

УДК 577.169

DOI: 10.25688/2076-9091.2021.43.3.1

**Н. В. Жукова,
В. С. Бардин**

Стрессорное воздействие свинца на миокард белых крыс при введении калиевой соли 1,2,5-триметил-9-оксо- 6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7- карбоновой кислоты

Аннотация. Статья посвящена изучению стрессорного воздействия на организм свинца в присутствии синтетического аналога витамина PQQ, который обладает антиоксидантным действием.

Актуальность проблемы связана с тем, что тяжелые металлы, в том числе свинец, являются опасными загрязнителями окружающей среды. Поэтому поиск веществ, позволяющих уменьшить стрессорное воздействие свинца, является достаточно перспективным.

Цель исследования: изучение морфометрических показателей миокарда белых крыс при одновременном пероральном введении растворов ацетат свинца и калиевой соли 1,2,5-триметил-9-оксо-6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7-карбоновой кислоты.

Экспериментальное исследование проводили на белых беспородных крысах, масса которых составляла 200–250 г. Гистологическое исследование окрашенных гематоксилин-эозином образцов тканей проводили под микроскопом MT 4000 Series Biological Microscope.

Результаты исследования показали, что при одновременном приеме уксуснокислого свинца и синтетического аналога пирролохинолинхинона (калиевой соли 1,2,5-триметил-9-оксо-6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7-карбоновой кислоты) наблюдалась динамика, связанная с уменьшением стрессорного воздействия свинца.

Полученные результаты показывают, что калиевая соль 1,2,5-триметил-9-оксо-6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7-карбоновой кислоты, несомненно, оказывает

действие, связанное с уменьшением стрессорной нагрузки. Данный эффект связан со снижением перекисного окисления липидов, вследствие чего сократительный миокард желудочков сердца имел возможность регенерировать.

Ключевые слова: свинец; стресс; интоксикация; гипоталамус; гипофиз; гипоталамо-гипофизарно-адреналовая система; надпочечники; пирролохинолинхинон (PQQ).

UDC 577.169

DOI: 10.25688/2076-9091.2021.43.3.1

**N. V. Zhukova,
V. S. Bardin**

Stress effect of lead on the myocardium of white rats upon administration of the potassium salt of 1,2,5-trimethyl-9-oxo- 6,9-dihydro-1H-pyrrolo[2,3-f]quinoline-7- carboxylic acid

Abstract. The article is devoted to the study of the stressful effects of lead in the presence of a synthetic analogue of the behavior vitamin PQQ, which has an antioxidant effect.

The urgency of the problem is associated with the fact that heavy metals, including lead, are hazardous environmental pollutants. Therefore, the search for substances that can reduce the stressor effect of lead is quite promising.

Objective: to study the morphometric parameters of the myocardium of white rats with simultaneous oral administration of solutions of lead acetate and potassium salt 1,2,5-trimethyl-9-oxo-6,9-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-f] quinoline-7-carboxylic acid.

The experimental study was carried out on animals — white outbred rats, whose weight was 200–250 g. Histological examination of tissue samples stained with hematoxylin-eosin was carried out under an MT 4000 Series Biological Microscope.

The results of the study showed that while taking lead acetate and a synthetic analogue of pyrroloquinoline quinone (potassium salt of 1,2,5-trimethyl-9-oxo-6,9-dihydro-1H-pyrrolo[2,3-f]quinoline-7-carboxylic acid), there was a dynamics associated with a decrease in the stressor effect of lead.

The results show that the potassium salt of 1,2,5-trimethyl-9-oxo-6,9-dihydro-1H-pyrrolo[2,3-f]quinoline-7-carboxylic acid undoubtedly has an effect of reducing stress load. This effect is associated with a decrease in lipid peroxidation, as a result of which the contractile myocardium of the ventricles of the heart was able to regenerate.

Keywords: lead; stress; intoxication; hypothalamus; pituitary gland; hypothalamic-pituitary-adrenal system; adrenal glands; pyrroloquinoline quinone (PQQ).

Введение

Антропогенное воздействие на окружающую среду постоянно растет. Развитие отдельных отраслей промышленности и сельского хозяйства способствует появлению новых загрязняющих веществ. Одними из наиболее опасных поллютантов остаются тяжелые металлы. Многие из них относятся к веществам I класса опасности. Таковым, например, является свинец. Ионы свинца обладают высокой токсичностью, способны поражать отдельные органы и системы органов человека. Поэтому загрязнение свинцом объектов окружающей среды является неблагоприятным экологическим фактором [3, с. 18; 8, с. 147–160].

При попадании в живой организм тяжелого металла, в том числе и свинца, формируется стресс-реакция, что вызывает активацию нейроиммуноэндокринных процессов. Нейроиммуноэндокринная система состоит из гипоталамо-гипофизарно-адреналовой и гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной систем. К иммунной системе относят также гемопоэтины, которые вырабатываются клетками лимфоцитарного ряда и ретикулоэнтотелиальной системой. В ситуациях, которые представляют угрозу целостности и жизни организма, регуляторные системы действуют как единый механизм. При этом главным биологическим инструментом адаптации к стрессу являются глюкокортикоиды, являющиеся конечным продуктом гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы [5, с. 14–15].

Кортиколиберин-эргические нейроэндокринные нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса, которые являются главным звеном гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, посылают сигналы по аксонам наружной зоны срединного возвышения, где кортиколиберин поступает в кровоток портальной вены, а также воздействует на клетки аденогипофиза. Далее кортиколиберин с помощью рецепторов I типа активирует циклический аденозинмонофосфат, вследствие чего усиливается выработка адренкортикотропного гормона. Адренкортикотропный гормон стимулирует синтез глюкокортикоидов, вызывающих морфологические изменения в органах и тканях [2, с. 50–66].

Отравление свинцом представляет собой хронический и высокой степени интенсивности стресс для организма, который оказывает повреждающее действие на миокард сердца. Механизм повреждений подобного рода уже описан в литературе. Коротко его можно охарактеризовать следующим образом:

1-я стадия — во внутренней среде организма повышается концентрация катехоламинов;

2-я стадия — активизируется процесс перекисного окисления (активность сохраняется около пяти суток), в результате которого образуются гидроперекиси;

3-я стадия — гидроперекиси повреждают мембраны клеток сердца, мышц и аорты;

4-я стадия — из-за повышения проницаемости мембран лизосом кардиомиоцитов протеолитические ферменты попадают в цитоплазму и кровь;

5-я стадия — повреждение биомембран клеток протеолитическими ферментами [4, с. 92–116].

Для минимизации стрессорного воздействия различных агентов, в том числе и соединений свинца, следует применять вещества, минимизирующие это воздействие.

Исследования Румы Рагхуваниша, Арчаны Чоудхари и Г. Нареша Кумара показали, что пирролохинолинхинон в качестве антиоксиданта против повреждения, вызванного тяжелыми металлами, дает высокие результаты [11, с. 541–552].

В исследованиях Ю. Хамагиси, С. Мураты, Х. Камея, Т. Оки, О. Адачи и М. Амеямы показано, что пирролохинолинхинон снижает перекисное окисление липидов значительно лучше, чем идебенон, альфа-токоферол и аскорбиновая кислота, поэтому именно PQQ нами был выбран как фактор, снижающий стрессорное воздействие свинца [10, с. 80–85].

Пирролохинолинхинон (PQQ) обладает уникальными окислительно-восстановительными свойствами, которые во много раз превосходят многие известные антиоксиданты, являясь важным нутрицевтическим фактором [6: с. 256–259]. Сегодня проводятся исследования по поиску удобных методов синтеза замещенных пирролохинолинов, которые по структуре являются аналогами витамина PQQ. Еще более актуальны исследования, посвященные изучению биологической активности синтетически полученных пирролохинолинов. В нашем исследовании в качестве синтетического аналога PQQ была использована калиевая соль 1,2,5-триметил-9-оксо-6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7-карбоновой кислоты, полученной из 1,2,5-триметил-6-аминоиндола и щавелевоуксусного эфира [12, с. 793–801]. Действие данного соединения на микроорганизмы уже было изучено. Авторами работы [7, с. 153–163] в ходе микробиологического исследования было выявлено, что калиевая соль 1,2,5-триметил-9-оксо-6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7-карбоновой кислоты стимулирует рост штаммов *Streptococcus pyogenes*.

Методы исследования

Экспериментальное исследование проводили на белых беспородных крысах. Для эксперимента использовали 50 особей мужского пола. Животные были разделены на 3 группы: в первую группу (контрольную) входило 20 особей, которые содержались в обычном режиме; животным второй группы (15 особей) перорально ввели раствор ацетата свинца, доза которого составляла 45 мг/кг в сутки; животным третьей группы (15 особей) одновременно вводили растворы ацетата свинца (в дозе 45 мг/кг в сутки) и синтезированного аналога пирролохинолинхинона (соединение 1 — калиевая соль

1,2,5-триметил-9-оксо-6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7-карбоновой кислоты) в дозе 15 мг/кг в сутки.

Длительность эксперимента составляла 14 дней, после чего животные были умерщвлены в соответствии с требованиями Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (согласно директивам Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации).

Гистологические исследования проводились на образцах тканей экспериментальных животных, зафиксированных 10%-ным раствором формалина и залитых парафином. В исследовании использовались окрашенные гематоксилин-эозином срезы тканей диаметром 3–5 мкм. Измерения делались под микроскопом MT 4000 Series Biological Microscope (с программным обеспечением BioVision Version 4.0) с увеличением 40×10 и разрешением изображений 1280×1024 пикселей.

Морфометрические показатели, которые определялись у кардиомицитов в ходе исследования, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Морфометрические показатели миокарда белых крыс

№	Показатель кардиомицитов	Группа 1	Группа 2	Группа 3
1	Диаметр	$9,3 \pm 0,3$	$7,3 \pm 0,28^*$	$7,97 \pm 0,31^*$
2	Длина	$75,25 \pm 3,94$	$69,76 \pm 2,98^*$	$71,22 \pm 3,03^*$
3	Площадь	$617,37 \pm 41,67$	$386,11 \pm 28,12^*$	$410,54 \pm 29,9^*$
4	Площадь цитоплазмы	$591,4 \pm 42,42$	$356,43 \pm 27,61^*$	$382,23 \pm 29,61^*$
5	Количество ядер в поле зрения	$25,57 \pm 1,34$	$34,58 \pm 1,34^*$	$32,95 \pm 1,28^*$
6	Площадь ядер	$25,97 \pm 2,29$	$29,65 \pm 2,05^*$	$28,31 \pm 1,96^*$
7	Диаметр ядер	$5,4 \pm 0,43$	$6,63 \pm 0,23^*$	$6,1 \pm 0,48^*$
8	Диаметр сосудов	$15,97 \pm 0,75$	$17,74 \pm 0,75^*$	$17,01 \pm 1,33^*$
9	Площадь сосудов	$1428,35 \pm 127,38$	$1441,41 \pm 123,92^*$	$1432,11 \pm 123,12^*$
10	Диаметр просвета сосудов	$7,05 \pm 0,39$	$9,26 \pm 0,75^*$	$8,73 \pm 1,02^*$
11	Площадь соединительно-тканной прослойки	$1827,51 \pm 54,68$	$2045,37 \pm 40,39^*$	$1993,95 \pm 61,32^*$
12	Ядерно-цитоплазматическое отношение**	$0,03 \pm 0,001$	$0,04 \pm 0,004^*$	$0,07 \pm 0,005$
13	Стромально-кардиомиоцитарные отношения***	$5,28 \pm 0,04$	$9,04 \pm 0,13^*$	$8,35 \pm 0,65^*$

Примечания: * — $P \leq 0,05$ по сравнению с животными контрольной группы; ** — площадь ядра / площадь цитоплазмы; *** — площадь сосудов + площадь соединительной ткани / площадь кардиомиоцитов.

Цифровые данные были обработаны статистически доступным программным обеспечением и проверены по t -критерию Стьюдента (оценка статистических гипотез — $P \leq 0,05$).

Результаты исследования

Гистологические и морфометрические исследования сократительного миокарда экспериментальных животных группы 2 показали наличие стрессорного действия ацетата свинца.

В окрашенных гематоксилин-эозином срезах образцов тканей миокарда белых крыс группы 2 по сравнению с контрольной группой 1 было отмечено уменьшение диаметра (на 21,51 % ($P \leq 0,05$)), длины (на 7,31 % ($P \leq 0,05$)) и площади (на 37,46 % ($P \leq 0,05$)) кардиомиоцитов (табл. 1).

Гистологический анализ микропрепаратов образцов тканей животных группы 2 показал, что сократительные кардиомиоциты сердца имеют нечеткие контуры, при этом цитоплазма окрашена неравномерно, с включениями. Наблюдается нечетко выраженная поперечная исчерченность миоцитов и отмечаются участки инфильтрации в межклеточном пространстве. В ядрах миоцитов наблюдается деконденсация хроматина, а сами ядра имеют разнообразную форму (вытянутую, округлую). По сравнению с образцами тканей животных контрольной группы наблюдается: увеличение числа ядер на 34,69 % ($P \leq 0,05$), при этом чаще встречаются двуядерные клетки, характерные для миокарда; увеличение диаметра ядер на 22,78 % ($P \leq 0,05$); увеличение площади ядер на 14,17 % ($P \leq 0,05$); рост ядерно-цитоплазматического индекса на 33,33 % ($P \leq 0,05$) (табл. 1). Все результаты согласуются с литературными данными [1, с. 454–459, 9, с. 5–39].

Также в гистологических препаратах животных группы 2 можно было наблюдать расширение мелких артериол, а также разрастание в стенке сердца и между мышечными волокнами соединительной ткани. По сравнению с контрольными образцами тканевых срезов наблюдается увеличение: диаметра сосудов — на 11,08 % ($P \leq 0,05$), диаметра просвета сосудов — на 31,35 % ($P \leq 0,05$), общей площади сосудов — на 0,91 % ($P \leq 0,05$), стромально-кардиомиоцитарного отношения — на 71,21 % ($P \leq 0,05$) (см. табл. 1).

Очевидно, что подобные изменения вызваны механизмами, связанными с высокими концентрациями катехоламинов, описанными выше. Вследствие повреждения мембран сарколеммы и саркоплазматического ретикула происходит нарушение транспортировки ионов Ca^{2+} , а также их выведение из клетки. Это нарушение вызывает гибель кардиомиоцитов и замещение их стромой. Помимо этого, необходимо отметить, что протеолитические ферменты способны повреждать сосуды капиллярного русла миокарда [4, с. 92–116].

Факт наличия значительных морфологических изменений в миокарде опытных животных группы 1, вызванных введением ионов свинца, позволяет утверждать, что свинец — это стрессорный фактор.

При одновременном приеме уксуснокислого свинца и синтетического аналога витамина PQQ (соединения 1) наблюдалась динамика, связанная с уменьшением стрессорного воздействия свинца (см. табл. 1). Размеры кардиомиоцитов в группе 3, по сравнению с группой 2, увеличивались: диаметр

кардиомиоцитов — на 9,18 % ($P \leq 0,05$), длина кардиомиоцитов — на 2,09 % ($P \leq 0,05$), площадь кардиомиоцитов — на 6,33 % ($P \leq 0,05$).

В группе 3 сохраняется полиморфизм ядер кардиомиоцитов, но при этом их количество по сравнению с группой 2 уменьшается на 4,71 % ($P \leq 0,05$). Морфометрические показатели ядер кардиомиоцитов также изменялись: диаметр уменьшился на 7,99 % ($P \leq 0,05$), а площадь — на 4,52 % ($P \leq 0,05$). Ядерно-цитоплазматический индекс в группе 3, по сравнению с группой 2, вырос.

Изменения микроциркуляторного русла в группе 3, по сравнению с группой 2, также положительные.

Заключение

Полученные результаты показывают, что калиевая соль 1,2,5-триметил-9-оксо-6,9-дигидро-1Н-пирроло[2,3-f]хинолин-7-карбоновой кислоты, несомненно, оказывает действие, связанное с уменьшением стрессорной нагрузки. Данный эффект связан со снижением перекисного окисления липидов, вследствие чего сократительный миокард желудочков сердца имеет возможность регенерировать. Таким образом, результаты данного исследования позволяют утверждать, что пирролохинолины, синтезированные на основе аминокислот и щавелевоусусного эфира, можно отнести к синтетическим аналогам витамина PQQ.

Список источников

1. Бродский В. Я. Полиплоидия в миокарде: компенсаторный резерв сердца // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1995. Т. 199. № 5. С. 454–459.
2. Гриневиц В. В., Акмаев В. В., Абрамова Н. А. Иерархические взаимоотношения между органами гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) при воспалении // Успехи физиологических наук. 1999. № 4. С. 50–66.
3. Ливанов П. А., Соболев М. Б., Ревич Б. А. Свинцовая опасность и здоровье населения // Российский семейный врач. 1999. № 2. С. 18.
4. Меерсон Ф. З., Пшенникова М. Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина, 1988. 256 с.
5. Месхидзе Е. Б. Гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система в условиях воспаления: автореф. дис. ... канд. мед. наук (03.00.25) / РГМУ РосЗдрава. М., 2008. 19 с.
6. Расулова С. С., Власова Ю. А., Дадали В. А. Влияние пирролохинолинхинона (PQQ) на рост и неонатальное развитие экспериментальных животных // Молодой ученый. 2017. № 14. С. 256–259. URL: <https://moluch.ru/archive/148/41799/>
7. Степаненко И. С. Изучение биологической активности калиевых солей замещенных пирроло [2,3-f]- и [3,2-f]хинолинкарбоновых кислот / И. С. Степаненко и др. // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30345>; DOI: 10.17513/spno.30345
8. Титов А. Ф. Влияние свинца на живые организмы / А. Ф. Титов и др. // Журнал общей биологии. 2020. Т. 81. № 2. С. 147–160.

9. Шпонька И. С. Гистогенетические процессы в развивающемся миокарде млекопитающих: монография. Днепропетровск: Пороги, 1996. С. 5–39.
10. Hamagishi Y. New biological properties of PQQ and its related compounds: inhibition of chemiluminescence, lipid peroxidation and rat paw edema / Y. Hamagishi et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1990. Vol. 255. P. 80–85.
11. Ruma Raghuvanshi, Archana Chaudhari, G. Naresh Kumar. 2-Ketogluconic acid and pyrroloquinoline quinone secreting probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 as a dietary strategy against heavy metal induced damage in rats // *Journal of Functional Foods*. 2017. Vol. 37. P. 541–552.
12. Yamashkin S. A., Zhukova N. V., Romanova I. S. Synthesis of pyrroloquinolines from substituted 6-aminoindoles and oxaloacetic ester // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2008. T. 44. № 7. P. 793–801. DOI: 0.1007/s10593-008-0111-8

References

1. Brodskij V. Ya. Poliploidiya v miokarde: kompensatorny'j rezerv serdca // *Byulleten' e'ksperimental'noj biologii i mediciny'*. 1995. T. 199. № 5. S. 454–459.
2. Grinevich V. V., Akmaev V. V., Abramova N. A. Ierarxicheskie vzaimootnoshenii mezhdu organami gipotalamo-gipofizarno adrenalovoj sistemy' (GGAS) pri vospalenii // *Uspexi fiziologicheskix nauk*. 1999. № 4. S. 50–66.
3. Livanov P. A., Sobolev M. B., Revich B. A. Svinczovaya opasnost' i zdorov'e naseleniya // *Rossijskij semejny'j vrach*. 1999. № 2. S. 18.
4. Meerson F. 3., Pshennikova M. G. Adaptaciya k stressornym situacijam i fizičeskim nagruzkam. M.: Medicina, 1988. 256 s.
5. Mesxidze E. B. Gipotalamo-gipofizarnaya nejrosekretornaya sistema v usloviyax vospaleniya: avtoref. dis. ... kand. med. nauk (03.00.25) / RGMU RosZdrava. M., 2008. 19 s.
6. Rasulova S. S., Vlasova Yu. A., Dadali V. A. Vliyanie pirroloxinolinxinona (PQQ) na rost i neonatal'noe razvitie e'ksperimental'ny'x zhivotny'x // *Molodoj uchenyj*. 2017. № 14. S. 256–259. URL: <https://moluch.ru/archive/148/41799/>
7. Stepanenko I. S. Izuchenie biologicheskoy aktivnosti kalievyy'x solej zameshhenny'x pirrolo [2,3-f]- i [3,2-f] xinolinkarbonovy'x kislot / I. S. Stepanenko i dr. // *Sovremennyy'e problemy' nauki i obrazovaniya*. 2020. № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30345>. DOI: 10.17513/spno.30345
8. Titov A. F. Vliyanie svincza na zhivy'e organizmy' / A. F. Titov i dr. // *Zhurnal obshhej biologii*. 2020. T. 81. № 2. S. 147–160.
9. Shpon'ka I. S. Gistogeneticheskie processy' v razvivayushhemsya miokarde mlekopitayushhix: monografiya. Dnepropetrovsk: Porogi, 1996. S. 5–39.11.
10. Hamagishi Y. New biological properties of PQQ and its related compounds: inhibition of chemiluminescence, lipid peroxidation and rat paw edema / Y. Hamagishi et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1990. Vol. 255. P. 80–85.
11. Ruma Raghuvanshi, Archana Chaudhari, G. Naresh Kumar. 2-Ketogluconic acid and pyrroloquinoline quinone secreting probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 as a dietary strategy against heavy metal induced damage in rats // *Journal of Functional Foods*. 2017. Vol. 37. P. 541–552.
12. Yamashkin S. A., Zhukova N. V., Romanova I. S. Synthesis of pyrroloquinolines from substituted 6-aminoindoles and oxaloacetic ester // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2008. T. 44. № 7. P. 793–801. DOI: 0.1007/s10593-008-0111-8