

SIRMAN, V., NASIBULLIN, B., GUSHCHA, S., BADYUK, N., DEKHTYAR, Yu. and GOZHENKO, A. Justification of the renoprotective action of the mixture of sodium chloride and sodium bicarbonate solutions in phenylhydrazine intoxication. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023;20(1):189-203. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.20.01.017>
<https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/39460>
<https://zenodo.org/record/8388757>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of 17.07.2023 No. 32318. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences). Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 17.07.2023 Lp. 32318. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przynależność dyscypliny naukowej: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu).
© The Authors 2023;
This article is published with open access at License Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 08.08.2023. Revised: 15.09.2023. Accepted: 26.09.2023. Published: 29.09.2023.

Justification of the renoprotective action of the mixture of sodium chloride and sodium bicarbonate solutions in phenylhydrazine intoxication

V.M. Sirman¹, B.A. Nasibullin², S.G. Gushcha², N.S. Badyuk¹, Yu.M. Dekhtyar³, A.I. Gozhenko¹

¹State Enterprise Ukrainian Research Institute of Transport Medicine Ministry of Health Ukraine, Odesa, Ukraine

²State Institution Ukrainian Research Institute of Medical Rehabilitation and Resort Therapy of Ministry of Health of Ukraine, Odesa, Ukraine

³Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine

Обґрунтування ренопротекторної дії суміші розчинів хлориду натрію та бікарбонату натрію при фенілгідрозіновій інтоксикації

В.М. Сірман¹, Б.А. Насібулін², С.Г. Гушча², Н.С. Бадюк¹, Ю.М. Дехтяр³, А.І. Гоженко¹

¹ДП УНДІ МТ МОЗ України,

²ДУ УНДІ МР

³Одеський національний медичний університет

Резюме

Автори досліджували на 35 білих щурах лінії Вістар аутбредного розведення можливість корегувати гостре пошкодження нирок, які викликані введенням фенілгідрозіна в дозі 100мг/кг надходженням в організм суміші розчинів хлориду натрію та бікарбонату натрію.

Результати досліджень визначили наявність змін в нирках при введенні фенілгідрозіна у вигляді загибелі частини капілярних клубочків, відкладенню еозинофільних мас в боуменових просторах та просвіті каналців, лімфоїдній інфільтрації інтерстицію. На тлі цього щури в режимі

вільного поїння отримували суміш розчинів хлориду натрію та бікарбонату натрію в них спостерігались позитивні зміни в нирках: не визначалась загибель капілярних клубочків, в більшості каналців відсутні еозинофільні відкладення, скупчення лімфоцитів спостерігається лише навкруг деяких ниркових судин. Автори вважають, що надходження в організм додаткового натрію та бікарбонату з залуженням первинної сечі сприяє виведенню з організму продуктів гемолізу, викликаному фенілгідрозіном, що обумовлює ренопротекцію та збереження ниркової паренхіми.

Ключові слова: нирки, фенілгідрозін, хлорид натрію, бікарбонат натрію, ренопротекція.

Abstract

The authors conducted a study on 35 white Wistar outbred rats to investigate the possibility of correcting acute kidney damage induced by the administration of phenylhydrazine at a dose of 100 mg/kg by introducing a mixture of sodium chloride and sodium bicarbonate solutions into the body.

The research results identified changes in the kidneys upon phenylhydrazine administration, including the loss of some capillary glomeruli, eosinophilic deposits in Bowman's spaces and tubular lumens, and lymphoid infiltration in the interstitium. Rats receiving a mixture of sodium chloride and sodium bicarbonate solutions in their drinking water showed positive changes in their kidneys: no loss of capillary glomeruli was observed, and eosinophilic deposits were absent in most tubules. Lymphocyte aggregation was only observed around some renal vessels. The authors suggest that the intake of additional sodium and bicarbonate into the body, along with alkalization of the primary urine, promotes the excretion of hemolysis products caused by phenylhydrazine, which contributes to renoprotection and preservation of renal parenchyma.

Keywords: kidneys, phenylhydrazine, sodium chloride, sodium bicarbonate, renoprotection.

На сьогодні стан розвитку суспільства передбачає використання в повсякденні багато хімічних сполук: фармпрепарати, чистячі та миючі засоби та інше. Одним з широко використовуваних хімічних сполук є

фенілдігрозина гідрохлорид (PHZ). PHZ та його похідні спочатку використовувались як жарознижуючі засоби, засоби для лікування поліцитемії. На протязі багатьох років фенілдігрозін використовувався для відтворення експериментальної анемії у тварин []. Однак сповіщалося, що ця сполука викликає пошкодження еритроцитів і вторинне ушкодження селезінки та печінки [Rajagopal R.E., Balasubramanian M., Kalyanaraman S. – Phenylhydrozine hydrochloride induced doseperedent embryo cyto toxicity in zebrafish. – Bioinformation. – 2019. Apr.15 (4). – 255-260.doi: 10.6026/97320630015255] [2]. Останнім часом встановлено, що фенілгрозін як гемолітична отрута може викликати гостре ушкодження нирок (ГУН) аж до гострої ниркової недостатності (ГНН) [3, 4]. Основний патогенетичний механізм розвитку ГНН при гемолізі є блокада просвіту канальців нирок великою кількістю профільтрованого гемоглобіну, який в кислому середовищі первинної сечі кристалізується [5]. Вивчаючи можливість корегування ушкодження нирок при гемолізі, ми виходили з результатів наших попередніх досліджень, в яких ми встановили, що вживання щурами розчину хлориду натрію при ГНН знижує ступінь ушкодження нирок, збільшує швидкість клубочкової фільтрації, зменшує рівень азотемії, тобто є ефективним засобом ренопротекції [6, 7, 8].

Виходячи з вищенаведеного, метою досліджень було визначення ренопротекторної дії суміші розчинів хлориду натрію (0,75% розчин) та бікарбоната натрію (0,36 % розчин).

Матеріали та методи досліджень.

Матеріалом роботи слугували дані, отримані при дослідженні 35 білих щурів лінії Вістар аутбредного розведення масою тіла 180-200 г. Утримання тварин та робота з ними здійснювалась відповідно з нормативними документами: Директивою 2010/63/EU Європейського парламенту і Ради від 22.09.2010 про захист тварин, що використовуються

для наукових цілей, та Наказом Міністерства освіти і науки, молоді і спорту України № 249 від 01.03.2012 [1,9, 10].

Відповідно з завданнями роботи тварини були ранжовані на 3 групи:

I група – 7 щурів, які утримувались в стандартних умовах віварію і не піддавались ніяким зовнішнім впливам, результати отримані при їхньому дослідженні, слугували контролем.

II група – 14 щурів, яким внутричеревно вводили 100 мл/кг фенілгідрозину.

III група – 14 щурів, які на тлі введеного фенілгідрозину отримували суміш 0,75 % розчину NaCl та 0,36% розчину NaHCO₃.

Корегуючий розчин тварини отримували відразу після введення фенілгідрозину в режимі вільного поїння без врахування використаних об'ємів. Через 72 години після введення фенілгідрозину тварин виводили з експерименту декапітацією під тіопенталовим наркозом. У тварин вилучали нирки, які фіксували 5 % розчином формальдегіду. Після фіксації матеріал проводили крізь спирти зростаючої концентрації і заливали в целоїдин за загальноприйнятою методикою. З отриманих блоків виготовляли мікротомні зрізи 7-9 мкм завтовшки, які фарбували гематоксилін-еозином. Виготовлені гістологічні препарати досліджували у світовому мікроскопі з оцінкою структурних змін в нефронах та їхніх складових.

Результати та їх обговорення.

Дослідження нирок контрольних щурів визначило, що вони мають гладеньку блискучу поверхню, темно-коричневий колір тканини, довжина нирки $1,7 \pm 0,2$ см.

При гістологічному дослідженні в корці розташовані округлі ниркові тельця. Розташування досить рівномірне. Боуменова капсула щільна, помірної товщини, ноуменів простір в більшості тілець щілястий,

капілярний клубочок округлий. В невеликій частині тілець клубочок лапчастий, ноуменів простір розширений. Ендотелій звичайного вигляду. Звивчасті каналці вислані одношаровим епітелієм, ядра епітеліоцитів середніх розмірів та зафарбованості, цитоплазма темно еозинофільна, в частині каналців просвіт вільний, в частині звужена за рахунок набряку епітелію. Інтерстіційні прошарки тонкі, темно забарвлені. Прямі каналці вислані плоским епітелієм, ядра епітеліоцитів плоскі, цитоплазми небагато, вона світло еозинофільна, судини нирок помірного кровонаповнення.

При дослідженні нирок щурів на 3 добу після введення фенілгідрозіну в дозі 100 мл/кг встановлено наступне. При макроскопічному дослідженні довжина нирки відповідає контролю – $1,65 \pm 0,08$ см. Поверхня гладенька, блискуча. На розрізі візуально чітко відокремлюється корка та мозкова речовина, тканина нирок має коричнево-бегкове забарвлення. При гістологічному дослідженні в нирковій речовині визначаються ниркові тільця, на відміну від контролю вони розташовані не рівномірно, а досить великими групами. Частина ниркових тілець заміщена лімфоїдно-епітеліоцитарними скупченнями.

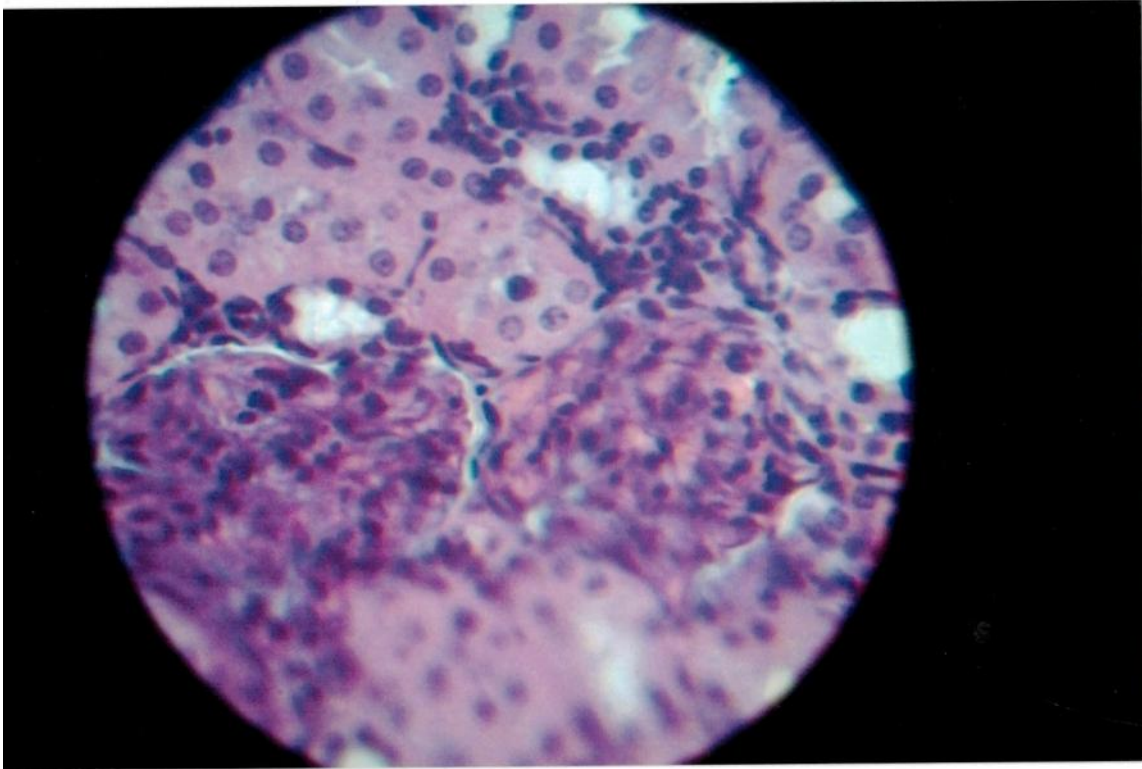


Рис. 1 Нирка щура, який отримувач фенілгідрозін. Капілярні клубочки заміщені лімфоїдні-епітеліальними тканинами.

Забарвл: гематоксилін-еозин

Зб.: $\times 300$.

Зморщених або фрагментованих капілярних клубочків збережених ниркових тільця не встановлено. Капілярні клубочки округлі, епітеліоцити в них набрякливі, ядра епітеліоцитів частково збільшені, світло забарвлені, частково звичайного вигляду, частково зменшені, темні. Цитоплазма ендотеліоцитів базофільна, в частині з них зустрічаються вакуолі. Між петлями капілярних клубочків зустрічаються еритроцити, що діapedезно вийшли з судин. В боуменових просторах ниркових тілець спостерігаються включення еозинофільних гомогенних мас в досить значній кількості. Навкруг ниркових тілець значні ділянки білкового просякнення. Ниркові судини повнокровні. Звивчасті канальці та прямі канальці структурно не змінені, окрім наявності в просвіті деяких з них еозинофільних білкових мас.

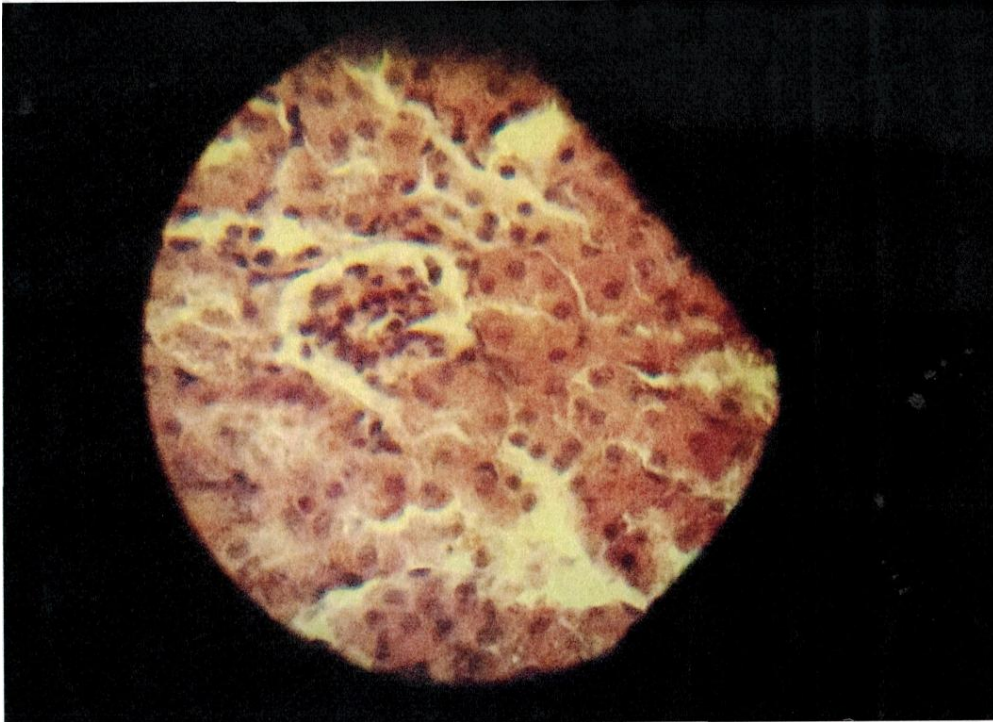


Рис. 2 Нирка щура, який отримав фенілгідрозіна. Звичасті каналці з набряком епітеліоцитів, деякі з білковими масами в просвіті.

Забарвл.: Ван-Гізон

Зб.: $\times 300$.

Інтерстиціальні прошарки дещо потовщені, в них розташовані лімфоїдні елементи та невелика кількість еритроцитів.

Дослідження нирок щурів третьої групи, які на тлі інтоксикації фенілгідрозіном в режимі вільного поїння отримували суміш 0,75 % розчину NaCl та 0,36% розчину NaHCO₃ встановили таке.

При мікроскопічному дослідженні вигляд поверхні нирок, їхнє забарвлення, візуальне відокремлення корки та мозкової речовини відповідало даним контролю.

При гістологічному дослідженні нирок визначається, що ниркові тілця корки розташовані групами. Боуменова мембрана неушкоджена, щільна, візуально дещо потовщена. Боуменови простори поширені, у частині ниркових тілець в боуменових просторах спостерігаються невеликі вclusions гомогенних еозинофільних мас. Клубочки капілярів в більшості ниркових тілець округлі, хоча поодинокі тілця містять зморщені клубочки капілярів.

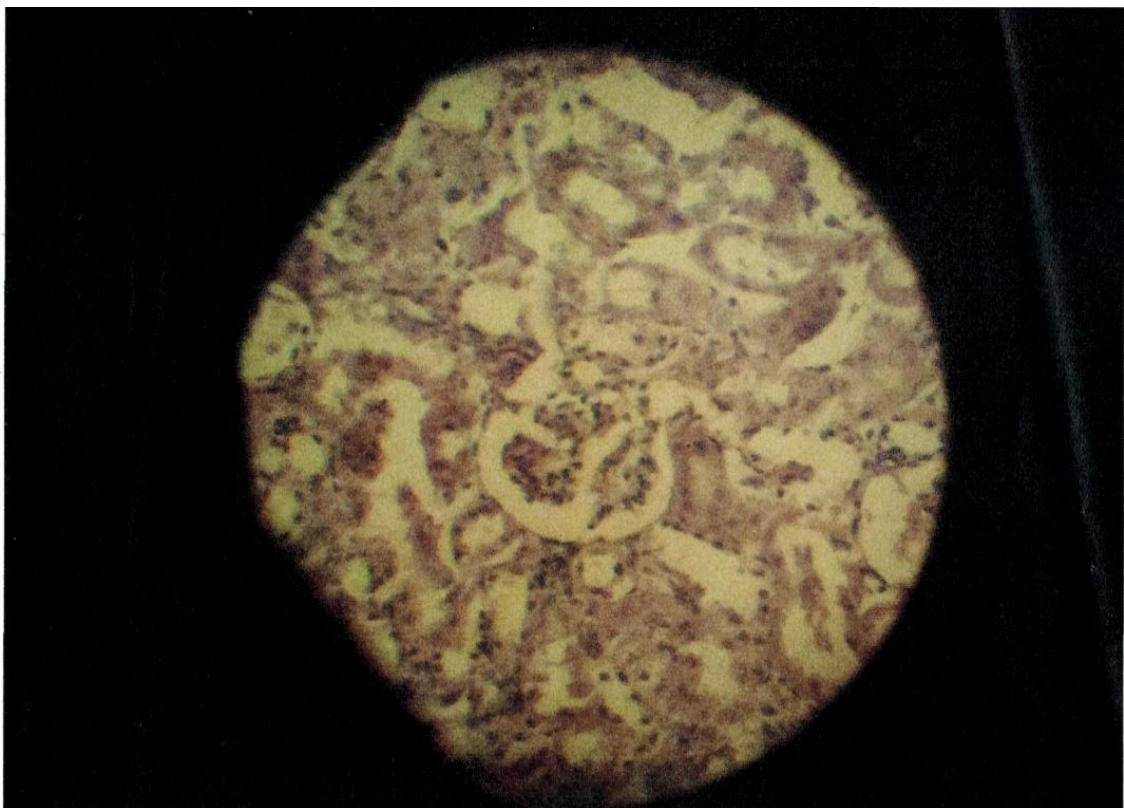


Рис. 3 Нирка щура, який на тлі фенігідрозинової інтоксикації отримувач суміш NaCl та NaHCO_3 . Зморщений капілярний клубочок, поширений просвіт боумена.

Забарвл.: гематоксилін-еозин.

Зб.: $\times 100$.

Між петлями капілярів еритроцитів або лімфоцитів не визначається. Капілярні клубочки округлі, петлі капілярів візуально відокремлені.

Ендотеліоцити містять дещо побільшені, помірно зафарбовані ядра, цитоплазма ендотеліоцитів темно еозинофільна з поодинокими дрібними вакуолями. Скупчень лімфоїдних елементів навкруг ниркових тілець не визначено. Ниркові каналці візуально не змінені відносно гістологічної картини контрольних нирок.

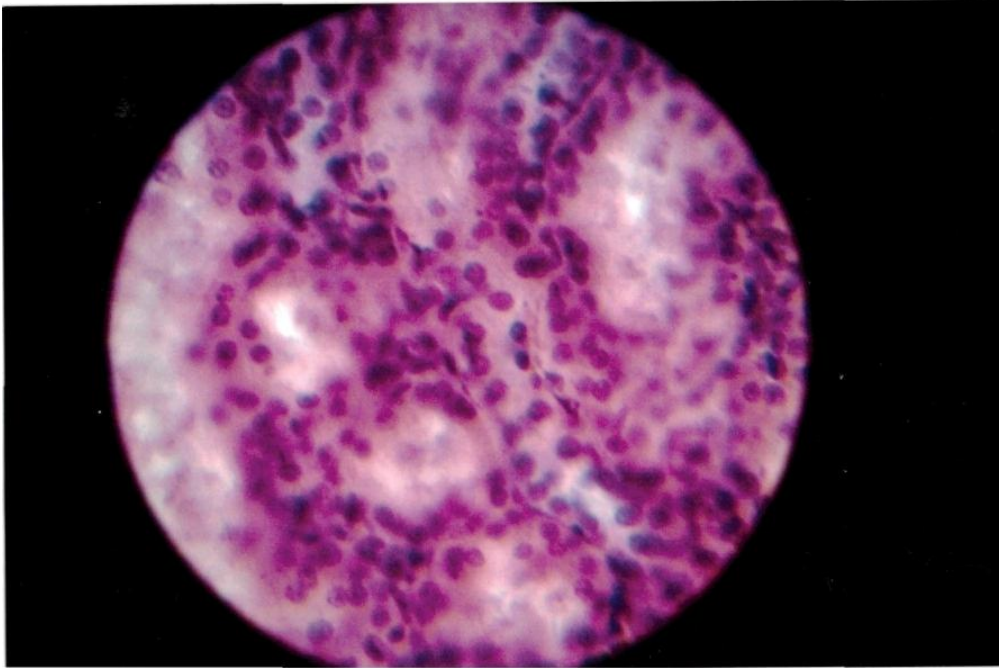


Рис. 4 Нирка щура, що на тлі фенілгідрозинової інтоксикації отримувач суміш NaCl та NaHCO₃. Звивчасті каналці з помірним набряком епітеліоцитів. В деяких в просвіті еозинофільні включення.

Забарвл.: гематоксилін-еозин.

Зб.: ×100.

Набряк епітелію каналців дуже помірний, ядра середні добро забарвлені. В деяких каналцях в просвіті розташовані гомогенні еозинофільні скупчення. Слід підкреслити, що в більшості каналців просвіт вільний. Інтерстиційні прошарки тонкі, в них спостерігаються поодинокі фібропласти. Лімфоїдні елементи не визначаються. Судини нирок

помірного кровонаповнення, навкруг деяких з них невеликі скупчення лімфоїдних елементів.

Таким чином результати наших досліджень встановили, що інтоксикація фенілгідрозіном викликає морфологічні ознаки гострого пошкодження нирок у вигляді фрагментації або загибелі капілярних клубочків, виходу еозинофільних мас в боуменові простори, діапедезу еритроцитів, лімфоїдній інфільтрації інтерстиціальних прошарків. В просвіті каналців накопичувались еозинофільні маси, мав місце набряк епітелію каналців.

Вільне поїння щурів з фенілгідрозіновою інтоксикацією сумішшю 0,75 % розчину NaCl і 0,36% розчину NaHCO₃ значно зменшує кількість втрачених ниркових тілець та покращує структурно-функціональний стан тих, що залишилися. Зберігалась лише невелика кількість ниркових тілець та каналців, в яких визначаються поодинокі включення еозинофільних мас.

Раніше нами було показано, що вживання хлориду натрію в 1% розчині та одноразове введення його в шлунок зменшують олігурію та збільшують швидкість клубочкової фільтрації у щурів з токсичною нефропатією, викликану важкими металами, антибіотиками, протипухлинними препаратами тощо [11, 12, 13].

Можна було висказати припущення, що аналогічним повинен бути вплив розчину хлориду натрію на нирки при токсичній фенілгідрозіновій нефропатії. Але виходячи з того, що основним ланцюгом патогенезу при цій патології є блокування просвіту каналців кристалізованим гемоглобіном, ми дослідили профілактичну ефективність використання суміші розчину 0,75 % NaCl та 0,36 % NaHCO₃, що з одного боку забезпечує надходження до організму щурів такої ж кількості Na, яка при вживанні для пиття 1% хлориду натрію, але разом з тим заміна частини хлору на бікарбонат зменшує кислотність сечі, а це може зменшувати

кристалізацію гемоглобіну в просвіті каналців. Нами показано, що в цих умовах в нирках зменшується блокування ниркових каналців і, напевно, як наслідок ступінь гострого пошкодження нирок. Вищенаведене дає можливість рекомендувати для профілактики ГНН при фенілгідрозіновій нефропатії натрієві розчини з заміщенням частини хлориду на бікарбонат.

Для того, щоб підвищити ренопротекторний вплив хлориду натрію ми запропонували замінити його сумішшю 0,75 % хлориду натрію та 0,36 % бікарбонату натрію. Таким чином до організму щурів надходило однакове з розчином 1% натрію хлориду натрію, але заміна частини хлориду натрію на бікарбонат натрію зменшувала кислотність сечі, а тому можна було висказати припущення, що кристалізація гемоглобіну у сечі буде зменшуватись, а тому буде меншим блокування просвіту каналців. Вважаємо, що такі комбіновані розчини хлориду натрію можуть бути використані і в інших випадках при токсичних нефропатіях.

Отримані результати дозволяють рекомендувати ренопротекцію сумішшю 0,75 % розчину NaCl та 0,36 % NaHCO₃ при ГНУ гемолітичними отрутами, т.я. гостре ушкодження нирок обумовлене кристалізацією в них гемоглобіну [14] та зменшенням швидкості течії сечі. Застосування цієї технології ренопротекції будене тільки сприяти зменшенню гіпоксичного ураження нирок [14], але й буде сприяти збільшенню кількості функціонуючих нефронів [15].

References

Gozhenko A.I., Dolomatov S.I., Lobanov A.K., Ponomarenko A.N., Karagauskas V.Yu. The influence of rifamycin on the functional state of the kidneys in white rats. Actual Problems of Transport Medicine. – 2005, 9(2). – p. 101-103.

Gozhenko A.I. Pathogenesis of toxic nephropathies. Actual Problems of Transport Medicine. – 2006, No. 4 – p. 25-30.

Kristal N.V., Gozhenko A.I., Sirman V.M. Pathophysiology of the kidney. Kyiv: 2017, 230 p.

Mulay S.R., ShiMax, Anders H.S. Novel insights into Crystalindced kidney injury. Kidney Di. (Basel). 2018; 4(2): 49-57. doi: 10/1159/000487671.

Gozhenko A.I. Energy supply of the main renal functions and processes in normal and kidney damage. Author's abstract for the degree of Doctor of Medical Sciences. Chernivtsi. – 1987. – 39 p.

Vozianov O.F., Gozhenko A.I., Fedoruk O.S. Acute kidney failure. Odesa. – 2003. – 398 p.

Gozhenko A.I. Pathophysiology of the kidneys: from experiment to clinic. Odesa. – 2013. 39 p.

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. – Official Journal L 276, 20.10.2010. – P. 0033-0079.

Order of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports No. 249 of March 1, 2012. – Official Gazette of Ukraine, April 6, 2012. – 2012. – No. 24. – p. 82, article 942. – code of the act 60909/2012.

Gozhenko A.I., Karagauskas V.Yu., Dolomatov S.I. The influence of water and osmotic loads in experimental nephropathy induced by mercury chloride. *Nephrology*. – 2002. – 6(3). – p. 72-74.

Lucas GNC, Leitao ACC, Alencar R.L., Xaviez RMF, Daher E.F., da Silva Junior G.B. Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J. Brasnephrol.* 2019; 41 (1): 124-130. Doi: 20.1590/2175-8239-JBN-2018-D 109.

Gozhenko A.I. Pathogenesis of toxic nephropathy. *Actual Problems of Transport Medicine*. 2006, No. 4. – p. 9-15.

Marky K., Spanou L. Acute kidney injury: Definition, Pathophysiology and Clinical Phenotypes. *Clin. BioChem. Rev.* 2016; 37 (2): 85-98.

Rochal Laurentino M., Castelo L.R., Silva Lee S.A., Cozzi, Bush E.L., Rabb H. Distant Organ Dysfunction in Acute Kidney Injury: A Review *Am. J. Kidney Dis.* 2018, 72(6): 846-56. doi: 10.1053/j.ajkd. 2018. 03.028/

Література

1. Гоженко А.И., Долوماتов С.И., Лобанов А.К., Пономаренко А.Н., Карагаускас В.Ю. Влияние рифамицина на функциональное состояние почек белых крыс. *Актуальные проблемы медицины транспорта*. – 2005, 9(2). – с. 101-103.

2. Гоженко А.И. Патогенез токсических нефропатий. *Актуальные проблемы медицины транспорта*. – 2006, №4 – с. 25-30.

4. Kristal N.V., Gozhenko A.I., Sirman V.M. Pathophysiology of kidney. Kyiv: 2017, 230 p.
5. Mulay S.R., ShiMax, Anders H.S. Novel insights into Crystalindced kidney injury. *Kidney Di. (Basel)*. 2018; 4(2): 49-57. doi: 10/1159/000487671.
6. А.И. Гоженко. Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек. Автореферат на соискание степени доктора медицинских наук. Черновцы. – 1987. – 39 с.
7. О.Ф. Возіанов, А.І. Гоженко, О.С. Федорук. Гостра ниркова недостатність. Одеса. – 2003. – 398 с.
8. А.И. Гоженко. Патофизиология почек: от эксперимента к клинике. Одесса. – 2013. 39с.
9. Директива 2010/63/EU Європейського парламенту та Ради від 22.09.2010 про захист тварин, що використовуються для наукових цілей. – Official Journal L 276, 20.10.2010. – P. 0033-0079.
10. Наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту № 249 від 01.03.2012. – Офіційний вісник України від 06.04.2012. – 2012. – № 24. – стор.82, стаття 942. – код акту 60909/2012.
11. А.И. Гоженко, В.Ю. Карагаускас, С.И. Доломатов. Влияние водной и осмотических нагрузок при экспериментальной нефропатии, вызванной хлоридом ртути. *Нефрология*. – 2002. – 6(3). – с. 72-74.
12. Lucas GNC, Leitaо ACC, Alencar R.L., Xaviez RMF, Daher E.F., da Silva Junior G.B. Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drug. *J. Brasnephrol*. 2019; 41 (1): 124-130. Doi: 20.1590/2175-8239-JBN-2018-D 109.
13. А.И. Гоженко. Патогенез токсической нефропатии. Актуальные проблемы медицины транспорта. 2006, № 4. – с. 9-15.
14. Marky K., Spanou L. Acute kidney injury: Definition, Pathophysiology and Clinical Phenotypes. *Clin. BioChem. Rev*. 2016; 37 (2): 85-98.

15. Rochal Laurentino M., Castelo L.R., Silva Lee S.A., Cozzi, Bush E.L., Rabb H. Distant Organ Dysfunction in Acute Kidney Injury: A. Review Am. J. Kidney Dis. 2018, 72(6): 846-56. doi: 10.1053/j.ajkd. 2018. 03.028/