

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ
ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АЦЕТАМИНОФЕНА**

Зудова А. И. ^{1, 2},
Зильбер К. Ю. ²,
Мишури́н Я. В. ²,
Апанович С. В. ³,
Соломатина Л. В. ¹

¹ ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Российская Федерация.

² ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация.

³ ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Российская Федерация.

**EXPERIMENTAL MODEL OF SYSTEMIC INFLAMMATION DURING
ACETAMINOPHEN TOXICITY**

Zudova A. I. ^{a, b},
Zilber K. Yu. ^b,
Mishurin I. V. ^b,
Apanovich S. V. ^c,
Solomatina L. V. ^b

^a Institute of Immunology and Physiology UB RAS, Yekaterinburg, Russian Federation.

^b FSBI HPB «USMU» MOH Russia.

^c Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "UrFU named after the first President of Russia B.N. Yeltsin".

Резюме

Введение. Ацетаминофен (парацетамол) — одно из наиболее распространенных анальгезирующих и антипиретических средств, из-за чего часто возникают передозировки данным препаратом, связанные с острой гепатотоксичностью и последующим развитием системного воспаления, ухудшающим прогноз для пациента. При этом системное воспаление характеризуется системной активацией иммунной системы. Однако по данным литературы еще недостаточно изучен вклад разных типов иммунных клеток в патогенез отравления ацетаминофеном, что и определило цель данной работы. **Цель работы** - оценить изменения количества клеток, экспрессирующих CD3⁺, CD20⁺, CD45⁺ в тканях органов мышей линии C57Bl/6 при остром отравлении ацетаминофеном. **Материалы и методы.** Исследование было выполнено на половозрелых мышах-самцах линии C57Bl/6. Возраст животных на момент начала эксперимента составлял 10 недель. Мыши были разделены на 2 группы по 7 мышей в каждой. В экспериментальную группу входили животные, которым вводили раствор ацетаминофена (Sigma-Aldrich, США) в дозе 600 мг/кг в концентрации 14 мг/мл. Контрольной группе вводили эквивалентный объем физиологического раствора. Животных выводили из эксперимента через 24 часа, проводя изъятие внутренних органов (печени, почек, поджелудочной железы, легких, сердца). Для проведения иммуногистохимического исследования на CD3⁺, CD20⁺, CD45⁺ были использованы первичные кроличьи антитела компаний Sigma-Aldrich (США, C7930), Thermo Fisher Scientific (США, PA5–16701), Abcam (Великобритания, ab281586) с разведением дилуэнт (Leica Microsystems, Германия). Вторичные антитела были взяты компании Thermo Fisher Scientific (США, 31820). Анализ окрашенных срезов проводили на световом микроскопе Leica DM2500 (Leica Microsystems, Германия) с видеокамерой Leica DFC420 (Leica Microsystems, Германия). Статистический анализ данных осуществляли с применением программного обеспечения Statistica v.10 (Statsoft, США).

Результаты. При оценке содержания CD20⁺ клеток в тканях органов мышей

C57Bl/6 наблюдали единичные клетки в поле зрения. Статистически значимых различий при этом по U-критерию Манна-Уитни выявлено не было, что говорит об отсутствии вклада В-лимфоцитов в патогенез отравления ацетаминофеном в первые 24 часа. Было определено статистически значимое снижение количества $CD3^{+}$ клеток в ткани сердца. Через 24 часа после введения токсиканта отмечается увеличение количества $CD45^{+}$ экспрессирующих иммунных клеток в печени, преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофилов. **Выводы.** Таким образом, в первые сутки после острого отравления ацетаминофеном у экспериментальных животных не отмечается значимого изменения $CD3^{+}$ и $CD20^{+}$ экспрессирующих клеток в тканях. При этом происходит увеличение содержания иммунных клеток в ткани печени, преимущественно за счет нейтрофилов.

Ключевые слова: Ацетаминофен, парацетамол, отравление, иммунные клетки, иммунология, лимфоциты.

Abstract

Introduction. Acetaminophen (paracetamol) is one of the most common analgesic and antipyretic agents, which is why overdoses with this drug often occur, associated with acute hepatotoxicity and systemic inflammation, worsening the prognosis for the patient. In this case, systemic inflammation is characterised by systemic activation of the immune system. However, the contribution of different types of immune cells to the pathogenesis of acetaminophen poisoning has not been sufficiently studied which determined the purpose of this work. **The aim of this work** was to evaluate changes in the number of cells expressing CD3⁺, CD20⁺, CD45⁺ in organ of C57Bl/6 mice during acute acetaminophen poisoning. **Materials and methods.** The study was performed on sexually mature male C57Bl/6 mice. The mice were divided into 2 groups of 7 mice in each group. The experimental group included animals administered acetaminophen solution (Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 600 mg/kg at a concentration of 14 mg/ml. An equivalent volume of physiological solution was administered to the control group. The animals were taken out of the experiment after 24 hours and internal organs were removed. Primary rabbit antibodies from Sigma-Aldrich (C7930), Thermo Fisher Scientific (PA5-16701), Abcam (ab281586) were used for immunohistochemical study for CD3⁺, CD20⁺, CD45⁺. Secondary antibodies were taken from Thermo Fisher Scientific (31820). **Results.** When assessing the content of CD20⁺ cells in organ tissues of C57Bl/6 mice, single cells in the field of view were observed. Statistically significant differences were not revealed by Mann-Whitney U-criterion, which indicates the absence of B-lymphocytes contribution to the pathogenesis of acetaminophen poisoning in the first 24 hours. A statistically significant decrease in the number of CD3⁺ cells in heart tissue was determined. 24 hours after the toxicant administration, an increase in the number of CD45⁺ expressing immune cells in the liver, mainly due to segmented neutrophils, was noted. **Conclusions.** Thus, in the first day after acute acetaminophen poisoning in experimental animals there is no significant change of CD3⁺ and CD20⁺ expressing cells in tissues. At the same time

there is an increase in the content of immune cells to the liver tissue, mainly due to neutrophils.

Keywords: Acetaminophen, paracetamol, poisoning, immune cells, immunology, lymphocytes.

1 Введение

Ацетаминофен (парацетамол) — одно из наиболее распространенных анальгезирующих и антипиретических средств, который входит в состав более 200 лекарственных препаратов, отпускаемых без рецепта [2]. Из-за такого обширного использования часто возникают передозировки данным препаратом, связанные с острой гепатотоксичностью и последующим развитием системного воспаления, ухудшающим прогноз для пациента.

Системное воспаление – это патологический процесс, развивающийся при системном повреждении и характеризующийся тотальной воспалительной реактивностью эндотелиоцитов, плазменных и клеточных факторов крови, соединительной ткани, а на заключительных этапах и микроциркуляторными расстройствами в жизненно важных органах и тканях [5]. При этом системное воспаление характеризуется системной активацией иммунной системы. Однако по данным литературы еще недостаточно изучен вклад разных типов иммунных клеток в патогенез отравления ацетаминофеном, что и определило цель данной работы.

Цель исследования – оценить изменения количества клеток, экспрессирующих $CD3^+$, $CD20^+$, $CD45^+$ в тканях органов мышей линии C57Bl/6 при остром отравлении ацетаминофеном.

Материалы и методы.

Исследование было выполнено на половозрелых мышах-самцах линии C57Bl/6. Возраст животных на момент начала эксперимента составлял 10 недель. Все манипуляции с животными были произведены в виварии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской Академии Наук (ИИФ УрО РАН). Организация исследования была одобрена этическим комитетом ФГБУН ИИФ УрО РАН, протокол № 04/22 от 18 ноября 2022 г.

Мыши были разделены на 2 группы по 7 мышей в каждой. В экспериментальную группу входили животные, которым вводили раствор ацетаминофена (Sigma-Aldrich, США) в дозе 600 мг/кг в концентрации 14

31 мг/мл. Выбор дозировки препарата был обусловлен ранее проведенными
32 исследованиями [1]. Контрольной группе вводили эквивалентный объём
33 физиологического раствора.

34 Животных выводили из эксперимента через 24 часа с изофлурановым
35 наркозом (Laboratories Karizoo, Испания), проводя изъятие внутренних
36 органов (печени, почек, поджелудочной железы, легких, сердца). Далее
37 производили фиксацию органов в 10% нейтральном формалине с дальнейшей
38 стандартной гистологической проводкой в автоматизированном тканевом
39 процессоре Leica TP 1020 (Leica Microsystems, Германия). После чего
40 проводили заливку кусочков органов в парафин и изготавливали
41 гистологические срезы толщиной 2-3 мкм.

42 Для проведения иммуногистохимического исследования на CD3⁺,
43 CD20⁺, CD45⁺ были использованы первичные кроличьи антитела компаний
44 Sigma-Aldrich (США, С7930), Thermo Fisher Scientific (США, PA5 – 16701),
45 Abcam (Великобритания, ab281586) с разведением дилуэнт (Leica
46 Microsystems, Германия) в соотношении 1:500, 1:100, 1:2000 соответственно.
47 Вторичные антитела были взяты компании Thermo Fisher Scientific (США,
48 31820) в разведении 1:1000.

49 Анализ окрашенных срезов проводили на световом микроскопе Leica
50 DM2500 (Leica Microsystems, Германия) с видеокамерой Leica DFC420 (Leica
51 Microsystems, Германия). Статистический анализ данных осуществляли с
52 применением программного обеспечения Statistica v.10 (Statsoft, США).

53 **Результаты исследований и обсуждение результатов.**

54 При оценке содержания CD20⁺ клеток в тканях органов мышей C57Bl/6
55 наблюдали единичные клетки в поле зрения. Статистически значимых
56 различий при этом по U-критерию Манна-Уитни выявлено не было, что
57 говорит об отсутствии вклада В-лимфоцитов в патогенез отравления
58 ацетаминофеном в первые 24 часа.

Было определено статистически значимое снижение количества CD3⁺ клеток в ткани сердца (см. таблицу 1). При этом не отмечается изменения количества CD3⁺ клеток в ткани печени, как отмечено у Krenkel et al. [4].

Через 24 часа после острого отравления ацетаминофеном у экспериментальных животных отмечается увеличение количества CD45⁺ экспрессирующих иммунных клеток в печени (см. таблицу 2), преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофилов. Эти данные соотносятся с тем, что нейтрофилы мигрируют в печень к очагам повреждения ткани [4].

При этом можно отметить, что в легких, почках, поджелудочной железе, сердце не отмечается значимых различий по составу иммунных клеток.

Это может быть связано с тем, что 24 часа после введения токсиканта – это переход от стадии раннего восстановления к фазе регенерации после отравления [3], то есть запускаются процессы, связанные с разрешением областей повреждения.

Выводы.

Таким образом, в первые сутки после острого отравления ацетаминофеном у экспериментальных животных не отмечается значимого изменения CD3⁺ и CD20⁺ экспрессирующих клеток в тканях. При этом происходит увеличение содержания иммунных клеток в ткани печени, преимущественно за счет нейтрофилов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 24-25-00469 «Роль системного воспаления в патогенезе отравления ацетаминофеном (N-ацетил-пара-аминофенолом)» и с использованием оборудования ЦКП Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Содержание CD3⁺ клеток в тканях органов мышей линии C57Bl/6 при отравлении ацетаминофеном (Me (Q_{0,25} - Q_{0,75})).

Table 1. The content of CD3⁺ cells in the tissues of the organs of the mice of the line C57BL/6 with acetaminophen poisoning (Q_{0.25} - Q_{0.75})).

Органы Organs	Группы (№) Groups (No.)	Контрольная (№ 1) Control (No. 1) n = 7	Экспериментальная (№ 2) Experimental (No. 2) n = 7
Печень Liver		0,01 (0,00 - 0,09)	0,00 (0,00 – 0,00)
Почки Kidney		0,01 (0,01 - 0,02)	0,00 (0,00 – 0,02)
Легкие Lung		0,31 (0,03 - 0,39)	0,06 (0,00 - 0,10)
Поджелудочная железа Pancreas		0,01 (0,01 - 0,04)	0,00 (0,00 – 0,01)
Сердце Heart		0,03 (0,01 - 0,04)**	0,01 (0,00 - 0,01)*

Примечание. Содержание клеток для рассчитано на 10000 мкм² поля зрения.

* – статистически значимые отличия (U - критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 1, ** – статистически значимые отличия (U - критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 2.

Note. The content of cells for 10,000 μm² fields of view is designed. *, statistically significant differences (Mann - Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 1; **, statistically significant differences (Mann–Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 2.

Таблица 2. Содержание CD45⁺ клеток в тканях органов мышей линии C57Bl/6 при отравлении ацетаминофеном (Me (Q_{0,25} - Q_{0,75})).

Table 2. The content of CD45⁺ cells in the tissues of the organs of the mice of the line C57BL/6 with acetaminophen poisoning (Me (Q_{0,25} - Q_{0,75})).

Группы (№) Groups (No.)	Контрольная (№ 1) Control (No. 1) n = 7	Экспериментальная (№ 2) Experimental (No. 2) n = 7
Органы Organs		
Печень Liver	0,002 (0,001 - 0,004)**	0,007 (0,005 - 0,024)*
Почки Kidney	0,001 (0,000 - 0,001)	0,001 (0,001 - 0,001)
Легкие Lung	0,013 (0,006 - 0,026)	0,022 (0,015 - 0,024)
Поджелудочная железа Pancreas	0,000 (0,000 - 0,000)	0,00 (0,00 - 0,00)
Сердце Heart	0,000 (0,000 - 0,000)	0,000 (0,000 - 0,001)

Примечание. Содержание клеток для рассчитано на 10000 мкм² поля зрения.

* – статистически значимые отличия (U - критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 1, ** – статистически значимые отличия (U - критерий Манна–Уитни, p < 0,05) от группы № 2.

Note. The content of cells for 10,000 μm² fields of view is designed. *, statistically significant differences (Mann - Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 1; **, statistically significant differences (Mann–Whitney (U) test, p < 0.05) with group No. 2.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Зудова Алевтина Игоревна, младший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН, ассистент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России;

адрес: 620078, Российская Федерация, г. Екатеринбург ул. Первомайская, 106;
телефон (факс): 8(343)3740070;

e-mail: tina.zudova@mail.ru

Zudova Alevtina Igorevna – junior researcher, laboratory of inflammation immunology of Institute of Immunology and Physiology UB RAS, assistant of the Department of Normal Physiology of the Federal State Budgetary Educational Institution of FSBI HPB «USMU» MOH Russia;

address: 106 Pervomayskaya str., Yekaterinburg, 620078, Russian Federation;
telephone (fax): 8(343)3740070;

e-mail: tina.zudova@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Зильбер К.Ю. – студент, ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России;

Zilber K.Yu. – student, FSBI HPB «USMU» MOH Russia;

Мишурин Я.В. - студент, ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России;

Mishurin I.V. - student, FSBI HPB «USMU» MOH Russia;

Апанович С.В. – студент, ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»;

Apanovich S.V. – student, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "UrFU named after the first President of Russia B.N. Yeltsin";

Соломатина Л.В. - кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления, ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН;

Solomatina L.V. - candidate of medical sciences, senior researcher, laboratory of immunology of inflammation, Institute of Immunology and Physiology UB RAS.

Блок 3. Метаданные статьи

ИММУННЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ
АЦЕТАМИНОФЕНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ
IMMUNE CELLS IN ACUTE POISONING WITH ACETAMINOPHEN IN THE
EXPERIMENTAL MODEL

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ИММУННЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ
IMMUNE CELLS FOR POISONING

Ключевые слова: Ацетаминофен, парацетамол, отравление, иммунные клетки, иммунология, лимфоциты.

Keywords: Acetaminophen, paracetamol, poisoning, immune cells, immunology, lymphocytes.

Иммунологические чтения в Челябинске 2025.

Количество страниц текста – 2,

Количество таблиц – 2,

Количество рисунков – 0.

29.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Зудова А.И., Мухлынина Е.А., Соломатина Л.В. Экспериментальная модель системного воспаления при токсическом воздействии ацетаминофена // Российский иммунологический журнал - 2024. - Т. 27, No 3. - С. 421-426.	Zudova A.I., Mukhlynina E.A., Solomatina L.V. Experimental model of systemic inflammation during acetaminophen toxicity. <i>Russian Journal of Immunology</i> . 2024. Vol. 27. no. 3. pp. 421-426.	[10.46235/1028-7221-16654-ЕМО]
2	Сенцов В.Г., Гусев К.Ю., Давыдова Н.С., Чекмарёв А.В. Отравления парацетамолом: эпидемиология, диагностика, лечение (состояние вопроса) // Уральский медицинский журнал. – 2024. – Т. 23. – №. 6. – С. 108-131.	Sentsov V.G., Gusev K.Y., Davydova N.S., Chekmarev A.V. Paracetamol Poisoning: Epidemiology, Diagnosis, Treatment (Status of the Issue). <i>Ural Medical Journal</i> , 2024, Vol. 23, no. 6, pp. 108-131.	[10.52420/umj.23.6.108]
3	Jaeschke H., Adelusi O.B., Akakpo J.Y., Nguyen N.T., Sanchez-Guerrero G., Umbaugh D.S., Ding	-	[10.1016/j.apsb.2021.09.023]

	W.X., Ramachandran A. Recommendations for the use of the acetaminophen hepatotoxicity model for mechanistic studies and how to avoid common pitfalls. <i>Acta pharmaceutica Sinica</i> , 2021, Vol. 11, no. 12, pp. 3740–3755.		
4	Krenkel O., Mossanen J.C., Tacke F. Immune mechanisms in acetaminophen-induced acute liver failure. <i>Hepatobiliary surgery and nutrition</i> , 2014, Vol. 3, no. 6, pp. 331–343.	-	[10.3978/j.issn.2304-3881.2014.11.01]
5	Zotova N., Zhuravleva Y., Chereshev V., Gusev E. Acute and Chronic Systemic Inflammation: Features and Differences in the Pathogenesis, and Integral Criteria for Verification and Differentiation. <i>International journal of molecular sciences</i> , 2023, Vol. 24, no. 2, p. 1144.	-	[10.3390/ijms24021144]