

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ КАПСАИЦИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ И АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ У КРЫС, ПОТРЕБЛЯВШИХ ФРУКТОЗУ

З. С. Толочко, В. К. Спиридонов¹

Изучали влияние активации капсаицин-чувствительных нервов (к-ч нервов) капсаицином (1 мг/кг внутривентриально) на окислительную модификацию белков и артериальное давление у крыс Вистар через 10 недель после потребления 12,5 % раствора фруктозы в качестве питья. Установлено, что потребление фруктозы вызывает увеличение содержания карбонильных производных белков в плазме и повышение артериального давления (АД). Капсаицин снижает содержание окисленных форм белков плазмы крови у гипертензивных животных и нормализует АД.

Ключевые слова: капсаицин, капсаицин-чувствительные нервы, окислительная модификация белков, артериальная гипертензия, фруктоза

ВВЕДЕНИЕ

Капсаицин, агонист ванилоидных рецепторов (TRPV1) первичных афферентных нейронов, в небольших дозах вызывает их активацию и выделение вазоактивных нейропептидов — субстанции P (SP), кальцитонин-ген-родственного пептида (CGRP) из центральных и периферических нервных окончаний, которые осуществляют локальное регуляторное действие на тонус и проницаемость сосудов [9, 17, 20].

Получены доказательства важной роли TRPV1 и нейропептидов сенсорных нервов в регуляции артериального давления и их участия в развитии гипертензии [20, 21]. Одним из основных патогенетических факторов артериальной гипертензии, развивающейся при метаболическом синдроме, вызываемым повышенным потреблением фруктозы, считают инсулинорезистентность и связанное с ней увеличение продукции активных форм кислорода (АФК) — супероксид аниона, гидроксил радикала, пероксид водорода [6, 19]. Усиленная продукция супероксид аниона при инсулинорезистентности, вызываемой фруктозой, приводит к окислительному расщеплению окиси азота (NO) и может быть патогенетическим фактором при развитии гипертензии [14]. АФК участвуют в опосредовании нейрогенной вазодилатации при активации TRPV1 [16]. Взаимодействие АФК, нейропептидов и ванилоидных рецепторов сенсорных нервов в регуляции сердечно-сосудистой системы рассмотрено в обзоре [8].

Наиболее распространенный тип окислительного повреждения белков, связанного с повышенной продукцией АФК — образование карбонильных производных при окислении карбоксильных групп белков [2], повышенное содержание которых обнаружено при первичной гипертензии [11]. Роль капсаицин-чувствительных нервов (к-ч нервов) в окислительной модификации белков и гипертензии, развивающихся при метаболическом синдроме, связанном с инсулинорезистентностью, практически не изучена.

Целью исследования являлось изучение влияния активации к-ч нервов на содержание карбонильных производных белков и артериальное давление в норме и при гипертензии, развивающейся при длительном применении фруктозы.

Методы исследования

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на крысах самцах Вистар, масса тела которых в начале опыта составляла 150 – 160 г. Контрольные (интактные) животные (группы 1 и 2, $n = 7$ в каждой группе) содержались на обычном лабораторном рационе с водопроводной водой в качестве питья. Опытным крысам (группы 3 и 4, $n = 8$ в каждой группе) в качестве питья предъявляли 12,5 % раствор фруктозы в течение 10 недель. По окончании этого периода крысам групп 2 и 4 вводили агонист TRPV1 капсаицин (Sigma) в растворителе (10 % этанола, 10 % твина 80, 80 % физиологического р-ра) в дозе, вызывающей активацию к-ч нервов (1 мг/кг внутривентриально) [7, 12]. АД измеряли неинвазивным методом на хвостовой артерии у бодрствующих животных, используя систему Coda (“Kent Scientific”, USA) в начале опыта, через 8 и 10 недель потребления фруктозы и через двое суток после введения капсаицина. Забой животных осуществляли декапитацией под эфирным наркозом через 3 суток после введения капсаицина.

Окислительную модификацию белков (ОМБ) определяли в плазме крови по содержанию альдегид- и ке-

¹ Лаборатория функциональной нейроморфологии (зав. — В. К. Спиридонов) НИИ физиологии СО РАМН, 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 4.

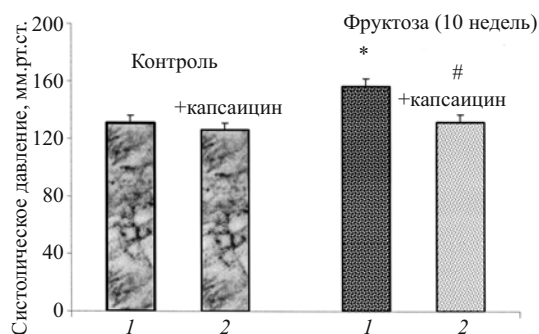


Рис. 1. Влияние стимуляции капсаицин-чувствительных нервов на артериальное (систолическое) давление у крыс в норме и после повышенного потребления фруктозы.

Контроль — интактные животные (группа 2), фруктоза — через 10 недель после употребления 12,5 % раствора фруктозы в качестве питья (группа 4), 1 — до введения капсаицина, 2 — через 2 суток после стимуляции капсаицином (1 мг/кг внутривнутрибрюшинно).

* — $p < 0,05$ — относительно контроля, # — $p < 0,05$ — относительно данных до введения капсаицина у крыс, потреблявших фруктозу (1).

Столбики с вертикальными линиями — $M \pm m$

то-динитрофенилгидразонов (АДНФГ и КДНФГ) после реакции с 2,4 динитрофенилгидразином [1] при спонтанном (СО) и индуцированном (ИО) окислении с реактивом Фентона [1]. Оптическую плотность АДНФГ и КДНФГ регистрировали на спектрофотометре UV-2501PC (Shimadzu) на 274 и 363 нм и выражали в условных единицах оптической плотности на 1 мл плазмы крови (ед. опт. пл./мл плазмы). ОМБ исследовали у интактных животных, у крыс, получавших фруктозу, и через 3 суток после введения капсаицина.

Результаты оценивали статистически с использованием t-критерия Стьюдента. Работа выполнена с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского союза, и одобрена комитетом по биомедицинской этике ГУ НИИ физиологии СО РАМН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Влияние фруктозы и капсаицина на АД

Влияние длительного потребления фруктозы с питьевой водой на АД у крыс (до воздействия капсаицином) представлены в таблице.

Устойчивое повышение АД, полученное нами у крыс, потреблявших фруктозу, согласуется с данными литературы о развитии артериальной гипертензии при длительном потреблении фруктозы, используемой для развития метаболического синдрома и артериальной гипертензии [19].

У крыс с повышенным АД (гр. 4) через двое суток после введения капсаицина выявлено снижение АД (рис. 1). АД интактных крыс после воздействия капсаицином сохранялось на прежнем уровне (рис. 1).

Таким образом, капсаицин в дозах, используемых для активации к-ч нервов, вызывает снижение АД у

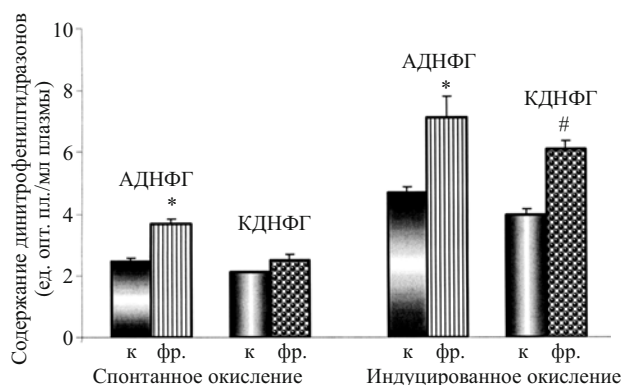


Рис. 2. Окислительная модификация белков в плазме крови крыс через 10 недель после употребления фруктозы.

к — контроль (группа 1 — интактные животные), фр. — через 10 недель после употребления 12,5 % раствора фруктозы в качестве питья (группа 3).

* — $p < 0,05$ — относительно контрольных значений АДНФГ, # — $p < 0,05$ — относительно контрольных значений КДНФГ.

Столбики с вертикальными линиями — $M \pm m$

гипертензивных животных и не влияет на этот показатель у нормальных крыс.

2. Влияние фруктозы и капсаицина на содержание карбонильных производных белков

У крыс, потреблявших фруктозу, наряду с повышением АД отмечается достоверное увеличение уровня карбонильных производных белков: АДНФГ при СО и ИО, КДНФГ при ИО (рис. 2). Полученные результаты дают основания говорить о усилении ОМБ у гипертензивных животных с нарушением как СО, так и выраженного в большой степени ИО. С учетом того, что СО характеризует окислительный потенциал клетки, а ИО ее резервные возможности [1], можно предполагать, что у крыс при длительном потреблении фруктозы нарушаются оба процесса.

При введении капсаицина животным, потреблявшим фруктозу, обнаружено, что содержание окисленных форм белков у них ниже ($p < 0,05$) по сравнению с животными с аналогичным воздействием, но не получавших капсаицин (рис. 3). Это указывает на то, что

Артериальное (систолическое) давление у крыс через 8 и 10 недель после употребления 12,5 % раствора фруктозы в качестве питья

Экспериментальная группа	Артериальное давление, мм. рт. ст.	
	8 нед после начала опыта	10 нед после начала опыта
Группа 1 — контроль 1 (интактные)	129,75 ± 4,67	131,05 ± 4,60
Группа 2 — контроль 2 (интактные)	130,18 ± 3,55	130,93 ± 5,53
Группа 3 (фруктоза)	141,15 ± 3,40	158,26 ± 7,01*#
Группа 4 (фруктоза)	140,25 ± 2,81	156,21 ± 5,28*#

* — $p < 0,05$ — относительно контрольных групп.

— $p < 0,05$ — относительно данных, полученных через 8 недель.

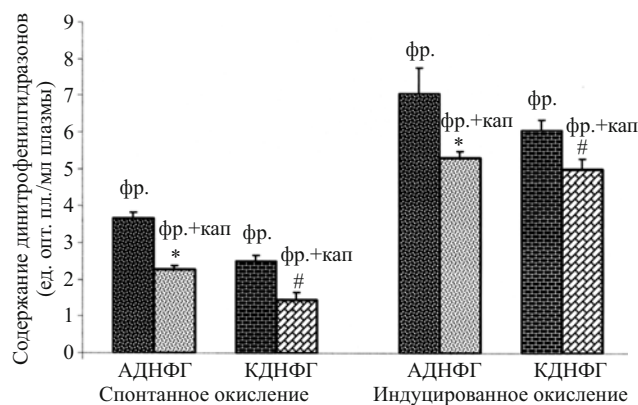


Рис. 3. Влияние стимуляции капсаицин-чувствительных нервов на окислительную модификацию белков в плазме крови крыс через 3-е суток после введения капсаицина.

фр. — 12,5 % раствор фруктозы в качестве питья в течение 10 недель (группа 3), фр. + кап. — 12,5 % раствор фруктозы в качестве питья в течение 10 недель + капсаицин (1 мг/кг, внутривнутрино) (группа 4).

* — $p < 0,05$ — относительно значений АДНФГ до введения капсаицина, # — $p < 0,05$ — относительно значений КДНФГ до введения капсаицина.

Столбики с вертикальными линиями — $M \pm m$

капсаицин, в дозах, применяемых для активации к-ч нервов, вызывает снижение повышенной ОМБ у “фруктозных” животных.

При введении капсаицина интактным животным отмечено повышение альдегидных форм окисленных белков только при ИО ($4,66 \pm 0,21$ и $5,77 \pm 0,37$ ед. опт. пл./мл до и после введения капсаицина соответственно, $p < 0,05$), в то время как в остальных случаях содержание карбонильных производных после активации капсаицином не изменялось.

Полученные данные показали, что длительное потребление фруктозы приводит к устойчивому повышению АД и окислительной декструкции карбоксильных групп белков (с преобладанием альдегидных форм) и нарушению окислительного потенциала клетки и ее резервных возможностей. Как видно из результатов, активация к-ч нервов оказывает различное влияние на АД и ОМБ в норме и при гипертензии. У интактных животных капсаицин, не изменяя показатели АД, вызывает частичное повышение окислительной декструкции белков, а у гипертензивных животных это воздействие приводит к нормализации АД и снижению повышенной ОМБ.

Основной мишенью капсаицина считают сенсорные пептидергические нервы с расположенными на мембранах нервных структур рецепторами, проявляющими сродство к капсаицину (TRPV1) [17]. Проекция капсаицин-чувствительных нервов с расположенными на них TRPV1 представлены в коже, во всех внутренних органах и сосудистой системе [9, 17]. В значительной степени TRPV1 экспрессируются в гипоталамусе, гиппокампе, черной субстанции, а также в ненейрональных клетках желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы, в тучных клетках,

клетках глии и крови [17]. Их вклад в избирательные эффекты капсаицина проявляется в более высоких дозах, чем те, которые используют для воздействия на сенсорные нервы.

Период полужизни после системного введения небольших доз капсаицина составляет несколько минут/часов в зависимости от дозы и способа введения [4, 13].

Литературные данные об уменьшении экспрессии TRPV1, регулятора активности к-ч нервов при метаболическом синдроме [5] дают основание предполагать снижение активности к-ч нервов при артериальной гипертензии и инсулинорезистентности, вызываемой фруктозой. Более низкий уровень активности к-ч нервов относительно нормотензивных животных наблюдается и у спонтанно-гипертензивных крыс (SHR) [12]. Снижение АД у крыс SHR, наблюдаемое после системного введения капсаицина (1 мг/кг), авторы связывают с повышением активности к-ч нервов [12]. Можно предположить, что выявленные в наших опытах эффекты малых доз капсаицина на АД у гипертензивных крыс опосредованы увеличением освобождения вазоактивных нейропептидов из нервных окончаний в сосудах, где представлены проекции к-ч нервов.

Эффект активации к-ч нервов на АД может осуществляться ингибирующим действием CGRP, выделяемого из периферических к-ч нервных окончаний, на вазоконстрикцию [18], опосредованную адренергическими нервами. Их активность повышена при инсулинорезистентности, вызываемой потреблением фруктозы [19].

Вероятным путем влияния активации к-ч нервов на АД может быть также их взаимодействие с NO. Известно, что часть сенсорных пептидергических нервов содержит NO синтазу (NOS) [15]. Сочетанное снижение содержания нейропептида CGRP и NO обнаружено в плазме крыс со спонтанной гипертензией [12]. Ранее нами показано, что стимулирующие дозы капсаицина вызывают повышение метаболитов NO в сыворотке крыс, что свидетельствует об увеличении содержания NO [3]. Таким образом, литературные и наши данные показывают, что стимуляция к-ч нервов может вызывать снижение АД путем увеличения активности NO системы. Эффект стимуляции к-ч нервов на АД осуществляется, вероятно, в условиях снижения активности к-ч нервов. Косвенным подтверждением этого является различное влияние стимулирующих доз капсаицина на АД и ОМБ в норме и при гипертензии, отмеченное в наших опытах.

Ключевым патогенетическим фактором артериальной гипертензии, развивающейся при инсулинорезистентности, считают повышение уровня АФК [19]. Выявленное в наших опытах снижение ОМБ у гипертензивных крыс после воздействия капсаицином может быть следствием его прямого антиоксидантного действия [10] или опосредованным — с вовлечением освобождаемых нейропептидов [8]. Другим путем

снижения окисленных форм белка при стимуляции капсаицином можно рассматривать снижение содержания супероксид аниона вследствие увеличения его связывания NO с образованием пероксинитрита [2]. Повышение активности NO системы при стимуляции капсаицином гипертензивных животных может быть одним из механизмов одновременного снижения АД и ОМБ при активации к-ч нервов.

Таким образом, нами показано участие к-ч нервов в восстановлении гомеостаза, нарушенного длительным потреблением фруктозы (снижение окислительной деструкции белков, нормализация АД).

ВЫВОДЫ

1. Гипертензия, вызванная потреблением фруктозы, сопровождается окислительной модификацией карбоксильных групп белков при спонтанном и индуцированном окислении.

2. Капсаицин в дозах, используемых для активации капсаицин-чувствительных нервов, вызывает снижение окислительной деструкции белков и нормализацию артериального давления у гипертензивных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Арутянян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина, *Методы оценки свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма*, Санкт-Петербург (2000), сс. 58 – 60.
2. В. И. Лушак, *Биохимия*, **72**(8), 995 – 1017(2007).
3. В. К. Спиридонов, Н. Ф. Воробьева, З. С. Толочко, Н. Е. Костина и др., *Бюл. СО РАМН*, **112**(2), 135 – 141 (2004).
4. S. Babbar, J. F. Marier, M. S. Mouksassi, M. Beliveau, et al., *Ther. Drug Monit.*, **31**(4), 502 – 510(2009).
5. N. Bratz, G. M. Dick, J. D. Tune, J. M. Edwards, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **294**(6), 489 – 496(2008).
6. S. Delbosch, E. Paizanis, R. Magous, C. Araiz, et al., *Atherosclerosis*, **179**(1), 43 – 49 (2005).
7. S. Demirbilek, M. O. Ersoy, S. Demirbilek, A. Karaman, et al., *Anesth. Analg.*, **99**(5), 1501 – 1517(2004).
8. R. Graepel, J. V. Bodkin, S. D. Brain, *Studies on Cardiovascular Disorders, Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*, London (2010), pp. 87 – 107.
9. P. Holzer, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **121**(1), 49 – 146 (1992).
10. B. Joe, B. R. Lokesh, *Biochem. Biophys. Acta*, **1224**(2), 255 – 263(1994).
11. H. Nandeesha, V. Sathiyapriya, Z. Bobby, P. Pavithran, et al., *Indian J. Med. Sci.*, **61**(6), 326 – 331(2007).
12. K. Okajima, N. Harada, *Curr. Med. Chem.*, **15**(29), 3095 – 3112 (2008).
13. A. Saria, G. Skofitsch, F. Lembeck, *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**(4), 273 – 275 (1982).
14. K. Shinozaki, A. Kashiwagi, M. Masada, T. Okamura, *J. Pharmacol. Sci.*, **91**(3), 187 – 191 (2003).
15. T. Shoba, S. S. Tay, *Anat. Embryol.*, **201**(6), 491 – 500 (2000).
16. A. Starr, R. Graepel, J. Keeble, S. Schmidhuber, et al., *Cardiovasc. Res.*, **78**(1), 139 – 147 (2008).
17. A. Szallasi, P. M. Blumberg, *Pharmacol. Rev.*, **51**(2), 159 – 212 (1999).
18. M. Tagenaga, H. Kawasaki, *Eur. J. Pharmacol.*, **367**(2 – 3), 239 – 245 (1999).
19. L. T. Tran, V. G. Yuen, J. H. McNeill, *Mol. Cell Biochem.*, **332**(1 – 2), 145 – 159 (2009).
20. Y. Wang, D. H. Wang, *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets*, **7**(1), 37 – 46 (2007).
21. R. E. Watson, S. C. Supowit, H. Zhao, K. A. Katki, et al., *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **35**(9), 1033 – 1045 (2002).

Поступила 03.06.11

EFFECTS OF CAPSAICIN ON OXIDATIVE MODIFICATION OF BLOOD PLASMA PROTEINS AND ARTERIAL BLOOD PRESSURE IN FRUCTOSE-FED RATS

Z. S. Tolochko and V. K. Spiridonov

Institute of Physiology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Timakova 4, Novosibirsk, 630117, Russia

The influence of the activation of capsaicin-sensitive nerves with capsaicin on the oxidative modification of blood plasma proteins and arterial blood pressure was studied in Wistar rats fed with 12.5 % fructose in drinking water for 10 weeks. The obtained results indicate that fructose feeding induces an increase in the arterial blood pressure and the content of plasma blood protein carbonyl derivatives. At the same time, in hypertensive rats, the stimulation of sensory nerves by capsaicin (1 mg/kg, i.p.) decreases the content of oxidized proteins in the plasma and normalizes the arterial blood pressure. It is suggested that capsaicin-sensitive nerves are involved in the regulation of oxidative destruction of proteins as well as in blood pressure control under metabolic disturbances produced by prolonged fructose feeding.

Key words: Capsaicin, capsaicin-sensitive nerves, oxidative modification of blood proteins, arterial hypertension, fructose