



Yarış atlarında yasaklı madde olarak kobalt

Ertuğrul Güneş^{1*}, Murat Yıldırım²

¹İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Doping Laboratuvarı, Pendik, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Büyükçekmece, İstanbul, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 16.05.2022, Kabul Tarihi / Accepted: 27.09.2022

Özet: Kobalt mikro besin olmasının yanında, eritropoetik bir ajan olarak kabul edilmektedir. Uluslararası At Yarışları Federasyonu (IFHA), Uluslararası Binicilik Federasyonu (FEI), Dünya Anti-Doping Ajansı (WADA) gibi yarış otoriteleri, kobaltın eritropoetik etkisinin bilimsel çalışmalarda gösterilmiş olması sebebiyle kullanımını yasaklamış ancak vücutta doğal olarak bulunması sebebiyle plazma ve idrar örnekleri için eşik limit belirlemiştir. IFHA paydaşları tarafından da eşik limit belirlemek amacıyla çeşitli çalışmalar yürütülmüş ve idrar için 100 ng/ml, plazma için 25 ng/ml eşik limit belirlenmiştir. Eşik limitin belirlendiği 2015 yılından bu yana yarışlarda kobalt ihlallerin çoğalması, konu ile ilgili yaptırımların artmasına neden olmuştur. Bu ihlaller Dünyada olduğu gibi, Türkiye'de de önemli sorun teşkil etmektedir. Kobalt ihlaline yol açabilecek uygulamaları araştırmak amacıyla kobaltın oral ve parenteral uygulamalarına dair bilimsel araştırmalar yürütülmüş, muhtemel riskler ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bunun yanı sıra, kobaltın eritropoezis üzerine etkileri gösterilmiş ve geçmişte anemi tedavisinde kullanılmış olsa da belirli doz ve sıklıkta uygulandığında istenmeyen etkilerin meydana gelmesi nedeniyle kullanımından vazgeçilmiştir. Ayrıca, insan ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda görülen eritropoetik etkiler, atlarda yapılan çalışmalarda net olarak ortaya konulmamış, performans üzerine etkileri bildirilmemiştir. Kobaltın farmakolojik özellikleri, toksik etkileri, atlarda kobalt gereksinimleri, kobalt eşik limitlerinin belirlenmesi ve kobalt ihlallerine yol açabilecek uygulamalar bu çalışmada sunulmaya çalışılmıştır.

Anahtar kelimeler: At yarışı, B12 vitamini, doping, kobalt,

Cobalt as a banned substance in racehorses

Abstract: Besides being a micronutrient, cobalt is considered an erythropoietic agent. Racing authorities such as the International Federation of Horse Racing (IFHA), the International Equestrian Federation (FEI), and the World Anti-Doping Agency (WADA) have banned the use of cobalt because its erythropoietic effect has been demonstrated in scientific studies. However, a threshold limit has been set for plasma and urine samples due to the fact that there is some amount naturally in the body. Various studies have also been carried out by IFHA stakeholders to determine threshold limits. And a threshold limit of 100 ng/ml for urine and 25 ng/ml for plasma was determined. Since the threshold limit was determined in 2015, the increase in cobalt violations in races has led to an increase in the related sanctions. These violations pose an important problem in Turkey as well as in the world. Scientific researches on oral and parenteral applications of cobalt have been carried out in order to investigate the applications that may lead to cobalt violation, and possible risks have been tried to be revealed. In addition, the effects of cobalt on erythropoiesis have been shown and although it was used in the treatment of anemia in the past, its use was abandoned due to the occurrence of undesirable effects when applied at a certain dose and frequency. Furthermore, the erythropoietic effects seen in studies in humans and experimental animals have not been clearly demonstrated in studies performed in horses, and their effects on performance have not been reported. In this study, the pharmacological properties of cobalt, its toxic effects, cobalt requirements in horses, determination of cobalt threshold limits and applications that may lead to violations has been presented in this study.

Keywords: Cobalt, doping, horse racing, vitamin B12

Giriş

Tüm yarış sporlarında olduğu gibi at yarışları için de yarışanın oksijen taşıma kapasitesi yarış performansı açısından önemlidir. Bu kapasite alyuvar ve hemoglobin miktarı ile doğrudan ilişkilidir (Jelkmann 2012). Alyuvar sayısını normal değerlerin üzerine çıkarma-

nın ve performans artırmanın; rekombinant eritropoetin, kan nakli ve eritropoezi uyarıcı ajan uygulamaları, yoğun antrenman veya irtifa antrenmanı gibi yolları da mevcuttur. Ancak bu yolların çoğu pahalı veya ciddi riskler içermektedir (Elliott 2008). Kobalt uygulamaları yarış otoriteleri tarafından eritropoetik

Yazışma adresi / Correspondence: Ertuğrul Güneş, Batı mah. Yunus Cad. No:2/1, Pendik, İstanbul, Türkiye

e-posta: ertugrul.gunes@tarimormane.gov.tr

* Ertuğrul Güneş, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü bünyesinde "Doping açısından yarış atlarına B12 vitamini uygulamasının kan ve idrar kobalt düzeylerine etkisi" isimli tez çalışmasını yürütmektedir.

ORCID IDs of the authors: ¹0000-0001-9872-1882 • ²0000-0003-1902-3205

bir ajan olarak kabul edilmekle beraber; oral yolla uygulanabilmesi, diğer uygulamalara göre ucuz ve oldukça güvenli olması nedeniyle sınıstimal edilme potansiyeline sahip bir yöntem olarak görülmektedir (Jelkmann 2012; Ho ve ark. 2015). Bu nedenlerle tüm yarış sporlarında olduğu gibi at yarışlarında da kobalt kullanımı yasaklanmıştır.

Ülkemiz; at yarışlarında IFHA'nın belirlemiş olduğu ve ülkeler için tavsiye niteliğinde olan "Uluslararası Yarışçılık, Yetiştiricilik Müşterek Bahisler Anlaşması" nı (IABRW) kabul eden ülkeler arasında yer almaktadır. Bahsi geçen anlaşmada; atlar için endojen olan maddeler ile geleneksel olarak at yemi olarak kullanılan bitkilerden kaynaklanan maddeler için eşik limitler belirlenmiştir. Kobalt da eşik limit belirlenen maddeler arasında yer almaktadır (Anonim, 2022). IFHA ve paydaşları tarafından yürütülen çalışmalar sonucunda idrar için 100 ng/ml, plazma için 25 ng/ml eşik değerleri belirlenmiştir (Ho ve ark. 2015; Popot ve ark. 2017; Anonim, 2022). Ayrıca IFHA, kasıtlı olmayan kobalt pozitif sonuçların önüne geçmek amacıyla yayınladığı tavsiye dokümanlarında, pozitif sonuca yol açması muhtemel konular ile ilgili güncel çalışmalara yer vermiştir (Anonim, 2022a).

Dünyada çoğu spor dalında pozitif sonuçlara yol açan kobalt ile ilgili birçok bilimsel araştırma yayınlanmıştır. Bu derleme ile kobaltın; farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri, performans üzerine etkileri, eşik limitlerinin nasıl belirlendiği, hangi uygulamaların ve dozların pozitif sonuçlara yol açma riski taşıdığı, kaynakları, atların gereksinimleri ve toksik etkileri ile ilgili güncel çalışmalar ele alınmıştır.

Kobalt Kaynakları ve Atların Kobalt Gereksinimi

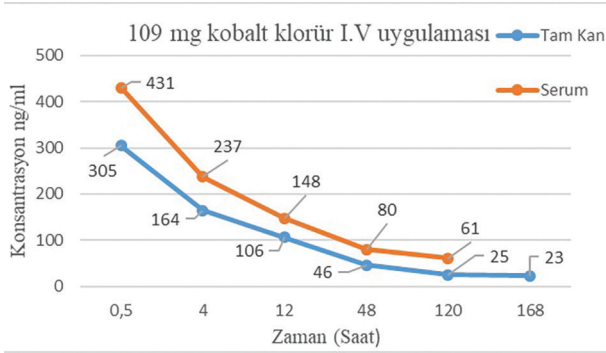
Temel bir mikro element olan kobalt, yer kabuğunda yaklaşık %0,001 oranında bulunmaktadır (Ho ve ark. 2015; Seven ve ark. 2018). Hava, yüzey suyu, tehlikeli atık alanlarından su sızıntıları, yeraltı suları, toprak ve tortu gibi çeşitli ortamlarda değişen miktarlarda tespit edilmiştir (WHO 2006). Kobalt hayvan yemlerinde ve birçok bitkide doğal olarak bulunur (Ho ve ark. 2015). Marul, lahana ve ıspanak gibi yapraklı bitkilerde kobalt içeriği >0,6 ppm iken, yem bitkilerinde ise 0,6-3,5 ppm aralığında değişkenlik gösterir. En yüksek konsantrasyon baklagillerde, ardından çok yıllık otlarda ve en düşük tahıl ürünlerinde bulunmuştur (Palit ve ark 1994). Sularda kobalt konsantrasyonu; bozulmamış alanlarda 1 µg/L'nin altında, yerleşim alanlarında ise 1-10 µg/L arasındadır. Kobalt düzeyleri tarım ve maden alanlarında 100-200 mg/L'ye kadar yükselebilir. İçme suyundaki kobalt konsantrasyonları düşüktür ve genellikle 0,1-5 µg/L

arasında değişmektedir (WHO 2006). Bunun yanı sıra veteriner tıbbi ürünlerinde ve vitamin mineral karışımları içerisinde de bulunabilmektedir. Ayrıca tıbbi ürünlerde, klorür, glukonat, sülfat formlarının dışında B12 vitamini formunda da bulunabilmektedir (Kabil ve ark. 2018). B12 vitamini (kobalamin, C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P) temel bileşenlerinden biri de kobalttır ve molekül ağırlığının (1355,4 g/mol) yaklaşık %4'ünü kobalt atomu (58,9332 g/mol) oluşturmaktadır.

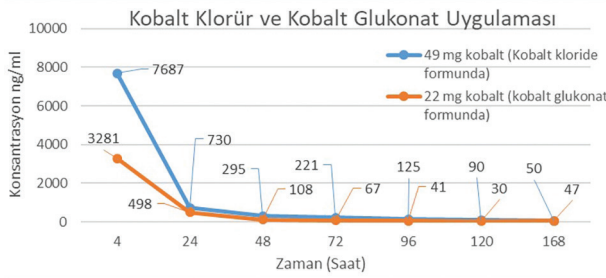
Kobaltın insan ve hayvanlarda bilinen temel rolü B12 vitamininin yapısına katılmasıdır. Bunun yanında canlılarda bakır, demir, B vitaminleri ve diğer ko-faktörlerle birlikte kan yapımında rol oynarlar (EFSA 2009). National Research Council (NRC) 2007 standartlarına göre yetişkin atlarda günlük kobalt ihtiyacı 0,5 mg kadardır. At beslemesinde geleneksel olarak kullanılan yemlerde bulunan kobalt miktarı; kuru maddede 0,05 ile 0,6 mg/kg arasındadır (NRC 2007). Bir yarış atının (500 kg c.ağ.) günlük, ağırlığının ortalama %2-2,5'u oranında kuru yem tüketmesinden hareketle, yemden alınan kobalt miktarının bir atın sağlıklı yaşamını sürdürebilmek için yeterli olduğu görülmektedir. Bunun yanında atlarda kobalt eksikliğinin sebep olduğu veya tedavide kullanıldığı bir hastalığa ulaşılamamıştır (Anonim 2022a).

Kobaltın Farmakolojik Özellikleri ve Performans Üzerine Etkileri

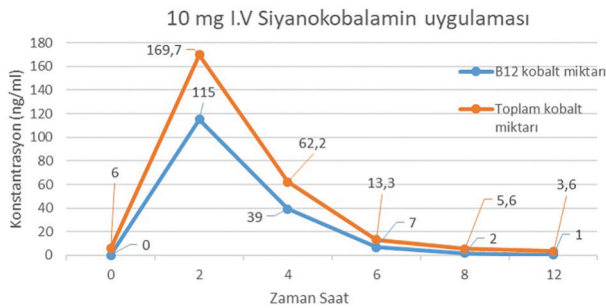
Kobaltın farmakokinetiği; uygulanan kimyasal formu, miktarı, çözeltinin hazırlanma yöntemi, oral uygulamalarda özellikle demir elementinin varlığından etkilenebilmektedir (ICRP 1993; Leggett 2008). Oral kobalt klorür uygulaması sonucu plazma pik konsantrasyonu 6-8 saat olarak bildirilmiştir (Kwak ve ark. 2021). Atlarda farklı formlarda yapılan kobalt enjeksiyonlarında; plazma toplam kobalt ilk eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 2-6,4 saat, terminal eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 42-68 saat ve plazma pik konsantrasyonu ise 2 saat olarak bulunmuştur (Ho ve ark. 2015). Damar içi kobalt uygulaması yapıldığında 0.939 L/kg bir dağılım hacmi ve 156,4 saatlik uzun bir gama yarı ömrü bildirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda kobalt klorür ve kobalt glukonatın damar içi uygulamalarında; tam kanda, serumda ve idrardaki kobalt düzeylerinin 7 gün sonunda bile başlangıç düzeyine gerilemediği görülmüştür (Şekil 1, Şekil 2) (Knych ve ark. 2014). Kobaltın B12 vitamini formunda verilmesi sonucunda ise idrarda en yüksek seviyeye 2. saatte ulaştığı ve B12 vitamininin yaklaşık %70'inin değişmeden idrarda atıldığı bildirilmiştir (Şekil 3) (Wenzel ve ark. 2018).



Şekil 1. 109 mg kobalt klorür uygulamasının sonucunda tam kan ve serumdaki kobalt konsantrasyonu (Başlangıç kobalt düzeyi: <1 ng/ml) (N=1). (Knych ve ark. 2014).



Şekil 2. Kobalt klorür formunda 49 mg ve kobalt glukonat formunda 22 mg kobaltın I.V uygulanması sonrasında idrar konsantrasyonları (Başlangıç kobalt düzeyi: <1 ng/ml) (N=1). (Knych ve ark. 2014).

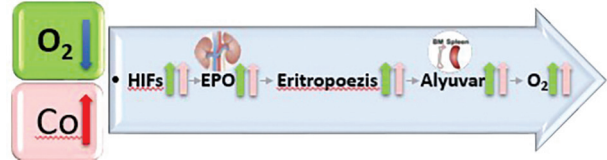


Şekil 3. 10 mg I.V yol ile B12 vitamini (siyanokobalamin) enjeksiyonu sonrası idrarda B12 vitamini kobalt miktarı ve toplam kobalt miktarı (N=1). (Wenzel ve ark. 2018).

Etki Mekanizması ve Farmakodinamik Özellikleri

Fizyolojik koşullarda, oksijen seviyesinin düşmesi durumunda Hipoksiyle İndüklenen Faktör (HIFs)'ler aktive edilir. Artan HIF miktarı, özellikle böbreklerden, eritropoetin (Epo) geninin ekspresyonunun aktivasyonuna ve eritropoezise neden olur (Liang ve

ark, 2016). Eritropoezis sonucunda kemik iliği ve dalak aracılığı ile kandaki alyuvar ve hemoglobin miktarı, dolayısıyla oksijen taşıma kapasitesi artar (Lippi ve ark 2005; Elliott 2008; Rodríguez ve ark 2012). İnsanlarda ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda; kobalt uygulamalarının oksijen seviyesinin normal olmasına rağmen oksidatif stres olduğu ve Hipoksiyle İndüklenen Faktör'lerin aktive edilerek eritropoezise neden olduğu gösterilmiştir (Şekil 4) (Lippi ve ark 2005; Lippi, ve ark 2006; Kinobe 2016).



Şekil 4. Dolaşımdaki oksijen miktarının azalması veya kobalt (Co) uygulamaları sonucunda kemik iliği ve dalaktan alyuvar üretiminin gerçekleşmesi, dolaşımdaki oksijen miktarının artması ile sonuçlanan süreç (Liang ve Ghaffari 2016).

Kobalt, eritropoetik etkileri nedeniyle insanlarda (hamile kadın, bebek ve kronik anemili hastalarda) anemi tedavisinde kullanılmıştır (Holly 1955). Deney hayvanları ve insanlarda yapılan çalışmalarda HIFα miktarını artırarak eritropoezis aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Davis ve Fields 1958; Shrivastava ve ark. 2010). Refrakter anemili hastalarda 25 ve 50 mg kobalt klorür uygulanmasının hematokrit değeri ve alyuvar sayısında %20 oranında artışa neden olması, böbrek hastalığı ile ilişkili anemili hastalarda ise eritropoeze yol açması nedeniyle tedavide kullanıldığı bildirilmiştir (Gardner 1953; Bowie ve Hurley 1975). Orak hücreli anemi tedavisinde kullanımına dair yapılan bir çalışmada ise orak hücre yüzdesi değişmemiş ancak alyuvar hücre sayısının artışı ile tedaviden olumlu sonuç alındığını bildirmiştir (Wolf ve ark 1954). Farelerde yapılan çalışmalarda kobalt klorür uygulanmasının HIF-1α ve AP-1 (Aktivatör protein 1)'i seçici olarak aktive ettiği, miyokardiyal kardiyoproteksiyona neden olduğu, reperfüzyonda koroner dolaşımda önemli bir artış sağladığı ve miyokardiyal iNOS (indüklenabilir nitrik oksit sentaz) değerinde artışına neden olduğu ortaya konulmuştur (Xi ve ark. 2004; Belaidi ve ark. 2012)

Atlarda Yapılan Çalışmalar

Yarış atlarında yapılan çalışmalarda IV yol ile 109 mg kobalt klorür ve 169 mg kobalt glukonat uygulandığında EPO konsantrasyonu, alyuvar sayısı, hemoglobin miktarı, hematokrit değeri ve kalp atım hızında anlamlı değişiklik gözlemlenmemiştir (Knych ve ark.

2014). Yine başka bir çalışmada haftalık 0,25- 0,5- 1- 2 ve 4 mg/kg dozlarda IV yol ile 5 hafta tekrarlı olarak kobalt klorür uygulanmış; EPO değerlerinde değişim veya herhangi bir hematopoez göstergesi izlenmemiştir (Burns ve ark. 2018). Wenzel ve ark (2018) yaptığı çalışmada farklı dozlarda kobalt klorür uygulamış ancak hematokrit değerlerinde anlamlı bir değişiklik bildirmemiştir (Wenzel ve ark. 2019). McKeever ve ark (2020) kobaltın performans ile ilişkisini inceleyen bir araştırmasında; 50 mg elemental kobalta denk kobalt klorürü 3 gün tekrarlı olarak uygulamış, plazma hacmi, dinlenme kan hacmi, alyuvar hacmi, toplam kan hacmi, kademeli egzersiz testi, aerobik ve anaerobik performans testi, plazma EPO düzeyi incelenmiş ve performansı etkilemesi muhtemel bu değerlerde uygulama öncesine göre anlamlı bir değişikliğe rastlamamıştır (McKeever ve ark. 2020).

Atlarda Eşik Değer Çalışmaları

Kobalt, mikro besin elementi olması, hayvan yemlerinde ve sularında düşük miktarda bulunması nedeniyle vücutta doğal olarak bulunur (Kabil ve ark. 2018). Bunun yanı sıra geçmişte anemi tedavisinde kullanılmış, deney hayvanlarında ve insanlarda eritropoetik etkisi çalışmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle de yarışlarda avantaj sağlamak amacıyla kullanıma potansiyeline sahiptir. İdrarda ve plazmada doğal olarak bulunan kobalt miktarını, yarışlarda avantaj sağlamak amacıyla yapılan uygulamalardan ayırt etmek üzere eşik limit belirleme çalışmaları yürütülmüştür. Bu kapsamda Ho ve ark.(2015) tarafından 7462 adet yarış atından, yarış sonrası alınan idrar örneği analizlerinde ortalama $5,5 \pm 5$ ng/ml kobalt tespit edilmiştir. Bu sonuçlar logaritmik dönüşüme ve ardından Kolmogorov-Smirnov normallik testine tabi tutulmuş ve testin olumlu sonuçlanması sonrası at yarışı endüstrisinde uluslararası kabul görmüş yöntemler kullanılarak idrarda 75 ng/ml'lik yuvarlanmış bir eşik limit önerilmiştir (Ho ve ark. 2015). Aynı çalışmada 375 yarış sonrası plazma örneği de analiz edilmiş ortalama $0,44 \pm 0,19$ ng/ml kobalt tespit edilmiştir. İdrar örneklerinde izlenen yaklaşımla 2 ng/ml'lik yuvarlanmış bir eşik limit önerilmiştir. Daha sonra Birleşik Arap Emirliklerinden (Emirates

Yarış Otoritesi) gelen 109 plazma örneği analiz edildiğinde kobalt düzeylerinin önceki sonuçlar ile tutarlı olduğu belirtilmiştir (Ho ve ark. 2015).

Popot ark.(2017) kobalt analizlerinde ölçümlerin tekrarlanabilirliğini ve sağlamlığını kontrol etmek amacıyla Hong Kong, ABD, Batı Avustralya, İngiltere, Fransa ve Kanada doping kontrol laboratuvarlarının katılımıyla yaptıkları karşılaştırmalı testte; idrar ve kan örnekleri kullanılmıştır. Çalışmaya katılan 5 laboratuvar idrar örneklerinin, 8 laboratuvar ise plazma örneklerinin analizini gerçekleştirmiştir. 5 - 500 ng/ml aralığında kobalt içeren 5 farklı idrar numunesi ile 0,5 - 25 ng/ml aralığında kobalt içeren 5 farklı plazma numunesi belirtilen laboratuvarlara gönderilmiştir. İdrar ve plazma örnekleri, farklı laboratuvarlar tarafından validasyonu gerçekleştirilmiş farklı metotlar ile analiz edilerek sonuçların sapma değerleri raporlanmıştır. Bu çalışmanın ardından; Hong Kong'da yarış sonrası 2786 yarış atından sadece plazma örneği analiz edilmiş, 1432 yarış atından ise hem plazma hem idrar alınarak bireysel oranları hesaplanmıştır (Popot ve ark. 2017). Çalışmanın devamında Fransa, Yeni Zelanda, Birleşik Krallık ve altı Avrupa ülkesinde yarış sonrası toplanan idrar örnekleri sonuçlarının çalışmaya dahil edilerek yapılan değerlendirmede idrar için 100 ng/ml, plazma için 25 ng/ml'lik eşik limit belirlenmiştir (Popot ve ark. 2017, Anonim, 2022)

Kobalt Uygulamalarının Eşik Limitler Yönünden Değerlendirilmesi

Atlarda kobalt veya B12 vitamini eksikliği ile ilişkili herhangi bir hastalık veya tedavi bildirilmemiş olsa da Dünya'da bazı ülkelerde veteriner ilaç düzenleme komiteleri tarafından onay almış, kobalt içeren ürünler bulunmaktadır. Bu ürünlerde etken madde olarak kobaltın karbonat, klorür veya glukonat formları yaygın kullanılmaktadır (Kinobe 2016; Brette N. Manthe ve Youngs 2013). Atlara kobaltın farklı formları kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; özellikle enjektabl ürünlerin kan ve idrarda uzun süre limitlerin üzerinde seyrettiği görülmüştür. Atlarda kobalt uygulamaları ve bu uygulama sonucunda kan/idrarda kobalt düzeylerine ilişkin veriler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Kobalt uygulamalarının kan ve idrardaki düzeylerinin değerlendirilmesi.

| Uygulanan Formu | Kobalt; Uygulama Miktarı ve Yolu* | İdrar ve Plazmada total kobalt Konsantrasyonu | Referans |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Kobalt Klorür (N=1) | 49 mg-IV-1 uygulama | İdrarda; 4 gün boyunca; >100 ng/ml Serumda; 5 gün boyunca; >25 ng/ml | (Knych ve ark.2014) |
| Kobalt Klorür (N=16) | 49 mg-IV-1 uygulama | İdrarda; 2 gün boyunca; >100 ng/ml | (Knych ve ark.2014) |
| Kobalt Glukonat (N=1) | 22 mg-IV-1 uygulama | İdrarda; 2 gün boyunca; >100 ng/ml Serumda 10 gün boyunca; >10 ng/ml | (Knych ve ark.2014) |
| Kobalt Karbonat (N=1) | 1,41 mg-Mide tüpü-Günde 1 uygulama, 3 gün boyunca | İdrar ve plazmada; artış gözlenmedi | (Ho ve ark. 2015) |
| Siyanokobalamin Kobalt Sülfat (N=2) | 0,19 mg-PO-Günde 1 uygulama, 3 gün boyunca | İdrar ve plazmada; artış gözlenmedi | (Ho ve ark. 2015) |
| Siyanokobalamin Kobalt Karbonat (N=1) | 2,5 mg-PO-Günde 2 defa 3,5 gün boyunca(toplam 7 uygulama) | İdrarda; 3,8 saat boyunca; >75 ng/ml Plazmada deney boyunca; <10 ng/ml | (Ho ve ark. 2015) |
| Siyanokobalamin Kobalt Glukonat (N=3) | 0,99 mg-IV- günde bir uygulama-3 gün boyunca | İdrarda; 6,1 saat boyunca; >75 ng/ml Plazmada; deney boyunca; <10 ng/ml | (Ho ve ark. 2015) |
| Siyanokobalamin Kobalt Sülfat (N=2) | 1,08 mg-IM-Gün aşırı 2 uygulama | İdrarda; 11,6 saat boyunca; >75 ng/ml Plazmada; deney boyunca; <10 ng/ml | (Ho ve ark. 2015) |
| Kobalt Klorür (N=1) | ~56 mg -IV-Haftada 1 defa, 5 hafta boyunca | Plazmada; 30 gün boyunca; >25 ng/ml | (Burns ve ark. 2017) |
| Kobalt Klorür (N=1) | ~113 mg-IV-Haftada 1 defa, 5 hafta boyunca | Plazmada; 50 gün boyunca; >25 ng/ml | (Burns ve ark. 2017) |
| Kobalt Klorür (N=1) | ~227 mg-IV-Haftada 1 defa, 5 hafta boyunca | Plazmada; 60 gün boyunca; >25 ng/ml | (Burns ve ark. 2017) |
| Kobalt Klorür(N=1) | ~454 mg-IV-Haftada 1 defa, 5 hafta boyunca | Plazmada; 70 gün boyunca; >25 ng/ml | (Burns ve ark. 2017) |
| Kobalt Klorür (N=1) | ~909 mg-IV-Haftada 1 defa, 5 hafta boyunca | Plazmada; 80 gün boyunca; >25 ng/ml | (Burns ve ark. 2017) |
| Kobalt Klorür (N=6) | 45,39 mg-IV-1 uygulama | İdrarda; 5 gün boyunca; >100 ng/ml, Plazmada; 15 gün; >25 ng/ml | (Hillyer ve ark. 2018) |
| Siyanokobalamin Kobalt Glukonat (N=6) | 0,983 mg-IV-1 uygulama | İdrarda; 8 saat boyunca; >100 ng/ml, Plazmada; 2 saat; >25 ng/ml | (Hillyer ve ark. 2018) |
| Siyanokobalamin (N=1) | 0,43 mg-IV-1 uygulama | İdrarda; 2 saat boyunca; >100 ng/ml, Plazmada deney boyunca; <25 ng/ml | (Wenzel ve ark. 2018) |

PO: Per Oral IV: İntravenöz IM: İntramusküler

*Farklı kobalt formları molekül formülleri hesaplanarak kobalt miktarına dönüştürülmüştür, Ortalama at ağırlığı 500 kg olarak hesaplanmıştır.

Toksosite

Kobaltın genotoksik olarak kabul edilmesinin yanı sıra kanserojenik ve mutajenik olduğu ayrıca hem dişilerde hem de erkeklerde üreme üzerinde toksik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (EFSA 2012). Yüksek dozlarda uzun süre alımında ise; zayıflama, güçsüzlük, karaciğer kobalt miktarında artış, sıgırlarda poliüri, salya artışı, nefes darlığı gibi belirtilerin görüldüğü belirtilmiştir (NRC 1996). Kobaltın oral olarak yüksek miktarda kullanımı; insan ve atlarda toksik etkilere neden olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Anemik çocuklarda yaklaşık 1,4-10 mg/kg/gün kobaltın oral uygulanmasını takiben tiroidin etkilendiği ve guatra sebep olduğu (Kris ve ark 1955), Gine domuzlarında yapılan çalışmada 7,7 mg/kg dozda uygulandığında taşipne, perikardiyal efüzyon, perikarda kalınlaşma ve miyokardiyal dejenerasyona yol açtığı, farelerde 200, 400 ve 800 ppm içme sularına ilave edilerek doğurganlık ile ilgili yapılan çalışmalarda ise gebe dişilerin sayısı ve imp-

lantasyon yerlerinin sayısının önemli ölçüde azaldığı, maruz kalan erkeklerle çiftleşen dişilerde canlılığını koruyan fetüs sayısının azaldığı, epididimal ağırlık ve testis ağırlıkları ile birlikte günlük sperm üretiminin önemli ölçüde azaldığı, interstisyel leydig hücrelerinin hipertrofisi, tıkalı kan damarları, spermatogoniyal hücrelerin dejenerasyonu ve her iki seminerde nekroz gibi çeşitli anormallikler neden olduğu bildirilmiştir (Elbetieha ve ark. 2008). Yine 1965-66 yıllarında çok fazla bira içen insanlarda miyokarda yaygın vakuoler dejenerasyon, ani başlangıçlı sol ventrikül yetmezliği, perikardiyal efüzyon, polisitemi, yüksek hemoglobin miktarı gibi bulgularla seyreden ve birçoğu ölümle sonuçlanan, hayatta kalanlarda ise devam eden klinik belirtilerle birlikte anormal elektrokardiografi'nin görüldüğü vakalar ortaya çıkmıştır. Yapılan araştırma ve çalışmalarda ise vakaların sebebinin bira içerisine köpük stabilizeri olarak kobaltın katılması olduğu tespit edilmiştir (Afohiuddin ve ark 1970; Alexander 1972).

Atlarda yapılan çalışmada, bir grup ata 0,5 mg/kg - 4 mg/kg aralığındaki dozlarda IV yolla kobalt klorür uygulanmıştır. Tüm dozlarda uygulama yapılan atlarda; huzursuzluk, kas titremeleri, ıkınma, ACTH (Adrenokortikotropik Hormon) ve kortizol düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu belirtilere ek olarak 1, 2 ve 4 mg/kg dozlarda; taşikardi ve karın ağrısı, 2 ve 4 mg/kg dozlarda kardiyak troponin artışı, 4 mg/kg dozda ise ventriküler taşikardi, şiddetli hipertansiyon, kardiyak aritmi ve hematüri gibi toksik etkilerin görüldüğü bildirilmiştir (Burns ve ark. 2018).

Tartışma ve Sonuç

Belirtilen çalışmalar doğrultusunda; atlar günlük yem tüketimleri ile herhangi katkıya ihtiyaç duymadan kobalt gereksinimlerini giderebilmektedir. Atlarda kobalt eksikliğinden kaynaklanan veya kobaltın tedavide kullanıldığı bir hastalık bildirilmemiştir. Ancak bazı ülkelerde veteriner ilaç otoritelerinden ruhsat almış oral pastalar, yem katkıları veya enjeksiyonluk ürünler bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar, özellikle parenteral kobalt ürünlerinin uygulanması sonucu plazma ve idrarda kobalt düzeylerinin uzun süre boyunca eşik limitin üzerinde kaldığını göstermiştir. IFHA'nın belirlemiş olduğu eşik limit, atların vücudunda doğal olarak bulunan düzeyden oldukça yüksektir. Bu nedenle geleneksel at beslenmesinde kullanılan yemlerden alınan kobalt miktarları ile eşik limitin aşılması riskinin oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Yürütülen çalışmaların büyük çoğunluğunda kobaltın klorür, glukonat ve sülfat formlarını tek başına veya karışım halinde içeren ürünler kullanılmıştır. Ancak tüm Dünya'da ve ülkemizde B12 vitamini, tıbbi ürünlerde tek başına veya vitamin kombinasyonları içerisinde yer almaktadır. B12 vitamini henüz yarış otoriteleri tarafından doping maddesi olarak tanımlanmamış, kullanımı ile ilgili herhangi bir kural belirlenmemiş, ancak yapısında kobalt bulunması nedeniyle kan ve idrar total kobalt düzeylerini artıracağından ihlallere yol açma riski taşımaktadır. Konu ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

Kobaltın geçmişte anemi tedavisinde kullanılmış olması, insan ve deney hayvanlarında belirli mekanizmalarla alyuvar hücre sayısında artışa neden olduğunun gösterilmesi ile birlikte atlarda performans artırmak amacıyla suistimal edilme potansiyelini ortaya çıkarmıştır. Ancak atlarda yapılan çalışmalarda, insan ve deney hayvanlarına kıyasla kan parametreleri ve performans üzerine etkilerinin kısıtlı kaldığı görülmüş olup yapılacak yeni araştırmalarla konunun destekleneceği düşünülmektedir.

Bunun yanı sıra belirli doz ve sıklıkta uygulandığında deney hayvanları ve insanlarda olduğu gibi atlarda da kobaltla ilgili toksik etkiler bildirilmiştir. Bu toksik etkiler düşük dozlarda karın ağrısı, kas titremeleri, kortizol düzeylerinde artış şeklinde kendini gösterdiği gibi yüksek dozlarda, hayati risk taşıyabilecek hipertansiyon, troponin artışı, ventriküler taşikardi şeklinde de olabilmektedir.

Maddi destek ve çıkar ilişkisi: Maddi destek ve çıkar ilişkisi yoktur.

Kaynakça

- Afohiuddin SM, Roy P, Chenard J. (1970). Experimental cobalt cardiomyopathy. (4):532-43
- Alexander CS. (1972). Cobalt-beer cardiomyopathy. A clinical and pathologic study of twenty-eight cases. *Am J Med.*;53(4):395-417.
- Anonim. (2022). Article 6 A (Racing) - Prohibited Substances. <https://www.ifhaonline.org/resources/ifAgreement.pdf>. Erişim tarihi: 24.02.2022.
- Anonim. (2022a). Cobalt Threshold Values – Advisory Document. <https://www.ifhaonline.org/Default.asp?section=IABRW&area=12> Erişim tarihi: 24.02.2022.
- Belaïdi E, Beguin PC, Levy P, Ribuot C, Godin-Ribuot D. (2012). Delayed myocardial preconditioning induced by cobalt chloride in the rat: HIF-1 α and iNOS involvement. *Fundam Clin Pharmacol*;26(4):454-62.
- Bowie, E. A, Hurley, P. J. (1975). Cobalt chloride in the treatment of refractory anaemia in patients undergoing long-term haemodialysis. *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 5(4), 306-313.
- Burns TA, Dembek KA, Kamr A, Dooley SB, Dunbar LK, Aarnes TK, vd. (2017). Effect of Intravenous Administration of Cobalt Chloride to Horses on Clinical and Hemodynamic Variables. *J Vet Intern Med.*;32(1):441-9.
- Davis JE, Fields JP. (1958). Experimental production of polycythemia in humans by administration of cobalt chloride. *Proc Soc Exp Biol Med.*;99(2):493-5.
- EFSA. (2009). Scientific Opinion on the use of cobalt compounds as additives in animal nutrition. *EFSA J.*;7(12):1-45.
- EFSA. (2012). Scientific Opinion on safety and efficacy of cobalt compounds (E3) as feed additives for all animal species: Cobaltous acetate tetrahydrate, basic cobaltous carbonate monohydrate and cobaltous sulphate heptahydrate, based on a dossier submitted by TREAC E. *EFSA J.*;10(7).
- Elbetieha, A., AL-Thani, A.S., AL-Thani, R.K., Darmani, H., Owais W, Elbetieha A, Al-Thani AS, Al-Thani RK, Darmani H, Owais W. (2008). Effects of Chronic Exposure to Cobalt Chloride on the Fertility and Testes in Mice. *J Appl Biol Sci*;2(1):01-6
- Elliott S. (2008). Erythropoiesis-stimulating agents and other methods to enhance oxygen transport. *Br J Pharmacol*;154(3):529-41.
- Gardner FH. (1953). The use of cobaltous chloride in the anemia associated with chronic renal disease. *J Lab Clin Med.*;41(1):56-64.
- Hillyer LL, Ridd Z, Fenwick S, Hincks P, Paine SW. (2018). Pharmacokinetics of inorganic cobalt and a vitamin B12 supplement in the Thoroughbred horse: Differentiating cobalt abuse from supplementation. *Equine Vet J.* ;50(3):343-9. doi.10.1111/evj.12774

- Ho ENM, Chan GHM, Wan TSM, Curl P, Riggs CM, Hurley MJ. (2015). Controlling the misuse of cobalt in horses. *Drug Test Anal.*;7(1):21–30.
- Holly RG. (1955). Studies on iron and cobalt metabolism. *J Am Med Assoc [Internet]*.;158(15):1349–52.
- ICRP. (1993). *Annals of the ICRP. C. 23, The International Commission on Radiological Protection.*
- Jelkmann W. (2012). The Disparate Roles of Cobalt in Erythropoiesis, and Doping Relevance. *Open J Hematol.*;3(1i):1–3.
- Kabil E, Turhan E, Güneş E, Göktaş E., Pekkaya S, Dirikolu L. (2018). The Analysis Of Arsenic and Cobalt In Horseracing In Turkey. *İçinde. s. 52–5.* Available at: https://www.researchgate.net/publication/330727606_The_Analysis_Of_Arsenic_and_Cobalt_In_Horseracing_In_Turkey
- Kinobe RT. (2016). Towards the elimination of excessive cobalt supplementation in racing horses: A pharmacological review. *Res Vet Sci.*;104:106–12. doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.12.007
- Knych HK, Arthur RM, Mitchell MM, Holser I, Poppenga R, Smith LL, vd. (2014). Pharmacokinetics and selected pharmacodynamics of cobalt following a single intravenous administration to horses. *Drug Test Anal.*;7(7):619–25.
- Kriss JP, Carnes WH, Gross RT. (1955). Hypothyroidism and thyroid hyperplasia in patients treated with cobalt. *J Am Med Assoc.*;157(2):117–21.
- Kwak YB, Yu J, Im EJ, Jeong BS, Yoo HH. (2021). Study of cobalt doping control via various routes in thoroughbred horses. *Drug Test Anal.*; Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34750992/>
- Leggett RW. (2008). The biokinetics of inorganic cobalt in the human body. *Sci Total Environ.*;389(2–3):259–69.
- Liang R, Ghaffari S. (2016). Advances in understanding the mechanisms of erythropoiesis in homeostasis and disease. *Br J Haematol.*;174(5):661–73. doi/full/10.1111/bjh.14194
- Lippi G, Franchini M, Guidi GC. (2005). Cobalt chloride administration in athletes: A new perspective in blood doping? *Br J Sports Med.*;39(11):872–3.
- Lippi G, Franchini M, Guidi GC. (2006). Blood doping by cobalt. Should we measure cobalt in athletes? *J Occup Med Toxicol.*;1(1):2–4.
- Manthe, Brette N., and Curtis R. Youngs. "An Overview of Vitamin Requirements of the Domestic Horse." *Natural Sciences Education*, vol. 42, no. 1, John Wiley and Sons Inc, Dec. 2013, pp. 179–84, doi:10.4195/NSE.2012.00002.
- McKeever, K.H, K. Malinowski, C.K. Fenger, W.C. Duer, ve G.A. Maylin. 2020. "Evaluation of cobalt as a performance enhancing drug (PED) in racehorses". *Comparative Exercise Physiology* 16 (4): 243–52. <https://doi.org/10.3920/cep200001>.
- National Research Council. *Nutrient Requirements of Horses. (2007): Sixth Revised Edition [Internet].* [kaynak 20 Şubat 2022]. 360 s. Available at: <http://www.nap.edu/catalog/11653/nutrient-requirements-of-horses-sixth-revised-edition>
- Palit S, Sharma A, Talukder G. (1994). Effects of cobalt on plants. *Bot Rev.*;60(2):149–81.
- Popot MA, Ho ENM, Stojiljkovic N, Bagilet F, Remy P, Maciejewski P, vd. (2017). Interlaboratory trial for the measurement of total cobalt in equine urine and plasma by ICP-MS. *Drug Test Anal.*;9(9):1400–6.
- Rodríguez-Jiménez FJ, Moreno-Manzano V. (2012). Modulation of hypoxia-inducible factors (HIF) from an integrative pharmacological perspective. *Cell Mol Life Sci.*;69(4):519–34.
- Seven T, Can B, Darende Bn, Ocak S. (2018). Hava ve Toprakta Ağır Metal Kirliliği. *Ulus Çevre Bilim Araştırma Derg [Internet]*.;1(2):91–103. <https://dergipark.org.tr/en/pub/ucbad/issue/38487/447131>
- Shrivastava K, Bansal A, Singh B, Sairam M, Ilavazhagan G. (2010). Sub-chronic oral toxicity study in Sprague-Dawley rats with hypoxia mimetic cobalt chloride towards the development of promising neutraceutical for oxygen deprivation. *Exp Toxicol Pathol.*;62(5):489–96. doi.org/10.1016/j.etp.2009.06.012
- Wenzel R, Major D, Hesp K, Doble P. (2018). Determination of vitamin B12 in equine urine by liquid chromatography – inductively coupled plasma – mass spectrometry. *J Trace Elem Med Biol.*;50(May):634–9.
- WHO. (2006). *Concise International Chemical Assessment Document 69: Cobalt and Inorganic Cobalt Compounds.* World Heal Organ. 1–93. Available at: <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad70.pdf>
- Wolf J, Levy IJ. (1954). Treatment of sickle-cell anemia with cobalt chloride. *AMA Arch Intern Med.*;93(3):387–96.
- Xi, Lei, Mohiuddin Taher, Chang Yin, Fadi Salloum, ve Rakesh C. Kukreja. 2004. "Cobalt chloride induces delayed cardiac preconditioning in mice through selective activation of HIF-1alpha and AP-1 and iNOS signaling". *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 287 (6). <https://doi.org/10.1152/AJPHEART.00422.2004>.