

Lek. wet. Karolina Motykiewicz-Pers

Praca doktorska

**Wpływ intensywnego wzrostu na eliminację metronidazolu z tkanek
indyków.**

Promotor: prof. dr hab. Marcin Świtała

Promotor pomocniczy: dr hab. Błażej Poźniak prof. uczelni

Katedra Farmakologii i Toksykologii

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław 2022

9. Streszczenie pracy doktorskiej

„Wpływ intensywnego wzrostu na eliminację metronidazolu z tkanek indyków.”

Lek. wet. Karolina Motykiewicz-Pers

Praca jest kontynuacją badań nad farmakokinetyką metronidazolu indyków zachodzących wraz z rozwojem zwierząt (Świtłała i wsp. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 2016, 39, 373-380). Współtwórcą tej pracy jest także autorka niniejszej dysertacji. Głównym celem obecnych badań było porównanie farmakokinetyki metronidazolu (MTZ) i jego głównego metabolitu hydroksy-metronidazolu (MTZ-OH) w tkankach indyków pochodzących z 2 grup wiekowych o masie ciała 1,5 kg i 12 kg i ustalenie, czy zależne od wieku ptaków różnice właściwości farmakokinetycznych leku są uchwytne z perspektywy jego rzeczywistej dystrybucji w organizmie. We wstępie przedstawiono MTZ jako chemioterapeutyk przeciwprzotniaczy i przeciwbakteryjny, a także zwrócono uwagę na niektóre aspekty zakazu jego stosowania u zwierząt producentów żywności. Dużą uwagę skupiono na jego właściwościach farmakokinetycznych zwłaszcza u drobiu. Przeanalizowano rolę tych parametrów farmakokinetycznych MTZ, które podlegają zmianom u indyków w czasie ich rozwoju. Są to klirens leku, objętość pozornej dystrybucji i aktywność w przemianach metabolicznych. W części metodycznej przedstawiono schemat układu doświadczalnego i opisano postępowanie ze zwierzętami oraz procedurę obróbki pobranych prób oraz sposób analizy chromatograficznej i analizy wyników. Do oznaczenia stężeń leku w osoczu, w cieczy wodnistej oka i w kilkunastu tkankach zastosowano zwalidowaną metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV.

W celu polepszenia przejrzystości w części opisującej uzyskane wyniki, narządy których tkanki analizowano, przedstawiono w grupach, które stanowiły: (1) płyny ustrojowe (osocze i ciecz wodnista oka), (2) mięśnie (dwa rodzaje mięśni szkieletowych, mięsień sercowy i mięsień gładki mielca), (3) ściany poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego, (4) gruczoły związane z funkcjonalnie z p. pokarmowym (wątroba i trzustka), (5) inne narządy ważne dla życia (nerki, płuca, mózg i skóra), (6) narządy limfatyczne (grasica, torba Fabrycjusza grasica). Dodatkowo wszystkie uzyskane wyniki zamieszczono w formie tabel

w tzw. Dodatek, zarówno w formie stężeń wagowo-wagowych jak i molowych dotyczących samego MTZ jak jego metabolitu – MTZ-OH.

W dyskusji rozważano głównie te problemy, które prowadziły przede wszystkim do sformułowania wniosków.

Badania leku w tkankach potwierdziły, że u zwierząt starszych, podobnie jak i w osoczu, po podaniu tej samej dawki MTZ, stwierdza się istotnie wyższe stężenia leku i dłuższy okres półtrwania leku w porównaniu z efektami u ptaków 1,5 kg. Zmiany te są wynikiem spadku zdolności oczyszczania krwi z leku przez narządy oczyszczające – w przypadku MTZ - głównie przez nerki. Te podwyższone stężenia leku w tkankach ptaków starszych są jednak istotnie mniejsze w stosunku do stężenia leku w osoczu, co prawdopodobnie wynika, że z znacznego zmniejszenia objętości dystrybucji dla MTZ u tych ptaków. Zauważono, że istnieją tkanki wykazujące mniejsze spadki stężenia w stosunku do stężeń osoczowych, co wskazuje na zróżnicowanie rzeczywistej dystrybucji dla MTZ w poszczególnych tkankach. Metabolizm MTZ do MTZ-OH ulega wraz z wiekiem spowolnieniu, co objawia się znacznie niższym stężeniem maksymalnym metabolitu w tkankach zwierząt starszych i wydłużeniem, w stosunku do grupy młodszej, czasu pojawiania się tego stężenia.

U zwierząt starszych odsetek MTZ-OH w puli stanowiącej sumę leku macierzystego i tegoż metabolitu zmniejsza się, co daje się wykazać po przeliczeniu stężeń obu substancji na stężenia molowe. Wyniki badań nad stężeniem MTZ i jego metabolitu w cieczy wodnistej oka wskazują, w której stężenie obu substancji jest podobne do stężenia w osoczu (ptaki starsze) lub nawet wyższe (ptaki młodsze), co może być wykorzystane w badaniach kontrolnych w kierunku wykrywania nielegalnego stosowania MTZ u drobiu.

Badanie leku w ścianach poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego wskazują na jego odkładanie w części żołądkowej i zmniejszanie się jego stężenia w końcowych odcinkach. Wprowadzenie do obliczeń kinetycznych stężeń molowych leku, pozwoliło na wyrażanie ilości leku jako procentowego udziału w podanej dawce, co wykonano w mięśniach szkieletowych piersi i kończyny dolnej, wykorzystując algorytm pozwalający na wyliczenie masy tych mięśni w różnym wieku ptaków. Ponadto wykorzystując ustalenia modelowe wskazujące, że w czasie średniego przebywania leku w organizmie (MRT) organizm opuszcza 2/3 ustalono w tym punkcie czasowym hipotetyczną zawartość leku i jego metabolitu w mięśniach szkieletowych, a wynik zweryfikowano poprzez realne wyliczenia. W przypadku mięśni szkieletowych ptaków młodszych znaleziono 70 % oczekiwanej puli leku, a w mięśniach ptaków starszych 73% puli leku. Pracę zakończono sformułowaniem 8 wniosków.

Abstract

" Effect of intensive growth on the elimination of metronidazole from tissues turkeys."

Lek. Wet. Karolina Motykiewicz-Pers

The work is a continuation of studies on the pharmacokinetics of metronidazole in turkeys occurring with animal development (Świtala with *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 2016, 39, 373-380). The co-author of this work is also the author of this dissertation. The main objective of the current study was to compare the pharmacokinetics of metronidazole (MTZ) and its major metabolite hydroxy-metronidazole (MTZ-OH) in the tissues of 2-age turkeys weighing 1.5 kg and 12 kg and to determine whether the age-related differences the pharmacokinetic properties of a drug are apparent from the perspective of its actual distribution in the body. In the introduction, MTZ was presented as an antiprotozoal and antibacterial chemotherapeutic agent, as well as some aspects of the ban on its use on animals in food production. Much attention has been focused on its pharmacokinetic properties, especially in poultry. The role of those pharmacokinetic parameters of MTZ, which change during development in turkeys, was analyzed. These are drug clearance, apparent distribution volume, and metabolic activity. The methodological part presents a diagram of the experimental setup and describes the treatment of animals and the treatment of the collected samples, as well as the method of chromatographic analysis and analysis of the results. For the determination of drug plasma concentrations, a validated method of high-performance liquid chromatography with UV detection was used in the liquid aqueous of the eye and several tissues. To improve the transparency, in part describing the obtained results, the organs whose tissues were analyzed were presented in the following groups: (1) body fluids (plasma and aqueous eye liquid), (2) muscles (two types of skeletal muscles, and smooth muscle), (3) the walls of individual sections of the gastrointestinal tract (4) glands functionally related to the gastrointestinal tract (liver and pancreas), (5) other vital organs (kidneys, lungs, brain, and skin), (6) lymphatic organs (thymus, Fabrycjusz thymus gland). In addition, all the obtained results are presented in the form of tables in the so-called Appendix. both in the form of weight-weight and molar concentrations of MTZ itself and its metabolite - MTZ-OH.

The discussion focused mainly on those problems that led primarily to formulating conclusions.

Drug studies of the tissue confirmed that in older animals, as well as in plasma, after the administration of the same dose of MTZ, significantly higher drug concentrations and a longer

half-life are observed compared to the effects in birds of 1.5 kg. These changes are a result of the decrease in the blood clearance of the drug by the cleansing organs - in the case of MTZ - mainly by the kidneys. These elevated drug concentrations in the tissues of older birds are significantly lower than the plasma concentrations of the drug, which is probably due to a significant reduction in the volume of distribution for MTZ in these birds. It was noted that tissues were showing smaller decreases in concentration from the plasma levels, indicating a variation in the actual distribution of MTZ in individual tissues.

The metabolism of MTZ to MTZ-OH slows down with age, which is manifested by a significantly lower maximum concentration of the metabolite in the tissues of older animals and an extension of the time of its appearance compared to the younger group, the appearance of the concentration. In older animals, the percentage of MTZ-OH in the line is the sum of the parent drug, and this metabolite decreases, which can be demonstrated by converting the concentrations of both substances to molar concentrations.

The results of studies on the concentration of MTZ and its metabolite in the liquid aqueous of the eye show that the concentration of both substances is similar to the plasma concentration (older birds) or even higher (younger birds), which can be used in screening for the detection of illegal use of MTZ in poultry.

Examination of the drug in the walls of individual sections of the gastrointestinal tract indicates its deposition in the gastric part and a decrease in its concentration in the final sections. Introducing the kinetic molar concentrations of the drug into the calculations made it possible to express the amount of the drug as a percentage of the administered dose, which was performed in the skeletal muscles of the breast and lower limb, using an algorithm that allows calculating the mass of these muscles at different age of birds. In addition, using model findings showing that during the average time of the drug in the body (MRT), the body leaves $\frac{2}{3}$, a hypothetical content of the drug and its metabolite in skeletal muscle was established at this time point, and viable calculations verified the result. In the case of skeletal muscles of younger birds, 70% of the expected drug line was found, and in the muscles of older birds, 73% of the drug line. The work was completed with the formulation of 8 conclusions.