

赵善民,汪芸,刘畅,等. 常用药物性肝损伤动物模型的制备方法 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(7): 935-945.
Zhao SM, Wang Y, Liu C, et al. Preparation of animal models of drug-induced liver injury [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(7): 935-945.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.07.013

常用药物性肝损伤动物模型的制备方法

赵善民¹,汪芸²,刘畅³,崔淑芳^{1*}

(1. 海军军医大学基础医学院实验动物学教研室,上海 200433;2. 海军军医大学基础医学院
六大队十七队,上海 200433;3. 海军军医大学基础医学院二大队四队,上海 200433)

【摘要】 药物性肝损伤是临床上最常见的药物不良反应之一,严重可引起急性肝功能衰竭,甚至死亡。临床上,对这类损伤的诊治尚缺乏特异性的诊断和治疗手段。构建相应的动物模型是深入开展机制研究或者筛选有效的诊断、治疗手段的重要支撑条件。目前研究中建立了大量的药物性肝损伤动物模型,其中应用较多的有非甾体类抗炎药、抗菌药、抗癫痫药物、抗甲状腺药物等诱发的肝损伤模型,所选择的动物以小鼠、大鼠居多。本文结合近年来的文献报道,综述了这些类型动物模型的制备方法、成模标准及其特点,以期对相关模型的构建提供参考。

【关键词】 药物性肝损伤;动物模型;制备方法;研究进展

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 07-0935-11

Preparation of animal models of drug-induced liver injury

ZHAO Shanmin¹, WANG Yun², LIU Chang³, CUI Shufang^{1*}

(1. Department of Laboratory Animal Science, College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433, China. 2. Company 17 of Regiment 6, College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433;3. Company 4 of Regiment 2, College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433)

Corresponding author: CUI Shufang. E-mail: youngstar_sf@163.com

【Abstract】 Drug-induced liver injury is one of the most common adverse clinical drug reactions, potentially result in acute liver failure or even death. Clinically however, there is still a lack of specific diagnostic and treatment method for this kind of injury. The construction of corresponding animal models is an important process to support in-depth mechanistic research and screening of effective diagnostic and treatment method. Numerous animal models of drug-induced liver injury have been established and are widely used, including liver injury models induced by non-steroidal anti-inflammatory, anti-bacterial, anti-epileptic, and anti-thyroid drugs, with mice and rats being the most commonly used animals. In this report, we review the preparation method, modeling standards, and characteristics of these types of animal models in combination with recent literature reports, to provide references for the future construction of related models.

【Keywords】 drug-induced liver injury; animal model; preparation method; progress

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肝是体内药物代谢的主要器官,因而也是药物诱导损伤的主要靶器官。据统计已上市的药品中,有超过 1100 种的药物可能导致肝毒性的发生,药物

性肝损害已经成为临床上最常见的药物不良反应之一,严重肝损伤可致爆发性肝炎、急性肝衰竭 (acute liver failure, ALF),甚至死亡。调查显示我国

【基金项目】 国家重点研发计划 (2021YFF0702400);海军军医大学“三航”人才培养课题。

Funded by National Key R&D Program of China (2021YFF0702400), “Sanhang” Personnel Training Program of Naval Medical University.

【作者简介】 赵善民 (1986—),男,博士,研究方向:人类疾病动物模型研究。Email: zhaoshanmin2006@163.com

【通信作者】 崔淑芳 (1968—),女,教授,研究方向:实验动物资源开发与应用研究。Email: youngstar_sf@163.com

普通人群中每年药物性肝损伤的发生率高于欧美国家,这些药物导致的肝损伤已然成为影响我国人民健康的重要因素,给人民生活带来沉重的负担^[1]。因此,深入研究药物性肝损伤机制,控制肝损伤的发生具有重要的现实意义。

人类疾病动物模型作为重要的研究工具,在肝损伤的发生机制研究、防治方法创新等方面起着不可替代的作用^[2-3]。目前已经建立了大量的药物性肝损伤动物模型,如非甾体类抗炎药、抗菌药物、抗癫痫药物、抗甲状腺药物等诱发的肝损伤动物模型。依靠这些动物模型,开展了大量肝损伤发病机制、防治手段等研究工作,为药物性肝损伤的诊疗提供了坚实的理论依据。本文就目前常用的药物性肝损伤模型的制备方法、特点及判断标准进行了综述。

1 非甾体类抗炎药诱发肝损伤模型

非甾体类抗炎药在临床上广泛用于骨关节炎、类风湿性关节炎、多种发热和各种疼痛症状的缓解,目前动物模型研究比较多的是对乙酰氨基酚(Acetaminophen, APAP)、布洛芬诱导的肝损伤。

1.1 APAP 诱发肝损伤模型

1.1.1 小鼠模型

(1) 模型复制方法

选择成年雄性小鼠,将 APAP 溶于温盐水中,采用腹腔注射的方式将单剂量的 APAP 注入小鼠体内即可成功制备急性肝损伤模型,也可使用口服 APAP 的方法造模^[4-5]。APAP 注射剂量通常选择 200 ~ 600 mg/kg,剂量越高肝损伤程度越重。如果注射剂量小于 300 mg/kg,小鼠需要禁食 12 ~ 16 h,减少由营养状况引起的肝 GSH 水平的变化。不同品系小鼠对 APAP 敏感性存在一定差别^[6],研究中通常选择近交系 C57BL/6 小鼠^[7]、BALB/c 小鼠^[8],或者封闭群 ICR 小鼠^[9]等。

(2) 成模标准及其特点

小鼠给药后 4 h 肝明显充血肿大,血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)等肝损伤指标显著升高,给药后 24 h 肝出现小叶中心性坏死,肝小叶内可见片状或桥状坏死,炎症细胞聚集,肝 TUNEL 阳性细胞数显著升高^[5,10],出现这些表征即表明模型制备成功。小鼠与人类对 APAP 毒性作用机制相似,治疗剂量的 APAP 主要经历葡萄糖醛酸或硫酸化,只有少量被细胞色素 P450 酶代谢,产生少量活

性代谢物 N-乙酰基-对苯醌亚胺(NAPQI)^[11-12]。当 APAP 过量服用后,硫酸化和葡萄糖醛酸化达到饱和和无法防止 NAPQI 的形成,因此 NAPQI 大幅增加,最终谷胱甘肽耗竭,蛋白质加合物形成,在线粒体中,线粒体氧化应激和丝裂原活化蛋白激酶 c-Jun 氨基末端激酶(包括 JNK,其能够放大该压力)活化^[13-14]。最终,线粒体氧化应激触发线粒体通透性转换孔(MPT),导致线粒体基质肿胀,造成膜破裂,释放膜间蛋白,如核酸内切酶 G 和凋亡诱导因子(AIF),这些物质转位到细胞核,就会导致 DNA 碎裂^[13],触发细胞坏死,导致损伤相关的分子模式(DAMP): HMGB1、核 DNA 片段、线粒体 DNA、尿酸、ATP 等大量释放。因此,损伤过程中,小鼠肝出现谷胱甘肽耗竭、蛋白质结合、线粒体损伤,氧化应激、DNA 断裂、JNK 通路激活等与人类相似的病理过程^[5]。此外,研究证实 APAP 在小鼠和人类引发毒性的剂量接近,超过 150 mg/kg 剂量时均会出现肝损伤。小鼠被认为是最理想的模拟人类药物性肝损伤的动物模型。但是该小鼠模型的疾病进程与人类存在一定差别,小鼠的肝毒性发展较快,在 12 ~ 24 h 左右达到峰值,而人类在 24 ~ 72 h 达到峰值^[15-16]。APAP 诱导的小鼠肝损伤模型复制周期短、方法简单、成功率高,广泛应用于发病机制研究、药物筛选等方面,特别是伴随小鼠基因编辑技术的快速发展,APAP 诱导肝损伤中基因功能的研究通常使用小鼠模型。但是该模型影响因素较多,如性别、年龄、品系、给药途径、饥饿状态、甚至肠道菌群结构等均能影响肝损伤程度。因此,在使用 APAP 诱导的肝损伤小鼠模型时,一定要使用相同规格的小鼠,并建立严格的标准化操作规程(SOP)。

1.1.2 大鼠模型

(1) 模型复制方法

通常选择成年雄性 Wistar 或 SD 大鼠,按照 1000 mg/kg 的剂量将 APAP 溶液经腹腔注射到大鼠体内,数小时后即可检测到肝损伤指标 ALT、AST 水平升高,以及肝病理损伤^[17-20],也可采用灌胃的方式将药物注入大鼠体内^[21-24]。由于诱导大鼠肝损伤所需的 APAP 剂量较大,可将 APAP 溶于甲基纤维素^[20-21]、聚乙二醇^[17]、丙二醇^[23]、二甲基亚砜^[25]等溶剂中。

(2) 成模标准及其特点

APAP 注射后 3、6、12、24 h 均能检测到血清中 ALT、AST 指标的显著升高,即可判断模型构建成

功。注射后 72 h 内部分大鼠可能出现死亡,通过肝病理学检测可以看到肝细胞崩解、坏死及脂质过氧化反应明显改变、凋亡细胞增加等病理表现,但不如小鼠明显。该大鼠模型的致病机制、表型与人类有较大差别。过量的 APAP 即使导致大鼠肝中 NAPQI 的形成和积累,但其肝也不会出现线粒体损伤或氧化应激,JNK 通路的激活也不明显,肝损伤的程度较轻^[26]。研究认为细胞色素 P450 介导的代谢途径是产生反应性代谢物的重要途径,小鼠的 P450 功能与人类相似,而大鼠的 P450 活性较低,这可能是大鼠对 APAP 不敏感的原因之一^[27],因此大鼠模型的损伤机制和严重程度并不能反映人类的病理过程,该大鼠模型并不适合开展 APAP 发病机制的研究。但是由于大鼠生理过程、药物代谢和毒理反应等指标整体上更接近于人类,目前也有很多学者使用大鼠模型开展 APAP 药物毒性和药效评价的研究,特别是测试天然药物对肝保护作用的研究。

1.1.3 实验猪模型

(1)模型复制方法

将西藏小型猪麻醉后,放置十二指肠鼻肠饲管,先给予初始剂量 APAP (0.3 g/kg),后每间隔 1 h 给予 3.0 g APAP,连续给药 12 次,可成功制备肝损伤模型,并最终发展成为急性肝衰竭^[28]。也可选择长白杂交大白猪,麻醉后用鼻肠饲管将 APAP 水悬浮液 (250 mg/kg) 以 0.5 ~ 4 g/h 的剂量缓慢注入猪体内,数小时后即可检测到肝损伤的发生^[29]。

(2)成模标准及其特点

由于采用了 APAP 水悬浮液的持续注射,该模型肝损伤程度会持续加重,注射 4 h 后可检测到白蛋白 (ALB)、AST 的升高,到达肝衰竭的时间约 17.5 h^[29]。该模型中,ALT 指标并不会升高^[30],因此不能将 ALT 作为该模型的评价标准。肝组织病理学分析显示,所有模型均呈现出急性小叶中心至中央区肝细胞变性和坏死,并且有肝性脑病的迹象,还会出现与临床患者常见的肾毒性等副作用,这与人类 APAP 诱导的 ALF 的临床表现非常相似。在代谢物形成过程中,该模型可以检测到广泛的酰胺水解反应,这一过程类似于药物在人体内广泛的酰胺水解过程,循环系统中的谷氨酰胺浓度的变化类似于人类 ALF 中谷氨酰胺的增加,而其他动物难以模拟该病征。因此,该模型在模型药物代谢反应研究方面具有独特优势。需要注意的是 APAP 在猪

体内的代谢途径与人体同样存在差异,如 APAP 在猪肝内的代谢是以葡萄糖醛酸化,硫酸盐化程度很低,而在人体肝中过量 APAP 代谢会产生大量的硫酸化化合物^[28],这可能与猪的硫酸化能力比人类低有关。该模型采用了持续注射的方式,保证了疾病进程更加可控,适合开展药物毒理学研究,但是模型需要经过全身麻醉和抗生素预处理,手术操作相对复杂,成本较高,限制了其应用范围。

1.2 布洛芬诱发肝损伤模型

1.2.1 小鼠模型

(1)模型复制方法

选择成年雄性小鼠禁食 24 h,按照 600 mg/kg 的剂量将布洛芬溶液经腹腔注射到小鼠体内^[31],布洛芬难溶于水,可用含 8.7% DMSO 的磷酸盐缓冲液溶解。

(2)成模标准及其特点

注射后 8 h,小鼠血清中 AST、ALT 和谷氨酸脱氢酶 (GLDH) 水平显著升高,病理检测显示肝实质内出血和局灶性病变。目前关于布洛芬引起的肝毒性的研究较少,其肝损伤的机制仍不清楚。在布洛芬代谢中,CYP2C9 被认为是起主要作用的细胞色素 P450 酶超家族成员,其能够催化形成 3-羟基布洛芬和 2-羟基布洛芬,CYP2C8 和 CYP2C19 参与的代谢途径起次要作用^[32]。在临床上,布洛芬诱导的肝损伤可能存在异质性,比如肝细胞型、胆汁淤积型以及混合型肝损伤均有报道^[33-34],这也提示不同品系小鼠制备的动物模型表型可能存在差异。如使用近交系 C57BL/6J 小鼠制备该模型并未观察到胆汁淤积的症状,近交系小鼠个体间的遗传组成和遗传特性较为一致,因此模型表型较为一致,而使用封闭群动物可能更容易出现人类患者的多种症状。

1.2.2 大鼠模型

(1)模型复制方法

雄性成年 Wistar 或 SD 大鼠按照 400 mg/kg 的剂量口服布洛芬水溶液,连续给药 5 d 可制备肝损伤模型^[35]。也可按照 15 mg/kg 的剂量对大鼠进行灌胃,连续灌胃 4 周也可出现肝损伤的症状^[36]。

(2)成模标准及其特点

按照 400 mg/kg 的剂量末次注射 24 h 后,血清中就可以检测到 AST、ALT、碱性磷酸酶 (ALP)、谷氨酰转肽酶 (GGT)、总胆红素 (TBIL) 和直接胆红素 (DBIL) 显著升高,表明模型制备成功^[35]。如按照

15 mg/kg 的剂量给大鼠灌胃肝损伤表征出现较晚, 28 d 时才检测到 ALT、AST 显著升高^[36]。与小鼠模型相比, 该大鼠模型的致病机制、表型与人类更加相似, 过量布洛芬能够消耗谷胱甘肽缀合物, 从而导致抗氧化剂水平的降低以及细胞中有毒代谢物的积累, 进一步通过破坏线粒体跨膜导致细胞膜的过氧化损伤。因此, 该模型可检测到肝氧化应激水平显著升高, 病理检测可见肝结构显著破坏, 门静脉炎症、炎症细胞浸润、肝细胞变性伴中央静脉充血和中性粒细胞浸润^[35, 37]。该模型还会出现较重的胃肠道溃疡, 动物进食困难, 导致体重下降。小肠内也能检测到炎症浸润、杯状细胞衰竭、隐窝丢失和微绒毛破坏、中性粒细胞浸润增加。使用封闭群大鼠制备布洛芬诱发肝损伤模型能更好的模拟人类患者的多种症状, 适合开展发病机制研究或者治疗药物的筛选。

2 抗菌药物诱发肝损伤模型

临床常见的具有肝毒性的抗菌药物主要有抗结核类(如异烟肼、利福平等)、抗真菌药物(如四环素类)等。抗菌药物所致肝损伤的症状表现、发病机制等, 与非甾体类抗炎药诱发的肝损伤差别不大, 在研究中需要建立相应病因的动物模型。

2.1 异烟肼(INH)诱发肝损伤模型

2.1.1 小鼠模型

(1) 模型复制方法

通常选择同性别成年小鼠, 将异烟肼溶解于生理盐水中, 按照 100 mg/kg 的剂量灌胃, 每日 1 次, 连续 28 d^[38]。如异烟肼灌胃剂量为 150 mg/kg, 则连续灌胃 14 d 即可^[39]。

(2) 成模标准及其特点

末次灌胃 24 h 后, 血液中 ALT、AST、ALP、LDH、TBIL 水平升高, 肝指数显著提高, 肝病理有明显的坏死和炎症细胞浸润, 表明肝损伤模型成功, 第 14 天可以观察到肝弥漫性脂肪变性^[38]。小鼠与人类对 INH 的毒性作用机制相似, INH 的毒性主要通过其乙酰化代谢物肼(Hz)介导, 肼通过损伤线粒体, 最终导致肝小泡性脂肪变性。小鼠用于制备 INH 诱发肝损伤模型具有很多优势, 比如造模后小鼠血清中 INH 浓度维持较高, 肝中有更多的共价结合, 更加符合人类的病理过程。另外, 与大鼠相比, INH 在小鼠体内的代谢反应与人体更为相似^[40]。但小鼠模型与临床患者也存在一些差异, 如临床患

者会出现 ALT、AST 水平升高, 但是病理损伤并不典型, 也很少看到 INH 诱导的脂肪变性, 其中只有 1% 的个体会出现小鼠模型呈现的严重肝损伤^[41], 这可能与人类个体之间的较大异质性、遗传多态性有关。个体的易感性、遗传多态性也被认为是导致 INH 毒性反应差异的重要因素。该小鼠模型可用于 INH 诱发肝损伤发病机制研究和防治手段筛选。

2.1.2 大鼠模型

(1) 模型复制方法

大鼠造模方法与小鼠相似, 多采用灌胃给药的方式制备。成年 Wistar 或 SD 大鼠按照 300 mg/kg 的剂量, 每天灌服异烟肼溶液, 连续 7 d 即可出现肝损伤症状^[42-43]。

(2) 成模标准及其特点

灌胃 24 h 后, 可检测到血液中的 ALT、AST 显著升高^[43]。肝出现斑点坏死和脂肪变性(空泡变性), 同时可以观察到炎症细胞浸润和细胞凋亡的发生, 这种炎症细胞浸润也常见于人类患者。该模型出现食欲下降、体重减轻和肝抗氧化防御功能下降的表征与人类 INH 肝损伤的临床特征一致。此外, INH 诱导的肝损伤在临床上具有肝炎相关性胆汁淤积的特征^[44], 该大鼠模型可以检测到血清中总胆汁酸、未结合胆汁酸和牛磺酸结合胆汁酸显著升高。此外, 大鼠肝中也出现脂肪变性, 这可能是由于氧化应激和线粒体功能障碍所致^[45], 但在临床患者样品中, 很少看到 INH 诱导的脂肪变性, 这提示 INH 在大鼠体内的代谢途径与人类存在差异, 部分试验结果并不能推导至临床患者。目前该模型主要应用于发病机制研究, 生物标志物的筛选和药物治疗效果的评价。

2.2 利福平(RIF)诱发肝损伤模型

2.2.1 小鼠模型

(1) 模型复制方法

成年雄性小鼠采用灌胃给药的方法, 连续灌服利福平溶液(177 mg/kg 或者 442.5 mg/kg), 21 d, 利福平溶解于含 5% DMSO 和 25% 聚乙二醇(PEG)的溶剂中^[46-47]。

(2) 成模标准及其特点

末次灌胃 12 h 后即可检测到血液中 ALT、AST、TBIL、DBIL 水平显著升高, 病理学显示肝中出现脂肪变性, 肝细胞肿胀、溶解、细胞核消失。在临床患者中, RIF 通过引起暂时性高胆红素血症阻滞胆红素的排泄, 同时肝细胞发生小叶中心性坏死^[47]。该

模型被认为是肝细胞损伤和胆汁淤积性损伤伴发的混合肝损伤,会出现与临床患者的病理变化相似的暂时性高胆红素血症。此外,利福平诱导的肝损伤与线粒体氧化应激、肝细胞凋亡、胆汁淤积和脂质堆积有关,可以检测到肝氧化应激水平、细胞凋亡等指标升高和肝重量增加。由于该小鼠模型存在肝细胞坏死和胆汁淤积两方面的肝损伤因素,更加接近于人类临床表现,适合开展 RIF 诱发肝损伤发病机制研究。

2.2.2 大鼠模型

(1)模型复制方法

成年大鼠按照 10 mg/kg 的剂量,连续灌服利福平生理盐水溶液,每天 1 次,连续 35 d 可产生典型肝损伤症状^[48],也可将利福平溶解于 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液,使用更大剂量(如 100、150 或 200 mg/kg)连续灌胃 14 d 即可成模^[49]。

(2)成模标准及其特点

血液中 ALT、AST、ALP 指标显著升高,肝切片显示大量脂肪变形,局灶性坏死伴门脉炎症和细胞边界丧失。血液中 TBIL 和总胆汁酸(TBA)水平显著升高,当利福平灌胃剂量为 200 mg/kg 时,即为典型的胆汁淤积性肝损伤^[50]。这与临床患者非常相似,服用利福平患者经常发生胆汁淤积性肝损伤,最终导致肝硬化和肝功能衰竭^[51]。RIF 导致肝损伤发病机制十分复杂,过去对 RIF 诱发肝毒性的研究主要集中于肝细胞损伤。与小鼠模型相比,RIF 导致大鼠更倾向于以胆汁淤积为主的肝损伤,因此大鼠是研究胆汁淤积肝损伤的合适动物,适合开展药物诱发的肝内胆汁淤积控制手段的筛选。

2.3 四环素诱导肝损伤模型

2.3.1 小鼠模型

(1)模型复制方法

成年 ICR 小鼠腹腔注射四环素(50 mg/kg)数小时后即可成模^[52],如将四环素注射剂量提高至 200 mg/kg,模型症状肝损伤症状更加严重^[53]。

(2)成模标准及其特点

四环素所致的肝毒性通常为脂肪肝变性,因此也被认为是急性脂肪肝动物模型。注射 6 h 后模型小鼠肝做 HE 和油红 O 染色,可观察到微泡性脂肪变性,表明模型制备成功^[52]。目前四环素诱发脂肪肝的机制比较明确,主要是由于脂肪酸氧化和肝脂蛋白分泌受到抑制。在临床患者中,四环素诱发的脂肪肝类型为肝微泡性脂肪变性,与大泡性脂肪变

性相比,微泡性脂肪变性具有较差的预后和较高的脂肪性肝炎发展风险。小鼠按照 50 mg/kg 的剂量给药即可很好地模拟临床患者肝出现的微泡性脂肪变性症状。同时小鼠血液中 AST 显著升高,甘油三酯(TG)积累,但 ALT 未见升高。当注射剂量为 200 mg/kg 时,小鼠血液中 ALT、AST 均升高数倍,肝 TG 含量升高 133%,CHO 含量增加 47%。TUNEL 染色显示注射四环素的小鼠肝有很大比例的凋亡细胞^[53-54]。该模型很好地模拟了人类肝微泡性脂肪变性,是研究脂肪酸氧化损伤和肝脂蛋白代谢的良好模型。

2.3.2 大鼠模型

(1)模型复制方法

成年 Wistar 大鼠按 250 mg/kg,每日灌服 4% 盐酸四环素水溶液,连续 7 d 可造成肝损伤^[55]。

(2)成模标准及其特点

大鼠注射后第 3 天开始,出现抑郁、食欲不振、口渴、体重减轻等症状,血液中 ALT、AST、总胆红素显著升高。肝病理切片镜检显示肝细胞分解,细胞质中弥漫性分布着大小不一的脂滴,局灶性组织淋巴细胞浸润,血管扩张和溢出^[55]。四环素处理后大鼠肝内总胆固醇(IHTC)和甘油三酯(IHTG)水平升高,而血浆中的总胆固醇和甘油三酯水平降低,说明血液中的胆固醇、甘油三酯等运输到肝中形成堆积。肝中过量的脂肪酸进一步导致氧化应激,进而引发肝细胞损伤,并伴随信号通路事件。因此,有学者提出了四环素诱导肝损伤的“二次打击”学说,到肝中大量脂肪酸堆积,形成第一次打击^[5],随后的氧化应激等损伤形成第二次打击。该模型适合于脂肪肝形成机制及干预手段的研究。

3 抗癫痫药物诱发的肝损伤模型

丙戊酸钠(VPA)和卡马西平(CBZ)是临床应用最广泛的广谱抗癫痫一线药物,对多种类型的癫痫均有疗效。然而,这些药物可引起严重的心脏毒性、肾毒性、肝毒性和神经毒性。统计显示抗癫痫药物的不良反应中肝损伤占比率很高,基于抗癫痫药物诱发的肝损伤动物模型的研究为今后的新药研发提供了研究基础。

3.1 丙戊酸钠(VPA)诱发肝损伤模型

3.1.1 小鼠模型

(1)模型复制方法

选择成年雄性 KM 或 C57BL/6J 小鼠,将丙戊酸

钠在盐溶液中稀释,采用腹腔注射^[28,56-57]或口服给药^[28,58-59]。剂量控制在 100 ~ 500 mg/kg,通常连续给药 7 ~ 14 d。通常采用封闭群 ICR 小鼠^[28]、KM 小鼠^[28]等。

(2) 成模标准及其特点

该模型病程呈现剂量和时间依赖性肝毒性,通常给药 2 周后,小鼠血清中 AST、ALT、TG 指数均在 2 周后到达峰值,VPA 介导的肝毒性是一种以微囊性脂肪变性和坏死为特征的不可逆反应。该小鼠模型可以检测到胆固醇、甘油三酯指数升高,脂肪酸氧化减少,出现人类患者相似的微囊性脂肪变性^[28,60]。组织病理学显示肝细胞空泡化、坏死后伴有明显的炎症活动^[28],出现这些症状表明成功制备模型。VPA 的代谢途径包括谷胱甘肽代谢和花生四烯酸代谢,花生四烯酸是人体中含量最丰富、分布最广泛的脂肪酸,是一种重要的人体必需脂肪酸。若选择给药剂量 500 mg/(kg·d),小鼠肝中谷胱甘肽代谢和花生四烯酸代谢水平降低,符合临床患者的代谢特点。花生四烯酸水平的降低被认为是产生肝毒性的一个原因^[56]。VPA 还可影响线粒体代谢,导致高氨血症的产生,谷氨酸酰胺化增加,导致谷氨酰胺/谷氨酸平衡向谷氨酰胺方向转移,血浆和许多组织中酪氨酸/苯丙氨酸的比例降低^[28]。该模型目前主要应用于 VPA 的药物代谢分析。

3.1.2 大鼠模型

(1) 模型复制方法

选择成年雄性 Wistar 大鼠,将丙戊酸钠溶解在蒸馏水中,按照 300 mg/kg 的剂量,采取腹腔注射^[5];或选择 500 mg/kg 的剂量灌胃给药^[3,61],也可采用腹腔注射^[62-63]。动物实验前,在标准条件下,给予大鼠标准颗粒饲料并随意供水。

(2) 成模标准及其特点

按照 500 mg/(kg·d)的剂量给药 14 d 后,大鼠血清中评估肝毒性标志物酶 AST 升高近 3 倍,ALP 升高 1.5 ~ 2 倍,白细胞、血小板指数持续降低^[64],GSH 水平增加,肝细胞的细胞质中出现微空泡,间质中胶原纤维明显上升^[3],这些都说明模型构建成功。若按 300 mg/(kg·d)的剂量给药,25 d 后大鼠出现微泡性脂肪变性,ROS 与 MDA 水平升高,ALT、AST、ALP 和 LDH 指数均增加至原来的 1.5 倍^[5]。与小鼠相比,大鼠在生理和病理表型上更接近于人类,因此该模型在肝损伤机制的研究和药物疗效的

评价方面应用更加广泛。此外,临床患者中,VPA 导致的肝损伤病例(特别是致命性肝损伤病例)多为儿童,因此也常选用幼年大鼠制备 VPA 肝损伤模型来模拟儿童患者表征。

3.2 卡马西平(CBZ)诱发肝损伤模型

3.2.1 小鼠模型

(1) 模型复制方法

将丙戊酸钠溶解于玉米油中,以 400 mg/kg 对成年雄性 BALB/c 或 C57BL/6 小鼠进行灌胃给药,连续 4 d,第 5 天剂量调整为 800 mg/kg^[65-66]。Wang 等^[67]先将 LPS (2 mg/kg)通过尾静脉注射到小鼠体内,2 h 后再将卡马西平溶剂按照 50 mg/kg 的剂量腹腔注射,成功引起小鼠特异性肝损伤。

(2) 成模标准及其特点

最后一次 CBZ 给药 24 h 后,检测血浆 ALT、AST 水平显著升高,病理学可以观察到明显的肝坏死,特别是在中央静脉周围的肝细胞消失,表明卡马西平诱导的肝损伤模型构建成功^[65]。在人体中,CBZ 的代谢产物有 30 多种,其主要通过 CYP3A4 代谢为稳定的 10,11-环氧化卡马西平,进一步经羟基化代谢为 2,3-环氧化 CBZ,2-羟基 CBZ 和 3-羟基 CBZ,这些产物通过与蛋白质的共价结合和影响活性氧的产生参与特异性肝损伤进程^[68]。在该小鼠模型中,可以检测到人类代谢的几种主要代谢产物,同时炎症反应也与临床患者相似。因此,该模型适合开展药物代谢和炎症方面的发病机制研究。注射卡马西平前,先使用非毒性剂量的脂多糖(LPS)诱导动物引起轻度并发炎症更加符合人类肝损伤的临床特点^[69],在临床患者中,除了出现急性肝炎和肝细胞坏死伴炎症,还可能出现肉芽肿性肝炎,动物模型肝中难以出现肉芽肿症状,此外,临床患者中还存在一种针对人肝微粒体蛋白的特异性自身抗体^[70],因此该模型也不能模拟 CBZ 诱导人类肝损伤的全部临床和机制特征。

3.2.2 大鼠模型

(1) 模型复制方法

成年 F344 大鼠以 400 mg/kg 的剂量进行灌胃给药,连续 4 d,第 5 天剂量调整为 600 mg/kg^[68,71]。

(2) 成模标准及其特点

最后一次 CBZ 给药 24 h 后,血浆 ALT 水平显著升高,组织病理学显示肝小叶中央静脉区肝细胞大量坏死,并且呈现时间依赖性^[68,71]。研究显示在任何实验剂量下,CBZ 单次给药都不能诱导肝损

伤,需要反复给药才能建立 CBZ 诱导的肝损伤模型。有研究显示使用酮康唑可以降低人类患者中 CBZ 与人肝微粒体的不可逆结合,减轻 CBZ 诱导的肝损伤,使用酮康唑也可以使该大鼠模型的 ALT 和 AST 水平出现下调,但酮康唑导致了小鼠模型 ALT 和 AST 水平持续上调^[72]。这提示与小鼠相比,CBZ 在大鼠体内的代谢途径与人类更加相似,更加适合开展代谢毒性研究。此外 CBZ 对两个物种体内引发的炎症反应也存在差异,如 Th-17 相关细胞因子在两种模型中发挥不同作用。对于 CBZ 诱导肝损伤的物种差异机制的深入研究能够为临床前药物开发中预测肝损伤风险提供参考依据。

4 抗甲状腺药物诱发的肝损伤模型

抗甲状腺药物虽然出现于 80 多年前,但其仍是国内治疗甲状腺功能亢进症的主要手段。此类药物可引起各种肝功能损害(如酶值升高、黄疸、致命性肝损伤或肝衰竭等),其中以甲硫咪唑(MMI)诱发肝损伤模型研究居多。

4.1 小鼠模型

4.1.1 模型复制方法

将甲硫咪唑溶解于生理盐水中,采用腹腔注射的方式注射到成年雄性 BALB/c 小鼠体内(剂量可以选择 100、200、400 或者 1000 mg/kg)即可导致肝损伤的发生^[73-74]。

4.1.2 成模标准及其特点

注射后 5 h 即可检测到小鼠血清中 ALT、ALP 均显著升高,病理组织学显示模型小鼠肝血管充血、肝细胞径向分布丧失,有轻度至中度的炎症细胞浸润^[73]。甲硫咪唑诱发的肝损伤程度呈现时间和剂量依赖性的特点,甲硫咪唑注射剂量越高,肝损伤症状越典型。临床上引起的肝损伤以胆汁淤积性肝损伤为主^[75],但该模型组织学上未观察到胆汁淤积,这可能与成模时间较短有关。目前,关于 MMI 引起肝毒性的确切机制尚不清楚,药物反应性代谢物和氧化应激可能是其引发肝损伤的主要机制^[76]。乙二醛和 N-甲基硫脲作为 MMI 的两种反应性代谢物可能与该药引起的肝损伤有关,这些代谢产物具有破坏细胞功能的能力,导致谷胱甘肽耗竭和不可逆加合物的形成。

4.2 大鼠模型

4.2.1 模型复制方法

以灌胃给药的方式将甲硫咪唑溶解于生理盐

水溶液灌入成年大鼠体内(剂量为 20 ~ 100 mg/kg)即可制备肝损伤模型^[77-78],可选择 SD、Wistar 或 F344 大鼠,这 3 个品种大鼠对甲硫咪唑敏感性排序为 F344 > SD > Wistar。Sefi 等^[79]将甲硫咪唑溶解于饮用水中(250 mg/L),大鼠连续自由饮水 14 d 也可制备该模型。

4.2.2 成模标准及其特点

注射 6 h 后测定血浆 ALT、AST 和 TBIL 显著升高,病理组织学显示大鼠肝小叶中心区变性坏死、充血、出血^[77-78]。在相同剂量下,MMI 可诱导小鼠和大鼠出现严重的肝毒性,甲硫咪唑诱导的大鼠肝损伤模型也没有胆汁淤积,在病理表现上两种模型非常相似。但是在发病机制上大鼠与小鼠存在差异,比如一些参与甲硫咪唑诱导的小鼠肝损伤基因(如 GATA3、Eotaxin)在大鼠体内未见有任何变化^[78]。由于不同品系/品种动物对甲硫咪唑敏感性不同,在研究中应根据实验目的合理选择相应品系/品种实验动物开展实验。如 F344 大鼠对甲硫咪唑敏感反应敏感,适合开展毒性评价和研究,SD 大鼠和 Wistar 大鼠背景资料丰富,适合开展发病过程中的炎症反应、调控基因等作用的比较分析。

5 结语

药物性肝损伤不仅是临床肝病常见的类型,约占药物不良反应的十分之一,同时也是新药研发上市受阻或遭遇撤回最常见的原因之一^[80-81]。由于药物多种多样,不同药物对人体引起的肝损伤可能存在明显差异,比如直接肝毒性、特异质肝毒性或者间接肝毒性,此外还有致瘤与致癌性。目前,虽然建立了大量的肝损伤动物模型,并借助这些模型开展了大量的机制研究。但是由于药物性肝损伤发病机制和临床表型的复杂性,目前还未建立诊断和治疗标准,研究所使用的动物模型还存在诸多不足,也成为制约研究进程的重要因素,比如:(1)对目前使用的动物模型的毒性机制认识不足,很多地方甚至存在争议,有些模型甚至被滥用,导致一些错误的结论产生;(2)所构建的动物模型以药物诱导的直接肝毒性居多,针对特异质肝毒性或间接肝毒性的动物模型目前相对较少,导致研究还比较局限;(3)不同类型肝毒性的发生机制差异显著,但很多药物还缺乏针对性的动物模型,需要建立更加丰富的动物模型资源;(4)动物和人体在药物代谢、机体结构等方面存在巨大的物种差异,特别是近交

系、封闭群大小鼠难以模拟人类肝损伤的异质性,需要开发与人类遗传更加相似的非人灵长类、猪、犬等动物模型。

基于当前药物性肝损伤动物模型存在的不足,认为未来应该在以下 4 个方面做出努力:(1)细化药物性肝损伤动物模型类型,利用模拟物或者中间代谢产物、毒素等构建更加精准、特异的肝损伤动物模型,利于排除干扰因素,提高研究效率;(2)开发基因工程动物模型,基因编辑技术的飞速发展,极大地推动了动物模型的创建,通过多种基因工程动物模型的使用,更有利于我们从分子层次揭示疾病特点,探寻治疗手段;(3)构建非人灵长类等更多大动物肝损伤动物模型,药物性肝损伤发病机制复杂,通常有多种机制参与其中,非人灵长类动物在基因、代谢及免疫等方面都与人类更加接近,该类模型的研究结果更能够推导至人类;(4)借助类器官、肝人源化动物等创建肝损伤动物模型,物种差异决定了任何一种动物模型都难以完全再现人类疾病的生理和病理特点,伴随类器官、肝人源化动物研究的突破,建立更加符合人类特点的疾病模型也越来越成为可能。总的来说,在使用药物性肝损伤动物模型构建方面取得了重大进展,但仍有大量的工作要做。

参 考 文 献(References)

- [1] Shen T, Liu Y, Shang J, et al. Incidence and etiology of drug-induced liver injury in mainland China [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2230–2241.
- [2] Zhai H, Zhang J, Shang D, et al. The progress to establish optimal animal models for the study of acute-on-chronic liver failure [J]. *Front Med*, 2023, 10: 1087274.
- [3] Gama JFG, Cardoso LMDF, Lagrota-Candido JM, et al. Animal models applied to acute-on-chronic liver failure: are new models required to understand the human condition? [J]. *World J Clin Cases*, 2022, 10(9): 2687–2699.
- [4] Fernandez-Checa JC, Bagnaninchi P, Ye H, et al. Advanced preclinical models for evaluation of drug-induced liver injury-consensus statement by the European Drug-Induced Liver Injury Network [J]. *J Hepatol*, 2021, 75(4): 935–959.
- [5] McGill MR, Jaeschke H. Animal models of drug-induced liver injury [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(5): 1031–1039.
- [6] Duan L, Davis JS, Woolbright BL, et al. Differential susceptibility to acetaminophen-induced liver injury in sub-strains of C57BL/6 mice: 6N versus 6J [J]. *Food Chem Toxicol*, 2016, 98: 107–118.
- [7] Cai J, Kong D, Long Z, et al. Targeting PARK7 improves acetaminophen-induced acute liver injury by orchestrating mitochondrial quality control and metabolic reprogramming [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(11): 2128.
- [8] Cardia GFE, Silva-Comar FMS, Bonetti CI, et al. Hepatoprotective effect of β -myrcene pretreatment against acetaminophen-induced liver injury [J]. *Avicenna J Phytomed*, 2022, 12(4): 388–400.
- [9] Jiang Z, Yang X, Han Y, et al. Sarmenosin promotes USP17 and regulates Nrf2-mediated mitophagy and cellular oxidative stress to alleviate APAP-induced acute liver failure [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154337.
- [10] McGill MR, Williams CD, Xie Y, et al. Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 264(3): 387–394.
- [11] Heard KJ, Green JL, James LP, et al. Acetaminophen-cysteine adducts during therapeutic dosing and following overdose [J]. *BMC Gastroenterol*, 2011, 11: 20.
- [12] McGill MR, Lebofsky M, Norris HR K, et al. Plasma and liver acetaminophen-protein adduct levels in mice after acetaminophen treatment: dose-response, mechanisms, and clinical implications [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 269(3): 240–249.
- [13] Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity [J]. *Drug Metab Rev*, 2012, 44(1): 88–106.
- [14] Yuan L, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver injury [J]. *Clin Liver Dis*, 2013, 17(4): 507–518.
- [15] McGill MR, Yan HM, Ramachandran A, et al. HepaRG cells: a human model to study mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity [J]. *Hepatology*, 2011, 53(3): 974–982.
- [16] McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, et al. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(4): 1574–1583.
- [17] Sun J, Sugiyama A, Hisaka S, et al. Immunohistochemical detection of polyunsaturated fatty acid oxidation markers in acetaminophen-induced liver injury in rats [J]. *J Vet Med Sci*, 2012, 74(2): 141–147.
- [18] Belardinelli MC, Pereira F, Baldo G, et al. Adult derived mononuclear bone marrow cells improve survival in a model of acetaminophen-induced acute liver failure in rats [J]. *Toxicology*, 2008, 247(1): 1–5.
- [19] Chanda S, Mangipudy RS, Warbritton A, et al. Stimulated hepatic tissue repair underlies heteroprotection by thioacetamide against acetaminophen-induced lethality [J]. *Hepatology*, 1995, 21(2): 477–486.
- [20] Green MD, Shires TK, Fischer LJ. Hepatotoxicity of acetaminophen in neonatal and young rats [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1984, 74(1): 116–124.
- [21] Yoshida K, Ushida Y, Ishijima T, et al. Broccoli sprout extract induces detoxification-related gene expression and attenuates

- acute liver injury [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(35): 10091–10103.
- [22] Dönmez M, Uysal B, Poyrazoğlu Y, et al. PARP inhibition prevents acetaminophen-induced liver injury and increases survival rate in rats [J]. Turk J Med Sci, 2015, 45: 18–26.
- [23] Farag MM, Mohamed MB, Youssef EA. Assessment of hepatic function, oxidant/antioxidant status, and histopathological changes in rats treated with atorvastatin [J]. Hum Exp Toxicol, 2015, 34(8): 828–837.
- [24] Reshi MS, Shrivastava S, Jaswal A, et al. Gold nanoparticles ameliorate acetaminophen induced hepato-renal injury in rats [J]. Exp Toxicol Pathol, 2017, 69(4): 231–240.
- [25] Yang J, Betterton RD, Williams EI, et al. High-dose acetaminophen alters the integrity of the blood-brain barrier and leads to increased CNS uptake of codeine in rats [J]. Pharmaceutics, 2022, 14(5): 949.
- [26] Jaeschke H, Xie Y, McGill MR. Acetaminophen-induced liver injury: from animal models to humans [J]. J Clin Transl Hepatol, 2014, 2(3): 153–161.
- [27] Turpeinen M, Ghiciuc C, Opritou M, et al. Predictive value of animal models for human cytochrome P450 (CYP)-mediated metabolism: a comparative study *in vitro* [J]. Xenobiotica, 2007, 37(12): 1367–1377.
- [28] He GL, Feng L, Cai L, et al. Artificial liver support in pigs with acetaminophen-induced acute liver failure [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(18): 3262.
- [29] Dargue R, Zia R, Lau C, et al. Metabolism and effects on endogenous metabolism of paracetamol (acetaminophen) in a porcine model of liver failure [J]. Toxicol Sci, 2020, 175(1): 87–97.
- [30] Lee KCL, Palacios Jimenez C, Alibhai H, et al. A reproducible, clinically relevant, intensively managed, pig model of acute liver failure for testing of therapies aimed to prolong survival [J]. Liver Int, 2013, 33(4): 544–551.
- [31] Zoubek ME, Woitok MM, Sydor S, et al. Protective role of c-Jun N-terminal kinase-2 (JNK2) in ibuprofen-induced acute liver injury [J]. J Pathol, 2019, 247(1): 110–122.
- [32] Mazaleuskaya LL, Theken KN, Gong L, et al. PharmGKB summary: ibuprofen pathways [J]. Pharmacogenet Genomics, 2015, 25(2): 96–106.
- [33] Elkrief L, Chrystostalis A, Moachon L, et al. Severe cholestatic hepatitis associated with Stevens-Johnson syndrome after taking ibuprofen [J]. Gastroenterol Clin Biol, 2007, 31(11): 1043–1045.
- [34] Taghian M, Tran TA, Bresson-Hadni S, et al. Acute vanishing bile duct syndrome after ibuprofen therapy in a child [J]. J Pediatr, 2004, 145(2): 273–276.
- [35] Panchal NK, Swarnalatha P, Prince SE. *Trichopus zeylanicus* ameliorates ibuprofen induced hepatotoxicity and enteropathy: an insight into its modulatory impact on pro/anti-inflammatory cytokines and apoptotic signaling pathways [J]. Inflammopharmacology, 2022, 30(6): 2229–2242.
- [36] Wen C, Zhuang Z, Song H, et al. Metabolism of liver CYP450 and ultrastructural changes after long-term administration of aspirin and ibuprofen [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 208–215.
- [37] Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, et al. Ibuprofen hepatic encephalopathy, hepatomegaly, gastric lesion and gastric pentadecapeptide BPC 157 in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2011, 667(1–3): 322–329.
- [38] Li Y, Luo WW, Cheng X, et al. Curcumin attenuates isoniazid-induced hepatotoxicity by upregulating the SIRT1/PGC-1 α /NRF1 pathway [J]. J Appl Toxicol, 2022, 42(7): 1192–1204.
- [39] Liu N, Liu J, Zheng B, et al. Gut microbiota affects sensitivity to immune-mediated isoniazid-induced liver injury [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 160: 114400.
- [40] Metushi IG, Nakagawa T, Uetrecht J. Direct oxidation and covalent binding of isoniazid to rodent liver and human hepatic microsomes: humans are more like mice than rats [J]. Chem Res Toxicol, 2012, 25(11): 2567–2576.
- [41] Metushi I, Uetrecht J, Phillips E. Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity: then and now [J]. Br J Clin Pharmacol, 2016, 81(6): 1030–1036.
- [42] Zhang G, Chen L, Wen Y, et al. Pyridoxal isonicotinoyl hydrazone inhibition of FXR is involved in the pathogenesis of isoniazid-induced liver injury [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, 402: 115134.
- [43] Zhang Y, Qu X, Gao H, et al. Quercetin attenuates NLRP3 inflammasome activation and apoptosis to protect INH-induced liver injury via regulating SIRT1 pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 85: 106634.
- [44] Björnsson ES, Jonasson JG. Drug-induced cholestasis [J]. Clin Liver Dis, 2013, 17(2): 191–209.
- [45] Church RJ, Wu H, Mosedale M, et al. A systems biology approach utilizing a mouse diversity panel identifies genetic differences influencing isoniazid-induced microvesicular steatosis [J]. Toxicol Sci, 2014, 140(2): 481–492.
- [46] Deng Y, Luo X, Li X, et al. Screening of biomarkers and toxicity mechanisms of rifampicin-induced liver injury based on targeted bile acid metabolomics [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 925509.
- [47] Kim JH, Nam WS, Kim SJ, et al. Mechanism investigation of rifampicin-induced liver injury using comparative toxicoproteomics in mice [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(7): 1417.
- [48] Kiyimba K, Tiyo Ayikobua E, Chans Mwandah D, et al. Assessing the protective effect of *Crassocephalum vitellinum* against Rifampicin-induced hepatotoxicity in Wistar rats [J]. Afr Health Sci, 2022, 22(1): 352–360.
- [49] Liu L, Yang Y, Li W, et al. Tanshinone II A alleviate rifampicin-induced cholestasis by regulating the expression and function of bile salt export pump [J]. Hum Exp Toxicol, 2022, 41: 9603271221097365.
- [50] Chalasani NP, Maddur H, Russo MW, et al. ACG clinical guideline: diagnosis and management of idiosyncratic drug-

- induced liver injury [J]. Am J Gastroenterol, 2021, 116(5): 878–898.
- [51] Guthrie G, Stoll B, Chacko S, et al. Rifampicin, not vitamin E, suppresses parenteral nutrition-associated liver disease development through the pregnane X receptor pathway in piglets [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2020, 318(1): G41–G52.
- [52] Choi YJ, Lee CH, Lee KY, et al. Increased hepatic fatty acid uptake and esterification contribute to tetracycline-induced steatosis in mice [J]. Toxicol Sci, 2015, 145(2): 273–282.
- [53] Yao XM, Li Y, Li HW, et al. Bicyclol attenuates tetracycline-induced fatty liver associated with inhibition of hepatic ER stress and apoptosis in mice [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(1): 1–8.
- [54] Yu HY, Wang BL, Zhao J, et al. Protective effect of bicyclol on tetracycline-induced fatty liver in mice [J]. Toxicology, 2009, 261(3): 112–118.
- [55] Korolova D, Gryshchenko V, Chernyshenko T, et al. Blood coagulation factors and platelet response to drug-induced hepatitis and hepatosis in rats [J]. Anim Mod Exp Med, 2023, 6(1): 66–73.
- [56] Gao Y, Jiang D, Wang C, et al. Comprehensive analysis of metabolic changes in male mice exposed to sodium valproate based on GC-MS analysis [J]. Drug Des Dev Ther, 2022, 16: 1915–1930.
- [57] Ardianto C, Wardani HA, Nurrahmi N, et al. Alpha-lipoic acid ameliorates sodium valproate-induced liver injury in mice [J]. Vet World, 2020, 13(5): 963–966.
- [58] Vitins AP, Kienhuis AS, Speksnijder EN, et al. Mechanisms of amiodarone and valproic acid induced liver steatosis in mouse *in vivo* act as a template for other hepatotoxicity models [J]. Arch Toxicol, 2014, 88(8): 1573–1588.
- [59] Lee MH, Kim M, Lee BH, et al. Subchronic effects of valproic acid on gene expression profiles for lipid metabolism in mouse liver [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2008, 226(3): 271–284.
- [60] Pirozzi C, Lama A, Annunziata C, et al. Butyrate prevents valproate-induced liver injury; *in vitro* and *in vivo* evidence [J]. FASEB J, 2020, 34(1): 676–690.
- [61] Gheena S, Ezhilarasan D, Shree Harini K, et al. Syringic acid and silymarin concurrent administration inhibits sodium valproate-induced liver injury in rats [J]. Environ Toxicol, 2022, 37(9): 2143–2152.
- [62] Iqbal MO, Manzoor M, Mumtaz A, et al. Evaluation of the hepatoprotective activity of hydroalcoholic extract of *Alhagi camelorum* against valproic acid-induced hepatotoxicity in rats [J]. Biomedicine Pharmacother, 2022, 150: 112953.
- [63] Alqarni F, Eweis HS, Ali A, et al. The effect of coenzyme Q10 on liver injury induced by valproic acid and its antiepileptic activity in rats [J]. Biomedicines, 2022, 10(1): 168.
- [64] Mohammed MA, Gharib DM, Reyad HR, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of alpha-lipoic acid protect against valproic acid-induced liver injury [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2021, 99(5): 499–505.
- [65] Oba KI, Shimada H, Hashimoto R, et al. Assessment of hepatic prostaglandin E2 level in carbamazepine induced liver injury [J]. Endocr Regul, 2022, 56: 22–30.
- [66] Higuchi S, Yano A, Takai S, et al. Metabolic activation and inflammation reactions involved in carbamazepine-induced liver injury [J]. Toxicol Sci, 2012, 130(1): 4–16.
- [67] Wang Z, Xu G, Zhan X, et al. Carbamazepine promotes specific stimuli-induced NLRP3 inflammasome activation and causes idiosyncratic liver injury in mice [J]. Arch Toxicol, 2019, 93(12): 3585–3599.
- [68] Iida A, Sasaki E, Yano A, et al. Carbamazepine-induced liver injury requires CYP3A-mediated metabolism and glutathione depletion in rats [J]. Drug Metab Dispos, 2015, 43(7): 958–968.
- [69] Luyendyk JP, Maddox JF, Green CD, et al. Role of hepatic fibrin in idiosyncrasy-like liver injury from lipopolysaccharide-ranitidine coexposure in rats [J]. Hepatology, 2004, 40(6): 1342–1351.
- [70] Pirmohamed M, Kitteringham NR, Breckenridge AM, et al. Detection of an autoantibody directed against human liver microsomal protein in a patient with carbamazepine hypersensitivity [J]. Br J Clin Pharmacol, 1992, 33(2): 183–186.
- [71] Sasaki E, Iida A, Oda S, et al. Pathogenetic analyses of carbamazepine-induced liver injury in F344 rats focused on immune- and inflammation-related factors [J]. Exp Toxicol Pathol, 2016, 68(1): 27–38.
- [72] Hardonk MJ, Dijkhuis FWJ, Hulstaert CE, et al. Heterogeneity of rat liver and spleen macrophages in gadolinium chloride-induced elimination and repopulation [J]. J Leukoc Biol, 1992, 52(3): 296–302.
- [73] Hakim Z, Waheed A, Bakhtiar S, et al. Potentiating effect of rifampicin on methimazole induced hepatotoxicity in mice [J]. Pak J Pharm Sci, 2018, 31(6): 2373–2377.
- [74] Niknahad H, Jamshidzadeh A, Heidari R, et al. Paradoxical effect of methimazole on liver mitochondria: *In vitro* and *in vivo* [J]. Toxicol Lett, 2016, 259: 108–115.
- [75] Akmal A, Kung J. Propylthiouracil, and methimazole, and carbimazole-related hepatotoxicity [J]. Expert Opin Drug Saf, 2014, 13(10): 1397–1406.
- [76] Mizutani T, Yoshida K, Murakami M, et al. Evidence for the involvement of *N*-methylthiourea, a ring cleavage metabolite, in the hepatotoxicity of methimazole in glutathione-depleted mice: structure-toxicity and metabolic studies [J]. Chem Res Toxicol, 2000, 13(3): 170–176.
- [77] Akai S, Uematsu Y, Tsuneyama K, et al. Kupffer cell-mediated exacerbation of methimazole-induced acute liver injury in rats [J]. J Appl Toxicol, 2016, 36(5): 702–715.
- [78] Kobayashi M, Higuchi S, Ide M, et al. Th2 cytokine-mediated methimazole-induced acute liver injury in mice [J]. J Appl Toxicol, 2012, 32(10): 823–833.

[79] Sefi M, Ben Amara I, Troudi A, et al. Effect of selenium on methimazole-induced liver damage and oxidative stress in adult rats and their offspring [J]. Toxicol Ind Health, 2014, 30(7): 653-669.

[80] Aithal GP, Rawlins MD, Day CP. Clinical diagnostic scale: a useful tool in the evaluation of suspected hepatotoxic adverse drug reactions [J]. J Hepatol, 2000, 33(6): 949-952.

[81] Pan Y, Cao M, You D, et al. Research progress on the animal models of drug-induced liver injury: current status and further perspectives [J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 1283824.

[收稿日期] 2023-04-03

《中国比较医学杂志》稿约

国内刊号 CN 11-4822/R 国际刊号 ISSN 1671-7856 邮局代号 82-917

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊)。征稿的范围是与人类生命与健康密切相关的实验动物与动物实验等生命科学各分支学科,重点刊载比较医学成果和进展。栏目设置包括研究报告、综述与专论、研究快报、研究简讯、技术与方法、经验交流、学术动态、国外研究进展、学术信息、简讯等栏目。要求来稿数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、被《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国生物医学期刊数据库等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章正文字数在 5000 字左右。

投稿网址: <http://zg syndw.cnjournals.com/zgbjyxzz/ch/index.aspx>
期待您的来稿!