

## **Panorama atual do modelo de indução da hepatotoxicidade por paracetamol para estudos de hepatoproteção em ratos: Scoping review**

### **Current overview of the model of induction of hepatotoxicity by paracetamol for studies of hepatoprotection in rats: Scoping review**

DOI:10.34117/bjdv8n2-271

Recebimento dos originais: 07/01/2022

Aceitação para publicação: 01/02/2022

#### **Kelly Costa de Almeida**

Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, LMPB, ISNF, UFF, Brasil  
E-mail: kellycosta@id.uff.br

#### **Priscilla Rodrigues Câmara**

Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa Biomédica, ISNF, UFF  
E-mail: kellycosta@id.uff.br

#### **Roberta Barcelos**

Faculdade de Odontologia – Departamento de Formação Específica, ISNF, UFF  
E-mail: kellycosta@id.uff.br

#### **Andrea Regina de Souza Baptista**

Centro de Investigação de Microrganismos, Instituto Biomédico, Departamento de Microbiologia e Parasitologia UFF, Brasil  
E-mail: kellycosta@id.uff.br

#### **Vinicius D'Ávila Bitencourt Pascoal**

Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, LMPB, ISNF, UFF, Brasil  
E-mail: kellycosta@id.uff.br

#### **Aislan Cristina Rheder Fagundes Pascoal**

Programa de Pós-graduação em Ciências e Biotecnologia, LMPB, ISNF, UFF, Brasil  
E-mail: kellycosta@id.uff.br

### **RESUMO**

Os medicamentos são considerados xenobióticos pelo organismo humano, isto é, moléculas estranhas. O fígado é o grande responsável pelo processo de metabolização, onde os compostos lipossolúveis são transformados em moléculas com características hidrossolúveis, por meio de reações químicas, com a finalidade de facilitar a excreção renal, principalmente. O paracetamol é um anti-inflamatório da classe não esteroide (AINES), utilizado para tratamento de dor e febre e pode ser adquirido sem nenhuma prescrição médica, portanto e extremamente utilizado pela população. Mesmo sendo um medicamento de venda livre, este fármaco apresenta um potencial hepatotóxico, dependente de dose, podendo gerar lesão em hepatócitos. Assim, o modelo de lesão hepática induzida por paracetamol é um dos modelos mais populares para testar potenciais agentes hepatoprotetores. No entanto, existem muitas variações neste modelo e a falta de padronização impacta diretamente no tempo de experimento, quantidade de animais utilizados e elevados custos com insumos e fármacos. A presente revisão teve

como objetivo reunir informações sobre a padronização do modelo de hepatotoxicidade induzidos por paracetamol, assim como os testes confirmatórios utilizados para garantir a obtenção de resultados que permitem a reprodutibilidade. Para isso foram consultadas as bases de busca BVS, Pubmed e Scielo, entre os anos de 2015 a 2020. A pesquisa retornou com 370 artigos que, após a triagem foi reduzida a 114, que permitiram o levantamento de dados de extrema relevância para a padronização do modelo, incluindo as análises necessárias para confirmação do desenvolvimento da hepatotoxicidade.

**Palavras-chave:** Paracetamol, Acetaminofeno, Hepatotoxicidade, Ratos.

## ABSTRACT

Drugs are considered xenobiotics by the human organism, that is, foreign molecules. The liver is the major responsible for the metabolization process, where the fat-soluble compounds are transformed into molecules with water-soluble characteristics, through chemical reactions, in order to facilitate renal excretion, mainly. Paracetamol is a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), used to treat pain and fever, and can be purchased without any prescription, therefore it is extremely used by the population. Even though it is an over-the-counter drug, it has a dose-dependent hepatotoxic potential, and can cause hepatocyte injury. Thus, the paracetamol-induced liver injury model is one of the most popular models for testing potential hepatoprotective agents. However, there are many variations in this model and the lack of standardization directly impacts the time of experimentation, number of animals used, and high costs with inputs and drugs. The present review aimed to gather information about the standardization of the paracetamol-induced hepatotoxicity model, as well as the confirmatory tests used to ensure that results are obtained that allow reproducibility. To this end, the search bases BVS, Pubmed and Scielo were consulted between the years 2015 to 2020. The search returned with 370 articles that, after screening was reduced to 114, which allowed the collection of extremely relevant data for the standardization of the model, including the necessary analyses for confirmation of the development of hepatotoxicity.

**Keywords:** Paracetamol, Acetaminophen, Hepatotoxicity, Rats.

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de ratos em pesquisas biomédicas começou há mais de 160 anos atrás, desde então os modelos animais são considerados como uma importante ferramenta para o progresso da ciência, já que experimentos realizados em animais são úteis para a exploração de doenças humanas e sua causa, prevenção ou cura (IPL, 2021). Mesmo com os avanços dos métodos e técnicas *in vitro*, o estudo em animais pode dar informações sobre o metabolismo que as técnicas *in vitro* não são capazes de contemplar. Assim, apesar de todas as discussões se a extrapolação de dados de estudos de animais são realistas para o humano e a defesa da vida animal, os ensaios pré-clínicos são de extrema importância na ciência atual. Este trabalho visa realizar revisão bibliográfica, objetivando

avaliar e possivelmente padronizar modelo de indução da hepatotoxicidade por paracetamol para estudos de hepatoproteção em ratos.

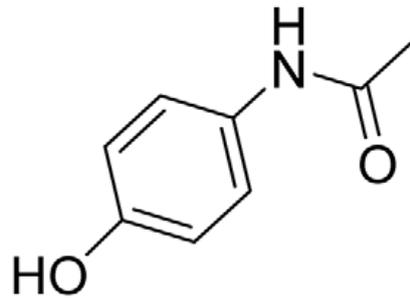
## 2 FÍGADO

O fígado é o segundo maior órgão do corpo humano, também considerado o mais pesado e vascularizado. Em roedores, a capacidade de regeneração do fígado é tão grande que, após a retirada de 75% do órgão, ele é capaz de retornar ao seu tamanho normal em 4 semanas (GARDNER *et al.*, 1998). Trata-se de um órgão de extrema importância para os seres humanos devido às inúmeras funções vitais que desempenha, que são essenciais para a manutenção da homeostasia corporal, com cerca de 25% do débito cardíaco total direcionado para ele. A inflamação do fígado surge a partir de quaisquer agentes exógenos, tais como toxinas ambientais ou a exposição a espécies reativas de oxigênio (EROs) endógenas (LAM *et al.*, 2016). A gravidade da lesão hepática induzida por substâncias químicas oscilam desde pequenas modificações na estrutura e função desse órgão até lesões agudas, cirrose e tumores malignos (GU e MANAUTOU, 2012).

## 3 PARACETAMOL

O paracetamol, também conhecido como acetaminofeno -  $C_8H_9NO_2$  (Figura 1), tem como precursor a fenacetina e foi sintetizado pela primeira vez em 1878 (MORSE, 1878). É um fármaco derivado do p-aminofenol que tem ação analgésica e antipirética, além de uma baixa ação anti-inflamatória (HE *et al.*, 2011). No início, seu uso não foi generalizado, devido a relatos de metahemoglobinemia (JEFFERIES *et al.*, 2012). Contudo essa associação não foi devidamente comprovada e com isso sua comercialização foi iniciada na década de 1950 como uma alternativa mais segura à fenacetina, que demonstrava ser nefrotóxica e potencialmente cancerígena (ANTONI *et al.*, 2014). Atualmente ele é o analgésico mais comumente utilizado no mundo (KEAVENEY *et al.*, 2020).

Figura 1 -Estrutura química do paracetamol



Esse medicamento é amplamente prescrito para pacientes que apresentam dores comuns, podendo ser utilizado em associação com outros fármacos analgésicos no tratamento de diversas patologias (SHEEN *et al.*, 2002). Quando a dor é considerada de moderada à intensa, medicamentos como o tramadol e a morfina são associados ao paracetamol (TITTARELLI *et al.*, 2017). Sendo também o fármaco recomendado em pacientes que possuem úlceras gástricas preexistentes ou fazem o uso de anticoagulantes, já que alguns AINES (anti-inflamatórios não esteroides), como a aspirina, podem potencializar a ação anticoagulante e piorar o quadro de úlceras. Também são raras as exposições tóxicas em neonatos, sendo o fármaco de escolha para crianças abaixo de 6 meses (WALLS *et al.*, 2007).

O paracetamol é encontrado em diversas formas farmacêuticas, como comprimidos, solução oral e supositórios retais. Quando administrado na forma líquida por via oral, seu efeito clínico aparece após 30 minutos. Em comprimidos, a dose pode variar entre 325 mg a 1000 mg. No caso de comprimidos de ação rápida, em 15 minutos já é possível verificar os efeitos do fármaco (JÓŹWIAK-BEBENISTA *et al.*, 2014). O fármaco também pode ser administrado por via intravenosa. Geralmente utilizado em pacientes hospitalizados, na terapia do pós-operatório, pois existem evidências que a sua administração durante a primeira hora de tratamento é mais eficiente na redução da intensidade da dor quando comparado ao que é administrado por via oral, sendo também eficaz na redução da temperatura em casos febris (PASERO *et al.*, 2012).

O corpo humano possui boa tolerância para o paracetamol, contudo devido ao seu metabolismo ser realizado pelo fígado, uma alta dosagem pode ocasionar lesão hepática de grande severidade, embora existam relatos da sua toxicidade desde o início da sua utilização (TITTARELLI *et al.*, 2017).

A insuficiência hepática grave após overdose de paracetamol foi documentada pela primeira vez na Grã-Bretanha em 1966 (DAVIDSON e EASTHAM, 1966). Desde então, houve um aumento constante no número de envenenamentos acidentais ou intencionais por paracetamol em todo o mundo. Acredita-se que a maior causa desses envenenamentos seja a grande quantidade de preparações onde o paracetamol é encontrado e disponibilizado no mercado sem qualquer prescrição. Além disso, existem outros fatores que podem contribuir para um aumento do risco de hepatotoxicidade relacionado à administração de paracetamol em dose terapêutica, como o abuso de álcool, desnutrição, doenças hepáticas subjacentes ou pré-existentes e ingestão concomitante de outras drogas hepatotóxicas (KARWOSKI, 2002).

A dosagem de paracetamol recomendada para adultos pode variar de 325 mg até 1000 mg a cada 4-6 horas, não podendo ser superior a 4000 mg por dia (McEVOY, 2007). Em crianças, a dose recomendada é de 10-15 mg / kg a cada 4-6 horas até uma dose diária máxima de 50-75 mg / kg (LANCASTER *et al.*, 2015).

O excesso do uso de paracetamol é a principal causa de envenenamento agudo nos Estados Unidos e representam cerca de 39% de todos os casos de lesão hepática aguda (NOWAK e DZIELSKA-OLCZAK, 2012). Além disso, ele é quase que exclusivamente, a causa de transplante de fígado relacionada a uma hepatotoxicidade aguda, desenvolvida após o uso de medicamentos. Estima-se que países como França, Grécia, Irlanda, Itália, Holanda, Portugal e Reino Unido tenham uma média de seis milhões de casos de hepatotoxicidade causada pelo paracetamol por ano (NOWAK, 2012). Esse número chega a ser 8 vezes inferior aos que são registrados pelos EUA. A identificação de overdose de paracetamol é crítica e muitos indivíduos intoxicados têm apenas sintomas mínimos e inespecíficos que podem ser confundidos com quadro viral. Esses sintomas incluem mal-estar, náusea com ou sem vômito e dores abdominais. Uma vez detectada precocemente, a comorbidade e mortalidade podem ser evitadas e tratadas (JÓŹWIAK-BEBENISTA *et al.*, 2014).

A injúria hepática ocorre dentro das primeiras 24 horas após a overdose, alcançando seu pico máximo em 3 a 4 dias. Há um aumento nos níveis sorológicos de alanina aminotransferase (TGP) e aspartato transaminase (TGO), hiperbilirrubinemia e alguns pacientes podem desenvolver nefrotoxicidade, além da hepatotoxicidade (REID *et al.*, 2005). Os sinais de mal prognóstico incluem falência de múltiplos órgãos, que pode envolver edema cerebral, falha renal, hipoglicemia profunda, entre outros (McGILL e JAESCHKE, 2013).

#### 4 SILIMARINA

A *Silybum marianum* é uma planta nativa da região mediterrânea e pertence à família Asteraceae. Na década de 1960, cientistas alemães iniciaram a investigação do possível potencial hepatoprotetor dessa planta. O conjunto de compostos ativos (flavolignanas) que foram capazes de proteger o fígado de danos foi denominado silimarina. Desde então ela tem sido amplamente utilizada como um medicamento eficaz na proteção contra doenças hepáticas agudas e crônicas (ABDULRAZZAQ *et al.*, 2019). Sua capacidade protetora está relacionada a diferentes mecanismos, como a supressão da penetração de toxinas nas células hepáticas, aumentando a atividade de superóxido dismutase e o nível de glutathione, inibindo a peroxidação lipídica e aumentando a hepatoproteção. Essa propriedade antioxidante está relacionada a presença de flavonoides e outros compostos fenólicos (ABDULRAZZAQ *et al.*, 2019).

#### 5 MODELO EXPERIMENTAL DE HEPATOTOXICIDADE

O modelo animal de indução da hepatotoxicidade é amplamente utilizado para avaliação de substâncias com potenciais hepatoprotetores. A indução pode ser realizada quimicamente (tetracloreto de carbono, paracetamol, tioacetamida) ou por procedimentos cirúrgicos como hepatectomia e cirurgias para desvascularização hepática (NEWSOME *et al.*, 2000).

Embora novos modelos *in vitro* de lesão hepática tenham sido introduzidos, eles carecem de fatores importantes como um sistema imunológico completo e comunicação cruzada com outros órgãos (MCGILL e JAESCHKE, 2019). Um dos maiores desafios da indução experimental é o conhecimento insuficiente dos mecanismos que a impulsionam. Sem o conhecimento dos mecanismos, é difícil desenvolver maneiras de predizê-lo e evitá-lo. Para entender as causas, precisamos de modelos de pesquisa que possam reproduzi-las (MCGILL e JAESCHKE, 2019).

Terblanche e Hickman, (1991), em estudo clássico, descreveram seis pré-requisitos de um modelo animal de insuficiência hepática. São eles: reversibilidade, reprodutibilidade, morte por falência hepática, janela terapêutica, modelos de grandes animais e risco mínimo às pessoas envolvidas na pesquisa. A reversibilidade leva em conta o fato de que a insuficiência hepática em humanos é potencialmente reversível e, portanto, o tratamento efetivo pode aumentar a sobrevivência. Reprodutibilidade é um objetivo requerido para padronizar o modelo animal. A morte por falência hepática deve refletir o padrão clínico humano do curso de eventos após o dano e a morte deve ser

diretamente relacionada ao dano hepático. A janela terapêutica é o tempo decorrente entre o dano hepático e a morte, que deve ser suficiente para permitir o tratamento e a observação dos seus efeitos. Modelos de grandes animais, embora sejam preferíveis, são menos utilizados que modelos murinos pela sua praticidade. Finalmente, o risco mínimo às pessoas envolvidas na pesquisa envolve a proteção ao pessoal do laboratório (RAHMAN e HODGSON, 2000; FILIPPONI e MOSCA, 2001).

Os primeiros estudos envolveram várias espécies, incluindo ratos, porquinhos da índia (BOXILL *et al.*, 1958; BOYD e BERECHKY 1966), gatos (EDER, 1964) e hamsters (POTTER *et al.*, 1974). No entanto, avaliação dos dados da literatura demonstram que os murinos são o melhor modelo disponível (MCGILL e JAESCHKE, 2019). Além do mais, as doses de paracetamol que causam toxicidade em ratos e humanos são semelhantes. Ambas as espécies desenvolvem lesões com doses  $\geq 150$  mg / kg, enquanto as outras espécies testadas são muito mais resistentes ou muito mais suscetíveis (BOXIL *et al.*, 1958; EDER, 1964; MCGILL *et al.*, 2012). Outro dado importante é o fato é a semelhança dos mecanismos de toxicidade em ratos e humanos (JAESCHKE *et al.*, 2014). Há fortes evidências de depleção de glutathione (MCGILL *et al.*, 2011; XIE *et al.*, 2014), ligação a proteínas (XIE *et al.*, 2014), dano mitocondrial, estresse oxidativo e fragmentação de DNA (MCGILL *et al.*, 2011), tanto em humanos quanto em ratos (MCGILL *et al.*, 2011; XIE *et al.*, 2014; XIE *et al.*, 2015). Uma pequena diferença entre humanos e ratos é a evolução temporal da lesão hepática, pois a hepatotoxicidade se desenvolve um pouco mais rápido em ratos, com pico em torno de 12-24 horas em comparação com 24-72 horas em humanos (MCGILL *et al.*, 2012).

Embora seja um modelo amplamente utilizado e com boa reprodução da hepatotoxicidade que ocorre em humanos, na literatura existe uma variação muito grande da metodologia aplicada e poucas informações sobre as etapas do modelo. Este misto de variação metodológica juntamente com a escassez de informação, aumenta consideravelmente o tempo de experimento e o número de animais utilizados na experimentação, uma vez que podem ocorrer falhas na indução e como consequência a necessidade de repetição do modelo.

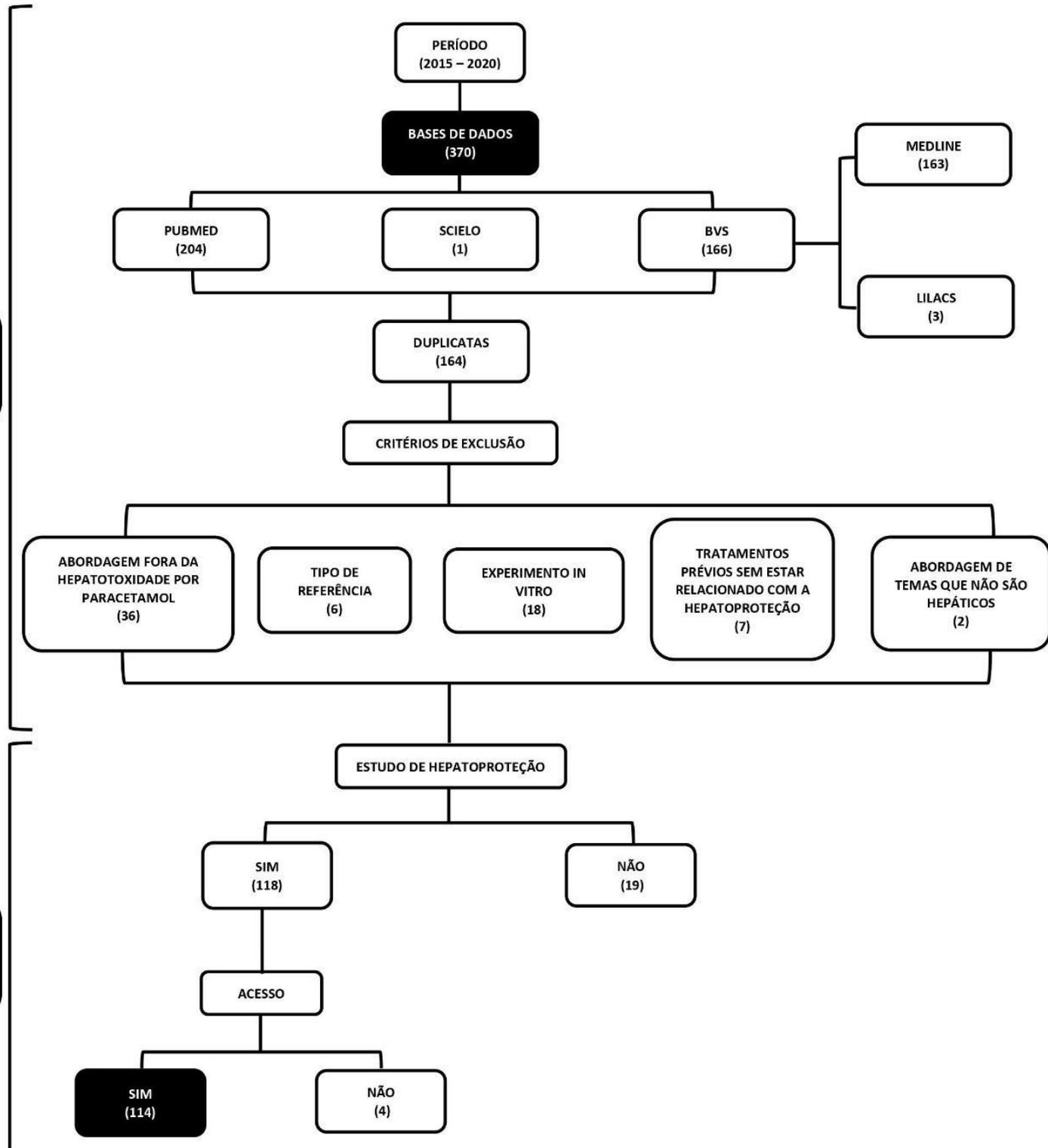
O objetivo deste trabalho foi realizar o levantamento dos artigos publicados entre 2015 e 2020 que utilizaram o modelo animal de indução da hepatotoxicidade por paracetamol associado à pesquisa que utilizam substância como potenciais hepatoprotetores. Acredita-se que as informações irão auxiliar novos trabalhos que

possuem o interesse em desenvolver o modelo citado, gerando otimização de tempo, custo e número de animais utilizados.

## 6 MATERIAL E MÉTODOS

As bases de pesquisa selecionadas para o levantamento dos dados foi o Pubmed, Lilacs (Via Biblioteca Virtual de Saúde), Scielo. Foram utilizados termos livres e temas MESHs como paracetamol, acetaminofeno, hepatotoxicidade, ratos. A chave de primeira base utilizada foi “(paracetamol **OU** acetaminofeno) **E** hepatotoxicidade **E** ratos”. Posteriormente foi realizada a remoção de duplicatas e a seguir feita a primeira seleção buscando modelos *in vivo* utilizando ratos. **Os critérios de inclusão considerados foram:** a utilização de acetaminofeno ou paracetamol na indução da hepatotoxicidade em modelo *in vivo* utilizando ratos. **Os critérios de exclusão foram:** definidos como a abordagem fora do tópico de hepatotoxicidade pelo paracetamol e o tipo de referência, já que foram excluídos cartas, revisões, opiniões, biografias e experimentos *in vitro*, tratamentos prévios concomitantes para a indução, que não sejam voltados para hepatoproteção ou foco em outros eixos sistêmicos sem ser o hepático (Figura 2). Uma segunda triagem mais detalhada foi realizada e os trabalhos que não possuíam como eixo principal a hepatoproteção foram excluídos. Os artigos que passaram pela triagem inicial foram revisados na íntegra.

Figura 2: Fluxograma das etapas de seleção dos artigos para análise. Após o resgate dos artigos nas plataformas de busca utilizando os termos MESHs, foi realizada a primeira seleção aplicando os critérios de exclusão. Após essa triagem, na segunda seleção os artigos selecionados foram avaliados de acordo com o tema de hepatoproteção.



## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

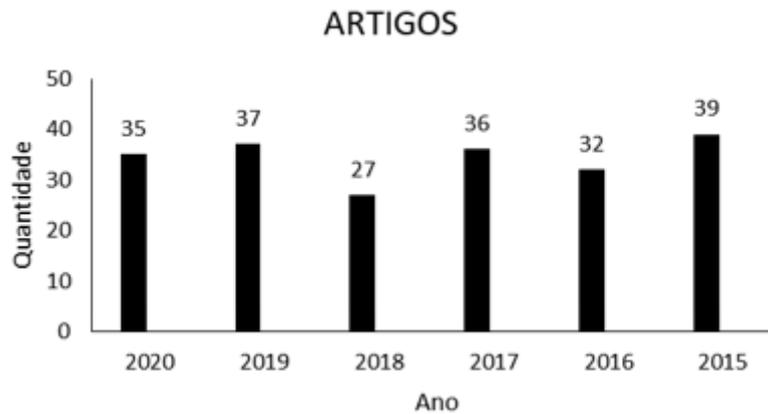
As doenças hepáticas estão entre as principais ameaças à saúde pública, e são um problema mundial (ADEWUSI *et al.*, 2010). As medicações disponíveis para o tratamento, na maioria das vezes, causam efeitos colaterais pelo seu uso. Diante disso, se faz necessário identificar medicamentos alternativos para o tratamento dessas doenças, com o objetivo de alcançar a eficácia sem desenvolver toxicidade (MADRIGAL-SANTILLÁN *et al.*, 2013). As plantas são extensamente utilizadas nos tratamentos de diversas patologias, isso se deve ao fato de possuírem substâncias que são biologicamente ativas, que despertam o interesse de diversos autores sobre os possíveis potenciais como anti-inflamatório, analgésicos, antipiréticos, sedativo, cardioprotetores, antibacterianos, antivirais e anticancerosas (OLALEYE *et al.*, 2006), sendo a ação hepatoprotetora, uma área a ser explorada.

## 8 SELEÇÃO DE ARTIGOS

A pesquisa utilizando os termos (paracetamol **ou** acetaminofeno) e hepatotoxicidade e ratos, entre os anos 2015 e 2020, retornou com um total de 371 artigos, sendo 204 pelo Pubmed, 166 Biblioteca Virtual de Saúde (163 da Medline e 3 Lilacs) e 1 Scielo. Foram encontradas 164 duplicatas, restando 206 trabalhos. Após a realização da primeira triagem, considerando os critérios de inclusão e exclusão, restaram 137 trabalhos. Uma segunda triagem foi feita para análise da abordagem do tema de hepatoproteção, os artigos foram revisados e 118 foram enquadrados nesse tema. No entanto não foi possível acesso a 4. Diante do exposto, no final 114 artigos foram utilizados para análise mais detalhada e levantamento de dados (Figura 2).

Ao analisar a distribuição das publicações no intervalo de anos selecionados, foi possível observar uma constante no número de publicações, com média de 34 artigos anuais, conforme gráfico abaixo (Figura 3).

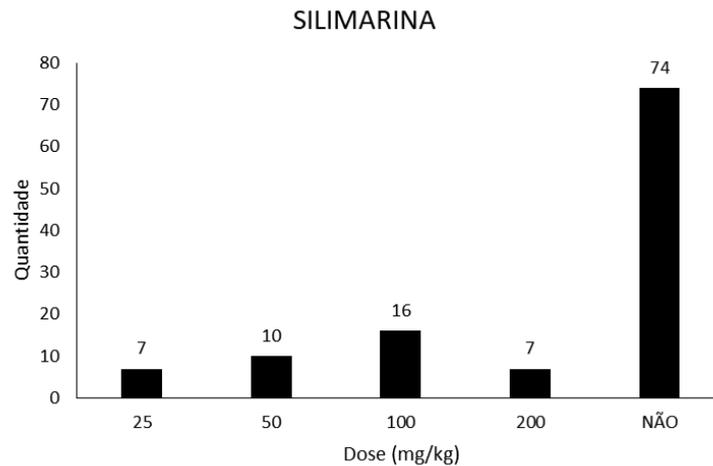
Figura 3: Quantidade de artigos relacionados a hepatotoxicidade por paracetamol com foco em hepatoproteção entre os anos de 2015 e 2020.



## 9 SILIMARINA

Em virtude do grande número de estudos que demonstraram sua atividade hepatoprotetora, a silimarina é utilizada como hepatoprotetor de referência em estudos avaliação de possível efeito hepatoprotetor de novos produtos naturais. No entanto, nesta seleção, apenas 40 artigos utilizaram a silimarina como controle, destes 16 administraram na apresentação de 100 mg/kg como Mahaldar e colaboradores (2020) e Zargar e colaboradores (2018). Os demais trabalhos utilizaram nas concentrações de 25 mg/kg. Independente da dose, quando utilizada nos modelos, a silimarina é administrada da mesma maneira que a substância testada e os resultados obtidos dos grupos são equiparados. O uso da silimarina é de grande importância, pois permite que o pesquisador avalie a reversibilidade da hepatotoxicidade, respeitando um dos critérios definidos por Terblanche e Hickman (1991) para a obtenção de um bom modelo. Mesmo diante das contribuições do uso da silimarina, ficou claro que diferente do que era esperado, a maioria dos trabalhos optaram por não utilizá-la, levando em consideração apenas os resultados do grupo experimental e paracetamol (DÖNMEZ *et al.*, 2015; KO *et al.*, 2017; SOHAIL *et al.*, 2019; HUSSAIN *et al.*, 2020).

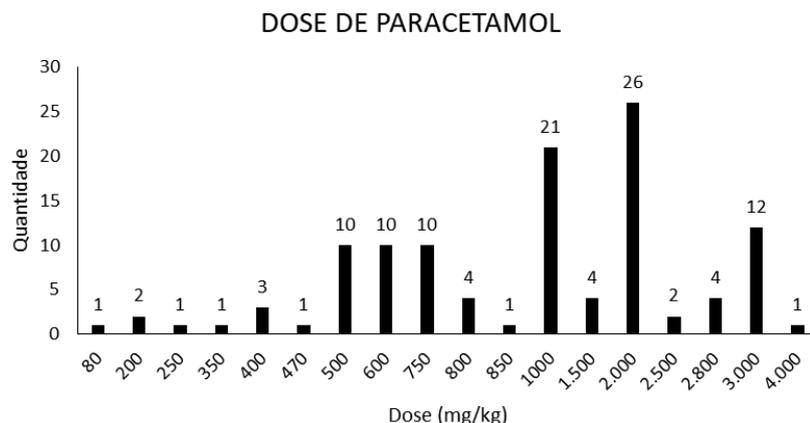
Figura 4: Quantidade artigos que utilizaram a silimarina como hepatoprotetor de referência ou não, associadas às doses utilizadas pelos autores.



## 10 DOSE E PREPARO DO PARACETAMOL

O modelo de indução de hepatotoxicidade apresenta diversas versões na literatura, principalmente em relação à dose administrada e ao método de indução. O primeiro modelo de hepatotoxicidade por paracetamol foi realizado em 1976 por Miller e colaboradores, a indução foi feita em porcos e cães, nesses estudos foram utilizadas doses que variaram de 1.000 mg até 4.000 mg/kg. Desde então observou-se a execução do modelo com doses que variaram de 80 mg/kg (PINGILI *et al.*, 2019) até 7.000 mg/kg (SHARIFUDIN *et al.*, 2013). Nesta revisão, foram encontradas 18 variações da dose de paracetamol. A dose mínima foi também de 80 mg/kg e a máxima de 4.000 mg/kg (KO *et al.*, 2017). A dose mais utilizada pelos autores foi a de 2.000 mg/kg, representando 26 trabalhos no total de 114, seguido de 1.000 g/kg (21 trabalhos), o gráfico abaixo permite visualizar melhor a distribuição das doses encontradas (Figura 5). A metodologia de indução também foi muito diversificada, desde doses únicas (ELBE *et al.*, 2018) até indução contínua por dias (ZARGAR *et al.*, 2018).

Figura 5: Doses de paracetamol utilizadas nos artigos selecionados entre 2015 e 2020 com as respectivas quantidades de publicações.



O preparo do paracetamol influencia diretamente na administração da dose. Afinal a solução preparada precisa ter aspecto homogêneo e de fácil manuseio, impedindo que ocorra alguma intercorrência na administração. Além disso, o paracetamol precisa ser preparado em solvente que não interfira na resposta da hepatotoxicidade e é recomendado que tenha um grupo controle apenas com esse solvente para a avaliação da possível interferência do mesmo, seja ele DMSO (dimetilsulfóxido) (ADAM *et al.*, 2016), solução salina (HUSSAIN *et al.*, 2020) ou água (CHELLAPPAN *et al.*, 2016). No entanto, essa dissolução é complexa, visto que a solubilidade do paracetamol é de 12,75 g/L (20 °C) (GRANBERG *et al.*, 1999). Por esse motivo é extremamente importante que seja descrito o preparo do paracetamol para a administração. Contudo, somente 13 artigos citaram essa etapa da indução, representando aproximadamente 11% do total selecionado. Reshi e colaboradores (2017) dissolveram o paracetamol em água quente na proporção de 2 g em 5 ml, enquanto outros autores optaram por preparar a suspensão com solução salina aquecida a 70°C com aplicação a 37°C (RAŠKOVIĆ *et al.*, 2019).). Alguns autores utilizam outras substâncias químicas para auxiliar na dissolução do paracetamol como polietilenoglicol (50/50, v/v) (YAO *et al.*, 2019), 1% de Tween-80 (ZAKY *et al.*, 2018) ou propilenoglicol (MAHMOUD *et al.*, 2016), nenhum desses trabalhos citou a realização de um grupo controle utilizando apenas essas substâncias. A dissolução é um fator limitante para o sucesso dos experimentos, já que limita a quantidade de composto que será absorvido pelo organismo. Sabe-se que a substância deve estar dissolvida em meio aquoso para ser absorvida pelo trato gastrointestinal, fator limitante nos modelos que utilizam a via oral para indução.

## 11 VIA DE ADMINISTRAÇÃO

A via de administração compreende a forma como o medicamento entrará em contato com o organismo para exercer. Embora existam diversas vias de administração, nos trabalhos selecionados para esta revisão a via oral e intraperitoneal foram as únicas citadas. Dos estudos, 18 utilizaram a via peritoneal (NAZARI *et al.*, 2015; MEHRA *et al.*, 2016; ELBE *et al.*, 2018). Essa via de administração é fácil de realizar em animais de laboratório e garante uma maior absorção que a via oral. Porém, para tratamentos crônicos, onde é realizada múltiplas aplicações, podem impactar negativamente os animais, devido ao estresse da manipulação e administração. Há também uma preocupação com a extrapolação destes dados para o humano, já que a via de administração mais usada pelo paracetamol é oral. Uma das vantagens da via peritoneal é a possibilidade de administração de grandes volumes de solução (até 10 ml / kg) podem ser administrados com segurança a roedores por essa via (MORTON *et al.*, 2001). A principal desvantagem dessa via é que ela é minimamente utilizada na clínica. Por isso, seu uso em estudos experimentais é frequentemente questionado e desencorajado (AL SHOYAIB *et al.*, 2019).

A maioria dos trabalhos avaliados optou pelo uso da via oral, exatamente 92 artigos. Geralmente por essa via, a substância é introduzida na cavidade oral ou no aparelho digestório por meio de um tubo esofágico, estomacal, mais comumente uma agulha de gavage. O volume máximo para roedores é de 1mL de solução para cada 100g de peso corporal. Caso a administração for de solução aquosa, o volume pode ser de até 2mL para cada 100g de peso corporal. Deve-se lembrar que os roedores ingerem alimento e água muitas vezes ao dia, e por isso dificilmente estão com o estômago vazio (MORTON *et al.*, 2001). A distensão máxima do estômago se dá no final do período escuro, em contrapartida à quantidade mínima no final do período claro. Nesse sentido, pequenos volumes devem ser administrados no início do período claro (fase de repouso) (MORTON *et al.*, 2001). Devido a isso, alguns autores preferem deixar o animal em jejum antes da administração (MAHMOUD *et al.*, 2016). Por possuir fraca acidez e solubilidade em lipídeos, o paracetamol é rapidamente absorvido pelo intestino após a administração de uma dose oral.

## 12 LINHAGEM, IDADE DOS ANIMAIS E GRUPOS

Nos trabalhos selecionados, foram utilizadas duas linhagens de ratos, a Sprague Dawley e a Wistar. Ambas são linhagens heterogêneas de ratos albinos. A linhagem

Sprague Dawley embora seja caracterizada pelo seu comportamento dócil, rápido ganho de peso e seja uma linhagem descendente da Wistar, foi utilizada em apenas 38 artigos, entre eles El Morsy e colaboradores (2015) e Zakaria e colaboradores (2020). Já a linhagem Wistar foi utilizada em 76 artigos (RESHI *et al.*, 2017; AHMAD *et al.*, 2020). Essa linhagem é uma das mais utilizadas ao redor do mundo, devido ao seu pequeno porte, ciclo biológico curto, baixo custo de criação e grau de similaridade genética com seres humanos (MATTARAIA e MOURA, 2012). Aproximadamente, 80% de seu DNA é idêntico ao do homem (Rat Genome Sequencing Project Consortium, 2004). Isso permite que se extrapole os resultados científicos obtidos em ratos na estimativa de potenciais efeitos de dado tratamento em seres humanos (MATTARAIA e MOURA, 2012). Independente da linhagem escolhida, no total apenas 9 trabalhos utilizaram fêmeas (KOCA-CALISKAN *et al.*, 2018). Acredita-se que há clara preferência por ratos machos para a realização de pesquisas, no intuito de evitar as variações fisiológicas inerentes às fases do ciclo estral. Os pesquisadores apoiam-se no fato de que as variações nos níveis dos hormônios gonadais influenciam funções não relacionadas com a reprodução, interferindo, assim, nos resultados dos experimentos (MATTARAIA e MOURA, 2012).

A idade dos animais utilizados apresentou grande heterogeneidade, quando informados nos artigos. Os pesos variaram de 100 a 120 gramas (EASSAWY *et al.*, 2020) até 300 a 350 gramas (ELBE *et al.*, 2018). As variações intragrupo mais constante foi de 50 gramas, como 150 a 200 gramas (SOHAIL *et al.*, 2019), 200 a 250 gramas (DÖNMEZ *et al.*, 2015) e 250 a 300 gramas (İÇER *et al.*, 2016), foi possível afirmar que animais utilizados eram adultos jovens.

A linhagem Wistar por ser heterogênea, pode apresentar variações intragrupo dificultando a análise estatística dos resultados. Essa informação é de extrema importância ao decidir o “n” amostral. Nos trabalhos citados, os grupos variaram de 5 animais (ALAM *et al.*, 2017) até 23 por grupo (AHMAD *et al.*, 2019). Contudo, 60 trabalhos optaram por manter grupos com 6 animais (RATHEE *et al.*, 2018). A definição do total de animais no experimento é extremamente importante, visando o uso consciente na experimentação animal e as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea).

### **13 DESENHO EXPERIMENTAL**

O desenho experimental para a indução da hepatotoxicidade por paracetamol pode apresentar muitas variáveis. Ao analisar os artigos selecionados, essas variáveis foram

identificadas como o momento de administração do paracetamol (antes, depois ou concomitante com o tratamento), tempo de eutanásia e duração do experimento.

Em relação ao momento de administração, 79 trabalhos optaram por administrar o paracetamol após o tratamento (NAZARI *et al.*, 2015; EBADA *et al.*, 2018; ZAKARIA *et al.*, 2019). Apenas 12 trabalhos optaram por fornecer paracetamol antes do tratamento (MEHRA *et al.*, 2016). Acredita-se que a grande quantidade de administração do paracetamol após o tratamento seja justificado devido ao foco dos trabalhos na busca de possíveis hepatoprotetores.

Sabe-se que a intoxicação pelo paracetamol se apresenta em 3 estágios que são bem definidos. Nas primeiras 24 horas da intoxicação o paciente apresenta-se sem sintomas ou apenas com leve mal-estar. As 24-72 horas o paciente ainda segue assintomático ou com sintomas leve parecidos com os do primeiro estágio podendo ocorrer também dor no hipocôndrio direito. No período de três a cinco dias é onde ocorrem sintomas bem característicos da hepatotoxicidade, que poderá levar a falência hepática aguda (LOPES, 2012). Diante dessas informações, observou-se que 82 dos artigos selecionados realizaram eutanásia para avaliação da indução 24 horas após a administração do paracetamol (KANDEMIR *et al.*, 2017). Alguns autores, para melhor avaliação da resposta da indução, optaram por não realizar a eutanásia de todos os animais no mesmo tempo. Baleni e colaboradores (2015) realizaram eutanásia 24, 48 e 72 horas após a administração de paracetamol. Henrique da Silva e colaboradores (2015) utilizaram grupos de eutanásias em 24 e 72 horas, enquanto Dadkhah e colaboradores eutanasiaram os animais nos tempos de 2, 4, 8, 16 e 24 horas.

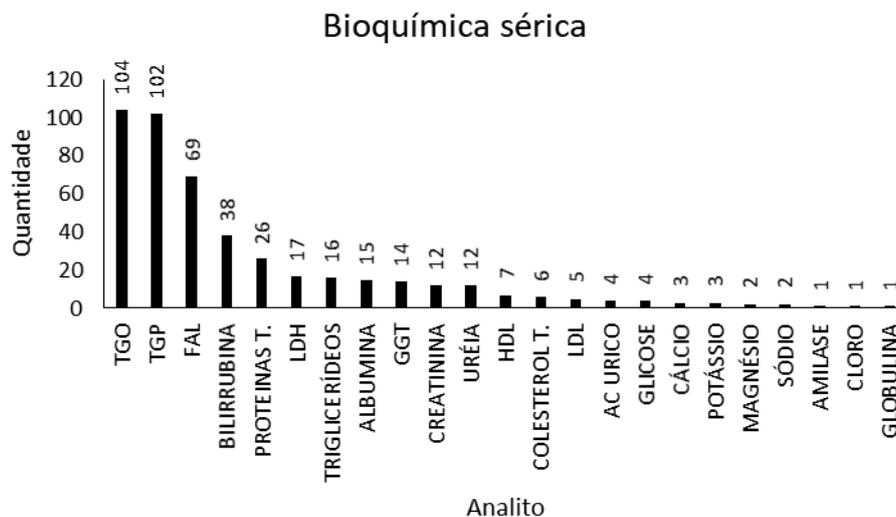
Para melhor entendimento dos tempos de duração dos experimentos, após avaliação dos trabalhos, foi realizada uma triagem dos experimentos que duraram de 0 a 6 dias (ELBE *et al.*, 2018), 7 a 10 dias (NAZARI *et al.*, 2015) e acima de 10 dias (ONUOHA *et al.*, 2017). Os trabalhos apresentaram tempos distintos em relação à duração dos experimentos, desde tratamentos únicos com eutanásia 24 horas após (AZIM *et al.*, 2017) até 30 dias de tratamento (AL-DOAISS *et al.*, 2020). Não foi possível identificar uma possível tendência pelo tempo de realização da eutanásia.

## 14 BIOQUÍMICA SÉRICA

Na hepatotoxicidade induzida pelo paracetamol é observado o aumento nas taxas dos marcadores hepáticos séricos (transaminase glutâmico pirúvica - TGP, transaminase glutâmico oxalacética - TGO, fosfatase alcalina, gama gt) e outros analitos (EASSAWY

*et al.*, 2020). Esse aumento, indica extravasamento celular e perda da integridade funcional da membrana da célula hepática (POOLE e LESLIE, 1989), com consequente liberação dessas enzimas na corrente sanguínea (AMACHER, 1998). As taxas séricas são amplamente utilizadas no diagnóstico da indução da hepatotoxicidade e esse padrão de diagnóstico foi realizado em todos artigos selecionados nessa revisão. No total, foram citados 23 analitos bioquímicos, detalhados no gráfico abaixo (Figura 6).

Figura 6: Detalhamento dos analitos de bioquímica sérica quantificados nos artigos selecionados e as quantidades totais citadas.



Aproximadamente 90% dos artigos selecionados citaram as dosagens de TGO e TGP. Alguns autores, no entanto, optaram por não realizar a dosagem de transaminases como Rathee e colaboradores (2018) e Abdeen e colaboradores (2019), utilizando outros analitos para comprovação da hepatotoxicidade como a fostatase e bilirrubina, embora as mesmas não apresentem especificidade para esse diagnóstico. Contudo, 28 trabalhos utilizaram exclusivamente apenas a dosagem de transaminases como dado confirmatório para o estudo de possível hepatoproteção (YAO *et al.*, 2015; AHMAD *et al.*, 2016; EL-BAKRY *et al.*, 2017; TSUCHIYA *et al.*, 2018; NEAG *et al.*, 2020). Dos marcadores laboratoriais séricos utilizados no diagnóstico da lesão hepática, as transaminases, especialmente alanina aminotransferase (TGP), foram os indicadores mais universalmente importantes para estudos que vão desde os primeiros testes pré-clínicos em animais ao monitoramento pós-comercialização do paciente (AMACHER, 1998). A TGP é altamente específica para o fígado, considerando que a TGO também está localizada no coração, cérebro, rim, e músculo esquelético, tornando esta enzima menos

específica para lesão hepática (REJ,1978). As atividades das aminotransferases séricas estão aumentadas em todos os tipos de lesão hepática, mas fornecem apenas uma estimativa da quantidade de danos recentes e sem indicação da capacidade funcional residual (TYGSTRUP, 1990). O grau de aumento não se correlaciona bem com a extensão de lesão hepática ou prognóstico (KAPLAN,1993). Um declínio das concentrações de atividade no soro geralmente indica recuperação, mas em lesão fulminante pode ser um sinal de mau prognóstico, refletindo uma grande perda de hepatócitos funcionais (REJ,1978; KAPLAN,1993).

A fosfatase alcalina foi descrita como parâmetro bioquímico em 69 artigos do total de 114 selecionados. Embora exista uma vasta utilização desse parâmetro, a sua especificidade para o fígado não é tão eficaz quando comparado com as transaminases, pois ela está aumentada em várias outras condições (particularmente doenças ósseas, surtos de crescimento ou gravidez (FRIEDMAN *et al.*,1996). A fosfatase alcalina é encontrada no fígado, ossos, leucócitos, rins e placenta (primeiro trimestre). Suas taxas estão elevadas na maioria dos tipos de lesão hepática. Os ácidos biliares são responsáveis por esse aumento, pois induzem a sua síntese e exercem um efeito detergente na membrana canalicular, permitindo o extravasamento no soro (KAPLAN,1993). Aumentos de leve a moderado (menos de três vezes) não são específicos para o tipo de lesão hepática (BRENSILVER e KAPLAN, 1975). Em contraste com TGO e TGP, o nível sérico de fosfatase está relacionado à função da célula hepática ao invés de sua integridade (ABDULKHALEQ *et al.*, 2018). Em alguns trabalhos a fosfatase não apresentou diferença estatística significativa após a indução (HENRIQUE *et al.*, 2015), enquanto em outros a sua elevação acompanhou as transaminases (EMAD *et al.*,2020).

A gama GT está localizada em uma variedade de tecidos, incluindo o coração, cérebro, rim, pâncreas, baço e as células do ducto biliar do fígado (FRIEDMAN *et al.*,1996). Concentrações séricas correlacionam-se bem com a fosfatase alcalina (HENRIQUE *et al.*, 2015; AZIM *et al.*, 2017). O seu uso primordial está na exclusão de doença óssea como causa do aumento da fosfatase alcalina sérica, uma condição que não afeta as concentrações de gama (LUM e GAMBINO,1972). A gama GT é razoavelmente específica para o fígado, além de ser um marcador mais sensível para lesões colestatísticas que a fosfatase, por esse motivo pode estar elevada até mesmo em pequenos níveis subclínicos de disfunção hepática (STURGILL e LAMBERT, 1997). Esse analito foi citado em apenas 14 trabalhos (HENRIQUE *et al.*, 2015; AZIM *et al.*, 2017).

Além de várias funções normais, o fígado excreta o produto da decomposição da hemoglobina, a bilirrubina, na bile. A sua concentração tem sido usada para avaliar a lesão hepática induzida quimicamente (SASIDHARAN, *et al.*, 2010). Como descrito anteriormente, as taxas elevadas de TGO e TGP após a administração de paracetamol é uma indicação de lesão hepática, que é responsável pelo vazamento de enzimas celulares para o sangue (AHMAD *et al.*, 2020). A bilirrubina, por outro lado, é produzida pela quebra enzimática do grupo heme no sistema reticuloendotelial (CENTER, 2007). Embora seja um parâmetro importante e um bom marcador para avaliar o funcionamento do fígado, ela não é muito eficaz na determinação da extensão da lesão hepatocelular (SASIDHARAN *et al.*, 2010). Sabe-se que o dano causado pelo paracetamol no parênquima hepático, causa elevações consideráveis nas taxas de bilirrubinas em situações crônicas e não em lesões agudas (SASIDHARAN, *et al.*, 2010). A bilirrubina foi dosada em 39 artigos Em todos ela estava associada a outras dosagens, não sendo parâmetro exclusivo de diagnóstico (ALAM *et al.*, 2017).

Embora o maior foco das pesquisas relacionadas a esse fármaco seja a hepatotoxicidade, a nefrotoxicidade (e como consequência a insuficiência renal) também ocorre em cerca de 1-2% dos doentes com uma overdose de paracetamol, sendo mais comum em crianças e adolescentes. (MAZER e PERRONE, 2008). É possível o desenvolvimento da toxicidade renal sem ocorrer hepatotoxicidade, o que nos leva a acreditar que são necessárias doses menores de paracetamol para induzir a nefrotoxicidade. Dentre tantas funções, os rins são capazes de eliminar substâncias tóxicas para o organismo do corpo (SINGH *et al.*, 2014). A ureia e creatinina são considerados preditores importantes, confiáveis e bem descritos na literatura para a investigação de nefrotoxicidade induzida por drogas em animais e no homem (AHMAD *et al.*, 2012). A ureia elevada pode causar distúrbios funcionais por exceder a taxa de depuração, enquanto que a creatinina elevada indica distúrbio na função do néfron (SRINIVASAN *et al.*, 2014). Geralmente os autores optam por dosar ambas devido a sua correlação e altas taxas são detectadas após a administração do paracetamol (PINGILI *et al.*, 2019).

## 15 ESTRESSE OXIDATIVO

A hepatotoxicidade desencadeada pelo paracetamol dá origem ao estresse oxidativo. Este estresse induz distúrbios hepáticos devido à oxidação das biomoléculas, como carboidratos, proteínas e DNA (BANDEIRA, *et al.*, 2017). Diante disso, muitos

autores optam por realizar dosagens de enzimas que estão envolvidas no estresse oxidativo, como o malondialdeído (MDA), a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathiona peroxidase (GPX) e a glutathiona reduzida (GSH), pois o aumento das taxas indica o estabelecimento da hepatotoxicidade. No total, 106 trabalhos realizaram dosagens dessas enzimas juntamente associados às análises séricas e/ou histopatológicas. No entanto Yao e colaboradores (2019) optaram por realizar apenas os testes de estresse oxidativo, sem as demais análises confirmatórias.

Os trabalhos que obtiveram sucesso na indução da hepatotoxicidade apresentaram elevação das taxas das enzimas do estresse oxidativo, entre eles Ebada e colaboradores (2018), El Morsy e colaboradores 2015, Onuoha e colaboradores (2017). Não necessariamente são realizadas as análises de todas as enzimas citadas, alguns autores dosam apenas GSH, SOD e CAT (RESHI *et al.*, 2017), outros dosam SOD, CAT e MDA (ZAKARIA *et al.*, 2020), enquanto alguns realizam um painel mais completo com dosagens de GPx, SOD, CAT e MDA (SALEM *et al.*, 2018).

## 16 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

A análise histopatológica dos grupos foi realizada em 91 trabalhos, representando aproximadamente 90% do total de artigos selecionados. No entanto, nenhum autor utilizou a histopatologia como padrão de diagnóstico isolado. As análises foram sempre associadas às respostas das dosagens séricas dos analitos bioquímicos e de estresse oxidativo. A necrose foi identificada com frequência nos fígados dos grupos que receberam paracetamol. Ebada e colaboradores (2018) relataram degeneração maciça e necrose de hepatócitos, congestão da veia central, hemorragia e infiltração de inespecíficas células inflamatórias entre hepatócitos. El Morsy e colaboradores (2015) identificaram necrose centrolobular nos hepatócitos ao redor da região central veias em todo o parênquima hepático. Alguns autores relatam ainda hiperplasia de células de Kupffer, alargamento dos sinusóides hepáticos, algumas células mononucleares, numerosas células binucleadas na zona centrolobular foram detectados. Dilatação dos sinusóides hepáticos (EASSAWY *et al.*, 2020).

Com os resultados alcançados, conclui-se que a maioria dos autores optaram por realizar a indução em ratos adultos jovens machos da linhagem Wistar, com administração oral do fármaco em dose de 2.000 mg/kg. Foram formados grupos de 6 animais e após a indução a eutanásia foi realizada 24 horas após a administração de paracetamol. Para constatação da hepatotoxicidade foram realizadas dosagens séricas de

transaminases e quantificação de estresse oxidativo, além da realização da análise histopatológica do fígado (Tabela 1).

Tabela 1: Principais critérios adotados para avaliação da instalação do modelo de hepatotoxicidade por paracetamol em ratos.

	Sim	Não
SILIMARINA	40	74
	100 MG/KG	OUTRAS DOSES
	16	24
VIA DE ADMINISTRAÇÃO	Oral	Peritoneal
	96	18
LINHAGEM	Wistar	Sprague dawley
	76	38
ADMNISTRAÇÃO PARACETAMOL	Antes	Concomitante ou depois do tratamento
	12	102
TEMPO DE EUTANÁSIA	Até 24h após indução	Acima de 24h
	82	32
ANALITOS BIOQUÍMICOS MAIS UTILIZADOS	Sim	Não
TGO	104	10
TGP	102	12
FOSFATASE	69	45

## 17 CONCLUSÃO

A análise dos artigos selecionados permitiu constatar que o modelo de indução da hepatotoxicidade por paracetamol em ratos, apresenta muitas versões que alcançam e todas alcançam o objetivo final dos experimentos, que é a instalação da lesão hepática nos animais. Além de tudo, foi possível destacar diversas ferramentas que auxiliam na comprovação da hepatotoxicidade possivelmente instalada. Mesmo diante de inúmeras variantes do modelo, as informações obtidas permitiram a construção de uma padronização do modelo de indução de hepatotoxicidade por paracetamol, favorecendo a realização de futuros experimentos que buscam a avaliação de possíveis hepatoprotetores com a utilização do modelo animal de indução.

## REFERÊNCIAS

Abdulkhaleq, f. M.; alhussainy, t. M.; badr, m. M.; khalil, a. A. A. *Et al.* Antioxidative stress effects of vitamins c, e, and b(12), and their combination can protect the liver against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Drug design, development and therapy*, 12, p. 3525-3533, 2018.

Abdulrazzaq, a. M.; badr, m.; gammoh, o.; abu khalil, a. A. *Et al.* Hepatoprotective actions of ascorbic acid, alpha lipoic acid and silymarin or their combination against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Medicina (kaunas, lithuania)*, 55, n. 5, 2019.

Adam, g. O.; rahman, m. M.; lee, s.-j.; kim, g.-b. *Et al.* Hepatoprotective effects of nigella sativa seed extract against acetaminophen-induced oxidative stress. *Asian pacific journal of tropical medicine*, 9, n. 3, p. 221-227, 2016.

Ahmad, g.; masoodi, m. H.; tabassum, n.; mir, s. A. *Et al.* In vivo hepatoprotective potential of extracts obtained from floral spikes of *prunella vulgaris* L. *Journal of ayurveda and integrative medicine*, 11, n. 4, p. 502-507, 2020.

Ahmad, m. M.; rezk, n. A.; fawzy, a.; sabry, m. Protective effects of curcumin and silymarin against paracetamol induced hepatotoxicity in adult male albino rats. *Gene*, 712, p. 143966-143966, 2019.

Ahmad, n.; tahir, m.; lone, k. P. Amelioration of acetaminophen induced hepatotoxicity by methanolic extract of pomegranate peels in rats. *Jpma. The journal of the pakistan medical association*, 66, n. 7, p. 859-863, 2016.

Ahmad, s. T.; arjumand, w.; nafees, s.; seth, a. *Et al.* Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Toxicology letters*, 208, n. 2, p. 149-161, 2012.

Al shoyaib, a.; archie, s. R.; karamyan, v. T. Intraperitoneal route of drug administration: should it be used in experimental animal studies? *Pharmaceutical research*, 37, n. 1, p. 12-12, 2019.

Alam, j.; mujahid, m.; badruddeen; jahan, y. *Et al.* Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *aquilaria agallocha* leaves against paracetamol induced hepatotoxicity in sd rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7, n. 1, p. 9-13, 2017.

Al-doaiss, a. A. Hepatotoxicity-induced by the therapeutic dose of acetaminophen and the ameliorative effect of oral co-administration of selenium/*tribulus terrestris* extract in rats tt - hepatotoxicidad inducida por la dosis terapéutica de acetaminofén y el efecto de me. *Int. J. Morphol*, 38, n. 5, p. 1444-1454, 2020.

Amacher, d. E. Serum transaminase elevations as indicators of hepatic injury following the administration of drugs. *Regulatory toxicology and pharmacology* : rtp, 27, n. 2, p. 119-130, 1998.

Antoni, s.; soerjomataram, i.; moore, s.; ferlay, j. *Et al.* The ban on phenacetin is associated with changes in the incidence trends of upper-urinary tract cancers in australia. Australian and new zealand journal of public health, 38, n. 5, p. 455-458, 2014.

Azim, s. A. A.; abdelrahem, m. T.; said, m. M.; khattab, a. Protective effect of moringa peregrina leaves extract on acetaminophen -induced liver toxicity in albino rats. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : ajtcam, 14, n. 2, p. 206-216, 2017.

Baleni, r.; bekker, z.; walubo, a.; du plessis, j. B. Co-administration of fresh grape fruit juice (gfj) and bergamottin prevented paracetamol induced hepatotoxicity after paracetamol overdose in rats. Toxicology reports, 2, p. 677-684, 2015.

Bandeira, a. C. B.; da silva, t. P.; de araujo, g. R.; araujo, c. M. *Et al.* Lycopene inhibits reactive oxygen species production in sk-hep-1 cells and attenuates acetaminophen-induced liver injury in c57bl/6 mice. Chemico-biological interactions, 263, p. 7-17, 2017.

Boxill, g. C.; nash, c. B.; wheeler, a. G. Comparative pharmacological and toxicological evaluation of n-acetyl-p- aminophenol, salicylamide, and acetylsalicylic acid. Journal of the american pharmaceutical association. American pharmaceutical association, 47, n. 7, p. 479-487, 1958.

Boyd, e. M.; bereczky, g. M. Liver necrosis from paracetamol. British journal of pharmacology and chemotherapy, 26, n. 3, p. 606-614, 1966.

Brensilver, h. L.; kaplan, m. M. Significance of elevated liver alkaline phosphatase in serum. Gastroenterology, 68, n. 6, p. 1556-1562, 1975.

Center, s. A. Interpretation of liver enzymes. The veterinary clinics of north america. Small animal practice, 37, n. 2, p. 297-333, vii, 2007.

Chellappan, d. K.; ganasen, s.; batumalai, s.; candasamy, m. *Et al.* The protective action of the aqueous extract of auricularia polytricha in paracetamol induced hepatotoxicity in rats. Recent patents on drug delivery & formulation, 10, n. 1, p. 72-76, 2016.

Dadkhah, a.; fatemi, f.; alipour, m.; ghaderi, z. *Et al.* Protective effects of iranian achillea wilhelmsii essential oil on acetaminophen-induced oxidative stress in rat liver. Pharmaceutical biology, 53, n. 2, p. 220-227, 2015.

Davidson, d. G.; eastham, w. N. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. British medical journal, 2, n. 5512, p. 497-499, 1966.

Dönmez, m.; uysal, b.; poyrazoğlu, y.; öztas, y. E. R. *Et al.* Parp inhibition prevents acetaminophen-induced liver injury and increases survival rate in rats. Turkish journal of medical sciences, 45, n. 1, p. 18-26, 2015.

Eassawy, m. M. T.; salem, a. A.; ismail, a. F. M. Biochemical study on the protective effect of curcumin on acetaminophen and gamma-irradiation induced hepatic toxicity in rats. *Environmental toxicology*, 2020.

Eder, h. Chronic toxicity studies on phenacetin, n-acetyl-p-aminophenol (napa) and acetylsalicylic acid on cats. *Acta pharmacologica et toxicologica*, 21, p. 197-204, 1964.

El morsy, e. M.; kamel, r. Protective effect of artichoke leaf extract against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaceutical biology*, 53, n. 2, p. 167-173, 2015.

El-bakry, h. A.; el-sherif, g.; rostrom, r. M. Therapeutic dose of green tea extract provokes liver damage and exacerbates paracetamol-induced hepatotoxicity in rats through oxidative stress and caspase 3-dependent apoptosis. *Biomedicine & pharmacotherapy = biomedecine & pharmacotherapie*, 96, p. 798-811, 2017.

Elbe, h.; gul, m.; cetin, a.; taslidere, e. *Et al.* Resveratrol reduces light and electron microscopic changes in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats: role of inos expression. *Ultrastructural pathology*, 42, n. 1, p. 39-48, 2018.

Emad, a. M.; ali, s. F.; abdel-rahman, e. A.; meselhy, m. R. *Et al.* Anti-inflammatory and antioxidant effects of apium graveolens l. Extracts mitigate against fatal acetaminophen-induced acute liver toxicity. *Journal of food biochemistry*, p. E13399-e13399, 2020.

Emad, a. M.; ali, s. F.; abdel-rahman, e. A.; meselhy, m. R. *Et al.* Anti-inflammatory and antioxidant effects of apium graveolens l. Extracts mitigate against fatal acetaminophen-induced acute liver toxicity. *Journal of food biochemistry*, p. E13399-e13399, 2020.

Filipponi, f.; mosca, f. Animal models of fulminant hepatic failure: need to test liver support devices. *Digestive and liver disease : official journal of the italian society of gastroenterology and the italian association for the study of the liver*, 33, n. 7, p. 607-613, 2001.

Friedman ls, martin p, munoz sj. Liver function tests and the objective evaluation of the patient with liver disease. In: zakin d, boyer td, eds. *Hepatology: a textbook of liver disease*, 3rd ed. Philadelphia: wb saunders. P. 791–833, 1996.

Gardner e, gray dj, o' rahilly r. *Anatomia: estudo regional do corpo humano*. 4<sup>a</sup> ed. Rio de janeiro: guanabara koogan, 1998.

Gu, x.; manautou, j. E. Molecular mechanisms underlying chemical liver injury. *Expert reviews in molecular medicine*, 14, p. E4-e4, 2012.

Henrique da silva, g.; barros, p. P.; silva gonçaves, g. M.; landi, m. A. Hepatoprotective effect of lycopodium clavatum 30ch on experimental model of paracetamol-induced liver damage in rats. *Homeopathy: the journal of the faculty of homeopathy*, 104, n. 1, p. 29-35, 2015.

İçer, m.; zengin, y.; gunduz, e.; dursun, r. *Et al.* Is montelukast as effective as n-acetylcysteine in hepatic injury due to acetaminophen intoxication in rats? *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the gesellschaft fur toxikologische pathologie*, 68, n. 1, p. 55-59, 2016.

Lexis keaveney, ellen peters, baldwin way, effects of acetaminophen on risk taking, social cognitive and affective neuroscience , 15, n.7, p. 725–732, 2020

Ipl, advantages and disadvantages of animal experimentation, 2021| ipl.org acesso em 15 de abril de 2021.

Jaeschke, h.; xie, y.; mcgill, m. R. Acetaminophen-induced liver injury: from animal models to humans. *Journal of clinical and translational hepatology*, 2, n. 3, p. 153-161, 2014.

Jefferies, s.; saxena, m.; young, p. Paracetamol in critical illness: a review. *Critical care and resuscitation : journal of the australasian academy of critical care medicine*, 14, n. 1, p. 74-80, 2012.

Jozwiak-bebenista, m.; nowak, j. Z. Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta poloniae pharmaceutica*, 71, n. 1, p. 11-23, 2014.

Kandemir, f. M.; kukukler, s.; eldutar, e.; caglayan, c. *Et al.* Chrysin protects rat kidney from paracetamol-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy: a multi-biomarker approach. *Scientia pharmaceutica*, 85, n. 1, 2017.

Kaplan mm. Laboratory tests. In: schiff l, schiff er, eds. *Diseases of the liver*, 7th ed. Philadelphia: jb lippincott. P. 108–44, 1993.

Karwoski cb. Briefing document: acetaminophen containing products and hepatotoxicity. Division of drug risk evaluation, 2002.

Ko, j.-w.; park, s.-h.; shin, n.-r.; shin, j.-y. *Et al.* Protective effect and mechanism of action of diallyl disulfide against acetaminophen-induced acute hepatotoxicity. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the british industrial biological research association*, 109, n. Pt 1, p. 28-37, 2017.

Koca-caliskan, u.; yilmaz, i.; taslidere, a.; yalcin, f. N. *Et al.* *Cuscuta arvensis* beyr "dodder": in vivo hepatoprotective effects against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of medicinal food*, 21, n. 6, p. 625-631, 2018a.

Lam, s. D., dawson, n. L., das, s., sillitoe, i., ashford, p., lee, d., lehtinen, S., orengo, c. A. And lees, j. G. *Nucleic acids res.* N. 44, p. D404–d409, 2016.

Lancaster, e. M.; hiatt, j. R.; zarrinpar, a. Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review. *Archives of toxicology*, 89, n. 2, p. 193-199, 2015.

Lopes j,matheus me. Risco de hepatotoxicidade do paracetamol (acetaminofem). P. 412-413, 2012

Lum, g.; gambino, s. R. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity as an indicator of disease of liver, pancreas, or bone. *Clinical chemistry*, 18, n. 4, p. 358-362, 1972.

Madrigal-santillán, eduardo and madrigal-bujaidar, eduardo and cruz, sandra and del, maría and valadez-vega, carmen and maría, teresa and sumaya-martínez, karla and pérez-ávila, josé and morales-gonzález, josé. The chemoprevention of chronic degenerative disease through dietary antioxidants. Progress, promise and evidences. 2013.

Mahaldar, k.; hossain, a.; islam, f.; islam, s. *Et al.* Antioxidant and hepatoprotective activity of piper retrofractum against paracetamol-induced hepatotoxicity in sprague-dawley rat. *Natural product research*, 34, n. 22, p. 3219-3225, 2020.

Mahmoud, y. I.; mahmoud, a. A. Role of nicotinamide (vitamin b3) in acetaminophen-induced changes in rat liver: nicotinamide effect in acetaminophen-damaged liver. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the gesellschaft fur toxikologische pathologie*, 68, n. 6, p. 345-354, 2016.

Mattaraia, vania and moura, ana. Produtividade de ratos wistar em diferentes sistemas de acasalamento. *Ciência rural*. N. 42, p. 1490-1496, 2012.

Mazer, m.; perrone, j. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Journal of medical toxicology : official journal of the american college of medical toxicology*, 4, n. 1, p. 2-6, 2008.

Mcevoy gk, american society of health-system pharmacists. *Ahfs drug information*, 2007.

Mcgill mr, jaeschke h. Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharm res*. N. 30(9), p. 2174-2187, 2013.

Mcgill, m. R.; jaeschke, h. Animal models of drug-induced liver injury. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1865, n. 5, p. 1031-1039, 2019.

Mcgill, m. R.; sharpe, m. R.; williams, c. D.; taha, m. *Et al.* The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear dna fragmentation. *The journal of clinical investigation*, 122, n. 4, p. 1574-1583, 2012.

Mcgill, m. R.; yan, h.-m.; ramachandran, a.; murray, g. J. *Et al.* Heparin cells: a human model to study mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity. *Hepatology (baltimore, md.)*, 53, n. 3, p. 974-982, 2011.

Mehra, l.; hasija, y.; mittal, g. Therapeutic potential of alpha-ketoglutarate against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 8, n. 4, p. 296-299, 2016.

Miller, d. J.; hickman, r.; fratter, r.; terblanche, j. *Et al.* An animal model of fulminant hepatic failure: a feasibility study. *Gastroenterology*, 71, n. 1, p. 109-113, 1976.

Morse, h.n. ueber eine neue darstellungsmethode der acetylamidophenole. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, n. 11, p.232-233, 1878.

Morton, d. B.; jennings, m.; buckwell, a.; ewbank, r. *Et al.* Refining procedures for the administration of substances. Report of the bvaawf/frame/rspca/ufaw joint working group on refinement. British veterinary association animal welfare foundation/fund for the replacement of animals in medical experiments/royal society for the prevention of cruelty to animals/universities federation for animal welfare. *Laboratory animals*, 35, n. 1, p. 1-41, 2001.

Nazari, a.; fanaei, h.; dehpour, a. R.; hassanzadeh, g. *Et al.* Chemical composition and hepatoprotective activity of ethanolic root extract of taraxacum syriacum boiss against acetaminophen intoxication in rats. *Bratislavske lekarske listy*, 116, n. 1, p. 41-46, 2015.

Neag, m. A.; catinean, a.; muntean, d. M.; pop, m. R. *Et al.* Probiotic bacillus spores protect against acetaminophen induced acute liver injury in rats. *Nutrients*, 12, n. 3, 2020.

Newsome, p. N.; plevis, j. N.; nelson, l. J.; hayes, p. C. Animal models of fulminant hepatic failure: a critical evaluation. *Liver transplantation : official publication of the american association for the study of liver diseases and the international liver transplantation society*, 6, n. 1, p. 21-31, 2000.

Nowak j.z., dzielska-olczak m.. *Pulse of medicine (polish)*, educational issue. 2012.

Olaleye, m. T., o. O. Adegboye and a. Akindahunsi. Alchornea cordifolia extract protects wistar albino rats against acetaminophen-induced liver damage. *African journal of biotechnology*. N. 5, p. 2439-2445, 2006.

Onuoha, n. O.; ogbusua, n. O.; okorie, a. N.; ejike, c. E. C. C. Tigernut ( cyperus esculentus l.) "milk" as a potent "nutri-drink" for the prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity in a murine model. *J intercult ethnopharmacol*, 6, n. 3, p. 290-295, 2017a.

Pasero c, stannard d. The role of intravenous acetaminophen in acute pain management: a case-illustrated review. *Pain manag nurs*. N.13(2), p. 107-124, 2012.

Pingili, r. B.; pawar, a. K.; challa, s. R. Effect of chrysin on the formation of n-acetyl-p-benzoquinoneimine, a toxic metabolite of paracetamol in rats and isolated rat hepatocytes. *Chemico-biological interactions*, 302, p. 123-134, 2019.

Poole a, leslie gb. *A practical approach to toxicological investigations*. Cambridge: cambridge university press; 1st ed., p. 65-66, 1989.

Potter, w. Z.; thorgeirsson, s. S.; jollow, d. J.; mitchell, j. R. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. V. Correlation of hepatic necrosis, covalent binding and glutathione depletion in hamsters. *Pharmacology*, 12, n. 3, p. 129-143, 1974.

Rahman, t. M.; hodgson, h. J. Animal models of acute hepatic failure. *International journal of experimental pathology*, 81, n. 2, p. 145-157, 2000.

Rathee, d.; kamboj, a.; sachdev, r. K.; sidhu, s. Hepatoprotective effect of aegle marmelos augmented with piperine co-administration in paracetamol model. *Revista brasileira de farmacognosia*, 28, n. 1, p. 65-72, 2018.

Reid, a. B.; kurten, r. C.; mccullough, s. S.; brock, r. W. *Et al.* Mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of oxidative stress and mitochondrial permeability transition in freshly isolated mouse hepatocytes. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 312, n. 2, p. 509-516, 2005.

Rej, r. Aspartate aminotransferase activity and isoenzyme proportions in human liver tissues. *Clinical chemistry*, 24, n. 11, p. 1971-1979, 1978.

Reshi, m. S.; uthra, c.; yadav, d.; sharma, s. *Et al.* Silver nanoparticles protect acetaminophen induced acute hepatotoxicity: a biochemical and histopathological approach. *Regulatory toxicology and pharmacology* : rtp, 90, p. 36-41, 2017.

Salem, g. A.; shaban, a.; diab, h. A.; elsaghayer, w. A. *Et al.* Phoenix dactylifera protects against oxidative stress and hepatic injury induced by paracetamol intoxication in rats. *Biomedicine & pharmacotherapy = biomedecine & pharmacotherapie*, 104, p. 366-374, 2018.

Sasidharan, s.; aravindran, s.; latha, l. Y.; vijenth, r. *Et al.* In vitro antioxidant activity and hepatoprotective effects of lentinula edodes against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Molecules (basel, switzerland)*, 15, n. 6, p. 4478-4489, 2010.

Sharifudin, s. A., fakurazi, s., hidayat, m. T., hairuszah, i., moklas, m. A. M., arulselvan, p. Therapeutic potential of moringa oleifera extracts against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaceutical biology*. N. 51(3), p. 279-288, 2013.

Sheen, c. L.; dillon, j. F.; bateman, d. N.; simpson, k. J. *Et al.* Paracetamol-related deaths in scotland, 1994-2000. *British journal of clinical pharmacology*, 54, n. 4, p. 430-432, 2002.

Singh r.k., gautam r.k., karchuli m.s. nephrotoxicity: an overview. *J. Biomed. Pharm. Res.* N. 3, p.41-47, 2014.

Sohail, n.; hira, k.; tariq, a.; sultana, v. *Et al.* Marine macro-algae attenuates nephrotoxicity and hepatotoxicity induced by cisplatin and acetaminophen in rats. *Environmental science and pollution research international*, 26, n. 24, p. 25301-25311, 2019.

Srinivasan, v.; panneerselvam, r., gunasekaran, s., subramani, palani. Ethanolic extract of melia azadirachta against acetaminophen induced nephrotoxicity. International journal of pharmtech research. N. 6, p. 70-79, 2014.

Sturgill, m. G.; lambert, g. H. Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function. Clinical chemistry, 43, n. 8 pt 2, p. 1512-1526, 1997.

Terblanche, j.; hickman, r. Animal models of fulminant hepatic failure. Digestive diseases and sciences, 36, n. 6, p. 770-774, 1991.

Tittarelli, r.; pellegrini, m.; scarpellini, m. G.; marinelli, e. *Et al.* Hepatotoxicity of paracetamol and related fatalities. European review for medical and pharmacological sciences, 21, n. 1 suppl, p. 95-101, 2017.

Tsuchiya, y.; sakai, h.; hirata, a.; yanai, t. Brazilian green propolis suppresses acetaminophen-induced hepatocellular necrosis by modulating inflammation-related factors in rats. Journal of toxicologic pathology, 31, n. 4, p. 275-282, 2018.

Tygstrup, n. Assessment of liver function: principles and practice. Journal of gastroenterology and hepatology, 5, n. 4, p. 468-482, 1990.

Walls, l.; baker, c. F.; sarkar, s. Acetaminophen-induced hepatic failure with encephalopathy in a newborn. Journal of perinatology : official journal of the california perinatal association, 27, n. 2, p. 133-135, 2007.

Xie, y.; mcgill, m. R.; dorko, k.; kumer, s. C. *Et al.* Mechanisms of acetaminophen-induced cell death in primary human hepatocytes. Toxicology and applied pharmacology, 279, n. 3, p. 266-274, 2014.

Xie, y.; mcgill, m. R.; du, k.; dorko, k. *Et al.* Mitochondrial protein adducts formation and mitochondrial dysfunction during n-acetyl-m-aminophenol (amap)-induced hepatotoxicity in primary human hepatocytes. Toxicology and applied pharmacology, 289, n. 2, p. 213-222, 2015.

Yao, h.-t.; li, c.-c.; chang, c.-h. Epigallocatechin-3-gallate reduces hepatic oxidative stress and lowers cyp-mediated bioactivation and toxicity of acetaminophen in rats. Nutrients, 11, n. 8, 2019.

Yao, h.-t.; yang, y.-c.; chang, c.-h.; yang, h.-t. *Et al.* Protective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate against acetaminophen-induced liver injury in rats). Biomedicine, 5, n. 3, p. 15-15, 2015.

Zakaria, z. A.; kamisan, f. H.; kek, t. L.; salleh, m. Z. Hepatoprotective and antioxidant activities of dicranopteris linearis leaf extract against paracetamol-induced liver intoxication in rats. Pharmaceutical biology, 58, n. 1, p. 478-489, 2020.

Zakaria, z. A.; kamisan, f. H.; mohd nasir, n.; teh, l. K. *Et al.* Aqueous partition of methanolic extract of dicranopteris linearis leaves protects against liver damage induced by paracetamol. Nutrients, 11, n. 12, 2019.

Zaky, h. S.; gad, a. M.; nemr, e.; hassan, w. *Et al.* Modulatory effects of some natural products on hepatotoxicity induced by combination of sodium valproate and paracetamol in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, p. E22162-e22162, 2018.

Zargar, o. A.; bashir, r.; ganie, s. A.; masood, a. *Et al.* Hepatoprotective potential of *elsholtzia densa* against acute and chronic models of liver damage in wistar rats. *Drug research*, 68, n. 10, p. 567-575, 2018.