

УДК 616-099

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В
ТОКСИКОЛОГИИ, В ЧАСТНОСТИ, ПРИ ОТРАВЛЕНИИ
АЦЕТАМИНОФЕНОМ****Ануфриева Софья Алексеевна,**

Студентка 2 курса,

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург.

anufrievasonya2004@mail.ru

Зубкова София Дмитриевна,

Студентка 2 курса,

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург.

zubkovas0708@yandex.ru,

Ланг Катарина Дмитриевна,

Студентка 2 курса,

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург.

katarinalang@mail.ru.

Аннотация

В статье рассмотрены основные экспериментальные модели, применяемые для изучения отравления ацетаминофеном. В рамках работы описаны дозы вводимого препарата и сроки выведения лабораторных животных (мышей, крыс, свиней) из эксперимента. Также отмечены изменения в ткани печени и показателях крови, которые при этом происходили.

Ключевые слова: ацетаминофен, экспериментальная модель, мыши, крысы, свиньи, отравление.

**EXPERIMENTAL MODELS USED IN TOXICOLOGY, IN PARTICULAR, IN
CASE OF ACETAMINOPHEN OVERDOSE****Anufrieva Sofya Alekseevna,****Zubkova Sofia Dmitrievna,****Lang Katarina Dmitrievna,**

Ural State Medical University, Yekaterinburg

ABSTRACT

This article reviews the main experimental models used to study acetaminophen poisoning. The work describes the doses of the administered drug and the timing of removal of laboratory animals (mice, rats, pigs) from the experiment. Changes in liver tissue and blood parameters that occurred during this process were also noted.

Keywords: acetaminophen, experimental model, mice, rats, pigs, poisoning.

Актуальность

Ацетаминофен (парацетамол) является одним из наиболее широко используемых анальгетиков и антипиретиков, с небольшим количеством побочных эффектов при приеме в терапевтических дозах. В Свердловской области в период с 2000 по 2019 гг. отравления парацетамолом возросло более чем в 2 раза [1]. Преднамеренная и непреднамеренная передозировка парацетамолом вызывает гепатотоксичность, приводящую к тяжелому повреждению печени и острой печеночной недостаточности (ОПечН). Поскольку ОПечН является мультисистемным заболеванием, включающим энцефалопатию и коагулопатию, лечение пациентов с данной нозологией продолжает оставаться одной из наиболее сложных проблем в клинической медицине. Поэтому изучение отравления ацетаминофеном в эксперименте является актуальным для клинической токсикологии.

Цель исследования. Проанализировать данные литературных источников об экспериментальных моделях при отравлении ацетаминофеном.

Материалы и методы исследования. При поиске информации мы использовали платформы «PubMed», «Google Academy». Всего по ключевым словам было найдено 2304 статьи, из них были отобраны 12, содержание которых наиболее соответствовало нашей области интереса.

Результаты и их обсуждение.

Модели эксперимента на мышах.

В большом числе литературных источников исследовались самцы мышей линий C57BL/6J и C57BL/6 в возрасте от 8 до 14 недель и весом около 20-25 грамм. Всем мышам внутрибрюшинно вводили раствор ацетаминофена однократно в дозировке 300 мг/кг массы тела.

В работе Zeng et al. [2] эффекты влияния на печень оценивались через каждые 6 часов. Было выявлено, что введение ацетаминофена вызывает острую печеночную недостаточность, при этом гистопатологические изменения включали в себя: изменение структуры печени. Уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы были значительно повышены через 12 часов. Наиболее тяжелые повреждения печени наблюдались через 12 часов после введения препарата и уменьшались к 24 часам.

В исследовании Groeneveld et al. [3] показано, что уровень антигена фактора фон Виллебранда в плазме крови снизился через 24 часа после передозировки ацетаминофеном, но увеличился через 48 часов и оставался повышенным через 72 часа. Эти данные соответствуют повышенным уровням фактора у пациентов с острой печеночной недостаточностью, вызванной передозировкой ацетаминофеном.

В исследовании Акакро et al. [4] после ночного голодания мышам вводили инъекции ацетаминофена в различных дозировках, затем через 90 минут - инъекции 4-метилпиразола, N-ацетилцистеина или комбинацию данных препаратов. Мышей

усыпляли с последующим забором образцов крови и печени. Данные, полученные в этом исследовании, доказали эффективность лечение 4-метилпиразола и N-ацетилцистеина при отравлении ацетаминофеном.

В работе Naim et al. [5] было описано как влияет белок ВОК из семейства BCL-2 на повреждения печени, вызванными химическими веществами, такими как парацетамол. После ночного голодания самкам и самцам мышей была введена доза ацетаминофена в 400 мг/кг массы тела. Через 4-5 часов у животных проводили забор печени и периферической крови. Гистологический анализ показал незначительные отличия по половозависимому признаку. В результате исследования можно сделать вывод, что потеря ВОК незначительно снижает некроз печени после передозировки ацетаминофеном с половозависимыми признаками.

Модели эксперимента на крысах

В экспериментальных работах [6,7,8] были исследованы крысы линии Wistar (самки массой 10 г, самцы – 180-220 г); также были проведены исследования на беспородных половозрелых крысах-самцах с массой 170-200 г [9].

В каждом исследовании ацетаминофен был введен разными способами: однократное пероральное введение 2 г/кг [6]; 150 мг/кг и 1500 мг/кг [7]; однократное внутривенное введение 1 г/кг на 1% водном растворе крахмала [8]; энтерально через желудочный зонд в дозе 1000 мг/кг [9].

Биохимические изменения в крови наблюдались примерно одинаковые во всех работах: уровни АСТ и АЛТ были повышены, так же как и билирубин, щелочная фосфатаза. АСТ и АЛТ были максимально повышены через 2 недели после введения ацетаминофена [9]. Уровень глутатиона (GSH) снизился в печени и почках [6].

Процентное содержание белков-переносчиков, пролиферация и дифференцировка клеток, уровень транскрипционных и трансляционных, неврологических белков и некоторых антиоксидантов был снижен у крыс, получавших ацетаминофен в больших дозах, по сравнению с теми, кто получал нетоксичные дозы, в то время как белки, связанные с окислительным стрессом, циклом мочевины и трихлоруксусной кислоты (ТСА), а также белки, связанные с иммунитетом, имели повышенную экспрессию у крыс, получавших препарат в больших дозах, по сравнению с нормами лечения нетоксичными дозами [7].

Поражения печени характеризовались массивным некрозом печени, вакуолизацией, деформацией печеночных тяжей, инфильтрацией воспалительными клетками, пикнотическими ядрами и облитерированными синусоидами [6]. В работе Pavenil et al. [7] были отмечены незначительные повреждения гепатоцитов и неправильное распределение цитоплазмы, инфильтрация воспалительными клетками вокруг центральной вены. Воспалительный инфильтрат был зафиксирован в ткани печени через 72 часа [8]. По мере увеличения продолжительности эксперимента морфологические изменения печени носили более выраженный характер. А в отдаленные сроки (14 суток) изменения приобретали злокачественное течение – некроз [9]. Визуальное исследование проводилось только в работе Горшкова и др. [9] и выявило выраженную желтушность слизистых и внутренних органов, а у части животных отмечался асцит.

Модели эксперимента на свиньях

В четырех различных экспериментах были использованы белые свиньи массой 35 кг [10] и свиньи немецкой породы ландрас средней массой 35 ± 6 кг [11-13].

В каждом случае животным вводили ацетаминофен разными способами и в различных дозировках: внутривенно в течение 12 часов для поддержания концентрации в крови в пределах 200-300 мг/л [10] и в верхнюю часть тощей кишки через имплантированный катетер для обеспечения немедленного рассасывания [11-13], при этом начальный кишечный болус ацетаминофена составил 250 мг/кг массы тела с

последующим повышением уровня парацетамола в плазме крови (300–450 мг/л) в адаптированной кишечной поддерживающей дозе 1000–3000 мг/ч до начала ОПечН.

Во всех исследованиях у животных развилась ОПечН в среднем через 23 ± 2 ч. Максимальное время выживаемости составило 33 ч [13], минимальное – 20 ч [10].

У животных, получавших ацетаминофен, гистология печени показала прогрессирующий центрилобулярный некроз. Общий белок плазмы крови и альбумин снижались параллельно. Уровень АСТ и лактата в крови прогрессивно увеличивался. Появление олигурии/анурии и повышение уровня креатинина в сыворотке крови указывало на почечную недостаточность. Наблюдалось ухудшение рН и протромбинового времени. В ряде случаев развивались гипотензия, синдром полиорганной недостаточности, сепсис, респираторный дистресс-синдром, одышка, асцит, массивный отек головного мозга [10-11]. Выявлена сильная отрицательная линейная корреляция между P_{tiO_2} и внутричерепным давлением (ВЧД) [12]. Вследствие повышения уровня ацетаминофена (400 мг/л), наблюдалось увеличение процентного содержания метгемоглобина, у двух свиней (из девяти) развилась тяжелая метгемоглобинемия. Это подчеркивает важность тщательного контроля уровня парацетамола в терапии [10]. Контрольные свиньи, получавшие инфузионно физиологический раствор, пережили анестезию без происшествий [10-13].

Многочисленные исследования на моделях свиней, использующих ацетаминофен для индуцирования ОПечН, дали неоднородные результаты из-за существования значительных вариаций детоксикационного метаболизма препарата, связанных с видом и возрастом, способом введения и дозировками [10-13].

Внутривенное введение ацетаминофена, по-видимому, вызывает более токсичные побочные эффекты и не отражает клиническую ситуацию. В дополнении к этому, эта модель не дает определенного времени выживаемости [10].

Показано, что измерения ВЧД и P_{tiO_2} указывают на надвигающееся повреждение задолго до того, как возникнут серьезные осложнения, и их использование должно быть рассмотрено для защиты функции мозга, находящейся под угрозой, в присутствии ацетаминофен-индуцированной острой печеночной недостаточности [12].

Снижение портального кровотока и последующая тяжелая тромбоцитопения после интоксикации ацетаминофеном предшествуют летальному исходу [13].

В исследовании Thiel et al. [11] удалось создать воспроизводимую, клинически значимую модель свиньи, которая может быть использована для исследования новых терапевтических подходов при этом опасном для жизни состоянии. Но модель может быть подвергнута критике за тестирование интоксикации парацетамолом в менее клинически применимой ситуации, поскольку животные подвергались общей анестезии, предварительному лечению антибиотиками, лапаротомии и катетеризации кишечника. Это означало бы, что эффекты были получены в условиях, несопоставимых с клинической практикой.

Выводы. Несмотря на то, что токсичность парацетамола была широко изучена на крысах [6-9] и мышцах [2-5], точные патогенетические механизмы повреждения гепатоцитов, которые потенциально обратимы, до сих пор плохо изучены. В последнее время на моделях свиней были созданы большие модели интоксикации парацетамолом [10-13], которые более подходят для представления физиологии печени человека и клинического течения отравления парацетамолом. Эти модели также имеют достаточный размер, чтобы можно было использовать репрезентативные условия интенсивной терапии человека, что позволяет тестировать новые препараты для терапевтического вмешательства.

Список литературы:

1. Гусев К. Ю., Смолихо Е. Ф., Чекмарев А. В. и др. Структура и исходы отравлений парацетамолом по данным Свердловского областного центра острых отравлений // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: сборник статей VIII Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, Екатеринбург, 19-20 апреля 2023 г. – Екатеринбург: УГМУ, 2023. – С. 230-235.
2. Zeng Y., Wu R., Wang F. et al. Liberation of daidzein by gut microbial β -galactosidase suppresses acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice // *Cell Host & Microbe*. 2023. Vol. 31. No. 5. pp. 766-780. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37100057/> (дата обращения: 16.03.2024)
3. Groeneveld D., Cline-Fedewa H., Baker K.S. et al. Von Willebrand factor delays liver repair after acetaminophen-induced acute liver injury in mice // *Journal of hepatology*. 2020. Vol. 72. No. 1. pp. 146-155. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31606553/> (дата обращения: 16.03.2024)
4. Akakpo J.Y., Ramachandran A., Duan L. et al. Delayed treatment with 4-methylpyrazole protects against acetaminophen hepatotoxicity in mice by inhibition of c-Jun N-terminal kinase // *Toxicological sciences*. 2019. Vol. 170. No. 1. pp. 57-68. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30903181/> (дата обращения: 20.03.2024)
5. Naim S., Fernandez-Marrero Y., de Brot S. et al. Loss of BOK has a minor impact on acetaminophen overdose-induced liver damage in mice // *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22. No. 6. p. 3281 URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33807047/> (дата обращения: 20.03.2024)
6. Reshi M.S., Shrivastava S., Jaswal A. et al. Gold nanoparticles ameliorate acetaminophen induced hepato-renal injury in rats // *Experimental and toxicologic pathology*. 2017. Vol. 69. No. 4. pp. 231-240. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28153389/> (дата обращения: 17.03.2024)
7. Плавенил С., Al-Dhabi N.A., Srigopalram S. et al. Acetaminophen induced hepatotoxicity in wistar rats – A proteomic approach // *Molecules*. 2016. Vol. 21. No. 2. p. 161. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26828476/> (дата обращения: 17.03.2024)
8. Тимашева Г.В., Репина Э.Ф., Бакиров А.Б. и др. Метаболические и структурные изменения в печени экспериментальных животных после коррекции повреждений, вызванных высокими дозами ацетаминофена // *Медицина труда и экология человека*. 2022. №3. URL: [https://cyberleninka.ru/article/n/metabolicheskie-i-strukturnye-izmeneniya-v-pecheni-eksperimentalnyh-zhivotnyh-posle-korreksii-povrezhdeniy-vyzvannyh-vysokimi](https://cyberleninka.ru/article/n/metabolicheskie-i-strukturnye-izmeneniya-v-pecheni-eksperimentalnyh-zhivotnyh-posle-korreksii-povrezhdeniy-vyzvannyh-vysokimi-dozami-atsetaминофена) (дата обращения: 17.03.2024).
9. Горшков А.Н., Марусов И.В., Петрова Ю.А. и др. Морфологические аспекты гепатотоксического действия нестероидных противовоспалительных препаратов // *Таврический медико-биологический вестник*. 2015. Т. 18. № 2. С. 48-52. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskie-aspekty-gepatotoksicheskogo-deystviya-nesteroidnyh-protivovospalitelnyh-preparatov> (дата обращения: 17.03.2024).
10. Newsome, P. N., Henderson, N. C., Nelson, L. J. et al. Development of an invasively monitored porcine model of acetaminophen-induced acute liver failure // *BMC*

gastroenterology. 2010. Vol. 10. pp. 1-13. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20353598/> (дата обращения: 15.03.2024)

11. Thiel C., Thiel K., Etspueler A. et al. A reproducible porcine model of acute liver failure induced by intrajejunal acetaminophen administration // *European Surgical Research*. 2011. Vol. 46. No. 3. pp. 118-126. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21252557/> (дата обращения: 15.03.2024)
12. Thiel C., Lauber J., Klingert W. et al. Pathophysiological central nervous system changes in a porcine model of acetaminophen-induced acute liver failure // *Toxicology Letters*. 2017. Vol. 281. pp. 119-126. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28958773/> (дата обращения: 20.03.2024)
13. Thiel K., Klingert W., Klingert K. et al. Porcine model characterizing various parameters assessing the outcome after acetaminophen intoxication induced acute liver failure // *World Journal of Gastroenterology*. 2017. Vol. 23. No. 9. p. 1576. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28321158/> (дата обращения: 20.03.2024)

References:

1. Gusev K.Y., Smolikho E.F., Chekmarev A.V. et al. Structure and outcomes of paracetamol poisoning according to the Sverdlovsk regional center for acute poisoning // *Current issues of modern medical science and healthcare: collection of articles of the VIII International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students, Ekaterinburg, April 19-20, 2023 - Ekaterinburg: USMU, 2023.* - pp. 230-235.
2. Zeng Y., Wu R., Wang F. et al. Liberation of daidzein by gut microbial β -galactosidase suppresses acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice // *Cell Host & Microbe*. 2023. Vol. 31. No. 5. pp. 766-780. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37100057/> (дата обращения: 16.03.2024)
3. Groeneveld D., Cline-Fedewa H., Baker K.S. et al. Von Willebrand factor delays liver repair after acetaminophen-induced acute liver injury in mice // *Journal of hepatology*. 2020. Vol. 72. No. 1. pp. 146-155. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31606553/> (дата обращения: 16.03.2024)
4. Akakpo J.Y., Ramachandran A., Duan L. et al. Delayed treatment with 4-methylpyrazole protects against acetaminophen hepatotoxicity in mice by inhibition of c-Jun N-terminal kinase // *Toxicological sciences*. 2019. Vol. 170. No. 1. pp. 57-68. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30903181/> (дата обращения: 20.03.2024)
5. Naim S., Fernandez-Marrero Y., de Brot S. et al. Loss of BOK has a minor impact on acetaminophen overdose-induced liver damage in mice // *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22. No. 6. p. 3281. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33807047/> (дата обращения: 20.03.2024)
6. Reshi M.S., Shrivastava S., Jaswal A. et al. Gold nanoparticles ameliorate acetaminophen induced hepato-renal injury in rats // *Experimental and toxicologic pathology*. 2017. Vol. 69. No. 4. pp. 231-240. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28153389/> (дата обращения: 17.03.2024)

7. Pavenil S., Al-Dhabi N.A., Srigopalram S. et al. Acetaminophen induced hepatotoxicity in wistar rats—A proteomic approach // *Molecules*. 2016. Vol. 21. No. 2. p. 161. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26828476/> (дата обращения: 17.03.2024)
8. Timasheva G.V, Repina E.F., Bakirov A.B. et al. Metabolic and structural changes in the experimental animal liver after correction of damage caused by high doses of acetaminophen // *Occupational medicine and human ecology*. 2022. No. 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/metabolicheskie-i-strukturnye-izmeneniya-v-pecheni-eksperimentalnyh-zhivotnyh-posle-korreksii-povrezhdeniy-vyzvannyh-vysokimi> (дата обращения: 17.03.2024).
9. Gorshkov A.N., Marusov I.V., Petrova U.A. et al. Morphological aspects of hepatotoxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs // *Tauric medical-biological newsletter*. 2015. Vol. 18, No. 2. pp. 48-52. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskie-aspekty-gepatotoksicheskogo-deystviya-nesteroidnyh-protivovospalitelnyh-preparatov> (дата обращения: 17.03.2024).
10. Newsome, P. N., Henderson, N. C., Nelson, L. J. et al. Development of an invasively monitored porcine model of acetaminophen-induced acute liver failure // *BMC gastroenterology*. 2010. Vol. 10. pp. 1-13. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20353598/> (дата обращения: 15.03.2024)
11. Thiel C., Thiel K., Etspueler A. et al. A reproducible porcine model of acute liver failure induced by intrajejunal acetaminophen administration // *European Surgical Research*. 2011. Vol. 46. No. 3. pp. 118-126. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21252557/> (дата обращения: 15.03.2024)
12. Thiel C., Lauber J., Klingert W. et al. Pathophysiological central nervous system changes in a porcine model of acetaminophen-induced acute liver failure // *Toxicology Letters*. 2017. Vol. 281. pp. 119-126. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28958773/> (дата обращения: 20.03.2024)
13. Thiel K., Klingert W., Klingert K. et al. Porcine model characterizing various parameters assessing the outcome after acetaminophen intoxication induced acute liver failure // *World Journal of Gastroenterology*. 2017. Vol. 23. No. 9. p. 1576. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28321158/> (дата обращения: 20.03.2024)