bloedpaspoort: UCI piloot-studie

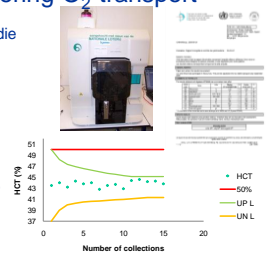
- Individuele referentiewaarden

- Standardisatie van protocols

- PT's...Quality assurance

- 1st van meerdere paspoorten?

- gene profiling
- steroid profiel
- andere hormoonconcentraties

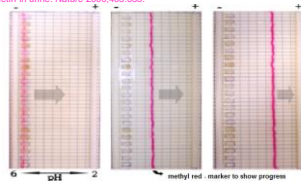


DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 1: verbetering O₂-transport

- Direct: detection of EPO and analogues

- WADA TD2004EPO at www.wada-ama.org
- *Lasne F, de Ceuninck J. Recombinant erythropoietin in urine. Nature 2000;405:635.*
- Staalvoorbereiding- ultrafiltratie MW 32 kDa
- Gel electrophoresis
- pH 2 – 6
- huEPO: 15 isovormen pI 3.8 - 4.7
- rEPO α - 5 isovormen pI 4.4 - 5.1
- rEPO β - 6 isovormen pI 4.4 - 5.1
- darbepoetine α: isovormen pI 3.0 – 3.9

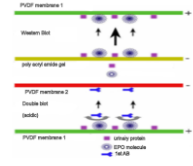


DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 1: verbetering O₂-transport

- Direct: detection of EPO en analogen

- WADA TD2004EPO at www.wada-ama.org
- staalvoorbereiding- ultrafiltratie MW 32 kDa
- Gelelektroforese
- Dubbele immunoblotting *Lasne J. Immunol. Methods 253 (2001) 125–131*
- 1st Blot
- Incubatie met 1st AB
- Wassen
- 2nd Blot
- Incubatie met 2nd AB
- wassen

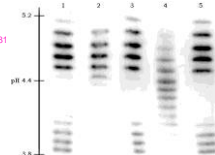


DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 1: verbetering O₂-transport

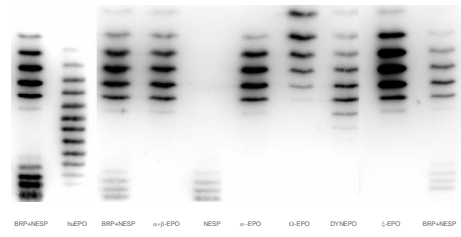
- Direct: detection of EPO en analogen

- WADA TD2004EPO at www.wada-ama.org
- staalvoorbereiding- ultrafiltratie MW 32 kDa
- Gelelektroforese
- Dubbele immunoblotting *Lasne J. Immunol. Methods 253 (2001) 125–131*
- 1st Blot
- Incubatie met 1st AB
- Wassen
- 2nd Blot
- Incubatie met 2nd AB
- Wassen
- Chemiluminescentie detectie
- *Breidbach et al. Clin. Chem. 49 (2003) 901-907*



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 1: verbetering O₂-transport

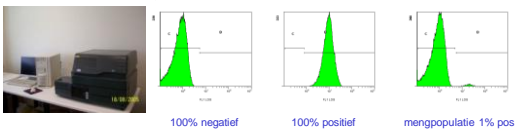


DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 1: verbetering O₂-transport

- Homologe bloedtransfusie

- Bloedtoediening: ABO-systeem, rh(D)
- Bijkomende antigenen (C; c; E; e; K1 (Kell); K2(Cellano); Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S en s) Via flow cytometrie (concentratie)



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 2: designer steroiden

- Zwarte markt: THG, madol, norbolethone

Internet: Halodrol, Superdrol, Hyperdrol,.....



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 2: designer steroiden

- Metabolisme

- Toelating van een ethisch Comité voor administratiestudies → ± onmogelijk
- Ontwikkeling van modellen:
 - Cellcultures Rencic S et al. *J. Chromatograph B* 735 (1999) 73-83
 - Hepatocytculturen Lévesque JF et al. *Steroids* 70 (2005) 305-317
 - Primaten Catlin DH et al. *Rapid Commun Mass Spectrom* 18 (2004) 1245-1249
 - UPA+/SCID muismodel
 - ism CEVAC UGent

Meuleman P. et al. *Hepatology* 41 (2005) 847-856
Lootens L et al. *Clin. Chem.* 55 (2009) 1783-1793

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 2: designer steroiden

- “Open” Methodes

- Retrospectief
 - Hoge resolutie massaspectrometers (QTOF, Orbitrap, etc.)
 - Pozo OJ et al. *J. Mass Spectrom.* 43 (2007) 394-408

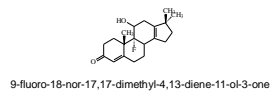
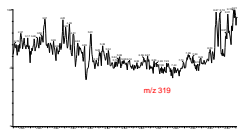


DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 2: designer steroiden

- “Open” Methodes

- Retrospectief
 - Hoge resolutie massaspectrometers (QTOF, Orbitrap, etc.)



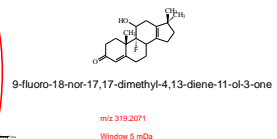
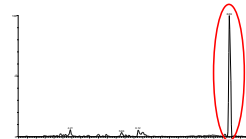
- Pozo OJ et al. *J. Mass Spectrom.* 43 (2007) 394-408

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 2: designer steroiden

- “Open” Methodes

- Retrospectief
 - Hoge resolutie massaspectrometers (QTOF, Orbitrap, etc.)



- Pozo OJ et al. *J. Mass Spectrom.* 43 (2007) 394-408

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 2: designer steroiden

- “Open” Methodes

- Retrospectief
 - Hoge resolutie massaspectrometers (QTOF, Orbitrap, etc.)

- Pozo OJ et al. *J. Mass Spectrom.* 43 (2007) 394-408



- Real-time

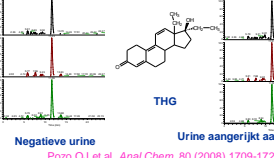
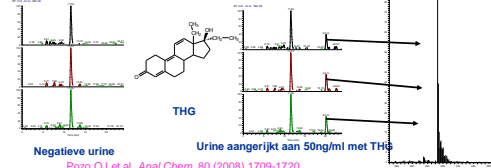
- Precursor ion scan
Pozo OJ et al. *Anal Chem.* 80 (2008) 1709-1720

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 2: designer steroiden

- “Open” Methodes

- Real-time
 - Precursor ion scan



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 3: Groeihormoon



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 3: Groeihormoon

Benadering 1:

- Indirecte markers:
 - IGF-1
 - P-III-P
 - IGFBP-3

Benadering 2:

- Pituitary GH: iso-forms
 - Recombinant GH: only 22kDa iso-form
- $\frac{Rec_GH}{Pit_GH}$



- Is NU in gebruik...er wordt getest!

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

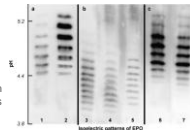
Case-study 4: genetische doping

WADA:

- Onderzoeksfondsen (ca. 8 10⁶ US \$)
- Regels
 - Prohibited List
 - Provisie om verschillende types biologische stalen af te nemen

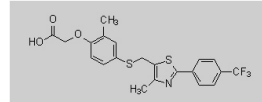
1st resultaten:

- Lasne et al. *Molecular Therapy* 10 (2004) 409-410
- Serum analyse van makakaapjes
- in vivo gentransfer vanhomoloog cDNA in skeletspieren door injectie van een recombinant adeno-associated virus met doxycycline als regulator



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 4: genetische doping GW1516 en AICAR



- Activeren genetische schakels, waardoor het lichaam "denkt" dat het aan sport heeft gedaan
- Tegen obesitas en spierziektes
- Klinische trial fase (GSK)
- Doping: opbouw type I spiervezels +withouding muizen op rad stijgt met 75%
- Massaspectrometrische methode: Thevis, et al. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 23(2009)1139-46.

DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Case-study 5: SARMs

Non-steroidal selective androgen receptor modulators

Aryl-propionamide gebaseerde SARMs:

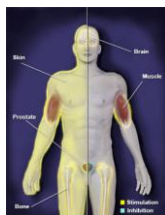
- Farmaceutische industrie: klinische proeven
 - Ostarine™ - Clinical trial Phase Ib (GTX, Inc)

Wereld Anti-Doping Agentschap

Prohibited List 2008

Doping Controle laboratoria:

- Synthese, karakterisatie methode ontwikkeling
 - Thevis et al. *Rapid Commun Mass Spectrom* 20 (2006) 870-876
- In-vitro metabolisme
 - Kuoranne et al. *Drug Metab Dispos* 36 (2008) 571-581



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>

Dankwoord

- Alle collega's van DoCoLab
- Het Departement Cultuur, Jeugd, Sport en Media – Dienst Medisch Verantwoord Sporten van de Vlaamse Gemeenschap (www.dopinglijn.be)



DoCoLab – Faculty of Medicine and Health Sciences – GE06
<http://www.DoCoLab.Ugent.be/>