

Farmakokinetyka kofeiny u cieląt rasy czarno-białej oraz mieszańców rasy czarno-białej i holsztyńsko-fryzyjskiej

KRZYSZTOF JANUS, ANNA BARTOS, MAŁGORZATA KOZŁOWSKA, SEBASTIAN SUSZYCKI, JOLANTA ANTOSZEK, ZBIGNIEW MUSZCZYŃSKI

Zakład Chemii Fizjologicznej Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Doktora Judyma 2, 71-466 Szczecin

Janus K., Bartos A., Kozłowska M., Suszycki S., Antoszek J., Muszczyński Z.

Pharmacokinetics of caffeine in Black-and-White breed and BW x HF cross-breed calves

Summary

The aim of this study was to compare of pharmacokinetics of caffeine in calves of the Black-and-White (BW) breed and cross-breed Black-and-White x Holstein-Friesian (BW x HF (50% HF)) calves. The effect of age on "interbreed" differences in the values of selected pharmacokinetic parameters of this model drug was examined. The experiment was carried out on 20 healthy calves: 10 of BW breed and 10 cross-breed. The caffeine test was performed in calves aged 10, 20 and 40-days-of-life. The animals received caffeine per os at a dose of 5 mg/kg body weight. The concentration of caffeine in the plasma was determined by the EMIT (enzyme-multiplied immunoassay technique) method. The pharmacokinetics of caffeine were calculated through a non-compartmental method, using The TopFit computer software. The obtained results indicate that the age of calves had an influence on the values of pharmacokinetic parameters of caffeine. We observed that estimated pharmacokinetic parameters of caffeine differed significantly between 10, 20 and 40-day-old calves ($P < 0.05$; $P < 0.01$). Moreover, it was stated that pharmacokinetic parameters of caffeine in Black-and-White and 50% HF cross-breed calves do not differ significantly.

Keywords: pharmacokinetics, caffeine, calves

Kofeina jest 1,3,7-trójmetyloksantyną. W jej metabolizmie biorą udział izoenzymy układu cytochromu P450 – głównie izoforma CYP1A2 (25, 27, 32). W biotransformacji kofeiny uczestniczą także N-acetylotransferaza (NAT) oraz oksydaza ksantynowa (3, 4, 21, 22, 26). Kofeina ulega prawie całkowitej biotransformacji w wątrobie do paraksantyny (1,7-dimetyloksantyny), teofiliny (1,3-dimetyloksantyny) oraz teobrominy (3,7-dimetyloksantyny) (15, 26, 29). Głównym metabolitem kofeiny jest paraksantyna (1, 3, 7), przekształcana w dwóch równoległych przebiegających reakcjach do powstania 8-hydroksyparaksantyny (8-HPK), w drugiej polegającej na 7-demetylacji paraksantyny prowadzi do powstania 3 związków: 1-metyloksantyny (1-MK), kwasu 1-metylomocowego (1-MM) oraz 5-acetyloamino-6-formyloamino-1-metylouracylu (AFMU) (15, 33, 35). Jedynie około 2% wprowadzonej do organizmu dawki wydalane jest w moczu w postaci niezmienionej (15, 26).

Kofeina w niewielkim stopniu wiąże się z białkami osoczwymi oraz charakteryzuje się niskim współczynnikiem ekstrakcji wątrobowej i niskim klirensiem wewnętrznym (15, 33). Eliminacja kofeiny z organizmu zależy głównie od wydolności metabolicznej ko-

mórek wątroby determinowanej aktywnością enzymów hepatocytów uczestniczących w II fazie biotransformacji, a nie zależy od przepływu krwi przez wątrobę ani od wiązania z białkami osocza (5, 15, 26, 29).

Ostatnio pojawia się coraz więcej doniesień dotyczących wykorzystania kofeiny do oceny wydolności metabolicznej wątroby u ludzi, a także u trzody chlewnej (18), owiec (7), koni (2, 23, 24, 28), osłów (23), psów (6, 30), wielbłądów (31, 32), kóz (34) oraz bydła (7, 8, 13). Bardzo nieliczne są publikacje dotyczące farmakokinetyki kofeiny u zwierząt gospodarskich w okresie neonatalnym (13).

Celem przeprowadzonych badań było określenie farmakokinetyki kofeiny (jako leku modelowego) u cieląt rasy czarno-białej oraz mieszańców rasy czarno-białej i rasy holsztyńsko-fryzyjskiej.

Materiał i metody

Protokół badań został zaakceptowany przez Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach.

Doświadczenie przeprowadzono na 10 cielętach rasy czarno-białej (cb) oraz 10 cielętach mieszańców cb x hf (50% HF) w 10., 20. i 40. dniu życia. W czasie trwania eksperymentu zwierzęta były utrzymywane w ujednolico-

nych warunkach środowiskowych i żywione zgodnie z ogólnie przyjętymi normami. Cielęta nie otrzymywały żadnych środków farmakologicznych mogących wchodzić w interakcję farmakokinetyczną i biochemiczną z kofeiną.

Kofeinę (ACO, Helsinborg, Szwecja) podawano *per os* w dawce 5 mg/kg m.c. Próbkę krwi (około 5 ml) pobierano do probówek zawierających 250 j.m. heparyny (Heparinum – Jelfa) przed 0 oraz po upływie 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 oraz 24 godzin od podania kofeiny. Krew wirowano w celu uzyskania osocza (4000 g, 15 min.), które po odwirowaniu przechowywano w temperaturze -20°C do czasu przeprowadzenia analiz. Stężenie kofeiny w osoczu krwi oznaczono metodą EMIT (enzyme-multiplied immunoassay technique). Odczynniki do oznaczeń pochodziły z firmy Syva (Palo Alto, Kalifornia, USA). Średni „odzysk” kofeiny z osocza wynosił $96,8 \pm 2,9\%$, natomiast czułość metody – $0,10$ ($\mu\text{g/ml}$).

Wielkość parametrów farmakokinetycznych kofeiny oznaczano (w oparciu o wyniki wcześniejszych badań) metodą niekompartmentową przy wykorzystaniu programu TopFit 2.0. Wyliczono następujące parametry farmakokinetyczne: stężenie początkowe – C_0 ($\mu\text{g/ml}$); objętość dystrybucji – V_d (l); względną objętość dystrybucji – V_d (l/kg); średni czas przebywania kofeiny w organizmie – MRT (h); okres półtrwania $t_{1/2\beta}$ (h); klirens metaboliczny – Cl_m (ml/min.); względny klirens metaboliczny – Cl_m (ml/min./kg); stopień wiązania kofeiny z białkami osocza – F_B (%).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie wykorzystując program Statistica 6.0. Istotność różnic wielkości parametrów farmakokinetycznych kofeiny u 10-, 20- i 40-dniowych cieląt oceniano przy pomocy jednoczynnikowej analizy wariancji i testu D-Duncana.

Wyniki i omówienie

Wyniki przeprowadzonych badań zamieszczono w tab. 1-5.

Stężenie początkowe kofeiny – C_0 ($\mu\text{g/ml}$) zarówno u cieląt rasy cb, jak i 50% hf wzrastało wraz z wiekiem cieląt, przy czym różnice między 10., 20. i 40. dniem życia były statystycznie ($p < 0,05$; $p < 0,01$) istotne (tab. 4, 5). Objętość dystrybucji kofeiny – V_d także uległa w badanym okresie istotnemu zwiększeniu. Odmienne kształtowały się wielkości współczyn-

Tab. 4. Istotność różnic wielkości parametrów farmakokinetycznych kofeiny ocenianych na podstawie zmian stężenia we krwi u 10-, 20- i 40-dniowych cieląt rasy cb

Parametry farmakokinetyczne	10 vs. 20	10 vs. 40	20 vs. 40
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,05$
V_d (l)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
V_d (l/kg)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
MRT (h)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,05$
$T_{1/2\beta}$ (h)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,05$
Cl_m (ml/min.)	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
Cl_m (ml/min./kg)	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$

Tab. 1. Parametry farmakokinetyczne kofeiny u 10-dniowych cieląt rasy cb oraz mieszańców cb \times hf (50% hf) ($\bar{x} \pm s$)

Parametry farmakokinetyczne	CB	50% HF
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	$4,87 \pm 0,57$	$4,40 \pm 0,53$
V_d (l)	$26,52 \pm 2,84$	$27,20 \pm 2,54$
V_d (l/kg)	$0,663 \pm 0,053$	$0,680 \pm 0,063$
MRT (h)	$12,21 \pm 1,03$	$11,84 \pm 1,13$
$T_{1/2\beta}$ (h)	$10,73 \pm 0,94$	$10,45 \pm 0,88$
Cl_m (ml/min.)	$23,60 \pm 3,02$	$24,80 \pm 3,12$
Cl_m (ml/min./kg)	$0,59 \pm 0,04$	$0,62 \pm 0,05$

Tab. 2. Parametry farmakokinetyczne kofeiny u 20-dniowych cieląt rasy cb oraz mieszańców cb \times hf (50% hf) ($\bar{x} \pm s$)

Parametry farmakokinetyczne	CB	50% HF
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	$6,03 \pm 0,48$	$5,94 \pm 0,61$
V_d (l)	$28,60 \pm 1,97$	$29,65 \pm 2,97$
V_d (l/kg)	$0,572 \pm 0,044$	$0,593 \pm 0,057$
MRT (h)	$10,54 \pm 0,97$	$10,25 \pm 0,92$
$T_{1/2\beta}$ (h)	$9,21 \pm 0,84$	$8,94 \pm 0,79$
Cl_m (ml/min.)	$37,50 \pm 3,66$	$38,50 \pm 3,34$
Cl_m (ml/min./kg)	$0,75 \pm 0,06$	$0,77 \pm 0,07$

Tab. 3. Parametry farmakokinetyczne kofeiny u 40-dniowych cieląt rasy cb oraz mieszańców cb \times hf (50% hf) ($\bar{x} \pm s$)

Parametry farmakokinetyczne	CB	50% HF
C_0 ($\mu\text{g/ml}$)	$7,15 \pm 0,48$	$7,02 \pm 0,61$
V_d (l)	$35,28 \pm 2,25$	$36,40 \pm 3,07$
V_d (l/kg)	$0,504 \pm 0,052$	$0,520 \pm 0,039$
MRT (h)	$9,05 \pm 0,81$	$8,87 \pm 0,74$
$T_{1/2\beta}$ (h)	$7,47 \pm 0,63$	$7,20 \pm 0,66$
Cl_m (ml/min.)	$61,30 \pm 5,56$	$64,50 \pm 6,23$
Cl_m (ml/min./kg)	$0,89 \pm 0,09$	$0,92 \pm 0,08$

Tab. 5. Istotność różnic wielkości parametrów farmakokinetycznych kofeiny ocenianych na podstawie zmian stężenia we krwi u 10-, 20- i 40-dniowych cieląt 50% hf

Parametry farmakokinetyczne	10 vs. 20	10 vs. 40	20 vs. 40
C_0 (mg/ml)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,05$
V_d (l)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
V_d (l/kg)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
MRT (h)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,05$
$T_{1/2\beta}$ (h)	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,05$
Cl_m (ml/min.)	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
Cl_m (ml/min./kg)	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$

nika dystrybucji kofeiny, istotnie malejąc wraz z wiekiem cieląt (tab. 4, 5). Wraz z wiekiem średni czas przebywania kofeiny w organizmie (MRT) ulegał istotnemu skróceniu. Podobne zjawisko stwierdzono w wartości czasu półtrwania kofeiny ($t_{1/2\beta}$): zaobserwowane różnice w odniesieniu do wieku okazały się statystycznie istotne (tab. 4, 5). Odzwierciedleniem zmian MRT oraz $t_{1/2\beta}$ były zmiany wielkości metabolicznego klirensu – Cl_m – kofeiny. Zaobserwowano statystycznie istotne zwiększenie (zarówno bezwzględnych – ml/min., jak i względnych – ml/min./kg) wartości tego parametru farmakokinetycznego wraz z wiekiem badanych zwierząt (tab. 4, 5). Wielkość frakcji związanej z białkami osocza wynosiła u cieląt 10-dniowych cb – 3,5%, u cieląt 10-dniowych 50% hf – 4,0%. U cieląt 40-dniowych wielkości F_B kształtowały się na poziomie: 5,0% – cb, 6,0% – 50% hf. Zaobserwowane, w odniesieniu do wieku cieląt, różnice okazały się statystycznie istotne ($p < 0,05$).

W przeprowadzonym doświadczeniu nie stwierdzono istotnych różnic w wielkościach wszystkich oznaczanych parametrów farmakokinetycznych kofeiny pomiędzy cielętami rasy cb oraz cielętami 50% hf (tab. 1-3).

Ocena uzyskanych w niniejszym doświadczeniu wyników jest stosunkowo trudna, ze względu na istnienie znaczących różnic międzygatunkowych w farmakokinetyce kofeiny (1, 6-8, 28, 30, 32). Z konieczności więc rezultaty przeprowadzonych na cielętach badań własnych skonfrontowano głównie z danymi uzyskanymi u ludzi i nielicznych gatunków zwierząt. Należy mieć na uwadze fakt, że procesy wchłaniania, dystrybucji, biotransformacji i wydalania leków w okresie neonatalnym przebiegają w odmienny sposób niż u osobników dorosłych (13, 16, 17, 19). Na odmienną farmakokinetykę leków u młodych organizmów wpływa wiele czynników. Są to głównie: mniejsza aktywność metaboliczna wątroby, zmiany wielkości przestrzeni wodnych, mniejsza wydolność nerek, mniejsza zawartość tkanki tłuszczowej, niższa zawartość białek nośnikowych w osoczu krwi, pH przewodnictwa pokarmowego, czas opróżniania żołądka, czas transportu jelitowego oraz przepuszczalność błon komórkowych (16, 19).

W przeprowadzonym doświadczeniu wykazano, iż wielkości oznaczanych parametrów farmakokinetycznych kofeiny ulegają istotnym zmianom wraz z wiekiem badanych cieląt. Zaobserwowano istotne zmniejszenie się współczynnika dystrybucji ($V_d - l/kg$) kofeiny wraz z wiekiem badanych zwierząt. Należy jednocześnie podkreślić, iż towarzyszyło temu istotne zwiększenie bezwzględnej ($V_d - l$) objętości dystrybucji kofeiny jako leku modelowego. Wykazano, że objętość dystrybucji zależy m.in. od wielkości wiązania leku z białkami osocza – szczególnie albuminami (16, 17). Niskie stężenie albumin w osoczu krwi u zwierząt w okresie neonatalnym – lek związany z białkami jest nieaktywny farmakologicznie – powoduje zwiększe-

nie objętości dystrybucji i frakcji ulegającej filtracji w kłębkach nerkowych (19). Wykazano także, że białka wiążące środki farmakologiczne charakteryzują się w okresie neonatalnym mniejszą ilością miejsc receptorowych i mniejszą efektywnością wiązania tych miejsc (17, 34). Obniżanie się ($V_d - l/kg$) i zwiększanie ($V_d - l$) kofeiny zaobserwowano u ludzi (1, 3, 9, 20). Uzyskane wyniki są zbliżone do rezultatów badań przeprowadzonych u prosiąt (18), koźląt (34) oraz 4-tygodniowych cieląt (13). Nieco niższe względne wartości objętości dystrybucji kofeiny zaobserwowano u młodych koni (23, 24, 28), natomiast zdecydowanie wyższe, przekraczające 900 ml/kg – u wielbłądów (31). Zmniejszanie się wielkości ($V_d - l/kg$) oraz zwiększanie ($V_d - l$) zaobserwowano także w przypadku innych leków modelowych: antypiryny (18, 34) oraz paracetamolu (11, 12, 14).

W wielu badaniach neonatalnych ludzi i zwierząt wykazano, że młode osobniki, zarówno ludzkie, jak i zwierzęce mają zmniejszoną wydolność metaboliczną wątroby (13, 14, 16, 19). Efektem tego jest zwolnienie tempa utleniania, redukcji, hydrolizy, hydrosylacji i sprzęgania wielu środków farmakologicznych (16, 17). Objawia się to zmniejszonym klirensem leków w porównaniu z osobnikami dorosłymi (17). Niewielką aktywność enzymów katalizujących reakcje biotransformacji w okresie neonatalnym tłumaczy się m.in. niskim poziomem fosfolipidów w błonie mikrosomalnej (15, 19). Wzrost ich aktywności w czasie rozwoju organizmu związany jest z różnicowaniem siateczki śródplazmatycznej, nasiloną syntezą cytochromu P450 oraz zmianami w strukturze fosfolipidów, m.in. znacznego zwiększenia ilości fosfatydylocholiny, niezbędnej do ujawnienia się pełnej aktywności metabolicznej układu MFO – P450 (17). Należy jednak podkreślić, że enzymy metabolizujące leki w wątrobie stosunkowo szybko osiągają aktywność porównywalną do osobników dorosłych (16, 17).

Wielkości okresu półtrwania kofeiny ($t_{1/2}$) oraz średni czas przebywania w organizmie (MRT) ulegały istotnemu skróceniu między 10. a 40. dniem życia cieląt. Uzyskane wyniki są zbliżone do rezultatów badań – przeprowadzonych u prosiąt (18), koźląt (34) oraz 4-tygodniowych cieląt (13). Zdecydowanie krótszy $t_{0,5}$ i MRT zaobserwowano natomiast u wielbłądów (31, 32), koni (24, 28), osłów (23) oraz psów (6, 30). Zarówno bezwzględne, jak i względne wielkości metabolicznego klirensu kofeiny (Cl_m) ulegały istotnemu zwiększeniu wraz z wiekiem badanych cieląt. Zjawisko takie zaobserwowano u ludzi (1, 3, 9, 20), prosiąt (18) oraz koźląt (34). Uzyskane w niniejszym doświadczeniu wartości są nieco niższe od stwierdzonych przez innych autorów (18, 34). Zdecydowanie większe wartości metabolicznego klirensu kofeiny zaobserwowano natomiast u wielbłądów (31, 32), koni (24, 28), osłów (23) oraz psów (6, 30).

Rezultaty przeprowadzonych badań świadczą o zwiększaniu się wraz z wiekiem cieląt aktywności

enzymów katalizujących biotransformację kofeiny. Zjawisko takie zaobserwowano również u ludzi i zwierząt laboratoryjnych, przy czym w zależności od gatunku (zwierząt) przyspieszeniu ulegały głównie reakcje katalizowane przez CYP1A2 lub N-acetylotransferazę (6, 8, 24, 28, 30, 31, 35).

Analiza wielkości parametrów farmakokinetycznych kofeiny wskazuje na brak istotnych różnic w aktywności układów enzymatycznych (głównie CYP1A2 i NAT) katalizujących metabolizm tego leku modelowego między cielętami rasy cb i 50% hf. Odmienne wyniki uzyskano odnośnie do farmakokinetyki paracetamolu w 40. dniu życia, gdyż obserwowano międzyrasowe różnice w wielkości parametrów farmakokinetycznych tej substancji. Cielęta 50% hf istotnie szybciej metabolizowały paracetamol w porównaniu do cieląt rasy cb (10).

Podsumowanie

Wraz z rozwojem postnatalnym cieląt istotnemu skróceniu ulega średni czas przebywania oraz okres półtrwania kofeiny w organizmie, a istotne zwiększenie jej klirensu metabolicznego. Świadczy to o zwiększeniu aktywności enzymów metabolizujących kofeinę jako lek modelowy u cieląt. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że rasa cieląt nie wpływa istotnie na wielkość parametrów farmakokinetycznych kofeiny.

Piśmiennictwo

- Aldridge A., Aranda J. V., Neims A. H.: Caffeine metabolism in the newborn. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1999, 25, 447-453.
- Aramaki S., Suzuki E., Ishidaka O.: Pharmacokinetics of caffeine and its metabolites in horses after intravenous, intramuscular or oral administration. *Chem. Pharm. Bull.* 1991, 39, 2999-3002.
- Aranda J. V., Collinge J. M., Zinman R., Waters G.: Maturation of caffeine in infancy. *Arch. Dis. Childh.* 1999, 54, 946-949.
- Bechtel Y. C., Bechter P. R., Lelouet H., Choisy H., Dy N. R.: The acetylator polymorphism in a Khmer population: clinical consequences. *Therapie* 2001, 56, 409-413.
- Biederbick W., Joseph G., Rump A., Theisohn M., Klaus W.: Caffeine in saliva after peroral intake: early sample collection as a possible source of error. *Ther. Drug Monit.* 1997, 19, 521-524.
- Boothe D. M., Cullen J. M., Calvin J. A., Jenkins W. L., Brown S. A., Green R. A., Corrier D. E.: Antipyrine and caffeine disposition in clinically normal dogs and dogs with progressive liver disease. *Am. J. Vet. Res.* 1994, 55, 254-261.
- Danielson T. J., Golsteyn L. R.: Systemic clearance and demethylation of caffeine in sheep and cattle. *Drug Metab. Disp.* 1996, 24, 1058-1061.
- De Graves F. J., Ruffin D. C., Duran S. H., Spano J. S., Whatley E. M., Schumacher J., Riddell M. G.: Pharmacokinetics of caffeine in lactating dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 1995, 56, 619-622.
- Falcao A. C., Fernandez de Gatta M. M., Delgado M. F., Santos Buelga D., Garcia M. J., Dominguez-Gil A., Lanao J. M.: Population pharmacokinetics of caffeine in premature neonates. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1997, 52, 211-217.
- Grochowina B., Janus K.: Farmakokinetyka paracetamolu u cieląt rasy cb oraz mieszańców cb × hf. *Medycyna Wet.* 2006, 62 (w druku).
- Grochowina B., Janus K.: Farmakokinetyka paracetamolu w osoczu krwi i ślinie u cieląt. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 686-689.
- Grochowina B., Janus K.: Wpływ wieku na farmakokinetykę paracetamolu u cieląt. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 193-196.
- Janus K., Antoszek J., Suszycki S.: The effect of short-term starvation or water deprivation on caffeine pharmacokinetics in calves. *Res. Vet. Sci.* 2001, 70, 109-113.
- Janus K., Grochowina B., Antoszek J., Suszycki S., Muszczyński Z.: The effect of food or water deprivation on paracetamol pharmacokinetics in calves. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2003, 26, 291-296.
- Kalow W., Tang B. K.: The use of caffeine for enzyme assays: A critical appraisal. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1993, 53, 503-514.
- Kearns G. L., Reed M. D.: Clinical pharmacokinetics in infants and children, a reappraisal. *Clin. Pharmacokinet.* 1999, 17, 29-52.
- Klinger W.: Biotransformation of drugs and other xenobiotics during post-natal development. *Pharmacol. Therap.* 1998, 16, 377-400.
- Monshouwer M., Witkamp R. F., Nijmeijer S. M., Pijper S. A., Verheijden J. H. M., Van Miert A. S. J. P. A. M.: Selective effects of bacterial infection (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) on the hepatic clearances of caffeine, antipyrine, paracetamol and indocyanine green in the pig. *Xenobiotica.* 1995, 25, 491-499.
- Morselli P. L.: Clinical pharmacology of the perinatal period and early infancy. *Clin. Pharmacokinet.* 1999, 17, 13-35.
- Newton R., Broughton L. J., Lind M. J., Morrison P. J., Rogers H. J., Brod-brok I. D.: Plasma and saliva pharmacokinetics of caffeine in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2001, 21, 45-51.
- Notarianni L. J., Dobrocky P., Godlewski G., Jones R. W., Bennett P. N.: Caffeine as a metabolic probe: NAT2 phenotyping. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1996, 41, 169-173.
- Pastera J., Anzenbacher P., Fiala Z.: Phenotyping of cytochrome P450 1A2 and N-acetyltransferase (NAT2) using in the vivo caffeine test as a tool for determining individual susceptibility to selected xenobiotics. *Acta Med.* 1999, 42, 3-5.
- Peck K., Mealey K. L., Matthews N. S., Taylor T. S.: Comparative pharmacokinetics of caffeine and three metabolites in clinically normal horses and donkeys. *Am. J. Vet. Res.* 1997, 58, 881-884.
- Schumacher J., Spano J. S., Wilson R. C.: Caffeine clearance in the horse. *Vet. Res. Commun.* 1994, 18, 367-372.
- Spigset O., Hagg S., Soderstrom E., Dahlquist R.: The paraxanthine/caffeine ratio in serum or in saliva as a measure of CYP1A2 activity – when should the sample be obtained? *Pharmacogenetics* 1999, 9, 409-412.
- Tang B., Kadar D., Qian L.: Caffeine as a metabolic probe: Validation of its use for acetylator phenotyping. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001, 49, 648-654.
- Tancheva-Poor I., Zaigler M., Rietbrock S., Fuhr U.: Estimation of cytochrome P450 CYP1A2 activity in 863 healthy Caucasians using a saliva-based caffeine test. *Pharmacogenetics* 1999, 9, 131-144.
- Todi F., Mendonca M., Ryan M., Herskovits P.: The confirmation and control of metabolic caffeine in standardbred horses after administration of theophylline. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1999, 22, 333-342.
- Varagnolo M., Plebani M., Mussap M., Nemetz L., Paleari C. D., Burlina A.: Caffeine as a indicator of metabolic functions of microsomal liver enzymes. *Clin. Chim. Acta* 1998, 183, 91-94.
- Warszawski D., Gorodischer R., Moses S. W.: Caffeine pharmacokinetics in young and adult dogs. *Biol. Neonate* 1997, 32, 138-142.
- Wasfi I. A., Elghazali M., Boni N. S., Hadi A. A. A., Alhadrami G. A., Almuhrami A. M., Alkatheeri N. A., Barezaiq I. M., Agha B. A. O., Wajid S. A.: The disposition of theophylline in camels after intravenous administration. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1999, 22, 255-260.
- Wasfi I. A., Boni N. S., Elghazali M., Abdel Hadi A. A., Almuhrami A. M., Barezaiq I. M., Alkatheeri N. A.: The pharmacokinetics, metabolism and urinary detection time of caffeine in camels. *Res. Vet. Sci.* 2000, 69, 69-74.
- Ziebell J., Shaw-Stiffel T.: Update on the use of metabolic probes to quantify liver function – caffeine versus lidocaine. *Dig. Dis.* 1995, 13, 239-250.
- Zweers-Zeilmaker W. M., Batzias J., Maas R. F. M., Horbach G. J., Van Miert A. S. J. P. A. M., Witkamp R. F.: In vitro and in vivo oxidative biotransformation in the West-African dwarf goat (*caprus hircus aegagrus*): substrate activities and effect of inducers. *Xenobiotica* 1996, 26, 1131-1141.
- Zylber-Katz E., Granit L., Levy M.: Relationship between caffeine concentrations in plasma and saliva. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1994, 36, 133-137.

Adres autora: prof. dr hab. Krzysztof Janus, ul. Doktora Judyma 2, 71-466 Szczecin; e-mail: krzysztofjanus@biot.ar.szczecin.pl