

Wpływ wieku na farmakokinetykę paracetamolu u cieląt^{*)}

BEATA GROCHOWINA, KRZYSZTOF JANUS

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

Grochowina B., Janus K.

Effects of age on the pharmacokinetics of paracetamol in calves

Summary

The aim of the study was to investigate the effects of age on the pharmacokinetics of paracetamol (as a model drug) in calves. The experiment was carried out on 15 healthy BW (Black-and-White) breed calves. Paracetamol (5 mg/kg bw.) was administered per os on day ten, fourteen and twenty of the calves' lives. The concentration of a model drug in plasma was determined by the spectrophotometer method. Pharmacokinetic parameters were estimated through a non-compartmental method, using the TopFit computer program.

The obtained results indicate that the age of calves significantly influenced the pharmacokinetic parameters of paracetamol. A significant increase in the maximum concentration of the drug was noted, as well as in the volume of distribution and metabolic clearance. A significant decrease in mean residence time, biological half-life and area under curve was also observed. The results obtained in the study suggest that the activity of enzymes involved in the metabolism of paracetamol increases with the age of calves. It was therefore concluded that age should obviously be taken into account when studying drug metabolism in calves.

Keywords: paracetamol, pharmacokinetics, calves

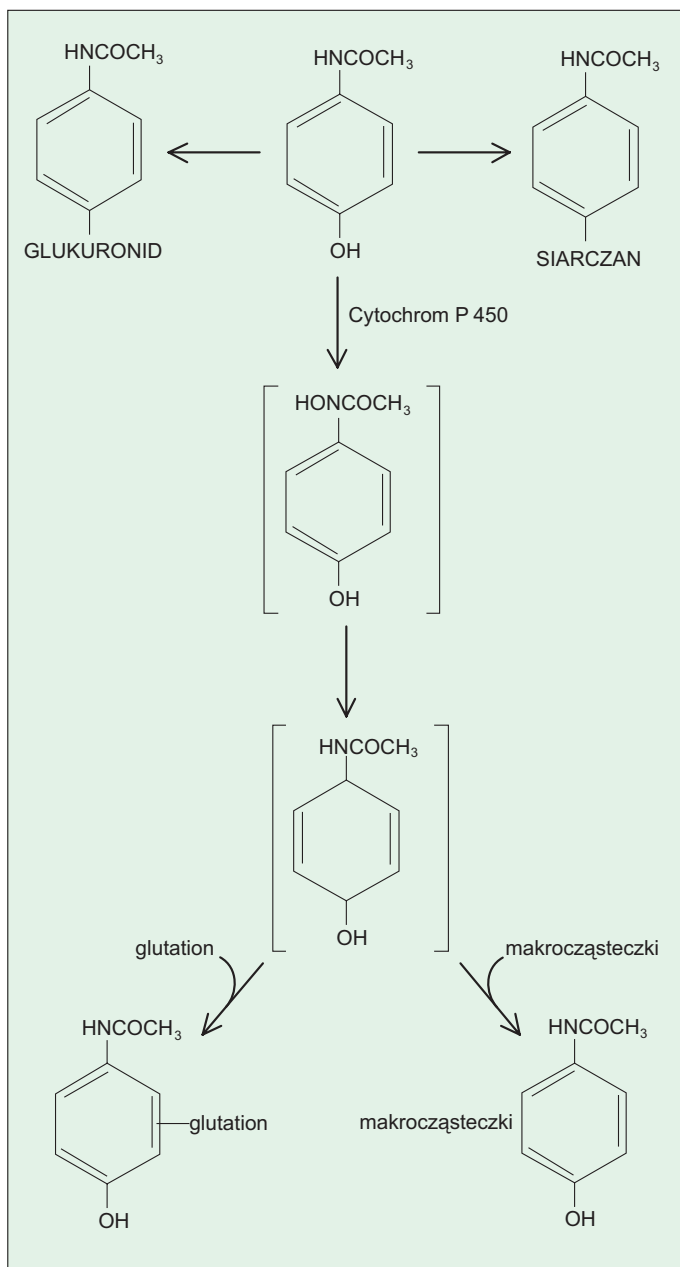
Paracetamol (N-acetylo-p-aminofenol) jest pochodną aniliny, głównym metabolitem fenacetyny (13, 32). Z białkami osocza łączy się w niewielkim stopniu (15%-20%) (33). Paracetamol jest lekiem o działaniu przeciwbólowym i przeciwgorączkowym (5, 6, 8, 10, 27). Działanie to wywiera głównie poprzez hamowanie syntezy prostaglandyn (zmniejszenie aktywności cyklooksygenazy kwasu arachidonowego) w ośrodkowym układzie nerwowym (33). Paracetamol hamuje także w nieznacznym stopniu syntezę prostaglandyn w tkankach obwodowych oraz powoduje zmniejszenie wrażliwości komórek nerwowych na działanie takich mediatorów, jak kininy i serotonina, czego efektem jest podwyższenie progu bólowego (33).

Paracetamol po podaniu doustnym wchłaniany jest na drodze dyfuzji prostej (6, 30), przy czym szybkość absorpcji zależy głównie od postaci leku – syrop, tabletki (12, 15, 22, 24, 27). Paracetamol w całości metabolizowany jest w wątrobie (2, 7, 10, 13, 21, 22). W hepatocytach ulega on reakcjom sprzęgania, głównie z kwasem glukuronowym przy udziale transferazy glukuronowej (około 60%) (13, 21, 22) oraz za pomocą fenolosulfotransferazy (30-35%) (2, 16). Zaledwie 3-4% wprowadzonego do organizmu leku ulega utle-

nieniu do formy pośredniej N-acetylobenzochinoimini przy udziale cytochromu P450 (2, 5). Metabolit ten jest unieczynniany poprzez koniugację z glutationem i wydalany przez nerki w postaci nietoksycznego merkapturanu (5). Sprzęganie paracetamolu z siarczanem jest główną drogą metabolizmu tego leku u młodych organizmów, które mają nie w pełni „dojrzały” system glukuronylotransferaz. Wykazano zależność procesów glukuronidacji i sulfatacji – nasileniu glukuronidacji towarzyszy zmniejszenie sulfatacji (3).

Wykazano istnienie dużych różnic międzygatunkowych w metabolizmie paracetamolu – u wielbłądów (2) zaobserwowano przewagę sulfatacji nad glukuronidacją, natomiast u trzody chlewnej zaobserwowano zjawisko odwrotne (bardzo niewielki udział sulfatacji) (9, 25). Stwierdzono również, że aktywność enzymów katalizujących reakcje glukuronidacji i sulfatacji u przeżuwaczy jest istotnie większa niż u zwierząt monogastycznych (2, 9, 25). Do tej pory często wykorzystywano paracetamol jako lek modelowy u ludzi, natomiast bardzo rzadko u zwierząt, zwłaszcza gospodarskich. W piśmiennictwie nie ma praktycznie badań dotyczących zmian farmakokinetyki paracetamolu wraz z wiekiem u bydła. Celem badań było określenie wpływu wieku cieląt na farmakokinetykę paracetamolu.

^{*)} Praca wykonana i finansowana w ramach grantu 3 P 06D 016 24.



Ryc. 1. Schemat metabolizmu paracetamolu

Tab. 1. Wielkość parametrów farmakokinetycznych paracetamolu po podaniu *per os* (n = 15, $\bar{x} \pm s$)

Parametry	10. dzień	20. dzień	40. dzień	Istotność różnic 10 vs. 20	Istotność różnic 10 vs. 40	Istotność różnic 20 vs. 40
C_{max} (µg/ml)	6,87 ± 0,57	7,38 ± 0,63	7,80 ± 0,68	N.I.*	N.I.	p < 0,05
T_{max} (min)	72 ± 9	65 ± 7	59 ± 6	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01
V_d (l)	28,04 ± 2,96	32,15 ± 3,07	39,20 ± 3,89	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01
V_d (l/kg)	0,701 ± 0,058	0,642 ± 0,053	0,560 ± 0,047	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01
MRT (min.)	100 ± 9	88 ± 8	75 ± 7	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01
$T_{1/2\beta}$ (min.)	89 ± 7	80 ± 6	70 ± 6	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01
Cl_m (ml/min.)	296,8 ± 30,2	395,8 ± 38,4	595,0 ± 60,1	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01
Cl_m (ml/min./kg)	7,42 ± 0,84	7,94 ± 0,95	8,50 ± 0,74	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01
AUC (µg × h × ml ⁻¹)	12,1 ± 1,9	10,2 ± 1,3	8,5 ± 0,9	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,01

Objaśnienie: N.I. – różnice nieistotne statystycznie

Materiał i metody

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

Badania przeprowadzono na 15 cielętach rasy czarno-białej (cb.) w 10., 20. i 40. dniu życia. W czasie trwania eksperymentu zwierzęta były utrzymywane w ujednoczonych warunkach środowiskowych i żywione zgodnie z ogólnie przyjętymi normami. W trakcie trwania badań cielęta nie otrzymywały żadnych środków farmakologicznych mogących wchodzić w interakcję farmakokinetyczną i biochemiczną z paracetamolem.

Paracetamol (Codipar Glaxo-Wellcome, Poznań) podawano *per os* w dawce 5 mg/kg m.c. Próby krwi (około 5 ml) pobierano do probówek zawierających 250 j.m. heparyny (Heparinum–Jelfa) przed 0 oraz po upływie 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8 i 10 godzin od podania paracetamolu. Krew wirowano (4000 g, 15 min.). Uzyskany po odwirowaniu materiał biologiczny przechowywano w temperaturze – 20°C do czasu przeprowadzenia analiz. Stężenie paracetamolu w osoczu krwi oznaczono metodą opisaną przez Routh i wsp. (29). Czulość metody (limit detekcji) wynosił 0,20 µg/ml.

Wielkość parametrów farmakokinetycznych paracetamolu oznaczono metodą niekompartmentową przy wykorzystaniu programu TopFit 2.0.

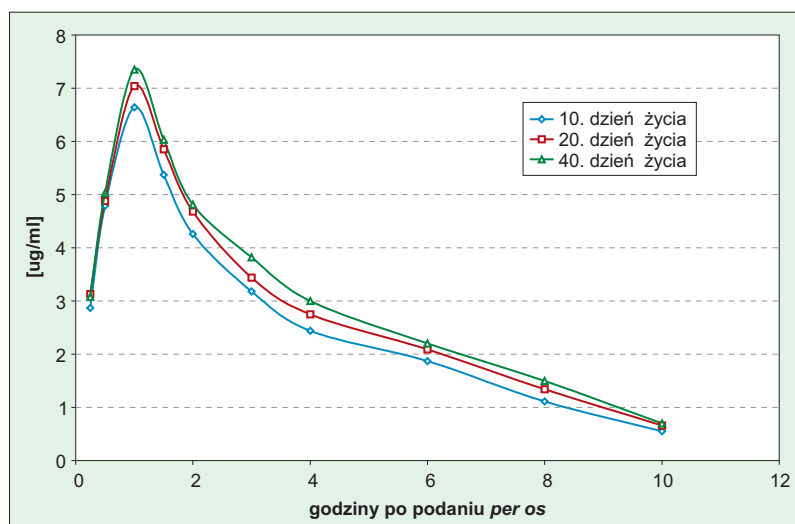
Wyliczono następujące parametry farmakokinetyczne: stężenie maksymalne – C_{max} (µg/ml); czas osiągnięcia stężenia maksymalnego – T_{max} (min.); objętość dystrybucji – V_d (l); względną objętość dystrybucji – V_d (l/kg); średni czas przebywania w organizmie – MRT (min.); okres półtrwania $t_{1/2\beta}$ (min.); klirens metaboliczny – Cl_m (ml/min.); względny klirens metaboliczny – Cl_m (ml/min./kg); pole powierzchni pod krzywą – AUC (µg × h × ml⁻¹).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie wykorzystując program Statistica v. 6.0. Przy pomocy jednoczynnikowej analizy wariancji i testu Duncana oceniono istotność różnic wielkości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u 10-, 20- i 40-dniowych cieląt.

Wyniki i omówienie

Wielkości analizowanych parametrów farmakokinetycznych paracetamolu ulegały istotnym zmianom wraz z wiekiem cieląt (tab. 1).

Stężenie maksymalne paracetamolu – C_{max} – po podaniu *per os* wzrastało wraz z wiekiem cieląt (ryc. 2), przy czym różnice między 10. a 40. dniem życia były statystycznie istotne. Zaobserwowano również istotne skracanie się czasu osiągnięcia stężenia maksymalnego paracetamolu – T_{max} – wraz z wiekiem badanych zwierząt. Objętość dystrybucji paracetamolu uległa w badanym okresie istotnemu zwiększeniu.



Ryc. 2. Stężenie paracetamolu w osoczu krwi 10-, 20- i 40-dniowych cieląt

szczeniu. Odmienne kształtowały się wielkości współczynnika dystrybucji paracetamolu, istotnie malejąc wraz z wiekiem cieląt. Średni czas przebywania paracetamolu w organizmie (MRT) ulegał istotnemu skróceniu wraz z wiekiem badanych zwierząt. Podobne zjawisko stwierdzono w przypadku okresu półtrwania paracetamolu ($t_{1/2\beta}$).

Odzwierciedleniem zmian MRT oraz $t_{1/2\beta}$ były zmiany wielkości metabolicznego klirensu paracetamolu. Zaobserwowano statystycznie istotne zwiększenie (zarówno bezwzględnych, jak i względnych) wartości tego parametru farmakokinetycznego wraz z wiekiem badanych zwierząt. Wielkość pola powierzchni pod krzywą ulegała istotnemu zmniejszeniu wraz z wiekiem badanych cieląt (ryc. 2).

Interpretacja uzyskanych w niniejszym doświadczeniu wyników jest stosunkowo trudna, ze względu na istnienie znaczących różnic międzygatunkowych w farmakokinetyce paracetamolu (2, 4, 9, 17, 23, 25, 26), dlatego też rezultaty przeprowadzonych badań skonfrontowano głównie z danymi uzyskanymi u ludzi i zwierząt laboratoryjnych. Procesy wchłaniania, dystrybucji, biotransformacji i wydalania leków, zarówno u ludzi, jak i zwierząt, w okresie neonatalnym przebiegają w odmienny sposób niż u osobników dorosłych (17, 18). Na odmienną farmakokinetykę leków u młodych zwierząt 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 przewodu pokarmowego, czas opróżniania żołądka, czas transportu jelitowego oraz przepuszczalność błon komórkowych (7, 17).

Wyniki niniejszych badań wskazują, iż podany *per os* paracetamol jest szybko wchłaniany z przewodu pokarmowego cieląt. W przeprowadzonym doświadczeniu zaobserwowano istotne zmniejszanie się współczynnika dystrybucji paracetamolu wraz z wiekiem

badanych zwierząt, należy jednocześnie podkreślić, iż towarzyszyło temu istotne zwiększenie bezwzględnej objętości dystrybucji tego leku modelowego. Wykazano, że objętość dystrybucji zależy m.in. od wielkości wiązania leku z białkami osocza – szczególnie albuminami (5, 12). Niskie stężenie albumin w osoczu krwi u zwierząt w okresie neonatalnym – lek związany z białkami jest nieaktywny farmakologicznie – powoduje zwiększenie objętości dystrybucji i frakcji ulegającej filtracji w kłębkach nerkowych (15). Wykazano także, że białka wiążące leki charakteryzują się w okresie neonatalnym mniejszą ilością miejsc receptorowych i mniejszą efektywnością tych miejsc (11, 18). Obniżanie się ($V_d - l/kg$) i zwiększanie ($V_d - l$) paracetamolu zaobserwowano u ludzi (4, 5, 16). Uzyskane wyniki są zbliżone do rezultatów badań przeprowadzonych u prosiąt (26). Nieco niższe względne wartości objętości dystrybucji paracetamolu zaobserwowano u młodych królików (23), natomiast zdecydowanie wyższe (przekraczające 1000 ml/kg) – u wielbłądów (2). Zmniejszanie się wielkości ($V_d - l/kg$) oraz zwiększanie ($V_d - l$) zaobserwowano także w przypadku innych leków modelowych: antypiryny (11).

W wielu badaniach wykazano, że młode osobniki, zarówno ludzkie, jak i zwierzęce mają zmniejszoną wydolność metaboliczną wątroby (18, 19, 31). Efektem tego jest mniejsza szybkość utleniania, redukcji, hydrolizy, hydroksylacji i sprzęgania wielu środków farmakologicznych (11, 18, 19) oraz mniejszy klirens leków w porównaniu z osobnikami dorosłymi (11, 19). Niewielką aktywność enzymów katalizujących reakcje biotransformacji w okresie neonatalnym tłumaczy się m.in. niską zawartością fosfolipidów w błonie mikrosomalnej (28). Wzrost ich (enzymów) aktywności w czasie rozwoju organizmu związana jest z różnicowaniem siateczki śródplazmatycznej, nasiloną syntezą cytochromu P450 (19) oraz zmianami w strukturze fosfolipidów, m.in. znacznego zwiększenia ilości fosfatydylocholiny, niezbędnej do ujawnienia się pełnej aktywności metabolicznej układu MFO – P450 (28). Należy jednak podkreślić, iż enzymy metabolizujące leki w wątrobie stosunkowo szybko osiągają aktywność porównywalną do osobników dorosłych (18, 19).

Wielkości okresu półtrwania paracetamolu oraz średni czas przebywania w organizmie ulegały istotnemu skróceniu między 10. a 40. dniem życia cieląt. Wartości okazały się zbliżone do wyników badań Monshowera i wsp. (25, 26); zdecydowanie krótszy $t_{0,5}$ i MRT zaobserwowali natomiast Ali i wsp. (2) u wielbłądów oraz McNamara i wsp. (23) u królików.

Zarówno bezwzględne, jak i względne wielkości metabolicznego klirensu paracetamolu (Cl_M) ulegały istotnemu zwiększeniu wraz z wiekiem badanych cieląt. Zjawisko takie zaobserwowano u tych zwierząt również odnośnie do antypiryny (11). Uzyskane w ni-

niejszym doświadczeniu wartości są nieco niższe od obserwowanych u prosiąt (25, 26). Wielkości Cl_M przekraczające 10 ml/min./kg zaobserwowano u młodych królików (23), natomiast przekraczające 50 ml/min./kg u wielbłądów (2).

Podsumowując, rezultaty przeprowadzonych badań świadczą pośrednio o zwiększaniu się wraz z wiekiem cieląt, aktywności enzymów katalizujących biotransformację paracetamolu. Zjawisko takie zaobserwowano również u ludzi i zwierząt laboratoryjnych, przy czym w zależności od gatunku, przyspieszeniu ulegały głównie reakcje glukuronidacji lub sulfatacji paracetamolu (1, 2, 14, 17).

Piśmiennictwo

- Adzu B., Garba M., Haruna A., Maman M., Wambebe C., Gamaniel K.: Effect of nprisan on single oral dose pharmacokinetics of paracetamol in rats. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 2001, 26, 201-204.
- Ali B. H., Cheng Z., Hadrami G., Bashir A. K., McKellar Q. A.: Comparative pharmacokinetics of paracetamol (acetaminophen) and its sulphate and glucuronide metabolites in desert camels and goats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1996, 19, 238-244.
- Allegaert K., Van der Marel C. D., Debeer A., Phuij M. A., Van Lingen R. A., Vanhole C., Tibboel D., Devlieger H.: Pharmacokinetics of single dose intravenous paracetamol in neonates effect of gestational age. *Arch. Dis. Childhood.* 2004, 89, 25-28.
- Allegaert K., Verbesselt R., Devlieger H., de Hoon J., Tibboel D.: Cerebrospinal fluid pharmacokinetics of paracetamol after intravenous injection in a former preterm infant. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2004, 57, 224-225.
- Al-Obaidy S. S., Li W., McKiernan P. J., Glasgow J. F. T., Millership J.: Paracetamol and its metabolites in urine, plasma and saliva of children with liver disease. *J. Biomed. Pharm. Anal.* 1995, 24, 1033-1039.
- Anderson B. J., Holford N. H., Woollard G. A., Kanaga sundaram S., Mahadevan M.: Perioperative pharmacodynamics of acetaminophen analgesia in children. *Anesthesiology.* 1999, 90, 411-421.
- Anderson B. J., Woollard G. A., Holford N. H.: A model for size and age changes in the pharmacokinetics of paracetamol in neonates, infants and children. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000, 50, 125-134.
- Anderson B.: Acetaminophen analgesia in infants. *Anesth. Analg.* 2001, 93, 1626-1627.
- Baillie M. B., Federowicz D. A., Dolce K., Kahn C., Mico B. A., Landi M. S.: Pharmacokinetics of acetaminophen, vancomycin and antipyrine in the Hanford miniature swine. *Drug. Metab. Disp.* 1987, 15, 729-730.
- Bannwarth B., Pehourcq F., Lagrange F., Matoga M., Maury S., Palisson M., Bars M.: Single and multiple dose pharmacokinetic of acetaminophen (paracetamol). *J. Rheumatol.* 2001, 28, 182-184.
- De Backer P., Belpaire F. M., Bogaert M. G., Debackere M.: Pharmacokinetics of sulfamerazine and antipyrine in neonatal and young lambs. *Am. J. Vet. Res.* 1992, 43, 1744-1751.
- Dominguez A., Medine R., Hurtado M.: Bioequivalence study of paracetamol tablets: in vitro – in vivo correlation. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 2000, 26, 821-828.
- Drozdziak M., Kwiatkowski A., Wójcicki J., Gawrońska-Szklarz B.: Effect of mestranol on pharmacokinetics of paracetamol. *Acta Pol. Pharm.* 1994, 51, 175-178.
- Flouvat B., Leneveu A., Fitoussi S., Delhotal-Landes B., Gendron A.: Bioequivalence study comparing a new paracetamol solution for injection and paracetamol after single intravenous infusion in healthy subjects. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2004, 42, 50-57.
- Garcia-Lopez P., Perez-Urizar J., Madrazo I., Guizar-Sahagun G., Castaneda-Hernandez G.: Oral paracetamol bioavailability in rats subjected to experimental spinal cord injury. *Biopharm. Drug. Dispos.* 1997, 18, 203-211.
- Hahn T. W., Henneberg S. W., Holm-Knudsen R. J., Eriksen K., Rasmussen S. N., Rasmussen M.: Pharmacokinetic of rectal paracetamol after repeated dosing in children. *Br. J. Anaesth.* 2000, 85, 512-519.
- 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.
- Kawalek J. C., El-Said K. R.: Maturational development of drug metabolizing enzymes in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 1990, 51, 2044-2050.
- Kearns G. L., Reed M. D.: Clinical pharmacokinetics in infants and children, a reappraisal. *Clin. Pharmacokinet.* 1999, 17, 29-52.
- Li X. D., Xia S. Q., He P., Han J., Wu M. C.: Conjugation metabolism of acetaminophen and bilirubin in extrahepatic tissues of rats. *Life Sci.* 2004, 74, 1307-1315.
- Łoniewski I., Drozdziak M., Wójcicki M., Gawrońska-Szklarz B., Wójcicki J., Lokociejewski J.: Effects of the hormonal replacement therapy on pharmacokinetics of paracetamol and phenazone in women after bilateral ovariectomy. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 1998, 50, 173.
- Łoniewski I., Sawrymowicz M., Pawlik A., Wójcicki J., Drozdziak M.: Lack of effect of physical exercise on pharmacokinetics of acetaminophen tablets in healthy subjects. *Acta Pol. Pharm.* 2001, 58, 141-144.
- McNamara P. J., Burgio D., Yoo S. D.: Pharmacokinetics of acetaminophen, antipyrine and salicylic acid in the lactating and nursing rabbit, with model predictions of milk to serum concentration ratios and neonatal dose. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999, 109, 149-160.
- Meyer M. C., Straughn A. B., Mhatre R. M., Hussain A., Shah V. P., Bottom C. B., Cole E. T., Lesko L. L., Malinowski H., Williams R. L.: The effect of gelatin cross-linking on the bioequivalence of hard and soft acetaminophen capsules. *Pharm. Res.* 2000, 17, 962-966.
- Monshouwer M., Witkamp R. F., Pijpers A., Verheijden J. H. M., van Miert A. S. J. P. A. M.: Dose-dependent pharmacokinetic interaction between antipyrine and paracetamol in vivo and in vitro when administered as a cocktail in pig. *Xenobiotica.* 1994, 24, 347-355.
- Monshouwer M., Witkamp R. F., Nijmeijer S. M., Pijpers A., Verheijden J. H. M., van Miert A. S. J. P. A. M.: Selective effects of bacterial infection on the hepatic clearances of caffeine, antipyrine, paracetamol and indocyanine green in the pig. *Xenobiotica.* 1995, 25, 491-499.
- Muir N., Nichols J. D., Stillings M. R., Sykes S.: Comparative bioavailability of aspirin and paracetamol following single dose administration of soluble and plain tablets. *Curr. Med. Res. Opin.* 1997, 13, 491-500.
- Plewka A., Zielińska-Psujka B., Kowalówka-Zawieja J., Nowaczyk-Dura G., Plewka D., Wiaderekiewicz A., Kamiński M., Orłowski J.: Influence of acetaminophen and trichloroethylene on liver cytochrome P450-dependent monooxygenase system. *Acta Bioch. Pol.* 2000, 47, 1129-1136.
- Routh J. J., Shane N. A., Arredonde E. G., Paul W. D.: Determination of N-acetyl-p-aminophenol in plasma. *Clin. Chem.* 1968, 9, 882-889.
- Rygnestad T., Zahlsen K., Samdal F. A.: Absorption of effervescent paracetamol tablets relative to ordinary paracetamol tablets in healthy tablets in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2000, 56, 141-143.
- Sawada T., Sako K., Fukui M., Johohama S., Hayashi M.: A new index the bioavailability of acetaminophen. *Int. J. Pharm.* 2003, 265, 55-63.
- Stangier J., Su C. A., Fraunhofer A., Tetzloff W.: Pharmacokinetics of acetaminophen and ibuprofen when coadministered telmisartan in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* 2000, 40, 1338-1446.
- Zielińska E.: Paracetamol, [w:] H. Adamska-Dyniewska (red.), *Terapia monitorowana*, DWN, Łódź 1994, 269-276.

Adres autora: dr inż. Beata Grochowina, ul. Orłąt Lwowskich 20, 71-337 Szczecin; e-mail: B.Grochowina@biot.ar.szczecin.pl