

УДК: 616.36-07:619

DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.179

ЭЛИМИНАЦИЯ 1,3,7-ТРИМЕТИЛ-КСАНТИНА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНДУЦИРОВАНИИ ЖИРОВОГО ГЕПАТОЗА

Попова О.С. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837); **Понамарев В.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. преп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Кострова А.В.** – асп. каф. фармакологии и токсикологии; **Агафонова Л.А.** – соиск. каф. фармакологии и токсикологии.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*alef_z@mail.ru

Ключевые слова: гепатобилиарная система, клиренс-тест, кофеин, крысы, диагностика, фармакокинетика.

Keywords: hepatobiliary system, clearance test, caffeine, rats, diagnostics, pharmacokinetics.

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, <https://rscf.ru/project/23-26-00011>

Поступила: 16.10.2023

Принята к публикации: 17.11.2023

Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Патологии печени играют значительную роль в изменении метаболизма и клиренса ряда фармакологически активных веществ, включая 1,3,7-триметилксантин, что объясняется их влиянием на ферментные системы, регулирующие биотрансформацию экзогенных биологически активных веществ. В настоящее время активно изучается изменение клиренса кофеина при различных гепатобилиарных нарушениях, особенно тех, которые носят хронический характер, так как именно подобные патологии, по мнению ряда исследователей, характеризуются наиболее прогнозируемым и стабильным изменением триметилксантинового фармакокинетического профиля. Цель исследования – определение изменения уровней кофеина в сыворотке крови при индуцировании жирового гепатоза у лабораторных животных (крыс). Исследования проводили в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Для исследования были выбраны лабораторные животные из предыдущей серии эксперимента с целью дальнейшего сравнения «кофеиновых кривых». Жировой гепатоз моделировали с использованием сернокислого стронция согласно разработанной на кафедре фармакологии и токсикологии методике. По завершению индуцирования жировой гепатоз был подтверждён на основании клинико-биохимических признаков. На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что присутствуют определенные корреляции. Например, при жировом гепатозе элиминация кофеина не значительно замедлена с характерным длительным плато (до 8 часов после введения), переходящее в плавное снижение концентрации. Данные эксперимента можно использовать для создания базы данных по оценке взаимосвязи фарма-

кокинетики и физиологического состояния животных. Подобные эксперименты необходимо проводить и на других видах животных, что создаст целостную картину и поможет в оценке патологий для ветеринарных специалистов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Патологии печени играют значительную роль в изменении метаболизма и клиренса ряда фармакологически активных веществ, включая 1,3,7-триметилксантин, что объясняется их влиянием на ферментные системы, регулирующие биотрансформацию экзогенных биологически активных веществ. Некоторые из ферментов могут быть угнетены или наоборот, активированы, что приводит к биотрансформационному дисбалансу, что может вызывать не только накопление 1,3,7-триметилксантина в организме, но и изменение его фармакологического профиля, включая время задержки в организме и интенсивность его элиминации [1,2,3].

В настоящее время активно изучается изменение клиренса кофеина при различных гепатобилиарных нарушениях, особенно тех, которые носят хронический характер, так как именно подобные патологии, по мнению ряда исследователей, характеризуются наиболее прогнозируемым и стабильным изменением триметилксантинового фармакокинетического профиля [2-4].

Однако не все исследования подтверждают однозначное влияние жирового гепатоза на клиренс кофеина. Некоторые исследования показывают, что снижение активности ферментов в печени может приводить к уменьшению метаболического клиренса кофеина, тогда как другие не находят статистически значимой связи между этими двумя факторами [5,6].

Резюмируя вышеописанное, можно сделать вывод, что увеличение количества подобных экспериментов будет способствовать лучшему пониманию изменений в элиминации кофеина при подобных патологиях [7,8].

Цель исследования - определение изменения уровня кофеина в сыворотке крови при индуцировании жирового гепатоза у лабораторных животных (крыс).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Для эксперимента были выбраны лабораторные животные из предыдущей серии опыта с целью дальнейшего сравнения «кофеиновых кривых». Количество животных, их возрастные характеристики, живая масса, условия кормления и содержания были эквивалентны предыдущим опытам [9].

Жировой гепатоз моделировали с использованием сернокислого стронция согласно разработанной на кафедре фармакологии и токсикологии методике [10]. По завершению индуцирования жировой гепатоз был подтвержден на основании клинико-биохимических признаков [11].

Исследования были проведены в соответствии принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, правилами надлежащей лабораторной и клинической (GLP и GCP) практики, а также требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях [12,13]. Дизайн исследования одобрен комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Спустя сутки после завершения моделирования жирового гепатоза у подопытных животных определялись уровни кофеина в сыворотке крови в полном соответствии с предыдущей серией опыта [9].

Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и ее среднюю ошибку (m), расчет достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента не проводился в связи с поисковым характером исследования и отсутствием групп сравнения [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате эксперимента патологических реакций на введение препарата со стороны сердечно-сосудистой системы отмечено не было, токсическое действие препарата не проявлялось (данные получены с помощью прибора Физиобелт) [9]. Уровни кофеина в плазме крови представлены в таблице 1.

После проведения анализа полученных данных, мы пришли к выводу, что между биотрансформацией кофеина у самцов и самок отсутствует какая-либо взаимосвязь. Подопытные животные, в целом, имели более высокие уровни кофеина в сыворотке крови по сравнению с животными без патологии. Кроме того, временной интервал полной элиминации кофеина не входил в исследуемый временной диапазон.

Для установления закономерностей в элиминации кофеина были построены графики изменения его уровней (рис.1).

При введении животных экзогенного кофеина во всех исследуемых дозировках отмечались следующие особенности биотрансформации кофеина: длительное плато (до 8 часов после введения), переходящее в плавное снижение концентрации.

Несмотря на статистически достоверную задержку кофеина в сыворотке крови, был сохранён его фармакокинетический профиль в отношении его элиминации посредством кинетики первого порядка. Кинетика первого порядка подразумевает, что выведение вещества из организма пропорционально его введению в течение определенного времени, а изменение дозировки препарата приводит к соответствующему изменению его концентрации в сыворотке крови в линейной зависимости.

Таблица 1 – Уровень кофеина в плазме крови (в мкг) после введения экзогенного кофеина у подопытных крыс с индуцированным жировым гепатозом (n=6)

Вводимая дозировка препарата (в пересчете на чистый кофеин)	50 мг/кг		100 мг/кг		150 мг/кг	
Т после введения / пол животных	♂	♀	♂	♀	♂	♀
30 мин	28,6±0,4	27,3±0,5	73,4±2,8	72,6±3,2	120,1±6,3	122,3±7,5
1 час	27,3±0,5	27,6±0,3	72,6±2,2	71,3±3,5	121,7±5,1	124,8±6,4
2 часа	27,4±0,6	27,1±0,7	73,1±3,7	71,1±2,9	120,5±5,7	123,7±4,1
4 часа	27,7±0,3	26,9±0,3	72,3±2,9	70,7±4,3	119,6±4,8	122,6±5,8
8 часов	23,5±0,7	22,8±0,6	69,2±4,2	68,4±2,0	109,3±6,1	111,5±5,3
12 часов	19,3±0,9	19,1±0,5	61,3±4,7	58,2±3,6	98,3±5,5	103,2±6,6

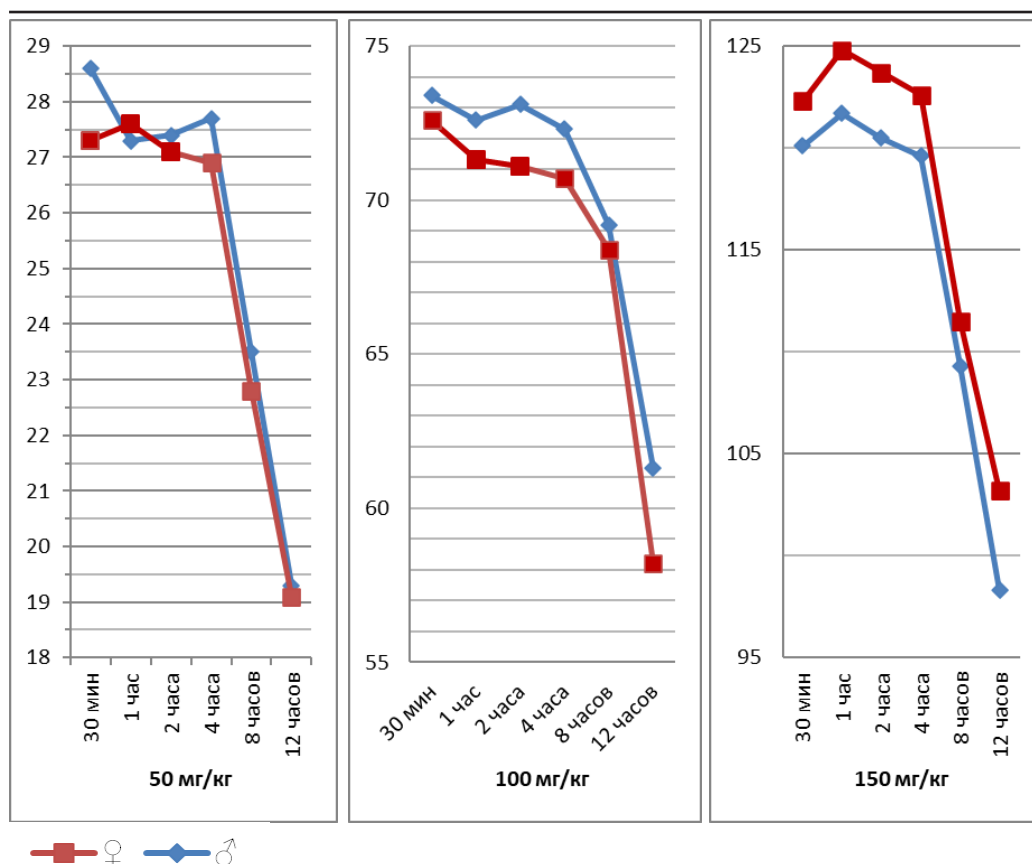


Рисунок 1 – Уровень кофеина в плазме крови (в мкг) после введения экзогенного кофеина в дозе 50,100 и 150мг/кг у подопытных крыс с индуцированным жировым гепатозом (n=6)

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Так нами были исследованы лабораторные животные из предыдущей серии эксперимента с целью сравнения «кофеиновых кривых» при жировом гепатозе. На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что присутствуют определенные корреляции. Так, при жировом гепатозе элиминация кофеина не значительно замедлена с характерным длительным плато (до 8 часов после введения), переходящее в плавное снижение концентрации.

Данные эксперимента можно использовать для создания базы данных по оценке взаимосвязи фармакокинетики и физиологического состояния животных. По-

добные эксперименты необходимо проводить и на других видах животных, что создаст целостную картину и поможет в оценке патологий для ветеринарных специалистов.

ELIMINATION OF 1,3,7-TRIMETHYL-XANTHINE IN LABORATORY ANIMALS WHEN INDUCING FATTY HEPATOSIS

Popova O.S. * – Ph.D. of Veterinary Science, Associate Professor Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837), **Ponamarev V.S.** – Ph.D. (ORCID 0000-0002-6852-3110) – Senior Lecturer, Ph.D. of Veterinary Science, **Kostrova A.V.** – graduate student, **Agafonova L.A.** – student

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine
*alef_z@mail.ru

Acknowledgments: The study was supported by the Russian Science Foundation grant № 23-26-00011, <https://rscf.ru/project/23-26-00011>.

ABSTRACT

Liver pathologies play a significant role in changing the metabolism and clearance of a number of pharmacologically active substances, including 1,3,7-trimethylxanthine, which is explained by their influence on enzyme systems that regulate the biotransformation of exogenous biologically active substances. Currently, changes in caffeine clearance are being actively studied in various hepatobiliary disorders, especially those that are chronic, since it is precisely such pathologies, according to a number of researchers, that are characterized by the most predictable and stable change in the trimethylxanthine pharmacokinetic profile. The purpose of the study was to determine changes in serum caffeine levels when inducing fatty liver disease in laboratory animals (rats). The studies were carried out in the vivarium of the Department of Pharmacology and Toxicology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg State University of Medicine. Laboratory animals from a previous series of experiments were selected for the study in order to further compare the “caffeine curves.” Fatty hepatosis was modeled using strontium sulfate according to the methodology developed at the Department of Pharmacology and Toxicology. Upon completion of induction, fatty hepatosis was confirmed based on clinical and biochemical signs. Based on the studies conducted, we can conclude that there are certain correlations. For example, in fatty hepatosis, the elimination of caffeine is not significantly slowed down with a characteristic long plateau (up to 8 hours after administration), turning into a smooth decrease in concentration. Experimental data can be used to create a database to assess the relationship between

pharmacokinetics and the physiological state of animals. Similar experiments need to be carried out on other animal species, which will create a holistic picture and help in assessing pathologies for veterinary specialists.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lebeau, P.F. Caffeine blocks SREBP2-induced hepatic PCSK9 expression to enhance LDLR-mediated cholesterol clearance / P. F. Lebeau, J. H. Byun, K. Platko [et al.] // *Nature Communications*. – 2022. – Vol. 13, No. 1. – DOI 10.1038/s41467-022-28240-9.
2. Duthaler, U. Liver Cirrhosis Affects the Pharmacokinetics of the Six Substrates of the Basel Phenotyping Cocktail Differently / U. Duthaler, F. Bachmann, C. Suenderhauf [et al.] // *Clinical Pharmacokinetics*. – 2022. – Vol. 61, No. 7. – P. 1039-1055. – DOI 10.1007/s40262-022-01119-0.
3. Abduljalil, Kh. Preterm Physiologically Based Pharmacokinetic Model. Part II: Applications of the Model to Predict Drug Pharmacokinetics in the Preterm Population / Kh. Abduljalil, X. Pan, A. Pansari [et al.] // *Clinical Pharmacokinetics*. – 2020. – Vol. 59, No. 4. – P. 501-518. – DOI 10.1007/s40262-019-00827-4.
4. Nehlig, A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption / A. Nehlig // *Pharmacological Reviews*. – 2018. – Vol. 70, No. 2. – P. 384-411. – DOI 10.1124/pr.117.014407.
5. Gajewska, M. In vitro-to-in vivo correlation of the skin penetration, liver clearance and hepatotoxicity of caffeine / M. Gajewska, A. Paini, J. V. Sala Benito [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2015. – Vol. 75. – P. 39-49. – DOI 10.1016/j.fct.2014.10.017.
6. Martín, A. Caffeine: Forms of consumption, toxicity, therapeutic effects and their use in medicine / A. Martín, M. Iturbe, A. Quintano [et al.] // *Caffeine: Consumption, Side Effects and Impact on Performance and Mood*, 2014. – P. 35-88.
7. Tangkuvanich, P. Caffeine clearance study in hepatocellular carcinoma / P. Tangkuvanich, S. Wittayalertpanya, T. Ku-

sonsolboon [et al.] // Journal of the Medical Association of Thailand. – 1999. – Vol. 82, No. 3. – P. 297-303.

8. Falcão, A.C. Population pharmacokinetics of caffeine in premature neonates / A. C. Falcão, M. M. F. De Gatta, M. F. D. Iribarnegaray [et al.] // European Journal of Clinical Pharmacology. – 1997. – Vol. 52, No. 3. – P. 211-217. – DOI 10.1007/s002280050276.

9. Попова, О.С. Фармакокинетические параметры кофеина у лабораторных животных в контексте оценки функционального состояния печени / О. С. Попова, В. С. Пономарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 142-149. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.142.

10. Патент № 2766772 С1 Российская Федерация, МПК G09B 23/28, A61P 1/16. Способ моделирования жировой дистрофии печени с использованием сернокислого стронция: № 2021113112: заявл. 05.05.2021 : опубли. 15.03.2022 / В. С. Пономарев, А. М. Лунегов, В. А. Барышев, К. Ф. Зенков; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины.

11. Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния: учебно-методическое пособие / О. С. Белоновская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – 116 с.

12. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Доступно по: https://rm.coe.int/168007_aba8. Ссылка активна на 27 октября 2023 г.

13. Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Доступно по: <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:007> 9:en:PDF.

Ссылка активна на 27 октября 2023 г.

14. Понятие и значение критерия Стьюдента в клинической медицине / М. А. Полиданов, И. С. Блохин, А. А. Скороход [и др.] // Modern Science. – 2020. – № 2-1. – С. 227-230.

REFERENCES

1. Lebeau, P.F. Caffeine blocks SREBP2-induced hepatic PCSK9 expression to enhance LDLR-mediated cholesterol clearance / P. F. Lebeau, J. H. Byun, K. Platko [et al.] // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13, No. 1. – DOI 10.1038/s41467-022-28240-9.

2. Duthaler, U. Liver Cirrhosis Affects the Pharmacokinetics of the Six Substrates of the Basel Phenotyping Cocktail Differently / U. Duthaler, F. Bachmann, C. Suenderhauf [et al.] // Clinical Pharmacokinetics. – 2022. – Vol. 61, No. 7. – P. 1039-1055. – DOI 10.1007/s40262-022-01119-0.

3. Abduljalil, Kh. Preterm Physiologically Based Pharmacokinetic Model. Part II: Applications of the Model to Predict Drug Pharmacokinetics in the Preterm Population / Kh. Abduljalil, X. Pan, A. Pansari [et al.] // Clinical Pharmacokinetics. – 2020. – Vol. 59, No. 4. – P. 501-518. – DOI 10.1007/s40262-019-00827-4.

4. Nehlig, A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption / A. Nehlig // Pharmacological Reviews. – 2018. – Vol. 70, No. 2. – P. 384-411. – DOI 10.1124/pr.117.014407.

5. Gajewska, M. In vitro-to-in vivo correlation of the skin penetration, liver clearance and hepatotoxicity of caffeine / M. Gajewska, A. Paini, J. V. Sala Benito [et al.] // Food and Chemical Toxicology. – 2015. – Vol. 75. – P. 39-49. – DOI 10.1016/j.fct.2014.10.017.

6. Martín, A. Caffeine: Forms of consumption, toxicity, therapeutic effects and their use in medicine / A. Martín, M. Iturbe, A. Quintano [et al.] // Caffeine: Consumption, Side Effects and Impact on Performance and Mood, 2014. – P. 35-88.

7. Tangkuvanich, P. Caffeine clearance study in hepatocellular carcinoma / P. Tangkuvanich, S. Wittayalertpanya, T. Ku-

- sonsolboon [et al.] // Journal of the Medical Association of Thailand. – 1999. – Vol. 82, No. 3. – P. 297-303.
8. Falcão, A.C. Population pharmacokinetics of caffeine in premature neonates / A. C. Falcão, M. M. F. De Gatta, M. F. D. Iribarnegaray [et al.] // European Journal of Clinical Pharmacology. – 1997. – Vol. 52, No. 3. – P. 211-217. – DOI 10.1007/s002280050276.
9. Popova, O.S. Pharmacokinetic parameters of caffeine in laboratory animals in the context of assessing the functional state of the liver / O. S. Popova, V. S. Ponamarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Veterinary Bulletin. – 2023. – No. 2. – P. 142-149. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.142.
10. Patent No. 2766772 C1 Russian Federation, IPC G09B 23/28, A61P 1/16. Method for modeling fatty liver using strontium sulfate: No. 2021113112: application. 05.05.2021: publ. 03.15.2022 / V. S. Ponamarev, A. M. Lunegov, V. A. Baryshev, K. F. Zenkov; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education St. Petersburg State University of Veterinary Medicine.
11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental or Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Available from: https://rm.coe.int/168007_a6a8. Link active as of October 27, 2023
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available from: https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:007_9:en:PDF. Link active as of October 27, 2023
13. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: educational manual / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. – 116 p.
14. The concept and significance of Student's criterion in clinical medicine / M. A. Polidanov, I. S. Blokhin, A. A. Skorokhod [etc.] // Modern Science. – 2020. – No. 2-1. – pp. 227-230.