

УЧАСТИЕ ГОРМОНОВ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-
АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС В ГАСТРОПРОТЕКЦИИ
ПРИ СЕНСИТИЗАЦИИ И ДЕСЕНСИТИЗАЦИИ
КАПСАИЦИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ АФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ

© 2020 г. Т. Т. Подвигина¹, *, О. Ю. Морозова¹, О. П. Комкова¹, Л. П. Филаретова¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: tpodvigina@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.07.2020 г.

После доработки 08.09.2020 г.

Принята к публикации 08.09.2020 г.

Задачей настоящей работы явилось: а) изучение вклада глюкокортикоидных гормонов в гастропротекцию, индуцированную сенситизацией капсаицин-чувствительных афферентных нейронов (КЧН), б) исследование гастропротективного эффекта кортикотропин-рилизинг-фактора (КРФ) в условиях десенситизации КЧН и возможного участия кортикостерона в этом эффекте. Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Спрейг–Доули массой 260–300 г. В качестве ulcerогенных стимулов использовали иммобилизацию при температуре 10°C (3 ч) или введение индометацина в дозе 35 мг/кг. Сенситизацию КЧН индуцировали введением капсаицина в дозах 1 и 10 мг/кг за 1 ч до предъявления ulcerогенных стимулов, десенситизацию – введением капсаицина в суммарной нейротоксической дозе 100 мг/кг (20 + 30 + 50) в течение 3-х последовательных дней за 2 недели до начала экспериментов. КРФ вводили внутривентрикулярно в дозе 2.5 мг/кг за 30 мин до введения индометацина крысам с десенситизацией КЧН. Для изучения вовлечения кортикостерона в изучаемые гастропротективные эффекты использовали ингибитор его синтеза метирапон в дозе 30 мг/кг. Капсаицин, введенный в дозах 1 и 10 мг/кг, вызывал гастропротективный эффект в обеих ulcerогенных моделях. Введение метирапона за 30 мин до капсаицина устраняло гастропротективный эффект сенситизации КЧН, вызванной введением капсаицина в дозе 1 мг/кг, но не влияло на гастропротективный эффект капсаицина при его введении в дозе 10 мг/кг. Введение КРФ индуцировало гастропротективный эффект не только у контрольных крыс, но и у животных с десенситизацией КЧН. Результаты экспериментов с метирапоном свидетельствуют о том, что обнаруженный гастропротективный эффект КРФ у крыс с десенситизацией КЧН, по крайней мере, частично опосредуется кортикостероном.

Ключевые слова: капсаицин-чувствительные афферентные нейроны, глюкокортикоидные гормоны, кортикотропин-рилизинг фактор, эрозии желудка, гастропротекция, глюкоза, метирапон

DOI: 10.31857/S0869813920110072

Известно, что сенситизация капсаицин-чувствительных афферентных нейронов (КЧН) оказывает защитное действие на слизистую оболочку желудка [1–5], а десенситизация КЧН, напротив, усугубляет ulcerогенное действие на желудок различных факторов [6–9]. Влияние капсаицина опосредуется ваниллоидными рецепторами (TRPV1) [9–11]. Реализация гастропротективного эффекта КЧН проис-

ходит с участием кальцитонин-ген-связанного пептида, который выделяется из нервных окончаний при стимуляции КЧН [9, 12, 13]. Показано участие простагландинов и оксида азота в опосредовании гастропротективного эффекта капсаицина [9, 12–14].

Взаимодействие глюкокортикоидных гормонов и КЧН в гастропротекции до исследований нашей лаборатории не изучалось, что может быть связано с укоренившейся в литературе точкой зрения о глюкокортикоидных гормонах как ulcerогенных факторах [15, 16]. Исследования, проведенные в нашей лаборатории, доказали гастропротективную роль глюкокортикоидных гормонов, выделяющихся при стрессе [17–20], а также при действии других ulcerогенных факторов, в том числе и индометацина [21]. Кроме того, при определенных условиях мы продемонстрировали гастропротективное влияние и экзогенных глюкокортикоидов [21]. Изучение механизмов гастропротективного действия глюкокортикоидных гормонов выявило наличие общих мишеней с КЧН в гастропротекции [2, 17, 22, 23], что привело к предположению о возможном их взаимодействии. Это предположение подтвердилось в исследованиях лаборатории, продемонстрировавших компенсаторную гастропротективную роль эндогенных глюкокортикоидных гормонов в поддержании целостности слизистой оболочки желудка при десенситизации КЧН [8].

Вопрос об участии глюкокортикоидных гормонов в опосредовании гастропротективного действия сенситизации КЧН в литературе не освещен. В нашей предыдущей работе [24] было показано дозозависимое уменьшение площади индометацин-индуцированных эрозий желудка при введении капсаицина в малых дозах, а также параллельное повышение уровня кортикостерона и глюкозы в крови. Введение метирапона (ингибитора синтеза кортикостерона) предотвращало повышение уровня кортикостерона в ответ на введение капсаицина и устраняло гастропротективный эффект капсаицина, введенного в дозе 1 мг/кг [24]. Полученные результаты свидетельствуют об участии глюкокортикоидных гормонов в опосредовании гастропротективного эффекта капсаицина в указанных условиях. Настоящая работа является продолжением этих исследований.

Предположение о возможной гастропротективной роли кортикотропин-рилизинг-фактора (КРФ) у крыс с десенситизацией КЧН также основано на результатах наших предыдущих исследований, в которых был подтвержден гастропротективный эффект КРФ при действии различных ulcerогенных стимулов и впервые показано вовлечение глюкокортикоидных гормонов в реализацию этого эффекта [19, 25–27]. Вопрос о возможности гастропротективного действия КРФ в условиях десенситизации КЧН ранее не изучался.

Таким образом, задачей настоящей работы явилось: а) изучение вклада глюкокортикоидных гормонов в гастропротекцию, индуцированную сенситизацией КЧН, б) исследование гастропротективного эффекта КРФ в условиях десенситизации КЧН и возможного участия кортикостерона в этом эффекте.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на животных из биокolleкции “Colleкция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Спрейг–Доули массой около 260–300 г. Количество крыс в экспериментальных группах варьировало от 8 до 12. За неделю до начала экспериментов крыс акклиматизировали к стандартным условиям лабораторного вивария: температура 20–22°C, световой режим 12 ч: 12 ч (включение света в 8 ч, выключение в 20 ч), свободный доступ к воде и пище. Сенситизацию КЧН индуцировали однократным введением капсаицина в дозах 1 и 10 мг/кг. Капсаицин (Sigma-Aldrich, Германия) для

этой цели вводили подкожно в объеме 5 мл/кг за 1 ч до применения ulcerогенного стимула. Выбор этих доз капсаицина был сделан на основании полученных в предыдущей работе результатов о дозозависимом гастропротективном эффекте капсаицина [24]. Контрольным крысам вводили растворитель капсаицина — спирт : твин 80 : физиологический раствор в объемном соотношении 5 : 5 : 90 соответственно.

Для десенситизации КЧН капсаицин вводили крысам под эфирным наркозом в нейротоксической дозе 100 мг/кг в течение 3-х последовательных дней (20, 30, 50 мг/кг) подкожно, в объеме 5 мл/кг. В этом случае использовали растворитель капсаицина с другим соотношением компонентов — спирт : твин : физиологический раствор соответственно — 10 : 10 : 80. Десенситизацию КЧН производили за 2 нед. до ulcerогенного стимула.

Эффекты сенситизации КЧН на слизистую оболочку желудка крыс изучали в условиях действия двух ulcerогенных стимулов: иммобилизации в пеналах при температуре 10°C в течение 3-х ч или индометацина (подкожное введение в дозе 35 мг/кг в объеме 5 мл/кг за 4 ч до декапитации). Влияние десенситизации КЧН на изучаемые показатели исследовали только в индометациновой ulcerогенной модели. Ulcerогенные стимулы применялись после 24-часового голодания животных.

Для изучения роли кортикостерона в гастропротекции, вызванной сенситизацией КЧН, использовали ингибитор его синтеза метирапон (Sigma-Aldrich, Германия). Метирапон вводили внутривентриально в дозе 30 мг/кг за 30 мин до введения капсаицина. Контрольным крысам вводили растворитель метирапона: 0.9%-ный раствор NaCl с каплей твина 80.

Схема экспериментов: голод 24 ч, введение метирапона (ингибитора синтеза кортикостерона), через 30 мин введение капсаицина в дозе 1 или 10 мг/кг (сенситизация КЧН), через 1 ч применение ulcerогенного стимула (иммобилизация при 10°C или введение индометацина), декапитация через 3 ч после начала иммобилизации или через 4 ч после введения индометацина. Эксперименты без метирапона начинались соответственно с введения капсаицина.

Возможность проявления гастропротективного эффекта КРФ у крыс с десенситизацией КЧН оценивали после внутривентриального введения КРФ (Sigma-Aldrich, Германия) в дозе 2.5 мкг/кг за 30 мин до применения индометацина. Чтобы проверить, влияет ли десенситизация КЧН на чувствительность гипофизарно-адреноренальной системы гипоталамо-гипофизарно-адреноренальной системы (ГПАКС) к КРФ, сравнивали влияние введения КРФ у контрольных и десенситизированных крыс на уровень кортикостерона в крови через 30 мин после его введения (без ulcerогенных факторов). В опытах с изучением роли кортикостерона в гастропротекции КРФ у крыс с десенситизацией КЧН также использовали метирапон, который вводили за 30 мин до введения КРФ.

Схема экспериментов: введение капсаицина в течение 3-х последовательных дней в дозах 20, 30 и 50 мг/кг соответственно; в течение 13 дней развитие десенситизации КЧН, голод 24 ч, 14-й день — введение метирапона, через 30 мин — введение КРФ, еще через 30 мин — введение индометацина в ulcerогенной дозе, через 4 ч — декапитация животных. Эксперименты без метирапона начинались с введения КРФ.

При декапитации брали пробы крови для определения уровней кортикостерона и глюкозы. Наш интерес к определению глюкозы связан с имеющимися данными о том, что поддержание глюкокортикоидными гормонами уровня глюкозы в крови может быть одним из механизмов их гастропротективного действия [17, 21]. Площадь эрозий оценивали на основании фотографий желудков с помощью модифицированной компьютерной программы Image J [28]. Содержание глюкозы определяли в капле крови крыс с помощью тест-полосок системы One Touch Ultra, США.

Уровень кортикостерона в плазме крови определяли иммуноферментным методом с использованием набора реагентов “Кортикостерон крыса/мышь-ИФА” (ХЕМА). Все данные обрабатывали статистически. Непараметрический метод Манна–Уитни использовали для сравнения площадей эрозий слизистой оболочки желудка и уровней кортикостерона в крови, для анализа изменений уровня глюкозы использовали *t*-критерий Стьюдента.

Исследования проводились в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями Комиссии по содержанию и использованию животных Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Стимуляция КЧН при введении капсаицина в дозах 1 и 10 мг/кг приводила к дозозависимому гастропротективному эффекту в обеих ulcerогенных моделях (рис. 1). Выбранные модели существенно различались между собой по изменениям исследуемых физиологических параметров у контрольных животных (с введением растворителя капсаицина) и этим были интересны для сопоставления. Например, у контрольных крыс иммобилизация при холоде вызывала значительно большее повреждение слизистой оболочки желудка по сравнению с таковым после введения индометацина в ulcerогенной дозе. При стрессе наблюдался очень высокий подъем кортикостерона в крови и достаточно высокий уровень глюкозы, несмотря на предварительное голодание. В индометациновой модели уровень глюкозы после голода был низким, уровень кортикостерона значительно ниже, чем в группе контрольных крыс после стресса (рис. 1).

Тем не менее, в обеих ulcerогенных моделях наблюдался защитный эффект сенситизации КЧН на слизистую оболочку желудка, наиболее ярко выраженный в стрессорной модели после введения капсаицина в дозе 10 мг/кг: в этом случае происходило снижение площади эрозий с очень высоких значений у контрольных крыс до очень низких при введении капсаицина (рис. 1А). Несмотря на высокий уровень глюкозы и кортикостерона в крови контрольных крыс через 3 ч после начала иммобилизации, предварительное введение капсаицина в дозе 10 мг/кг (но не в дозе 1 мг/кг) приводило к дальнейшему росту этих показателей (рис. 1А). В индометациновой ulcerогенной модели введение капсаицина в дозе 10 мг/кг также оказало более выраженный гастропротективный эффект по сравнению с таковым при дозе 1 мг/кг (рис. 1В). При введении капсаицина (1 и 10 мг/кг) в индометациновой модели наблюдалось дозозависимое увеличение уровня глюкозы и кортикостерона в крови. Следует обратить внимание на то, что в индометациновой модели увеличение уровней кортикостерона и глюкозы после введения капсаицина в дозе 1 мг/кг происходило на фоне невысоких уровней этих показателей у контрольных животных (через 4 ч после введения индометацина) (рис. 2В).

Введение метирапона, ингибитора синтеза кортикостерона, как в стрессорной, так и в индометациновой ulcerогенной модели приводило к устранению гастропротективного эффекта капсаицина, введенного в дозе 1 мг/кг, о чем свидетельствует повышение площади эрозий до уровня контрольных значений у крыс без введения капсаицина (рис. 2, 3). При этом в стрессорной ulcerогенной модели не наблюдалось достоверных изменений в уровне кортикостерона и глюкозы в крови, тестируемом через 3 ч после начала действия стрессорного стимула (рис. 2), в индометациновой модели введение метирапона приводило к снижению уровня кортикостерона через 4 ч после введения индометацина (рис. 3).

В условиях введения капсаицина в дозе 10 мг/кг метирапон не вызывал достоверных изменений в гастропротективном эффекте сенситизации КЧН в обеих ulcerо-

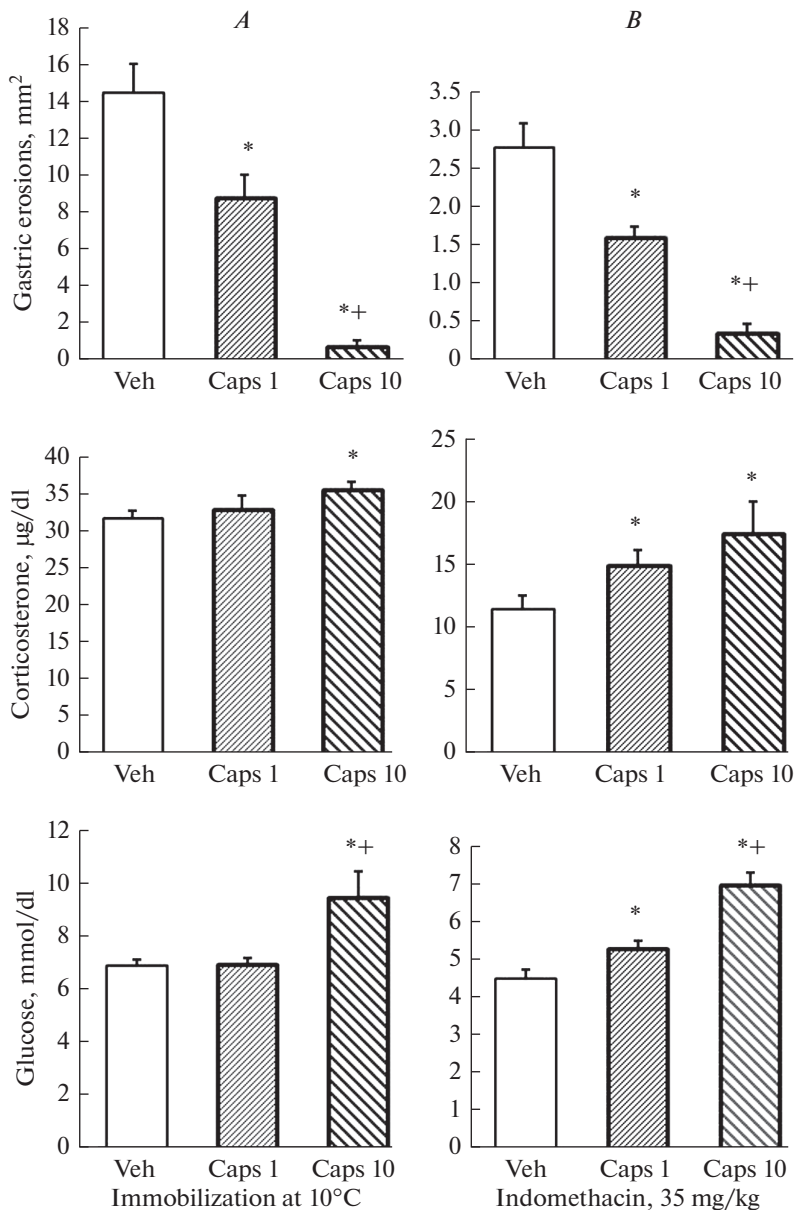


Рис. 1. Влияние сенситизации КЧН (введение капсаицина в дозе 1 и 10 мг/кг за 1 ч до ulcerогенного стимула) на площадь эрозий желудка, уровень кортикостерона и глюкозы в крови крыс через 3 ч после начала иммобилизации при 10°C (A) или через 4 ч после введения индометацина (B).

Veh – растворитель капсаицина, Caps 1 или Caps 10 – капсаицин в дозе 1 или 10 мг/кг. $p < 0.05$: * от Veh, + от Caps 1. Число крыс в группе 10–12.

Fig. 1. The effect of CSN sensitization (administration of capsaicin at the dose of 1 mg/kg or 10 mg/kg 1 h before ulcerogenic stimuli) on the gastric erosions, blood corticosterone and glucose level in rats 3 h after the onset of immobilization (A) or 4 h after indomethacin administration (B).

Veh – capsaicin vehicle, Caps 1 or Caps 10 – capsaicin at the dose of 1 or 10 mg/kg $p < 0.05$: * from Veh, + from Caps 1 mg/kg. $n = 10-12$.

генных моделях (рис. 2, 3). При этой дозе капсаицина не было найдено достоверных различий и в уровне кортикостерона в крови крыс после введения метирапона.

При десенситизации КЧН чувствительность гипофизарно-адренкортикально-го звена ГГКС к экзогенному КРФ, определяемая по уровню кортикостерона в крови, не изменялась по сравнению с таковой у контрольных животных: уровень кортикостерона в крови через 30 мин после введения КРФ был одинаково повышен у обеих групп крыс по сравнению с контрольными значениями (рис. 4). Не наблюдалось каких-либо изменений в уровне глюкозы.

Десенситизация КЧН, как и следовало ожидать, приводила к увеличению чувствительности слизистой оболочки желудка к ulcerогенному действию индометацина. Внутривентриальное введение КРФ за 30 мин до введения индометацина оказывало гастропротективный эффект как у контрольных крыс, так и у крыс с десенситизацией КЧН, при этом снижение площади эрозий у десенситизированных крыс в процентном отношении оказалось даже более выраженным по сравнению с контрольными животными (рис. 5). Так, у контрольных крыс площадь эрозий под влиянием КРФ снизилась на 50%, у десенситизированных крыс – на 70%.

Для выяснения вопроса о роли кортикостерона в наблюдаемом гастропротективном эффекте КРФ также был использован метирапон, который вводили до введения КРФ. Введение метирапона контрольным крысам не просто устраняло защитный эффект КРФ, а приводило к увеличению площади эрозий по сравнению с таковой у контрольных крыс. У крыс с десенситизацией КЧН введение метирапона приводило к повышению площади эрозий по сравнению с таковой у крыс с введением КРФ без метирапона, однако, наблюдаемая площадь эрозий оставалась ниже значений контрольных крыс с десенситизацией КЧН (без КРФ), т.е. защитный эффект КРФ все же частично сохранялся (рис. 5). Уровни кортикостерона и глюкозы в крови практически не изменялись после введения метирапона у крыс с десенситизацией КЧН по сравнению с таковыми у контрольных крыс (без метирапона) за исключением небольшого, но достоверного подъема глюкозы после введения метирапона крысам с десенситизацией КЧН (рис. 5). Отсутствие изменений может быть связано с тем, что тестирование кортикостерона и глюкозы происходило отставлено по времени после введения метирапона, действие которого является кратковременным.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

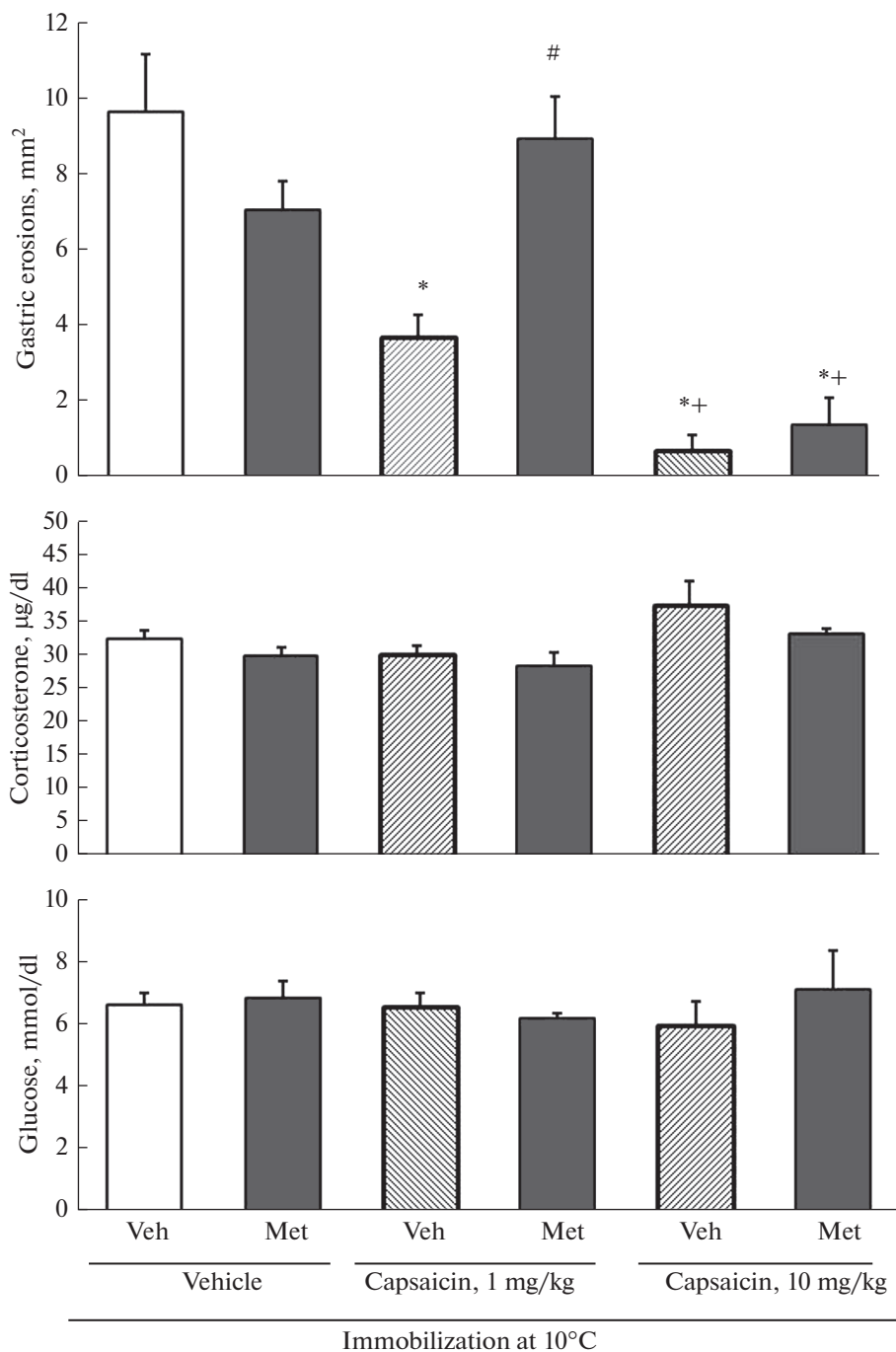
Введение капсаицина в дозах 1 и 10 мг/кг оказывало дозозависимый гастропротективный эффект в обеих ulcerогенных моделях (иммобилизационный стресс при холоде или введение индометацина), что, исходя из данных литературы [4, 5, 24], было ожидаемым. Особенно впечатляющим гастропротективное действие

Рис. 2. Эффект метирапона (введение в дозе 30 мг/кг за 30 мин до капсаицина) на площадь эрозий желудка, уровень кортикостерона и глюкозы в крови крыс с сенситизацией КЧН через 3 ч после начала иммобилизации при 10°C.

Veh – растворитель метирапона (0.9%-ный раствор NaCl), Met – метирапон, Vehicle – растворитель капсаицина. $p < 0.05$: * от Veh – Vehicle, # от Veh – Capsaicin 1 мг/кг, + – от соответствующей группы в Capsaicin 1 мг/кг. Число крыс в группе 9–10.

Fig. 2. The effect of metyrapone administration at the dose of 30 mg/kg (i.p., 30 min before capsaicin injection) on the gastric erosions, blood corticosterone and glucose level in rats with sensitization of CSN 3 h after the onset of immobilization.

Met – metyrapone, Veh – metyrapone vehicle – 0.9% NaCl, Vehicle – capsaicin vehicle. $p < 0.05$: * from Veh in Vehicle, # from Veh in Capsaicin 1 mg/kg, + from the appropriate group in Capsaicin 1 mg/kg. $n = 9–10$.



капсаицина было при его введении в дозе 10 мг/кг в стрессорной ulcerогенной модели.

Участие кортикостерона в гастропротективном эффекте сенситизации КЧН, исследованное путем кратковременного ингибирования его синтеза метирапоном, проявилось при введении капсаицина в дозе 1 мг/кг в обеих ulcerогенных моделях. Этот факт, обнаруженный нами ранее в индометациновой ulcerогенной модели [24], подтвердился и в настоящей работе. Мы посчитали необходимым повторить эти опыты для более корректного сравнения эффекта двух доз капсаицина в двух ulcerогенных моделях. Как показали результаты настоящей работы, при использовании стрессорной модели также было обнаружено участие кортикостерона в защитном влиянии сенситизации КЧН на желудок, если она была вызвана введением капсаицина в дозе 1 мг/кг. Вместе с тем, в обеих ulcerогенных моделях введение метирапона не повлияло на гастропротективный эффект капсаицина при его введении в дозе 10 мг/кг. В чем причина таких различий, пока не ясно. Можно предположить, что при применении более высокой дозы капсаицина подключаются другие механизмы его гастропротективного действия, не связанные с действием кортикостерона. Кроме того, представляется вероятным, что влияние метирапона, кратковременного ингибитора синтеза кортикостерона [19, 29], оказывается недостаточным для того, чтобы повлиять на высокий уровень кортикостерона, вызванный применением ulcerогенных факторов, да еще усиленный действием капсаицина в дозе 10 мг/кг. Тот факт, что не всегда проявляется ожидаемое изменение уровня кортикостерона при введении капсаицина или метирапона, можно еще объяснить кратковременностью этих изменений и длительностью эксперимента, связанную с применением ulcerогенных факторов. Это можно продемонстрировать на примере введения КРФ: к концу эксперимента через 4 ч после введения индометацина уровень кортикостерона в крови крыс с введением КРФ не отличался от контрольных значений. Однако через 30 мин после введения КРФ, как было показано в отдельном опыте, наблюдалось достоверное повышение уровня кортикостерона в крови.

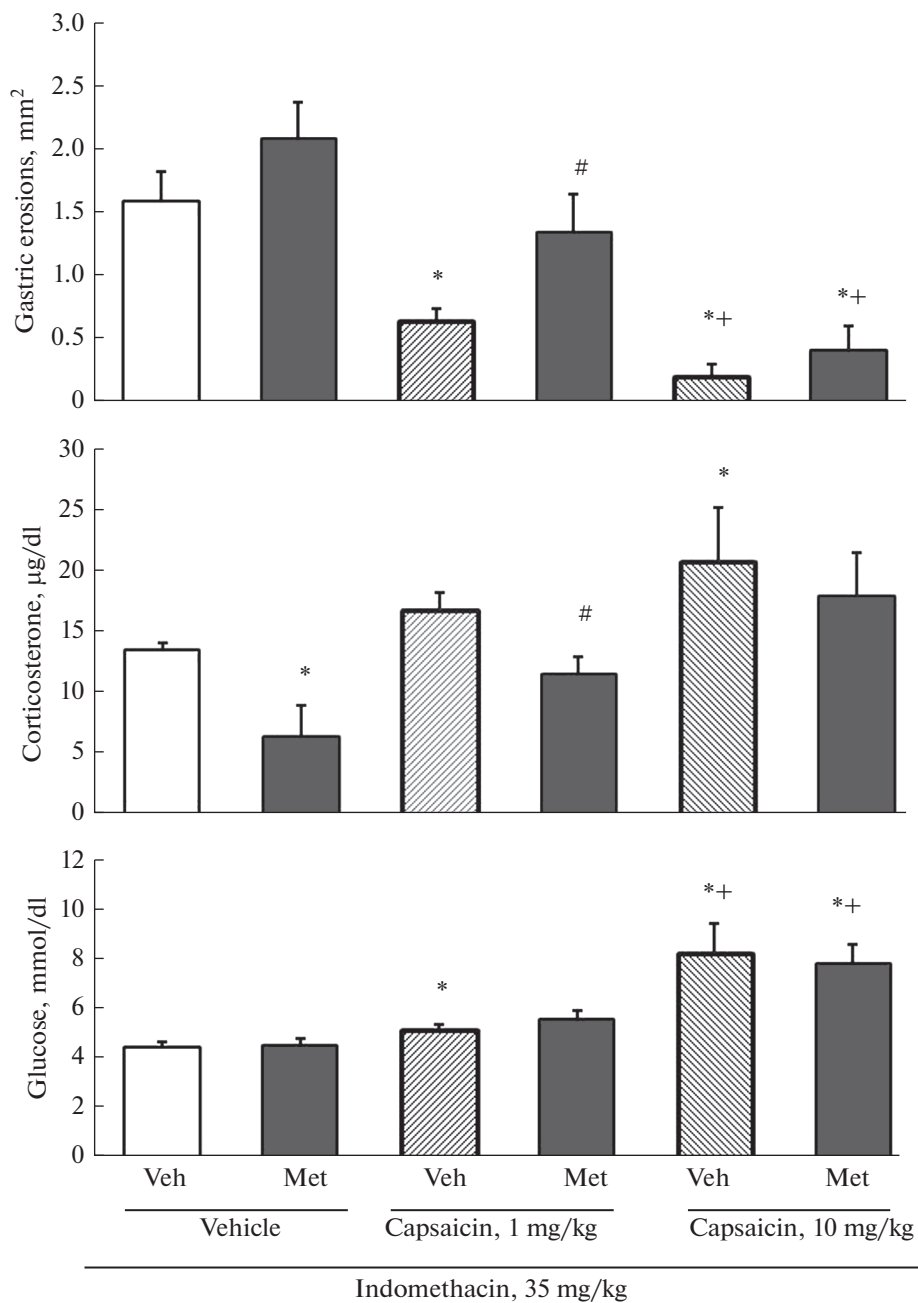
В работе получены данные о стимулирующем влиянии капсаицина на активность ГГКС. Об этом свидетельствует дальнейшее увеличение стрессорного уровня кортикостерона после введения капсаицина в дозе 1 мг/кг в индометациновой модели и в обеих ulcerогенных моделях — после введения капсаицина в дозе 10 мг/кг. Имеющиеся немногочисленные данные литературы подтверждают этот вывод [30, 31]. Механизм этой стимуляции не ясен и практически не изучался. В одной из упомянутых выше работ показано, что при гипопизэктомии введение кальцитонин-генсвязанного пептида, одного из главных пептидов, опосредующих гастропротективное действие КЧН, активирует выброс кортизола в кровь у телят [30]. Однако другими авторами было обнаружено снижение высокого уровня кортикостерона

Рис. 3. Эффект метирапона (введение в дозе 30 мг/кг за 30 мин до капсаицина) на площадь эрозий, уровень кортикостерона и глюкозы в крови крыс с сенситизацией КЧН через 4 ч после введения индометацина в ulcerогенной дозе.

Veh — растворитель метирапона, Met — metyrapone, Vehicle — растворитель капсаицина. $p < 0.05$: * от Veh — Vehicle, # от Veh — Capsaicin 1 мг/кг, + от соответствующей группы в Capsaicin 1 мг/кг. Число крыс в группе 10–12.

Fig. 3. The effect of metyrapone administration at the dose of 30 mg/kg (i.p., 30 min before capsaicin injection) on the gastric erosion, blood corticosterone and glucose level in the blood of rats with CSN sensitization 4 h after indomethacin administration (35 mg/kg).

Met — metyrapone, Veh — metyrapone vehicle, Vehicle — capsaicin vehicle. $p < 0.05$: * from Veh in Vehicle, # from Veh in Capsaicin 1 mg/kg, + from the appropriate group in Capsaicin 1 mg/kg. $n = 10-12$.



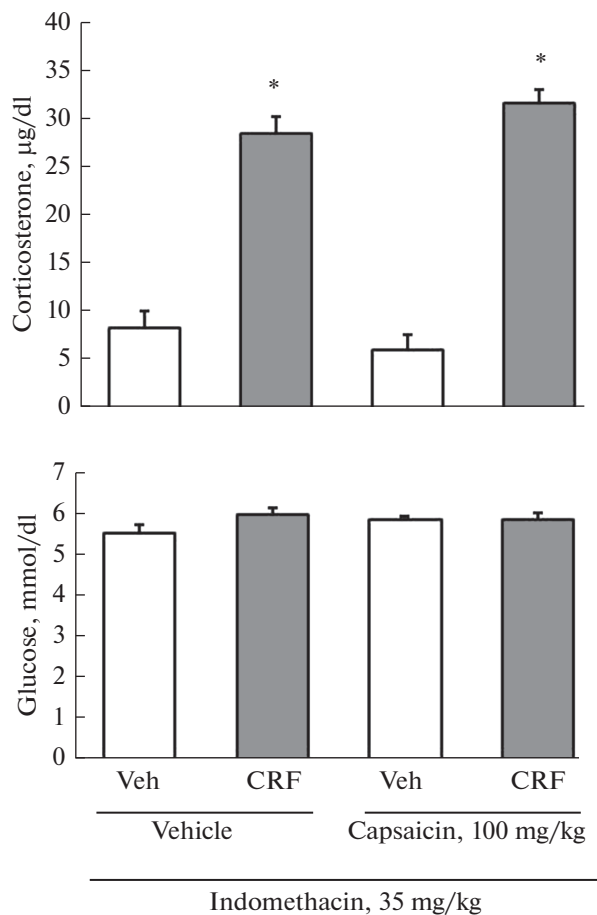


Рис. 4. Влияние КРФ (2,5 мг/кг, внутрибрюшинно) на уровень кортикостерона и глюкозы через 30 мин после его введения крысам с десенситизацией КЧН (введение капсаицина в общей дозе 100 мг/кг за 14 дней до эксперимента).

Veh – растворитель КРФ, Vehicle - растворитель капсаицина. $p < 0.05$: * – от Veh. Число крыс в группе 6.

Fig. 4. The effect of CRF (2,5 mg/kg, i.p.) on blood corticosterone and glucose level 30 min after its administration in rats with CSN desensitization (the administration of capsaicin in the total dose of 100 mg/kg) 14 day before experiment.

$p < 0.05$ * from Veh (0.9% NaCl). $n = 6$.

в крови, вызванного введением липополисахарида, после введения капсаицина в дозе 2 мг/кг [32]. Возможно, изменение стрессорного уровня кортикостерона под влиянием низких доз капсаицина зависит от вида и силы стрессорного фактора. Если работ о влиянии активации КЧН на ГГАС недостаточно, чтобы сделать окончательный вывод о характере этого влияния, то исследования об участии глюкокортикоидов в гастропротективном эффекте сенситизации КЧН вообще нам не известны, что не позволяет сравнить полученные нами результаты с данными литературы.

Десенситизация КЧН – один из подходов для изучения роли этих нейронов в гастропротекции. При десенситизации КЧН происходит усугубление язвообразования в желудке при действии различных ulcerогенных факторов, в том числе и ин-

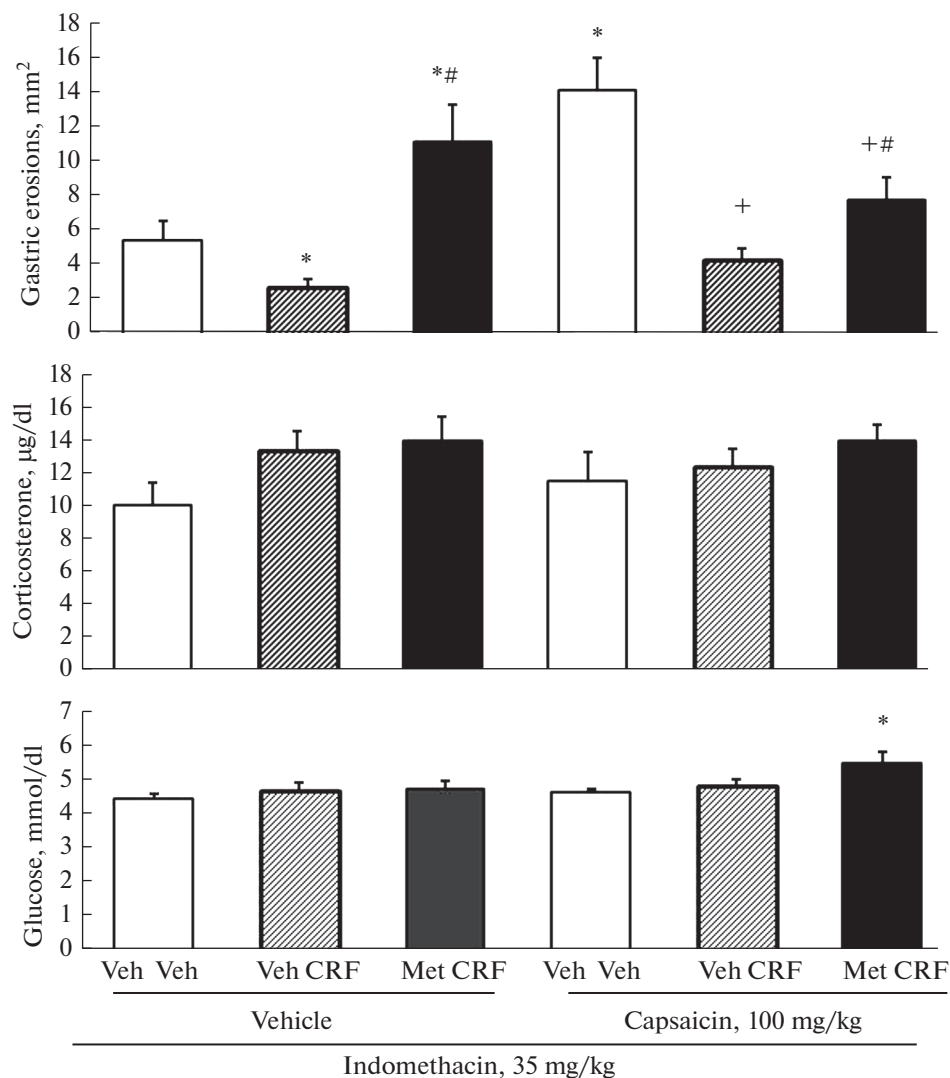


Рис. 5. Влияние метирапона (введение в дозе 30 мг/кг за 30 мин до КРФ) на гастропротективный эффект КРФ, уровень кортикостерона и глюкозы у крыс с десенситизацией КЧН и у контрольных крыс (введение растворителя капсаицина) через 4 ч после введения индометацина.

Veh Veh – растворители метирапона и КРФ, Veh CRF – растворитель метирапона + КРФ, Met CRF – метирапон + КРФ, Vehicle – растворитель капсаицина. $p < 0.05$: * от Veh Veh - Vehicle, # от Veh CRF – Vehicle и Capsaicin, + – от Veh Veh – Capsaicin. Число крыс в группе 10–12.

Fig. 5. The effect of metirapone administration at the dose of 30 mg/kg (30 min before CRF administration) on the gastroprotective effect of CRF, blood corticosterone and glucose level in rats with desensitization of CSN and in control rats (the administration capsaicin vehicle) 4 h after indomethacin.

Veh Veh – metirapone and CRF vehicle, Veh CRF – metirapone vehicle + CRF, Met CRF – metirapone + CRF. $p < 0.05$: * from Veh Veh in Vehicle, # from Veh CRF in Vehicle and Capsaicin groups, + from Veh Veh in Capsaicin. $n = 10-12$.

дометацина [6, 8, 9, 24]. Известно, что КРФ оказывает гастропротективный эффект у крыс при действии ulcerогенных стимулов [19, 25, 26]. В настоящей работе выясняли вопрос о том, сохранится ли защитный эффект КРФ на желудок при десенситизации КЧН. Результаты работы показали, что гастропротективный эффект КРФ у крыс с десенситизацией КЧН не только сохранился, но оказался даже более выраженным по сравнению с таковым у контрольных животных. В этой связи следует обратить внимание на удивительную устойчивость гастропротективного действия КРФ, которое было обнаружено нами в различных ulcerогенных моделях у интактных крыс [19, 25, 26], у крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом [27] и, наконец, у крыс с десенситизацией КЧН. Этот факт устойчивости гастропротективного эффекта КРФ сам по себе интересен и требует дальнейшего изучения.

Уровни кортикостерона и глюкозы у крыс с введением КРФ не изменились по сравнению с контролем в исследованной временной точке (через 4.5 ч после введения КРФ). В предварительных опытах было показано, что через 30 мин после введения КРФ уровень кортикостерона в крови в одинаковой степени повышается у контрольных крыс и у крыс с десенситизацией КЧН. Таким образом, десенситизация КЧН не влияла на реактивность нижних звеньев ГГАС к КРФ, а также на уровень кортикостерона у контрольных крыс (без КРФ). Следует сказать, что данные литературы о влиянии десенситизации КЧН на активность гормонов ГГАС очень немногочисленны и противоречивы [6, 33, 34]. Полученные нами результаты совпадают с некоторыми данными литературы [33, 34], в которых показано, что у крыс с десенситизацией КЧН и у контрольных животных не отличался ответ на внутривенное введение АКТГ или КРФ по уровню кортикостерона или АКТГ соответственно. В одной из работ у крыс с десенситизацией КЧН обнаружено снижение ответа ГГАС на введение интерлейкина-1-бета или простагландина E2 по уровню АКТГ [34]. Однако имеются данные и о стимулирующем эффекте десенситизации КЧН на ГГАС [6].

Защитный эффект КРФ на желудок у контрольных крыс (с введением растворителя капсаицина) полностью устранялся введением метирапона. Эти результаты указывают на то, что гастропротективный эффект КРФ у контрольных крыс опосредуется кортикостероном и хорошо подтверждают полученные нами ранее данные [19, 25, 26]. У крыс с десенситизацией КЧН частично сохранялся гастропротективный эффект КРФ при введении метирапона, однако, этот эффект был значительно менее выраженным по сравнению с эффектом КРФ без метирапона. Представленные данные полностью совпадают с полученными ранее результатами исследования гастропротективного влияния КРФ при введении метирапона интактным крысам в стрессорной ulcerогенной модели [19]. Как и в указанной выше работе, мы делаем похожий вывод о том, что гастропротективный эффект КРФ у крыс с десенситизацией КЧН только частично обусловлен повышением уровня кортикостерона в крови. Возможно, изучение роли рецепторов КРФ в гастропротекции поможет лучше понять механизм защитного эффекта КРФ на желудок при десенситизации КЧН.

Таким образом, капсаицин, введенный в дозах 1 и 10 мг/кг, индуцировал гастропротективный эффект в обеих ulcerогенных моделях. Введение метирапона устраняло гастропротективный эффект десенситизации КЧН, вызванной введением капсаицина в дозе 1 мг/кг и не повлияло на гастропротективный эффект капсаицина при его введении в дозе 10 мг/кг. Введение КРФ крысам с десенситизацией КЧН оказывало гастропротективный эффект, который частично опосредовался кортикостероном.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-015-00514-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Szolcsanyi J., Bartha L.* Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastroprotection: an update. *J. Physiol. (Paris)*. 95(1–6): 181–188. 2001.
2. *Holzer P.* Efferent-like roles of afferent neurons in the gut: blood flow regulation and tissue protection. *Auton. Neurosci.* 125(1–2): 70–75. 2006.
3. *Harada N., Okajima K.* Inhibition of neutrophil activation by lafutidine, an H₂-receptor antagonist, through enhancement of sensory neuron activation contributes to the reduction of stress-induced gastric mucosal injury in rats. *Dig. Dis. Sci.* 52(2): 469–477. 2007.
4. *Kwiecien S., Magierowska K., Magierowski M., Surmiak M., Hubalewska-Mazgaj M., Pajdo R., Sliwowski Z., Chmura A., Wojcik D., Brzozowski T.* Role of sensory afferent nerves, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in the carbon monoxide-induced gastroprotection against stress ulcerogenesis. *J. Physiol. Pharmacol.* 67(5): 717–729. 2016.
5. *Mózsik G.* Capsaicin as new orally applicable gastroprotective and therapeutic drug alone or in combination with nonsteroidal anti-inflammatory drugs in healthy human subjects and in patients. *Prog. Drug Res.* 68: 209–258. 2014.
6. *Бобрышев П.Ю., Подвигина Т.Т., Багаева Т.Р., Филаретова Л.П.* Компенсаторное гастропротективное действие глюкокортикоидных гормонов в условиях выключения функции капсаицин-чувствительных нейронов у крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 92(8): 1006–1015. 2006. [*Bobryshev P.YU., Podvigina T.T., Bagaeva T.R., Filaretova L.P.* Compensatory gastroprotective action of glucocorticoid hormones in the rats with ablation of capsaicin-sensitive neurons. *Russ. J. Physiol.* 92(8): 1006–1015. 2006. (In Russ)].
7. *Mózsik G., Vincze A., Szolcsányi J.* Four response stages of capsaicin-sensitive primary afferent neurons to capsaicin and its analog: gastric acid secretion, gastric mucosal damage and protection. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 16(10): 1093–1097. 2001.
8. *Filaretova L., Bobryshev P., Bagaeva T., Podvigina T., Takeuchi K.* Compensatory gastroprotective role of glucocorticoid hormones during inhibition of prostaglandin and nitric oxide production and desensitization of capsaicin-sensitive neurons. *Inflammopharmacology*. 15(4): 146–153. 2007.
9. *Филаретова Л.П., Ярушкина Н.И.* Капсаицин-чувствительные нейроны: роль в гастропротекции и регуляции болевой чувствительности. *Успехи физиол. наук*. 50(1): 3–16. 2019. [*Filaretova L.P., Yarushkina N.I.* Capsaicin sensitive neurons: role in gastroprotection and regulation of pain sensitivity. *Usp. Fisiol. Nauk*. 50(1): 3–16. 2019. (In Russ)].
10. *Holzer P.* Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacol. Ther.* 131(1): 142–170. 2011.
11. *Kunde D.A., Yingchoncharoen J., Jurković S., Geraghty D.P.* TRPV1 mediates capsaicin-stimulated metabolic activity but not cell death or inhibition of interleukin-1 β release in human THP-1 monocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 360: 9–17. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018>
12. *Konturek P.C., Brzozowski T., Walter B., Burnat G., Hess T., Hahn E.G., Konturek S.J.* Ghrelin-induced Gastroprotection Against Ischemia-Reperfusion Injury Involves an Activation of Sensory Afferent Nerves and Hyperemia Mediated by Nitric Oxide. *Eur. J. Pharmacol.* 536(1–2): 171–181. 2006.
13. *Sun F., Xiong S., Zhu Z.* Dietary capsaicin protects cardio metabolic organs from dysfunction. *Nutrients*. 8 (5): E174. 2016. <https://doi.org/10.3390/nu8050174>
14. *Takeuchi K., Kato S., Takeeda M., Ogawa Y., Nakashima M., Matsumoto M.* Facilitation by endogenous prostaglandins of capsaicin-induced protection in rodent through EP2 and IP receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 304(3): 1055–1062. 2003.
15. *Garabadu D., Shah A., Ahmad A., Joshi V.B., Saxena B., Palit G., Krishnamurthy S.* Eugenol as an anti-stress agent: modulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain monoaminergic systems in a rat model of stress. *Stress*. 14(2): 145–155. 2011.
16. *Martínek J., Hlavova K., Zavada F., Seifert B., Rejchrt S., Urban O., Zavoral M.* “A surviving myth” – corticosteroids are still considered ulcerogenic by a majority of physicians. *Scand. J. Gastroenterol.* 45(10): 1156–1161. 2010.
17. *Filaretova L.P., Filaretov A.A., Makara G.B.* Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *Am. J. Physiol.* 274(6): G1024–G1030. 1998.

18. *Филаретова Л.П.* Вклад глюкокортикоидных гормонов в гастропротекцию. Успехи физиол. наук. 45(1): 43–55. 2014. [*Filaretova L.P.* Contribution of glucocorticoid hormones to gastroprotection. *Usp. Fisiol. Nauk.* 45(1): 43–55. 2014. (In Russ)].
19. *Filaretova L., Bagaeva T., Morozova O.* Stress and stomach: corticotropin-releasing factor may protect the gastric mucosa through involvement of glucocorticoids. *Cell. Mol. Neurobiol.* 32(5): 829–836. 2012.
20. *Filaretova L., Podvigina T., Yaryshkina N.* Physiological and pharmacological effects of glucocorticoids on the gastrointestinal tract. *Curr. Pharm. Des.* V. 26. 2020. doi: . 2020 <https://doi.org/10.2174/1381612826666200521142746>
21. *Filaretova L., Podvigina T., Bagaeva T., Morozova O.* From gastroprotective to ulcerogenic effects of glucocorticoids: role of long-term glucocorticoid action. *Curr. Pharm. Des.* 20(7): 1045–1050. 2014.
22. *Podvigina T.T., Bobryshev P.Y., Bagaeva T.R., Mal'tsev N.A., Levkovich Y.I., Filaretova L.P.* The effects of desensitization of capsaicin-sensitive afferent neurons on the microcirculation in the stomach in rats depend on the blood glucocorticoid hormone level. *Neurosci. Behav. Physiol.* 39(6): 559–564. 2009.
23. *Morgan A.E., Lang C.H.* Involvement of capsaicin-sensitive nerves in regulating the hormone and glucose metabolic response to endotoxin. *Am. J. Physiol.* 273(2, Pt 1): E328–E335. 1997.
24. *Подвикина Т.Т., Морозова О.Ю., Солнушкин С.Д., Чихман В.Н., Филаретова Л.П.* Влияние сенситизации и десенситизации капсаицин-чувствительных нейронов на образование эрозий в слизистой оболочке желудка, индуцированных индометацином, у крыс: роль глюкокортикоидных гормонов. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 105(2): 225–237. 2019. [*Podvigina T.T., Morozova O.Yu., Solnushkin S.D., Chykhman V.N., Filaretova L.P.* Effect of sensitization and desensitization of capsaicin-sensitive neurons on the formation of gastric erosions induced by indomethacin in rats: the role of glucocorticoids. *Russ. J. Physiol.* 105(2): 225–237. 2019. (In Russ)].
25. *Filaretova L., Bagaeva T.* The realization of the brain-gut interactions with corticotropin releasing factor and glucocorticoids. *Curr. Neuropharmacol.* 14(8): 876–881. 2016.
26. *Филаретова Л.П.* Вклад кортикотропин-релизинг фактора в гастропротекцию. *Нейрохимия.* 35(2): 122–125. 2018. [*Filaretova L.P.* Contribution of corticotropin releasing factor on gastroprotection. *Neurochemistry.* 35(2): 122–125. 2018. (In Russ)].
27. *Подвикина Т.Т., Морозова О.Ю., Багаева Т.Р., Филаретова Л.П.* Гастропротективный эффект кортикотропин-релизинг фактора у крыс со стрептозотозин-индуцированным диабетом. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 102(11): 1352–1362. 2016. [*Podvigina T.T., Bagaeva T.P., Filaretova L.P.* Gastroprotective effect of corticotropin-releasing factor in streptozotocin-induced diabetic rats. *Russ. J. Physiol.* 102(11): 1352–1362. 2016. (In Russ)].
28. *Солнушкин С.Д., Чихман В.Н.* Компьютерная обработка биологических изображений. *Биомед. радиоэлектроника.* 2: 35–40. 2018. [*Solnushkin S.D., Chikhman V.N.* Experience of biological images processing. *Biomed. radioengineering.* 2: 35–40. 2018. (In Russ.)]
29. *Cordero M.I., Kruyt N.D., Merino J.J., Sandi C.* Glucocorticoid involvement in memory formation in a rat model for traumatic memory. *Stress.* 5(1): 73–79. 2002.
30. *Bloom S.R., Edwards A.V., Jones C.T.* Adrenal responses to calcitonin gene-related peptide in conscious hypophysectomized calves. *J. Physiol.* 409: 29–41. 1989.
31. *Choi Y.J., Kim J.Y., Yoo S.B., Lee J.H., Jahng J.W.* Repeated oral administration of capsaicin increases anxiety-like behaviors with prolonged stress-response in rats. *J. Biosci.* 38(3): 561–571. 2013.
32. *Ferreira L.G., Prevatto J.P., Freitas H.R., Reis R.A.M., Silva P.M., Martins M.A., Faria R.X., Carvalho V.F.* Capsaicin inhibits lipopolysaccharide-induced adrenal steroidogenesis by raising intracellular calcium levels. *Endocrine.* 64(1): 169–175. 2019.
33. *Donnerer J., Lembeck F.* Different control of the adrenocorticotropin-corticosterone response and of prolactin secretion during cold stress, anesthesia, surgery, and nicotine injection in the rat: involvement of capsaicin-sensitive sensory neurons. *Endocrinology.* 126(2): 921–926. 1990.
34. *Watanabe T., Morimoto A., Tan N., Makisumi T., Shimada S.G., Nakamori T., Murakami N.* ACTH response induced in capsaicin-desensitized rats by intravenous injection of interleukin-1 or prostaglandin. *Eur. J. Physiol.* 475(1): 139–145. 1994.

**Participation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical System Hormones
in Gastroprotection in Rats with Sensitisation and Desensitization
of Capsaicin-Sensitive Afferent Neurons**

T. T. Podvigina^{a, *}, O. Yu. Morozova^a, O. P. Komkova^a, and L. P. Filaretova^a

^a*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

**e-mail: tpodvigina@yandex.ru*

The aim of this work was to study: a) the contribution of glucocorticoids to gastroprotection induced by sensitization of capsaicin-sensitive afferent neurons (CSN), b) gastroprotective effect of corticotropin-releasing factor (CRF) in rats with desensitization of CSN and possible corticosterone participation in this effect. The study was performed in male Sprague Dawley rats weighing 260–300 g. The immobilization at 10°C (3 h) or indomethacin (35 mg/kg) were used as ulcerogenic stimuli. Sensitization of CSN was induced by administration of capsaicin at the doses of 1 and 10 mg/kg, 1h before the onset of ulcerogenic stimulus. Desensitization was performed by administration of capsaicin in a total dose of 100 mg/kg (20 + 30 + 50) in 3 subsequent days, 2 weeks before the start of the experiment. CRF was injected at the dose of 2.5 mg/kg, i. p., 30 minutes before indomethacin in rats with CSN desensitization. To estimate the involvement of corticosterone in the gastroprotective effects, metyrapone (inhibitor of glucocorticoid synthesis) at the dose of 30 mg/kg was used. Capsaicin, administered at doses of 1 and 10 mg/kg, caused a gastroprotective effect in both ulcerogenic models. The metyrapone administration 30 minutes before capsaicin eliminated its gastroprotective effect for the 1 mg/kg dose, but not 10 mg/kg dose. The CRF administration caused a gastroprotective effect in both control rats, and rats with CSN desensitization. The results obtained in experiments with metyrapone indicate that CRF gastroprotective effect observed in rats with desensitization of CSN are at least partially mediated by corticosterone.

Keywords: capsaicin-sensitive afferent neurons, glucocorticoids, corticotropin-releasing factor, gastric erosions, gastroprotection, glucose, metyrapone

ЦИТИРОВАТЬ:

Подвигина Т.Т., Морозова О.Ю., Комкова О.П., Филаретова Л.П. Участие гормонов гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы крыс в гастропротекции при сенситизации и десенситизации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 106(11): 1385–1399.

DOI: 10.31857/S0869813920110072

TO CITE THIS ARTICLE:

Podvigina T.T., Morozova O.Yu., Komkova O.P., Filaretova L.P. Participation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system hormones in gastroprotection in rats with sensitisation and desensitization of capsaicin-sensitive afferent neurons. Russian Journal of Physiology. 106(11): 1385–1399.

DOI: 10.31857/S0869813920110072