



Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Agnieszka Kamińska

**Wpływ cukrzycy na parametry farmakokinetyczne
paracetamolu po podaniu dożylnym**

Promotor

Dr hab. n. farm. Edmund Grześkowiak, Prof. UM

Poznań 2010

Słowa kluczowe:

- paracetamol,
- cukrzyca,
- chronobiologia,
- farmakokinetyka.

Praca przedstawiona
Radzie Wydziału Farmaceutycznego
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
celem uzyskania stopnia
doktora nauk farmaceutycznych
przez
Agnieszkę Kamińską

**Praca wykonana w Katedrze i Zakładzie Farmacji Klinicznej i Biofarmacji
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu**

przy współpracy
Zakładu Farmakologii Klinicznej Katedry Kardiologii
oraz
Zakładu Dydaktyki Anestezjologii i Intensywnej Terapii
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Serdecznie dziękuję

*Panu Prof. dr hab. **Edmundowi Grześkowiakowi** za stałe zainteresowanie przebiegiem pracy, życzliwą pomoc oraz cenne uwagi i opiekę promotorską.*

*Pani dr n. farm. **Edycie Szalek** za wskazanie możliwości rozwoju naukowego, zaangażowanie i poświęcony czas, nieocenioną pomoc, a także rady i wskazówki.*

*Pani dr n. farm. **Agnieszce Bienert** za pomoc w wyborze interesującej tematyki pracy badawczej, życzliwą pomoc oraz konsultacje w trakcie jej wykonywania.*

*Panu dr n. med. **Janowi Olszewskiemu** za pomoc w realizacji doświadczalnej części pracy, życzliwość i cenne wskazówki w trakcie wykonywania pracy.*

*Panu dr n. med. **Włodzimierzowi Płotkowi** za pomoc w realizacji doświadczalnej części pracy, zaangażowanie oraz miłą współpracę.*

*Pani dr n. farm. **Hannie Gracz** za motywację do podejmowania aktywności naukowej, zaangażowanie oraz życzliwość.*

*Pani mgr **Krystynie Frąckowiak**, Pani dr **Hannie Urjasz** oraz **Pracownikom Katedry i Zakładu Farmacji Klinicznej i Biofarmacji Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu** za pomoc w realizacji doświadczalnej części pracy.*

*Rodzicom oraz Grzegorzowi
poświęcam.
Marzence
dziękuję za wsparcie i wyrozumiałość.*

Spis treści

Zastosowane skróty	9
I. Wstęp i cel pracy	11
II. Część teoretyczna	13
1. Paracetamol	13
1.1. Budowa i właściwości fizyko-chemiczne	13
1.2. Mechanizm działania farmakologicznego	14
1.3. Farmakokinetyka paracetamolu	17
1.3.1. Absorpcja	17
1.3.2. Dystrybucja	18
1.3.3. Metabolizm i wydalanie	20
1.4. Działania niepożądane	22
1.5. Interakcje	25
III. Materiał i metody	31
1. Metodyka oznaczania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu	32
1.1. Aparatura i odczynniki	32
1.1.1. Chromatograf cieczowy – części składowe i warunki pracy	32
1.1.2. Parametry pracy autosamplera	33
1.1.3. Odczynniki	33
1.2. Przygotowanie roztworów wzorcowych	34
1.3. Walidacja metody oznaczania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu i cieczy wodnistej oka u królików	35
1.3.1. Selektywność	36
1.3.2. Liniowość	36
1.3.3. Precyzja i dokładność	38
1.3.3.1. Precyzja	38
1.3.3.2. Dokładność	41
1.3.4. Granica detekcji i oznaczalności	43
1.3.4.1. Granica detekcji	43
1.3.4.2. Dolna granica oznaczalności	43
1.3.5. Stabilność	44
1.3.5.1. Test zamrażania i rozmrażania	44

1.3.6.	Próby kontroli jakości	45
1.4.	Metodyka obliczeń farmakokinetycznych	46
1.5.	Metody statystyczne	48
2.	Wyniki	48
2.1.	Parametry biochemiczne	48
2.2.	Stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu	49
2.2.1.	Stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu królików zdrowych oraz z doświadczalnie wywołaną cukrzycą	49
2.2.2.	Stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików w analizie chronofarmakokinetycznej	49
2.3.	Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu	49
2.3.1.	Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu królików zdrowych oraz z doświadczalnie wywołaną cukrzycą	49
2.3.2.	Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików w analizie chronofarmakokinetycznej	50
2.4.	Przenikanie paracetamolu i glukuronianu paracetamolu do cieczy wodnistej oka	50
2.5.	Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w cieczy wodnistej oka	50
IV.	Ryciny	51
V.	Tabele i wykresy	58
VI.	Dyskusja	122
VII.	Wnioski	134
VIII.	Streszczenie	135
IX.	Summary	137
X.	Piśmiennictwo	139

Zastosowane skróty

AlAT	–	aminotransferaza alaninowa
AM404	–	<i>N</i> -arachidonoilofenolamina
AMT	–	błonowy transporter anandaminy
AspAT	–	aminotransferaza asparaginianowa
AUC	–	pole powierzchni pod krzywą stężenie – czas
AUMC	–	pole powierzchni pod pierwszym momentem krzywej
CB1	–	podtyp 1 receptora kanabinoidowego
C_{par}	–	stężenie paracetamolu
C_{met}	–	stężenie glukuronianu paracetamolu
C_{max}	–	stężenie maksymalne
Cl	–	klirens leku
COX-1	–	cyklooksygenaza – 1
COX-2	–	cyklooksygenaza - 2
CV%	–	współczynnik zmienności
CYP450	–	cytochrom z rodziny P-450
CZX	–	chlorzoksazon
F	–	biodostępność leku
FAAH	–	hydrolaza amidowa kwasów tłuszczowych
GH	–	hormonu wzrostu
Hba1C	–	hemoglobina glikowana
IS	–	istotne statystycznie
<i>i.v.</i>	–	podanie dożylnie
k_{el}	–	stała terminalnej fazy eliminacji
LOD	–	granica detekcji
LLOQ	–	dolna granica oznaczalności
m.c.	–	masa ciała
mRNA	–	informacyjny kwas rybonukleinowy
MRT	–	średni czas przebywania leku w organizmie
NAPQI	–	<i>N</i> -acetylo- <i>p</i> -benzochinonoimina
NLPZ	–	niesteroidowe leki przeciwzapalne
PAS	–	<i>p</i> -aminosalicylan sodu
<i>p.o.</i>	–	podanie doustne

S	–	wartość średnia
SD	–	odchylenie standardowe
t	–	czas
$t_{0,5}$	–	biologiczny okres półtrwania leku
t_{\max}	–	czas, po którym osiągnane jest stężenie maksymalne
TRPV1	–	receptor waniloidowy typu 1
QC	–	próby kontrolne
V_d	–	objętość dystrybucji
Δ'	–	współczynnik dystrybucji
5-FU	–	5-fluorouracyl

Paracetamol w postaci dożylniej (*Perfalgan*®) został wprowadzony do lecznictwa w 2004 roku w celu leczenia bólu o umiarkowanym nasileniu, zwłaszcza w okresie pooperacyjnym. W ostatnich latach, w wielu badaniach klinicznych potwierdzono bezpieczeństwo i skuteczność dożylniej postaci leku, stąd jego coraz szersze zastosowanie [1, 2, 3, 4].

Paracetamol jest metabolizowany w wątrobie do nieaktywnych pochodnych glukuronianowych i siarczanowych, natomiast mniej niż 5% dawki ulega przemianie przy udziale izoenzymu CYP2E1 do toksycznego metabolitu, tj. N-acetylo-p-benzochinoiminy (NAPQI). Wiadomo, iż indukcja CYP2E1 przez np. etanol, czy izoniazyd [5] nasila toksyczność paracetamolu. Wzrost aktywności CYP2E1 w cukrzycy może rzutować na farmakokinetykę leków, które są metabolizowane przez ten izoenzym, co zostało potwierdzone w przypadku teofiliny. U pacjentów z cukrzycą dochodzi również do zwiększenia przepuszczalności bariery krew – oko [6, 7], dlatego dodatkowym aspektem przeprowadzonych badań była ocena stopnia transportu paracetamolu i glukuronianu paracetamolu do cieczy wodnistej komory gałki ocznej. W cukrzycy może dochodzić do zmian dynamiki przepływu krwi przez gałkę oczną [6, 7]. Zmiany te wpływają na transport leku i jego metabolitów do cieczy wodnistej oka. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa można zatem spodziewać się zmian w farmakokinetyce paracetamolu u pacjentów chorych na cukrzycę, co nie zostało dotąd wyjaśnione. Jest to bardzo istotne dla leczenia pooperacyjnego, gdzie paracetamol podawany jest dożylnie, w powtarzanych co 6 godzin dawkach. Projektowane badania pozwoliłyby na wnioskowanie o zmianach metabolizmu paracetamolu w cukrzycy u ludzi.

W ostatnich latach obserwuje także się rosnące zainteresowanie chronobiologią i wpływem rytmów dobowych na działanie leków. Ma to niewątpliwie znaczenie dla leków stosowanych przez dłuższy czas szczególnie na oddziałach intensywnej terapii. Dla każdego preparatu istotne jest, czy jego dawka powinna być korygowana w zależności od godziny podania. Można w ten sposób zwiększyć skuteczność i zmniejszyć toksyczność leku.

Dotychczas nie wykazano dobowej zmienności efektywności przeciwbólowego działania *Perfalganu*®. Wykazano natomiast dobową zmienność w procesach glukuronidacji i sulfatacji leków. Nieliczne literaturowe dane dotyczące chronofarmakokinetyki paracetamolu są jednak niejednoznaczne. Belanger i wsp. wykazali wydłużenie $t_{0,5}$ paracetamolu u szczurów w fazie ich aktywności, w porównaniu do fazy spoczynku [8]. Kolawole i wsp. zauważyli podobne tendencje po podaniu doustnym paracetamolu zdrowym

ochotnikom nie wykazując jednak różnic istotnych statystycznie [9]. Chronofarmakokinetyka i chronofarmakodynamika acetaminofenu wymaga dalszych badań i są one istotne w aspekcie coraz szerszego zastosowania tego leku w okresie okołoperacyjnym.

Celem pracy była ocena wpływu doświadczalnie wywołanej cukrzycy na parametry farmakokinetyczne paracetamolu i jego pochodnej glukuronianowej u królików oraz określenie możliwości przenikania paracetamolu i jego metabolitu do cieczy wodnistej oka zwierząt doświadczalnych.

Dodatkowym aspektem pracy była ocena wpływu rytmów dobowych na farmakokinetykę paracetamolu u królików.

1. Paracetamol

Paracetamol (acetaminofen) jest popularnym i szeroko stosowanym w farmakoterapii lekiem przeciwbólowym i przeciwgorączkowym.

W 1878 r. Mors'a przeprowadził po raz pierwszy udany proces syntezy paracetamolu, natomiast jego pierwsze zastosowanie kliniczne miało miejsce w roku 1887 [10].

W 1948 r. Brodie i Axelrod wykazali, że metabolitem odpowiedzialnym za przeciwbólowe działanie fenacetyny jest paracetamol, jednak dopiero w 1950 roku przemysł farmaceutyczny w Wielkiej Brytanii wprowadził do leczenia 500 mg tabletki o nazwie *Panadol*® [11, 12].

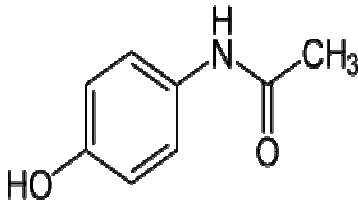
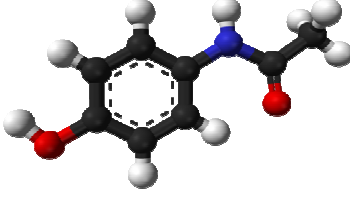
Od 1985 roku na rynku farmaceutycznym dostępny jest pro-lek paracetamolu w formie iniekcji o nazwie propacetamol (*Prodafalgan*®), który po podaniu dożylnym pod wpływem osoczowych estراز ulega reakcji hydrolizy do paracetamolu i dietyloglicyny [13, 14, 15, 16].

W kwietniu 2004 roku wprowadzono do leczenia paracetamol do podania dożylnego w postaci wodnego roztworu (*Perfalgan*®). Analiza parametrów farmakokinetycznych związanych z dostępnością biologiczną tego leku, tj. pola pod krzywą stężenie-czas (AUC) oraz maksymalnego stężenia leku w osoczu (C_{max}) dla obu formułacji dożylnych wykazała, że paracetamol *i.v.* 1000 mg jest biorównoważny z 2000 mg propacetamolu. Po wprowadzeniu paracetamolu dożylnego drugiej generacji, pro-lek został wycofany z leczenia [17, 18].

1.1. Budowa i właściwości fizykochemiczne

Tabela 1. Charakterystyka i właściwości fizykochemiczne paracetamolu [19, 20, 21, 22].

Charakterystyka i właściwości fizykochemiczne	
Nazwa systematyczna	N-(4-hydroksyfenylo)acetamid
Nazwa chemiczna	acetaminofen
Nazwa handlowa	<i>Perfalgan</i> ®

Wzór strukturalny	 
Wzór półstrukturalny	HO-C ₆ H ₄ -NH-CO-CH ₃
Wzór sumaryczny	C ₈ H ₉ NO ₂
Masa cząsteczkowa	151,16 g/mol
Gęstość	1,263 g/cm ³
Temperatura topnienia	168-172°C
Rozpuszczalność	<ul style="list-style-type: none"> ▪ łatwo rozpuszcza się w etanolu (760 g/l), ▪ dość trudno rozpuszcza się w wodzie (1,4 g/100 ml w 20°C), ▪ praktycznie nie rozpuszcza się w eterze etylowym.
Postać farmaceutyczna	bezzapachowy, biały, krystaliczny proszek
pH	pH roztworu substancji o stężeniu 20 mg/ml wynosi 5,5 – 6,5
Kwasowość pKa	9,38
Substancje pomocnicze	mannitol, cysteiny chlorowodorek jednowodny, disodu fosforan dwuwodny, wodorotlenek sodu/kwas solny, woda do wstrzykiwań
Klasyfikacja ATC	N 02 BE 01

1.2. Mechanizm działania farmakologicznego

Paracetamol stosowany w zalecanych dawkach jest skutecznym lekiem przeciwbólowym w bólach o małym i średnim natężeniu oraz dobrym środkiem przeciwgorączkowym.

Mimo, że od momentu syntezy paracetamolu minęło już ponad 130 lat mechanizm jego działania wciąż pozostaje nie do końca wyjaśniony [10, 23, 24]. Wiele jednak wskazuje na to, że działanie analgetyczne związane jest z ośrodkowym i obwodowym hamowaniem syntezy prostaglandyn [25], głównie przez hamowanie cyklooksygenazy prostaglandynowej,

podobnie do działania, jakie wykazują niesteroidowe leki przeciwzapalne (np. kwas acetylosalicylowy, ibuprofen, diklofenak). Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) oprócz hamowania produkcji prostaglandyn, wpływają również na produkcję tromboksanu (TXA₂) [26]. W odróżnieniu od tych leków, paracetamol nie hamuje syntezy prostaglandyn w tkankach obwodowych, co wpływa na brak działania przeciwzapalnego leku [27]. Mechanizmy działania paracetamolu i niesteroidowych leków przeciwzapalnych pod tym względem są różne, dlatego istnieje pogląd, że ich jednoczesne podanie może mieć efekt sumaryczny. Połączenie paracetamolu (1500 mg) z diklofenakiem (100 mg) umożliwia zredukowanie zapotrzebowania na morfinę u pacjentek po operacjach ginekologicznych [14].

Acetaminofen jest słabym inhibitorem obwodowej syntezy prostaglandyn, a efekt przeciwbólowy najprawdopodobniej powiązany jest z hamowaniem centralnie zlokalizowanych izoform cyklooksygenazy [14].

Badania *in vitro* wykazały, że paracetamol jest słabym inhibitorem COX-1 i COX-2, natomiast silnie hamuje COX-3. Izofорма COX-3 jest najprawdopodobniej odmianą COX-1, powstającą w wyniku potranskrypcyjnej modyfikacji mRNA. Doniesienia literaturowe podają, że paracetamol słabo i niespecyficznie hamuje COX-3 [28, 29].

Istnieją prace wskazujące, iż za powstawanie efektu antynocyceptywnego paracetamolu, odpowiadają receptory 5-HT₃ [26]. Alloui i wsp. przeprowadzili badanie na szczurach, którym podawano karageninę w celu wywołania bólu kolerowanego ze stanem zapalnym. Nie zaobserwowano efektu przeciwzapalnego paracetamolu, natomiast wykazano centralny efekt antynocyceptywny z udziałem receptorów 5-HT₃ [30].

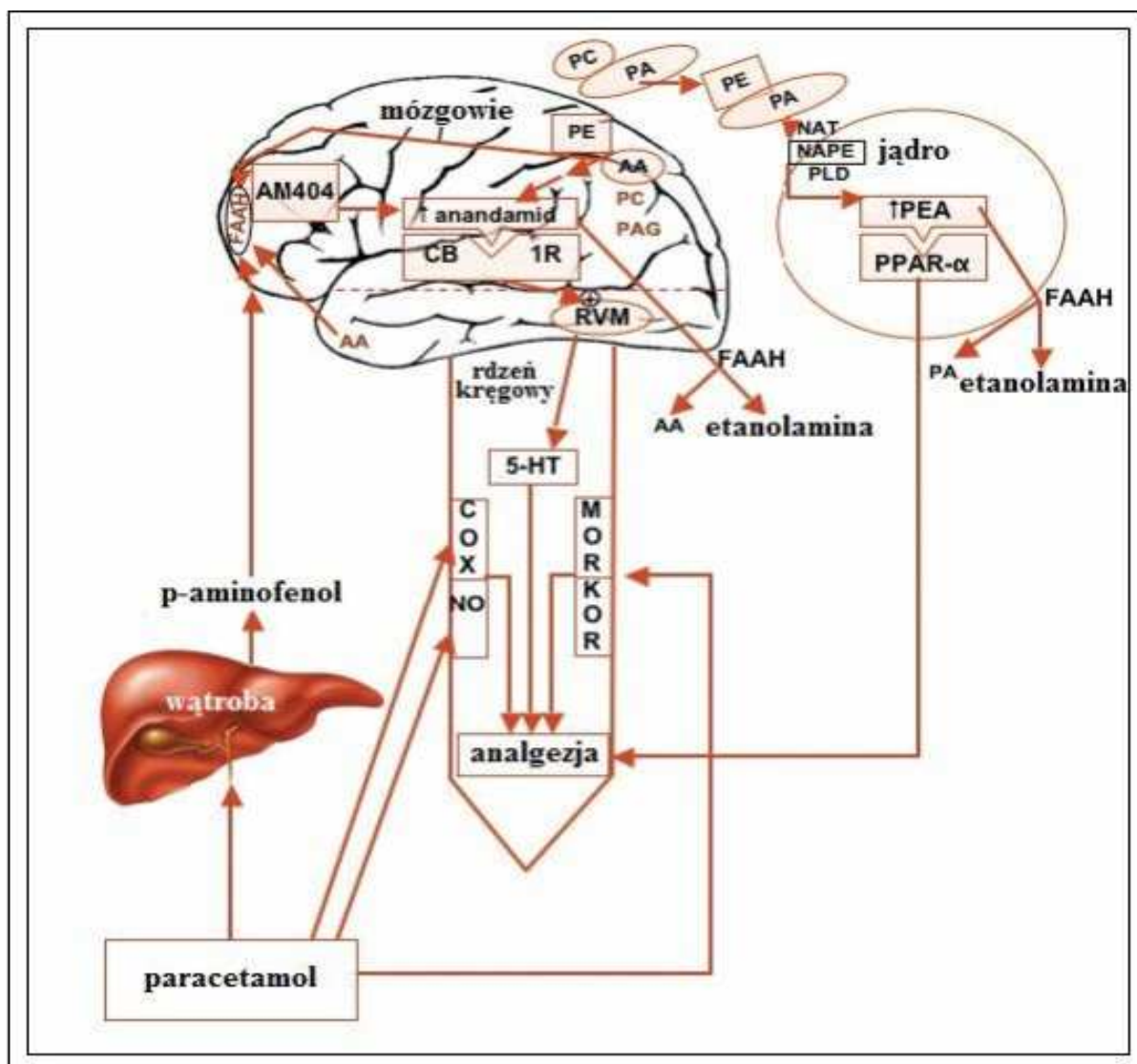
Inne proponowane mechanizmy działania zakładają inhibicję tlenu azotu poprzez działanie substancji P lub N-metylo-D-aspartatu (NMDA) oraz działanie aktywnych metabolitów paracetamolu na układ kanabinoidowy [14].

Endogenne kanabinoidy oddziałując z receptorami kanabinoidowymi wykazują efekt przeciwbólowy w bólu ostrym oraz przewlekłym, a także regulują próg odczuwania bólu [31, 32]. Amid N-arachidonofenyloaminy kwasu tłuszczowego (AM404) zwiększa aktywność układu kanabinoidowego poprzez działanie na receptory CB₁ a w efekcie zmniejsza natężenie bólu [24, 33, 34, 35].

Bertolini i wsp. [12] w swoich badaniach wykazali również, że wcześniejsze podanie antagonistów receptora CB₁ całkowicie zablokowało jego aktywność oraz, co istotne, całkowicie zniwelowało przeciwbólowe działanie paracetamolu. Amid N-arachidonofenyloaminy kwasu tłuszczowego w zależności od stężenia może wykazywać

działanie hamujące w stosunku do enzymów COX-1 i COX-2. Potencjalny mechanizm efektu przeciwbólowego paracetamolu przedstawia rycina 1 [36].

Rycina 1. Potencjalny mechanizm efektu przeciwbólowego paracetamolu [36].



- AA - kwas arachidonowy
- PA - kwas palmitynowy
- CB1R - receptor kanabinoidowy 1
- PAG - istota szara okołowodociągowa
- COX - cyklooksygenaza
- PC - fosfatydylocholina
- FAAH - hydrolaza amidowa kwasu tłuszczowego
- PE - fosfatydyloetanolamina
- KOR - receptor opioidowy κ
- PEA - N-(2-hydroksyetylo)amid kwasu palmitynowego
- MOR - receptor opioidowy μ
- PLD - fosfolipaza D
- NAPE - N-acylofosfatydyloetanolamina
- PPAR - α -receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów
- NAT - N-acylotransferaza
- RVM - brzuszno – dogłowa część rdzenia przedłużonego,
- NO - tlenek azotu

Paracetamol oprócz działania przeciwbólowego wykazuje efekt przeciwgorączkowy, który związany jest z hamowaniem efektów endogennych pirogenów na ośrodek regulacji temperatury w podwzgórzu.

Acetaminofen łatwo przenika do centralnego układu nerwowego, gdzie najprawdopodobniej hamuje podwzgórzową syntezę PGE₂, zachodzącą z udziałem COX-3. W licznych badaniach nie do końca potwierdzono udział izoformy COX-3 w generowaniu efektu przeciwgorączkowego paracetamolu [28, 37]. Udowodniono jednak, że izoforma COX-2 nie jest jedynym czynnikiem odpowiedzialnym za termoregulację, ponieważ paracetamol zalicza się do słabych inhibitorów tego izoenzymu, przez co nie jest możliwe zahamowanie syntezy PGE₂ tylko przez inhibicję COX-2 [28, 37].

1.3. Farmakokinetyka paracetamolu

1.3.1. Absorpcja

Paracetamol, po rozpuszczeniu w środowisku przewodu pokarmowego, jest wchłaniany na drodze dyfuzji biernej [14, 38]. Szybkość wchłaniania zależy od powierzchni kontaktu leku z błoną śluzową przewodu pokarmowego, regionalnego ukrwienia, ale nie jest zależna od stopnia zjonizowania leku i pH treści żołądkowej. Absorpcja paracetamolu jest zależna od czasu opróżniania żołądka. Ueno i wsp. wykazali, że szybkość wchłaniania paracetamolu u pacjentów po resekcji żołądka zależy od typu zabiegu, a co za tym idzie, od tzw. czasu opróżniania żołądkowego. Jeżeli czas opróżniania żołądkowego ulega wydłużeniu, odpowiednio upośledzeniu ulega szybkość wchłaniania paracetamolu [39]. Lek ten nie jest absorbowany z żołądka, jest natomiast szybko i całkowicie wchłaniany z jelita cienkiego [22].

Po doustnym podaniu dawki terapeutycznej stężenie maksymalne paracetamolu w osoczu osiągnięte jest między 30 a 90 minutą, a efekt kliniczny obserwuje się po ok. 30 minutach od momentu administracji. W obecności pokarmu, w przewodzie pokarmowym szybkość wchłaniania leku maleje. Wykazano, że po przyjęciu przez dorosłego człowieka doustnie 1 g paracetamolu na czczo absorpcja następuje pięć razy szybciej, niż po spożyciu obfitego śniadania bogatego w węglowodany [12, 38, 40].

Po podaniu doustnym paracetamol wchłaniany jest z przewodu pokarmowego w postaci niezmienionej bardzo szybko i prawie całkowicie, ale w wyniku efektu pierwszego przejścia przez wątrobę, biodostępność (F) leku wynosi 80-90%. Po podaniu 500 mg

paracetamolu dorosłym pacjentom, procent leku docierającego do krążenia ogólnego wynosi ok. 68%, a przy zastosowaniu dawki 1000-2000 mg wynosi ok. 90%. Stężenie maksymalne osiągnięte we krwi zarówno po podaniu doustnym jak i doodbytniczym zależy od dawki leku [19].

Wchłanianie acetaminofenu z postaci doodbytniczej jest niejednostajne i opóźnione. Po podaniu doodbytniczym wartości biodostępności wahają się od 24 do 98%. Wynika to z gorszego i zmiennego wchłaniania leku z odbytnicy, ale także zależy od parametrów technologicznych np. zastosowanego podłoża czopkowego [12]. Podanie 1000 mg paracetamolu (F 66%) w postaci doodbytniczej nie jest biorównoważne podaniu dwóch czopków zawierających 500 mg leku (F 77%) [14].

Po podaniu paracetamolu *i.v.* w postaci 15-minutowej infuzji maksymalne stężenie leku we krwi osiągnięte jest już po 15 minutach (koniec wlewu). Średnie wartości C_{max} dla dawki 500 mg i 1000 mg *Perfalganu*® wynoszą odpowiednio: ok. 15 $\mu\text{g/ml}$ oraz 30 $\mu\text{g/ml}$ [41].

Propacetamol w ciągu 15 minut od wstrzyknięcia ulega w ustroju hydrolizie przez esterazy osocze. Z 2000 mg pro-leku powstaje 1000 mg paracetamolu a po podaniu 1000 mg pro-leku powstaje 500 mg paracetamolu [14, 41].

1.3.2. Dystrybucja

Paracetamol jest dość dobrze rozpuszczalny w lipidach, posiada również niską masę cząsteczkową co przyczynia się do łatwego i szybkiego przenikania przez błony komórkowe. W stanie równowagi stosunek stężeń tkanka-osocze wynosi 1 z wyjątkiem tkanki tłuszczowej oraz płynu mózgowo-rdzeniowego, dla którego wartość ta wynosi 1,18 [12, 14]. Łatwo przechodzi przez barierę krew-mózg (dobrze rozmieszcza się w mózgu i w rdzeniu kręgowym) [41], wykazuje również łatwą penetrację i dystrybucję leku do tkanek oka [42]. Romanelli i wsp. wykazali, że acetaminofen posiada najwyższy stosunek stężeń tkanka-osocze w czasie 30 minut po podaniu dożylnym, w porównaniu do innych leków (tab. 2) a uzyskiwane stężenia paracetamolu są zbliżone dla osocza jak i tkanek oka [42].

Tabela 2. Wartości stosunków stężeń tkanka oka/osocze w czasie 30 min po podaniu dożylnym leku [42].

Lek	Stosunek stężeń tkanka oka/osocze po podaniu leku		
	Ciecz wodnista /osocze	Ciało szkliste /osocze	Soczewka /osocze
Acetaminofen	0,89	0,94	0,17
PAS	0,35	0,17	0,11
Chloramfenikol	0,32	0,18	0,00
Kwas salicylowy	0,12	0,07	0,04
Chinia	0,04	0,09	0,06

Stopień wiązania paracetamolu z białkami osocza u ludzi zależy od osiągniętych w osoczu stężeń leku. W przestrzeni zewnątrzkomórkowej paracetamol wiąże się z albuminami w stosunkowo niewielkim stopniu, co zależy także od obecności innych leków. Przy stężeniach leku w osoczu do 60 $\mu\text{g/ml}$ nie stwierdza się wiązania leku z białkami osocza, przy stężeniach w zakresie 60-90 $\mu\text{g/ml}$ mniej niż 5% leku jest związane z białkami osocza, natomiast przy wysokich stężeniach 90-250 $\mu\text{g/ml}$, obserwowanych np. przy przedawkowaniu paracetamolu, wiązaniu ulega od 8 do 43% leku. Erytrocyty wiążą od 10 do 20% podanej dawki paracetamolu [12].

Objętość dystrybucji paracetamolu u osób dorosłych wynosi 1,0-2,0 L/kg m.c. oraz 0,7-1,0 L/kg m.c. u dzieci. Natomiast wg. innych autorów u pacjentów dorosłych od 0,7 do 1,0 L/kg m.c. [14].

Paracetamol ma zdolność przenikania do mleka matek karmiących. Na podstawie badań stwierdzono, że stężenie paracetamolu w mleku matki zależy nie tylko od dawki leku, ale również od szybkości sekrecji mleka i wynosi średnio 6 $\mu\text{g/ml}$. Po podaniu 650 mg paracetamolu stosunek średniego stężenia leku w mleku matek karmiących do jego stężenia w surowicy wynosi 0,94. Ocenia się, że dziecko jest narażone na około 1% dawki przyjętej przez matkę. Uważa się, że karmienie piersią nie jest przeciwwskazaniem do stosowania paracetamolu przez matkę [43].

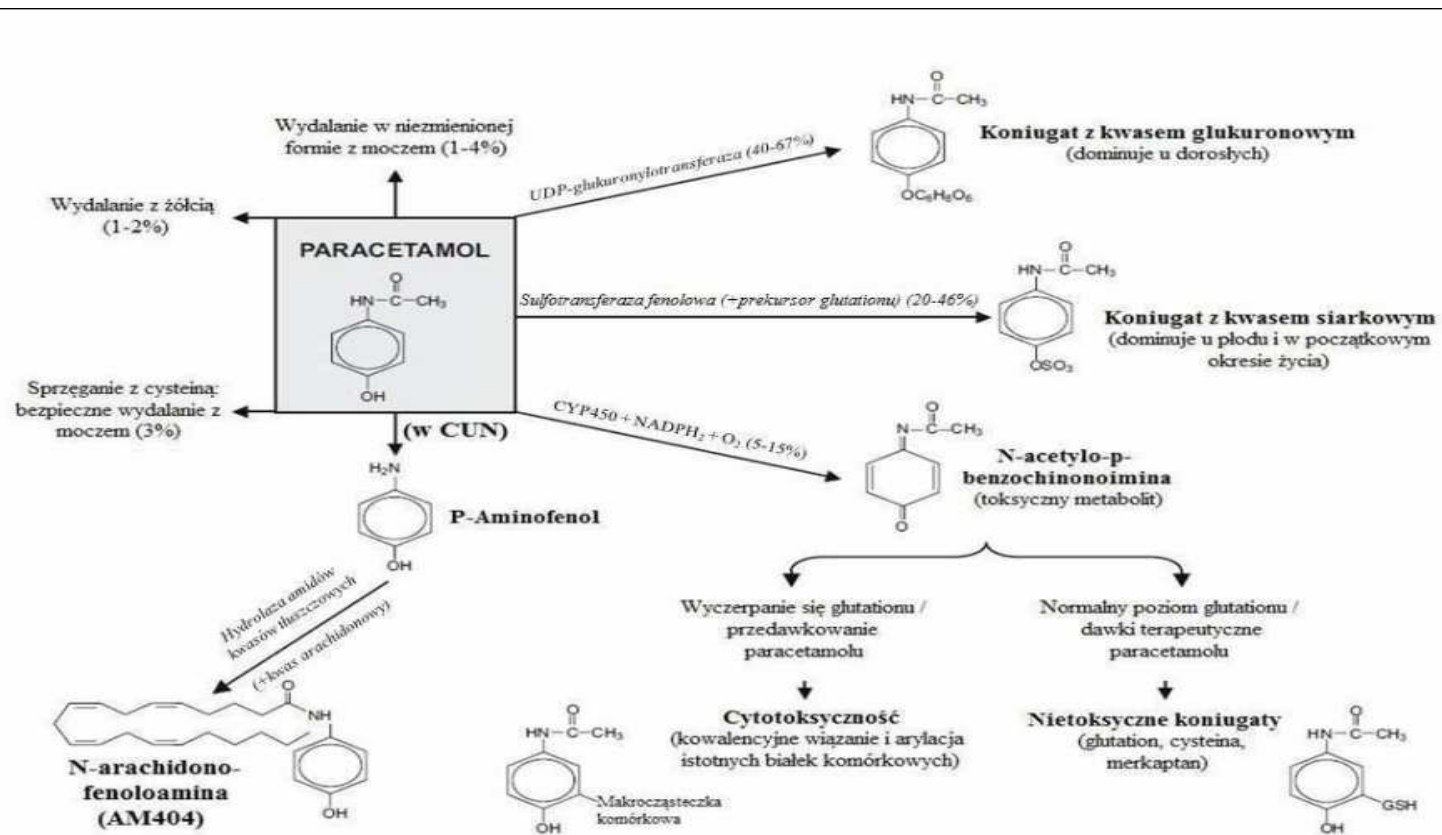
1.3.3. Metabolizm i wydalanie

Głównym miejscem biotransformacji paracetamolu jest wątroba. U osób dorosłych około 90% przyjętej dawki leku ulega sprzężeniu z kwasem glukuronowym (40–67%), siarkowym (20–46%) lub cysteiną (3%) i jest przekształcana do nieaktywnych farmakologicznie metabolitów [12, 14, 44]. Reakcje sprzężania z kwasem glukuronowym oraz siarkowym są katalizowane odpowiednio przez glukuronylotransferazę i sulfotransferazę. U wcześniaków, noworodków oraz małych dzieci większość paracetamolu ulega sprzężeniu z kwasem siarkowym. Około 5-15% paracetamolu ulega reakcji oksydacji przy udziale izoenzymów CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4 oraz CYP2A6, w wyniku której powstaje wysoce reaktywna cząsteczka tj. NAPQI [45, 46, 47]. Po podaniu dawek terapeutycznych w warunkach prawidłowych N-acetylo-p-benzochinonoimina sprzężana jest za pośrednictwem glutationu z cysteiną oraz kwasem merkapturowym i w postaci nietoksycznych związków wydalana z moczem [48]. Paracetamol ulega również deacetylacji do p-aminofenolu, który jest sprzężany z kwasem arachidonowym przy udziale hydrolazy admidowej kwasu tłuszczowego (FAAH) do N-arachidono-fenoloaminy (AM404). Powstanie AM404 jest zależne od dawki, i tak np. podanie wewnątrztrzewnowo 300 mg/kg m.c. paracetamolu indukuje w czasie 20 min. powstanie 10,3 (\pm 1,9) pmol/g AM404 w mózgu [12]. Schemat przemian metabolicznych paracetamolu przedstawia rycina 2.

Niektóre leki mogą indukować izoenzymy cytochromu P450 (w szczególności izoniazyd, leki przeciwdrgawkowe), przez co mogą zwiększać metabolizm paracetamolu. Indukcja enzymów wątrobowych może zwiększać toksyczność paracetamolu (np. u osób z chorobą alkoholową) [49], podczas gdy zmniejszony metabolizm wątrobowy może działać ochronnie (np. podczas ostrego zatrucia etanolem).

Acetaminofen wydalany jest głównie w formie metabolitów z moczem, jako glukuronian i siarczan (90-95%) oraz z żółcią, jako cysteinian i merkaptopurynian (5-10%). W postaci niezmienionej przez nerki eliminuje się ok. 1-4% dawki, co jest konsekwencją struktury chemicznej związku. U pacjentów z ciężkim uszkodzeniem wątroby wzrasta ilość leku wydalanego w postaci niezmienionej z moczem [19, 50]. Klirens nerkowy paracetamolu wynosi 13,5 L/h, natomiast jego biologiczny okres półtrwania ($t_{0,5}$) wynosi od 2 do 4 godzin [12], średnio 2,7 godziny [41].

Rycina 2. Schemat przemian metabolicznych paracetamolu [12].



Paracetamol w minimalnym stopniu jest wiązany przez białka osocza i łatwo filtrowany w kłębuszkach nerkowych. Ulega reabsorpcji w dystalnej części nefronu. Glukuroniany i siarczany są związkami bardzo polarnymi i wydalone są przez nerki w procesie filtracji kłębuszkowej oraz sekrecji kanalikowej. Probenecid (inhibitor transportu cewkowego) nie wpływa na klirens paracetamolu i jego glukuronianów, natomiast zmniejsza klirens siarczanów. Sekrecja siarczanów odbywa się w części proksymalnej nefronu, natomiast miejsce reabsorpcji glukuronianów w nefronie nie zostało jeszcze określone [51].

U pacjentów z ciężką niewydolnością nerek czas eliminacji paracetamolu oraz jego metabolitów ulega wydłużeniu. Szybkość eliminacji u tych pacjentów jest 3 razy wolniejsza w porównaniu do grupy kontrolnej.

Wykazano również, że u pacjentów poddanych zabiegom hemodializy dochodzi do skrócenia $t_{0,5}$ o 40 do 50% po zastosowaniu u nich terapeutycznych dawek paracetamolu [12].

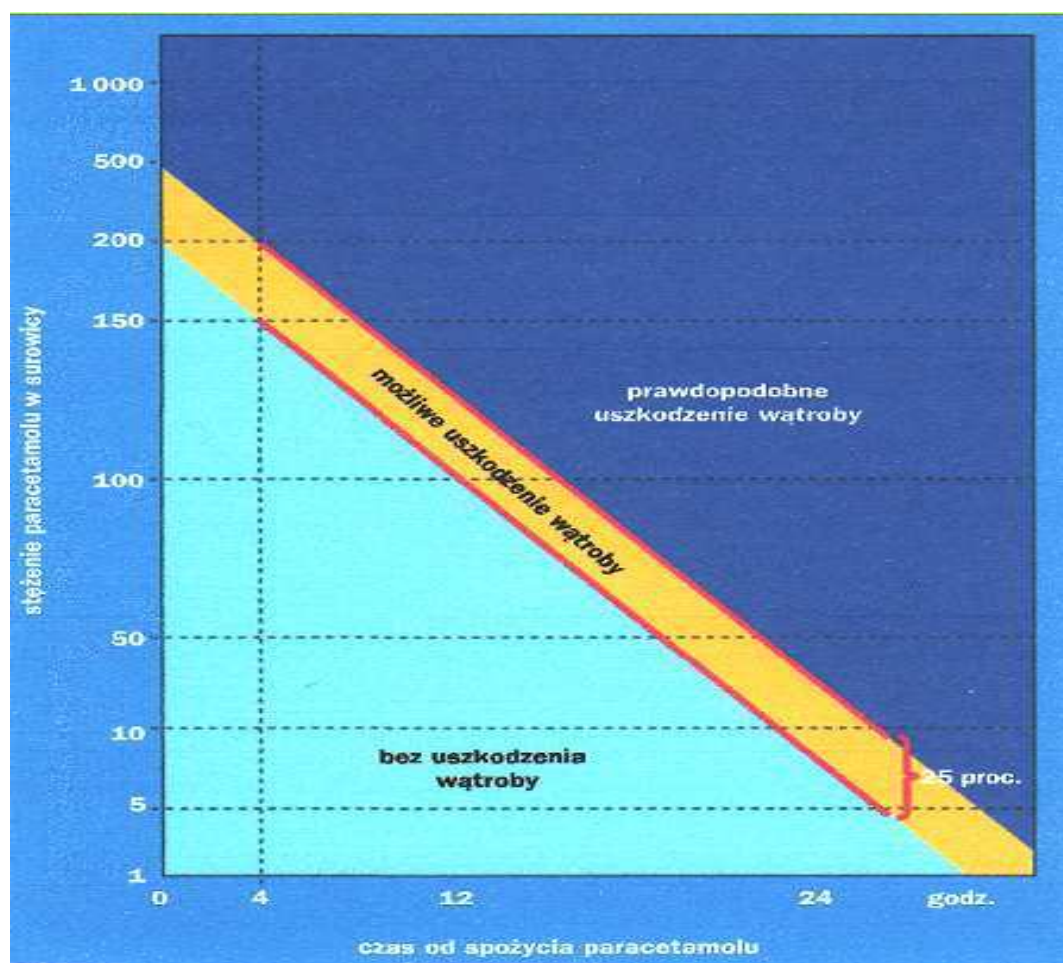
1.4. Działania niepożądane

Terapia paracetamolem jest skuteczna, dobrze tolerowana przez większość pacjentów oraz bezpieczna, jeżeli lek jest przyjmowany w dawkach terapeutycznych. Przekroczenie zalecanych dawek może implikować uszkodzenie wątroby. Potencjalnie hepatotoksyczna dawka paracetamolu u dorosłych określana jest na > 150 mg/kg m.c. [12].

Przyjęcie pojedynczej dawki acetaminofenu nieprzekraczającej 125 mg/kg m.c. (7,5 g lub 15 tabletek - o zawartości 500 mg paracetamolu, przez osobę o masie ciała 60 kg) zazwyczaj nie prowadzi do uszkodzenia wątroby. Przy przyjęciu dwukrotnie większej dawki prawdopodobieństwo uszkodzenia wątroby wynosi 50%. Dawka 500 mg/kg m.c. (30 g lub 60 tabletek u osoby o masie ciała ok. 60 kg) powoduje uszkodzenie wątroby zagrażające życiu [52].

Po przyjęciu paracetamolu w dawce 7,5-10 g w czasie krótszym niż 8 godzin może wystąpić niewydolność wątroby. Nomogram Rumack-Matthew określa zasady postępowania w zatruciu paracetamolem. Stężenia leku w osoczu, w okresie 4h >150 mg/l, 250 mg/l, 300 mg/l związane są z odpowiednio z 25%, 40% i 100% ryzykiem ostrego uszkodzenia wątroby (rycina 3) [53].

Rycina 3. Nomogram Rumacka [53].



Toksyczne działania acetaminofenu u osób dorosłych zostały podzielone na 4 fazy [12]:

- Faza I - Objawy występują od 0,5 do 24 h po zażyciu toksycznej dawki. Należą do nich: zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego (mdłości, wymioty), zaburzenia łaknienia oraz wzmożona potliwość.
- Faza II - Objawy występują w okresie 1-3 dni po podaniu dawki. W tej fazie pojawiają się symptomy związane z uszkodzeniem wątroby: ból, podwyższony poziom bilirubiny oraz enzymów wątrobowych, wydłużenie czasu protrombinowego, oliguria.
- Faza III - Występuje zazwyczaj pomiędzy 72-96 h. Wznawiają się objawy pokarmowe, dysfunkcja nerek i zaburzenia gospodarki lipidowej, a nawet uszkodzenia układu nerwowego.

- Faza IV - Ostatnie stadium zatrucia. Obejmuje czas od 96 h do 2 tygodni. Brak jest kolejnych nowych objawów, może nastąpić jedynie nasilenie bądź ustąpienie dotychczasowych symptomów.

Jako antidotum w przedawkowaniu paracetamolu stosuje się N-acetylocysteinę i metioninę [12, 54]. Wyróżniamy dwa mechanizmy działania N-acetylocysteiny w komórkach wątroby. Pierwszy mechanizm jest związany z dostarczaniem grup siarczanowych N-acetylo-p-benzochinonoiminie. Dochodzi do neutralizacji toksycznego NAPQI. Drugi mechanizm uaktywnia się w reakcji deacetylacji: z N-acetylocysteiny powstaje cysteina, która może być wykorzystana przez enzymy wątrobowe do regeneracji puli glutationu, który ponownie może być donorem grup sulfhydrylowych. Warunkiem sukcesu terapeutycznego jest podanie leku w czasie pierwszych 15 godzin od momentu przedawkowania paracetamolu. Lek ten działa skutecznie do 72 h ponieważ wykazuje także działanie protekcyjne w apoptozie. Badanie Ghosh'a i wsp. wykazało protekcyjne właściwości białka z rośliny *Cajanus indicus*. Proteina ta chroni hepatocyty i nefrony przed szkodliwym działaniem acetaminofenu [55].

Czynnikami zwiększającymi ryzyko hepatotoksyczności po przedawkowaniu paracetamolu są: wiek, jednoczesne przyjęcie leków indukujących enzymy wątrobowe, nadużycie alkoholu, oraz sposób odżywiania (głodzenie) [52].

Beasley i wsp. przeprowadzili wieloośrodkowe badanie ankietowe z udziałem 205 487 dzieci w wieku 6 – 7 lat z 73 klinik, z 31 krajów. Przyjmowanie paracetamolu przez gorączkujące dzieci w pierwszym roku życia wiązało się ze zwiększonym ryzykiem (46%) zachorowania na astmę. Stosowanie paracetamolu u tych dzieci przyczyniło się również do zwiększenia ryzyka występowania pokrzywki alergicznej (o 35%) i kataru alergicznego z zapaleniem spojówek (o 48%). Podawanie dzieciom preparatów zawierających paracetamol zwiększało o 22 – 38% prawdopodobieństwo wystąpienia ciężkiej astmy [56].

Przyjmowanie paracetamolu w postaci rozpuszczalnej przyczynić się może także do wzrostu ciśnienia tętniczego krwi u dorosłych. Douglas przedstawił opis przypadku terapii reumatoidalnego zapalenia stawów 58-letniej kobiety, która z powodu bólów towarzyszących chorobie podstawowej przyjmowała w pierwszym etapie terapii paracetamol w postaci doustnej, a następnie postać musującą. W skład każdej tabletki wchodziło 427 mg jonów sodu, co przy aplikacji sześciu tabletek dziennie dawało podaż 2,562 g jonów sodu; wartości ciśnienia tętniczego krwi wynosiły 210/110 mm Hg, które zmniejszyło się do wartości 145/85 mm Hg w momencie zaprzestania przyjmowania paracetamolu w postaci rozpuszczalnej [57].

Acetaminofen może także prowokować wystąpienie agranulocytozy, niedokrwistości, methemoglobinemii, trombocytopenii [58].

Niekiedy mogą wystąpić reakcje skórne (pokrzywka, swędząca wysypka plamistogrudkowa) oraz zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego (pieczenie w nadbrzuszu, nudności, wymioty) [58].

Paracetamol w dawkach terapeutycznych nie wykazuje działania kancerogennego ani genotoksycznego [59].

1.5. Interakcje

Mniej niż 5% dawki paracetamolu jest utleniane do toksycznego metabolitu N acetylo-p-benzochinonoiminy, pod wpływem enzymów mikrosomalnych przy udziale cytochromu P450. Główną rolę w oksydatywnej biotransformacji odgrywają izoformy CYP450 2E1, a w mniejszym stopniu także CYP1A2 i CYP3A4 [60]. Aktywność tych izoenzymów jest uwarunkowana genetycznie, dlatego w populacji występują różnice genotypowe, warunkujące różne szybkości metabolizowania tego leku. W aktywności izoenzymów cytochromu P450 istotne znaczenie ma płeć. Udowodniono, że aktywność CYP3A4 jest o ok. 20% większa u kobiet, niż u mężczyzn. Wynika z tego mniejsze ryzyko wystąpienia interakcji farmakokinetycznych związanych z inhibicją CYP3A4 u kobiet, niż u mężczyzn. Z kolei u mężczyzn obserwuje się większą aktywność CYP1A2. U kobiet do zmiany aktywności izoenzymów CYP450 dochodzić może podczas cyklu miesięczkowego, ciąży oraz w okresie menopauzy [61, 62]. Większą aktywność izoenzymu CYP2E1 obserwuje się także u osób otyłych [63, 64].

Paracetamol nasila działanie doustnych leków przeciwzakrzepowych: acenokumarolu oraz warfaryny, zwiększając tym samym ryzyko występowania krwawień. Potencjalny mechanizm interakcji związany jest z hamowaniem metabolizmu leków przeciwzakrzepowych oraz wpływem paracetamolu na wątrobową syntezę czynników: II, VII, IX i X [12]. Przyjmowanie paracetamolu przez chorego leczonego warfaryną może przyczynić się do wzrostu wskaźnika protrombinowego (INR-*international normalized ratio*) do wartości powyżej 6 w ciągu 18-48 godzin. Ryzyko podwyższenia INR jest zależne od dawki (tab. 3) [52].

Tabela 3. Ryzyko wystąpienia INR>6 u pacjentów przyjmujących paracetamol i warfarynę [52].

Tygodniowa dawka paracetamolu [g]	Liczba tabletek (325 mg)	INR	Liczba leczonych chorych na którą przypada zdarzenie (INR>6)
2,5-4,5	7-14	3,5	9
4,5-9	14-28	7	4
>9	>28	10	3

Karbamazepina zwiększa ryzyko działania hepatotoksycznego paracetamolu poprzez indukcję metabolizmu w kierunku NAPQI [12]. Natomiast paracetamol zmniejsza biodostępność leków przeciwpadaczkowych m.in. fenytoiny oraz fosfenytoiny, a także zwiększa eliminację lamotryginy wraz z moczem [12].

Istnieje wysokie ryzyko wystąpienia neutropenii oraz hepatotoksyczności podczas terapii zydowudyną i paracetamolem [65]. Formułowane są dwie hipotezy dotyczące mechanizmu interakcji tych leków:

- zydowudyna hamuje sprzężanie paracetamolu z glukuronidem, przez co w osoczu zwiększa się stężenie hepatotoksycznego paracetamolu;
- paracetamol hamuje sprzężanie zydowudyny z glukuronidem, przez co w osoczu zwiększa się stężenie szczególnie hepatotoksycznej zydowudyny [66, 67].

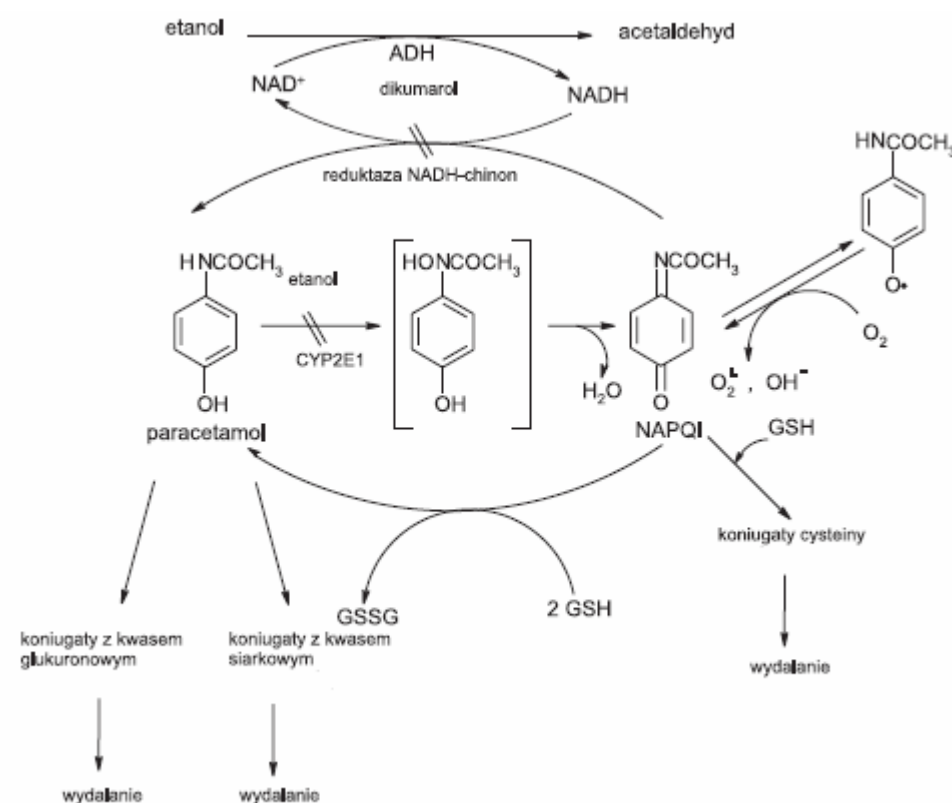
Interakcje pomiędzy zydowudyną i paracetamolem ze względu na istotny aspekt kliniczny wymagają dalszych badań.

Wiadomo, że izoniazyd jest podstawowym lekiem stosowanym w terapii gruźlicy. W literaturze opisano przypadek 21-letniej pacjentki leczonej izoniazydem w dawce 300mg/24h z powodu dodatniej próby tuberkulinowej. Występujące skurcze brzucha były spowodowane przez przyjęty paracetamol w dawce 3250 mg. Zaobserwowano pogorszenie funkcji wątroby tj. wydłużenie czasu protrombinowego, podwyższenie poziomu amoniaku, transaminaz wątrobowych (AlAT, AspAT) oraz hiperbilirubinemię. Isoniazyd indukuje cytochrom P-450; doszło do nasilenia metabolizmu paracetamolu w kierunku toksycznego metabolitu, N-acetylo-p-benzochinonoiminy (NAPQI) oraz zmniejszenia zapasów glutationu. Z tego powodu należy zachować szczególną ostrożność u pacjentów poddanych terapii izoniazydem [68].

Długotrwałe nadużywanie alkoholu, z równoczesnym stosowaniem paracetamolu zwiększa ryzyko toksycznego uszkodzenia wątroby. Przewlekłe spożywanie alkoholu indukuje cytochrom P450 oraz wyczerpuje pulę glutationu [69].

Thummel i wsp. [70] przeprowadzili badanie z udziałem 10 zdrowych ochotników, którzy otrzymywali etanol w 6-godzinnym wlewie dożylnym w celu osiągnięcia jego stężenia w surowicy 100 mg/dl lub 5% roztwór wodny dekstrozy. Acetaminofen podano ochotnikom doustnie w dawce 500 mg, 8 godzin po zakończeniu wlewu. W celu oznaczenia ilości powstającej N-acetylo-p-benzochinonoiminy przez 12 godzin zbierano próbki krwi oraz próbki moczu (przez 24 godziny) po podaniu paracetamolu. W przeprowadzonym doświadczeniu podanie paracetamolu osobom, którym wcześniej podano alkohol spowodowało ~20% wzrost stężenia NAPQI w porównaniu z grupą kontrolną. Świadczy to o indukcji metabolizmu paracetamolu związanego z cytochromem P450 przez alkohol etylowy. Skutki alkoholizmu, powiązanego często z niedożywieniem mogą prowadzić do kumulacji acetaminofenu i jego toksycznych metabolitów.

Na rycinie 4 przedstawiono powiązanie szlaków metabolicznych paracetamolu oraz alkoholu etylowego [71]. Biologiczne następstwa tej zależności są dwojakie – z jednej strony alkohol etylowy zwiększa hepatotoksyczność paracetamolu, z drugiej, hipotetycznie może działać ochronnie na hepatocyty po podaniu paracetamolu. Efekt ten jest zależny od ilości spożytego alkoholu i przedziału czasowego między podaniem paracetamolu i etanolu.

Rycina 4. Powiązanie szlaków metabolicznych paracetamolu i etanolu [71].

Diaz i wsp. wykazali, że omeprazol jest induktorem izoenzymu CYP1A2. Sformułowali również hipotezę, że terapia omeprazolem oraz paracetamolem może nasilać działanie hepatotoksyczne acetaminofenu poprzez wzrost produkcji toksycznego metabolitu NAPQI. Jednak w badaniach klinicznych nie zostało to potwierdzone, bowiem nie zaobserwowano zmian w farmakokinetyce paracetamolu oraz wzrostu NAPQI w terapii skojarzonej omeprazolem i paracetamolem [66].

Doustne środki antykoncepcyjne nasilają proces glukuronidacji paracetamolu, co w konsekwencji może prowadzić do zwiększenia klirensu osoczowego oraz skrócenia biologicznego okresu półtrwania leku.

Podanie paracetamolu łącznie z węglem aktywowanym może przyczynić się do zmniejszenia efektu terapeutycznego paracetamolu w wyniku absorpcji leku przez węgiel aktywowany [72].

Issa i wsp. wykazali, że paracetamol wpływa na farmakokinetykę ciprofloksacyny. Po podaniu doustnym obu leków nie zaobserwowano zmiany w wartości klirensu oraz objętości

dystrybucji, obserwowano natomiast wzrost stężenia maksymalnego (C_{max}) ciprofloksacyny z 2,52 na 2,61 $\mu\text{g/ml}$ i skrócenie czasu stężenia maksymalnego (T_{max}) z 1,5 h na 1,3 h [73].

W ostatnich latach odnotowuje się wzrost zainteresowania lekami pochodzenia roślinnego. Z powodu częstego ich przyjmowania i łączenia z lekami syntetycznymi m.in. paracetamolem należy spodziewać się występowania istotnych pod względem klinicznym interakcji międzylekowych.

Czosnek (*Allium sativum*) ze względu na właściwości przeciwdrobnoustrojowe i działanie stymulujące układ odpornościowy jest szeroko stosowany w zakażeniach dróg oddechowych. Badania wykazały, że preparaty czosnku zmieniają parametry farmakokinetyczne paracetamolu. Czosnek przez hamowanie aktywności CYP2E1 osłabia także działanie hepatotoksyczne paracetamolu u myszy [74, 75].

W schorzeniach dróg oddechowych wykorzystuje się właściwości przeciwdrobnoustrojowe i immunostymulujące jeżówki purpurowej (*Echinacea purpurea*). Badania *in vitro* wykazały, że aktywne składniki tej rośliny mogą zmieniać metabolizm i/lub efektywność leków, które są substratami dla izoenzymu CYP3A4 [75]. Ze względu na stwierdzone po ośmiu tygodniach stosowania działanie hepatotoksyczne paracetamolu preparaty jeżówki nie powinny być stosowane z innymi lekami potencjalnie uszkadzającymi wątrobę, np. metotreksatem, ketokonazolem i paracetamolem [74, 75].

Ostropest plamisty (*Sylibum marianum*) zawiera: sylibininę, sylichrystynę, sylidianinę. Sylibinina może hamować aktywność CYP 3A4 i CYP 2C9 w ludzkich mikrosomach wątrobowych oraz zwiększać poziomy leków metabolizowanych przez te izoenzymy. Wykazano również, że inkubacja ludzkich hepatocytów z sylimaryną powodowała znaczące zahamowanie aktywności CYP 3A4 i UGT1A6/9. Jednak w badaniu klinicznym, 28-dniowa terapia *Sylibum marianum* nie zmieniała znacząco aktywności CYP 1A2, 2D6, 2E1, 3A4. Sylibinina jest sprzęgana z kwasem glukuronowym lub siarkowym i wydziela się z żółcią. Mechanizm ten stanowić może punkt uchwytu interakcji z lekami eliminowanymi także przez sprzęganie z kwasem glukuronowym w wątrobie, gdyż sylibinina hamuje aktywność głównych enzymów wątrobowych UGT 1A1/6/9 i 2B7/15. Wykazano, że sylibinina podana łącznie z paracetamolem hamowała jego glukuronizację [74, 75].

Badania *in vitro* potwierdziły wpływ Lukrecji gładkiej (*Glycyrrhiza glabra*) na zmianę metabolizmu leków, substratów izoenzymu CYP3A4. U szczurów otrzymujących wyciąg z lukrecji i paracetamol stwierdzono zwiększone wydalanie glukuronianu paracetamolu z żółcią i z moczem [74, 75].

Dasgupta i wsp. przeprowadzili doświadczenie na myszach określające wpływ soku z białego i różowego grejpfruta na farmakokinetykę paracetamolu. W tym celu podawano myszom 200 μ l soku z białego lub różowego grejpfruta, a godzinę później w dawce 10, 50 lub 100 mg/kg m.c. roztwór paracetamolu. W czasie 1 i 2 godzin od podania acetaminofenu wykazano wzrost stężenia leku w grupie myszy, którym podano sok grejpfrutowy (wyższe stężenia zaobserwowano u zwierząt, którym podano sok z białego grejpfruta) w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano również zwiększenie $t_{0,5}$ leku w grupie zwierząt, którym podano sok, co może być przyczyną hamowania metabolizmu paracetamolu przez sok grejpfrutowy [76].

Badania przeprowadzono w Katedrze i Zakładzie Farmacji Klinicznej i Biofarmacji Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Badań Na Zwierzętach (numer 77/2007) przy współpracy Zakładu Farmakologii Klinicznej Katedry Kardiologii oraz Zakładu Dydaktyki Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

Do badań zakwalifikowano 4 grupy królików rasy *Nowozelandzkiej białej* obu płci liczące od 4 do 9 dorosłych zwierząt:

- I. grupa kontrolna – zdrowe króliki (n=4)
- II. grupa kontrolna - z cukrzycą aloksanową (n=6)
- III. grupa królików z cukrzycą aloksanową, którym podano paracetamol *i.v.* (n=8)
- IV. zdrowe króliki, którym podano paracetamol *i.v.* (n=9).

W celu wywołania cukrzycy aloksanowej dorosłym królikom podano do żyły brzeżnej ucha aloksan w dawce 90 mg/kg m.c. w roztworze 0,9% NaCl. Przez okres 14 dni obserwowano proces utrwalenia cukrzycy u zwierząt doświadczalnych. Równocześnie zostały dokonane pomiary stężeń glukozy we krwi. Króliki przed badaniem były głodzone przez 12 godzin. Wodę do picia podawano bez ograniczeń.

Po czterech (etap I), ośmiu (etap II) oraz dwunastu (etap III) tygodniach od momentu utrwalenia się cukrzycy królikom z grupy III i IV podano paracetamol (*Perfalgan*®) do żyły brzeżnej ucha w jednorazowej dawce 35 mg/kg m.c. Próbkę krwi zostały pobrane w następujących punktach czasowych: 0', 5', 15', 30', 45', 60', 80', 100', 120', 180', 240' oraz 300'. Dodatkowo w etapie II i III od każdego królika z grupy III i IV w wybranych dwóch punktach czasowych została pobrana ciecz wodnista oka w znieczuleniu ogólnym. Stan znieczulenia ogólnego osiągnięto podając domięśniowo ketaminę w dawce 50 mg/kg m.c. oraz ksylazynę w dawce 10 mg/kg m.c. Charakterystykę królików z grupy III i IV przedstawiono w tabelach 18-23. W każdej z badanych grup zwierząt monitorowano parametry biochemiczne krwi, które przedstawiono w tabelach 28-36.

Dodatkowym aspektem pracy było zbadanie wpływu pory dnia i nocy na parametry farmakokinetyczne dożylniej postaci paracetamolu.

Do badań zakwalifikowano 9 królików rasy *Nowozelandzkiej białej* obu płci, które podzielono w sposób losowy na 3 grupy. Przed rozpoczęciem badania króliki przez 4 tygodnie były adoptowane do warunków, w których przemiennie przez 12 godzin poddawano je wpływowi sztucznego oświetlenia o kontrolowanym natężeniu oraz odpowiednio przez 12 godzin ciemności. Badanie przeprowadzono w układzie krzyżowym w trzech etapach z

dwutygodniowymi odstępami (tabela 24). W każdym z etapów, w odstępach 8-godzinnych, królikom podawano do żyły brzeżnej ucha paracetamol (*Perfalgan*®) w jednorazowej dawce 35 mg/kg m.c.. Próbki krwi zostały pobrane w następujących punktach czasowych: 0', 5', 15', 30', 45', 60', 80', 100', 120', 180', 240' oraz 300'. Charakterystykę zakwalifikowanych do badań królików zamieszczono w tabelach 25-27.

1. Metodyka oznaczania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu

W celu określenia stężeń paracetamolu i jego głównego metabolitu - glukuronianu paracetamolu w osoczu krwi oraz cieczy wodnistej oka zastosowano metodę wysokosprawnej chromatografii ciekowej HPLC z detekcją UV-VIS. Stanowi ona adaptację metody przedstawionej przez Brunner'a i Bai'a [77].

Pobieranie próbek i przygotowanie ich do analizy

Krew do badań pobierano z żyły brzeżnej ucha królików w objętości 2,0 ml do probówek z heparyną. Następnie krew wirowano przez 10 min (3000 obr/min) w temp. +4°C, oddzielano osocze i przenoszono je do polipropylenowych probówek Eppendorf'a. Próbki zamrażano i przechowywano w temp. -20°C do momentu wykonania właściwej analizy.

Próbki cieczy wodnistej do analizy pobierano w objętości ok. 0,2 ml z przedniej komory oka przy użyciu strzykawek insulinowych. Próbki te umieszczano w polipropylenowych probówkach Eppendorf'a zamrażano i przechowywano w temp. -20°C do momentu wykonania właściwej analizy.

1.1. Aparatura i odczynniki

1.1.1. Chromatograf ciekowy – części składowe i warunki pracy

- wysokosprawny chromatograf ciekowy HPLC *Waters* 2695
- Dual λ Absorbance Detector, długość fali $\lambda = 261$ nm
- autosampler
- kolumna: Thermo Electron Corporation ODS HYPERSIL 4,6×150 mm Part No 30105-154630; SN: 0634538A; LOT : 6329
- szybkość przepływu fazy ruchomej: 1,5 ml/min
- faza ruchoma: 0,05M Na₂SO₄ – acetonitryl (93:7), pH 2,2

- rozdział przeprowadzono w temp. pokojowej.

1.1.2. Parametry pracy autosamplera

- objętość nastrzyku 50 μ l,
- po każdym pobraniu próbki do analizy igła przepłukiwana była w roztworze metanol:woda (40:60).

1.1.3. Odczynniki

- acetonitryl (seria I533491 015 *Merck*)
- metanol (seria I544118 026 *Merck*)
- bezwodny siarczan sodu (seria 1318762 *Fluva Biochemika*)
- 85% kwas ortofosforowy (seria K35991173 618 *Merck*)
- 70% kwas perchlorowy (seria S88887 359 *Sigma Aldrich*)
- wodorotlenek sodu (seria 1310-73-2 *Merck*)
- teofilina (seria 127H0539 *Sigma Aldrich*)
- acetaminofen (seria RA21246 *Sigma Aldrich*)
- glukuronian paracetamolu (seria A4438 *Sigma Aldrich*)
- osocze królicze (seria 22510001 *Biomed.*)
- *Perfalgan* (seria 080042 *Bristol-Myers Squibb*)
- *Bioketan* (seria 0810080 *Vetoquinol Biowet*)
- *Xylavet* (seria 0804125-06 *ScanVet*)
- woda ultraczysta oczyszczana w systemie typu SMART-Simplicity firmy *MILLIPORE*.

Wszystkie odczynniki były przechowywane w oryginalnych opakowaniach. Substancje suche przechowywano w szczelnie zamkniętych opakowaniach, w szafkach bez dostępu wilgoci i światła. Rozpuszczalniki organiczne przechowywane były w ciemnych, szklanych butlach, w szafkach bez dostępu światła, w temperaturze pokojowej.

1.2. Przygotowanie roztworów wzorcowych

Podstawowy roztwór wzorcowy paracetamolu

Dokładnie 275 mg paracetamolu rozpuszczono w 100 ml metanolu. Roztwór podstawowy przechowywano w temperaturze 4°C. Roztwory do krzywych wzorcowych i procedur metod walidacji przygotowano przez rozcieńczenie roztworu podstawowego wodą ultraczystą i przechowywano w temperaturze 4°C.

Podstawowy roztwór wzorcowy glukuronianu paracetamolu

Dokładnie 44 mg glukuronianu acetaminofenu rozpuszczono w 10 ml metanolu. Roztwór podstawowy przechowywano w temperaturze 4°C. Roztwory do krzywych wzorcowych i procedur metod walidacji przygotowano przez rozcieńczenie roztworu podstawowego wodą ultraczystą i przechowywano w temperaturze 4°C.

Podstawowy roztwór wzorcowy teofiliny

Dokładnie 10 mg teofiliny rozpuszczono w 0,1M roztworze wodorotlenku sodu. Roztwór podstawowy przechowywano w temperaturze 4°C.

Roztwory do krzywych kalibracyjnych, roztwory kontrolne

Roztwory do krzywych kalibracyjnych oraz roztwory kontrolne (QC) o odpowiednich stężeniach przygotowano przez rozcieńczenie roztworu podstawowego paracetamolu oraz glukuronianu paracetamolu wodą ultraczystą wolną od zanieczyszczeń i analitu (objętość roztworu dodawana do wody ultraczystej nie przekraczała 10% objętości próby, zgodnie z wytycznymi dotyczącymi walidacji metod bioanalitycznych).

Próby ślepe

Roztwór wody ultraczystej w objętości 300 µl.

Próby badane

Do 0,2 ml osocza pobranego od królików dodano 0,2 ml 6% kwasu perchlorowego oraz 0,02 ml 0,1% roztworu wzorca wewnętrznego -teofiliny. Próbkę wytrząsano przez 30 s, a następnie

odwirowywano (17000 obrotów, 5 min.). Supernatant przenoszono do insertów i poddawano analizie chromatograficznej.

Sposób obliczania stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu

- przygotowano serie próbek do 3 krzywych kalibracyjnych dla następujących stężeń paracetamolu: 0,5; 2,0; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250,0 $\mu\text{g/ml}$ oraz dla glukuronianu paracetamolu: 0,5; 2,0; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 400,0 $\mu\text{g/ml}$
- analizę chromatograficzną każdego stężenia z krzywej kalibracyjnej przeprowadzono trzykrotnie
- zarejestrowano chromatogramy oraz powierzchnie pików paracetamolu, glukuronianu paracetamolu i teofiliny, które były wprost proporcjonalne do stężeń tych składników w osoczu oraz w wodzie
- stężenia paracetamolu oraz glukuronianu paracetamolu w osoczu oraz w wodzie obliczono na podstawie średniej krzywej kalibracyjnej, opisanej równaniem prostej regresji liniowej:

$$y = ax + b,$$

gdzie:

a – współczynnik kierunkowy prostej

b – punkt przecięcia z osią OY

x – wyznaczone stężenie paracetamolu/glukuronianu paracetamolu (C) w $\mu\text{g/ml}$

y – stosunek pola powierzchni piku paracetamolu/glukuronianu paracetamolu do pola powierzchni piku teofiliny ($P_{\text{bad}}/P_{\text{teof.}}$)

1.3. Walidacja metody oznaczania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu krwi i cieczy wodnistej oka u królików

W celu zwalidowania stosowanej metody analitycznej oznaczania stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu i cieczy wodnistej oka wyznaczono następujące właściwości metody: selektywność, liniowość, dokładność oraz precyzję.

1.3.1. Selektowność

Selektowność (ang. *selectivity*) jest to zdolność metody do odróżnienia i oznaczenia jednego analitu w obecności innych związków, w złożonej próbce rzeczywistej, bez interferencji składników towarzyszących na sygnał analitu [78].

Selektowność metody oceniono na podstawie analizy chromatogramów zarejestrowanych dla prób ślepych i prób obciążonych paracetamolem oraz glukuronianem paracetamolu.

Selektowność metody charakteryzuje współczynnik selektowności $Sel(i,j)$:

$$Sel_{(i,j)} = \frac{Y_i}{Y_j} = \frac{a_i x_i}{\sum_{j=A}^N a_j x_j}$$

gdzie:

Y_i – sygnał generowany przez analit i

a_i, a_j – czułość metody wobec analitu i i substancji j

x_i, x_j – stężenie analitu i oraz substancji j [79]

W oparciu o wyniki analizy nie stwierdzono interferencji sygnałów paracetamolu i glukuronianu paracetamolu z żadnym z sygnałów odpowiadających składnikom matrycy biologicznej w warunkach eksperymentalnych (ryc. 9-10). Wykazano selektowność dla najniższego stężenia na krzywej wzorcowej LLOQ.

1.3.2. Liniowość

Liniowość (ang. *linearity*) określa zakres stężeń substancji, który jest wprost proporcjonalny do otrzymanych wartości sygnału pomiarowego. Przedział między najwyższym i najniższym stężeniem substancji badanej (zakres kalibracji) wyznaczany jest na podstawie oczekiwanych stężeń badanego związku w próbach.

W celu oceny liniowości FDA zaleca testowanie 6-8 stężeń, w sześciu niezależnych oznaczeniach dla każdego stężenia.

Kryterium liniowości jest także współczynnik korelacji r , który określa stopień zgodności punktów (x,y) z prostą regresji [79].

Równanie wyznaczonej średniej krzywej kalibracyjnej dla paracetamolu w osoczu przyjęło postać:

$$y = 2,11e-002x - 1,67e-002$$

Tabela 4. Opracowanie statystyczne dla średniej krzywej kalibracyjnej paracetamolu w osoczu.

Parametr	SD	CV%
$a = 2,11e-002$	$0,18e-002$	8,5
$b = -1,67e-002$	$0,11e-002$	6,4
$r = 0,999$	0,0006	0,06

Równanie wyznaczonej średniej krzywej kalibracyjnej dla paracetamolu w wodzie wynosiło:

$$y = 1,65e-002x$$

Tabela 5. Opracowanie statystyczne dla średniej krzywej kalibracyjnej paracetamolu w wodzie.

Parametr	SD	CV%
$a = 1,65e-002$	$0,02e-002$	1,3
$r = 0,997$	0,001	0,1

Równanie wyznaczonej średniej krzywej kalibracyjnej dla glukuronianu paracetamolu w osoczu przyjęło postać:

$$y = 9,47e-003x + 6,45e-003$$

Tabela 6. Opracowanie statystyczne dla średniej krzywej kalibracyjnej glukuronianu paracetamolu w osoczu.

Parametr	SD	CV%
a = 9,47e-003	0,29e-003	3,1
b = 6,45e-003	2,48e-003	8,4
r = 0,997	0,003	0,3

Równanie wyznaczonej średniej krzywej kalibracyjnej dla glukuronianu paracetamolu w wodzie wynosiło:

$$y = 7,05e-003x$$

Tabela 7. Opracowanie statystyczne dla średniej krzywej kalibracyjnej glukuronianu paracetamolu w wodzie.

Parametr	SD	CV%
a = 7,05e-003	0,09e-003	1,3
r = 0,998	0,0006	0,06

Zmienność nachylenia krzywych, określana przez współczynnik nie może przekraczać 15% [78]. Wartość współczynnika korelacji nie powinna być mniejsza niż 0,997, a jego zmienność nie powinna przekraczać 5% [78].

Kryteria akceptacji dla krzywej standardowej dopuszczają 20% odchyień od nominalnego stężenia dla LLOQ oraz 15% odchylenia dla pozostałych standardów. Wartość współczynnika korelacji krzywych kalibracyjnych nie powinna być mniejsza niż 0,997.

1.3.3. Precyzja i dokładność

1.3.3.1. Precyzja

Precyzja metody (ang. *precision*) określa stopień zgodności między poszczególnymi wynikami analiz tej samej próbki, uzyskanymi tą samą metodą, przy wielokrotnym

powtarzaniu oznaczeń. Jest to rozrzut pojedynczych wyników x_i , przy n powtórzeniach w stosunku do wartości średniej arytmetycznej pomiarów \bar{x} .

Miarą precyzji jest odchylenie standardowe σ (SD ang. *standard deviation*) lub jego przybliżenie s . W celu porównania precyzji oznaczeń stosuje się również względne odchylenie standardowe (RSD ang. *relative standard deviation*) lub współczynnik zmienności CV%, wyrażany w procentach:

$$CV\% = \frac{SD}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

gdzie:

SD – odchylenie standardowe

\bar{x} – wartość średnia pomiarów stężenia

Agencja FDA (*Food and Drug Administration*) zaleca przeprowadzenie analizy prób wzorcowych dla minimum trzech stężeń z zakresu krzywej kalibracyjnej (co najmniej 5 oznaczeń dla każdego stężenia).

Zgodnie z wytycznymi ICH (*International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*) precyzję można podzielić na [80]:

- a) powtarzalność (ang. *repeatability*) – jest to precyzja otrzymana w identycznych warunkach operacyjnych (w tym samym laboratorium, przez jednego analityka, przy użyciu tej samej aparatury, z jednakowymi odczynnikami) i w krótkim przedziale czasu, np. w ciągu tego samego dnia. Określa precyzję w ramach jednej sekwencji analitycznej (*within run, intra-assay, intra-batch*) [78].

Precyzję w tym samym dniu wyznaczono na podstawie analizy prób wzorcowych dla trzech stężeń z zakresu krzywej standardowej: 10, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$, wykonując pięć oznaczeń dla każdego stężenia.

Wartość współczynnika zmienności dla wartości tych stężeń nie powinna być większa niż 15%.

Tabela 8. Precyzja metody dla oznaczeń stężenia paracetamolu w ramach jednej serii, wykonanych w ciągu jednego dnia pracy.

$C_{\text{nomin.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	$C_{\text{obl.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]					$C_{\text{śr.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	SD	CV %
10	11,241	10,240	11,007	10,926	10,548	10,792	0,397	3,7
50	55,237	56,330	55,006	56,243	60,728	56,709	2,323	4,1
100	114,228	110,134	108,160	119,152	105,209	111,377	5,443	4,9

Tabela 9. Precyzja metody dla oznaczeń stężenia glukuronianu paracetamolu w ramach jednej serii, wykonanych w ciągu jednego dnia pracy.

$C_{\text{nomin.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	$C_{\text{obl.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]					$C_{\text{śr.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	SD	CV%
10	10,340	11,342	9,892	10,992	12,349	10,983	0,948	8,6
50	53,420	54,327	50,310	53,821	55,027	53,381	1,819	3,4
100	96,323	102,177	109,124	103,165	111,967	104,551	6,147	5,9

b) precyzja pośrednia (ang. *intermediate precision*) – jest to precyzja między seriami (between-run, inter-assay, inter-batch), wyraża zmienność wewnątrzlaboratoryjną (pomiar wykonany jest w różnych dniach i/lub przez różnych analityków i/lub przy użyciu różnej aparatury) [78].

Precyzję między trzema kolejnymi dniami wyznaczono dla prób wzorcowych dla trzech stężeń z zakresu krzywej standardowej: 10, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$, przeprowadzając pięć oznaczeń dla każdego stężenia.

Wartość współczynnika zmienności dla wartości tych stężeń nie powinna być większa niż 15%.

Tabela 10. Precyzja metody dla oznaczeń stężenia paracetamolu między seriami, wykonanych w ciągu trzech dni pracy.

C _{nomin.} [μg/ml]	C _{obl.} [μg/ml]			C _{śr.} [μg/ml]	SD	CV%
	1 dzień	2 dzień	3 dzień			
10	11,241	9,808	12,059	11,036	1,036	10,3
50	58,237	55,231	52,987	55,485	2,634	4,7
100	115,228	113,842	107,992	112,354	3,841	3,4

Tabela 11. Precyzja metody dla oznaczeń stężenia glukuronianu paracetamolu między seriami, wykonanych w ciągu trzech dni pracy.

C _{nomin.} [μg/ml]	C _{obl.} [μg/ml]			C _{śr.} [μg/ml]	SD	CV%
	1 dzień	2 dzień	3 dzień			
10	10,222	9,201	10,953	10,125	0,879	8,7
50	56,202	52,709	55,997	54,969	1,960	3,6
100	107,188	102,652	117,348	109,063	7,525	6,9

1.3.3.2. Dokładność

Dokładność (ang. *accuracy*) jest to stopień zgodności między wynikiem uzyskanym x_i lub średnią arytmetyczną \bar{x} z n oznaczeń a rzeczywistą zawartością analitu w badanej próbce. Dokładność metody określana jest na podstawie wartości średniej z n wyników uzyskanych tą samą metodą, w tej samej próbce, stanowiącej certyfikowany materiał odniesienia (CRM ang. *certified reference material*), w której rzeczywista zawartość analitu τ jest dokładnie znana. Dokładność metody definiujemy następująco:

$$E_x = \pm |\bar{x} - \tau|$$

Różnica $\bar{x} - \tau$ określana jest mianem błędem systematycznym [79].

Metoda dokładna umożliwia uzyskanie wyników analizy bliskich wartości nominalnej, które nie są obarczone błędem systematycznym. Dokładność można wyrazić jako błąd bezwzględny lub względny (%), który powinien mieścić się w zakresie $\pm 15\%$ nominalnej wartości, z wyjątkiem LLOQ, dla którego odchylenie nie powinno być większe niż 20%.

FDA zaleca analizę prób wzorcowych dla minimum trzech stężeń z zakresu krzywej kalibracyjnej (co najmniej 5 oznaczeń dla każdego stężenia) [78].

$$\% \text{ błędu} = \frac{C_{\text{oznaczone}} - C_{\text{nominalne}}}{C_{\text{nominalne}}} \times 100\%$$

Tabela 12. Dokładność metody dla oznaczeń stężenia paracetamolu w jednej serii, w ciągu jednego dnia pracy.

$C_{\text{nominalne}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	$C_{\text{obl.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]					$C_{\text{śr.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	błąd względny [%]
10	11,241	10,240	11,007	10,926	10,548	10,792	7,9
50	55,237	56,330	55,006	56,243	60,728	56,709	13,4
100	114,228	110,134	108,160	119,152	105,209	111,377	11,4

Tabela 13. Dokładność metody dla oznaczeń stężenia glukuronianu paracetamolu w jednej serii, w ciągu jednego dnia pracy.

$C_{\text{nominalne}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	$C_{\text{obl.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]					$C_{\text{śr.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	błąd względny [%]
10	10,340	11,342	9,892	10,992	12,349	10,983	9,8
50	53,420	54,327	50,310	53,821	55,027	53,381	6,8
100	96,323	102,177	109,124	103,165	111,967	104,551	4,6

1.3.4. Granica detekcji i oznaczalności

1.3.4.1. Granica detekcji

Granica detekcji (LOD ang. *limit of detection*) jest to najniższe stężenie analitu, generującego sygnał, który może być statystycznie odróżniony od szumów linii podstawowej [78]. Do wyznaczania granicy wykrywalności wykorzystuje się stosunek sygnału analitycznego do szumu (S/N). Za granicę wykrywalności przyjmuje się takie stężenie (ilość) analitu, które powoduje, że wartość sygnału analitu jest 3 razy większa od poziomu szumów (S/N=3) [79]. Parametr ten można również wyznaczyć wykorzystując odchylenie standardowe i nachylenie prostej.

$$LOD = \frac{3,3 \cdot SD}{b}$$

gdzie:

SD – odchylenie standardowe,

b – czułość metody, czyli nachylenie krzywej kalibracyjnej.

LOD wynosiło 0,1 µg/ml (błąd oznaczeń < 20%) dla paracetamolu i glukuronianu paracetamolu.

1.3.4.2. Dolna granica oznaczalności

Dolna granica oznaczalności (LLOQ ang. *lower limit of quantification*) jest to najniższe stężenie analitu, generującego sygnał znajdujący się w dolnym prostoliniowym zakresie krzywej kalibracyjnej, z taką precyzją i dokładnością, aby wartość współczynnika zmienności (precyzja) lub odchylenie od wartości rzeczywistej (dokładność) nie przekraczały 20(10)%. Za granicę oznaczalności przyjmuje się takie stężenie analitu, który generuje sygnał o S/N > 5(10) [78, 79].

Granica oznaczalności wyrażana jest równaniem:

$$LLOQ = \frac{5 \cdot SD}{b}$$

gdzie:

SD – odchylenie standardowe

b – czułość metody, czyli nachylenie krzywej kalibracyjnej.

LLOQ w badanej metodzie oznaczono na poziomie 0.25 µg/ml (błąd oznaczeń < 20%) dla paracetamolu oraz glukuronianu paracetamolu.

1.3.5. Stabilność

Stabilność badanych substancji w materiale biologicznym w danych warunkach i w określonym czasie oceniana jest na podstawie świeżo przygotowanych roztworów analitu w wolnym od zanieczyszczeń materiale badanym. Próby uznawane są za stabilne, jeżeli w porównaniu z odpowiednim roztworem odniesienia uzyskane wyniki mieszczą się w przedziale 85-115% [78].

1.3.5.1 Test zamrażania i rozmrażania

Test zamrażania i rozmrażania (ang. *freeze and thaw stability*) wyznacza stopień strat spowodowanych wielokrotnym procesem zamrażania i rozmrażania prób.

Agencja FDA zaleca przeprowadzenie analizy prób wzorcowych dla stężenia niskiego i wysokiego (minimum 3 próby dla każdego stężenia). Badanie stabilności obejmuje analizę próbek przed zamrożeniem, następnie trzykrotny cykl zamrożenia próbek w temperaturze przechowywania (24 h w pierwszym cyklu, 12-24 h w kolejnych) i całkowitego rozmrożenia próbek w temperaturze pokojowej oraz analizę próbek po trzecim cyklu [78].

Tabela 14. Ocena stabilności roztworów wzorcowych dla paracetamolu o stężeniu 10,0 i 100,0 µg/ml na podstawie oznaczeń wykonanych przed zamrożeniem prób w temp. -20°C oraz po trzecim cyklu zamrażania i rozmrażania.

$C_{\text{nomin.}}$ [µg/ml]	$C_{\text{oznacz.}}$ przed zamrożeniem	$C_{\text{oznacz.}}$ po 3. cyklu	stabilność [%]
10,0	10,00	9,86	98,6
	9,88	9,77	98,8
	9,00	9,32	103,5
100,0	105,88	104,81	98,9
	107,99	108,99	100,9
	106,87	107,29	100,4

Tabela 15. Ocena stabilności roztworów wzorcowych dla glukuronianu paracetamolu o stężeniu 10,0 i 100,0 $\mu\text{g/ml}$ na podstawie oznaczeń wykonanych przed zamrożeniem prób w temp. -20°C oraz po trzecim cyklu zamrażania i rozmrażania.

$C_{\text{nomin.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	$C_{\text{oznacz.}}$ przed zamrożeniem	$C_{\text{oznacz.}}$ po 3. cyklu	stabilność [%]
10,0	9,81	9,71	98,9
	9,97	9,89	99,3
	9,96	9,71	97,4
100,0	106,22	105,77	99,6
	107,34	107,00	99,7
	106,01	105,00	99,1

1.3.6. Próby kontroli jakości

Próby kontroli jakości (QC) służą do monitorowania dokładności i precyzji w trakcie prowadzenia badania. Przygotowywane są na początku badania, w minimum trzech stężeniach z zakresu krzywej kalibracyjnej (niskiego ≤ 3 LLOQ, średniego i wysokiego: 75-90% najwyższego stężenia krzywej). Wyniki prób kontroli jakości są odczytywane z krzywej wzorcowej analizowanej w danym dniu. Rozmieszczenie prób QC w sekwencji analitycznej powinno być równomierne, a wyniki ich analizy stanowią podstawę do zatwierdzenia lub odrzucenia całej sekwencji analitycznej [78].

Tabela 16. Wyniki analizy prób kontroli jakości QC dla paracetamolu.

$C_{\text{nomin.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	$C_{\text{wyznacz.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]		$SD \pm S$	CV%
0,5	0,58	0,60	$0,59 \pm 0,02$	2,9
10,0	10,28	9,84	$10,06 \pm 0,31$	3,1
100,0	101,64	98,51	$100,07 \pm 2,22$	2,2

Tabela 17. Wyniki analizy prób kontroli jakości QC dla glukuronianu paracetamolu.

$C_{\text{nom.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]	$C_{\text{wyznac.}}$ [$\mu\text{g/ml}$]		$SD \pm S$	CV%
0,5	0,60	0,72	$0,66 \pm 0,08$	12,8
10,0	11,27	9,99	$10,63 \pm 0,91$	8,5
100,0	98,63	108,51	$103,57 \pm 6,98$	6,8

1.4. Metodyka obliczeń farmakokinetycznych

Obliczenia farmakokinetyczne zostały wykonane przy użyciu programu komputerowego Microsoft Excel z zastosowaniem kinetyki bezmodelowej.

U każdego badanego królika wyznaczono dla paracetamolu i glukuronianu paracetamolu doświadczalne wartości C_{max} i t_{max} , obliczono pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas (AUC), stałą terminalnej fazy eliminacji (k_{el}), biologiczny okres półtrwania ($t_{0,5}$), klirens leku (Cl) oraz objętość dystrybucji (V_d), średni czas przebywania leku w organizmie (MRT), pole powierzchni pod pierwszym momentem (AUMC).

Stałą eliminacji leku z ustroju (k_{el}) wyznaczono z nachylenia prostej $\ln C=f(t)$ utworzonej z punktów klasyfikowanych do terminalnej fazy eliminacji.

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas (AUC) obliczono korzystając ze wzorów:

$$AUC_{\text{cał.}} = AUC_t + AUC_r$$

$$AUC_t = \frac{1}{2}(C_1 * t_1) + [(C_1 + C_2)(t_2 - t_1) + (C_2 + C_3)(t_3 - t_2) + \dots + (C_{n-1} + C_n)(t_n - t_{n-1})]$$

$$AUC_r = \frac{C_t}{k_{\text{el}}}$$

$AUC_{\text{cał}}$	–	całkowite pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie
AUC_t	–	pole powierzchni pod krzywą zmian stężenie leku w czasie, obliczone metodą trapezów od 0 do ostatniego punktu pomiarowego = 5h
AUC_r	–	resztkowe pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie
C_t	–	ostatnie oznaczone stężenie leku
k_{el}	–	stała eliminacji

- Biologiczny okres półtrwania ($t_{0,5}$) wyznaczono ze wzoru:

$$t_{0,5} = \frac{\ln 2}{k_{el}}$$

k_{el} – stała eliminacji

- Klirens paracetamolu (Cl) obliczono ze wzoru:

$$Cl = \frac{D_{i.v.}}{AUC}$$

$D_{i.v.}$ – dawka leku podana dożylnie

AUC – pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie

- Objętość dystrybucji (V_d) obliczono ze wzoru:

$$V_d = \frac{D_{i.v.}}{(AUC * k_{el})} = \frac{Cl}{k_{el}}$$

- Pole powierzchni pod pierwszym momentem (AUMC) obliczono metodą zliczania trapezów:

$$AUMC_{(0 \rightarrow t)} = \left\{ \frac{\sum [(C_n * t_n) + (C_{n+1} * t_{n+1})]}{2} \right\} * (t_{n+1} - t_n)$$

$C_n * t_n, C_{n+1} * t_{n+1}$ – wartości kolejnych iloczynów stężenia i czasu

t_n, t_{n+1} – wartości kolejnych punktów czasowych

- Średni czas przebywania leku w organizmie (MRT- *Mean Residence Time*):

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

- AUMC – pole pod pierwszym momentem krzywej $t \cdot C = g(t)$, mierzone w przedziale czasu od zera do nieskończoności
- AUC – pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie

1.5. Metody statystyczne

Ocenę statystyczną wyników przeprowadzono w programie Instat w oparciu o analizę wariacji ANOVA, test t-Studenta, test Welcha oraz test Tukey'a.

Wartości $p < 0,05$ wskazywały na różnice istotne statystycznie.

2. Wyniki

2.1. Parametry biochemiczne

Wartości parametrów biochemicznych zwierząt doświadczalnych grup I-IV, wykonane przed oraz po zakończeniu badania zamieszczono w tabelach 28-36, natomiast ich ocenę statystyczną zamieszczono w tabelach 37-38.

Zanotowano różnice istotne statystycznie w poziomach AlAT i AspAT w grupach II i III (króliki z doświadczalnie wywołaną cukrzycą).

Zaobserwowano również w tych grupach istotny wzrost stężenia hemoglobiny glikowanej (HbA1C), co wskazuje na utrwaloną cukrzycę.

2.2. Stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu

2.2.1. Stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu królików zdrowych oraz z doświadczalnie wywołaną cukrzycą

Oznaczone stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu oraz obliczone średnie stężenia w osoczu królików zamieszczono w tabelach 39-50.

Zmiany stężeń jako funkcji czasu przedstawiają wykresy 1-4.

2.2.2. Stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu królików w analizie chronofarmakokinetycznej

Oznaczone stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu oraz obliczone średnie stężenia w osoczu królików zamieszczono w tabelach 51-56.

Zmiany stężeń jako funkcji czasu przedstawiają wykresy 5-6.

2.3. Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu

2.3.1. Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu królików zdrowych oraz z doświadczalnie wywołaną cukrzycą

Wyznaczone i obliczone indywidualne wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu i glukuronianu paracetamolu przedstawiają tabele 57-68.

Ocena statystyczna parametrów farmakokinetycznych została zaprezentowana w tabelach 75-78.

2.3.2. Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu królików w analizie chronofarmakokinetycznej

Wyznaczone i obliczone wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu i glukuronianu paracetamolu przedstawiają tabele 69-74.

Ocena statystyczna parametrów farmakokinetycznych została zaprezentowana w tabelach 79-80.

2.4. Przenikanie paracetamolu i glukuronianu paracetamolu do cieczy wodnistej oka

Porównanie stężeń paracetamolu i jego metabolitu w cieczy wodnistej oka do stężeń w osoczu przedstawiają tabele 81-84.

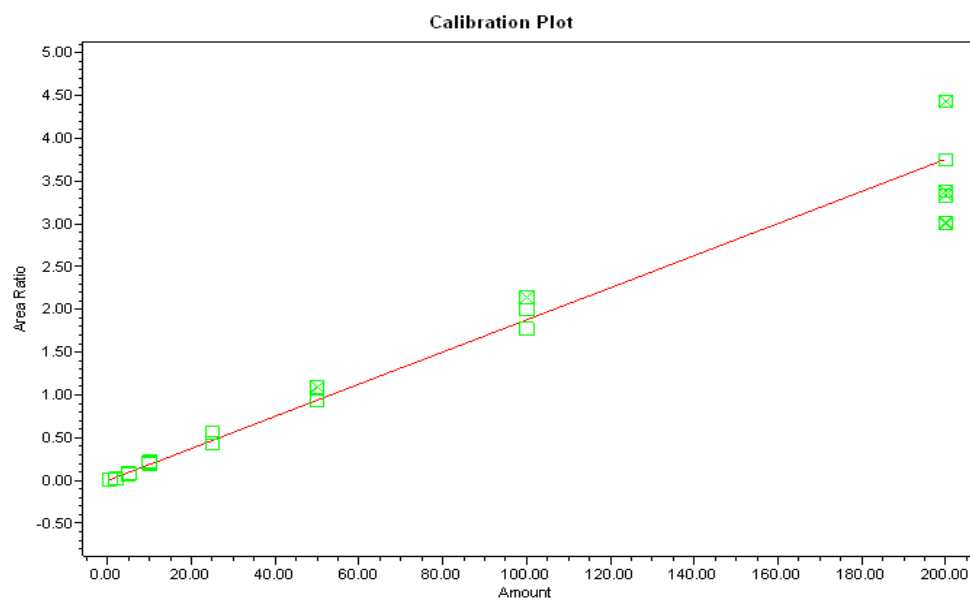
Ocena statystyczna średnich stężeń paracetamolu oznaczonych w cieczy wodnistej oka królików ilustrują tabele 87-88.

Ocena statystyczna średnich stężeń glukuronianu paracetamolu oznaczonych w cieczy wodnistej oka zostały ujęte w tabelach 89-90.

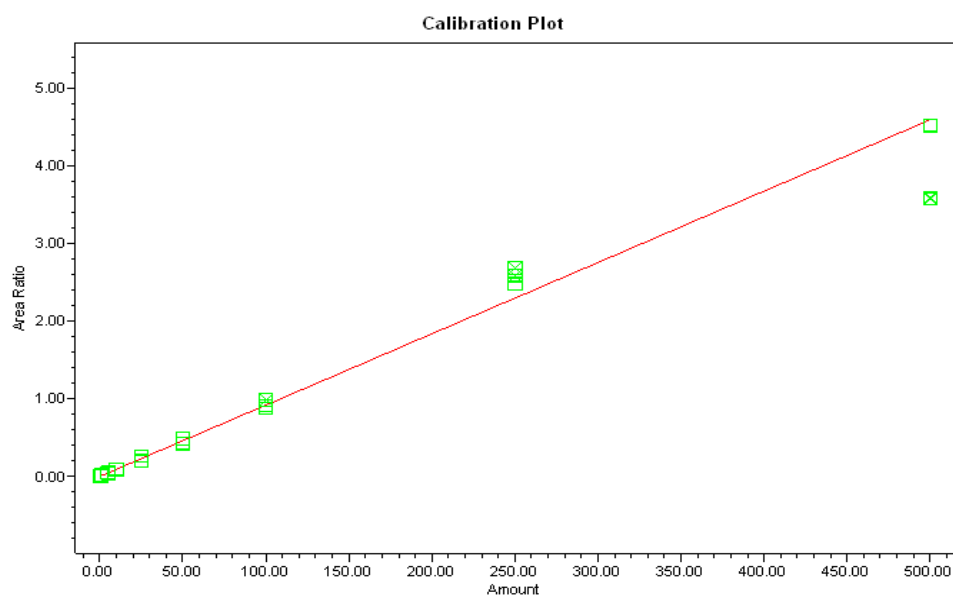
2.5. Parametry farmakokinetyczne paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w cieczy wodnistej oka

Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w cieczy wodnistej oka zostały przedstawione w tabelach 85-86.

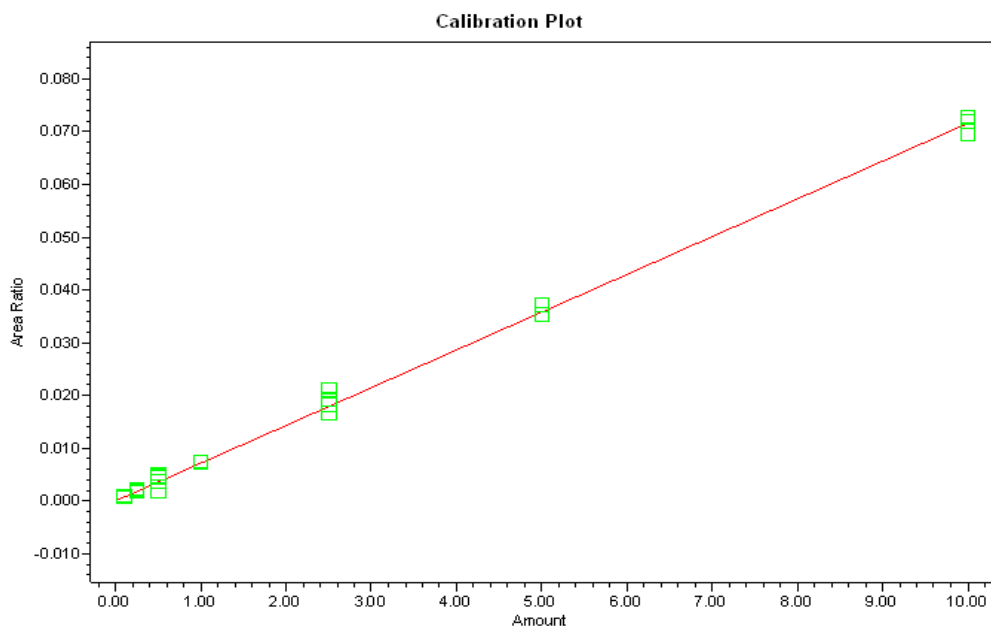
Rycina 5. Średnia krzywa kalibracyjna dla paracetamolu ($y=2,11e-002x-1,67e-002$) w osoczu.



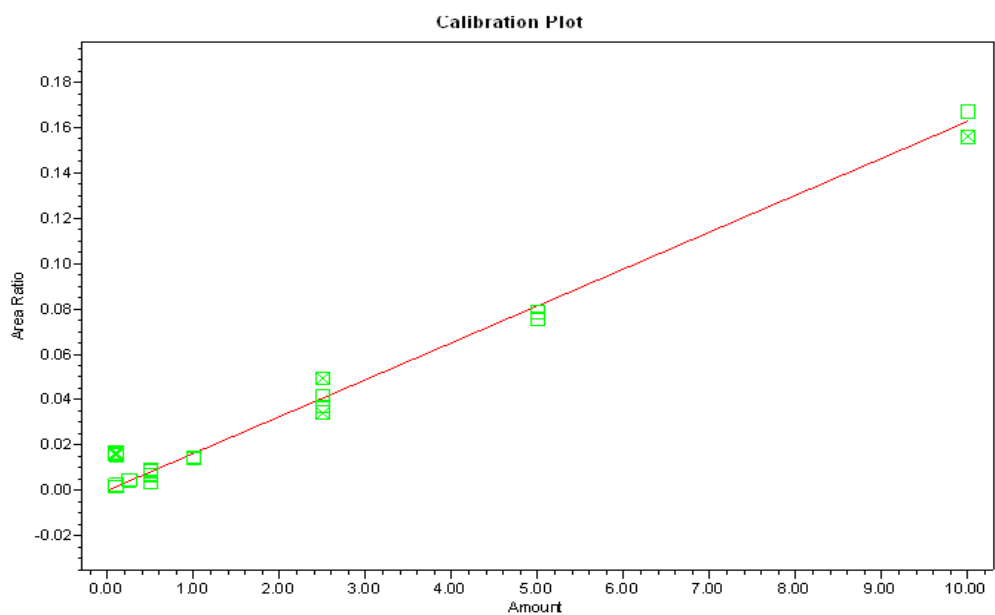
Rycina 6. Średnia krzywa kalibracyjna dla glukuronianu paracetamolu ($y=9,47e-003x + 6,45e-003$) w osoczu.

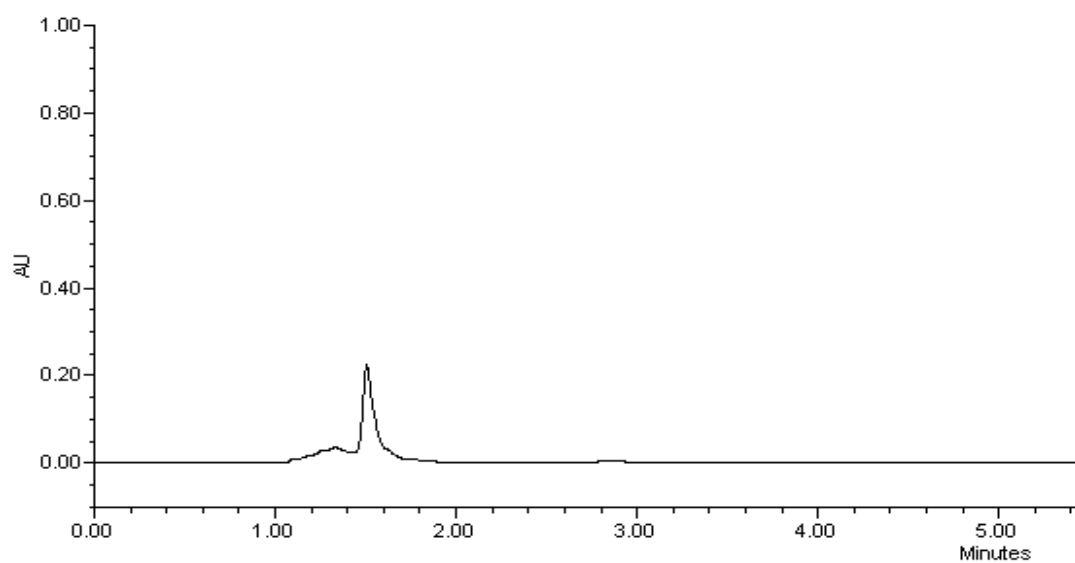
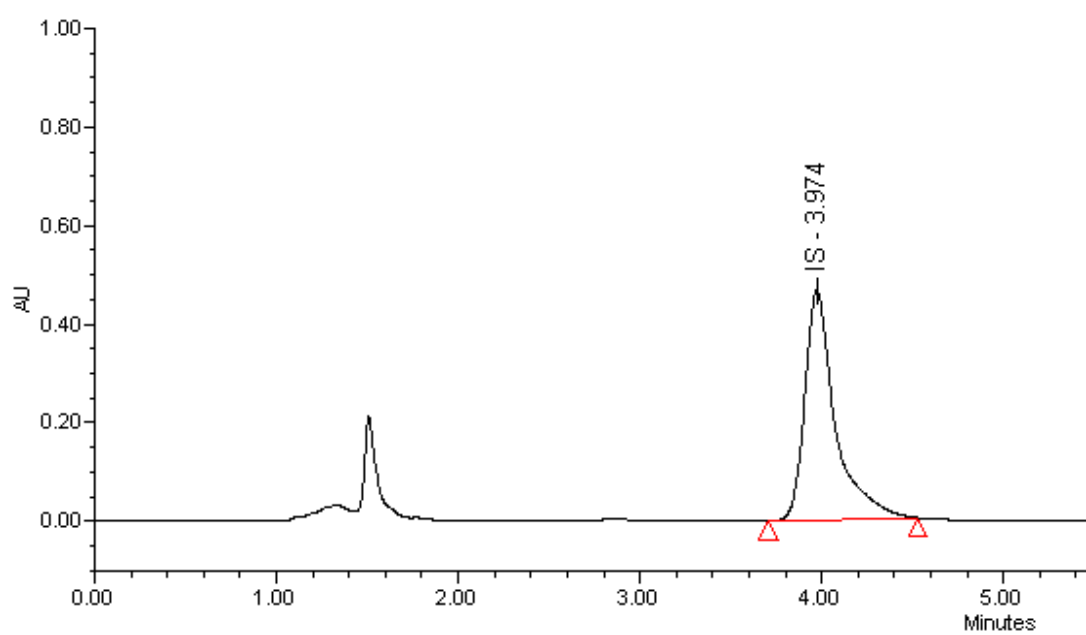


Rycina 7. Średnia krzywa kalibracyjna dla paracteamolu ($y=1,65e-002x$) w wodzie.

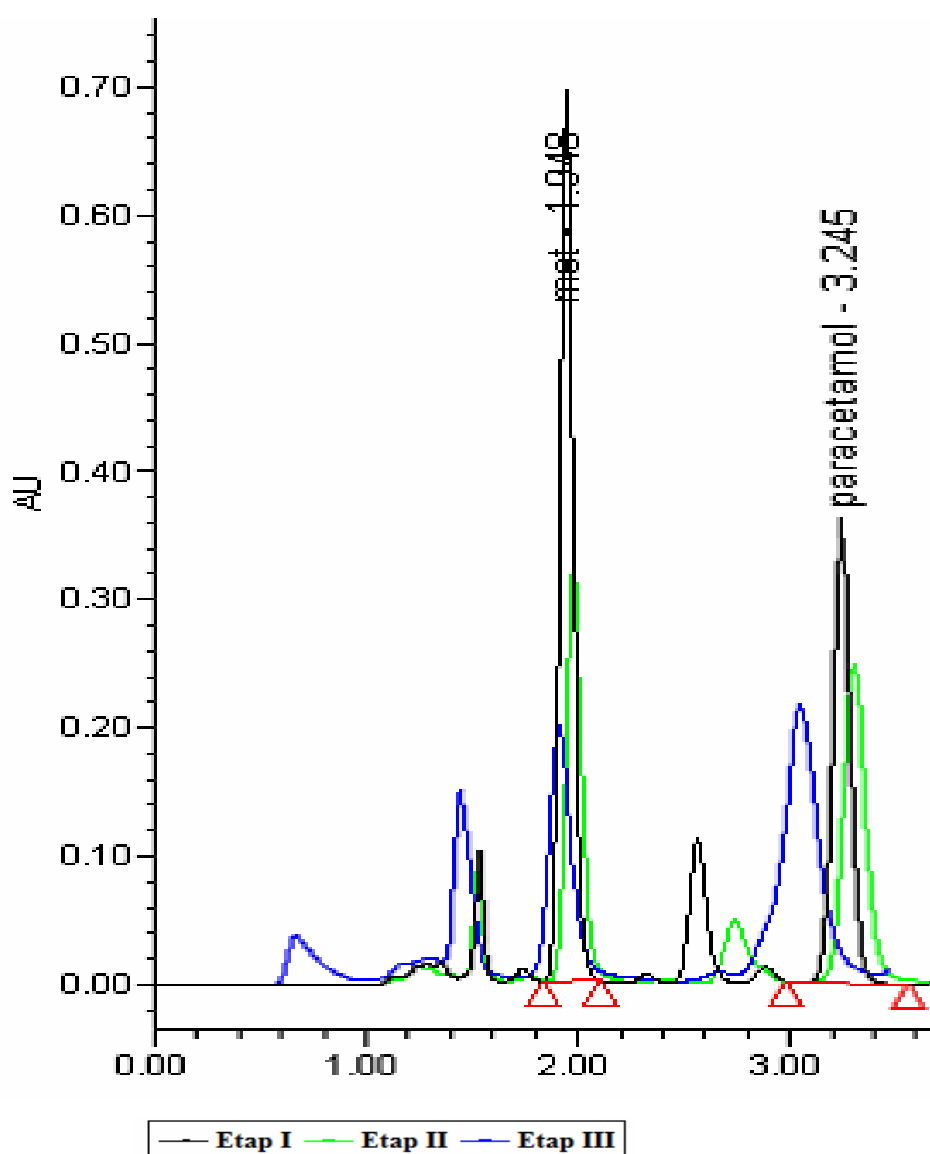


Rycina 8. Średnia krzywa kalibracyjna dla glukuronianu paracteamolu ($y=7,05e-003x$) w wodzie.

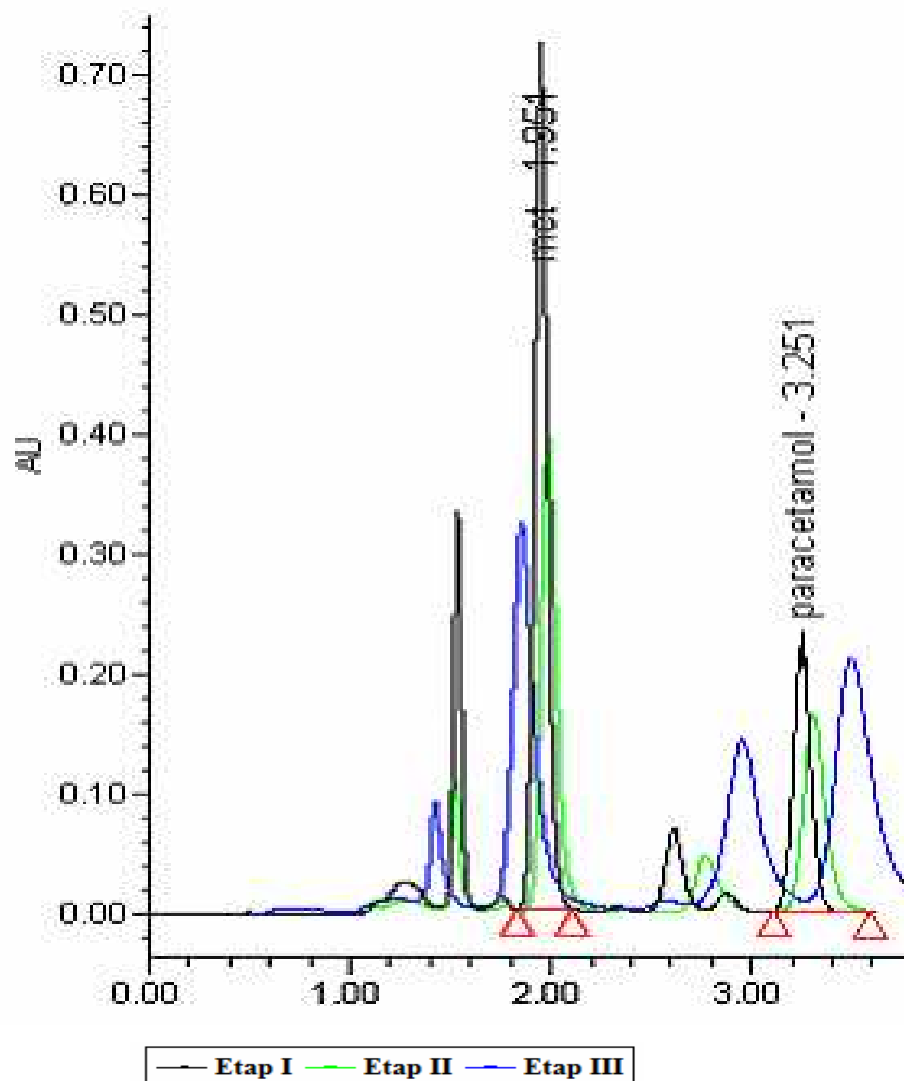


Rycina 9. Przykładowy chromatogram próby „ślepej”.**Rycina 10.** Przykładowy chromatogram próby zerowej.

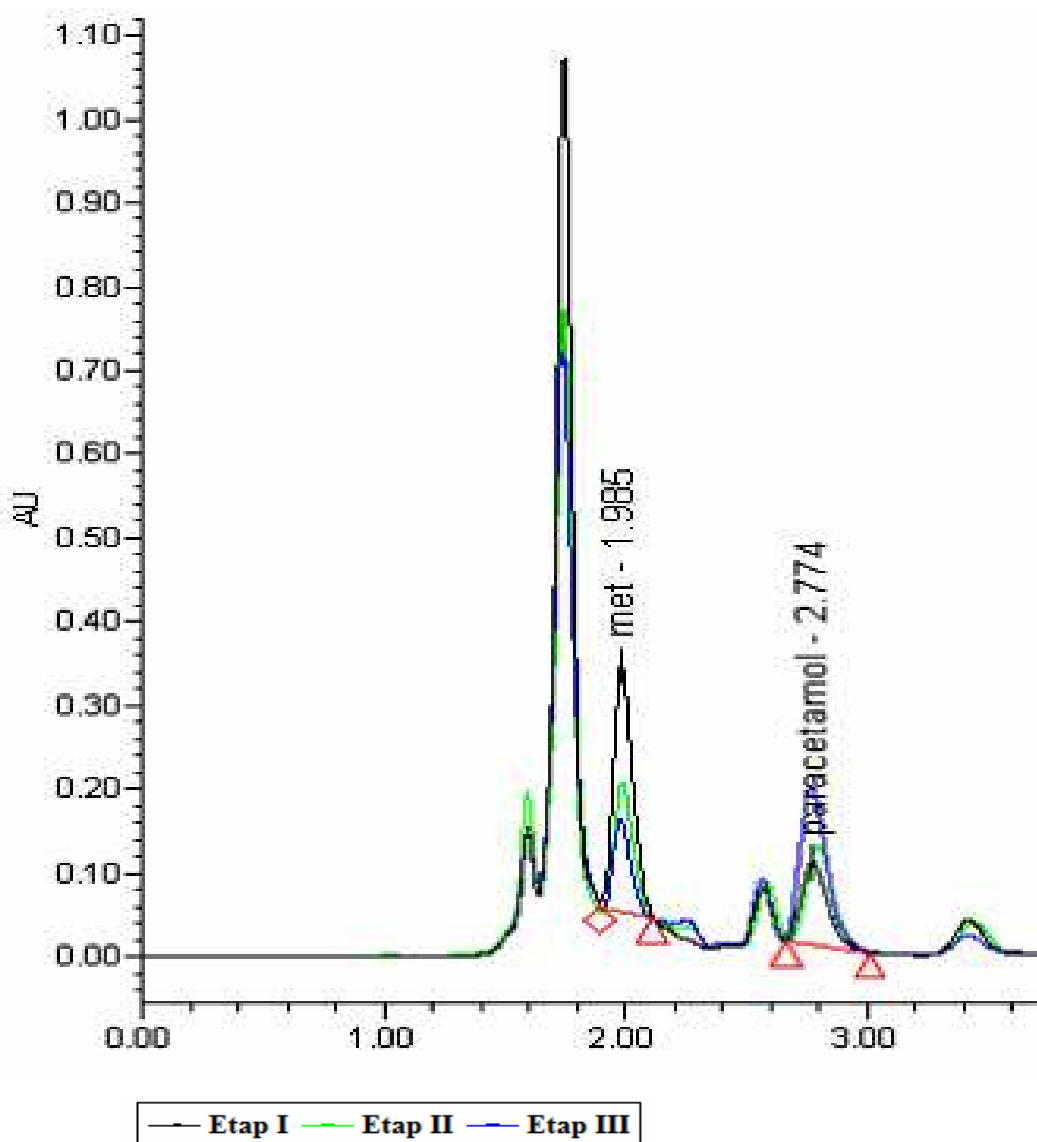
Rycina 11. Przykładowy chromatogram próbki osocza królika K12 5' ($C_{\text{par (I)}}=45,5 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{par (II)}}=61,1 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{par (III)}}=14,7 \mu\text{g/ml}$; $C_{\text{met (I)}}=132,9 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{met (II)}}=68,3 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{met (III)}}=26,7 \mu\text{g/ml}$).



Rycina 12. Przykładowy chromatogram próbki osocza królika K31 15' ($C_{\text{par (I)}}=32,1 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{par (II)}}=33,9 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{par (III)}}=10,8 \mu\text{g/ml}$; $C_{\text{met (I)}}=153,5 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{met (II)}}=109,6 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{met (III)}}=36,7 \mu\text{g/ml}$).



Rycina 13. Przykładowy chromatogram próbki osocza królika K7 45' ($C_{\text{par}}(8.00)=21,2 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{par}}(16.00)=39,7 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{par}}(22.00)=34,7 \mu\text{g/ml}$; $C_{\text{met}}(8.00)=189,9 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{met}}(16.00)=168,3 \mu\text{g/ml}$ vs. $C_{\text{met}}(22.00)=186,1 \mu\text{g/ml}$).



Rycina 14. Przykładowy chromatogram próbki cieczy wodnistej oka K11 60' ($C_{\text{par (II)}}=3,198$ $\mu\text{g/ml}$; $C_{\text{met (II)}}=2,057$ $\mu\text{g/ml}$).

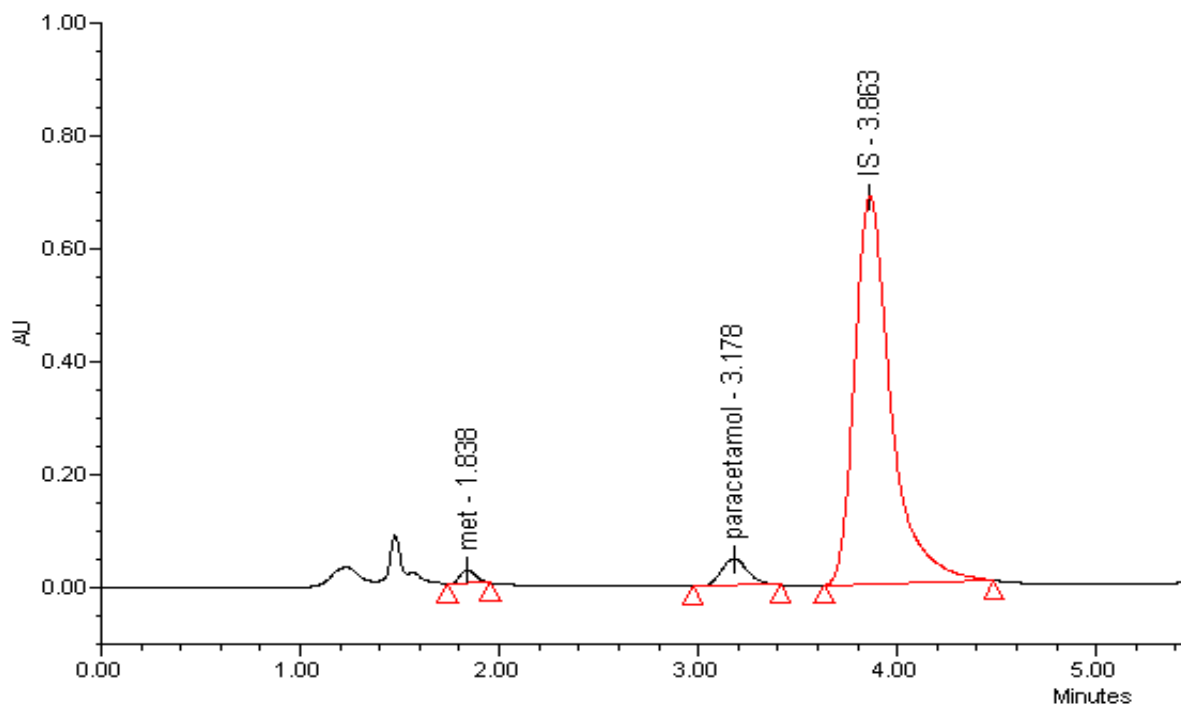


Tabela 18. Charakterystyka królików z cukrzycą aloksanową (etap I_{4tyg.}).

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par i.v.} [mg]	Numer grupy
1	3,4	119,0	III
8	3,2	112,0	III
12	2,9	101,5	III
16	3,3	115,5	III
17	3,1	108,5	III
21	3,5	122,5	III
23	3,1	108,5	III
24	3,2	112,0	III
S	3,213	112,437	
SD	0,189	6,598	
Mediana	3,2	112,0	

Tabela 19. Charakterystyka królików z cukrzycą aloksanową (etap II_{8tyg.}).

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par i.v.} [mg]	Numer grupy
1	3,3	115,5	III
8	3,0	105,0	III
12	2,4	80,4	III
17	3,0	105,0	III
21	3,8	133,0	III
23	3,0	105,0	III
24	3,1	108,5	III
S	3,086	107,5	
SD	0,418	15,644	
Mediana	3,0	105,0	

Tabela 20. Charakterystyka królików z cukrzycą aloksanową (etap III_{12tyg.}).

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par} <i>i.v.</i> [mg]	Numer grupy
1	3,4	119,0	III
8	4,0	140,0	III
12	2,2	77,0	III
17	4,4	154,0	III
21	4,0	140,0	III
23	3,0	105,0	III
24	3,0	105,0	III
25	3,4	119,0	III
S	3,425	119,875	
SD	0,705	24,660	
Mediana	3,4	119,0	

Tabela 21. Charakterystyka królików zdrowych (etap I_{4tyg.}).

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par} <i>i.v.</i> [mg]	Numer grupy
26	3,9	136,5	IV
27	4,2	147,0	IV
28	4,0	140,0	IV
29	3,8	133,0	IV
30	3,7	129,5	IV
31	4,2	147,0	IV
32	3,9	136,5	IV
33	4,3	150,5	IV
34	3,7	129,5	IV
S	3,967	138,83	
SD	0,224	7,826	
Mediana	3,9	136,5	

Tabela 22. Charakterystyka królików zdrowych (etap II_{8tyg.}).

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par} <i>i.v.</i> [mg]	Numer grupy
26	3,9	136,5	IV
27	4,1	143,5	IV
28	4,1	143,5	IV
29	3,8	133,0	IV
30	3,9	136,5	IV
31	4,0	147,0	IV
32	4,2	140,0	IV
33	4,0	147,0	IV
34	3,9	136,5	IV
S	3,92	140,4	
SD	0,127	5,085	
Mediana	4,0	140,0	

Tabela 23. Charakterystyka królików zdrowych (etap III_{12tyg.}).

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par} <i>i.v.</i> [mg]	Numer grupy
27	4,3	150,5	IV
28	4,4	154,0	IV
29	3,9	136,5	IV
30	4,1	143,5	IV
31	4,3	150,5	IV
32	4,2	147,0	IV
33	4,5	157,5	IV
34	4,1	143,5	IV
S	4,225	147,875	
SD	0,19	6,68	
Mediana	4,25	148,75	

Tabela 24. Randomizacja królików i godzina podania dożylnego paracetamolu w poszczególnych dobach badania w analizie chronofarmakokinetycznej.

Numer królika	Etap I	Etap II	Etap III
1	8 ⁰⁰	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰
2	8 ⁰⁰	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰
3	8 ⁰⁰	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰
4	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰	8 ⁰⁰
5	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰	8 ⁰⁰
6	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰	8 ⁰⁰
7	22 ⁰⁰	8 ⁰⁰	16 ⁰⁰
8	22 ⁰⁰	8 ⁰⁰	16 ⁰⁰
9	22 ⁰⁰	8 ⁰⁰	16 ⁰⁰

Tabela 25. Charakterystyka królików etap I_{8,00}.

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par} <i>i.v.</i> [mg]
1	2,9	101,5
2	3,5	122,5
3	3,8	133,0
4	3,5	122,5
5	2,8	98,0
6	3,2	112,0
7	2,8	98,0
8	3,3	115,5
9	3,4	119,0
S	3,24	113,56
SD	0,35	12,26
Mediana	3,30	115,50

Tabela 26. Charakterystyka królików etap II_{16.00}.

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par} <i>i.v.</i> [mg]
1	3,3	115,5
2	3,3	115,5
3	4,0	140,0
4	3,1	108,5
5	3,1	108,5
6	3,4	119,0
7	2,8	98,0
8	3,3	115,5
9	3,1	108,5
S	3,27	114,33
SD	0,33	11,47
Mediana	3,30	115,50

Tabela 27. Charakterystyka królików etap III_{22.00}.

Numer królika	Masa ciała [kg]	Dawka _{par} <i>i.v.</i> [mg]
1	3,0	105,0
2	3,4	119,0
3	3,9	136,5
4	3,2	112,0
5	3,1	108,5
6	3,5	122,5
7	2,7	94,5
8	3,6	126,0
9	3,4	119,0
S	3,31	115,89
SD	0,35	12,43
Mediana	3,40	119,00

Tabela 28. Średnie stężenia glukozy w osoczu krwi królików.

Etap	Grupa I	Grupa II	Grupa III	Grupa IV
	S ± SD [mg/dl]	S ± SD [mg/dl]	S ± SD [mg/dl]	S ± SD [mg/dl]
0	99,50 ± 8,81	460,33 ± 110,04	487,75 ± 76,81	112,00 ± 10,54
I	108,25 ± 12,09	419,17 ± 101,60	487,50 ± 83,52	115,00 ± 1,00
II	102,75 ± 7,54	404,40 ± 127,91	471,12 ± 43,34	119,67 ± 10,59
III	111,75 ± 12,53	431,33 ± 90,58	523,83 ± 132,15	118,33 ± 15,82

Tabela 29. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy I - etap I₄tyg.

Nr królika	AlAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
2	57,0	19,0	31,0	0,88	46,5	<0,010	3,2
6	48,0	38,0	46,0	0,92	54,8	<0,010	3,5
10	41,0	15,0	62,0	1,00	54,0	<0,010	3,6
14	68,0	47,0	70,0	0,90	58,6	<0,010	4,3
S	53,50	29,75	52,25	0,93	53,48	-	3,65
SD	11,67	15,26	17,33	0,05	5,06	-	0,50
CV%	21,8	51,3	33,2	5,7	9,5	-	12,7

Tabela 30. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy II - etap I₄tyg.

Nr królika	AlAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
7	97,0	35,0	73,0	1,11	55,8	<0,010	5,4
9	30,0	88,0	44,0	0,95	42,6	<0,010	5,6
11	133,0	57,0	55,0	0,95	56,1	<0,010	4,7
13	57,0	194,0	67,0	1,04	55,9	<0,010	5,6
18	-	-	-	-	-	-	8,3
25	147,0	117,0	81,0	1,19	56,2	<0,010	10,2
S	92,80	98,20	64,0	1,05	53,32	-	6,63
SD	49,49	61,90	14,66	0,10	5,99	-	2,14
CV%	53,3	63,0	22,9	9,9	11,2	-	32,3

Tabela 31. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy III - etap I₄tyg.

Nr królika	AIAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
1	181,0	202,0	61,0	1,25	44,1	<0,010	8,0
8	53,0	168,0	47,0	0,99	39,8	<0,010	7,9
12	144,0	330,0	93,0	1,22	56,5	<0,010	8,1
17	215,0	398,0	79,0	1,19	47,1	<0,010	8,9
21	122,0	179,0	71,0	1,29	55,5	<0,010	7,5
23	100,0	52,0	66,0	1,30	59,6	<0,010	4,0
24	230,0	464,0	65,0	1,34	55,1	<0,010	9,3
S	149,28	256,14	68,86	1,23	51,1	-	7,67
SD	63,65	145,55	14,45	0,12	7,41	-	1,73
CV%	42,6	56,8	20,9	9,4	14,5	-	22,6

Tabela 32. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy IV - etap I₄tyg.

Nr królika	AIAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
26	38,0	42,0	93,0	1,41	56,6	<0,010	6,9
27	152,0	60,0	51,0	1,26	53,0	<0,010	4,3
28	54,0	32,0	48,0	1,07	59,2	<0,010	skrzep
29	51,0	40,0	46,0	1,21	51,6	<0,010	3,7
30	69,0	49,0	44,0	1,11	65,0	<0,010	3,6
31	95,0	46,0	51,0	0,98	52,6	<0,010	skrzep
32	95,0	94,0	54,0	1,14	55,3	<0,010	3,4
33	71,0	40,0	53,0	1,26	59,7	<0,010	3,5
34	36,0	31,0	66,0	1,35	51,0	<0,010	3,4
S	73,44	48,22	56,22	1,19	56,00	-	4,11
SD	36,51	19,28	15,16	0,14	4,62	-	1,27
CV%	49,7	39,9	26,9	11,5	8,3	-	30,8

Tabela 33. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy I - etap II₈tyg.

Nr królika	AIAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
2	50,0	14,0	40,0	0,80	46,7	<0,010	3,2
6	73,0	49,0	51,0	0,84	57,8	<0,010	3,4
10	27,0	13,0	50,0	0,94	52,7	<0,010	3,1
14	110,0	190,0	49,0	0,99	110,0	<0,010	4,2
S	65,00	66,50	47,50	0,89	66,80	-	3,47
SD	35,39	84,02	5,07	0,09	29,15	-	0,49
CV%	54,5	126,3	10,7	9,8	43,6	-	14,4

Tabela 34. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy II - etap II_{8tyg.}.

Nr królika	AIAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
7	91,0	26,0	51,0	1,05	58,9	<0,010	4,1
11	91,0	33,0	55,0	1,03	56,2	<0,010	4,4
13	210,0	437,0	64,0	1,24	54,6	<0,010	8,1
25	156,0	217,0	80,0	1,40	57,3	<0,010	9,6
S	137,00	178,25	62,50	1,18	56,75	-	6,55
SD	57,51	193,84	12,87	0,17	1,81	-	2,72825
CV%	41,9	108,7	20,6	14,8	3,2	-	41,6526

Tabela 35. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy III - etap II_{8tyg.}.

Nr królika	AIAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
1	217,0	462,0	63,0	1,59	52,7	<0,010	8,8
8	75,0	159,0	71,0	1,44	49,4	<0,010	7,8
12	237,0	303,0	91,0	1,24	54,1	0,016	8,4
17	149,0	220,0	88,0	1,37	53,2	<0,010	6,8
21	107,0	36,0	64,0	1,51	57,0	<0,010	3,8
23	231,0	663,0	59,0	1,30	51,8	<0,010	8,1
24	84,0	265,0	81,0	1,25	52,0	<0,010	5,7
S	157,14	301,14	73,86	1,38	52,92	-	7,06
SD	70,82	206,24	12,84	0,13	2,55	-	1,78
CV%	45,1	68,5	17,4	9,6	4,8	-	25,2

Tabela 36. Wyniki badań biochemicznych królików z grupy IV - etap II_{8tyg.}.

Nr królika	AIAT [U/l]	AspAT [U/l]	Mocznik [mg/dl]	Kreatynina [mg/dl]	Albumina [g/l]	C peptyd [ng/ml]	Hba1C [%]
26	138,0	66,0	38,0	1,30	56,0	<0,010	3,6
27	62,0	35,0	37,0	1,15	57,9	<0,010	3,3
28	38,0	37,0	44,0	1,34	54,2	<0,010	3,4
29	44,0	38,0	33,0	1,16	62,0	<0,010	3,4
30	58,0	33,0	48,0	1,05	54,9	<0,010	3,5
31	120,0	58,0	52,0	1,17	53,3	<0,010	3,5
32	60,0	24,0	47,0	1,60	62,0	<0,010	3,4
33	33,0	24,0	65,0	1,37	57,7	<0,010	3,5
34	59,0	41,0	53,0	1,39	67,0	<0,010	3,5
S	68,00	39,56	46,33	1,28	58,33	-	3,45
SD	36,38	14,13	9,79	0,17	4,50	-	0,09
CV%	53,5	35,7	21,1	13,0	7,7	-	2,5

Tabela 37. Ocena statystyczna (analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a) parametrów biochemicznych w etapie I_{4tyg.}.

Nr grupy	AIAT I [U/l]	AspAT I [U/l]	Mocznik I [mg/dl]	Kreatynina I [mg/dl]	Albumina I [g/l]	Hba1C I [%]
I vs. II	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
I vs. III	p>0,01	p<0,01	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,01
I vs. IV	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
II vs. III	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05
II vs. IV	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,01
II vs. IV	p>0,05	p<0,01	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p<0,001

Tabela 38. Ocena statystyczna (analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a) parametrów biochemicznych w etapie II_{8tyg.}.

Nr grupy	AIAT II [U/l]	AspAT II [U/l]	Mocznik II [mg/dl]	Kreatynina II [mg/dl]	Albumina II [g/l]	Hba1C II [%]
I vs. II	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
I vs. III	p<0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,01
I vs. IV	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
II vs. III	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05
II vs. IV	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p<0,05
II vs. IV	p<0,01	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,001

Tabela 39. Stężenia paracetamolu w osoczu u królików z cukrzycą aloksanową – etap I_{4tyg.}

t [min]	C _{par} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 16	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24			
5	54,774	42,522	45,537	53,247	56,062	61,176	47,304	47,043		50,96 ± 6,32	12,4
15	25,130	16,436	24,676	32,268	21,148	23,761	23,688	15,404		22,81 ± 5,32	23,3
30	16,250	14,529	12,957	15,038	14,911	11,111	11,974	10,993		13,47 ± 1,98	14,7
45	7,713	5,970	8,211	9,088	10,875	8,069	6,651	6,910		7,94 ± 1,54	19,4
60	5,953	2,894	3,853	5,501	6,206	3,668	4,379	4,245		4,59 ± 1,18	25,7
80	3,210	2,028	3,422	3,871	3,512	1,959	2,634	2,660		2,91 ± 0,70	24,1
100	2,112	0,906	1,277	2,404	2,314	1,187	1,523	1,560		1,66 ± 0,55	33,4
120	1,616	0,636	1,216	2,029	1,281	0,701	1,094	1,195		1,22 ± 0,45	37,2
180	0,684	0,300	0,669	1,018	0,659	0,371	0,731	0,706		0,64 ± 0,22	34,6
240	0,803	0,204	0,324	0,676	0,477	0,344	0,658	0,386		0,48 ± 0,2 1	42,9
300	0,635	0,175	0,314	0,673	0,413	-*	0,378	-*		0,43 ± 0,19	44,3

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

* - brak danych

Tabela 40. Stężenia glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików z cukrzycą aloksanową – etap I_{4tyg.}

t [min]	C _{met} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 16	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24			
5	94,228	148,137	132,942	89,682	154,307	156,360	176,326	153,130		138,14 ± 30,89	22,4
15	163,311	202,549	157,823	165,430	183,133	270,057	181,325	156,187		184,98 ± 37,76	20,4
30	165,036	267,929	117,648	129,696	166,746	206,027	150,824	140,539		168,06 ± 48,54	28,9
45	115,877	172,000	108,085	109,795	120,092	191,405	106,199	108,239		128,96 ± 33,28	25,8
60	96,534	89,926	57,736	85,649	85,597	127,953	78,781	83,626		88,23 ± 19,65	22,3
80	73,390	74,731	60,701	71,683	55,979	95,140	56,946	57,080		68,21 ± 13,43	19,7
100	51,818	38,540	22,659	51,677	40,680	94,414	30,490	37,053		45,92 ± 21,91	47,7
120	42,407	29,215	23,195	44,509	22,217	39,692	22,162	28,109		31,44 ± 9,37	29,8
180	12,936	10,037	13,971	18,747	9,756	11,373	11,564	12,588		12,62 ± 2,85	22,6
240	7,101	3,519	2,714	7,893	4,481	2,414	4,217	2,624		4,37 ± 2,08	47,6
300	3,458	1,687	1,390	5,687	2,949	-*	3,028	-*		3,03 ± 1,53	50,5

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

* - brak danych

Tabela 41. Stężenia paracetamolu w osoczu u królików zdrowych – etap I_{4tyg.}

t [min]	C _{par} [µg/ml]										S ± SD	CV%
	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34			
5	58,778	71,841	67,227	62,400	57,952	60,604	63,497	85,550	75,471	67,04 ± 9,11	13,6	
15	36,552	44,074	37,191	38,254	44,903	32,108	40,100	59,688	44,765	41,96 ± 7,92	18,9	
30	22,587	32,922	22,194	20,502	14,741	20,515	21,053	39,015	29,031	24,73 ± 7,49	30,3	
45	21,451	22,201	16,663	10,529	10,012	15,068	13,441	23,054	17,242	16,63 ± 4,87	29,3	
60	8,943	14,723	11,066	10,111	9,065	10,300	9,575	13,386	12,784	11,11 ± 2,06	18,5	
80	8,702	3,972	8,395	3,918	7,457	6,157	4,447	7,815	6,625	6,39 ± 1,88	29,5	
100	5,954	3,849	5,611	2,681	3,503	3,306	2,256	7,530	5,290	4,44 ± 1,74	39,2	
120	3,695	2,715	3,352	2,613	2,133	2,274	1,932	3,515	3,277	2,83 ± 0,65	22,8	
180	1,107	0,981	1,500	1,399	0,621	0,843	0,519	1,240	1,758	1,18 ± 0,37	31,3	
240	0,867	0,590	0,808	0,535	0,472	0,658	0,593	0,694	1,189	0,71 ± 0,22	30,7	
300	0,788	0,311	0,662	0,405	0,602	0,501	0,336	0,480	0,790	0,54 ± 0,18	33,3	

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

Tabela 42. Stężenia glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików zdrowych – etap I_{4tyg.}

t [min]	C _{met} [µg/ml]										S ± SD	CV%
	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34			
5	129,696	120,741	170,875	212,486	160,365	114,155	151,405	117,932	130,574	145,36 ± 32,04	22,1	
15	175,201	278,898	186,136	245,130	276,431	153,54	243,155	247,186	193,978	222,18 ± 45,78	20,6	
30	150,420	318,895	164,730	212,687	121,459	147,213	229,720	289,119	223,944	206,46 ± 67,06	32,5	
45	159,626	264,402	136,692	159,136	97,387	120,882	202,256	260,942	198,202	177,73 ± 58,63	32,9	
60	73,869	220,642	100,458	167,817	99,104	92,845	161,367	239,368	187,114	149,18 ± 60,11	40,3	
80	69,949	60,485	86,053	70,814	83,940	65,507	105,865	145,891	123,530	90,23 ± 29,14	32,3	
100	51,613	63,198	63,114	55,134	50,508	37,947	58,872	191,382	116,097	76,43 ± 48,31	63,2	
120	34,156	45,663	43,153	53,081	31,794	29,070	54,380	100,934	77,897	52,24 ± 23,56	45,1	
180	11,357	15,43	17,919	33,393	7,487	9,088	14,002	46,873	36,278	21,31 ± 13,97	65,6	
240	5,536	5,683	7,728	8,550	2,415	3,954	7,261	17,174	13,150	7,94 ± 4,62	58,2	
300	2,980	0,902	4,165	3,548	2,179	1,846	2,810	6,465	4,572	3,27 ± 1,65	50,5	

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

Tabela 43. Stężenia paracetamolu w osoczu u królików z cukrzycą aloksanową – etap II_{8tyg.}

t [min]	C _{par} [µg/ml]							S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24		
5	47,223	50,786	61,142	24,173	31,800	14,589	23,548	36,18 ± 17,07	47,2
15	33,446	20,085	28,721	7,233	16,803	18,073	18,030	20,34 ± 8,53	41,9
30	25,476	10,853	11,525	5,882	7,042	5,027	11,582	11,06 ± 6,92	62,6
45	13,920	6,873	8,390	3,411	8,781	5,686	4,117	7,31 ± 3,54	48,4
60	10,881	5,424	5,960	2,138	4,634	3,533	5,272	5,41 ± 2,74	50,7
80	6,901	3,277	3,836	1,310	3,205	2,010	2,643	3,31 ± 1,79	54,2
100	4,577	1,979	2,687	0,733	1,910	1,275	1,715	2,13 ± 1,24	58,3
120	3,463	1,502	1,813	0,328	1,264	0,834	1,172	1,48 ± 0,99	67,1
180	1,353	0,649	1,386	0,178	0,198	0,098	0,660	0,65 ± 0,54	84,0
240	0,925	0,517	1,073	0,140	0,123	0,238	0,419	0,49 ± 0,38	76,9
300	0,782	0,688	-*	0,168	0,097	0,118	0,531	0,39 ± 0,31	77,3

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

* - brak danych

Tabela 44. Stężenia glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików z cukrzycą aloksanową – etap II_{8tyg.}

t [min]	C _{met} [µg/ml]								S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24			
5	46,880	123,991	68,321	74,853	93,522	21,094	61,525	78,18 ± 27,20	34,8	
15	98,962	156,078	107,187	61,577	148,200	106,449	117,176	101,47 ± 47,44	46,7	
30	128,56	128,768	85,826	72,360	71,079	45,633	119,818	101,84 ± 25,35	24,9	
45	95,924	96,551	74,611	54,406	113,579	64,253	74,558	79,32 ± 24,31	30,7	
60	94,219	83,604	61,587	35,420	75,538	48,725	68,229	68,98 ± 18,69	27,1	
80	76,227	59,959	41,738	20,223	55,377	32,282	58,621	51,55 ± 17,46	33,9	
100	55,487	37,081	30,159	13,235	38,936	25,488	49,486	36,67 ± 13,75	37,5	
120	49,977	29,510	13,440	11,946	30,980	18,176	36,248	28,23 ± 13,15	46,6	
180	23,907	9,829	7,849	4,109	13,622	7,341	20,682	14,02 ± 7,23	51,5	
240	11,919	3,757	4,709	1,944	5,896	2,323	10,413	6,57 ± 3,59	54,6	
300	7,694	1,554	-*	2,026	2,377	1,778	6,500	3,75 ± 2,64	70,5	

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

* - brak danych

Tabela 45. Stężenia paracetamolu w osoczu u królików zdrowych – etap II_{8tyg.}

t [min]	C _{par} [µg/ml]										S ± SD	CV%
	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34			
5	43,612	38,967	0,144	9,908	28,041	53,588	67,804	66,174	43,768		39,11 ± 23,19	59,3
15	53,887	47,353	25,157	14,724	31,740	33,966	62,552	43,738	76,256		43,26 ± 19,21	44,4
30	29,263	13,206	15,759	9,777	19,450	36,371	27,123	40,338	27,170		24,27 ± 10,45	43,1
45	20,922	9,717	9,759	5,885	12,128	20,301	21,445	33,389	15,059		16,51 ± 8,43	51,1
60	27,652	10,297	6,933	3,638	13,134	11,255	11,216	24,953	9,697		13,19 ± 7,95	60,3
80	15,741	6,541	3,610	1,157	7,073	7,131	9,019	19,939	9,501		8,86 ± 5,79	65,5
100	8,727	4,111	3,394	1,070	6,461	3,749	4,303	14,133	3,746		5,52 ± 3,86	69,9
120	6,422	2,702	1,895	0,573	4,562	2,839	4,948	8,186	3,730		3,98 ± 2,34	58,8
180	2,947	1,230	0,972	0,213	1,036	0,959	1,133	4,795	3,011		1,81 ± 1,46	80,5
240	1,449	0,445	0,397	0,118	0,388	0,164	0,329	4,725	1,127		1,02 ± 1,46	143,8
300	0,824	0,352	0,260	0,063	-*	0,053	0,156	2,420	0,778		0,61 ± 0,79	128,6

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

* - brak danych

Tabela 46. Stężenia glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików zdrowych – etap II_{8tyg.}

t [min]	C _{met} [µg/ml]										S ± SD	CV%
	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34			
5	58,968	75,495	2,362	28,575	51,966	82,073	142,093	104,892	248,036		88,27 ± 72,47	82,1
15	143,287	215,031	115,386	115,431	90,529	109,559	422,825	136,645	177,317		169,56 ± 102,32	60,3
30	96,578	82,464	89,043	100,301	71,151	181,358	207,301	152,239	286,637		140,79 ± 72,45	51,5
45	74,833	69,287	77,386	68,249	46,393	119,163	167,883	141,365	193,431		106,44 ± 51,25	48,1
60	105,578	75,144	69,245	46,582	57,657	72,372	90,484	108,889	149,500		86,16 ± 31,43	36,5
80	62,337	51,993	40,145	22,757	35,180	45,154	71,223	100,397	174,783		67,11 ± 46,32	69,0
100	34,458	32,318	41,476	23,898	34,124	28,820	37,928	72,240	72,562		41,98 ± 17,96	42,8
120	24,235	20,854	29,426	17,014	22,387	20,522	45,398	45,932	78,377		33,79 ± 19,79	58,6
180	11,378	8,367	17,042	6,421	5,003	7,178	8,360	26,561	76,313		18,51 ± 22,69	122,6
240	2,500	2,602	8,311	2,788	1,732	1,401	7,245	19,920	22,004		7,61 ± 7,96	104,6
300	0,586	0,382	5,226	1,346	-*	0,954	2,056	7,390	14,378		4,04 ± 4,86	120,4

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

* - brak danych

Tabela 47. Stężenia paracetamolu w osoczu u królików z cukrzycą aloksanową – etap III_{12tyg.}

t [min]	C _{par} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	K nr 25			
5	26,241	19,814	14,733	28,209	33,191	20,521	17,927	29,043	23,71 ± 6,37	26,9	
15	18,909	9,456	12,332	14,984	10,683	15,370	11,126	11,774	13,08 ± 3,11	23,8	
30	10,557	6,711	6,607	11,143	8,864	5,383	7,867	5,404	7,82 ± 2,21	28,2	
45	8,901	3,956	2,836	6,244	7,430	3,863	5,209	3,821	5,28 ± 2,09	39,5	
60	3,236	1,808	2,688	5,145	4,309	1,658	3,607	2,986	3,18 ± 1,18	37,2	
80	2,874	1,801	1,153	3,017	3,479	1,278	1,866	1,594	2,13 ± 0,87	40,8	
100	2,103	1,047	0,869	2,389	1,708	0,599	1,316	1,062	1,39 ± 0,63	45,1	
120	2,075	0,904	0,812	1,317	1,019	0,359	0,976	0,673	1,02 ± 0,51	50,1	
180	0,682	0,379	0,745	0,602	0,617	0,239	0,393	0,423	0,51 ± 0,18	34,5	
240	0,247	0,190	-*	0,431	0,223	0,129	0,367	0,377	0,28 ± 0,11	39,8	
300	0,206	0,148	-*	0,262	0,197	-*	0,204	0,222	0,21 ± 0,04	17,9	

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

* - brak danych

Tabela 48. Stężenia glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików z cukrzycą aloksanową – etap III_{12tyg.}

t [min]	C _{met} [µg/ml]								S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	K nr 25		
5	38,392	17,547	26,721	42,395	79,566	50,476	33,089	51,969	42,52 ± 18,91	44,5
15	77,001	28,965	50,393	71,355	71,790	78,658	43,878	84,495	63,32 ± 19,76	31,2
30	58,491	37,128	48,894	74,978	106,675	52,775	76,522	63,343	64,85 ± 21,38	32,9
45	60,657	34,668	43,658	50,935	70,725	44,651	35,833	56,514	49,71 ± 12,48	25,1
60	30,022	22,968	30,660	50,569	44,754	28,624	41,523	44,311	36,68 ± 9,81	26,7
80	28,966	37,712	22,252	32,592	70,534	25,768	27,989	26,474	34,04 ± 15,47	45,4
100	27,278	15,054	20,525	27,545	30,888	14,016	22,383	20,640	22,29 ± 6,01	26,9
120	22,641	21,122	16,973	15,062	19,509	7,997	18,362	14,608	17,03 ± 4,59	26,9
180	9,212	10,964	12,627	7,265	13,684	2,404	8,475	8,219	9,11 ± 3,51	38,6
240	3,035	3,119	-*	4,960	3,822	0,834	6,772	5,962	4,07 ± 2,01	49,3
300	1,527	1,924	-*	2,296	2,664	-*	3,598	2,342	2,39 ± 0,71	29,6

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

* - brak danych

Tabela 49. Stężenia paracetamolu w osoczu u królików zdrowych – etap III_{12tyg.}

t [min]	C _{par} [µg/ml]								S ± SD	CV%
	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34		
5	24,249	15,028	17,229	22,869	16,489	26,903	9,055	27,328	19,89 ± 6,46	32,5
15	14,387	8,439	9,384	19,087	10,831	25,324	6,288	12,330	13,26 ± 6,26	47,2
30	10,759	5,369	5,916	17,846	9,138	18,614	5,083	10,664	10,42 ± 5,32	51,1
45	8,043	4,072	5,680	10,891	6,067	10,992	4,387	9,790	7,49 ± 2,83	37,8
60	5,732	3,903	4,991	6,476	5,308	9,303	4,023	7,551	5,91 ± 1,83	30,9
80	4,441	3,288	4,644	5,747	3,115	4,654	1,791	5,884	4,19 ± 1, □39	33,1
100	2,349	2,877	3,703	4,073	1,838	3,115	-*	5,122	3,29 ± □1,11	33,5
120	1,614	2,378	1,416	2,303	1,353	1,787	0,645	3,297	1,85 ± 0,80	43,5
180	0,366	1,027	0,394	1,258	0,558	0,599	0,214	1,300	0,72 ± 0,42	59,1
240	0,170	0,519	0,247	0,366	0,261	0,484	-*	0,799	0,41 ± 0,21	52,8
300	0,160	0,307	0,110	0,262	0,127	0,444	-*	0,327	0,27 ± 0,12	43,5

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

* - brak danych

Tabela 50. Stężenia glukuronianu paracetamolu w osoczu u królików zdrowych – etap III_{12tyg.}

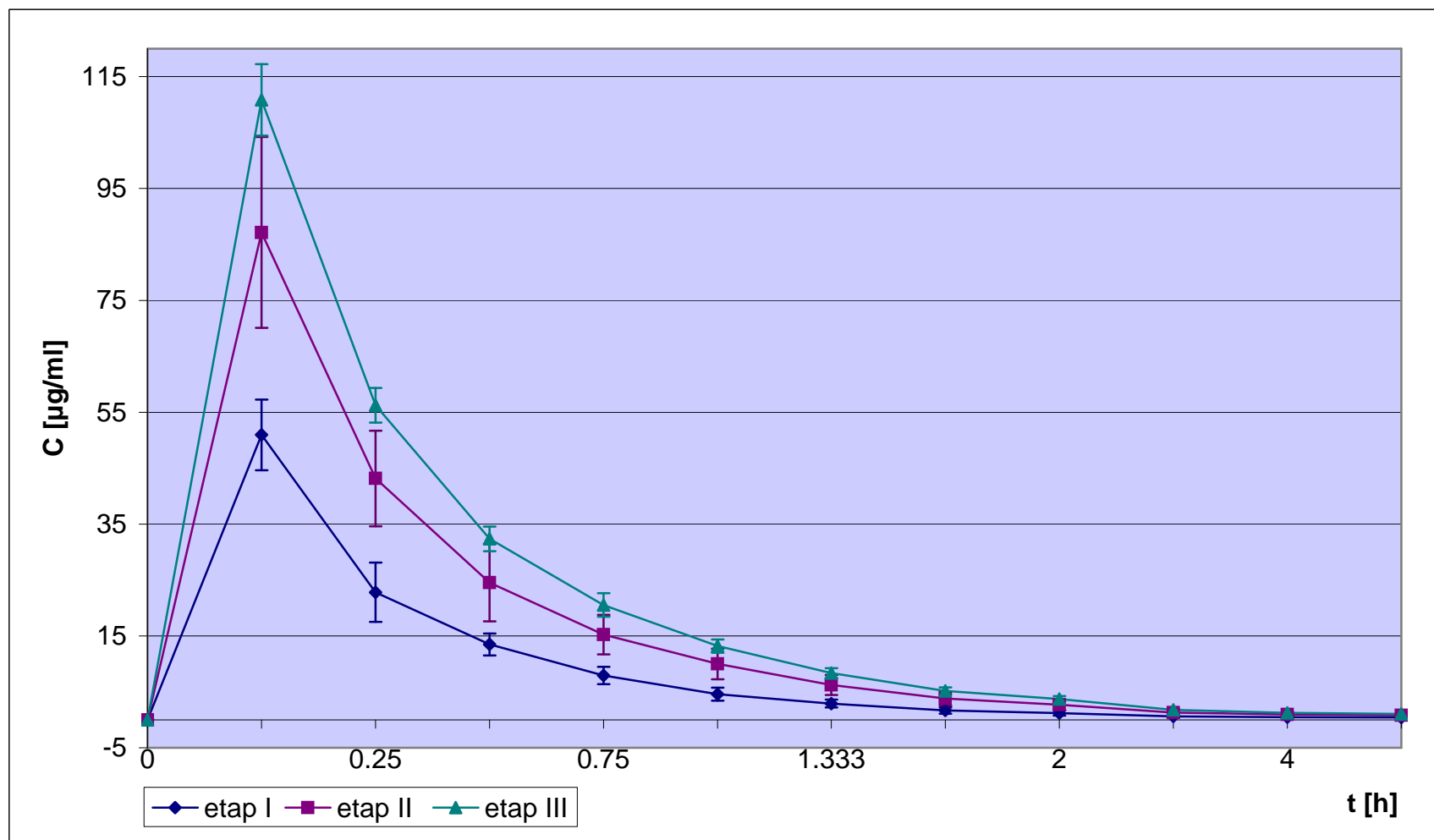
t [min]	C _{met} [µg/ml]								S ± SD	CV%
	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34		
5	19,609	29,443	35,002	19,856	22,932	29,449	44,487	27,516	28,54 ± 8,33	29,2
15	33,516	36,691	44,959	31,389	36,747	72,984	63,686	43,297	45,41 ± 15,06	33,2
30	42,461	40,383	36,166	44,015	37,916	88,640	44,324	69,844	50,47 ± 18,67	36,9
45	42,505	38,233	34,570	35,388	31,810	78,793	34,113	72,770	46,02 ± 18,71	40,7
60	38,004	37,775	33,151	27,662	32,804	90,884	32,371	38,900	41,44 ± 20,33	49,0
80	38,816	32,132	46,731	34,641	22,966	56,456	32,299	47,048	38,89 ± 10,67	27,4
100	27,285	29,369	30,329	30,103	17,789	48,215	-*	42,605	32,24 ± 10,10	31,3
120	23,936	27,029	15,708	20,019	13,732	36,461	23,182	30,405	23,81 ± 7,52	31,6
180	8,346	15,527	7,405	11,722	6,82	16,232	7,679	15,011	11,09 ± 4,02	36,2
240	2,785	9,769	4,011	3,192	3,376	8,255	-*	11,356	6,11 ± 3,58	58,6
300	0,546	7,543	1,338	1,956	1,426	4,508	-*	3,675	2,99 ± 2,44	81,4

t - czas

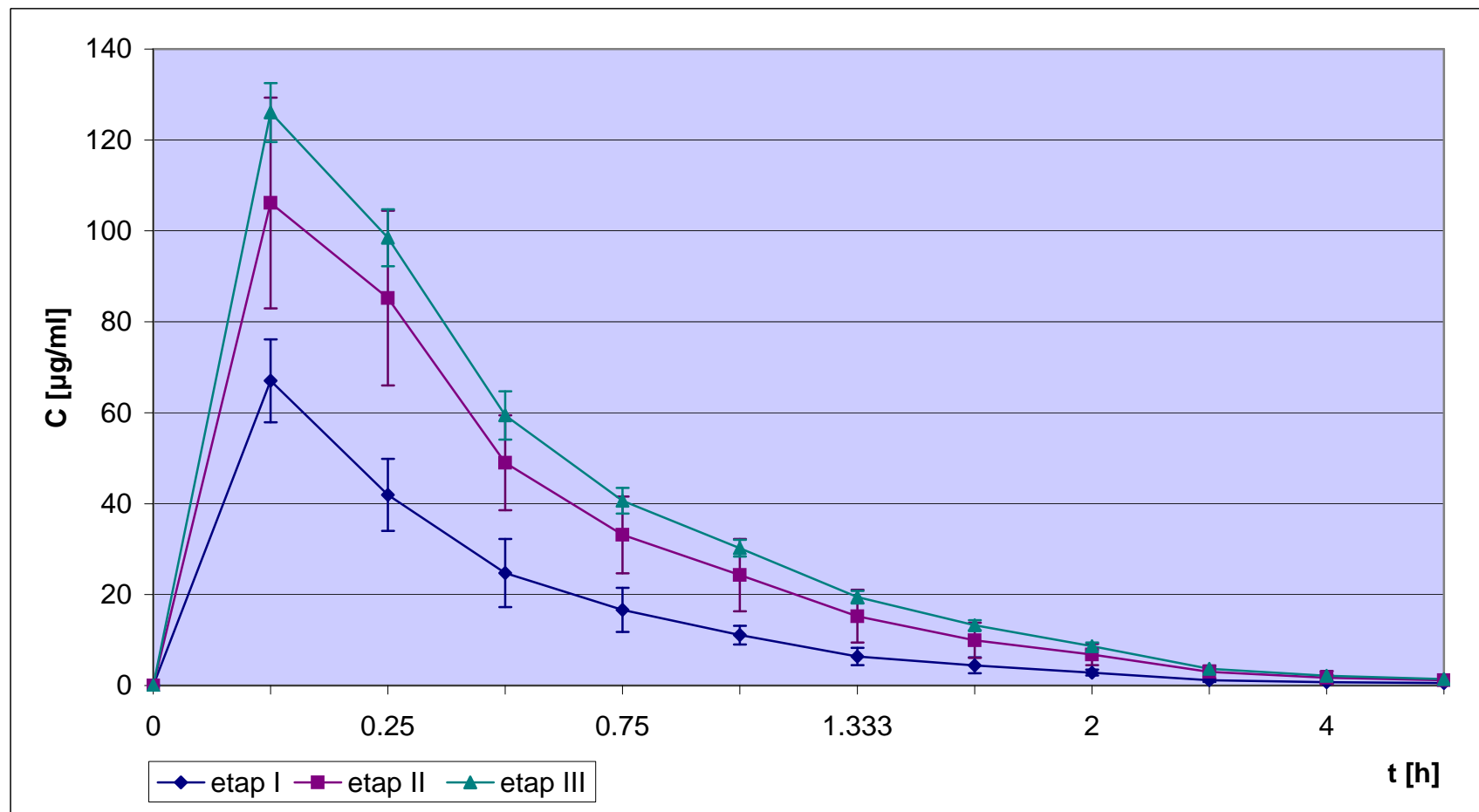
C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

* - brak danych

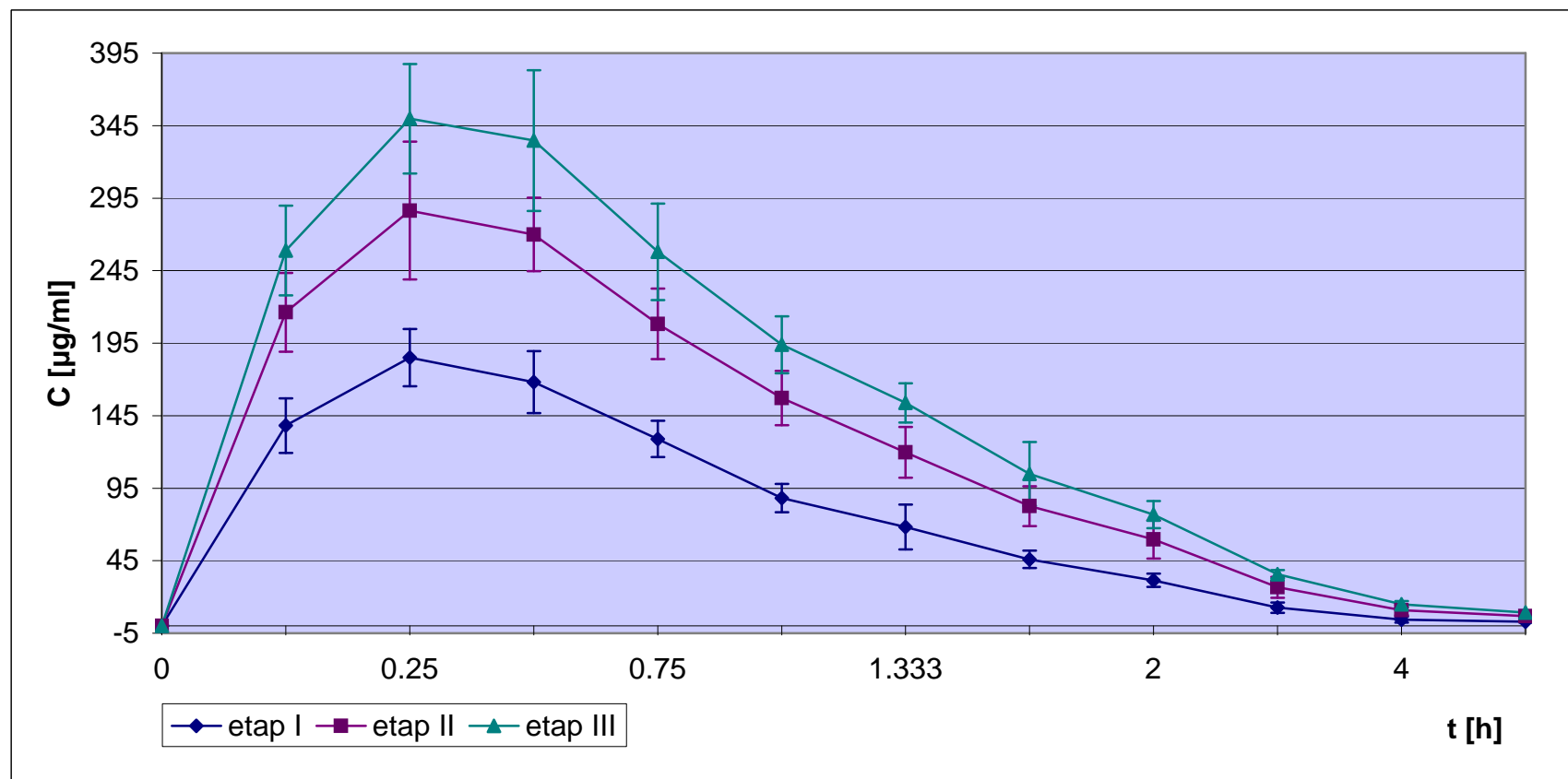
Wykres 1. Zmiany średnich stężeń paracetamolu w osoczu w grupie królików z cukrzycą aloksanową.



Wykres 2. Zmiany średnich stężeń paracetamolu w osoczu w grupie królików zdrowych.



Wykres 3. Zmiany średnich stężeń glukuronianu paracetamolu w osoczu w grupie królików z cukrzycą aloksanową.



Wykres 4. Zmiany średnich stężeń glukuronianu paracetamolu w osoczu w grupie królików zdrowych.

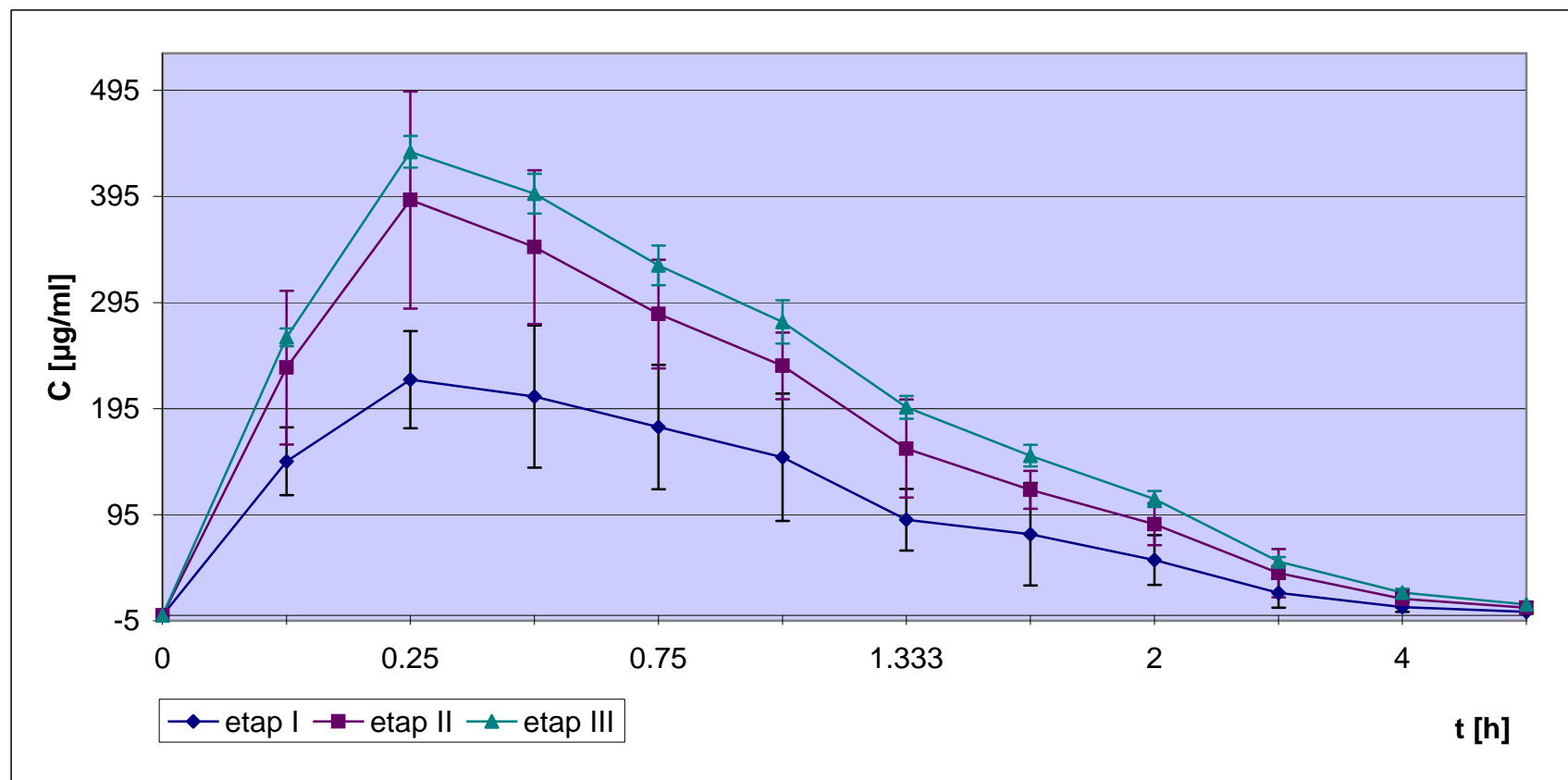


Tabela 51. Zmiany stężeń paracetamolu w osoczu po podaniu o godzinie 8⁰⁰ w analizie chronofarmakokinetycznej.

t [min]	C _{par} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9		
5	49,010	60,968	70,112	44,614	63,951	41,968	43,470	36,057	29,820	48,89 ± 13,45	27,5
15	38,585	34,832	41,303	29,114	39,538	38,976	21,451	20,410	24,041	32,03 ± 8,37	26,1
30	24,646	21,190	33,011	20,805	33,962	23,694	12,230	11,600	14,467	21,73 ± 8,19	37,7
45	20,243	15,945	24,766	16,201	23,866	23,499	8,437	10,839	12,960	17,42 ± 5,99	34,5
60	12,591	16,645	13,203	12,645	22,499	22,382	7,414	9,633	7,455	13,83 ± 5,69	41,1
80	8,374	12,546	11,871	9,225	14,748	12,952	5,572	6,273	7,330	9,88 ± 3,26	32,9
100	5,669	3,350	10,322	6,439	9,815	12,029	3,307	6,239	5,083	6,92 ± 3,11	44,9
120	3,760	2,156	3,423	4,787	8,486	6,173	2,794	3,837	3,944	4,37 ± 1,92	43,9
180	1,293	2,089	2,609	1,909	2,958	2,611	1,168	1,724	3,124	2,17 ± 0,70	32,5
240	0,461	1,363	1,372	0,915	1,727	2,388	1,087	1,066	2,225	1,40 ± 0,62	44,4
300	0,272	0,233	1,420	0,510	2,025	1,930	0,968	0,553	-*	0,99 ± 0,72	73,0

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

* - brak danych

Tabela 52. Zmiany stężeń paracetamolu w osoczu po podaniu o godzinie 16⁰⁰ w analizie chronofarmakokinetycznej.

t [min]	C _{par} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9		
5	56,987	75,820	61,538	46,557	55,922	66,552	46,879	55,573	28,603	54,94 ± 13,46	24,5
15	28,546	49,264	41,550	44,289	34,343	48,782	28,613	32,979	27,464	37,31 ± 8,79	23,6
30	23,412	39,718	30,001	32,324	29,294	44,691	15,569	22,089	21,703	26,25 ± 7,24	27,6
45	18,860	28,283	23,921	26,474	19,533	22,101	10,173	17,739	17,775	23,05 ± 9,75	42,3
60	14,911	22,016	17,483	21,496	12,912	22,212	6,917	14,185	14,028	16,24 ± 5,09	31,3
80	8,057	18,242	13,230	13,480	11,006	14,685	5,004	10,902	12,286	11,88 ± 3,82	32,1
100	7,112	5,838	8,007	10,993	9,745	16,811	4,007	8,382	7,304	8,69 ± 3,66	42,2
120	3,725	5,309	6,157	8,360	6,887	11,695	2,211	5,877	5,149	6,15 ± 2,72	44,3
180	3,054	3,057	2,312	3,580	2,587	5,796	0,720	2,186	2,157	2,83 ± 1,37	48,6
240	0,609	2,324	1,342	2,042	1,652	3,677	0,469	1,106	1,285	1,61 ± 0,98	60,9
300	0,415	1,146	0,966	1,161	1,153	1,914	0,561	0,868	0,191	0,93 ± 0,51	54,7

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

Tabela 53. Zmiany stężeń paracetamolu w osoczu po podaniu o godzinie 22⁰⁰ w analizie chronofarmakokinetycznej.

t [min]	C _{par} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9		
5	39,991	71,633	67,542	43,681	53,609	50,628	43,204	41,044	35,660	49,67 ± 12,55	25,3
15	33,333	49,874	44,454	31,073	37,944	26,896	24,626	23,445	29,304	33,44 ± 9,05	27,1
30	26,064	34,710	31,609	23,197	30,256	21,173	17,088	15,506	26,007	25,07 ± 6,50	25,9
45	16,077	26,221	27,660	20,172	23,782	18,909	11,474	14,124	20,164	19,84 ± 5,42	27,3
60	11,164	20,578	18,294	15,522	19,031	14,479	7,836	8,252	15,769	14,54 ± 4,59	31,6
80	6,981	10,176	14,008	13,806	16,055	10,927	5,169	6,478	10,552	10,46 ± 3,73	35,7
100	4,471	9,526	9,462	12,402	11,906	12,938	4,761	3,753	9,053	8,69 ± 3,56	40,9
120	3,098	8,784	6,171	7,057	8,914	9,781	2,917	2,958	7,572	6,36 ± 2,74	43,1
180	1,057	3,939	2,022	2,762	5,837	4,461	1,415	1,410	3,994	2,99 ± 1,65	55,3
240	0,650	1,802	1,768	1,311	3,084	3,581	1,035	0,959	3,391	1,95 ± 1,12	57,2
300	0,309	1,470	1,120	0,765	2,299	1,577	0,839	0,818	2,017	1,25 ± 0,65	51,8

t - czas

C_{par} - stężenie paracetamolu

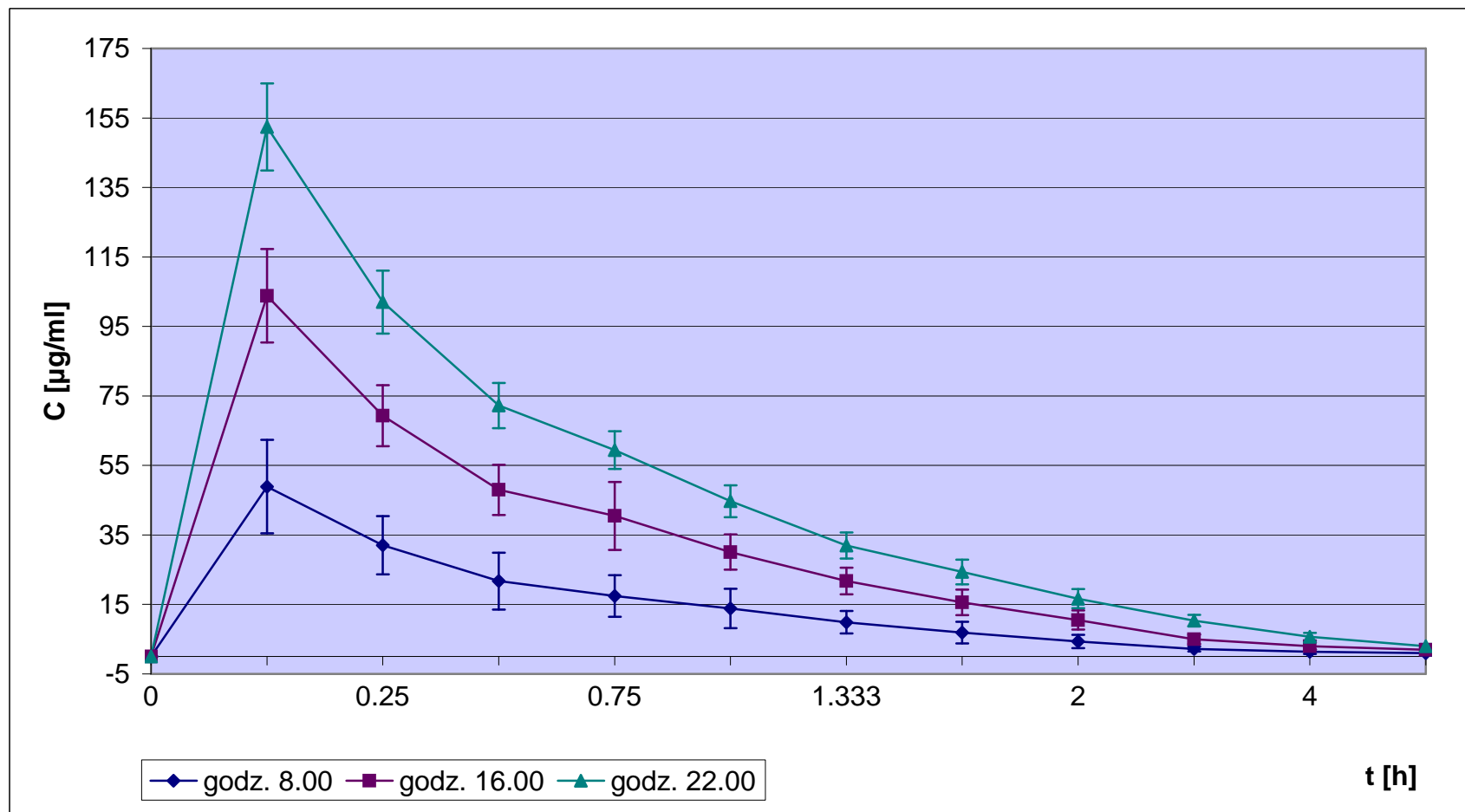
Wykres 5. Zmiany średnich stężeń paracetamolu w osoczu po podaniu o godz. 8⁰⁰, 16⁰⁰, 22⁰⁰.

Tabela 54. Zmiany stężeń glukuronianu paracetamolu w osoczu po podaniu o godzinie 8⁰⁰ w analizie chronofarmakokinetycznej.

t [min]	C _{met} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9		
5	85,949	152,664	153,018	77,784	136,415	138,345	92,209	155,266	68,756	117,82 ± 35,89	30,5
15	128,173	105,029	234,271	143,240	201,667	203,058	139,315	89,863	104,730	149,93 ± 51,13	34,1
30	145,411	189,980	239,004	133,346	156,291	146,088	119,951	81,279	99,714	145,67 ± 47,25	32,4
45	158,016	167,299	224,910	123,487	168,514	157,403	81,678	69,426	98,953	138,85 ± 49,65	35,8
60	128,818	193,591	149,591	106,828	177,867	159,390	74,807	70,292	71,817	125,89 ± 47,39	37,6
80	108,532	137,270	143,347	84,542	131,656	99,488	55,219	46,495	64,429	96,77 ± 36,44	37,7
100	84,373	90,000	123,638	64,792	91,023	103,261	37,718	48,167	45,874	76,54 ± 29,10	38,0
120	70,491	72,387	88,848	49,847	74,950	51,879	25,281	27,177	35,706	55,17 ± 22,78	41,3
180	37,360	29,519	40,708	36,316	24,000	25,606	4,399	15,090	21,265	26,03 ± 11,59	44,6
240	15,309	17,747	20,502	20,312	9,126	13,002	3,914	7,562	11,366	13,20 ± 5,78	43,8
300	9,598	10,029	10,610	3,568	6,248	6,670	1,458	4,749	-*	6,62 ± 3,29	49,8

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

* - brak danych

Tabela 55. Zmiany stężeń glukuronianu paracetamolu w osoczu po podaniu o godzinie 16⁰⁰ w analizie chronofarmakokinetycznej.

t [min]	C _{met} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9		
5	131,616	71,498	163,782	74,988	123,411	131,247	112,835	90,254	41,962	104,62 ± 37,86	36,2
15	141,203	128,769	204,959	118,370	146,177	177,955	130,622	133,006	50,115	136,79 ± 42,45	31,0
30	188,587	168,319	220,589	138,878	149,233	241,187	113,866	120,711	66,567	147,19 ± 44,79	30,4
45	176,396	168,474	208,680	141,232	127,750	158,046	105,907	119,507	67,266	150,71 ± 53,71	35,6
60	167,025	162,194	179,949	131,407	101,480	169,908	79,320	101,772	63,804	128,54 ± 43,36	33,7
80	128,924	161,620	150,581	106,348	90,019	135,542	69,976	86,855	89,912	113,31 ± 31,97	28,2
100	109,928	133,556	114,481	89,151	78,352	159,549	66,439	66,313	52,644	96,71 ± 35,31	36,5
120	82,197	87,631	91,787	73,468	60,271	107,623	40,101	54,477	39,761	70,81 ± 23,72	33,5
180	38,039	31,555	42,151	34,475	21,317	54,644	16,905	15,189	17,902	30,24 ± 13,48	44,6
240	21,927	21,657	21,764	18,445	11,129	26,793	14,395	9,665	7,456	17,03 ± 6,64	39,0
300	13,089	10,967	13,153	10,782	4,226	11,453	10,222	6,384	3,181	9,27 ± 3,73	40,2

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamolu

Tabela 56. Zmiany stężeń glukuronianu paracetamolu w osoczu po podaniu o godzinie 22⁰⁰ w analizie chronofarmakokinetycznej.

t [min]	C _{met} [µg/ml]									S ± SD	CV%
	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9		
5	113,352	145,637	169,326	82,579	125,822	73,892	85,845	92,921	22,231	101,29 ± 43,30	42,8
15	145,158	188,671	220,653	109,294	162,573	109,735	104,604	125,341	31,863	133,09 ± 54,77	41,2
30	151,751	186,126	201,980	126,429	165,081	134,586	122,442	91,949	56,620	137,44 ± 45,36	33,0
45	141,285	171,722	215,869	121,454	159,171	106,094	104,666	101,749	70,444	132,49 ± 44,25	33,4
60	118,454	154,042	168,878	109,292	139,850	146,002	72,185	63,237	67,660	115,51 ± 40,00	34,6
80	94,661	105,761	133,980	101,796	129,298	108,596	47,608	50,579	64,327	92,96 ± 31,95	34,4
100	73,019	102,268	103,428	98,590	102,703	110,744	40,904	29,924	61,639	80,36 ± 30,15	37,5
120	54,663	79,162	73,162	66,982	79,793	93,675	24,818	26,862	53,229	61,37 ± 23,74	38,7
180	26,186	36,605	38,248	30,912	67,924	40,236	8,879	16,442	32,840	31,06 ± 12,38	39,9
240	14,863	17,783	24,789	13,886	49,160	13,460	6,302	11,554	23,725	21,59 ± 18,31	84,8
300	10,032	13,240	16,821	7,971	16,642	9,566	2,496	6,729	13,070	10,73 ± 4,70	43,9

t - czas

C_{met} - stężenie glukuronianu paracetamol

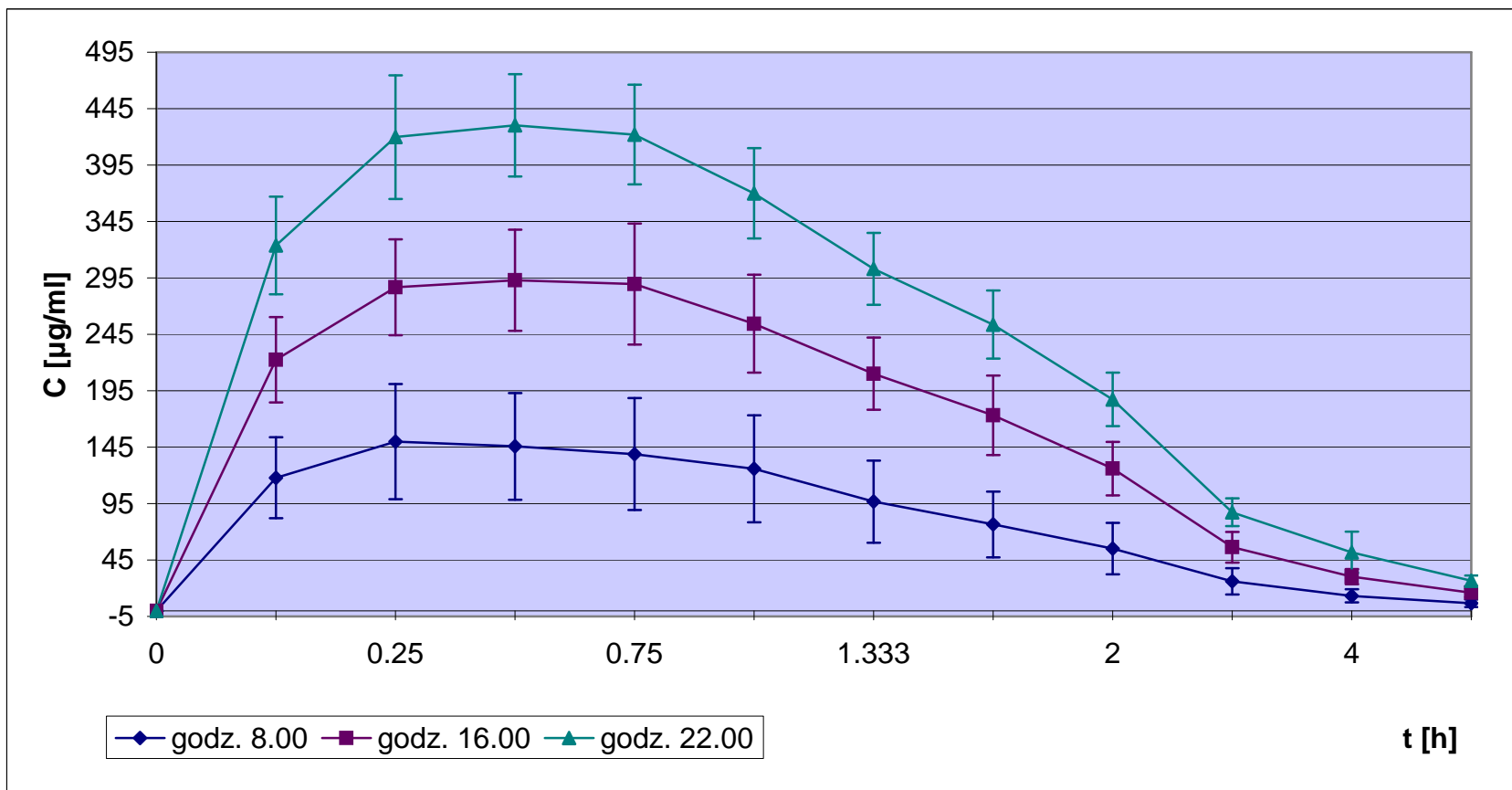
Wykres 6. Zmiany średnich stężeń glukuronianu paracetamolu w osoczu po podaniu o godz. 8⁰⁰, 16⁰⁰, 22⁰⁰.

Tabela 57. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u królików z cukrzycą etap I₄tyg.

Parametry	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 16	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,264	0,426	0,479	0,372	0,372	0,438	0,329	0,747	0,43 ± 0,15	33,9
AUC [(mg*h)/l]	27,058	17,409	22,177	29,231	25,584	21,628	22,698	19,106	23,11 ± 3,98	17,2
$t_{0,5}$ [h]	2,624	1,628	1,448	1,863	1,864	1,583	2,105	0,927	1,76 ± 0,49	28,3
Cl [l/h]	4,398	6,433	4,577	3,951	4,241	5,664	4,780	5,862	4,99 ± 0,89	17,8
V_d [l]	16,647	15,113	9,561	10,621	11,403	12,934	14,515	7,843	12,33 ± 3,00	24,4
Δ' [l/kg]	4,896	4,723	3,297	3,219	3,678	3,696	4,682	2,451	3,83 ± 0,87	22,6
C_{max} [µg/ml]	54,774	42,522	45,537	53,247	56,062	61,176	47,304	47,043	50,96 ± 6,32	12,4
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083 ± 0,00	0
MRT [h]	1,464	0,709	0,833	1,175	0,986	0,637	1,059	0,715	0,95 ± 0,28	29,7

Tabela 58. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu u królików z cukrzycą etap I_{4tyg.}

Parametry	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 16	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,659	0,892	1,154	0,596	0,598	1,240	0,669	1,266	0,88 ± 0,29	33,3
AUC [(mg*h)/l]	255,594	279,848	195,535	262,332	233,196	325,612	225,553	214,062	248,97 ± 41,27	16,6
$t_{0,5}$ [h]	1,051	0,777	0,601	1,162	1,159	0,559	1,035	0,548	0,86 ± 0,27	31,3
Cl [l/h]	0,466	0,400	0,519	0,440	0,465	0,376	0,481	0,523	0,46 ± 0,05	11,4
V_d [l]	0,706	0,449	0,449	0,738	0,778	0,303	0,718	0,413	0,57 ± 0,18	32,3
Δ' [l/kg]	0,208	0,140	0,155	0,224	0,251	0,087	0,232	0,129	0,18 ± 0,06	32,8
C_{max} [µg/ml]	165,036	267,929	157,823	165,43	183,133	270,057	181,325	156,187	193,37 ± 47,69	24,7
t_{max} [h]	0,50	0,50	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,31 ± 0,12	37,0
MRT [h]	1,205	0,921	0,998	1,361	1,046	0,961	1,034	0,985	1,06 ± 0,15	13,80

Tabela 59. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u królików zdrowych etap I_{4tyg.}

Parametry	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,488	0,701	0,548	0,656	0,407	0,479	0,511	0,656	0,466	0,55 ± 0,10	18,7
AUC [(mg*h)/l]	40,572	43,786	41,377	34,694	33,434	34,353	33,531	54,084	47,335	40,35 ± 7,18	17,8
$t_{0,5}$ [h]	1,420	0,989	1,264	1,058	1,703	1,448	1,355	1,058	1,488	1,31 ± 0,24	18,1
Cl [l/h]	3,364	3,357	3,384	3,833	3,873	4,279	4,071	2,783	2,736	3,52 ± 0,54	15,3
V_d [l]	6,894	4,790	6,169	5,849	9,518	8,941	7,959	4,246	5,872	6,69 ± 1,80	26,9
Δ' [l/kg]	1,768	1,140	1,542	1,539	2,572	2,129	2,041	0,987	1,587	1,70 ± 0,49	29,0
C_{max} [µg/ml]	58,778	71,841	67,227	62,40	57,952	60,604	63,497	85,550	75,471	67,04 ± 9,11	13,6
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083 ± 0,00	0
MRT [h]	1,085	0,727	0,978	0,807	1,002	0,929	0,764	0,769	1,010	0,89 ± 0,13	14,6

Tabela 60. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu u królików zdrowych etap I_{4tyg.}

Parametry	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,669	1,419	0,729	1,121	0,617	0,797	0,803	0,991	1,036	0,91 ± 0,26	28,2
AUC [(mg*h)/l]	250,452	387,499	295,607	370,433	250,434	219,616	355,945	567,925	435,424	348,15 ± 109,77	31,5
$t_{0,5}$ [h]	1,036	0,488	0,950	0,618	1,123	0,869	0,863	0,699	0,669	0,81 ± 0,21	25,6
Cl [l/h]	0,545	0,379	0,474	0,359	0,517	0,669	0,383	0,265	0,297	0,43 ± 0,13	30,0
V_d [l]	0,815	0,267	0,649	0,320	0,838	0,839	0,478	0,268	0,287	0,53 ± 0,26	48,6
Δ' [l/kg]	0,209	0,064	0,162	0,084	0,226	0,199	0,123	0,062	0,078	0,13 ± 0,07	49,3
C_{max} [µg/ml]	175,201	318,895	186,136	245,13	276,431	153,54	243,155	289,119	223,944	234,62 ± 55,42	23,6
t_{max} [h]	0,25	0,50	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,50	0,50	0,34 ± 0,13	37,5
MRT [h]	1,113	0,948	1,182	1,121	0,987	1,040	1,068	1,302	1,272	1,12 ± 0,12	10,8

Tabela 61. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u królików z cukrzycą etap II_{8tyg.}.

Parametry	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,484	0,257	0,302	0,225	0,818	0,498	0,283	0,41 ± 0,21	51,3
AUC [(mg*h)/l]	37,495	23,338	38,781	9,570	15,945	11,543	18,076	22,11 ± 11,83	53,5
$t_{0,5}$ [h]	1,431	2,697	2,293	3,084	0,848	1,392	2,449	2,03 ± 0,81	40,1
Cl [l/h]	3,080	4,520	2,073	10,972	8,341	9,096	6,002	6,29 ± 3,29	52,4
V_d [l]	6,359	17,592	6,859	48,820	10,199	18,268	21,214	18,47 ± 14,60	79,1
Δ' [l/kg]	1,927	5,864	2,858	16,274	2,684	6,089	6,843	6,08 ± 4,89	80,5
C_{max} [µg/ml]	47,223	50,786	61,142	24,173	31,800	18,073	23,548	36,68 ± 16,37	44,6
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,250	0,083	0,11 ± 0,06	59,1
MRT [h]	1,130	1,702	1,456	1,311	0,703	0,839	1,635	1,25 ± 0,38	30,6

Tabela 62. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu u królików z cukrzycą etap II_{8tyg.}

Parametry	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,567	0,992	0,524	0,354	0,873	0,709	0,579	0,66 ± 0,22	33,2
AUC [(mg*h)/l]	269,163	205,793	202,054	102,019	199,187	118,794	230,899	189,70 ± 59,48	31,4
$t_{0,5}$ [h]	1,223	0,752	1,322	1,961	0,794	0,978	1,198	1,18 ± 0,41	34,8
Cl [l/h]	0,429	0,513	0,398	1,029	0,668	0,884	0,469	0,63 ± 0,25	39,0
V_d [l]	0,757	0,556	0,759	2,911	0,765	1,247	0,812	1,12 ± 0,82	73,4
Δ' [l/kg]	0,229	0,185	0,316	0,970	0,201	0,416	0,262	0,37 ± 0,28	75,1
C_{max} [µg/ml]	128,560	156,078	107,187	74,853	148,200	106,449	119,818	120,16 ± 27,56	22,9
t_{max} [h]	0,500	0,250	0,250	0,083	0,250	0,250	0,500	0,29 ± 0,15	50,8
MRT [h]	1,594	1,036	1,444	1,332	1,183	1,198	1,529	1,33 ± 0,20	15,3

Tabela 63. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u królików zdrowych etap II_{8tyg.}

Parametry	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,687	0,713	0,685	0,721	0,810	1,371	1,161	0,367	0,569	0,79 ± 0,30	38,5
AUC [(mg*h)/l]	58,832	32,405	20,179	11,067	29,110	38,599	47,186	83,709	51,482	41,39 ± 21,91	52,9
$t_{0,5}$ [h]	1,009	0,972	1,011	0,961	0,856	0,506	0,597	1,888	1,219	1,00 ± 0,39	39,7
Cl [l/h]	2,320	4,428	7,111	12,018	4,689	3,808	2,967	1,756	2,651	4,64 ± 3,19	68,9
V_d [l]	3,377	6,209	10,375	16,659	5,789	2,778	7,556	4,784	4,664	6,91 ± 4,31	62,3
Δ' [l/kg]	0,866	1,515	2,530	4,384	1,484	0,695	0,609	1,196	1,196	1,61 ± 1,19	73,9
C_{max} [µg/ml]	53,887	47,353	25,157	14,724	31,740	53,588	67,804	66,174	76,256	48,52 ± 20,85	42,9
t_{max} [h]	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,083	0,083	0,083	0,250	0,19 ± 0,08	42,9
MRT [h]	1,081	0,849	1,028	0,716	1,109	0,692	0,706	1,663	0,958	0,98 ± 0,30	31,1

Tabela 64. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu u królików zdrowych etap II_{8tyg.}

Parametry	K nr 26	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	1,483	1,543	0,591	0,781	0,838	1,009	0,701	0,639	0,835	0,94 ± 0,35	37,4
AUC [(mg*h)/l]	181,152	172,711	189,779	128,356	107,740	183,847	321,305	326,632	563,245	241,64 ± 142,39	58,9
$t_{0,5}$ [h]	0,467	0,449	1,173	0,887	0,827	0,687	0,988	1,084	0,831	0,82 ± 0,25	30,6
Cl [l/h]	0,754	0,831	0,756	1,036	1,267	0,799	0,436	0,450	0,242	0,73 ± 0,32	43,3
V_d [l]	0,508	0,538	1,279	1,326	1,511	0,792	0,621	0,704	0,290	0,84 ± 0,43	50,6
Δ' [l/kg]	0,130	0,131	0,312	0,349	0,388	0,198	0,148	0,176	0,074	0,21 ± 0,11	52,2
C_{max} [µg/ml]	143,287	215,031	115,386	115,431	90,529	181,358	422,825	152,239	286,637	191,41 ± 105,39	55,1
t_{max} [h]	0,250	0,250	0,250	0,250	0,250	0,500	0,250	0,500	0,500	0,33 ± 0,12	37,5
MRT [h]	1,059	0,949	1,521	1,058	1,610	0,930	0,929	1,484	1,436	1,22 ± 0,29	23,4

Tabela 65. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u królików z cukrzycą etap III_{12tyg.}

Parametry	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	K nr 25	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,795	0,612	0,647	0,518	0,595	0,439	0,476	0,344	0,55 ± 0,14	25,2
AUC [(mg*h)/l]	17,964	10,457	10,933	17,504	16,091	10,393	12,279	12,736	13,54 ± 3,17	23,4
$t_{0,5}$ [h]	0,872	1,133	1,071	1,339	1,165	1,578	1,455	2,014	1,33 ± 0,36	26,8
Cl [l/h]	6,624	13,388	7,043	8,798	8,701	10,103	8,551	9,344	9,07 ± 2,08	22,9
V_d [l]	8,338	21,879	10,880	16,989	14,628	23,005	17,947	27,143	17,60 ± 6,31	35,9
Δ' [l/kg]	2,452	5,469	4,946	3,861	3,657	7,668	5,982	7,983	5,25 ± 1,94	36,9
C_{max} [µg/ml]	26,241	19,814	14,733	28,209	33,191	20,521	17,927	29,043	23,71 ± 6,37	26,9
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083 ± 0,00	0
MRT [h]	0,862	0,879	0,899	0,980	0,861	0,710	1,040	1,076	0,91 ± 0,12	12,8

Tabela 66. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu u królików z cukrzycą etap III_{12tyg.}

Parametry	K nr 1	K nr 8	K nr 12	K nr 17	K nr 21	K nr 23	K nr 24	K nr 25	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,899	0,870	0,941	0,576	0,818	1,251	0,428	0,628	0,80 ± 0,26	31,9
AUC [(mg*h)/l]	116,502	92,198	101,632	122,477	164,699	79,267	119,345	120,888	114,63 ± 25,51	22,3
$t_{0,5}$ [h]	0,771	0,797	0,737	1,203	0,847	0,554	1,618	1,104	0,95 ± 0,34	35,5
Cl [l/h]	1,021	1,518	0,758	1,257	0,850	1,325	0,879	0,984	1,07 ± 0,27	24,7
V_d [l]	1,137	1,745	0,805	2,183	1,039	1,059	2,054	1,568	1,45 ± 0,51	35,4
Δ' [l/kg]	0,334	0,436	0,366	0,496	0,259	0,353	0,685	0,461	0,42 ± 0,13	30,7
C_{max} [µg/ml]	77,001	37,128	50,393	74,978	106,675	78,658	76,522	84,495	73,23 ± 21,14	28,9
t_{max} [h]	0,250	0,500	0,250	0,500	0,500	0,250	0,500	0,250	0,37 ± 0,13	35,6
MRT [h]	1,236	1,482	1,354	1,322	1,226	0,881	1,705	1,307	1,31 ± 0,23	17,8

Tabela 67. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u królików zdrowych etap III_{12tyg.}

Parametry	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,575	0,682	0,813	0,776	0,786	0,439	1,424	0,742	0,78 ± 0,29	37,1
AUC [(mg*h)/l]	17,069	13,981	13,372	24,097	13,814	25,208	7,673	23,184	17,29 ± 0,26	36,2
$t_{0,5}$ [h]	1,206	1,016	0,852	0,893	0,882	1,579	0,487	0,934	0,98 ± 0,31	31,9
Cl [l/h]	8,817	11,015	10,208	5,955	10,895	5,832	20,525	6,189	9,93 ± 4,81	48,5
V_d [l]	15,346	16,141	12,552	7,678	13,865	13,282	14,412	8,343	12,70 ± 3,11	24,5
Δ' [l/kg]	3,569	3,668	3,218	1,873	3,224	3,162	3,203	2,035	2,99 ± 0,67	22,4
C_{max} [µg/ml]	24,249	15,028	17,229	22,869	16,489	26,903	9,055	27,328	19,89 ± 6,46	32,5
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083 ± 0,00	0
MRT [h]	0,997	1,300	0,985	0,964	0,924	1,071	1,077	1,154	1,06 ± 0,12	11,5

Tabela 68. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu u królików zdrowych etap III_{12tyg.}

Parametry	K nr 27	K nr 28	K nr 29	K nr 30	K nr 31	K nr 32	K nr 33	K nr 34	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	1,363	0,361	0,855	0,895	0,782	0,641	1,105	0,704	0,84 ± 0,30	36,0
AUC [(mg*h)/l]	97,282	152,602	98,006	100,861	79,891	198,539	94,146	159,163	122,56 ± 42,01	34,3
$t_{0,5}$ [h]	0,508	1,920	0,810	0,774	0,886	1,082	0,627	0,985	0,95 ± 0,43	45,6
Cl [l/h]	1,547	1,009	1,393	1,423	1,884	0,740	1,673	0,902	1,32 ± 0,39	30,2
V_d [l]	1,135	2,796	1,628	1,589	2,407	1,156	1,514	1,281	1,69 ± 0,60	35,7
Δ' [l/kg]	0,264	0,635	0,417	0,388	0,559	0,275	0,336	0,313	0,39 ± 0,13	33,8
C_{max} [μg/ml]	42,461	40,383	46,731	44,015	37,916	90,884	63,686	72,770	54,86 ± 19,01	34,7
t_{max} [h]	0,500	0,500	1,333	0,500	0,500	1,000	0,250	0,750	0,67 ± 0,35	52,2
MRT [h]	1,341	2,352	1,359	1,458	1,374	1,492	1,473	1,599	1,56 ± 0,33	21,4

Tabela 69. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej po podaniu o godzinie 8⁰⁰.

Parametry	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,891	0,710	0,328	0,745	0,484	0,358	0,325	0,629	0,623	0,57 ± 0,20	35,9
AUC [(mg*h)/l]	39,594	42,267	57,991	38,639	62,914	57,403	28,388	29,717	35,176	43,57 ± 12,79	29,4
$t_{0,5}$ [h]	0,778	0,976	2,112	0,930	1,433	1,938	2,132	1,102	1,112	1,39 ± 0,54	38,5
Cl [l/h]	2,563	2,898	2,293	3,170	1,558	1,951	3,452	3,887	3,383	2,79 ± 0,76	27,3
V_d [l]	2,877	4,081	6,987	4,254	3,221	5,454	10,616	6,177	5,427	5,45 ± 2,36	43,2
Δ' [l/kg]	0,992	1,166	1,839	1,215	1,150	1,704	3,791	1,872	1,596	1,70 ± 0,84	49,8
C_{max} [µg/ml]	49,010	60,968	70,112	44,614	63,951	41,968	43,470	36,057	29,820	48,89 ± 13,45	27,5
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083 ± 0,00	0
MRT [h]	0,835	0,886	1,423	1,041	1,455	1,762	1,727	1,197	1,271	1,29 ± 0,34	26,0

Tabela 70. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej po podaniu o godzinie 8⁰⁰.

Parametry	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,679	0,539	0,672	1,160	0,673	0,673	0,552	1,168	0,749	0,76 ± 0,24	31,0
AUC [(mg*h)/l]	374,979	417,742	502,878	307,678	388,283	364,173	170,640	182,289	224,992	325,96 ± 113,34	34,8
$t_{0,5}$ [h]	1,020	1,284	1,031	0,597	1,030	1,031	1,255	0,593	0,925	0,97 ± 0,24	25,1
Cl [l/h]	0,271	0,293	0,264	0,398	0,252	0,308	0,552	0,634	0,529	0,39 ± 0,15	37,5
V_d [l]	0,399	0,543	0,393	0,343	0,375	0,457	0,999	0,542	0,706	0,53 ± 0,21	39,7
Δ' [l/kg]	0,137	0,155	0,104	0,098	0,134	0,143	0,357	0,164	0,208	0,17 ± 0,08	47,1
C_{max} [µg/ml]	158,016	193,591	239,004	143,240	201,667	203,058	139,315	155,266	104,730	170,88 ± 41,36	24,2
t_{max} [h]	0,750	1,000	0,500	0,250	0,250	0,250	0,250	0,083	0,250	0,39 ± 0,29	74,6
MRT [h]	1,524	1,527	1,419	1,418	1,309	1,337	1,069	1,207	1,427	1,36 ± 0,15	10,9

Tabela 71. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej po podaniu o godzinie 16⁰⁰.

Parametry	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,819	0,487	0,610	0,648	0,581	0,588	0,454	0,642	1,040	0,65 ± 0,18	27,4
AUC [(mg*h)/l]	43,128	66,963	54,045	61,477	50,899	80,240	27,811	45,394	38,837	52,09 ± 15,80	30,3
$t_{0,5}$ [h]	0,846	1,422	1,136	1,069	1,193	1,178	1,526	1,079	0,666	1,12 ± 0,26	23,3
Cl [l/h]	2,678	1,725	2,590	1,765	2,132	1,483	3,524	2,544	2,794	2,36 ± 0,64	27,3
V_d [l]	3,268	3,539	4,246	2,722	3,669	2,520	7,756	3,964	2,686	3,82 ± 1,59	41,7
Δ' [l/kg]	0,990	1,072	1,062	0,878	1,183	0,741	2,770	1,201	0,866	1,19 ± 0,61	50,9
C_{max} [µg/ml]	56,987	75,820	61,538	46,557	55,922	66,552	46,879	55,573	28,603	54,94 ± 13,46	24,5
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083 ± 0,00	0
MRT [h]	0,950	1,137	1,105	1,215	1,245	1,363	1,058	1,139	1,064	1,14 ± 0,12	10,6

Tabela 72. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej po podaniu o godzinie 16⁰⁰.

Parametry	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,533	0,528	0,582	0,581	0,809	0,781	0,251	0,433	0,864	0,59 ± 0,19	32,8
AUC [(mg*h)/l]	458,089	442,522	515,431	374,182	301,959	530,093	295,245	279,218	189,467	376,24 ± 117,54	31,2
$t_{0,5}$ [h]	1,299	1,312	1,190	1,193	0,857	0,887	2,756	1,599	0,802	1,32 ± 0,59	45,1
Cl [l/h]	0,252	0,261	0,272	0,289	0,359	0,224	0,332	0,414	0,573	0,33 ± 0,11	32,8
V_d [l]	0,473	0,494	0,466	0,499	0,444	0,287	1,319	0,954	0,663	0,62 ± 0,32	51,4
Δ' [l/kg]	0,143	0,149	0,117	0,161	0,143	0,085	0,471	0,289	0,214	0,19 ± 0,12	60,2
C_{max} [µg/ml]	188,587	168,474	220,589	141,232	149,233	241,187	130,866	133,006	89,914	162,56 ± 47,49	29,2
t_{max} [h]	0,500	0,750	0,500	0,750	0,500	0,500	0,250	0,250	1,333	0,59 ± 0,33	55,6
MRT [h]	1,627	1,632	1,518	1,637	1,313	1,517	2,321	1,543	1,472	1,62 ± 0,28	17,4

Tabela 73. Wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej po podaniu o godzinie 22⁰⁰.

Parametry	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,740	0,615	0,525	0,741	0,470	0,569	0,405	0,424	0,413	0,55 ± 0,13	24,3
AUC [(mg*h)/l]	34,912	65,895	58,000	48,932	71,416	58,057	31,578	31,317	56,351	50,72 ± 14,97	29,5
$t_{0,5}$ [h]	0,936	1,128	1,319	0,935	1,474	1,217	1,711	1,634	1,677	1,34 ± 0,31	22,8
Cl [l/h]	3,008	1,806	2,353	2,289	1,519	2,109	2,993	4,023	2,112	2,47 ± 0,76	30,8
V_d [l]	4,063	2,939	4,479	3,089	3,230	3,705	7,387	9,485	5,111	4,83 ± 2,22	45,9
Δ' [l/kg]	1,354	0,864	1,148	0,965	1,042	1,059	2,736	2,635	1,503	1,48 ± 0,71	48,1
C_{max} [µg/ml]	39,991	71,633	67,542	43,681	53,609	50,628	43,204	41,044	35,660	49,67 ± 12,55	25,3
t_{max} [h]	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083	0,083 ± 0,00	0
MRT [h]	0,872	1,190	1,166	1,534	1,571	1,531	1,359	1,332	1,775	1,37 ± 0,27	19,7

Tabela 74. Wartości parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej po podaniu o godzinie 22⁰⁰.

Parametry	K nr 1	K nr 2	K nr 3	K nr 4	K nr 5	K nr 6	K nr 7	K nr 8	K nr 9	S ± SD	CV%
k_{el} [h ⁻¹]	0,479	0,508	0,411	0,678	0,703	0,718	0,634	0,447	0,461	0,56 ± 0,12	21,8
AUC [(mg*h)/l]	345,228	447,045	513,369	332,810	524,765	383,271	186,842	217,524	272,786	358,18 ± 121,25	33,8
$t_{0,5}$ [h]	1,445	1,363	1,687	1,023	0,986	0,965	1,092	1,552	1,505	1,29 ± 0,28	21,4
Cl [l/h]	0,304	0,266	0,266	0,336	0,207	0,319	0,506	0,579	0,436	0,36 ± 0,12	34,4
V_d [l]	0,634	0,523	0,647	0,496	0,294	0,445	0,797	1,297	0,947	0,68 ± 0,30	44,8
Δ' [l/kg]	0,211	0,154	0,166	0,155	0,095	0,127	0,295	0,360	0,278	0,20 ± 0,09	43,1
C_{max} [µg/ml]	151,751	188,671	220,653	126,429	165,081	146,002	122,442	125,341	70,444	146,31 ± 43,10	29,5
t_{max} [h]	0,500	0,250	0,250	0,500	0,500	0,750	0,500	0,250	0,750	0,47 ± 0,19	41,4
MRT [h]	1,609	1,603	1,759	1,176	1,751	1,565	1,195	1,622	2,219	1,61 ± 0,31	19,3

Tabela 75. Ocena statystyczna (test t-Studenta) parametrów farmakokinetycznych paracetamolu w osoczu królików zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III) etap I_{4tyg.} vs. etap II_{8tyg.} vs. etap III_{12tyg.}.

Parametry	Etap	Grupa III	Grupa IV	P _{value}
k_{el} [h⁻¹]	I	0,43 ± 0,15	0,55 ± 0,10	0,070
	II	0,41 ± 0,21	0,79 ± 0,30	0,014 IS
	III	0,55 ± 0,14	0,78 ± 0,29	0,033 IS
AUC [(mg*h)/l]	I	23,11 ± 3,98	40,35 ± 7,18	0,0001 IS
	II	22,11 ± 11,83	41,39 ± 21,91	0,044 IS*
	III	13,54 ± 3,17	17,29 ± 0,26	0,152
t_{0,5} [h]	I	1,76 ± 0,49	1,31 ± 0,24	0,029 IS
	II	2,03 ± 0,81	1,00 ± 0,39	0,005 IS
	III	1,33 ± 0,36	0,98 ± 0,31	0,081
Cl [l/h]	I	4,99 ± 0,89	3,52 ± 0,54	0,0008 IS
	II	6,29 ± 3,29	4,64 ± 3,19	0,327
	III	9,07 ± 2,08	9,93 ± 4,81	0,649
V_d [l]	I	12,33 ± 3,00	6,69 ± 1,80	0,0003 IS
	II	18,47 ± 14,60	6,91 ± 4,31	0,039 IS
	III	17,60 ± 6,31	12,70 ± 3,11	0,035 IS*
Δ' [l/kg]	I	3,83 ± 0,87	1,70 ± 0,49	0,0001 IS
	II	6,08 ± 4,89	1,61 ± 1,19	0,018 IS
	III	5,25 ± 1,94	2,99 ± 0,67	0,008 IS
C_{max} [μg/ml]	I	50,96 ± 6,32	67,04 ± 9,11	0,0008 IS
	II	36,68 ± 16,37	48,52 ± 20,85	0,238
	III	23,71 ± 6,37	19,89 ± 6,46	0,254
t_{max} [h]	I	0,083 ± 0,00	0,083 ± 0,00	SD=0
	II	0,11 ± 0,06	0,19 ± 0,08	0,037 IS
	III	0,083 ± 0,00	0,083 ± 0,00	SD=0
MRT [h]	I	0,95 ± 0,28	0,89 ± 0,13	0,635
	II	0,41 ± 0,21	0,98 ± 0,30	0,130
	III	0,91 ± 0,12	1,06 ± 0,12	0,028 IS

* test Welcha

Tabela 76. Ocena statystyczna (test t-Studenta) parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu w osoczu królików zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III) etap I_{4tyg.} vs. etap II_{8tyg.} vs. etap III_{12tyg.}.

Parametry	Etap	Grupa III	Grupa IV	P _{value}
k_{el} [h⁻¹]	I	0,88 ± 0,29	0,91 ± 0,26	0,855
	II	0,66 ± 0,22	0,94 ± 0,35	0,073*
	III	0,80 ± 0,26	0,84 ± 0,30	0,796
AUC [(mg*h)/l]	I	248,97 ± 41,27	348,15 ± 109,77	0,029 IS
	II	189,70 ± 59,48	241,64 ± 142,39	0,0002 IS
	III	114,63 ± 25,51	122,56 ± 42,01	0,655
t_{0,5} [h]	I	0,86 ± 0,27	0,81 ± 0,21	0,681
	II	1,18 ± 0,41	0,82 ± 0,25	0,050 IS
	III	0,95 ± 0,34	0,95 ± 0,43	0,980
Cl [l/h]	I	0,46 ± 0,05	0,43 ± 0,13	0,594
	II	0,63 ± 0,25	0,73 ± 0,32	0,489
	III	1,07 ± 0,27	1,32 ± 0,39	0,167
V_d [l]	I	0,57 ± 0,18	0,53 ± 0,26	0,719
	II	1,12 ± 0,82	0,84 ± 0,43	0,399
	III	1,45 ± 0,51	1,69 ± 0,60	0,406
Δ' [l/kg]	I	0,18 ± 0,06	0,13 ± 0,07	0,168
	II	0,37 ± 0,28	0,21 ± 0,11	0,142
	III	0,42 ± 0,13	0,39 ± 0,13	0,707
C_{max} [μg/ml]	I	193,37 ± 47,69	234,62 ± 55,42	0,123
	II	120,16 ± 27,56	191,41 ± 105,39	0,084*
	III	73,23 ± 21,14	54,86 ± 19,01	0,042 IS*
t_{max} [h]	I	0,31 ± 0,12	0,34 ± 0,13	0,727
	II	0,29 ± 0,15	0,33 ± 0,12	0,612
	III	0,37 ± 0,13	0,67 ± 0,35	0,044 IS
MRT [h]	I	1,06 ± 0,15	1,12 ± 0,12	0,445
	II	1,33 ± 0,20	1,22 ± 0,29	0,399
	III	1,31 ± 0,23	1,56 ± 0,33	0,073

* test Welcha

Tabela 77. Ocena statystyczna (analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a) parametrów farmakokinetycznych paracetamolu u królików z cukrzycą etap I_{4tyg.} vs. etap II_{8tyg.} vs. etap III_{12tyg.}.

Zmienne	P _{value}
$k_{el(I)}$ vs. $k_{el(II)}$	> 0,05
$k_{el(I)}$ vs. $k_{el(III)}$	> 0,05
$k_{el(II)}$ vs. $k_{el(III)}$	> 0,05
$AUC_{(I)}$ vs. $AUC_{(II)}$	> 0,05
$AUC_{(I)}$ vs. $AUC_{(III)}$	< 0,05 IS
$AUC_{(II)}$ vs. $AUC_{(III)}$	> 0,05
$t_{0,5(I)}$ vs. $t_{0,5(II)}$	> 0,05
$t_{0,5(I)}$ vs. $t_{0,5(III)}$	> 0,05
$t_{0,5(II)}$ vs. $t_{0,5(III)}$	> 0,05
$Cl_{(I)}$ vs. $Cl_{(II)}$	> 0,05
$Cl_{(I)}$ vs. $Cl_{(III)}$	< 0,01 IS
$Cl_{(II)}$ vs. $Cl_{(III)}$	> 0,05
$V_d(I)$ vs. $V_d(II)$	> 0,05
$V_d(I)$ vs. $V_d(III)$	> 0,05
$V_d(II)$ vs. $V_d(III)$	> 0,05
$\Delta'_{(I)}$ vs. $\Delta'_{(II)}$	> 0,05
$\Delta'_{(I)}$ vs. $\Delta'_{(III)}$	> 0,05
$\Delta'_{(II)}$ vs. $\Delta'_{(III)}$	> 0,05
$C_{max(I)}$ vs. $C_{max(II)}$	< 0,05 IS
$C_{max(I)}$ vs. $C_{max(III)}$	< 0,001 IS
$C_{max(II)}$ vs. $C_{max(III)}$	> 0,05
$t_{max(I)}$ vs. $t_{max(II)}$	SD=0
$t_{max(I)}$ vs. $t_{max(III)}$	SD=0
$t_{max(II)}$ vs. $t_{max(III)}$	SD=0
$MRT_{(I)}$ vs. $MRT_{(II)}$	> 0,05
$MRT_{(I)}$ vs. $MRT_{(III)}$	> 0,05
$MRT_{(II)}$ vs. $MRT_{(III)}$	> 0,05

Tabela 78. Ocena statystyczna (analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a) parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu u królików z cukrzycą etap I_{4tyg.} vs. etap II_{8tyg.} vs. etap III_{12tyg.}

Zmienne	P _{value}
$k_{el(I)}$ vs. $k_{el(II)}$	> 0,05
$k_{el(I)}$ vs. $k_{el(III)}$	> 0,05
$k_{el(II)}$ vs. $k_{el(III)}$	> 0,05
$AUC_{(I)}$ vs. $AUC_{(II)}$	< 0,05 IS
$AUC_{(I)}$ vs. $AUC_{(III)}$	< 0,001 IS
$AUC_{(II)}$ vs. $AUC_{(III)}$	< 0,01 IS
$t_{0,5(I)}$ vs. $t_{0,5(II)}$	> 0,05
$t_{0,5(I)}$ vs. $t_{0,5(III)}$	> 0,05
$t_{0,5(II)}$ vs. $t_{0,5(III)}$	> 0,05
$Cl_{(I)}$ vs. $Cl_{(II)}$	> 0,05
$Cl_{(I)}$ vs. $Cl_{(III)}$	< 0,001 IS
$Cl_{(II)}$ vs. $Cl_{(III)}$	< 0,01 IS
$V_d(I)$ vs. $V_d(II)$	> 0,05
$V_d(I)$ vs. $V_d(III)$	< 0,05 IS
$V_d(II)$ vs. $V_d(III)$	> 0,05
$\Delta'_{(I)}$ vs. $\Delta'_{(II)}$	> 0,05
$\Delta'_{(I)}$ vs. $\Delta'_{(III)}$	< 0,05 IS
$\Delta'_{(II)}$ vs. $\Delta'_{(III)}$	> 0,05
$C_{max(I)}$ vs. $C_{max(II)}$	< 0,01 IS
$C_{max(I)}$ vs. $C_{max(III)}$	< 0,001 IS
$C_{max(II)}$ vs. $C_{max(III)}$	< 0,05 IS
$t_{max(I)}$ vs. $t_{max(II)}$	> 0,05
$t_{max(I)}$ vs. $t_{max(III)}$	> 0,05
$t_{max(II)}$ vs. $t_{max(III)}$	> 0,05
$MRT_{(I)}$ vs. $MRT_{(II)}$	< 0,05 IS
$MRT_{(I)}$ vs. $MRT_{(III)}$	> 0,05
$MRT_{(II)}$ vs. $MRT_{(III)}$	> 0,05

Tabela 79. Ocena statystyczna (analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a) parametrów farmakokinetycznych paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej.

Zmienne	P _{value}
k_{el} (8.00) vs. k_{el} (16.00)	> 0,05
k_{el} (16.00) vs. k_{el} (22.00)	> 0,05
k_{el} (8.00) vs. k_{el} (22.00)	> 0,05
AUC _(8.00) vs. AUC _(16.00)	< 0,05 IS
AUC _(16.00) vs. AUC _(22.00)	> 0,05
AUC _(8.00) vs. AUC _(22.00)	< 0,05 IS
$t_{0,5}$ (8.00) vs. $t_{0,5}$ (16.00)	> 0,05
$t_{0,5}$ (16.00) vs. $t_{0,5}$ (22.00)	> 0,05
$t_{0,5}$ (8.00) vs. $t_{0,5}$ (22.00)	> 0,05
Cl _(8.00) vs. Cl _(16.00)	> 0,05
Cl _(16.00) vs. Cl _(22.00)	> 0,05
Cl _(8.00) vs. Cl _(22.00)	> 0,05
V _d (8.00) vs. V _d (16.00)	< 0,01 IS
V _d (16.00) vs. V _d (22.00)	> 0,05
V _d (8.00) vs. V _d (22.00)	> 0,05
Δ' (8.00) vs. Δ' (16.00)	< 0,01 IS
Δ' (16.00) vs. Δ' (22.00)	> 0,05
Δ' (8.00) vs. Δ' (22.00)	> 0,05
C _{max} (8.00) vs. C _{max} (16.00)	> 0,05
C _{max} (16.00) vs. C _{max} (22.00)	> 0,05
C _{max} (8.00) vs. C _{max} (22.00)	> 0,05
t_{max} (8.00) vs. t_{max} (16.00)	SD = 0
t_{max} (16.00) vs. t_{max} (22.00)	SD = 0
t_{max} (8.00) vs. t_{max} (22.00)	SD = 0
MRT _(8.00) vs. MRT _(16.00)	> 0,05
MRT _(16.00) vs. MRT _(22.00)	< 0,05 IS
MRT _(8.00) vs. MRT _(22.00)	> 0,05

Tabela 80. Ocena statystyczna (analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a) parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu w analizie chronofarmakokinetycznej.

Zmienne	P _{value}
k_{el} (8.00) vs. k_{el} (16.00)	> 0,05
k_{el} (16.00) vs. k_{el} (22.00)	> 0,05
k_{el} (8.00) vs. k_{el} (22.00)	< 0,05 IS
AUC (8.00) vs. AUC (16.00)	<0,05 IS
AUC (16.00) vs. AUC (22.00)	> 0,05
AUC (8.00) vs. AUC (22.00)	< 0,05 IS
$t_{0,5}$ (8.00) vs. $t_{0,5}$ (16.00)	< 0,05 IS
$t_{0,5}$ (16.00) vs. $t_{0,5}$ (22.00)	> 0,05
$t_{0,5}$ (8.00) vs. $t_{0,5}$ (22.00)	< 0,05 IS
Cl (8.00) vs. Cl (16.00)	> 0,05
Cl (16.00) vs. Cl (22.00)	> 0,05
Cl (8.00) vs. Cl (22.00)	>0,05
V_d (8.00) vs. V_d (16.00)	> 0,05
V_d (16.00) vs. V_d (22.00)	> 0,05
V_d (8.00) vs. V_d (22.00)	> 0,05
Δ' (8.00) vs. Δ' (16.00)	> 0,05
Δ' (16.00) vs. Δ' (22.00)	> 0,05
Δ' (8.00) vs. Δ' (22.00)	> 0,05
C_{max} (8.00) vs. C_{max} (16.00)	> 0,05
C_{max} (16.00) vs. C_{max} (22.00)	> 0,05
C_{max} (8.00) vs. C_{max} (22.00)	< 0,01 IS
t_{max} (8.00) vs. t_{max} (16.00)	> 0,05
t_{max} (16.00) vs. t_{max} (22.00)	> 0,05
t_{max} (8.00) vs. t_{max} (22.00)	> 0,05
MRT (8.00) vs. MRT (16.00)	< 0,05 IS
MRT (16.00) vs. MRT (22.00)	> 0,05
MRT (8.00) vs. MRT (22.00)	< 0,05 IS

Tabela 81. Ocena przenikania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu przez barierę krew-oko w grupie królików z cukrzycą etap II_{8tyg.}

t [min]	Nr królika	C _{par} [µg/ml] ciecz wodnista oka	C _{par} [µg/ml] osocze	C _{par} [µg/ml] ciecz wodnista oka/C _{par} [µg/ml] osocze	C _{met} [µg/ml] ciecz wodnista oka	C _{met} [µg/ml] osocze	C _{met} [µg/ml] ciecz wodnista oka/C _{met} [µg/ml] osocze
5	K1	4,448	47,223	0,094	0,154	46,880	0,003
15	K1	4,222	33,446	0,126	1,016	98,962	0,010
15	K24	7,646	18,030	0,424	1,986	117,176	0,017
30	K21	2,087	7,042	0,296	1,450	71,079	0,020
30	K24	3,333	11,582	0,288	2,045	119,818	0,017
45	K21	7,150	8,781	0,814	6,254	113,579	0,055
60	K17	2,309	2,138	1,080	4,792	35,420	0,135
120	K12	0,624	2,687	0,232	6,131	30,159	0,203
120	K17	1,208	0,328	3,683	5,502	11,946	0,461
180	K12	0,173	1,813	0,095	5,327	13,44	0,396
180	K23	0,776	0,098	0,792	7,350	7,341	1,001
240	K8	0,253	0,517	0,489	3,009	3,757	0,801
240	K23	0,218	0,238	0,916	3,088	2,323	1,329
300	K8	0,453	0,688	0,658	5,303	1,554	3,412

Tabela 82. Ocena przenikania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu przez barierę krew-oko w grupie królików z cukrzycą etap III_{12tyg.}.

t [min]	Nr królika	C _{par} [μg/ml] ciecz wodnista oka	C _{par} [μg/ml] osocze	C _{par} [μg/ml] ciecz wodnista oka/C _{par} [μg/ml]osocze	C _{met} [μg/ml] ciecz wodnista oka	C _{met} [μg/ml] osocze	C _{met} [μg/ml] ciecz wodnista oka/C _{met} [μg/ml]osocze
5	K1	5,471	26,241	0,208	0,101	38,392	0,003
15	K1	4,101	18,909	0,217	1,586	77,001	0,021
15	K24	5,381	11,126	0,484	2,999	43,878	0,068
30	K24	4,098	7,867	0,521	0,054	76,522	0,001
30	K21	4,109	8,864	0,465	1,711	106,675	0,016
45	K21	3,352	7,430	0,451	1,675	70,725	0,024
45	K25	4,105	3,821	1,074	5,851	56,514	0,104
60	K25	3,642	2,986	1,219	4,412	44,311	0,099
60	K17	3,456	5,145	0,672	2,671	50,569	0,053
120	K17	1,543	1,317	1,172	0,081	15,062	0,005
120	K12	1,436	0,812	1,768	9,310	16,973	0,548
180	K12	0,761	0,745	1,021	4,997	12,627	0,396
180	K23	0,492	0,239	2,058	2,842	2,404	1,182
240	K23	0,261	0,129	2,023	1,071	0,834	1,284
240	K8	0,576	0,190	3,032	3,023	3,119	0,969
300	K8	0,351	0,148	2,372	1,323	1,924	0,688

Tabela 83. Ocena przenikania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu przez barierę krew-oko w grupie królików zdrowych etap II_{8tyg.}.

t [min]	Nr królika	C _{par} [µg/ml] ciecz wodnista oka	C _{par} [µg/ml] osocze	C _{par} [µg/ml] ciecz wodnista oka/C _{par} [µg/ml] osocze	C _{met} [µg/ml] ciecz wodnista oka	C _{met} [µg/ml] osocze	C _{met} [µg/ml] ciecz wodnista oka/C _{met} [µg/ml] osocze
5	K30	7,696	28,041	0,274	0,667	51,966	0,013
5	K33	8,599	66,174	0,130	0,125	104,892	0,001
15	K30	8,028	31,740	0,253	1,369	90,529	0,015
15	K33	8,042	43,738	0,184	0,523	136,645	0,004
30	K29	6,432	9,777	0,658	4,777	100,301	0,048
30	K32	4,925	27,123	0,182	7,529	207,301	0,036
45	K29	3,030	5,885	0,515	3,062	68,249	0,045
60	K28	4,976	6,933	0,718	4,239	69,245	0,061
120	K28	2,598	1,895	1,371	16,222	29,426	0,551
120	K32	3,290	4,948	0,665	5,159	45,398	0,114
180	K26	1,098	2,947	0,373	2,944	11,378	0,259
180	K31	1,685	0,959	1,757	3,511	7,178	0,489
240	K26	0,470	1,449	0,324	1,889	2,500	0,756
240	K27	0,335	0,445	0,753	1,770	2,602	0,680
300	K27	0,129	0,352	0,366	0,703	0,382	1,840
300	K31	0,176	0,053	3,321	0,568	0,954	0,595

Tabela 84. Ocena przenikania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu przez barierę krew-oko w grupie królików zdrowych etap III_{12tyg.}.

t [min]	Nr królika	C _{par} [μg/ml] ciecz wodnista oka	C _{par} [μg/ml] osocze	C _{par} [μg/ml] ciecz wodnista oka/C _{par} [μg/ml] osocze	C _{met} [μg/ml] ciecz wodnista oka	C _{met} [μg/ml] osocze	C _{met} [μg/ml] ciecz wodnista oka/C _{met} [μg/ml] osocze
5	K30	6,130	22,869	0,268	0,051	19,856	0,003
15	K30	6,092	19,087	0,319	0,343	31,389	0,011
15	K33	6,352	6,288	1,010	0,041	63,686	0,001
30	K29	5,543	5,083	1,090	1,671	44,324	0,038
30	K33	5,987	5,916	1,012	0,011	36,166	0,001
45	K29	4,390	5,680	0,773	1,801	34,570	0,052
45	K34	5,821	9,790	0,595	1,989	72,770	0,027
60	K28	5,491	7,551	0,727	8,289	38,900	0,213
60	K34	5,070	3,903	1,299	2,199	37,775	0,058
120	K28	2,633	2,378	1,107	6,411	27,029	0,237
180	K32	1,565	0,599	2,613	3,133	36,461	0,086
240	K32	0,861	0,484	1,779	2,100	8,255	0,254
240	K27	0,711	0,170	4,182	4,488	2,785	1,611
300	K27	0,299	0,160	1,869	1,001	0,546	1,833

Tabela 85. Parametry farmakokinetyczne paracetamolu w cieczy wodnistej oka u królików z zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III).

Parametry	Etap II _{8tyg.}		Etap III _{12tyg.}	
	Grupa III	Grupa IV	Grupa III	Grupa IV
AUC [(mg*h)/l]	10,28	12,32	9,12	13,59
C _{max} [μg/ml]	5,93	8,15	5,47	6,22
t _{max} [h]	0,25	0,25	0,08	0,25

Tabela 86. Parametry farmakokinetyczne glukuronianu paracetamolu w cieczy wodnistej oka u królików zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III).

Parametry	Etap II _{8tyg.}		Etap III _{12tyg.}	
	Grupa III	Grupa IV	Grupa III	Grupa IV
AUC [(mg*h)/l]	99,61	27,48	18,15	19,16
C _{max} [μg/ml]	6,34	4,67	4,69	6,41
t _{max} [h]	3,00	3,00	2,00	2,00

Tabela 87. Ocena statystyczna (test t-Studenta) średnich stężeń paracetamolu oznaczonych w cieczy wodnistej oka u królików zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III) etap II_{8tyg.}.

t [min]	Grupa III	Grupa IV	P _{value}
15	5,93 ± 2,42	8,04 ± 0,01	0,345
30	2,71 ± 0,88	5,68 ± 1,07	0,094
120	0,92 ± 0,41	2,94 ± 0,49	0,042 IS
180	0,47 ± 0,43	0,99 ± 0,76	0,161
240	0,24 ± 0,03	0,40 ± 0,09	0,139

Tabela 88. Ocena statystyczna (test t-Studenta) średnich stężeń paracetamolu oznaczonych w cieczy wodnistej oka u królików zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III) etap III_{12tyg.}.

t [min]	Grupa III	Grupa IV	P _{value}
15	4,74 ± 0,90	6,22 ± 0,18	0,152
30	4,10 ± 0,01	5,76 ± 0,31	0,084
45	3,72 ± 0,53	5,10 ± 1,01	0,229
60	3,54 ± 0,14	5,28 ± 0,30	0,017 IS
240	0,41 ± 0,22	0,78 ± 0,11	0,1647

Tabela 89. Ocena statystyczna (test t-Studenta) średnich stężeń glukuronianu paracetamolu oznaczonych w cieczy wodnistej oka u królików zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III) etap II_{8tyg.}.

t [min]	Grupa III	Grupa IV	P _{value}
15	1,50 ± 0,69	0,95 ± 0,59	0,479
30	1,75 ± 0,42	6,15 ± 1,95	0,088
120	5,82 ± 0,45	10,69 ± 7,82	0,472
180	6,34 ± 1,43	3,93 ± 1,25	0,137
240	3,05 ± 0,06	1,83 ± 0,08	0,003 IS

Tabela 90. Ocena statystyczna (test t-Studenta) średnich stężeń glukuronianu paracetamolu oznaczonych w cieczy wodnistej oka u królików zdrowych (grupa IV) i z cukrzycą (grupa III) etap III_{12tyg.}.

t [min]	Grupa III	Grupa IV	P _{value}
15	2,29 ± 1,00	0,19 ± 0,22	0,101
30	0,88 ± 1,17	0,84 ± 1,17	0,976
45	3,76 ± 2,95	1,89 ± 0,13	0,465
60	3,54 ± 1,23	5,23 ± 4,30	0,646
240	2,05 ± 1,38	3,29 ± 1,68	0,503

Paracetamol jest jednym z najczęściej stosowanych w leczeniu otwartym i zamkniętym leków przeciwbólowych i przeciwgorączkowych. W ostatnich latach zwraca się szczególną uwagę na postać dożylną paracetamolu, która gwarantuje uzyskanie szybkiego i skutecznego efektu terapeutycznego [80, 81]. Wprowadzony na rynek w 2004 r. na rynek farmaceutyczny paracetamol do podania *i.v.* (*Perfalgan*®) znalazł zastosowanie w leczeniu bólu o umiarkowanym nasileniu, szczególnie w okresie pooperacyjnym na oddziałach intensywnej terapii [82, 83].

Dożylna droga podania, oprócz szybkiego efektu działania, pozwala wyeliminować różnice wynikające ze zmiennej międzypersonalnie szybkości wchłaniania. Biotransformacja i wydalanie paracetamolu są procesami zależnymi m.in. od wieku pacjenta, aktywności enzymów wątrobowych i wydolności nerek. Acetaminofen jest eliminowany z ustroju w postaci nieaktywnego farmakologicznie glukuronianu i siarczanu, jednak istnieje możliwość jego metabolizmu w kierunku toksycznej N-acetylo-p-benzochinoiminy (NAPQI) [84]. Za powstawanie tego metabolitu, który może powodować uszkodzenie wątroby, odpowiedzialny jest izoenzym CYP2E1. Z doniesień piśmiennictwa wynika natomiast, iż zaburzenie gospodarki węglowodanowej, wpływa na wzrost aktywności cytochromu P450, m.in. właśnie izoformy CYP2E1. Dodatkowo wykazano możliwość występowania nadekspresji izoenzymu CYP3A4 i CYP1A2 w cukrzycy [85].

Jak wiadomo chlorzoksazon jest substancją wykorzystywaną do oceny aktywności izoenzymu CYP2E1. Przy udziale CYP2E1 ulega on biotransformacji do 6-hydroksychlorzoksazonu. Baek i wsp. przeprowadzili eksperymenty z udziałem grupy szczurów z cukrzycą wywołaną aloksanem (DMIA) lub streptozotocyną (DMIS). Każdej z grup zwierząt doświadczalnych podawano chlorzoksazon (CZX) w dawkach 20 mg/kg m.c. (*i.v.*) lub 50 mg/kg m.c. (*p.o.*) i oznaczano poziomy jego metabolitu tj. 6-hydroksychlorzoksazonu (OH-CZX). Oznaczone stężenia OH-CZX były istotnie wyższe u szczurów z cukrzycą, wywołaną zarówno aloksanem jak i streptozotocyną, w porównaniu do zwierząt grupy kontrolnej. Potwierdza to wzrost aktywności CYP2E1 u szczurów z cukrzycą. Po podaniu dożylnym zaobserwowano znaczne zmniejszenie pola powierzchni pod krzywą stężenie-czas (AUC) dla CZX w grupie zwierząt z cukrzycą wywołaną aloksanem (o ok. 40,7%) jak również w grupie zwierząt z cukrzycą wywołaną streptozotocyną (o ok. 46,3%) w porównaniu do grupy kontrolnej. W przypadku metabolitu wartości AUC oraz C_{max} były wyższe u szczurów z doświadczalnie wywołaną cukrzycą. Podobne zmiany w farmakokinetyce chlorzoksazonu obserwowano po podaniu doustnym, z wyjątkiem obniżonej

wartości C_{max} , co wynikało z podwyższonych stężeń kwasu tłuszczowego i nasilonej glikozylacji białek osocza u badanych zwierząt [86].

Indukcją izoenzymu CYP2E1 w cukrzycy zajmowali się również Wang i wsp. W ich badaniach wzięło udział 10 zdrowych ochotników, 13 pacjentów z cukrzycą typu 1 oraz 8 pacjentów z cukrzycą typu 2. Każda z osób biorących udział w eksperymencie otrzymała chlorzoksazon w jednorazowej dawce 500 mg. Podobnie jak we wcześniej opisanym wariacie badań, również w tym przypadku wykazano wzrost aktywności izoenzymu CYP2E1 u otyłych pacjentów z cukrzycą typu 2 oraz zwiększoną ekspresję CYP2E1 u osób z cukrzycą typu 1. Potwierdziło to przypuszczenie, że cukrzyca może wpływać na farmakokinetykę substancji, które są substratami dla tego izoenzymu [87].

Jednym z substratów izoformy CYP2E1 cytochromu P450 jest teofilina, stosowana m.in. w leczeniu astmy oskrzelowej. Kim i wsp. [88] wykorzystując zwierzęcy model doświadczalny analizowali wpływ cukrzycy na parametry farmakokinetyczne teofiliny i jednego z jej metabolitów tj. kwasu 1,3-dimetylomoczowego (1,3-DMU), który powstaje przy udziale izoformy CYP1A2 oraz 2E1. Szczurom zdrowym oraz z cukrzycą wywołaną aloksanem lub streptozotocyną podawano teofilinę w dawce 5 mg/kg. Ekspresja obu izoenzymów wzrosła trzykrotnie u szczurów z cukrzycą doświadczalną. Wartości $t_{0,5}$ oraz AUC dla 1,3-DMU po podaniu *i.v.* teofiliny u szczurów z doświadczalną cukrzycą również były istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej [88].

Lee i wsp. [89] przeprowadzili natomiast eksperymenty z udziałem szczurów z cukrzycą wywołaną aloksanem lub streptozotocyną, oceniając wpływ tej jednostki chorobowej na farmakokinetykę omeprazolu. Każdej z tych grup zwierząt doświadczalnych podawano omeprazol w dawce 20 mg/kg m.c. (*i.v.*) lub 40 mg/kg m.c. (*p.o.*). Wykazano wzrost wartości klirensu omeprazolu (po podaniu *i.v.*) u zwierząt z doświadczalnie wywołaną cukrzycą, a także zmniejszenie wartości AUC w porównaniu do grupy kontrolnej co oznaczało szybszą eliminację leku i redukcję stężeń w przedziale dawkowania. U szczurów z DMIA zaobserwowano zmniejszenie wartości C_{max} omeprazolu o ok. 32,6%, natomiast u zwierząt z DMIS wartość biologicznego okresu półtrwania ($t_{0,5}$) leku uległa skróceniu o ok. 47,7% w porównaniu do grupy kontrolnej. Dodatkowo u zwierząt z doświadczalną cukrzycą wykazano większe wartości objętości dystrybucji leku, co mogło wynikać m.in. ze wzrostu wolnej frakcji leku na skutek konkurencyjnego procesu glikozylacji albumin [89]. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że doświadczalna cukrzyca zmienia farmakokinetykę omeprazolu, poprzez wpływ na wzrost aktywności izoenzymów CYP 1A1/2 oraz CYP3A1/2.

Innym lekiem, którego farmakokinetykę poddano analizie u szczurów z doświadczalnie wywołaną cukrzycą (DMIS), był 5-fluorouracyl, podany dożylnie w dawce 30 mg/kg m.c. [90]. Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły zwiększoną aktywność izoenzymu CYP1A1/2 oraz zmiany PK 5-FU w cukrzycy skutkujące spadkiem wartości AUC oraz wzrostem parametru klirensu 5-FU [90].

Cukrzyca może również wpływać na zmianę dostępności biologicznej (F) leku. Moon i wsp. wykazali, iż całkowita dostępność biologiczna losartanu po podaniu *p.o.*, uległa znacznemu zmniejszeniu u szczurów z DMIS. Zaobserwowano zmniejszenie wartości F losartanu o ok. 32,5%, co prawdopodobnie spowodowane było mniejszym wchłanianiem żołądkowo-jelitowym wskutek, inicjowanych cukrzycą, zaburzeń funkcji układu pokarmowego i wzrostem efektu pierwszego przejścia [91].

Biorąc pod uwagę wykazaną przez innych autorów możliwość wzrostu aktywności CYP2E1 w stanach przebiegających z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej zasadnym wydawało się być oczekiwanie zmian w farmakokinetyce paracetamolu pod wpływem cukrzycy. Z klinicznego punktu widzenia, wiedza na ten temat jest niezbędna w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia działań niepożądanych, toksycznych czy też wyjaśnienia przyczyn braku spodziewanego efektu farmakologicznego.

Celem niniejszej pracy była ocena parametrów farmakokinetycznych paracetamolu i glukuronianu paracetamolu u królików z doświadczalnie wywołaną cukrzycą.

Stan cukrzycy wywoływano u dorosłych królików podając do żyły brzeżnej ucha aloksan w dawce 90 mg/kg m.c. w roztworze 0,9% NaCl. Proces utrwalenia cukrzycy weryfikowano na podstawie oznaczeń stężenia glukozy we krwi oraz wartości hemoglobiny glikowanej w grupie II i III zwierząt doświadczalnych (tab. 28-36). Wykazano różnice istotne statystycznie (analiza wariancji ANOVA, test Tukey'a) dla oznaczonych wartości hemoglobiny glikowanej między grupami zwierząt z cukrzycą aloksanową i królikami zdrowymi (tab. 37-38). W grupie zwierząt z cukrzycą aloksanową obserwowano wzrost wartości HbA1C o około 55% w etapie I oraz o około 48% w etapie II w porównaniu do grupy kontrolnej (tab. 29-36).

W piśmiennictwie napotkać można nieliczne dane dotyczące farmakokinetyki paracetamolu u królików. Na przykład McNamara i wsp. badali parametry farmakokinetyczne acetaminofenu u królików w okresie laktacji. Średnie wartości analizowanych parametrów farmakokinetycznych po jednorazowym, dożylnym podaniu dawki 35 mg/kg m.c. wynosiły: $t_{0,5}=0,43\pm 0,04$ [h], $MRT=36,7\pm 3,24$ [min] oraz $V_d=2,41\pm 0,38$ [l] [92].

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano różnice istotne statystycznie dla wartości pola powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie (AUC) w etapie I_{4tyg.} oraz etapie II_{8tyg.}. U królików z doświadczalną cukrzycą w etapie I_{4tyg.} obserwowano zmniejszenie wartości AUC o 43% w porównaniu do grupy kontrolnej (23,11 vs. 40,35 [(mg*h)/l]; p=0,0001) (tab. 57, 59, 75), w etapie II_{8tyg.} o 47% (22,11 vs. 41,39 [(mg*h)/l]; p=0,044) (tab. 61, 63, 75), natomiast w etapie III_{12tyg.} zaobserwowano zmniejszenie o 22% wartości AUC w grupie królików z cukrzycą, przy czym nie były to zmiany istotne statystycznie (13,54 vs. 17,29 [(mg*h)/l]; p=0,152) (tab. 65, 67, 75). Na podstawie uzyskanych wyników wykazano istotny wpływ zaburzeń gospodarki węglowodanowej na zmniejszenie stopnia ekspozycji na lek w grupie królików z doświadczalnie wywołaną cukrzycą w porównaniu do grupy kontrolnej.

McNamara i wsp. [92] na podstawie przeprowadzonych eksperymentów wykazali, że u królików w okresie laktacji wartość biologicznego okresu półtrwania wynosi 25,5 minut.

Na podstawie zaprojektowanych i przeprowadzonych w niniejszej pracy badań stwierdzono istotne różnice w wartościach biologicznego okresu półtrwania ($t_{0,5}$) paracetamolu między badanymi grupami zwierząt.

W I etapie badań, w grupie królików z 4-tygodniową cukrzycą aloksanową obserwowano wydłużenie wartości $t_{0,5}$ o ok. 34% w porównaniu z grupą kontrolną. U królików z cukrzycą aloksanową wartość $t_{0,5}$ wynosiła 1,76h vs. 1,31h u królików zdrowych (p=0,029) (tab. 57, 59, 75). U królików z 8-tygodniową cukrzycą zaobserwowano wydłużenie wartości $t_{0,5}$ o ok. 103%; średnia wartość tego parametru wynosiła 2,03h vs. 1,00h u królików zdrowych (p=0,005) (tab. 61, 63, 75). Prawdopodobnymi przyczynami różnic pomiędzy uzyskanymi w niniejszej pracy wartościami $t_{0,5}$ w grupie królików zdrowych i wynikami innych autorów może być zmienność międzyosobnicza, a także fakt, że McNamara i wsp. prowadzili badania z wykorzystaniem królików karmiących. Uzyskane przeze mnie wyniki sugerują, iż zaburzenia gospodarki węglowodanowej przyczyniają się prawdopodobnie do spowolnienia procesów eliminacji paracetamolu. Świadczy o tym wydłużenie $t_{0,5}$ leku w grupie królików z wywołaną doświadczalnie cukrzycą. Potwierdzeniem tego jest również skrócenie wartości stałej terminalnej w fazie eliminacji (k_{el}) dla paracetamolu w grupie królików z cukrzycą aloksanową. U królików z ośmio tygodniową cukrzycą zanotowano zmniejszenie wartości k_{el} leku o ok. 93% w porównaniu z tym parametrem oznaczanym w grupie zwierząt zdrowych. Średnie wartości k_{el} wynosiły $0,41h^{-1}$ vs. $0,79h^{-1}$ odpowiednio w grupie zwierząt z cukrzycą aloksanową oraz zdrowych (p=0,014) (tab. 61, 63, 75). Analogiczną zależność obserwowano u zwierząt z 12-tygodniową cukrzycą, gdzie

zanotowano zmniejszenie k_{el} o ok. 42%. Średnie wartości tego parametru wynosiły $0,55h^{-1}$ vs. $0,78h^{-1}$ odpowiednio w grupie zwierząt z cukrzycą aloksanową oraz grupie zwierząt zdrowych ($p=0,033$) (tab. 65, 67, 75).

Stwierdzono także występowanie istotnych różnic w wartościach objętości dystrybucji (V_d) paracetamolu między badanymi grupami. W I etapie badań, w grupie królików z 4-tygodniową cukrzycą aloksanową obserwowano wzrost V_d leku o ok. 84%. U zwierząt chorych wartość V_d wynosiła 12,33L oraz odpowiednio 6,69L w grupie kontrolnej ($p=0,0003$) (tab. 57, 59, 75). Rezultatem utrzymywania się przez okres 8 tygodni stanu cukrzycy było zwiększenie aż o 167% wartości V_d w porównaniu z grupą kontrolną. Średnie wartości tego parametru wynosiły 18,47 vs. 6,91 [L] odpowiednio w grupie królików z zaburzonym metabolizmem glukozy w porównaniu do królików zdrowych ($p=0,039$) (tab. 61, 63, 75). Natomiast w III etapie badań zanotowano zmniejszenie wartości V_d o ok. 38%. U królików z 12-tygodniową cukrzycą, średnie wartości V_d wynosiły 17,60 vs. 12,70 [L] w grupie kontrolnej ($p=0,035$) (tab. 65, 67, 75).

U królików z 4 tygodniową cukrzycą (etap I) zaobserwowano wzrost klirensu paracetamolu (Cl) o ok. 42% w porównaniu z grupą kontrolną. Średnie obliczone wartości tego parametru wynosiły 4,99 vs. 3,52 [l/h] odpowiednio w grupie zwierząt z cukrzycą aloksanową oraz zdrowych ($p=0,0008$) (tab. 57, 59, 75).

Wiadomo, iż u osób dorosłych paracetamol ulega sprzężaniu w około 40–67% z kwasem glukuronowym, w około 20–46% z kwasem siarkowym oraz cysteiną (ok. 3%) i jest przekształcany do nieaktywnych farmakologicznie metabolitów [12, 14].

W eksperymentach wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej badano również wpływ cukrzycy na farmakokinetykę pochodnej glukuronianowej. Kamali S. i wsp. na podstawie przeprowadzonych badań wykazali, że u osób dorosłych cukrzyca insulinoniezależna nie wpływa istotnie statystycznie na farmakokinetykę podanego dożylnie w jednorazowej dawce 500 mg paracetamolu oraz jego glukuronianu [93].

Na podstawie przeprowadzonych przeze mnie badań stwierdzono istotne statystycznie obniżenie wartości AUC glukuronianu paracetamolu u królików z 4 tygodniową cukrzycą o ok. 40%. Średnie wartości tego parametru wynoszą 248,97 vs. 348,15 [(mg*h)/l] odpowiednio u królików z doświadczalną cukrzycą oraz zdrowych ($p=0,029$) (tab. 58, 60, 76). W II etapie badań zaobserwowano zmniejszenie wartości AUC metabolitu o ok. 27% u królików z 8 tygodniową cukrzycą w porównaniu z grupą kontrolną, średnie wartości tego parametru w omawianych grupach wynosiły odpowiednio: 189,70 vs. 241,64 [(mg*h)/l] ($p=0,0002$) (tab. 62, 64, 76). U królików z 12 tygodniową cukrzycą obserwowano wzrost wartości stężenia

maksymalnego (C_{max}) glukuronianu paracetamolu o ok. 33%. Średnia wartość C_{max} glukuronianu paracetamolu wynosiła odpowiednio u zwierząt z zaburzeniami metabolizmu glukozy 73,23 vs. 54,86 [$\mu\text{g/ml}$] w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,042$) (tab. 66,68, 76). W tym samym etapie badań zauważono skrócenie czasu (t_{max}) potrzebnego do osiągnięcia stężenia maksymalnego glukuronianu paracetamolu u królików z cukrzycą aloksanową o ok. 81%. Wyznaczona wartość t_{max} wynosiła 0,37h u królików z 12 tygodniową cukrzycą vs. 0,67 [h] ($p=0,044$) w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 66, 68, 76). Dla pozostałych parametrów farmakokinetycznych nie wykazano różnic istotnych statystycznie. Może to sugerować, iż zaburzenie gospodarki węglowodanowej w niewielkim stopniu wpływa na metabolizm paracetamolu przebiegający w kierunku nieaktywnego glukuronianu. Istnieje jednak prawdopodobieństwo wpływu cukrzycy na biotransformację leku przebiegającą w kierunku tworzenia nieaktywnego siarczanu lub aktywnej, toksycznej N-acetylo-p-benzochinonoiminy. Weryfikacja tych hipotez wymaga jednak przeprowadzenia dalszych badań.

Dodatkowym empirycznym aspektem niniejszej pracy była ocena przenikania paracetamolu i jego glukuronianu do cieczy wodnistej oka.

Paracetamol jest dość dobrze rozpuszczalny w lipidach, a fakt posiadania również niskiej masy cząsteczkowej, przyczyniać może się do ułatwionego i relatywnie szybkiego przenikania przez błony komórkowe. W stanie równowagi stosunek stężeń tkanka-osocze wynosi 1 z wyjątkiem tkanki tłuszczowej oraz płynu mózgowo-rdzeniowego. W stanach cukrzycowych może dochodzić do zmian w szybkości przepływu krwi przez naczynia krwionośne gałki ocznej. W dostępnym piśmiennictwie brak jest doniesień na ten temat z wyjątkiem jednej publikacji, dotyczącej przenikania acetaminofenu do cieczy wodnistej oka, w której wykazano, iż paracetamol łatwo pokonuje barierę krew-oko, osiągając porównywalne stężenia w cieczy wodnistej oka i w osoczu krwi [42].

Romanelli i wsp. badali możliwość przenikania paracetamolu do cieczy wodnistej oka w grupie sześciu królików rasy *Nowozelandzkiej białej*. Zwierzętom podano dożylnie acetaminofen w dawce 100 mg/kg m.c. i oznaczano stężenia paracetamolu w cieczy wodnistej w punktach czasowych: 30', 1h, 2 h 4 h, 8 h, które wynosiły odpowiednio: 53,80 ($\pm 5,00$), 21,30 ($\pm 2,44$), 6,80 ($\pm 0,52$), 1,20 ($\pm 0,20$) i 0,10 ($\pm 0,01$) $\mu\text{g/ml}$ [42].

W celu wykazania możliwości transportu paracetamolu do cieczy wodnistej oka w niniejszej pracy oznaczano stężenia leku i jego glukuronianu w tym płynnym kompartmentcie oka po dożylnym podaniu leku w dawce 35 mg/kg m.c. w następujących punktach czasowych: 5, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240 i 300 [min]. Średnie oznaczone stężenia

paracetamolu oraz jego glukuronianu w grupie królików zdrowych i z cukrzycą zostały przedstawione w tabelach: 81-84.

U pacjentów z cukrzycą dochodzi często do zwiększenia przepuszczalności bariery krew–oko [6, 7, 94], a dokładnie do upośledzenia bariery naczyniowo-komorowej, która izoluje ciecz wodnistą od odgradzających ją tworów komórkowych, zapewniając także niezmiennosc właściwości fizykochemicznych cieczy wodnistej.

Na podstawie przeprowadzonych przez mnie badań wykazano istotne statystycznie różnice między oznaczonymi w cieczy wodnistej oka stężeniami paracetamolu w badanych grupach królików. W grupie zwierząt z 8 tygodniową cukrzycą po upływie 2 h od momentu rozpoczęcia eksperymentu obserwowano obniżenie stężenia paracetamolu ($C_{\text{par}}=0,92 \mu\text{g/ml}$) w porównaniu z grupą kontrolną, w której C_{par} wynosiło $2,94 \mu\text{g/ml}$ ($p=0,042$) (tab. 87). W III etapie badań potwierdzono wcześniej zaobserwowaną tendencję, wykazując obniżenie stężenia paracetamolu w punkcie czasowym = 1 h u królików z 12 tygodniową cukrzycą ($C_{\text{par}}=3,54 \mu\text{g/ml}$) w porównaniu do zwierząt zdrowych, u których oznaczone, średnie stężenie paracetamolu wynosiło $5,29 \mu\text{g/ml}$ ($p=0,017$) (tab. 88).

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że u królików z doświadczalnie wywołaną cukrzycą stężenia paracetamolu osiągnane w cieczy wodnistej przedniej komory oka są niższe w porównaniu ze stężeniami oznaczanymi w cieczy wodnistej zwierząt grupy kontrolnej.

Dla oznaczonych w cieczy wodnistej oka stężeń glukuronianu paracetamolu wykazano różnicę istotną statystycznie między królikami z 8 tygodniową cukrzycą i grupą zwierząt zdrowych w punkcie czasowym = 4 h. Stężenie glukuronianu paracetamolu wynosiło $3,05 \mu\text{g/ml}$ u zwierząt chorych oraz $1,83 \mu\text{g/ml}$ w grupie kontrolnej ($p=0,003$) (tab. 89). Natomiast w etapie III_{12tyg.} nie zauważono zmian istotnych statystycznie pomiędzy badanymi grupami królików (tab. 90).

Dodatkowo ocenę zdolności przenikania paracetamolu i jego metabolitu do cieczy wodnistej oka przeprowadzono na podstawie porównania wartości stężeń występujących w cieczy wodnistej i osoczu w danym punkcie czasowym u danego królika. Romanelli i wsp. porównywali stężenie paracetamolu w cieczy wodnistej oka do stężenia występującego w osoczu po upływie 30 minut od momentu administracji leku. Obliczony stosunek tych stężeń wynosił 0,890 [42]. Uzyskane w niniejszych badaniach stosunki stężeń leku u królików z cukrzycą wynosiły odpowiednio 0,29 (tab. 81) dla zwierząt z 8 tygodniową cukrzycą i 0,49 w przypadku królików z 12 tygodniową cukrzycą aloksanową (tab. 82). W grupie zwierząt zdrowych stosunek tych stężeń był równy 0,42 (etap II_{8tyg.}) oraz 1,05 (etap III_{12tyg.}) (tab. 83,

84). W przypadku glukuronianu paracetamolu u królików z cukrzycą aloksanową wartość tego stosunku wynosiła 0,02 (tab. 81) dla zwierząt z 8 tygodniową cukrzycą, 0,008 (tab. 82) dla królików z 12 tygodniową cukrzycą aloksanową i 0,04 (tab. 83) u królików zdrowych (etap II_{8tyg.}) oraz 0,02 (etap III_{12tyg.}) (tab. 84). U królików z doświadczalnie wywołaną cukrzycą obserwowano zmniejszenie wartości stosunku stężeń paracetamolu w porównaniu do grupy kontrolnej co może wskazywać na zmniejszenie kinetyki przenikania paracetamolu do cieczy wodnistej w tej jednostce chorobowej.

Kolejnym etapem pracy było wyznaczenie wybranych parametrów farmakokinetycznych paracetamolu i jego metabolitu w cieczy wodnistej oka tj. AUC, C_{max} oraz t_{max} . Zaobserwowano zmniejszenie wartości AUC paracetamolu o ok. 17% u królików z 8 tygodniową cukrzycą. Wartość AUC w II etapie badania wynosiła odpowiednio u zwierząt chorych 10,28 vs. 12,32 [(mg*h)/l] u królików zakwalifikowanych do grupy kontrolnej (tab. 85). W III etapie badania zaobserwowano obniżenie AUC o ok. 32% u królików z 12 tygodniową cukrzycą. Wartości tego parametru wynosiły odpowiednio 9,12 u zwierząt chorych vs. 13,59 [(mg*h)/l] w odniesieniu do grupy kontrolnej (tab. 85). Oznaczone wartości stężeń maksymalnych (C_{max}) paracetamolu w cieczy wodnistej oka królików z cukrzycą aloksanową uległo zmniejszeniu o ok. 27% w II etapie badania. Wartości C_{max} leku wynosiły 5,93 vs. 8,15 [μ g/ml] odpowiednio u zwierząt chorych i zdrowych (tab. 85). U królików z 12 tygodniową cukrzycą zaobserwowano zmniejszenie C_{max} o ok. 12% ($C_{max}=5,47$ vs. 6,22 [μ g/ml]) w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 85). W III etapie eksperymentu u królików z doświadczalnie wywołaną cukrzycą obserwowano skrócenie czasu osiągnięcia stężenia maksymalnego ($t_{max}=5'$) o ok. 68% w porównaniu z grupą królików zdrowych ($t_{max}=15'$) (tab. 85). Nie zaobserwowano natomiast zmian w czasie t_{max} w II_{8tyg.} etapie badań.

Porównując obliczone parametry farmakokinetyczne glukuronianu paracetamolu w cieczy wodnistej oka u królików zdrowych i z cukrzycą nie wykazano analogicznych z paracetamolem zależności (tab. 86). Może to być spowodowane małą liczbą próbek cieczy wodnistej oka (n=2) możliwych do uzyskania w danym przedziale czasowym. W dostępnym piśmiennictwie nie napotkano dotąd publikacji opisujących wartości parametrów farmakokinetycznych paracetamolu i metabolitu w cieczy wodnistej oka.

Wiadomo, że zmiany dobowe w przebiegu procesów fizjologicznych mogą istotnie wpływać na parametry farmakokinetyczne wielu leków. Przeprowadzone dotychczas badania potwierdzają zmienność procesów absorpcji, dystrybucji i eliminacji m.in. dla leków hipotensyjnych oraz niesteroidowych leków przeciwzapalnych.

W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie chronobiologią i wpływem rytmów dobowych (*circadian rhythms*) na działanie leków [95, 96, 97, 98, 101, 100, 101]. W literaturze istnieje szereg doniesień potwierdzających zależność pomiędzy porą podania leku i jego losami w organizmie człowieka oraz efektem terapeutycznym.

Dobową zmienność w czasie działania wykazano jak dotąd m.in. dla środków znieczulających miejscowo tj. lidokainy, mepiwakainy, betoksykainy, których najdłuższy w czasie efekt terapeutyczny obserwowano ok. godziny 15⁰⁰. Ropiwakaina wstrzyknięta zewnątrzoponowo kobietom ciężarnym wykazywała dłuższe działanie przeciwbólowe po podaniu w dzień niż wieczorem. Wpływ na takie działanie ma nie tylko dobową zmienność w farmakokinetyce lokalnych anestetyków, ale w interpretacji tych efektów bierze się również pod uwagę czasową zmienność przepuszczalności błon neuronów i dostęp do kanałów jonowych [102]. Wspólną cechą podawania środków ogólnie znieczulających licznej grupie pacjentów jest występowanie u nich maksymalnego efektu farmakologicznego podczas fazy spoczynku [103].

Innym lekiem, dla którego wykazano wpływ rytmów dobowych na osiągnięte we krwi stężenia była indometacyna [104, 105, 106]. Lèvi i wsp. przeprowadzili badania w grupie 517 pacjentów cierpiących na chorobę zwyrodnieniową stawów. Zaobserwowano wzrost szybkości wchłaniania indometacyny, a także ilości zaabsorbowanego leku w godzinach porannych, co mogło decydować o tym, że po porannym podaniu leku, efekt przeciwbólowy wzrósł o 60% względem podania w innych porach dnia. Ketoprofen oraz indometacyna, ulegają szybszej absorpcji i osiągają wyższe wartości C_{max} po podaniu w godzinach porannych aniżeli wieczornych, a oznaczane stężenia leku we krwi są wówczas wyższe o ok. 50-58% [104, 105, 106, 107].

Eksperymenty z wykorzystaniem indometacyny oraz ketoprofenu pozwoliły również stwierdzić, że działania toksyczne wywołane przez te NLPZ nasilają się, gdy leki te zażywane są przez pacjentów rano. Uszkodzenie błony śluzowej poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego po doustnym podaniu kwasu acetylosalicylowego wzrastało dwukrotnie przy stosowaniu leku o godzinie 10⁰⁰ w porównaniu do godziny 22⁰⁰ [105, 106, 108].

W badaniach Mustofa i wsp. oraz Fujimura i wsp., wykazano wzrost wartości C_{max} po doustnym podaniu diklofenaku w dawce 50 mg oraz 100 mg indometacyny, a także skrócenie biologicznego okresu półtrwania pranoprofenu po podaniu o godz. 10⁰⁰ w porównaniu do godziny 22⁰⁰ [109, 110, 111].

Opisane wyżej wyniki badań chronofarmakokinetycznych pozwalały odpowiednio dobrać dobowy moment podania leku celem zredukowania ich działań niepożądanych. Jest to

szczególnie ważne w przypadku NLPZ, dla których toksyczność jest najistotniejszym czynnikiem ograniczającym ich szersze zastosowanie w farmakoterapii.

Interesującym wydaje się również fakt, że u zdrowych ludzi nerkowa eliminacja salicylanu sodu jest o 30% szybsza po wieczornym przyjęciu leku w porównaniu do porannego, czego wy tłumaczeniem mogą być najprawdopodobniej okołodobowe wahania pH moczu.

W innych badaniach z wykorzystaniem zwierzęcego modelu doświadczalnego udowodniono, że najsilniejszy efekt przeciwbólowy, a także nasilenie działań niepożądanych tramadolu występuje w końcowych, dobowych porach aktywności zwierząt. Podobną zależność zaobserwowano także u ludzi. W grupie 18 zdrowych ochotników, najsilniejszy efekt przeciwbólowy wystąpił po wieczornym podaniu tramadolu [106].

Z nielicznych doniesień piśmiennictwa wynika, że dotychczas kilkakrotnie podejmowano próbę określenia podobnych zależności dla paracetamolu. Jednak w badaniach mających na celu wykazanie korelacji pomiędzy porą podania leku i wartościami parametrów farmakokinetycznych, lek najczęściej aplikowano doustnie [93, 112, 113].

Kolejnym zatem etapem zaplanowanych wcześniej badań była analiza farmakokinetycznego profilu dożylniej postaci paracetamolu w zależności od rytmów okołodobowych.

Badanie oceniające wpływ rytmów dobowych na farmakokinetykę paracetamolu przeprowadzono z udziałem 9 królików rasy *Nowozelandzkiej białej*, podzielonych w sposób losowy na 3 grupy. Przed rozpoczęciem eksperymentów zwierzęta przez okres 4 tygodni były adoptowane do warunków, w których naprzemiennie przez 12 godzin poddawano je wpływowi sztucznego oświetlenia i 12 godzinnej ciemności. Badanie przeprowadzono w układzie krzyżowym w trzech etapach z dwutygodniowym *wash-out*. W każdym z etapów, w odstępach 8-godzinnych, królikom podawano paracetamol do żyły brzeżnej ucha, w jednorazowej dawce *i.v.* 35mg/kg m.c. Stężenie paracetamolu i jego metabolitu oznaczono w czasie: 0, 5, 15, 30, 45, 60, 80, 100, 120, 180, 240, 300 [min].

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano istotne statystycznie różnice dla wartości pola powierzchni pod krzywą zmian stężenia leku w czasie. Przy podaniu leku o godz. 8⁰⁰ obserwowano zmniejszenie wartości AUC o 16% w porównaniu do podania paracetamolu o godz. 16⁰⁰. Średnie wartości AUC wynosiły odpowiednio: 43,57 i 52,09 [(mg*h)/l] (8⁰⁰ vs. 16⁰⁰) ($p < 0,05$) (tab. 69, 71, 79). Należy zaznaczyć, że inni autorzy (Malan J. i wsp.) nie wykazali istotności statystycznej wartości AUC po podaniu doustnym 1000 mg

paracetamolu zdrowym ochotnikom, co mogło być spowodowane niewielką liczebnością grupy badanej ($n=6$) [112].

Bèlanger i wsp. [4] na podstawie przeprowadzonych badań wykazali wydłużenie $t_{0,5}$ paracetamolu u szczurów po podaniu leku w czasie ich najwyższej aktywności natomiast Kolawole i wsp. zaobserwowali podobną tendencję po podaniu 1000 mg *p.o.* paracetamolu zdrowym ochotnikom (nie były to zmiany istotne statystycznie) [9].

Na podstawie przeprowadzonych przeze mnie badań wykazano podobną tendencję tj. wzrost wartości biologicznego okresu półtrwania w czasie wzmożonej aktywności królików. Obliczone wartości tego parametru wynosiły odpowiednio: $t_{0,5(8.00)}$ [h]= $1,39\pm 0,54$; $t_{0,5(16.00)}$ [h]= $1,12\pm 0,26$; $t_{0,5(22.00)}$ [h]= $1,34\pm 0,31$ (tab. 69, 71, 73).

Shivley i wsp. [43] potwierdzili swoimi badaniami wzrost objętości dystrybucji (V_d) paracetamolu o 13% po podaniu o godz. 6⁰⁰ w porównaniu po podania ok. godz. 14⁰⁰. Na podstawie moich obserwacji potwierdzono opisaną zależność, uzyskując wzrost wartości V_d o ok. 42% po podaniu paracetamolu o godz. 8⁰⁰ w porównaniu do aplikacji leku o godz. 16⁰⁰ (tab. 69, 71). Wykazano również zwiększenie wartości Δ' o ok. 42% po podaniu paracetamolu o godz. 8⁰⁰ w porównaniu do aplikacji leku o godz. 16⁰⁰ (tab. 69, 71).

Obliczając wartości średniego czasu przebywania paracetamolu w ustroju ($MRT_{22.00}$ [h]=1,37, $MRT_{16.00}$ [h]=1,14 ($p<0,05$)) wykazano wzrost wartości MRT o ok. 20% po wieczornej aplikacji leku (22⁰⁰) w porównaniu do podania o godz. 16⁰⁰ (tab. 69, 71, 79) czego przyczyną może być spadek filtracji kłębuszkowej w godzinach wieczornych oraz nocnych.

Wcześniej w badaniach klinicznych innych autorów wykazano także dobową zmienność w glukuronidacji i sulfatacji ksenobiotyków. Ngong i Waring opisali dobową zmienność metabolizmu proparacetamolu po podaniu 500 mg leku zdrowym ochotnikom [113]. Zaobserwowano zwiększenie w ciągu dnia eliminacji glukuronianu paracetamolu po podaniu leku w godzinach porannych względem podania leku w godzinach wieczornych. Dotychczas nie przedstawiono doniesień dotyczących metabolizmu dożyłnej postaci paracetamolu – *Perfalganu*®.

Na podstawie uzyskanych przeze mnie wyników stwierdzono wzrost wartości stałej szybkości eliminacji glukuronianu paracetamolu (k_{el}) po podaniu leku o godz. 8⁰⁰ o ok. 36% względem podania o godz. 22⁰⁰. Odpowiednio do czasu aplikacji leku (8⁰⁰ vs. 22⁰⁰) uzyskano następujące średnie wartości k_{el} : 0,76 i 0,56 [h^{-1}] ($p<0,05$) (tab. 70, 74, 80). Zaobserwowano także skrócenie biologicznego okresu półtrwania ($t_{0,5}$) glukuronianu paracetamolu po podaniu leku o godz. 8⁰⁰ o ok. 36% w porównaniu do podania o godz. 16⁰⁰ ($p<0,05$) (tab. 80) oraz o ok. 33% po podaniu o godzinie 22⁰⁰ ($p<0,05$) (tab. 80).

Statystycznym ekwiwalentem biologicznego okresu półtrwania jest średni czas przebywania leku w ustroju (MRT). Wykazano obniżenie wartości MRT glukuronianu paracetamolu o ok. 19% po podaniu o godz. 8⁰⁰ względem podania o godz. 16⁰⁰ (1,36 vs. 1,62; $p < 0,05$) (tab. 70, 72, 80) oraz o ok. 18% po podaniu o godz. 22⁰⁰ (1,36 vs. 1,61; $p < 0,05$) (tab. 70, 74, 80). Powyższe dane wskazują, że proces eliminacji glukuronianu paracetamolu zachodzi najszybciej po podaniu w godzinach porannych, co może się wiązać z nasileniem o tej porze dnia filtracji kłębuszkowej [104].

Ngong i wsp. [113] w badaniach przeprowadzonych z udziałem 6 ochotników stwierdzili, że eliminacja leku z organizmu ludzkiego, mimo iż charakteryzuje się cyklicznością, jest najniższa w godzinach porannych, natomiast najwyższa po podaniu ok. godz. 16⁰⁰.

W niniejszej pracy wykazano, że wartość AUC ulega zmniejszeniu o ok. 15% po porannej aplikacji leku względem podania o godz. 16⁰⁰ (325,96 vs. 376,24 [(mg*h)/l]; $p < 0,05$) (tab. 70, 72, 80) oraz o ok. 10% po podaniu paracetamolu o godz. 22⁰⁰ (325,96 vs. 358,18 [(mg*h)/l]; $p < 0,05$) (tab. 70, 74, 80).

Podając królikom dożylnie paracetamol obserwowano zwiększenie wartości stężenia maksymalnego glukuronianu paracetamolu (C_{max}) o ok. 17% po porannej aplikacji leku porównując do podania o godz. 22⁰⁰. Oznaczone wartości C_{max} metabolitu wynosiły odpowiednio 170,88 (8⁰⁰) i 146,31 (22⁰⁰) $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0,05$) (tab. 70, 74, 80).

Podkreślić należy, że zgodnie z innymi doniesieniami literaturowymi wartości parametrów farmakokinetycznych, zarówno paracetamolu jak również jego metabolitu, cechuje duża zmienność międzyosobnicza [113].

Dla każdego preparatu leczniczego istotne jest, aby dawkowanie korelowane było z godziną podania, co może niewątpliwie przyczyniać się do zwiększenia skuteczności terapeutycznej i zmniejszenia toksyczności leku. Ma to duże znaczenie w przypadku leków stosowanych przez dłuższy czas, szczególnie na oddziałach intensywnej terapii. Chronofarmakokinetyka i chronofarmakodynamika acetaminofenu wymagają dalszych badań i jak się wydaje, są one istotne w aspekcie coraz szerszego zastosowania tego leku w okresie okołoperacyjnym. Być może przyczynią się także do dalszej optymalizacji siły działania dożylniej postaci paracetamolu oraz obniżenia toksyczności i zmniejszenia jego działań niepożądanych.

1. Doświadczalna cukrzyca aloksanowa wpływa na wybrane parametry farmakokinetyczne dożylnie podanego paracetamolu i jego metabolitu w zależności od czasu jej utrwalenia.
2. Stosunki stężeń paracetamolu w cieczy wodnistej oka zwierząt z cukrzycą aloksanową do stężeń leku w osoczu są niższe w porównaniu do wartości tych stosunków w grupie królików zdrowych.
3. Wartości AUC paracetamolu po porannej aplikacji są niższe w porównaniu do podania leku w innych porach dnia.
4. Objętość dystrybucji paracetamolu aplikowanego w godzinach porannych jest wyższa od V_d dla podania w godzinach popołudniowych.
5. Pora podania paracetamolu wpływa na $t_{0,5}$ glukuronianu paracetamolu i wartości MRT.

Paracetamol do podania dożylnego (*Perfalgan*®) został wprowadzony do leczenia w Polsce, w 2004 roku, w celu leczenia bólu o umiarkowanym nasileniu, szczególnie w okresie pooperacyjnym. Coraz szersze zastosowanie tej drogi podania paracetamolu wynika z potwierdzonego w licznych badaniach klinicznych bezpieczeństwa i skuteczności tego leku.

Celem pracy była analiza farmakokinetyki paracetamolu i jego metabolitu (glukuronianu) po podaniu *i.v.* u królików z doświadczalną cukrzycą aloksanową, w porównaniu do grupy kontrolnej, a także ocena przenikania paracetamolu i jego metabolitu do cieczy wodnistej przedniej komory oka. Dodatkowym aspektem pracy była również ocena wpływu rytmów dobowych na farmakokinetykę paracetamolu u królików.

Zwierzętom ($n=18$) podano paracetamol w jednorazowej dożylniej dawce 35 mg/kg m.c., po 4 (etap I), 8 (etap II) i 12 tygodniach (etap III) od momentu utrwalenia się cukrzycy. Stężenie paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w osoczu krwi i cieczy wodnistej oka oznaczono zwalidowaną metodą HPLC-UV.

Istotnie statystycznie różnice między grupą kontrolną a grupą królików z cukrzycą aloksanową w I_{4tyg.} etapie badań wykazano dla parametrów farmakokinetycznych paracetamolu: AUC ($p=0,0001$), $t_{0,5}$ ($p=0,029$), Cl ($p=0,0008$), V_d ($p=0,0003$), Δ' ($p=0,0001$), C_{max} ($p=0,0008$); w II_{8tyg.} etapie dla: k_{el} ($p=0,014$), AUC ($p=0,044$), $t_{0,5}$ ($p=0,005$), V_d ($p=0,039$), Δ' ($p=0,018$), t_{max} ($p=0,037$); w III_{12tyg.} etapie dla: k_{el} ($p=0,033$), V_d ($p=0,035$), Δ' ($p=0,008$), MRT ($p=0,028$). Dla parametrów farmakokinetycznych glukuronianu paracetamolu wykazano różnice istotne statystycznie w I_{4tyg.} etapie badań dla: AUC ($p=0,029$); w II_{8tyg.} etapie dla: AUC ($p=0,0002$), $t_{0,5}$ ($p=0,05$), a w III_{12tyg.} etapie dla: C_{max} ($p=0,042$), t_{max} ($p=0,044$).

Dodatkowo porównano stężenia paracetamolu i glukuronianu paracetamolu w cieczy wodnistej oka po upływie 30 minucie od momentu podania leku w stosunku do stężeń oznaczonych w osoczu u królików z cukrzycą oraz zdrowych. Uzyskane stosunki stężeń leku i jego metabolitu u królików z cukrzycą wynosiły: 0,29 (etap II_{8tyg.}) i 0,49 (etap III_{12tyg.}), u zdrowych: 0,42 (etap II_{8tyg.}) oraz 1,05 (etap III_{12tyg.}), natomiast w przypadku glukuronianu paracetamolu u królików z cukrzycą: 0,02 (etap II_{8tyg.}) i 0,008 (etap III_{12tyg.}), a u królików zdrowych: 0,04 (etap II_{8tyg.}) oraz 0,02 (etap III_{12tyg.}). Powyższe wartości mogą wskazywać na zmiany stopnia przenikania paracetamolu i glukuronianu paracetamolu do cieczy wodnistej u królików z cukrzycą.

Z przeprowadzonej analizy parametrów farmakokinetycznych wynika, że AUC i C_{max} paracetamolu w cieczy wodnistej oka w cukrzycy mają wartości niższe niż w grupie królików

zdrowych, natomiast w przypadku AUC i C_{\max} glukuronianu paracetamolu nie obserwowano istotnych zmian między królikami grupy kontrolnej i zwierząt z cukrzycą.

Badanie oceniające wpływ rytmów dobowych na farmakokinetykę paracetamolu u królików przeprowadzono z udziałem 9 królików, które podzielono w sposób losowy na 3 grupy. Zaplanowane eksperymenty przeprowadzono w układzie krzyżowym, w trzech etapach z dwutygodniowym *wash-out*. W każdym z etapów, w odstępach 8-godzinnych, królikom podawano paracetamol, w jednorazowej dawce *i.v.* 35 mg/kg m.c. Stężenie paracetamolu i metabolitu oznaczono w przedziale od 0 do 300 minut.

Różnice istotne statystycznie uzyskano dla parametrów farmakokinetycznych paracetamolu: $AUC_{(8.00)}$ *vs.* $AUC_{(16.00)}$ ($p < 0,05$); $AUC_{(8.00)}$ *vs.* $AUC_{(22.00)}$ ($p < 0,05$); $V_{d(8.00)}$ *vs.* $V_{d(16.00)}$ ($p < 0,01$); $\Delta'_{(8.00)}$ *vs.* $\Delta'_{(16.00)}$ ($p < 0,01$); $MRT_{(16.00)}$ *vs.* $MRT_{(22.00)}$ ($p < 0,05$), natomiast w przypadku glukuronianu paracetamolu dla: $k_{el(8.00)}$ *vs.* $k_{el(22.00)}$ ($p < 0,05$); $AUC_{(8.00)}$ *vs.* $AUC_{(16.00)}$ ($p < 0,05$); $AUC_{(8.00)}$ *vs.* $AUC_{(22.00)}$ ($p < 0,05$); $t_{0,5(8.00)}$ *vs.* $t_{0,5(22.00)}$ ($p < 0,05$); $C_{\max(8.00)}$ *vs.* $C_{\max(22.00)}$ ($p < 0,01$); $MRT_{(8.00)}$ *vs.* $MRT_{(16.00)}$ ($p < 0,05$); $MRT_{(8.00)}$ *vs.* $MRT_{(22.00)}$ ($p < 0,05$).

Dla pozostałych parametrów farmakokinetycznych paracetamolu i jego glukuronianu nie wykazano różnic istotnych statystycznie.

The influence of diabetes on the pharmacokinetic parameters of paracetamol after intravenous administration

Paracetamol for intravenous administration (*Perfalgan*®) was introduced into health service in Poland in 2004 in order to treat pain of moderate intensity, especially in the postoperative period. The increasingly wide application of this way of administration of paracetamol results from the safety and efficacy of the drug, which were confirmed in numerous clinical tests.

The aim of the dissertation was an analysis of the pharmacokinetics of paracetamol and its metabolite (glucuronate) after intravenous administration to rabbits with experimental alloxan diabetes as compared with a control group as well as an evaluation of the penetration of paracetamol and its metabolite into aqueous humour of the anterior chamber of eyeball. Another aspect of the dissertation was also an evaluation of the influence of circadian rhythms on the pharmacokinetics of paracetamol in rabbits.

The animals (n=18) were administered a single intravenous dose of paracetamol 35 mg/kg of body mass after 4 (stage 1), 8 (stage 2) and 12 weeks (stage 3) following the stabilisation of diabetes. The concentration of paracetamol and paracetamol glucuronate in the blood plasma and aqueous humour of the eyeball was marked with validated HPLC-UV method.

Statistically significant differences between the control group and the group of rabbits with alloxan diabetes in the 1st_{4 week} stage of investigations were shown for the pharmacokinetic parameters of paracetamol: AUC (p=0.0001), $t_{0.5}$ (p=0.029), Cl (p=0.0008), V_d (p=0.0003), Δ' (p=0.0001), C_{max} (p=0.0008); in the 2nd_{8 week} stage for: k_{el} (p=0.014), AUC (p=0.044), $t_{0.5}$ (p=0.005), V_d (p=0.039), Δ' (p=0.018), t_{max} (p=0.037); in the 3rd_{12 week} stage for: k_{el} (p=0.033), V_d (p=0.035), Δ' (p=0.008), MRT (p=0.028). For the pharmacokinetic parameters of paracetamol glucuronate statistically significant differences were shown in the 1st_{4 week} stage of investigations for: AUC (p=0.029); in the 2nd_{8 week} stage for: AUC (p=0.0002), $t_{0.5}$ (p=0.05), and in the 3rd_{12 week} stage for: C_{max} (p=0.042), t_{max} (p=0.044).

Additionally, the concentrations of paracetamol and paracetamol glucuronate in the aqueous humour of the eyeball after 30 minutes following the drug administration were compared with the concentrations marked in the blood plasma in diabetic rabbits and healthy ones. The obtained ratios of the drug and its metabolite concentrations in the diabetic rabbits were: 0.29 (2nd_{8 week} stage) and 0.49 (3rd_{12 week} stage), whereas in the healthy rabbits they

were: 0.42 (2nd_{8 week} stage) and 1.05 (3rd_{12 week} stage). For paracetamol glucuronate the ratios in the diabetic rabbits were: 0.02 (2nd_{8 week} stage) and 0.008 (3rd_{12 week} stage), whereas in the healthy rabbits they were: 0.04 (2nd_{8 week} stage) and 0.02 (3rd_{12 week} stage). The abovementioned values may indicate changes in the degree of paracetamol and paracetamol glucuronate penetration into the aqueous humour in the diabetic rabbits.

As results from the analysis of pharmacokinetic parameters, the paracetamol AUC and C_{max} in the aqueous humour of the eyeball in diabetes have lower values than in the group of healthy rabbits, whereas for paracetamol glucuronate AUC and C_{max} no significant changes were observed between the rabbits from the control group and the diabetic animals.

The research evaluating the influence of circadian rhythms on the pharmacokinetics of paracetamol in rabbits was done on 9 rabbits, which were randomly divided into 3 groups. The planned experiments were made in the cross system, in three stages with a two-week *wash-out*. In each of the stages, at eight-hour intervals the rabbits were administered a single intravenous dose of paracetamol 35 mg/kg body mass. The concentrations of paracetamol and metabolite were marked in the interval ranging from 0 to 300 minutes.

For the pharmacokinetic parameters of paracetamol statistically significant differences were obtained: $AUC_{(8.00)}$ vs. $AUC_{(16.00)}$ ($p < 0.05$); $AUC_{(8.00)}$ vs. $AUC_{(22.00)}$ ($p < 0.05$); $V_{d(8.00)}$ vs. $V_{d(16.00)}$ ($p < 0.01$); $\Delta'_{(8.00)}$ vs. $\Delta'_{(16.00)}$ ($p < 0.01$); $MRT_{(16.00)}$ vs. $MRT_{(22.00)}$ ($p < 0.05$), whereas for paracetamol glucuronate they were: $k_{el(8.00)}$ vs. $k_{el(22.00)}$ ($p < 0.05$); $AUC_{(8.00)}$ vs. $AUC_{(16.00)}$ ($p < 0.05$); $AUC_{(8.00)}$ vs. $AUC_{(22.00)}$ ($p < 0.05$); $t_{0.5(8.00)}$ vs. $t_{0.5(22.00)}$ ($p < 0.05$); $C_{max(8.00)}$ vs. $C_{max(22.00)}$ ($p < 0.01$); $MRT_{(8.00)}$ vs. $MRT_{(16.00)}$ ($p < 0.05$); $MRT_{(8.00)}$ vs. $MRT_{(22.00)}$ ($p < 0.05$).

No statistically significant differences were shown for the other pharmacokinetic parameters of paracetamol and its glucuronate.

1. Zhou TJ, Tang J, White PF: Proparacetamol versus ketorolac for treatment of acute postoperative pain after total hip or knee replacement. *Anaesth Analg* 2001; 92:1569-1575.
2. Hynes D, McCarroll M, Hiesse-Provost O: Analgesic efficacy of parenteral paracetamol (proparacetamol) and diclofenac In post-operative orthopaedic pain. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2006; 50 (3):374-81.
3. Granry JC, Rod B, Monrigal JP, Merck JM: The analgesic efficacy of an injectable prodrug of acetaminophen In children after ortopedic surgery. *Pediatr Anaesth* 1997; 7:445-449.
4. Moller PL, Juhl GI, Payen-Champenois C, Skoglund LA: Intravenous Acetaminophen (Paracetamol): Comparable Analgesic Efficacy, but Better Local Safety than Ist Prodrug, Propacetamol, for Postoperative Pain After Third Molar Surgery. *Anesth Analg* 2005; 101:90-96.
5. Zand R, Nelson SD, Slattery JT, Thummel KE, Kalhorn TF, Adams SP, Wright JM: Inhibition and induction of cytochrome P4502E1-catalyzed oxidation by isoniazid in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1993; 54 (2):142-149.
6. Geyer O Neudorfer M, Snir T, Goldstein M, Rock T, Silver DM, Bartov E: Pulsatile ocular blood flow in diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; 77 (5): 522-525.
7. Gracner T: Ocular blood flow velocity determined by color Doppler imaging in diabetic retinopathy. *Ophthalmologica* 2004; 218 (4): 237-242.
8. Belanger PM, Lalande M, Labrecque G, Dore FM: Diurnal variations in the transferase and hydrolases involved in glucuronide and sulfate conjugation of rat liver. *Drug Metab Dispos*. 1985; 13: 386-389.
9. Kolawole JA, Chuwak PD, Okeniyi SO: Chronopharmacokinetics of acetaminophen in healthy human volunteers. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2002; 27(3): 199-202.
10. Mattia C, Coluzzi F: What anesthesiologists should know about paracetamol (acetaminophen). *Minerva Anesthesiol* 2009; 75 (11): 644-653.
11. Spooner JB, Harvey JG: The History and Usage of Paracetamol. *J Int Med Res* 1976; 4: 1-6.
12. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S: Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. *CNS Drug Rev* 2006; 12: 250-275.
13. Marty J Benhamou D, Chassard D, Empeaire N, Roche A, Mayaud A, Haro D, Baron X, Hiesse-Provost O: Effects of Single-Dose Injectable Paracetamol Versus Propacetamol in Pain Management After Minor Gynecologic Surgery . *Curr Ther Res* 2005; 66 (4): 294-306.

14. Ward B, Alexander-Williams JM: Paracetamol revisited: A review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Acute Pain* 1999; 2 (3): 139-149.
15. Walson PD, Jones J, Chesney R, Rodarte A: Antipyretic Efficacy and Tolerability of a Single Intravenous Dose of the Acetaminophen Prodrug, Propacetamol in Children: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clin Ther* 2006; 28 (5): 762-769.
16. Campanero MA, Calahorra B, Garcia-Quetglas E, López-Ocáriz A, Honorato J: Rapid liquid chromatographic assay for the determination of acetaminophen in plasma after propacetamol administration: application to pharmacokinetic studies. *J Pharm Biomed Anal* 1999; 20: 327-334.
17. Munsterhjelm E, Niemi TT, Ylikorkala O, Silvanto M, Rosenberg H: Characterization of inhibition of platelet function by paracetamol and its interaction with diclofenac *in vitro*. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 840-846.
18. Paracetamol *i.v.* (Perfalgan), London New Drugs Group APC/DTC Briefing, 2004.
19. Martindale W: The Extra Pharmacopoeia Thirtieth Edition. The Pharmaceutical Press; Londyn 1993.
20. Dollery C: Therapeutic Drugs, Second Edition; Churchill Livingstone 1999.
21. Farmakopea Polonica, Editio VIII. PTFarm, Warszawa 2009.
22. Prescott LF: Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *Br J Clin Pharmacol* 1980; 10: 291-298.
23. Raffa RB, Walker EA, Sterious SN: Opioid receptors and acetaminophen (paracetamol). *Eur J Pharmacol* 2004; 503: 209-210.
24. Dani M, Guindon J, Lambert C, Beaulieu P: The Local antinociceptive effects of paracetamol in neuropathic pain are mediated by cannabinoid receptors. *Eur J Pharmacol* 2007; 573: 214-215.
25. Zając M, Pawełczyk E: Chemia leków. Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego. Poznań 2000.
26. Anderson BJ: Paracetamol (Acetaminophen): mechanism of action. *Pediatr Anaesth* 2008; 18: 915-919.
27. Warner TD, Mitchell JA: Cyclooxygenase-3 (COX-3): Filling in the gaps toward a COX continuum? *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99 (21): 13371-13373.
28. Botting R: COX-1 and COX-3 inhibitors. *Thromb Res.* 2003; 110: 269-272.
29. Miranda HF, Puig MM, Prieto JC, Pinaridi G: Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain. *Pain* 2006; 121: 22-28.

30. Alloui A, Chassaing C, Schmidt J, Ardid D, Dubray C, Cloarec A, Eschalier A: Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible, antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats. *Eur J Pharmacol* 2002; 443: 71-77.
31. Mallet C, Daulhac L, Bonnefont J, Ledent C, Etienne M, Chapuy E, Libert F, Eschalier A: Endocannabinoid and serotonergic system are needed for acetaminophen – induced analgesia. *Pain* 2008; 139: 190-200.
32. Hohmann AG, Suplita RL: Endocannabinoid Mechanisms of Pain Modulation. *AAPS J* 2006; 8 (4):E693-708.
33. Ottani A, Leone S, Sandrini M, Ferrari A, Bertolini A: The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol* 2006; 531: 280-281.
34. Hasanein P, Soltani N: Effects of the endocannabinoid transport inhibitors AM404 and UCM707 on an diabetic neuropathy in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009; 36 (11): 1127-1131.
35. Högestätt ED, Jönsson BA, Ermund A, Andersson DA, Björk H, Alexander JP, Cravatt BF, Basbaum AI, Zygmunt PM: Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *J Biol Chem* 2005; 280 (36): 31405-31412.
36. Smith HS: Potential Analgesic mechanism of acetaminophen. *Pain Physician* 2009; 12: 269-280.
37. Ayoub SS, Botting RM, Goorha S, Colville-Nash PR, Willoughby DA: Acetaminophen-induced hypothermia in mice is mediated by a prostaglandin endoperoxide synthase 1 gene-derived protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (30): 11165-11169.
38. Heading RC, Nimmo J, Prescott LF, Tothill P: The dependence of paracetamol absorption on the rate of gastric emptying. *Br J Pharmacol* 1973; 47: 415-421.
39. Ueno T, Tanaka A, Hamanaka Y, Suzuki T: Serum drug concentrations after oral administration of paracetamol to patients with surgical resection of the gastrointestinal tract. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 39: 330-332.
40. Mrozińska M, Stopiński M: Paracetamol (acetaminofen) – dawki skuteczne i bezpieczne. *Przewodnik Lekarza* 2003; 6 (2): 88-95.
41. Flouwat B, Leneveu A, Fitoussi S, Delhotal-Landes B, Gendron A: Bioequivalence study comparing a new paracetamol solution for injection and propacetamol after single intravenous infusion in healthy subjects. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2004; 24 (1): 50-57.

42. Romanelli L, Valeri P, Morrone LA, Pimpinella G: Ocular disposition of acetaminophen and its metabolites following intravenous administration in rabbits. *J Ocul Pharmacol* 1991; 7 (4): 339-350.
43. Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ: *Drugs in Pregnancy and Lactation*, Yaffe Eight Edition Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia 2008.
44. Dargan PI, Jones AL: Management of paracetamol poisoning. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24 (4): 154-157.
45. Manyike PT, Kharasch ED, Kalhorn TF, Slattery JT: Contribution of CYP2E1 and CYP3A to acetaminophen reactive metabolite formation. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 67: 278-282.
46. Dong H, Haining RL, Thummel KE, Rettie AE, Nelson S: Involvement of Human Cytochrome P450 2D6 in the Bioactivation of Acetaminophen. *Drug Metab Dispos* 2000; 28 (12): 1397-1400.
47. Shinoda S, Aoyama T, Aoyama Y, Tomioka S, Matsumoto Y, Ohe Y: Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Acetaminophen Analgesia in Japanese Patients with Chronic Pain. *Biol Pharm Bull* 2007; 30 (1): 157-161.
48. Moffit JS, Aleksunes LM, Kardas MJ, Slitt AL, Klassen CD, Manautou JE: Role of NAD(P):quinone oxidoreductase 1 in clofibrate-mediated hepatoprotection from acetaminophen. *Toxicology* 2007; 230: 197-206.
49. Gonzalez FJ: The 2006 Bernard B. Brodie Award Lecture CYP2E1. *Drug Metab Dispos* 2006; 35 (1): 1-8.
50. Martindale W: *The complete drug reference*. The Pharmaceutical Press; Londyn 1999.
51. Radzikowski A, Mrozińska M: *Paracetamol w zakażeniach dróg oddechowych*. Wydawnictwo Czelej 1997.
52. Praca zbiorowa: *Leki w medycynie paliatywnej Paracetamol*, Polska Medycyna Paliatywna 2002; 1 (1): 35-40.
53. Rumack BH, Matthew H: Acetaminophen poisoning and toxicity. *Pediatrics* 1997; 55:871-876.
54. Schmidt LE, Dalhoff K: Risk factors in the development of adverse reactions to N-acetylcysteine in patients with paracetamol poisoning. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 51: 87-91.
55. Ghosh A, Sil PC: Anti-oxidative Effect of Protein *Cajanus indicus* L against Acetaminophen – induced hepato – nephro Toxicity. *J Biochem Mol Biol* 2007; 40 (6): 1039–1049.

56. Beasley R, Crane J, Mutius E, Lai CKW, Montefort S, Stewart A: Association between paracetamol use in infancy and childhood, and risk of asthma, rhinoconjunctivitis, and eczema in children aged 6-7 years: analysis from Phase Three of the ISAAC programme. *Lancet* 2008; 372 (9643): 1039-48.
57. Douglas L: Sodium in soluble Paracetamol May be linked to raised blood pressure. *Br Med J* 2006; 332 (7550): 1133.
58. Podlewski J, Chwalibogowska-Podlewska A: *Leki Współczesnej Terapii; Split Trading Warszawa* 2005.
59. Bergman K, Müller L, Taigen SW: Series: current issues in mutagenesis and carcinogenesis. No 65. The genotoxicity and carcinogenicity of paracetamol: a regulatory (re)view. *Mutat Res* 1996; 349: 263-288.
60. Chien JY, Peter RM, Nolan CM, Wartell C, Slattery JT, Nelson SD, Carithers RL Jr, Thummel KE: Influence of polymorphic N-acetyltransferase phenotype on the inhibition and induction of acetaminophen bioactivation with long-term isoniazid. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 61(1): 24-34.
61. Tanaka E: Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. *J Clin Pharm Ther* 1999; 24(5): 339-46.
62. Harris RZ, Benet LZ, Schwartz JB: Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs* 1995; 50 (2): 222-239.
63. Jaźwińska-Tarnawska E, Kubiak E, Wiela-Hojeńska A: Differences in pharmacokinetics in obesity. Do obese persons require changes in therapeutic schemes? *Adv Clin Exp Med* 2006; 15(4): 669-76.
64. Szalek E, Grześkowiak E, Kamińska A: „Zmiany farmakokinetyki u otyłych pacjentów”. *Anestezjologia i Ratownictwo* 2008; 3: 185-190.
65. Steffe EM, King JH, Inciardi JF, Flynn NF, Goldstein E, Tonjes TS, Benet LZ: The effect of acetaminophen on idovudine metabolism in HIV-infected patients. *J AIDS* 1990; 3: 691-694.
66. Toes MJ, Jones AL, Prescott L: Drug Interaction with Paracetamol. *Am J Ther* 2005; 12: 56-66.
67. Burger DM, Meenhorst PL, Underberg WJ, van der Heijde JF, Koks CH, Beijnen JH: Short-term, combined use of paracetamol and zidovudine does not alter the pharmacokinetics of either drug. *Neth J Med* 1994; 44: 161-165.
68. Crippin JS: Acetaminophen hepatotoxicity: potentiation by isoniazid. *Am J Gastroenterol* 1993; 88 (4): 590-592.

69. Niemelä O, Parkkila S, Juvonen RO, Vittala K, Gelboin HV, Pasanen M: Cytochromes P450 2A6, 2E1, and 3A and production of protein-aldehyde adducts in the liver of patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2000; 33: 893-901.
70. Thummel KE, Slattery JT, Ro H, Chien JY, Nelson SD, Lown KE, Watkins PB: Ethanol and production of the hepatotoxic metabolite of acetaminophen in healthy adults. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 67: 591-599.
71. Kujawska M, Murias M: Paracetamol – etanol – złożona interakcja. *Adv Clin Exp Med* 2004; 13 (3): 497–501.
72. Shively CA, Vesell ES: Temporal variations in acetaminophen and phenacetin half-life in man. *Clin Pharmac Ther* 1975; 18: 413-424.
73. Issa MM, Nejem RM, El-Abadla NS, El-Naby MK, Roshdy AA, Kheiralla RA: Effects of paracetamol on the pharmacokinetics of ciprofloxacin in plasma using a microbiological assay. *Clin Drug Investig* 2007; 27: 463-67.
74. Pyrzanowska J, Piecha A, Blecharz-Klin K, Widy-Tyszkiewicz E: Interakcje leków roślinnych stosowanych w chorobach układu pokarmowego. *Herba Polonica* 2006; 52 (2/1): 75-96.
75. Blecharz-Klin K, Piecha A, Pyrzanowska J, Widy-Tyszkiewicz E: Interakcje leków roślinnych stosowanych w chorobach układu oddechowego. *Herba Polonica* 2005; 51 (3/4): 89-107.
76. Dasgupta A, Reyes MA, Risin SA, Actor JK: Interaction of White and Pink Grapefruit Juice with Acetaminophen (Paracetamol) *In Vivo* in Mice. *J Med Food* 2008; 11 (4): 795–798.
77. Brunner LJ, Bai S: Simple and rapid assay for acetaminophen and conjugated metabolites in low-volume serum samples. *J Chromatogr B* 1999; 732: 323-329.
78. Kobylińska K: Walidacja metody analitycznej dla badań równoważności biologicznej, Red. Marzec A, Wydawnictwo Oinpharma, Warszawa 2007.
79. Szczepaniak W: Metody instrumentalne w analizie chemicznej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002.
80. Sinatra RS, Jahr JS, Reynolds LW, Viscusi ER, Groudine SG: Efficacy and safety of Single and Repeated Administration of 1 Gram Intravenous Acetaminophen Injection (Paracetamol) for Pain Management after Major Orthopedic Surgery. *Anesthesiology* 2005; 102: 822-831.

81. Würthwein G, Koling S, Reich A, Hempel G, Schulze-Westhoff P, Pinheiro PV, Boos J: Pharmacokinetics of intravenous paracetamol in children and adolescents under major surgery. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 60: 883-888.
82. de Maat MM, Tijssen TA Brüggemann RJ, Ponsen HH: Paracetamol for intravenous use in medium- and intensive care patients: pharmacokinetics and tolerance. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66 (7): 713-719.
83. Greenberg RS, Chen H, Hasday DJ: Acetaminophen has limited antipyretic activity in critically ill patients. *J Crit Care* 2010; 25 (2):363e.1-7.
84. Mitchell JR, Thorgeirsson SS, Potter WZ, Jollow DJ, Keiser H: Acetaminophen induced hepatic injury: protective role of glutathione In Man and rationale for therapy. *Clin Pharmacol Ther* 1974; 18:676.
85. Chen W, Koenigs LL, Thompson SJ, Peter RM, Rettie AE, Trager WF, Nelson SD: Oxidation of Acetaminophen to Its Toxic Quinone Imine and Nontoxic Catechol Metabolites by Baculovirus-Expressed and Purified Human Cytochromes P450 2E1 and 2A6. *Chem Res Toxicol* 1998; 11 (4): 295-301.
86. Baek HW, Bae SK, Lee MG, Sohn YT: Pharmacokinetics of Chlorzoxazone in Rats with Diabetes: Induction of CYP2E1 on 6-Hydroxychlorzoxazone Formation. *J Pharm Sci* 2006; 95 (11): 2452-2462.
87. Wang Z, Hall SD, Maya JF, Li L, Asghar A, Gorski JC: Diabetes mellitus increases the in vivo activity of cytochrome P450 2E1 in humans. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 55 (1): 77-85.
88. Kim YC, Lee AK, Lee JH, Lee I, Lee DC, Kim SH, Kim SG, Lee MG: Pharmacokinetics of theophylline in diabetes mellitus rats: Induction of CYP1A2 and CYP2E1 on 1,3-dimethyluric acid formation. *Eu J Pharm Sci* 2005; 26: 114-123.
89. Lee DY: Changes in omeprazol pharmacokinetics in rats with diabetes induced by alloxan or streptozocin: Faster clearance of omeprazole due to induction of hepatic CYP1A2 and 3A1. *J Pharm Pharmacol Sci* 2007; 10: 420-33.
90. Choi YA, Lee AK, Bae SK, Kim SO, Lee MG: Pharmacokinetics of 5-fluorouracil in rats with diabetes mellitus induced by streptozocin. *Biopharm Drug Dispos* 2005; 26 (3): 93-98.
91. Moon CH, Lee HJ, Jung YS, Lee SH, Baik EJ: Pharmacokinetics of losartan and its metabolite, EXP 3174, after intravenous and oral administration of losartan to rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1998; 101: 147-158.

92. McNamara PJ, Burgio D, Yoo SD: 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* 1991; 109: 149-160.
93. Kamali F, Thomas SH, Ferner RE: Paracetamol elimination in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Br J Clin Pharmacol* 1993; 35: 58-61.
94. Acaroglu G, Akinci A, Zilelioglu O: Retinopathy in Patients with Diabetic Ophthalmoplegia. *Ophthalmologica* 2008; 222: 225-228.
95. Boulamery A, Kadra G, Simon N, Besnard T, Bruguerolle B: Chronopharmacokinetics of Imipenem in the Rat. *Chronobiol Int* 2007; 24 (5): 961-968.
96. Andrys-Wawrzyniak I, Jabłeczka A: Chronobiologia, chronofarmakologia i ich miejsce w medycynie (Część II). *Farm Współ* 2008; 1: 156-168.
97. Moore RY: Circadian Rhythms: Basic Neurobiology and Clinical Applications. *Annu Rev Med* 1997; 48: 253-266.
98. Ohdo S: Chronotherapeutics: pharmaceuticals focused on biological rhythm. *Biol Pharm Bull* 2010; 33 (2): 159-167.
99. Junker U, Wirz S: Review Article: Chronobiology: influence of circadian rhythms on the therapy of severe pain. *J Oncol Pharm Pract* 2010; 16 (2): 1-87.
100. Bienert A, Kusza K, Wawrzyniak K, Grześkowiak E, Kokot ZJ, Matysiak J, Grabowski T, Wolc A, Wiczling P, Regulski M: Assessing circadian rhythms in propofol PK and PD during prolonged infusion in ICU patients. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2010; 37(3): 289-304.
101. Ohdo S: Chronotherapeutic strategy: Rhythm monitoring, manipulation and disruption. *Adv Drug Deliv Rev* 2010 ;62 (9-10): 859-875.
102. Chassard D, Bruguerolle B: Chronobiology and Anesthesia. *Anesthesiology* 2004; 100: 413-27.
103. Bruguerolle B: Chronopharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1998 Aug; 35 (2): 83-94.
104. Wawrzyniak-Andrys I, Jabłeczka A: Chronobiologia, chronofarmakologia i ich miejsce w medycynie (Część I). *Farm Współ* 2008; 1: 94-108.
105. Dawson D, Armstrong SM: Chronobiotics – drugs that shift rhythms. *Pharmacol Ther* 1996; 69 (1): 15-36.
106. Ko CH, Takahashi JS: Molecular components of the mammalian circadian clock. *Hum Mol Genet* 2006; 15 (2): 271-277.
107. Levi F, Schibler U: Circadian rhythms: mechanisms and therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007; 47: 593-628.

108. Bruguerolle B, Labrecgue G: Rythmic pattern in pain and their chronotherapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007; 59: 883-895.
109. Clench J, Reinberg A, Dziewanowska Z, Ghata J, Smolensky MH: Circadian changes in the bioavailability and effects of indomethacin in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1981; 20: 359–369.
110. Mustofa M, Suryawati S, Dwiprahasto I, et al.: The relative bioavailability of diclofenac with respect of time of administration. *Br J Clin Pharmacol* 1991; 32: 246-7.
111. Fujimura A, Kajiyama H, Kumagai Y, Nakashima H, Sugimoto K, Elbihara A: Chronopharmacokinetic studies of pranoprofen and procainamide. *J Clin Pharmacol* 1989; 29: 786-90.
112. Malan J, Moncrieff J, Bosch E: Chronopharmacokinetics of paracetamol in normal subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1985; 19: 843-845.
113. Ngong JM, Waring RH: Circadian rhythms of paracetamol metabolism in healthy subjects; a preliminary report. *Drug Metabol Drug Interact* 1994; 11 (4): 317-330.

OŚWIADCZENIE

Niniejszym oświadczam, iż jestem autorem pracy **doktorskiej** p.t.:

"Wpływ cukrzycy na parametry farmakokinetyczne paracetamolu po podaniu dożylnym".

Praca ta została przeze mnie napisana samodzielnie (bez jakiegokolwiek udziału osób trzecich), przy wykorzystaniu wykazanej w pracy literatury przedmiotu i materiałów źródłowych, stanowi ona pracę oryginalną, nie narusza praw autorskich oraz dóbr osobistych osób trzecich i jest wolna od jakichkolwiek zapożyczeń.

Oświadczam również, że wymieniona praca nie zawiera danych i informacji, które zostały uzyskane w sposób niedozwolony prawem oraz nie była dotychczas przedmiotem żadnej urzędowej procedury związanej z uzyskaniem stopnia **naukowego: doktor nauk farmaceutycznych**, a złożona przeze mnie dyskietka/płyta CD zawiera elektroniczny zapis przedstawionej przeze mnie pracy.

Jednocześnie oświadczam, że nieodpłatnie udzielam Uniwersytetowi Medycznemu im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu licencji do korzystania z wyżej wymienionej pracy bez ograniczeń czasowych i terytorialnych w zakresie obrotu nośnikami, na których pracę utrwalono przez: wprowadzanie do obrotu, użyczenie lub najem egzemplarzy w postaci elektronicznej a nadto upoważniam Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu do przechowywania i archiwizowania pracy w zakresie wprowadzania jej do pamięci komputera oraz do jej zwielokrotniania i udostępniania w formie elektronicznej oraz drukowanej.

Imię i nazwisko *Agnieszka Kamińska*

Data, podpis *26.11.2010 Agnieszka Kamińska*

OŚWIADCZENIE

Wyrażam zgodę na udostępnienie mojej rozprawy doktorskiej w Czytelnicy Naukowej Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego im. K.Marcinkowskiego w Poznaniu oraz w formie elektronicznej w Wielkopolskiej Bibliotece Cyfrowej (www.wbc.poznan.pl).

Poznań, dnia 26.11.2010.....

Agnieszka Kamińska
.....
(podpis)