

ИММУННЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ АЦЕТАМИНОФЕНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ

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» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

² ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Екатеринбург, Россия

³ ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. 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. Исследование было выполнено на половозрелых мышках-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 дилуэнтном (Leica Microsystems, Германия). Вторичные антитела были взяты компании Thermo Fisher Scientific

Адрес для переписки:

Зудова Алевтина Игоревна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620078, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: tina.zudova@mail.ru

Address for correspondence:

Alevtina I. Zudova
Institute of Immunology and Physiology,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Ekaterinburg
620078 Russian Federation
Phone: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: tina.zudova@mail.ru

Образец цитирования:

А.И. Зудова, К.Ю. Зильбер, Я.В. Мишури́н,
С.В. Апанович, Л.В. Соломатина «Иммунные
клетки при остром отравлении ацетаминофеном
в экспериментальной модели» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 3. С. 495-500.
doi: 10.46235/1028-7221-17181-ICI

© Зудова А.И. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.I. Zudova, K.Yu. Zilber, Ya.V. Mishurin, S.V. Apanovich,
L.V. Solomatina “Immune cells in experimental model
of acute poisoning with acetaminophen”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 3, pp. 495-500.
doi: 10.46235/1028-7221-17181-ICI

© Zudova A.I. et al., 2025

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17181-ICI

(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). 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. 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 к ткани печени, преимущественно за счет нейтрофилов.

Ключевые слова: ацетаминофен, парацетамол, отравление, иммунные клетки, иммунология, лимфоциты

IMMUNE CELLS IN EXPERIMENTAL MODEL OF ACUTE POISONING WITH ACETAMINOPHEN

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

^a *Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation*

^b *Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation*

^c *B. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation*

Abstract. Acetaminophen (paracetamol) is one of the most common analgesic and antipyretic agents. Therefore, the overdose with this drug are often observed, being associated with acute hepatotoxicity and systemic inflammation, worsening the clinical prognosis. In this case, systemic inflammation is characterised by systemic activation of immune system. However, the contribution of different types of immune cells to pathogenesis of acetaminophen poisoning has not been sufficiently studied thus determining the purpose of this work. The aim of this study was to evaluate changes in the number of cells expressing CD3⁺, CD20⁺, CD45⁺ in organs of C57Bl/6 mice during acute acetaminophen poisoning. The study was performed with sexually mature male C57Bl/6 mice. The mice were divided into 2 groups of 7 mice in each group. The experimental group included animals treated with acetaminophen solution (Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 600 mg/kg at (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⁺ cells. Secondary antibodies were purchased from Thermo Fisher Scientific (31820). When assessing the content of CD20⁺ cells in organ tissues of C57Bl/6 mice, only single cells were observed in the field of view. Statistically significant differences were not revealed by Mann–Whitney U test thus suggesting absence of B cell 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 increased number of CD45⁺ expressing immune cells was noted in liver, mainly, as segmented neutrophils. Hence, we did not find any significant changes in cell numbers of CD3⁺ and CD20⁺ expressing cells in the studied tissues by 24 hours after acute acetaminophen poisoning in experimental animals. At the same time, there is an increased content of immune cells in the liver tissue, mainly due to neutrophils.

Keywords: acetaminophen, paracetamol, poisoning, immune cells, immunology, lymphocytes

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 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.

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

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

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

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 и обсуждение

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 (табл. 1). При этом не отмечается изменения количества CD3⁺ клеток в ткани печени, как отмечено у O. Krenkel и соавт. [4].

Через 24 часа после острого отравления ацетаминофеном у экспериментальных животных отмечается увеличение количества CD45⁺ экспрессирующих иммунных клеток в печени (табл. 2), преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофилов. Эти данные соотносятся с тем, что

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, Me (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 рассчитано на 10 000 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})

Органы Organs	Группы (№) Groups (No.)	Контрольная (№ 1) Control (No. 1) n = 7	Экспериментальная (№ 2) Experimental (No. 2) n = 7
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. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

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 изме-

нения CD3⁺ и CD20⁺ экспрессирующих клеток в тканях. При этом происходит увеличение содержания иммунных клеток в ткани печени, преимущественно за счет нейтрофилов.

Список литературы / References

1. Зудова А.И., Мухлынина Е.А., Соломатина Л.В. Экспериментальная модель системного воспаления при токсическом воздействии ацетаминофена // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 421-426. [Zudova A.I., Mukhlynina E.A., Solomatina L.V. Experimental model of systemic inflammation during acetaminophen toxicity. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 421-426. (In Russ.)] doi: 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). *Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal*, 2024, Vol. 23, no. 6, pp. 108-131. (In Russ.)]
3. Jaeschke H., Adelusi O.B., Akakpo J.Y., Nguyen N.T., Sanchez-Guerrero G., Umbaugh D.S., Ding W.X., Ramachandran A. Recommendations for the use of the acetaminophen hepatotoxicity model for mechanistic studies and how to avoid common pitfalls. *Acta Pharm. Sin. B*, 2021, Vol. 11, no. 12, pp. 3740-3755.
4. Krenkel O., Mossanen J.C., Tacke F. Immune mechanisms in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatobiliary Surg. Nutr.*, 2014, Vol. 3, no. 6, pp. 331-343.
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. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 2, 1144. doi: 10.3390/ijms24021144.

Авторы:

Зудова А.И. — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; ассистент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Зильбер К.Ю. — студент ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Zudova A.I., Junior Researcher, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Department of Normal Physiology, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Zilber K.Yu., Student, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Мишури́н Я.В. — студент ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия

Mishurin Ya.V., Student, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Апанович С.В. — студент ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Apanovich S.V., Student, B. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

Соломатина Л.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Solomatina L.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Inflammation Immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Поступила 29.03.2025

Отправлена на доработку 17.04.2025

Принята к печати 25.05.2025

Received 29.03.2025

Revision received 17.04.2025

Accepted 25.05.2025