

平成 8 年度日本オリンピック委員会スポーツ医・科学研究報告

V. スポーツ選手を対象とするドーピング検査法に関する研究
(副題：高感度薬物スクリーニング方法およびホルモンドーピングについて)

研究班長：植 木 眞 琴¹⁾

研究班員：池 北 紋 子¹⁾ 比留間 知 美¹⁾ 岡 野 雅 人¹⁾
 佐 藤 充 彦¹⁾ 佐 藤 映 浩²⁾ 藤 崎 誠¹⁾

High sensitive screening of anabolic agents, and the rapid procedure for
the determination of urinary peptide hormones.

By

Makoto Ueki¹⁾, Ayako Ikekita¹⁾, Tomomi Hiruma¹⁾, Masato Okano¹⁾
Mitsuhiko Satoh¹⁾, Akihiro Satoh²⁾, Makoto Fujisaki¹⁾

Doping Control Laboratory,
Research and development department
Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories, Inc.

Summary

Anabolic androgenic steroids and non-steroid anabolic agents have been abused by athletes mainly at training period, and they were unlikely administered at competition. High sensitive screening of doping agents has, therefore, become an important part of doping test during competition.

In this report, a high sensitive screening procedure for anabolic agents by gas-chromatograph high-resolution mass spectrometer (GC-HRMS) is discussed. Varidation studies of improved procedure for the rapid determination of urinary peptide hormone were also performed.

It was confirmed that our high sensitive screening procedure meets the requirement of the medical commission of the International Olympic Committee (IOC), and it can detect 1ng/ml of clenbuterol, 2ng/ml of nandrolone and methyltestosterone, and 3ng/ml of methandienone and stanozolol without any difficulties.

Urinary peptide hormones were extracted using ultra filtration cartridge after addition of Bovine Serum Albumin (BSA) as a carrier. Erythropoietin (EPO) for example, could be extracted from urine specimen within 6 hours. The extraction recovery of the method was 94-100% over the range studied.

¹⁾三菱化学ビーシーエルドーピング検査室

(Doping Control Laboratory, Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories, Inc.)

²⁾三菱化学ビーシーエル研究開発部

(Research and development department, Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories, Inc.)

(はじめに)

ホルモンドーピングは現在スポーツ界で最も大きな問題の一つである。蛋白同化ステロイドや非ステロイド系蛋白同化剤はトレーニング中に計画的に服用され、競技に先だってその服用を中止してしまうため、この様なドーピングを防止するためにはトレーニング時に頻りに検査を行うか、またはドーピング物質の検出感度をより高くする必要がある。IOC 医事委員会では1996年に蛋白同化剤のスクリーニング方法の検出感度基準を厳しくすることを決定し、1997年10月までに対応できない検査機関には認定を与えないと発表した。そこで今回は高感度法について検討を加え、IOCが例示した1 ng/mlのクレンプテロール、2 ng/mlのナンドロロンとメチルテストステロンおよび3 ng/mlのメタンジェノンとスタノゾロールを問題なく検出できる条件を確立した。これらは従来方法では検出できないレベルであるが、今回のデータは今後の検討により更に感度向上が可能であることを示しており、今回検討した方法ではアトランタオリンピックでのドーピング検査の感度よりも更に数倍の感度が得られる可能性がある。

一方、ペプチドホルモンのドーピングの検出に関しては統一的方法がなく、血液試料を用いて検出する方法なども既に試みられているが、オリンピックでは血液による検査は一般的でなく、現時点では尿での測定以外に方法がない。これまで尿中ペプチドホルモン測定の前処理に3日を要していたが、限外ろ過カートリッジを用いることによりこれを6時間に短縮し、全行程を5日から2.5日まで短縮することができた。従って、ラジオイムノアッセイ設備があれば平常時の大会で検査できる程度の時間まで所要時間が短縮された。

(試薬)

ステロイドの標準品はシグマ(米国)から、また誘導体化試薬はナーゲル(ドイツ)からそれぞれ購入した。ステロイド代謝物の標準品はIOC医事委員会の委託によりドイツケルン体育大学生化学研究所で合成されたものを譲受し使用した。尿の蛋白同化剤はグルファターゼ(日本バイオテス

ト)で脱抱合したのち抽出した。その他の試薬および溶剤は市販の特級品を用いた。

免疫反応を利用したイムノアフィニティーカラム(IAC)抽出にはホルモンラボラトリー社(Laboratory of Hormonologie: Belgium)製、抗17 α -methyltestosterone抗体固定化セファロースゲルを輸入して用いた。

黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)の測定は、それぞれIMX:LH試薬パック、IMX:FSH試薬パックまたはIMX: β -hCG試薬パック(以上ダイナボット)を用いて測定した。また尿中エリスロポエチン測定キットはエリスロポエチンRIA「中外」(ユカ・メディアス)を購入して測定を行った。

(器具)

尿の限外ろ過は分画分子量10,000のアミコン社製Centricon-10(米国)を用いて行った。

(装置)

蛋白同化剤の測定は機器分析法によった。比較のために行った試験(従来法)ではヒューレットパッカード社(米国)の卓上型ガスクロマトグラフ質量分析計HP5970GC/MSDを、また高感度法の検討は日本電子のJMS-700型ガスクロマトグラフ高分解能質量分析計MStationをそれぞれ用いた。特に記載しない場合、蛋白同化剤測定の前処理条件は、既に我々が投稿した論文¹⁾に記載した方法に基づいて行った。LH、FSH、hCGにはアボット社全自動イムノアッセイシステムIMx(米国)、EPO測定にはARC1000型ガンマ線測定装置(アロカ社)をそれぞれ用いた。

(試料)

精度確認のための試料は、少なくとも過去一ヶ月薬物を服用していない正常者の尿に、既知濃度の測定対象物質を加えて作製した。また濃度分布を求める測定では、ドーピング検査で陰性であることが確定し、かつ検体情報が得られた選手の尿を無作為に選び出して用いた。

(方法および結果)

a. 高感度スクリーニング法

正常者の尿に IOC が検出限界下限基準として設定した濃度、またはその十倍量を添加した試料を

作製して種々の条件で精度を確認した。

IOC が設定した濃度および対象成分を以下に示した。それらの濃度は、ケルンラボで実施している検査方法の検出限界下限値で、アトランタ五輪の検査から採用されたものである。

対象薬物英名	検出下限	絶対量	検索対象の代謝物
Clenbuterol(CLE)	1 ng/ml	6 pg	Clenbuterol
Nandrolone(NAN)	2 ng/ml	12pg	Norandrosterone
Methyltestosterone(MT)	2 ng/ml	12pg	17 α -methyl-5 β -androstan-3 α , 17 β -diol
Methandienone(METH)	3 ng/ml	18pg	Epimetenediol
Stanozolol(STZ)	3 ng/ml	18pg	3-Hydroxystanozolol

検出条件は、従来法ではヒューレットパッカード社 HP5970B 卓上型 GC/MSD (米国) を用い、既に報告した条件で測定した。今回、新たに日本電子より JMS-700型ガスクロマトグラフ高分解能質量分析 (GC-HRMS) MStation を借用し、卓上型 GC/MSD と同じ検体を測

定し両者の感度を比較した。

更に HRMS 測定では質量分解能 (R) 1,000 または10,000で測定しその結果を比較した。

また17 α -メチルステロイドの MT, STZ については IAC 抽出した試料についても検討した。

HRMS の装置条件は以下の通りとした。

質量分析計 (HRMS) 条件	
装置型式	: 二重収束高分解能質量分析計 JMS-700型 (MStation) (日本電子株式会社)
イオン化法	: 電子イオン化 (70eV, 600 μ A)
イオンマルチ電圧	: 1.5kV
加速電圧	: 10kV
インターフェイス温度	: 300 $^{\circ}$ C
イオン源温度	: 170 $^{\circ}$ C
測定モード	: 単イオンモニタリング (SIM)
質量分解能	: 1,000または10,000
ガスクロマトグラフ (GC) 条件	
GC 本体	: HP6890 (ヒューレットパッカード)
GC カラム	: Ultra-1 (HP) 20m長 \times 0.2mm 内径フィルム膜厚0.11 μ m
移動相ガス	: ヘリウム, 23.8psi (定圧)
温度	: 180 $^{\circ}$ C (1分保持) 3 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C 10 $^{\circ}$ C/min-300 $^{\circ}$ C (5分保持)
スプリット比	: 11 : 1
試料注入量	: 2 μ l 注入口温度: 280 $^{\circ}$ C

各成分のモニタリングイオン

目的物質の検出は次のイオンを選んで用いた。但し簡易型 MS では正数質量で測定。

目的成分	イオン 1	イオン 2	イオン 3
スタノゾロール代謝物	545.341	560.365	
メタンジエノン代謝物	448.319	358.269	343.246
メチルテストステロン代謝物	450.335	435.311	345.261
クレンプテロール	337.067	335.069	300.100
ナンドロロン代謝物	420.288	405.264	

図-1から図-3には IOC 医事委員会が新たに設定した検出限界下限値濃度の目的物質を、種々の条件で測定した質量クロマトグラムを示した。図中縦軸はイオン強度、横軸は成分が検出された保持時間を表している。

図-1は上段の図がクレンプテロール、下段の図がナンドロロン代謝物 (19-norandrosterone) の場合を示す。図中 a と d が従来の簡易型 GC/MS で測定したデータ、b と e が HRMS を用いて低分解能 (分解能1000) で測定して得た MS クロマトグラムである。いずれの場合にも目的成分のピーク (山型の波形) が検出できないか、あるいは尿に含まれる妨害物質の影響と思われるノイズと目的成分が重なるために、その有無を確認することができない。一方、図中 c と f は HRMS の質量分解能を10,000に設定して測定したデータを示すが、質量選択性の向上により周囲のノイズが除去され、隠れていた目的物質が明確に検出されていることが確認された。

図-2は a, b がそれぞれ分解能1,000と10,000で測定したメタンジエノン代謝物(epimetenediol)の測定結果を、c - f は図に示した4種の条件で測定したメチルテストステロン代謝物(17 α -methyl-5 β -androstane-3 α , 17 β -diol)の測定結果を示した。メタンジエノンは従来遊離の代謝物(17 α -methyl-1, 4-androstadiene-6 β , 17 β -diol-3-one)として検出されてきたが、内因性物質との分離が難しく判定に支障を来すことが少なくない。シェンツァーらは服用直後にはごくわずかししか検出されないマイナーな代謝物 epimetenediol が、投与中止後後半になっても明確に検出されることを見だし、現在では epimetenediol が²⁾高感度検出のための検索対象物

質となっている。

図 2 は、HRMS では分解能1,000 (a) と10,000 (b) のいずれにおいてもメタンジエノンの代謝物が検出できることを示しているが、b の高分解能測定では、図 a に見られるような成分の近傍に検出される妨害物質が質量分離され、より明確に検出されることが確認された。メチルテストステロンは日本でも話題になったが、従来の簡易型 MS では2ng/mlの代謝物は全く検出されなかった(c)。一方 HRMS では分解能1,000 (d) では共存物質の影響によって目的成分が確認できなかったが、同じ検体を分解能10,000で夾雑物を質量分離することにより明確なピークとして検出することができた。更に固定化抗体カラム(IAC)を用いると試料中に含まれる妨害成分が除外され、極めて明瞭なピークとして検出することができた(f)。

図-3にはスタノゾロールについての検討結果を示した。図から明らかなように簡易型 MS (a) と分解能1,000に設定した HRMS では明瞭なピークが検出できなかった。一方分解能10,000では3ng/mlのスタノゾロールが極めて明瞭なピークとして検出された。(c), (d)特に IAC 抽出によって追加の前処理を行うと、直前に検出される妨害成分が除去され、標準試料とほぼ同等の MS クロマトグラムを得ることができた。

図-4は、ポリスチレン樹脂 XAD-2 をステロイド吸収剤として用いる従来の抽出法 (a) と、IAC 抽出によって得られた各ステロイド画分 (b) の MS クロマトグラムを示した。図から明かなように、IAC を用いると固定化された抗体と反応しない大部分の妨害成分を除去することができ検出感度を大幅に改善することができた。

ONT#2: clenbuterol (m/z:335.0690) NO
25608

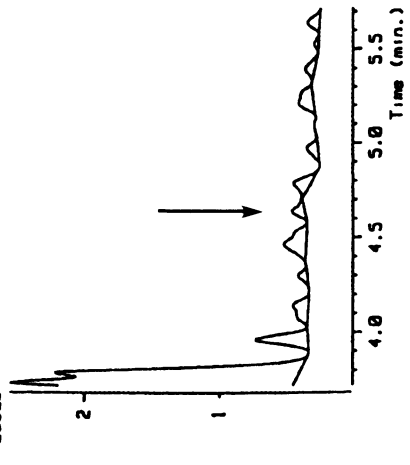


图-1 b CLE HRMS (R=1,000)

ONT#2: clenbuterol (m/z:335.0690) NO
15699

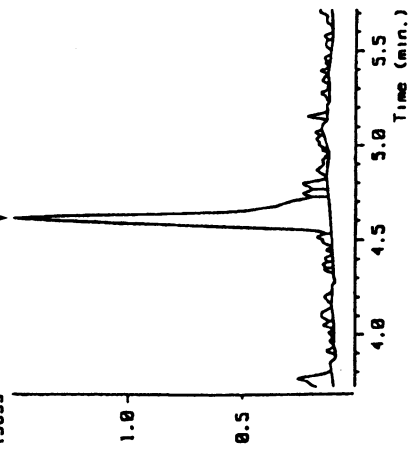


图-1 c CLE HRMS (R=10,000)

ONT#7: Nandrolone (m/z:405.2648) NO
16476

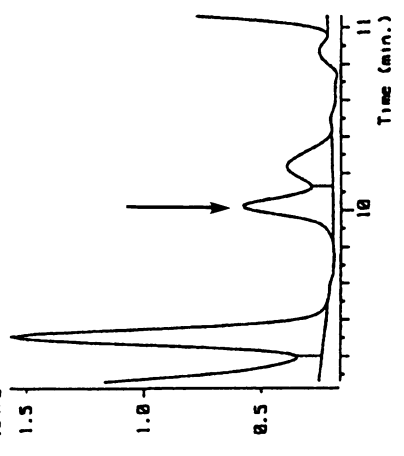


图-1 e NAN HRMS (R=1,000)

ONT#7: Nandrolone (m/z:405.2648) NO
106155

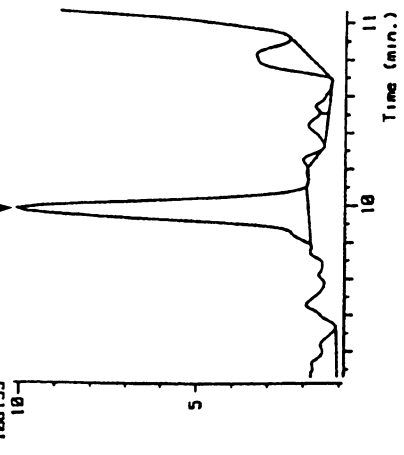


图-1 f NAN HRMS (R=10,000)

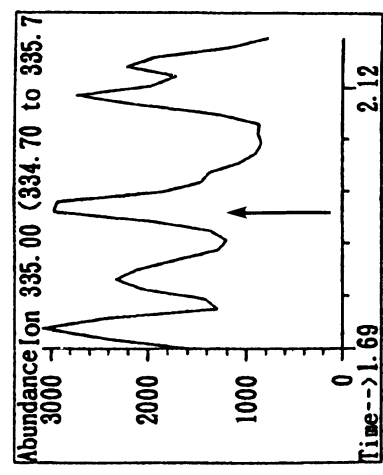


图-1 a CLE 低分辨率 MS

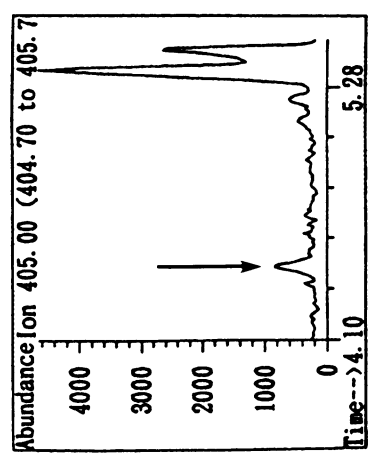
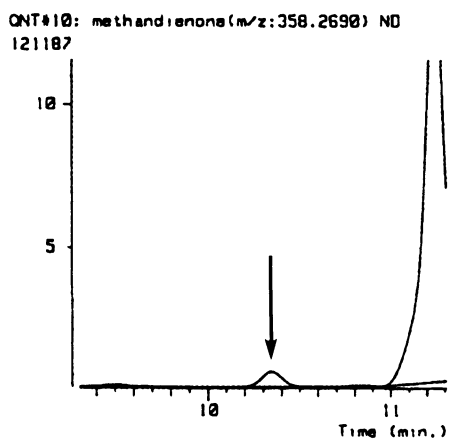
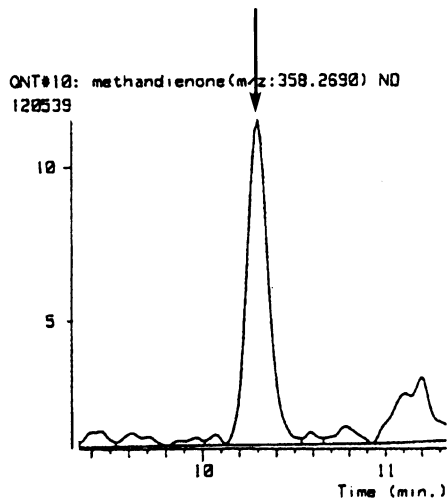


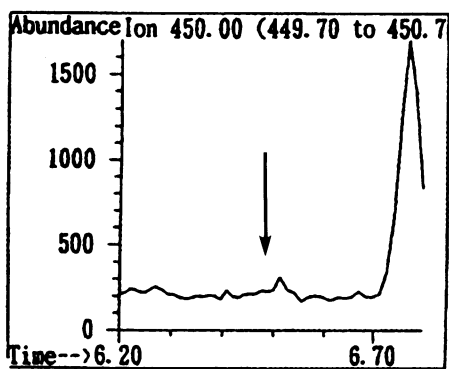
图-1 d NAN 低分辨率 MS



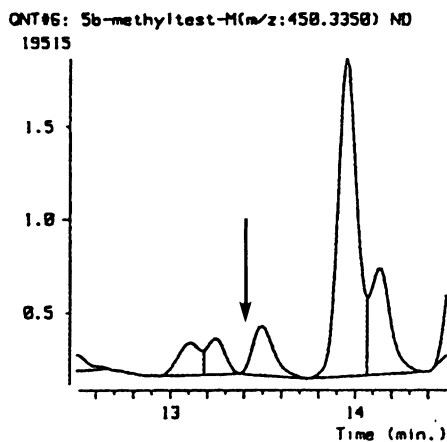
☒- 2 a METH HRMS (R=1,000)



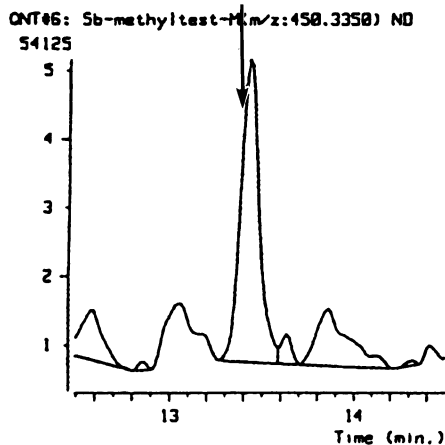
☒- 2 b METH HRMS (R=10,000)



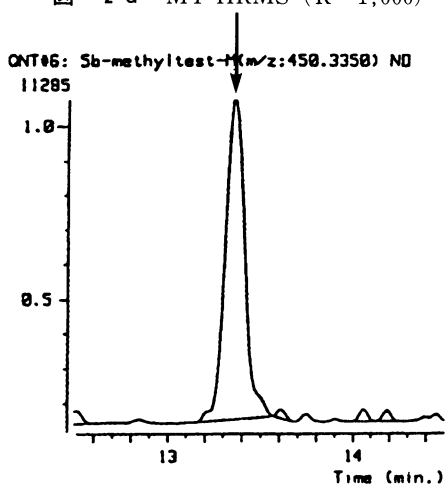
☒- 2 c MT 低分解能 MS



☒- 2 d MT HRMS (R=1,000)



☒- 2 e MT HRMS (R=10,000)



☒- 2 f MT HRMS (R=10,000)IAC 抽出法

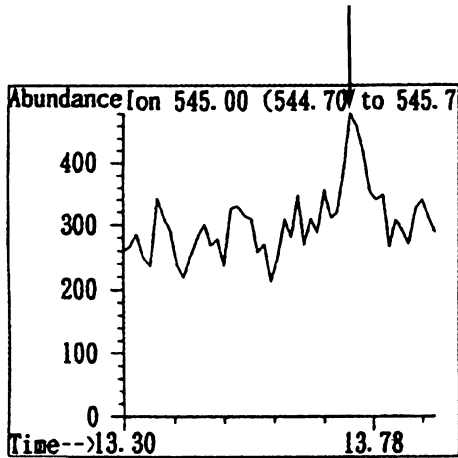


図-3 a STZ 低分解能 MS

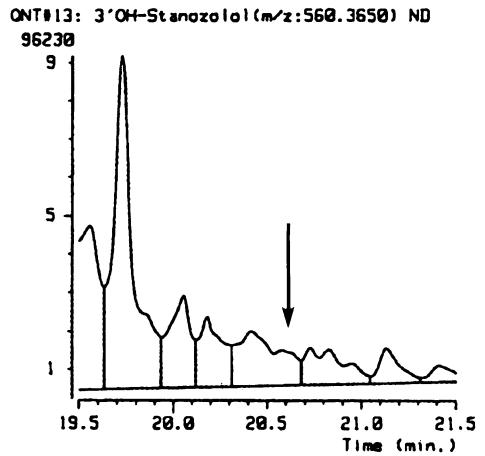


図-3 b STZ HRMS (R=1,000)

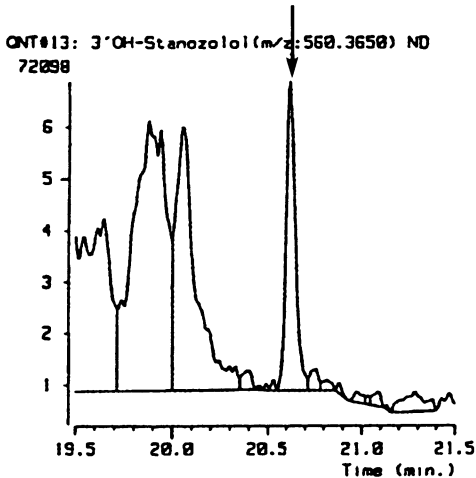


図-3 c STZ HRMS (R=10,000)

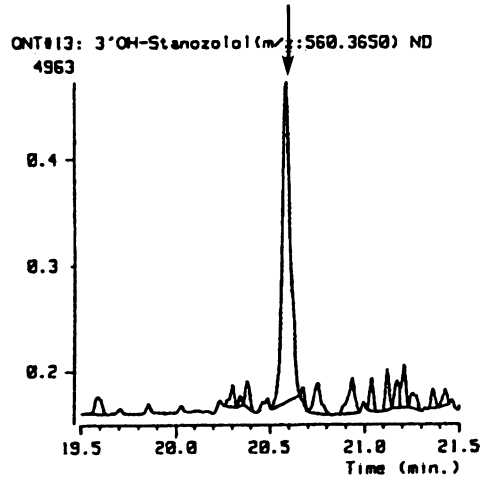


図-3 d STZ HRMS (R=10,000)IAC 抽出法

b. 尿中ペプチドホルモンの前処理と測定方法

β -hCG は尿500 μ l を IMX β -hCG 用検体希釈液で等倍希釈し、残さを遠心除去した上清を用いてそのまま IMx で測定した。LH、FSH および EPO は尿 3 ml に、キャリアーとして BSA20mg を添加し、同様にして残さを遠心除去した尿の上清 1 ml をセントリコンカートリッジに入れ、アングロローター遠心器を用いて3000rpm (2.800xG) で60分遠心分離した。ペプチド画分を含む残さに500 μ l のリン酸緩衝液を加えて再度60分遠心した後、得られた抽出物を3,000rpm で20分遠心して回収した。回収された濃縮液にはエリスロポエチン RIA (中

外)用緩衝液を500 μ l 添加攪拌し、LH、FSH および EPO の測定に用いた。従来の透析法では同様の処理に 3 日を要したが、この操作では 6 時間で前処理を終了することができた。

各ペプチドホルモンの測定は LH、FSH、hCG に関しては全自動分析機 IMx を用い、また EPO については平成 2 年度日本体育協会スポーツ医・科学研究報告に報告した血清検体の操作手順³⁾に準じて実施した。

濃度既知の試料を用いて確認した各測定法の精度 (理論値からの偏差および変動係数) を表-1 に示した。高濃度の LH を除きその他の全ての項

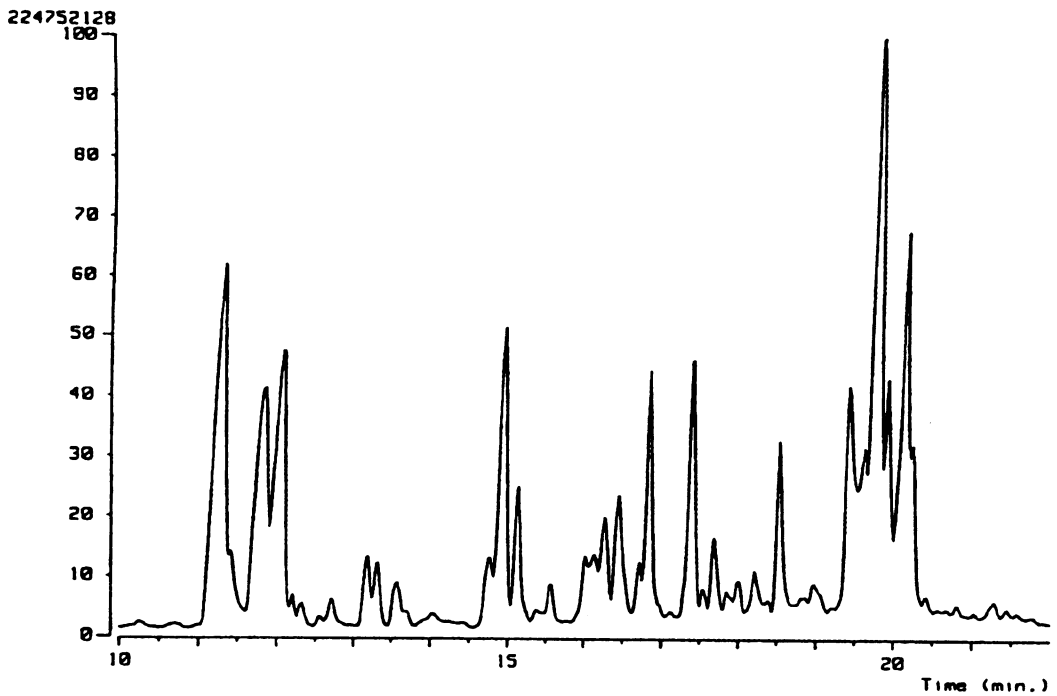


図-4 a 従来 (XAD-2固相抽出) によるステロイド画分の MS クロマトグラム

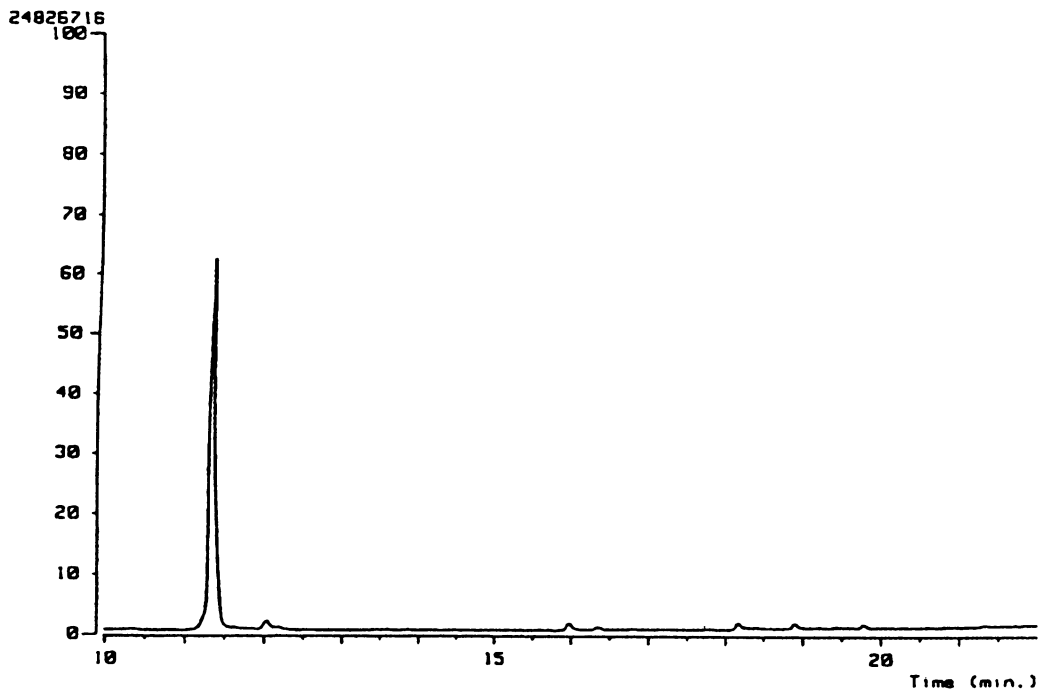


図-4 b 固定化抗体カラム (IAC) によるステロイド画分の MS クロマトグラム
 XAD-2 による抽出物には多くの不純物が含まれているが、固定化抗体カラム抽出物では不純物の大部分が除去されていることを示す。

表-1 イムノアッセイの測定精度

LH		1	2	3
添加濃度	mIU/ml	4.2	16.7	41.7
測定濃度	mIU/ml	4.2	18.6	47.6
偏差	(%)	+0.2	+11.3	+14.1
変動係数CV	(%)	2.6	4.5	4.2
FSH				
添加濃度	mIU/ml	8.3	16.7	25.0
測定濃度	mIU/ml	8.5	17.3	24.6
偏差	(%)	+2.5	+3.5	-1.5
変動係数CV	(%)	2.9	2.7	2.9
EPO				
添加濃度	mIU/ml	12.8	51.2	
測定濃度	mIU/ml	13.0	48.2	
偏差	(%)	+1.6	-5.9	
変動係数CV	(%)	2.8	4.8	
β -hCG				
添加濃度	mIU/ml	47.6	90.9	166.7
測定濃度	mIU/ml	43.6	92.9	177.7
偏差	(%)	-8.4	+2.2	+6.6
変動係数CV	(%)	1.7	1.7	3.3

表-2 スポーツ選手における尿中 LH, FSH, EPO および β -hCG の濃度分布

測定項目	性別		区分				
	女子	男子	中国	日本	韓国	その他	冬季競技
LH							
測定数	41	53	20	34	20	10	10
測定値平均 mIU/ml	1.1	1.9	0.4	2.1	1.5	1.2	2.7
標準偏差 mIU/ml	1.8	3.3	0.6	3.4	2.5	3.2	3.0
FSH							
測定数	41	53	20	34	20	10	10
測定値平均 mIU/ml	2.6	2.2	0.8	3.4	2.9	0.3	3.0
標準偏差 mIU/ml	3.9	4.1	1.1	5.0	4.5	0.4	3.1
EPO							
測定数	61	89	20	42	20	10	58
測定値平均 mIU/ml	2.4	2.1	2.6	2.6	3.1	2.3	1.6
標準偏差 mIU/ml	1.7	0.9	0.6	1.2	2.2	0.0	0.8
β -hCG							
測定数	41	53	20	34	20	10	10
陽性者数	1	0	0	0	0	1	0
陽性率	2.4%	-	-	-	-	10.0%	-

女子のhCG陽性者1例は濃度96,700 mIU/mlであり、妊娠によるものと推察される。

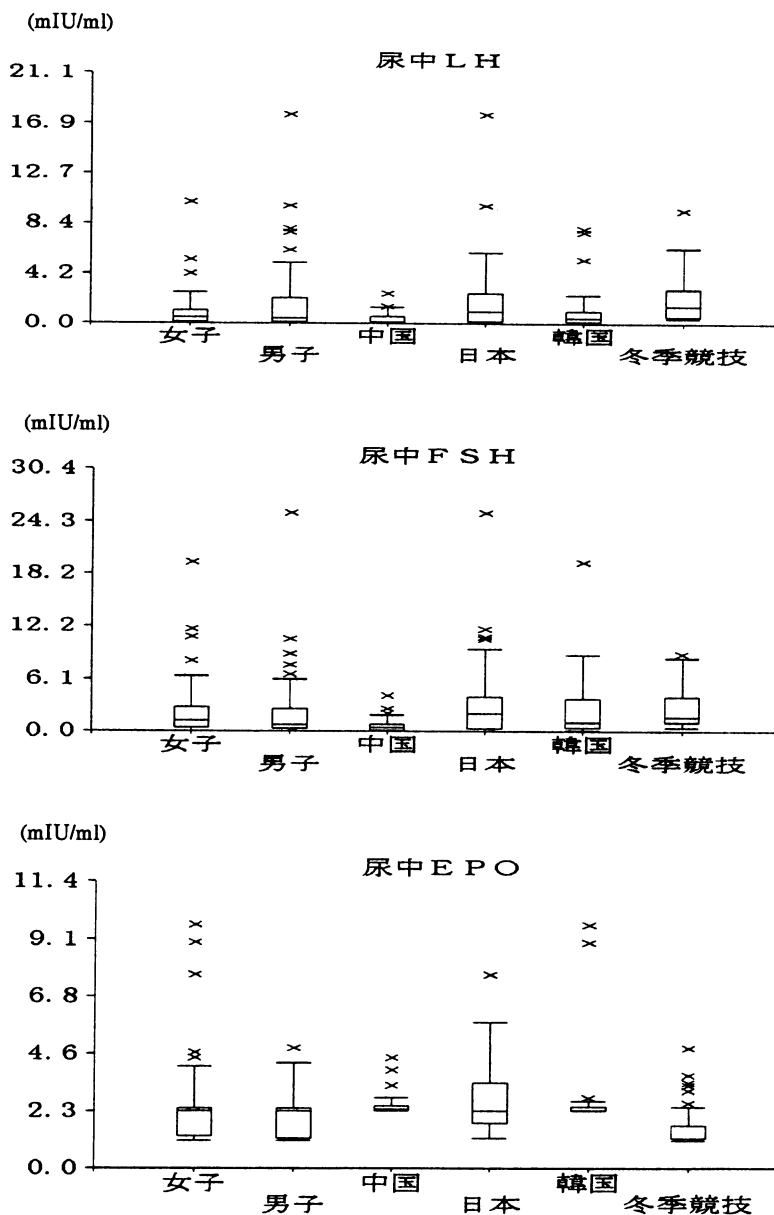


図-5 スポーツ選手における尿中 LH、FSH および EPO 濃度分布

目において今回検討した範囲の濃度で90%以上の回収率すなわち±10%以内の偏差であり、ほとんどの場合±5%以内の範囲であった。変動係数は1.7%から最大でも4.8%であり満足し得る結果であった。また、高濃度検体の希釈直線性を確認したところ、少なくとも LH、FSH、hCG、EPO でそれぞれ6.3、9.0、85.3、14.8 (mIU/ml) 以下の

範囲に希釈し測定すれば正確な定量を行えることが確認された。

この条件で、スポーツ選手の尿中ペプチドホルモンの測定を行った。事前にペプチドホルモン以外の禁止薬物について検査を行い陰性であることを確認した。その濃度分布は表-2及び図-5に

示した。対象選手数は EPO では男子89人、女子61人、また LH, FSH, hCG については男子53人、女子41人であった。得られた測定値についてスミルノフの棄却検定を行うと、棄却される例が女子の LH および hCG と男子の FSH で各1名、女子の EPO で3名あった。棄却された女子の LH および hCG は同じ選手で、その hCG は96,700mIU/ml と極めて高い濃度であったが、ドーピングというよりはむしろ妊娠を伏せて、あるいはそれと知らずに競技に臨んでいたものと推測された。また、EPO で棄却された選手3名は7.7-9.7と高値ではあったもののいずれも女子選手で、これまでの我々の研究で明かにしたように高所トレーニング時に見られる一時的上昇⁹⁾や鉄欠乏性貧血などによる上昇⁹⁾の範囲内であった。

FSH 高値で棄却されたパワー競技種目の日本男子選手は FSH についても高値傾向であったがその理由は明かでなく、尿中ステロイドホルモンの測定値など、他の性腺機能には異常が認められなかった。

(考察)

今回の蛋白同化剤の高感度スクリーニングの検討において、当初の目的とした IOC 医事委員会が設定した新たな検出限界下限濃度を問題なく検出できることを確認した。その概要について IOC 医事委員会に既に報告し、委員による研究施設の視察も経て長野五輪での採用に向けて準備が進められることとなった。このようなレベルの尿中ホルモンは従来の簡易型 GC/MS では全く検出できないか、できたとしてもその確認が困難であった。今回の条件では想定した検出下限濃度の目的成分が明瞭に検出されたばかりでなく、その信号対ノイズ比 (S/N) はクレンプテロール、ナンドロロン、メチルテストステロン、メタンジエノン、スタノゾロールでそれぞれ204, 181, 577, 348, 340と極めて良好であり、今後の最適化により更に感度の向上が見込まれる。例えば、クレンプテロールをはじめとする β -刺激剤についても、共通骨格の分子構造を認識する固定化抗体カラムを使うことによりさらに検出感度の改善が可能である。

一方、高感度化に伴って従来問題にならなかつ

た因子が精度に影響することも予想される。例えば、EU (ヨーロッパ共同体) では肥育中に畜産業者によって使用された蛋白同化剤の食肉中への残留が問題とされ厳しい検査が行われているが、汚染肉を大量に食することによって陽性となる可能性もある。Hemmersbach らはナンドロロンまたはクレンプテロールを投与した牛肉を食べた場合、そのヒトの尿には6時間から最長24時間までの間微量の蛋白同化剤が検出される場合があることを報告している⁹⁾。幸い食肉由来のステロイドは経口投与と同じくほとんどの蛋白同化剤にとって無効であり、なおかつ尿からの消失は極めて速いので1-2日後に再テストを行いその消長を確かめることによって計画的なドーピングであるか否かを区別することができる。

いくつかのステロイド、例えばボルテノン¹⁰⁾は腸内細菌叢によっては腸内で他のステロイドから変換し、ごくわずかに尿中に排泄されることが分かっている。この様に微量のステロイドの陽性判定に関してはこれまで問題にならなかったようないくつかの因子について考慮する必要がある。

ペプチドホルモンなどの生理的ホルモンのドーピングに関しては、明確な判定基準と指定された測定方法はないが、広島アジア大会で話題になったように、検出方法ばかりでなく基礎値となる正常者の濃度分布や生理的変動、測定値に影響を与える因子などについてデータを蓄積してゆくことが測定方法の開発にも増して重要である。我々は既に平成2年から尿中 EPO のドーピング判定に関する検討を行ってきたが、この間諸外国では血液検査によって測定する方法について検討され、尿試料が用いられることは少なかった。これは血清に比べ尿中のペプチドホルモンの量が少なく技術的にも測定が困難であることが一因として考えられる。最近自転車のロードレースにおける EPO の乱用が大きな問題になっており、ツール・ド・スイス参加者に対する試験的な血液中 EPO の測定でも何人かの異常者が発見されている。一方 IOC 医事委員会はアトランタ五輪での採血を行わなかったため、血液中 EPO の検査は実施できなかった。平成4年の日本体育協会研究報告に述べたように、

我々の検討により尿中 EPO が測定できることがわかり、その後複数の検査機関が尿中 EPO の測定について検討を開始している⁶⁾。

尿中 EPO 値は高所トレーニングなどの影響を受けて速やかに上下するが、血清中のそれは相対的に安定である。一方 EPO のドーピングでは血中 EPO 濃度の上昇に伴って尿中 EPO が上昇すると考えられ、尿検査によって EPO の上昇が認められた場合には血清および尿中 EPO の短期間の変動を追跡することでドーピングであるか否かを推測することが可能である。その際、これまで研究されてきたようなトランスフェリンレセプターの血清中濃度などを指標として追加することもできる。この様に決定的な判定基準はなくとも異常であるか否かのスクリーニングの方法は次第に充実してきており、その意味で尿中 EPO 測定は最も有望な検査の一つと考えられる。

今回、尿中の LH, FSH, hCG についてスポーツ選手のデータを集めることができた。これらホルモンでは日本選手の検査結果と他のアジア国間、あるいは欧米からの参加が大部分であった冬季競技での検査結果との差は認められなかった。明白なドーピングは発見されなかったが、100人程度の調査でも妊娠、貧血などの生理的な要因による異常と思われる例が発見されたので、今後例数を増やして更に実態調査を進めていく必要があると考えられる。

(文献)

- 1) 藤崎誠, 植木真琴, 総説「広範囲の乱用薬物を対象とする系統的な検査方法」法中毒, 13, 163-181 (1995)
- 2) A.Gotzmann, H.Geyer, W.Schaenzer, Recent Advances in Doping Analysis (4), 239-246 (1997) Sport and Buch Strauss GmbH, Cologne-Germany
- 3) 植木, 藤崎, 栗本, 菱木, 高橋, 杉本, スポーツ選手を対象とするドーピング検査方法に関する研究(X I), 平成2年度日本体育協会スポーツ医・科学研究報告, 財団法人日本体育協会
- 4) 青木ら, 平成4年度 高所トレーニングにおけるトレーナビリティーに関する日中共同研究, 平成4年度日本体育協会スポーツ医・科学研究報告, 財団法人日本体育協会
- 5) P.Hemmersbach, S.Tomten, S.Nilsson, H.Oftebro, Illegal use of anabolic agents in animal fattening Recent Advances in Doping Analysis (2), 185-191 (1995) Sport and Buch Strauss GmbH, Cologne/Germany
- 6) A.Breidbach, P.Platten, W.Schaenzer, Erythropoietin, Recent Advances in Doping Analysis (4), 39-321 (1997), Sport and Buch Strauss GmbH, Cologne/Germany