

Изменение гематологических и биохимических показателей крови мышей C57Bl/6 при остром отравлении парацетамолом

А.И. Зудова, Е.А. Мухлынина, И.Ф. Гетте, Л.В. Соломатина

*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН
620078, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106*

Резюме

Парацетамол является одним из пяти наиболее распространенных лекарственных препаратов, вызывающих гепатотоксичность, связанную с летальным исходом. Мышиная модель гепатотоксичности парацетамола адекватно отражает отравление препаратом у человека, однако существует много противоречий, связанных с пониманием патогенетических механизмов процесса. Цель исследования – выявить признаки системного поражения различных органов на основании оценки гематологических и биохимических показателей периферической крови экспериментальных животных после введения полулетальной дозы парацетамола. **Материал и методы.** Самцам мышей линии C57Bl/6 в возрасте 10 недель однократно внутрибрюшинно вводили раствор парацетамола в концентрации 14 мг/мл в дозе 600 мг/кг массы тела или физиологический раствор в эквивалентном объеме, через 6, 12, 24 и 48 ч забирали кровь и выполняли гематологический и биохимический анализ. **Результаты и их обсуждение.** Введение парацетамола вызывает у мышей повышение активности АлАТ и АсАТ, снижение содержания общего белка, альбуминов, глобулинов. Отмечается рост уровня мочевины и креатинина. В периферической крови наблюдается преходящая моноцитопения, лимфо- и тромбоцитопения, гранулоцитоз. **Заключение.** После введения парацетамола в дозе 600 мг/кг массы тела у мышей выявлены признаки нарушения функции печени (изменение активности АлАТ и АсАТ, содержания общего белка, мочевины) и почек (уровень креатинина). В периферической крови определяется классическая картина воспалительного ответа (лимфопения и гранулоцитоз) с признаками нарушения гемостаза в виде тромбоцитопении. Генерализованных изменений, затрагивающих все органы, не выявлено, что определяет необходимость использования для обнаружения признаков системного воспаления более чувствительных и специфических методов.

Ключевые слова: парацетамол, отравление, экспериментальная модель, мыши, анализ крови.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 24-25-00469 и с использованием оборудования ЦКП Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Автор для переписки. Зудова А.И., e-mail: tina.zudova@mail.ru

Для цитирования. Зудова А.И., Мухлынина Е.А., Гетте И.Ф., Соломатина Л.В. Изменение гематологических и биохимических показателей крови мышей C57Bl/6 при остром отравлении парацетамолом. *Сиб. науч. мед. ж.* 2025;45(1):86–93. doi: 10.18699/SSMJ20250109

Changes in haematological and biochemical blood parameters of C57Bl/6 mice in acute paracetamol poisoning

A.I. Zudova, E.A. Mukhlynina, I.F. Gette, L.V. Solomatina

*Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the RAS
620078, Ekaterinburg, Pervomayskaya st., 106*

Abstract

Paracetamol is one of the five most common drugs causing fatal hepatotoxicity. The mouse model of paracetamol hepatotoxicity adequately reflects the mechanism of drug poisoning in humans. However, there are many controversies associated with understanding the pathogenetic mechanisms of process. Aim of the study was to reveal the signs of systemic damage of various organs on the basis of estimation of haematological and biochemical indices of peripheral blood of experimental animals after administration of a half-year dose of paracetamol. **Material and methods.** Male

C57Bl/6 mice aged 10 weeks were given a single intraperitoneal injection of a paracetamol solution at a concentration of 14 mg/ml at a dose of 600 mg/kg body weight or saline in an equivalent volume, after 6, 12, 24 and 48 hours, blood was collected and haematological and biochemical analysis were performed. **Results and discussion.** Paracetamol administration causes in mice an increase in alanine and aspartate aminotransferase activity, decrease in total protein, albumin, globulin content. There is an increase in the urea and creatinine level. Transient monocytopenia, lympho- and thrombocytopenia, granulocytosis are observed in peripheral blood. **Conclusions.** After administration of paracetamol at a dose of 600 mg/kg body weight, signs of liver (change of alanine and aspartate aminotransferase activity, total protein and urea content) and kidney (creatinine level) dysfunction were detected in mice. In peripheral blood, the classic picture of inflammatory response is determined (lymphopenia and granulocytosis) with signs of impaired haemostasis in the form of thrombocytopenia. No generalized changes affecting all organs were detected, which determines the need to use more sensitive and specific methods to detect signs of systemic inflammation.

Key words: paracetamol, drug overdose, animal model, mice, hematologic tests.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (grant No. 24-25-00469) and using the equipment of the Collective Use Center of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the RAS.

Correspondence author. Zudova A.I., e-mail: tina.zudova@mail.ru

Citation. Zudova A.I., Mukhlynina E.A., Gette I.F., Solomatina L.V. Changes in haematological and biochemical blood parameters of C57Bl/6 mice in acute paracetamol poisoning. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2025;45(1):86–93. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20250109

Введение

Парацетамол (ацетаминофен) широко используется в качестве обезболивающего и жаропонижающего средства. Однако случайная или преднамеренная передозировка данного препарата часто вызывает острый гепатоцеллюлярный некроз с высокой летальностью [1]. Парацетамол метаболизируется преимущественно путем сульфатирования и глюкуронирования с экскрецией метаболитов через почки [2]. При этом около 5 % препарата преобразуется в токсичный метаболит N-ацетил-р-бензохинонамин (NAPQI) при воздействии ферментов печени – семейства цитохрома P450 [3]. При приеме терапевтических доз парацетамола метаболит связывается с глутатионом клеток печени, переходя в меркаптуровую кислоту, и в дальнейшем выводится из организма [4]. При остром отравлении данным лекарственным средством образование NAPQI в избыточном количестве запускает ряд молекулярных механизмов, приводящих в конечном итоге к гибели гепатоцитов и нарушению функции печени (рис. 1) [2, 5–8].

По данным Центра сотрудничества ВОЗ по международному мониторингу лекарственных средств, парацетамол является одним из пяти наиболее распространенных препаратов, вызывающих поражение печени, ассоциированное со смертельным исходом. Таким образом, повреждение печени, вызванное лекарственными препаратами, в частности парацетамолом, является важной клинической проблемой современной ме-

дицины [9]. Патогенез отравления парацетамолом у мышей тождественен таковому у человека [10], поэтому данная модель часто используется для изучения механизмов лекарственного повреждения печени. При этом, несмотря на большое число экспериментальных исследований в данной области, до сих пор существует много противоречий, связанных с пониманием патогенетических механизмов острого отравления парацетамолом.

В последнее время получила развитие теория системного воспаления, в качестве его основных феноменов рассматривают системную воспалительную реакцию, системное микротромбообразование, системную альтерацию и дистресс-реакцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. При этом отмечается вклад системного воспаления в летальность при различных острых критических состояниях и тяжелых хронических заболеваниях [11], в этой связи высказано предположение, что оно влияет на смертельные исходы и течение заболевания при остром отравлении парацетамолом. Данная гипотеза требует экспериментального подтверждения с выявлением признаков нарушения функционирования различных органов, изменений в иммунной системе и системе свертывания, что и определило цель настоящей работы.

Цель исследования – выявить признаки системного поражения различных органов на основании оценки гематологических и биохимических показателей периферической крови экспериментальных животных после введения полулетальной дозы парацетамола.



Рис. 1. Патогенез воздействия NAPQI на клетки печени после острой передозировки парацетамолом

Fig. 1. The pathogenesis of the effect of N-acetyl-p-benzoquinonamine on liver cells after an acute overdose of paracetamol

Материал и методы

Эксперимент проводился в виварии ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию животных, в соответствии с принципами гуманности, изложенными в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН (протокол № 04/22 от 18.11.2022).

Самцы мышей линии C57Bl/6 ($n = 63$), возраст 10 недель, разделены на девять одинаковых по численности групп: 1 – интактная, 2–5 – контрольные группы, 6–9 – экспериментальные группы. Животным экспериментальных групп однократно внутривенно вводили раствор парацетамола (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 14 мг/мл в дозе 600 мг/кг массы тела, контрольных – 0,9%-й раствор NaCl в эквивалентном объеме. Мышей выводили из эксперимента через 6, 12, 24 и 48 ч под изофлурановым наркозом (Laboratorios Karizoo, Испания), забирали кровь из бедренной вены в микропробирки с ЭДТА-К3 (Sarstedt, Германия). Гематологический анализ выполняли с помощью автоматизированного анализатора BC-2800Vet (Mindray, China). Для выполнения биохимического анализа кровь центрифугировали 15 минут при 1000g, отбирали плазму, в которой определяли активность АлАТ, АсАТ, амилазы, щелочной фосфатазы, содержание общего белка, альбумина, мочевины, креати-

нина при помощи наборов реагентов фирмы Vital (г. Санкт-Петербург).

Статистический анализ выполнен в программах Statistica 10 (Statsoft, США) и GraphPad Prism 8.0.1.244 (Dotmatics, США). Проверка распределения на соответствие нормальному закону проводилась с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Так как распределение данных в выборке отличалось от нормального, данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (Me [Q1; Q3]). Для оценки различия количественных признаков в двух независимых группах применяли непараметрический критерий Манна – Уитни. При уровне $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение

Биохимические показатели крови

При активном цитолизе гепатоцитов происходит выделение в кровь печеночных ферментов, таких как АлАТ и АсАТ, поэтому величину их активности в крови используют в качестве маркера гепатотоксичности. Проведенные исследования свидетельствуют о резком повышении активности ферментов у животных уже через 6 ч после введения препарата (рис. 2), что указывает на токсическое повреждение печени. АлАТ локализована преимущественно в цитоплазме гепатоцитов, а АсАТ присутствует как в гепатоцитах, так и в скелетных и сердечной мышцах [12]. Поэтому диагностируемое в нашем исследовании снижение

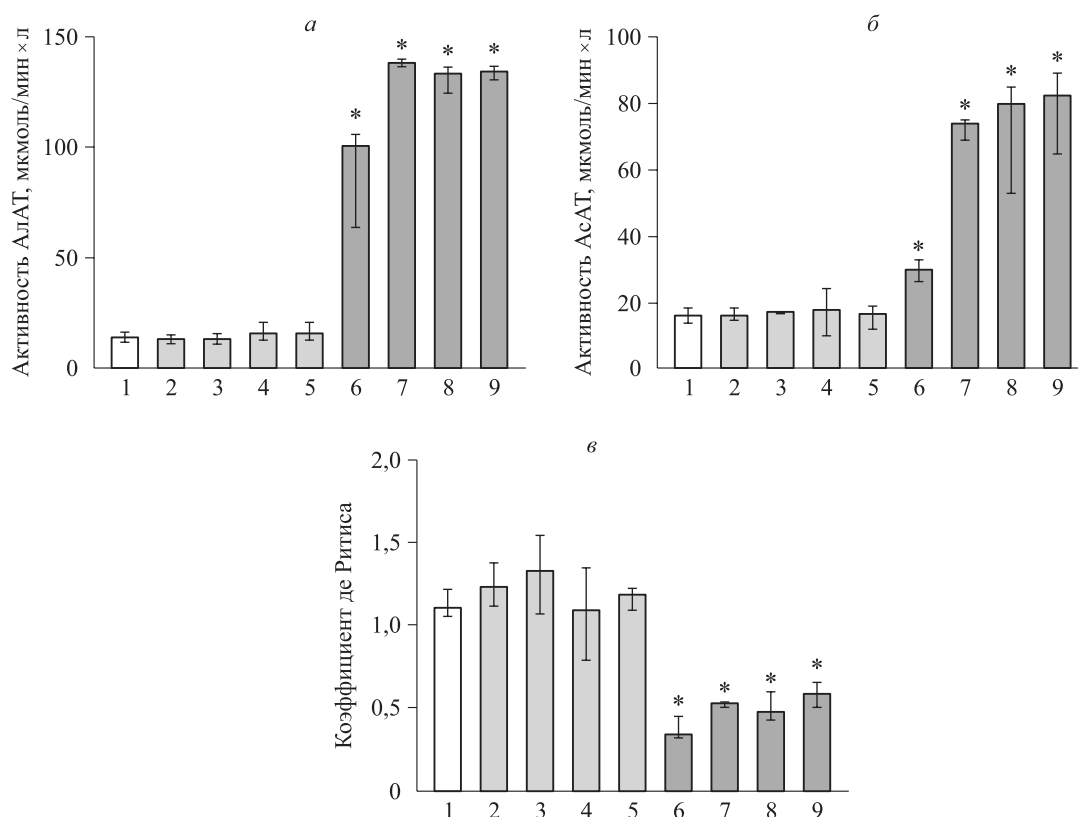


Рис. 2. Активность АлАТ (а), АсАТ (б) и коэффициент де Ритиса (в) у мышей C57Bl/6 после введения полудозной дозы парацетамола. 1 – интактная группа; 2–5 – контрольные группы; 6–9 – экспериментальные группы с выводением животных из эксперимента через 6, 12, 24 и 48 ч соответственно; * – отличие от величины соответствующего показателя интактной группы статистически значимо при $p < 0,05$

Fig. 2. Alanine aminotransferase (а), aspartate aminotransferase (б) and de Ritis coefficient (в) in the blood of C57Bl/6 mice after administration of a half-lethal dose of paracetamol. 1 – intact group; 2–5 – control groups; 6–9 – experimental groups with animals withdrawn from the experiment after 6, 12, 24 and 48 hours, respectively; * – $p < 0.05$ compared to intact group

коэффициента де Ритиса (соотношение АсАТ/АлАТ) дополнительно указывает на поражение печени, подчеркивая, что патологический процесс затрагивает в большей степени гепатоциты (см. рис. 2, в). Данные биохимического анализа крови также указывают на нарушение белоксинтезирующей и дезинтоксикационной функции печени, о чем свидетельствует снижение содержания общего белка, альбуминов и глобулинов в исследуемые сроки (рис. 3, а, б, в), мочевины – через 6 ч после введения препарата (рис. 3, д).

Через 24 и 48 ч уровень мочевины и креатинина в периферической крови растет (рис. 4), что указывает на развитие повреждения почек и нарушение их выделительной функции, вызванное передозировкой парацетамолом. Полученные результаты согласуются с известными клиническими данными о тубулярном повреждении в почках, в том числе даже при отсутствии деструкции печени [13]. Почечная недостаточность, обусловленная воздействием высоких доз парацетамола,

встречается примерно у 2–10 % пациентов [14]. Активность амилазы в крови мышей не претерпевает значимых изменений, что говорит о сохранении нормальной экзокринной функции поджелудочной железы. При этом по данным некоторых авторов в клинической практике отмечаются случаи развития острого панкреатита на фоне приема парацетамола, в том числе без лекарственного повреждения печени [15].

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование выявило у мышей C57Bl/6 признаки нарушения функции печени и почек без серьезных поражений поджелудочной железы и сердца, в то время как в клинических работах встречаются упоминания о развитии патологий данных органов [13, 14, 16–19]. Возможно, это связано с низкой частотой встречаемости данных осложнений или необходимостью выбора более специфических критериев с высокой чувствительностью.

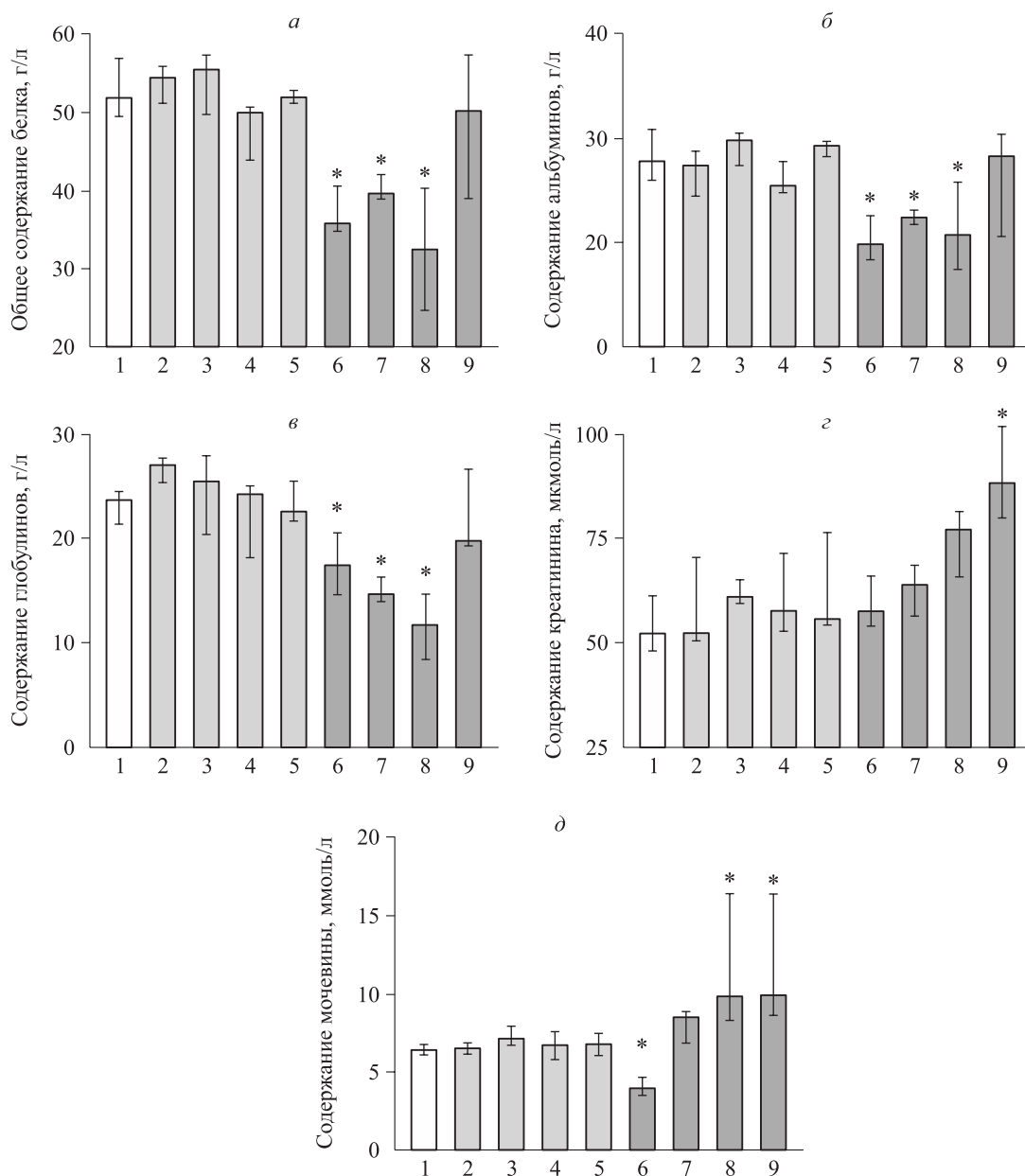


Рис. 3. Содержание общего белка (а), альбуминов (б), глобулинов (в), креатинина (г) и мочевины (д) в крови мышей C57Bl/6 после введения полудетальной дозы парацетамола. 1 – интактная группа; 2–5 – контрольные группы; 6–9 – экспериментальные группы с выводением животных из эксперимента через 6, 12, 24 и 48 ч соответственно

Fig. 3. Level of total protein (а), albumins (б), globulins (в), creatinine (г) and urea (д) in the blood of C57Bl/6 mice after administration of a half-lethal dose of paracetamol. 1 – intact group; 2–5 – control groups; 6–9 – experimental groups with animals withdrawn from the experiment after 6, 12, 24 and 48 hours, respectively

Гематологические показатели

Абсолютное содержание лейкоцитов во все сроки эксперимента достоверно не изменяется. При этом в раннюю фазу отравления (первые 6 ч после введения препарата [20]) отмечается снижение числа моноцитов и лимфоцитов, а через 12 ч после острой интоксикации в фазу раннего

восстановления повышается абсолютное и относительное содержание гранулоцитов (см. рис. 4, а, б). Полученные в настоящем исследовании результаты согласуются с данными общего анализа крови у людей после острого отравления парацетамолом: при поступлении в стационар у пациентов отмечают снижение содержания моноцитов; к 4-му дню госпитализации их количество

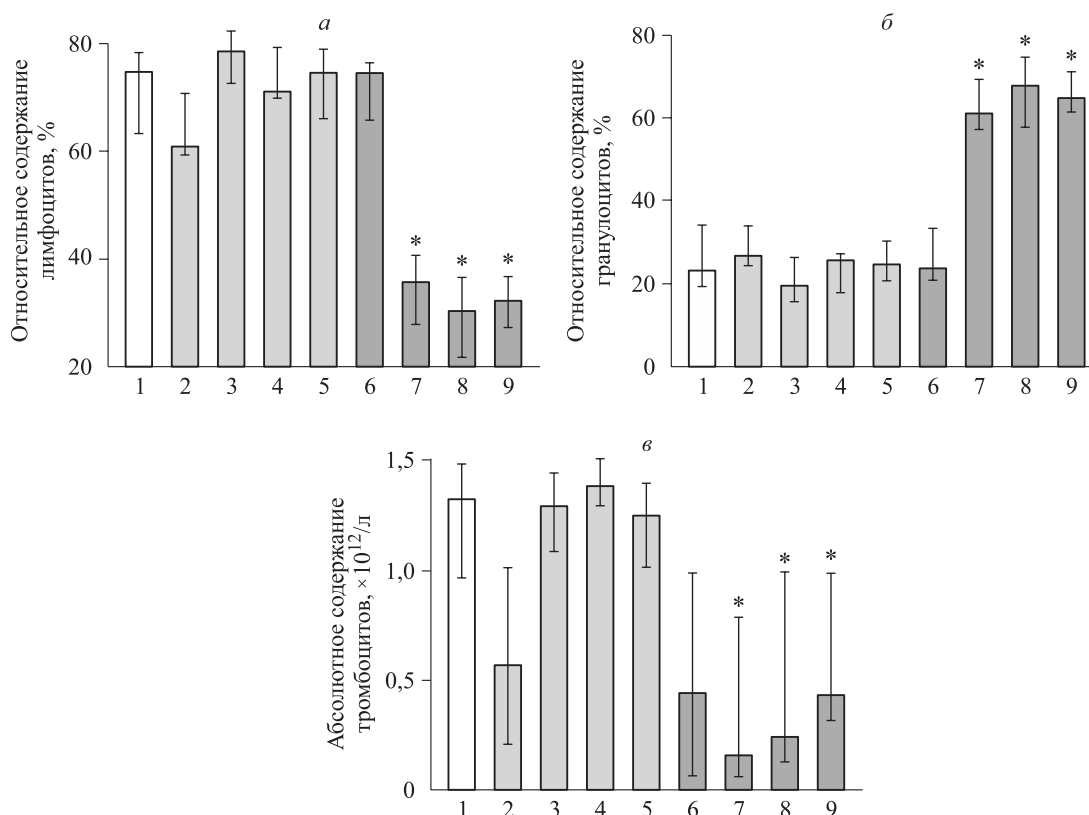


Рис. 4. Относительное содержание лимфоцитов (а) и гранулоцитов (б), абсолютное содержание тромбоцитов (в) в крови мышей C57Bl/6 после введения полулетальной дозы парацетамола. 1 – интактная группа; 2–5 – контрольные группы; 6–9 – экспериментальные группы с выведением животных из эксперимента через 6, 12, 24 и 48 ч соответственно

Fig. 4. Relative lymphocyte (a) and granulocyte count (б), absolute platelet count (в) in the blood of C57Bl/6 mice after administration of a semi-lethal dose of paracetamol. 1 – intact group; 2–5 – control groups; 6–9 – experimental groups with animals removed from the experiment after 6, 12, 24 and 48 hours, respectively

повышается, но развиваются нейтрофильный гранулоцитоз и лимфопения [21]. В эритроцитарном ряду (содержание эритроцитов, гемоглобин, гематокрит и т.д.) при отравлении парацетамолом статистически значимых различий между группами не выявлено. Содержание тромбоцитов в крови мышей экспериментальных групп снижается относительно уровня контрольных животных начиная с 12 ч после введения токсической дозы парацетамола (рис. 4, в). Полученные результаты подтверждают данные об активации системы свертывания у экспериментальных животных и пациентов с острой интоксикацией ацетаминофеном [22]. В эксперименте К. Miyakawa et al. [23] показано, что тромбоциты накапливаются в печени при повреждении, индуцированном парацетамолом, что может способствовать гепатотоксичности.

Закключение

После введения парацетамола в полулетальной дозе (600 мг/кг массы тела) у самцов мышей C57Bl/6 наблюдаются биохимические признаки токсического повреждения печени (изменение активности АлАТ и АсАТ, содержания общего белка, мочевины) и почек (уровень креатинина). Обнаруженные гематологические изменения в периферической крови (содержание иммунных клеток – моноцитов, лимфоцитов, гранулоцитов) дополняют картину развития воспалительной реакции в ответ на повреждение печени токсической дозой лекарственного препарата. Кроме того, отмечены изменения в системе свертывания крови с развитием тромбоцитопении. Следует отметить, что наблюдаемые признаки не свидетельствуют о развитии системной воспалительной

реакции, поскольку касаются только отдельных органов. Это определяет необходимость проведения дальнейших исследований с применением более специфических методов выявления системного воспалительного ответа.

Список литературы / References

1. Ramachandran A., Jaeschke H. Acetaminophen hepatotoxicity. *Semin. Liver Dis.* 2019;39(2):221–234. doi: 10.1055/s-0039-1679919
2. Ramachandran A., Jaeschke H. Acetaminophen toxicity: novel insights into mechanisms and future perspectives. *Gene Expr.* 2018;18(1):19–30. doi: 10.3727/105221617X15084371374138
3. Vigo M.B., Pérez M.J., de Fino F., Gómez G., Martínez S.A., Bisagno V., di Carlo M.B., Scazzioti A., Manautou J.E., Ghanem C.I. Acute acetaminophen intoxication induces direct neurotoxicity in rats manifested as astrogliosis and decreased dopaminergic markers in brain areas associated with locomotor regulation. *Biochem. Pharmacol.* 2019;170:113662. doi: 10.1016/j.bcp.2019.113662
4. Lee W.M. Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity—Isn't it time for APAP to go away? *J. Hepatol.* 2017;67(6):1324–1331. doi: 10.1016/j.jhep.2017.07.005
5. Yang R., Tennesseen T.I. DAMPs and sterile inflammation in drug hepatotoxicity. *Hepatol. Int.* 2019;13(1):42–50. doi: 10.1007/s12072-018-9911-9
6. Iorga A., Dara L., Kaplowitz N. Drug-induced liver injury: cascade of events leading to cell death, apoptosis or necrosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(5):1018. doi: 10.3390/ijms18051018
7. Krenkel O., Mossanen J.C., Tacke F. Immune mechanisms in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatobiliary Surg. Nutr.* 2014;3(6):331–343. doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.11.01
8. Jaeschke H., Ramachandran A. Mechanisms and pathophysiological significance of sterile inflammation during acetaminophen hepatotoxicity. *Food Chem. Toxicol.* 2020;138:111240. doi: 10.1016/j.fct.2020.111240
9. Björnsson E., Olsson R. Suspected drug-induced liver fatalities reported to the WHO database. *Dig. Liver Dis.* 2006;38(1):33–38. doi: 10.1016/j.dld.2005.06.004
10. Jaeschke H., Xie Y., McGill M.R. Acetaminophen-induced Liver Injury: from Animal Models to Humans. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2014;2(3):153–161. doi: 10.14218/JCTH.2014.00014
11. Zotova N., Zhuravleva Y., Chereshnev 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;24(2):1144. doi: 10.3390/ijms24021144
12. Karatas M., Keles N., Parsova K.E., Ciftci H.O., Ozkok S., Kahraman E., Durak F., Kocogullari C.U., Yiyit N. High AST/ALT ratio is associated with cardiac involvement in acute COVID-19 patients. *Medicina (Kaunas).* 2023;59(6):1163. doi: 10.3390/medicina59061163
13. Saad M., Flament J. Paracetamol overdose causing acute kidney injury without hepatotoxicity: a case report. *Int. J. Emerg. Med.* 2024;17(1):81. doi: 10.1186/s12245-024-00662-w
14. Stollings J.L., Wheeler A.P., Rice T.W. Incidence and characterization of acute kidney injury after acetaminophen overdose. *J. Crit. Care.* 2016;35:191–194. doi: 10.1016/j.jcrc.2016.06.004
15. He Y.H., Lu L., Wang Y.F., Huang J.S., Zhu W.Q., Guo Y., Li C.X., Li H.M. Acetaminophen-induced acute pancreatitis: A case report and literature review. *World J. Clin. Cases.* 2018;6(9):291–295. doi: 10.12998/wjcc.v6.i9.291
16. KhabazianZadeh F., Kazemi T., Nakhaee S., Ng P.C., Mehrpour O. Acetaminophen poisoning-induced heart injury: a case-based review. *Daru.* 2019;27(2):839–851. doi: 10.1007/s40199-019-00307-x
17. Philippot G., Hosseini K., Yakub A., Mhajar Y., Hamid M., Buratovic S., Fredriksson R. Paracetamol (acetaminophen) and its effect on the developing mouse brain. *Front. Toxicol.* 2022;4:867748. doi: 10.3389/ftox.2022.867748
18. Smith G.J., Cichocki J.A., Doughty B.J., Manautou J.E., Jordt S.E., Morris J.B. Effects of acetaminophen on oxidant and irritant respiratory tract responses to environmental tobacco smoke in female mice. *Environ. Health Perspect.* 2016;124(5):642–650. doi: 10.1289/ehp.1509851
19. Gosselin M., Dazé Y., Mireault P., Crâhes M. Toxic myocarditis caused by acetaminophen in a multidrug overdose. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 2017;38(4):349–352. doi: 10.1097/PAF.0000000000000339
20. 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;11(12):3740–3755. doi: 10.1016/j.apsb.2021.09.023
21. Moore J.K., MacKinnon A.C., Man T.Y., Manning J.R., Forbes S.J., Simpson K.J. Patients with the worst outcomes after paracetamol (acetaminophen)-induced liver failure have an early monocytopenia. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2017;45(3):443–454. doi: 10.1111/apt.13878
22. Groeneveld D., Cline-Fedewa H., Baker K.S., Williams K.J., Roth R.A., Mittermeier K., Lisman T., Palumbo J.S., Luyendyk J.P. Von Willebrand factor delays liver repair after acetaminophen-induced acute liv-

- er injury in mice. *J. Hepatol.* 2020;72(1):146–155. doi: 10.1016/j.jhep.2019.09.030
23. Miyakawa K., Joshi N., Sullivan B.P., Albee R., Brandenberger C., Jaeschke H., McGill M.R., Scott M.A., Ganey P.E., Luyendyk J.P., Roth R.A. Platelets and protease-activated receptor-4 contribute to acetaminophen-induced liver injury in mice. *Blood.* 2015;126(15):1835–1843. doi: 10.1182/blood-2014-09-598656

Сведения об авторах:

Зудова Алевтина Игоревна, ORCID: 0000-0002-0086-1201, e-mail: tina.zudova@mail.ru
Мухлынина Елена Артуровна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-5159-4465, e-mail: elena.mukhlynina@yandex.ru
Гетте Ирина Федоровна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3012-850X, e-mail: i.goette@yandex.ru
Соломатина Лилия Владимировна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-4900-5019, e-mail: slv10@list.ru

Information about the authors:

Alevtina I. Zudova, ORCID: 0000-0002-0086-1201, e-mail: tina.zudova@mail.ru
Elena A. Mukhlynina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-5159-4465, e-mail: elena.mukhlynina@yandex.ru
Irina F. Gette, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3012-850X, e-mail: i.goette@yandex.ru
Liliya V. Solomatina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4900-5019, e-mail: slv10@list.ru

Поступила в редакцию 22.07.2024
После доработки 11.10.2024
Принята к публикации 15.12.2024

Received 22.07.2024
Revision received 11.10.2024
Accepted 15.12.2024