

6 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden pharmakokinetische Parameter für zwei verschiedene Prednisolonpräparate (Prednisolon-Succinat und Prednisolon-Acetat) basierend auf der zeitabhängigen Prednisolonserumkonzentration berechnet und die Nachweiszeit der beiden Pharmaka im Serum bestimmt.

Weiterhin wurde die physiologische Schwankungsbreite des Kortisolspiegels beim Pferd ermittelt und anhand der Kortisolserumkonzentration nach Applikation der beiden Pharmaka beurteilt, ob und wie lange eine Kortisolsuppression zu verzeichnen ist.

Nach Applikation von Prednisolon-Succinat (i.v.-Injektion) und Prednisolon-Acetat (i.m.-Injektion) in therapeutischer Dosis (0,5 mg/kg KGW) wurden von neun bzw. acht Pferden Serumproben gewonnen.

Die Serumproben wurden High Performance Liquid Chromatography (HPLC) quantitativ auf Kortisol, Prednisolon und Prednison untersucht. Um die physiologische Kortisolserumkonzentration in Abhängigkeit von der Tageszeit bestimmen zu können, wurden zusätzlich vor jedem Versuch über drei Tage dreimal täglich (um 8:00h, 13:00h und 20:00h) Serumproben von jedem Tier gewonnen und analysiert.

Aus den Analyseergebnissen für Prednisolon wurden folgende pharmakokinetische Parameter für Prednisolon-Succinat bestimmt:

$$\text{Halbwertszeit (t}_{1/2\alpha}^1) = 2,21 \pm 0,843 \text{ h}$$

$$\text{Clearance (Cl}_r) = 8,71 \pm 2,67 \text{ ml/min/kg}$$

$$\text{Verteilungsvolumen (V}_c) = 0,558 \pm 0,319 \text{ l/kg.}$$

Die letzte Nachweisbarkeit lag bei durchschnittlich $17,3 \pm 5,5$ h. Die Nachweisgrenze betrug 0,5 ng/ml.

Nach Injektion von Prednisolon-Acetat wurde nur bei einem Pferd Prednisolon nachgewiesen. Der letzte Nachweis war hier in der 288ten Stunde. Die Nachweisgrenze lag bei 1,5 ng/ml.

Die Kortisolwerte der Kontrolltage (Tag -3 bis -1 bzw. 0) zeigen eine zirkadiane Rhythmik, mit Höchstwerten am Morgen und Tiefstwerten am Abend, die großen individuellen und intraindividuellen Schwankungen unterworfen ist.

Die ermittelten Kortisolserumkonzentrationen p. appl. wurden statistisch ausgewertet. Sie zeigen eine Suppression des endogenen Kortisolspiegels nach Applikation beider Präparate, die bereits in der 5-min Probe statistisch signifikant ist.

Unter dem Einfluß von Prednisolon-Succinat ist sie bis zur 30. Stunde post applicationem vorhanden, nach Injektion von Prednisolon-Acetat, das eine Depotformulierung darstellt, bis zur 444. Stunde (Tag 18, 20:00h).

Die in dieser Arbeit ermittelten Kortisolkonzentrationen stellen die Festlegung von Minimalwerten für Kortisol und somit das in der Dopinganalytik routinemäßig durchgeführte Kortisolscreening in Frage, da in den Proben vor der Arzneiapplikation Werte <20 bzw. 30 ng/ml Kortisol (derzeitige Grenzwerte im Reit- und Fahr bzw. Galoppsport) und nach Applikation, besonders nach Injektion von Prednisolon-Acetat, Konzentrationen >30 bzw. 20 ng/ml gemessen wurden. Ein erniedrigter Kortisolspiegel nach einmaliger Messung, ist folglich kein sicherer Hinweis auf das Vorhandensein von Glukokortikoiden im Organismus.

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen werden für beide Präparate Karenzzeiten, die zur Vermeidung von Dopingfällen beitragen können, vorgeschlagen, die im Fall von Prednisolon-Acetat allerdings nur auf den Ergebnissen eines Tieres beruhen.

Vorschlag für die Karenzzeit von Prednisolon-Succinat nach $0,5$ mg/kg KGW i.v.: 48 Stunden.

Vorschlag für die Karenzzeit von Prednisolon-Acetat nach $0,5$ mg/kg KGW i.m.: 15 Tage.

Stephanie Beyer

Pharmacokinetic studies on prednisolone-succinate and prednisolone-acetate and their effects on the cortisol concentration in blood of horses.

7 SUMMARY

In the present paper pharmacokinetic values for two different prednisolone-formulations (prednisolone-succinate and prednisolone-acetate) were calculated basing upon the time-dependent prednisoloneconcentration in serum and for both drugs the detection time was determined. Additionally the physiologic range of the cortisol level in the horse was evaluated and regarding the cortisolconcentration in serum the presence and duration of cortisol-suppression was viewed

After administration of prednisolone-succinate (i.v.-injection) and prednisolone-acetate (i.m.-injection) in therapeutical dose (0,5 mg/kg body-weight) to eight and nine horses respectively serum and urine samples were drawn.

The serum samples were examined for the quantity of cortisol, prednisolone and prednisone by the use of a high performance liquid chromatography method (HPLC).

In order to evaluate the physiologic cortisolconcentration in serum according to the time of day, over a period of three days in advance of each experiment three serum samples of each animal were collected daily (8:00am, 1:00pm, 8:00am) and analysed.

Deriving from the results of prednisolone pharmacokinetic parameters for prednisolone-succinate were determined as follows:

$$\text{half-life } (t^{1/2\beta}) = 2,21 \pm 0,843 \text{ h}$$

$$\text{clearance } (Cl_T) = 8,71 \pm 2,67 \text{ ml/min/kg}$$

$$\text{volume of distribution } (V_c) = 0,558 \pm 0,319 \text{ l/kg.}$$

The mean of the last detection was $17,3 \pm 5,5$ h. The detection-limit was 0,5 ng/ml.

After administration of prednisolone-acetate prednisolone was discovered only in one horse. The last detection was in PIH 288. The detection-limit was 1,5 ng/ml.

The cortisol concentrations were statistically evaluated. They show a suppression of the endogenous cortisol level after administration of both preparations which become already significant ($p < 0,05$) in the PIM5-sample.

Under the influence of prednisolone-succinate the suppressive effect is observed until PIH 30, after injection of prednisolone-acetate which represents a long-acting substance until PIH 444 (PID 18, 8:00 pm).

The cortisol values of days -3 until -1 and 0 respectively show a diurnal variation with highest values in the morning and lowest values in the evening which are subject to individual and intraindividual variations.

The cortisol concentrations evaluated in this study question the fixing of minimum threshold levels for cortisol and the cortisol-screening that is carried out as a matter of routine in doping-analytics since in the samples taken before the administration of the drugs values < 20 and 30 ng/ml cortisol (threshold levels for riding and driving trials and horse racing) and after administration, in particular following the injection of prednisolone-acetate concentrations of > 30 and 20 ng/ml were evaluated. A decreased cortisol level therefore is no reliable indication for the presence of glucocorticoids in the organism.

Based upon the present results withholding-times which could prevent positive doping cases for both preparations are suggested. In the case of prednisolone-acetate the withholding-time is founded on the results of one animal only.

Suggested withholding-time for prednisolone-succinate after $0,5$ mg/kg bodyweight i.v.: 48 hours.

Suggested withholding-time for prednisolone-acetate after $0,5$ mg/kg bodyweight i.v.: 15 days.