

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2023-27(4)-06

УДК: 577.161.2:546.221.1:616.127:639.028

ВПЛИВ КАЛЬЦИТРИОЛУ НА ПОКАЗНИКИ АПОПТОЗУ, ЗАПАЛЕННЯ ТА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ ЗА УМОВ МОДУЛЯЦІЇ СИСТЕМИ ГІДРОГЕН СУЛЬФІД / ЦИСТАТІОНІН-ГАММА-ЛІАЗА

Остренюк Р. С., Заїчко Н. В.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: ostrenyuk.r@gmail.com

Статтю отримано 28 серпня 2023 р.; прийнято до друку 02 жовтня 2023 р.

Анотація. Вітамін D відіграє важливу роль в контролі стану серцево-судинної системи, включно з ремоделюванням та гіпертрофією міокарда. Важливим медіатором адаптивних механізмів кардіоміоцитів до дії стресових чинників є гідроген сульфід (H_2S). Роль системи H_2S в механізмах біологічної дії вітаміну D в серцево-судинній системі не з'ясована. Метою роботи було оцінити вплив активної форми вітаміну D-кальцитриолу на показники апоптозу, запалення та оксидативного стресу в міокарді щурів в умовах модуляції системи H_2S / цистатіонін-γ-ліаза. Дослідження виконано на 90 білих лабораторних щурах-самцях відповідно до засад біоетики (Страсбург, 1986). Упродовж 4 тижнів 6 групам тварин вводили $1,25(OH)_2D_3$ в дозах 0, 1 та 1 мкг/кг. Для модуляції системи H_2S вводили пропаргілеліцин (ППГ) та NaHS. У міокарді визначали вміст H_2S , маркери запалення, апоптозу, оксидативного стресу. Статистичну обробку проводили в пакеті IBM Statistics SPSS 26. Встановлено, що $1,25(OH)_2D_3$ у дозі 0, 1 мкг/кг підвищує рівень H_2S в міокарді, а в дозі 1 мкг/кг здійснює інгібувальний ефект на систему H_2S . Модулятори обміну H_2S модифікують патохімічні зміни в міокарді, індуковані $1,25(OH)_2D_3$ у дозі 1 мкг/кг, зокрема ППГ потенціює зростання рівнів медіаторів запалення та апоптозу, поглиблює дисбаланс в системі білків теплового шоку та ознаки оксидативного стресу. Введення NaHS не викликає суттєвих змін показників міокарда за дії фізіологічної дози $1,25(OH)_2D_3$ і суттєво зменшує проапоптичну та прозапальну дію високої дози $1,25(OH)_2D_3$.

Ключові слова: гідроген сульфід, вітамін D, кальцитриол, апоптоз, запалення, оксидативний стрес, серцево-судинна система, щурі.

Вступ

За сучасними уявленнями, вітамін D відіграє важливу роль в контролі функціонального та метаболічного стану серцево-судинної системи, включно з регуляцією артеріального тиску, ендотеліальною функцією, процесами ремоделювання та гіпертрофії міокарда [2, 8]. Через рецептори вітаміну D (VDR) регулюється експресія численних генів, які контролюють синтез прозапальних та протизапальних цитокінів, факторів транскрипції, антиоксидантних протеїнів, регуляторів циркадних ритмів, ростових факторів тощо [2]. Отримані експериментальні докази, що в кардіоміоцитах та фібробластах серця експресуються рецептори VDR, ферменти 1 альфа-гідроксилаза (CYP27B1) та 24-гідроксилаза (CYP24A1), які контролюють перетворення 25-гідроксिवітаміну D в гормонально активну форму 1,25-дигідроксिवітамін D (кальцитриол) та реалізацію його біологічної дії [4]. В експериментальних умовах дефіцит вітаміну D спричиняє дисфункцію міокарда, підвищення міокардіальної експресії профіброгенних (TGF- β , колагена 1 α) та прозапальних медіаторів (NF- κ B, TNF- α , IL-6), зниження експресії антиоксидантних ензимів, периваскулярний фіброз та метаболічні розлади [12].

Результати клінічних спостережень щодо значення дефіциту вітаміну D як самостійного чинника серцево-судинної патології є контроверсійними [13]. Так, за даними масштабного дослідження Mendelian, не підтверджено зв'язок між низьким рівнем 25(OH)D в сироватці

крові та розвитком ішемічної хвороби серця [10]. За іншими даними, компенсація дефіциту вітаміну D до рівня $25(OH)D > 20$ нг/мл зменшує ризик смертності від усіх причин, а стійке досягнення рівня $25(OH)D \geq 30$ нг/мл знижує ризик інфаркту міокарда [1]. Вживання надвисоких доз вітаміну D негативно впливає на стан серцево-судинної системи, викликаючи кальцифікацію та запалення судинної стінки [17], що однак спостерігається й за умов дефіциту вітаміну D.

Існує думка, що окремі патологічні стани та метаболічні розлади можуть модифікувати кардіопротекторний потенціал вітаміну D і дослідження в цьому напрямку є актуальними. Зокрема, важливою детермінантою адаптивного потенціалу серцево-судинної системи є гідроген сульфід (H_2S) - мала газова молекула, що синтезується в тканинах із сірковмісних амінокислот і володіє вазорегулюючим, кардіопротекторним, антиоксидантним, антифіброзним потенціалом [6]. В окремих експериментальних роботах засвідчений можливий зв'язок між вітаміном D та H_2S : у донора NaHS відмічена здатність зменшувати індуковану вітаміном D та ніотином кальцифікацію судин [21], а у вітаміну D виявлена здатність підвищувати рівень H_2S в серці здорових тварин [19]. Цілком імовірно, що порушення обміну H_2S можуть модифікувати біологічні ефекти вітаміну D в серцево-судинній системі, однак детальних досліджень цього питання на сьогодні немає.

Мета роботи - встановити вплив активної форми вітаміну D-кальцитріолу на показники апоптозу, запалення та оксидативного стресу в міокарді щурів в умовах модуляції системи H_2S / цистатіонін- γ -ліаза.

Матеріали та методи

Досліди проведені на 90 білих статевозрілих лабораторних щурах-самцях із початковою масою 160-190 г. Усі етапи дослідження проведені з дотриманням "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", затверджених у резолюціях I-VII національних конгресів України з біоетики (Київ, 2001-2019), міжнародних вимог "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей" (Страсбург, Франція, 1986), Директив Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України "Про захист тварин від жорстокого поводження" (№ 3447-IV від 21.02.2006, ст. 26).

Тварини перебували в стандартних умовах експериментальної біологічної клініки ВНМУ ім. М.І. Пирогова: за 12-годинного світлового режиму день/ніч, температури 20-24°C та відносної вологості повітря 50-60%, з вільним доступом до води та їжі. Розподіл щурів на дослідні групи здійснювали у випадковому порядку відповідно до принципу мінімізації відмінностей за масо-ростовими параметрами. Було сформовано 9 груп (n=10): 1) контроль; 2) 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 0,1 мкг/кг; 3) 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 1 мкг/кг; 4) пропаргілгліцин (ППГ); 5) 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 0,1 мкг/кг + ППГ; 6) 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 1 мкг/кг + ППГ; 7) натрій гідроген сульфід (NaHS); 8) 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 0,1 мкг/кг + NaHS; 9) 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 1 мкг/кг + NaHS. Кальцитріол (1,25 (OH) $_2$ D $_3$, Calcitriol Teva, Teva Italia S.r.l.) вводили у дозах 0,1 мкг/кг та 1,0 мкг/кг маси щура внутрішньошлунково у вигляді масляної суспензії 1 раз на 2 доби упродовж 4-х тижнів. З метою модуляції рівня H_2S вводили натрію гідрогенсульфід (NaHS, Sigma-Aldrich, USA) у дозі 1 мкг/кг та інгібітор цистатіонін- γ -ліази D,L-пропаргілгліцин (ППГ, Sigma-Aldrich, USA) у дозі 50 мг/кг. Модулятори вводили 1 раз на добу внутрішньоочеревинно у вигляді водних розчинів. Контрольні тварини отримували еквівалентні кількості розчинників. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом (100 мг/кг в/оч).

Для біохімічних досліджень міокард гомогенізували в охолодженому середовищі 1,15% KCl (у співвідношенні маса/об'єм 1:3) при 3000 об/хв (тефлон-скло). Центрифугували 30 хв при 600 g за температури 4°C, відбирали зразки постядерного супернатанту в пластикові мікропробірки Eppendorf і до виконання досліджень зберігали за -20°C. Дослідження рівнів фактору некрозу пухлин альфа (TNF α), білків теплового шоку (HSP60, HSP70), каспази-3 проводили методом імуноферментного аналізу за стандартною методикою для розчинних протеїнів [5]. У дослідженні використані комерційні набори моноклональних (первинних) антитіл класу IgG до досліджуваних протеїнів та поліклональних (вторинних)

антитіл, кон'югованих з пероксидазою хрому (Santa Cruz Biotechnology, США); субстрат для пероксидази хрому - о-фенілендіамін (Sigma-Aldrich, США). Вміст маркерів виражали в ум.од. / мг протеїну. Вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [11], карбонільних груп - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [24].

Статистичну обробку результатів проводили в пакеті MS Excel та IBM Statistics SPSS 26 for Windows. Достовірність відмінностей оцінювали за U-критерієм Манна-Уїтні. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$. Результати наведено як $M \pm m$.

Робота є фрагментом планової НДР кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова "Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів" (№ держреєстрації 0119U001142).

Результати

Введення кальцитріолу у фізіологічному діапазоні концентрацій викликало помірне підвищення рівня H_2S в міокарді, тоді як введення високої дози кальцитріолу спричиняло протилежний ефект (рис. 1). Так, вміст H_2S в групі 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 0,1 мкг/кг був вищим на 18,6% ($p < 0,05$), а в групі 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ 1 мкг/кг - нижчим на 24,7% ($p < 0,01$) порівняно з групою контролю. Введення ППГ викликало істотне зниження рівня H_2S (на 44,1%, $p < 0,001$), а введення NaHS - підвищення рівня H_2S (на 24%, $p < 0,001$) порівняно з контролем. Введення ППГ на тлі застосування 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ у дозі 0,1 мкг/кг спричинило менш значне зниження рівня H_2S в міокарді (на 18,2 % відносно контролю, $p < 0,05$). Водночас при поєднанні ППГ з 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ у дозі 1 мкг/кг дефіцит H_2S в міокарді суттєво поглиблювався (на 51,6% відносно контролю, $p < 0,001$). Введення NaHS на тлі застосування 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ у дозі 0,1 мкг/кг викликало більш виразне підвищення рівня H_2S в міокарді (на 37,2% порівняно з контролем, $p < 0,01$) і зменшувало депримуєчий вплив високої дози 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ на систему H_2S .

Дослідження маркерів апоптозу та запалення в міокарді засвідчило (рис. 2), що застосування 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ у дозі 1 мкг/кг спричиняє статистично значуще зростання рівнів каспази-3 та TNF α (25,3 та 28,3%) і зниження рівня Hsp70 (на 17,2% $p < 0,05$) відносно контролю. Водночас 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ у дозі 0,1 мкг/кг не викликав суттєвих змін. Ізольоване введення ППГ спричинило підвищення рівнів каспази-3, TNF α , Hsp60 (на 42,2; 25,4; 13,8%, $p < 0,05$) та зниження рівня Hsp70 (на 14,8%, $p < 0,05$ відносно контролю) в міокарді тварин, натомість введення NaHS не викликало суттєвих змін зазначених медіаторів. Введення ППГ на тлі фізіологічної дози 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ викликало менш значні зміни рівнів каспази-3, TNF α та Hsp70 в міокарді щурів, але на тлі високої дози 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ спостерігалось статистично значуще підви-

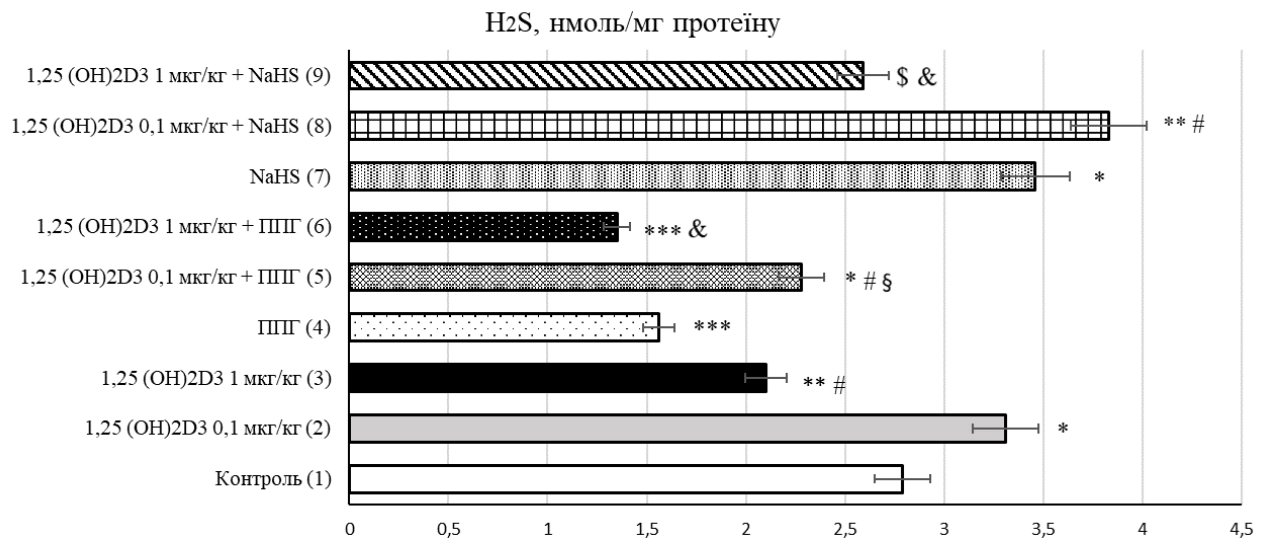


Рис. 1. Рівень H₂S в міокарді щурів за умов введення 1,25 (OH)₂D₃ та модуляторів системи H₂S/ цистатіонін-γ-ліаза (M±m, n=10).
Примітки: статистично значущі відмінності: * - p<0,05 щодо групи контролю (** - p<0,01; *** - p<0,001); # - p<0,05 щодо групи 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг; & - p<0,05 щодо групи 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг; § - p<0,05 щодо групи ППГ (пропаргілгліцин); § - p<0,05 щодо групи NaHS.

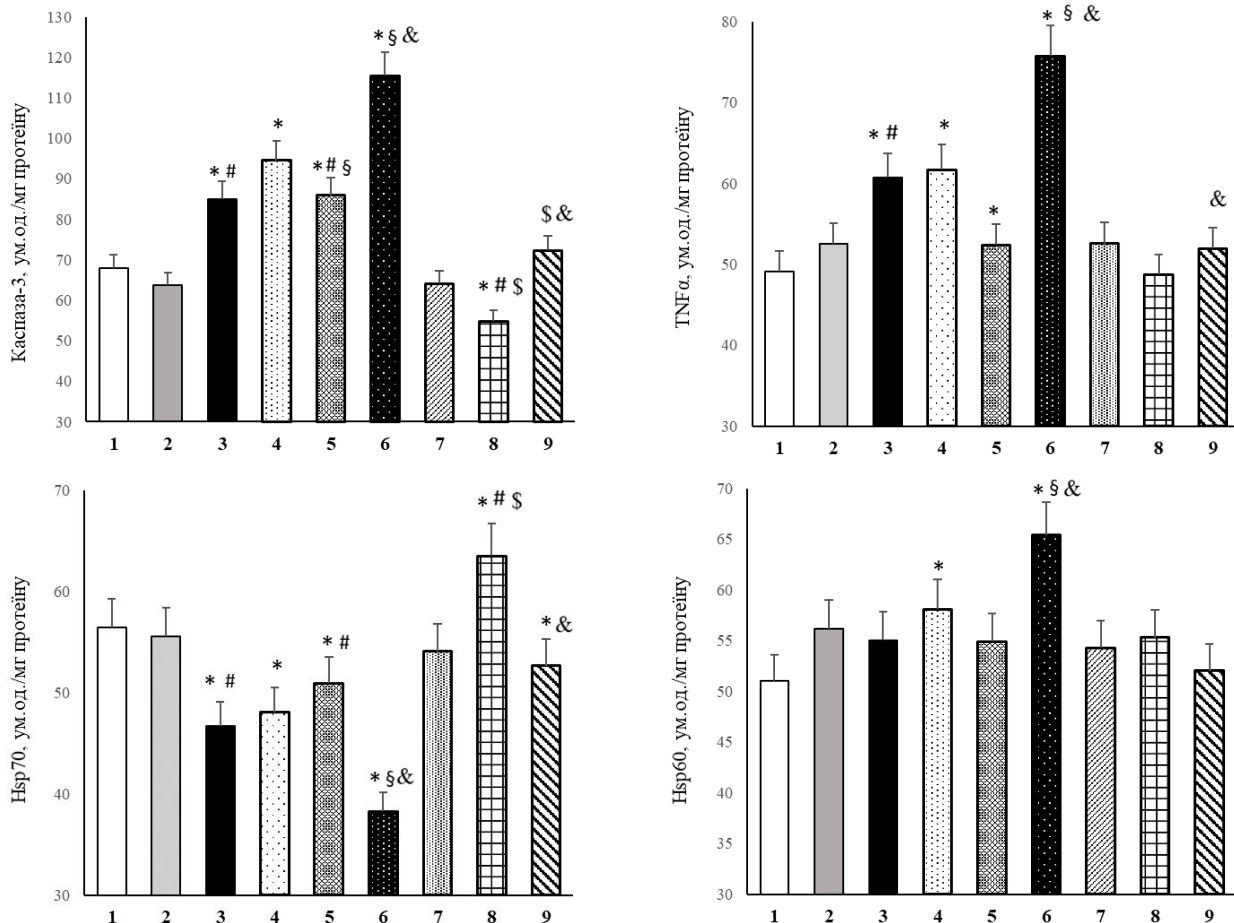


Рис. 2. Рівень каспази-3, TNFα, Hsp70, Hsp60 в міокарді щурів за умов введення 1,25 (OH)₂D₃ та модуляторів системи H₂S/ цистатіонін-γ-ліаза (M±m, n=8-10).

Примітки: 1) групи: 1 - контроль; 2 - 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг; 3 - 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг; 4 - ППГ; 5 - 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг +ППГ; 6 - 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг +ППГ; 7 - NaHS; 8 - 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг + NaHS; 9 - 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг + NaHS; 2) статистично значущі відмінності: * - p<0,05 щодо групи контролю; # - p<0,05 щодо групи 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг; & - p<0,05 щодо групи 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг; § - p<0,05 відносно групи ППГ (пропаргілгліцин); § - p<0,05 щодо групи NaHS.

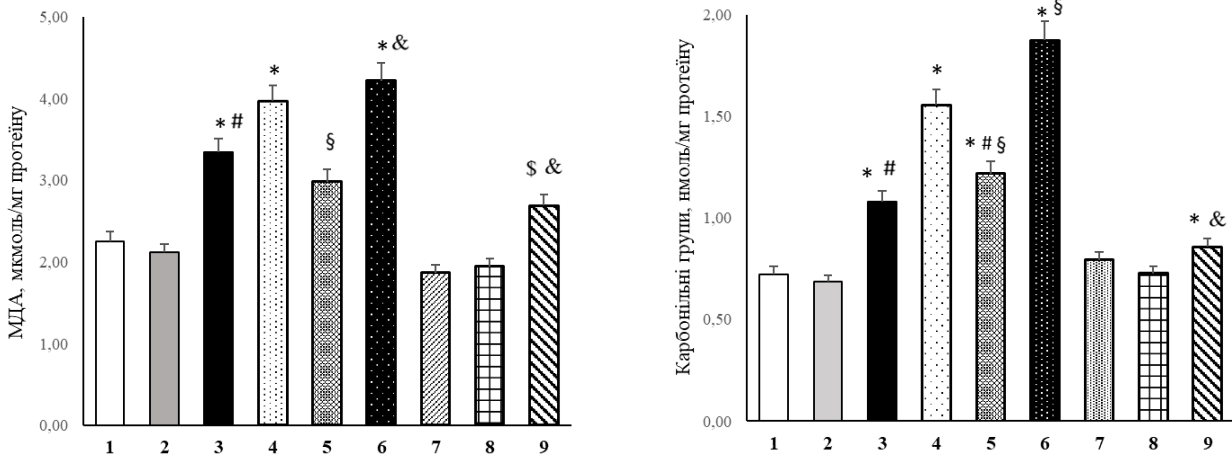


Рис. 3. Рівень показників оксидативного стресу в міокарді щурів за умов введення 1,25 (OH)₂D₃ та модуляторів системи H₂S/цистатіонін-γ-ліаза (M±m, n=8-10).

Примітки: 1) групи: 1 - контроль; 2 - 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг; 3 - 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг; 4 - ППГ; 5 - 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг +ППГ; 6 - 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг +ППГ; 7 - NaHS; 8 - 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг + NaHS; 9 - 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг + NaHS; 2) статистично значущі відмінності: * - p<0,05 щодо групи контролю; # - p<0,05 щодо групи 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг; & - p<0,05 щодо групи 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг; § - p<0,05 щодо групи ППГ (пропаргілгліцин); \$ - p<0,05 щодо групи NaHS.

щення рівнів каспази-3, TNFα, Hsp60 (на 70,2% 54,1 та 28,1%, p<0,05 відносно контролю) та зниження Hsp70 (на 32,2%, p<0,001), що свідчить про посилення прозапальних та проапоптичних змін у кардіоміоцитах. Введення NaHS на тлі застосування 1,25 (OH)₂D₃ у дозі 0,1 мкг/кг спричинило зниження рівня каспази-3 (на 19,1%, p<0,05) та підвищення рівня Hsp70 (на 12,5%, p<0,05), а також сприяло зменшенню проапоптичного та прозапального ефекту високої дози 1,25 (OH)₂D₃.

Встановлено, що застосування 1,25 (OH)₂D₃ у дозі 0,1 мкг/кг не викликало ознак оксидативного стресу в міокарді, тоді як у дозі 1 мкг/кг спричинило статистично значуще підвищення рівня МДА та карбонільних груп протеїнів (48,2 та 50%, p<0,01 порівняно з контролем). Ізольоване введення ППГ викликало виразні ознаки оксидативного стресу в міокарді, про що свідчить підвищення рівнів МДА та карбонільних груп на 75,6% та 116% (p<0,001 відносно контролю), а введення NaHS не мало такого ефекту. Введення ППГ на тлі фізіологічної дози 1,25 (OH)₂D₃ не викликало суттєвого приросту маркерів оксидативного стресу, однак на тлі високої дози 1,25 (OH)₂D₃ спричинило більш значне збільшення вмісту МДА та карбонільних груп (на 86,7 та 161 %, p<0,001 порівняно з контролем). Введення NaHS сприяло зменшенню прооксидантної дії високої дози 1,25 (OH)₂D₃ і не викликало суттєвих змін рівнів МДА та карбонільних груп про-

теїнів за умов застосування фізіологічної дози 1,25 (OH)₂D₃.

Обговорення

Результати наших досліджень показали, що модулятори системи H₂S здатні модифікувати вплив кальцитріолу на сигнальні системи запалення та апоптозу кардіоміоцитів, і цей ефект може реалізуватись через розвиток оксидативного стресу. Ендогенний H₂S є потужним антиоксидантом, формування його дефіциту в міокарді за умов застосування надфізіологічної дози кальцитріолу може асоціюватись з мітохондріальною дисфункцією і зумовлювати підвищення рівнів медіаторів запалення та апоптозу (каспази-3, TNFα), порушувати експресію АТФ-залежних шаперонів Hsp60, Hsp70. З іншого боку, цитопротекторний ефект фізіологічної дози кальцитріолу може реалізуватись через стимуляцію ендогенної продукції H₂S. Кореляційний аналіз (табл. 1) підтвердив наявність статистично значущих кореляційних зв'язків між рівнем H₂S та маркерами апоптозу, запалення та оксидативного стресу в міокарді щурів, а найбільш сильні обернені зв'язки виявлялися з каспазою-3 ($r_{sp} = -0,76$, p<0,001) та TNFα ($r_{sp} = -0,61$, p<0,001). Отримані нами результати узгоджуються з іншими експериментальними дослідженнями. Наприклад, доксорубіцин-індукований апоптоз кардіоміоцитів асоціював-

Таблиця 1. Коефіцієнти кореляції рівня H₂S з маркерами запалення, апоптозу, оксидативного стресу в міокарді щурів.

| Показник | Коефіцієнти кореляції Spearman (r_{sp}) | | | | | |
|----------------------------|---|--------|-------|--------|--------|-------------------|
| | Каспаза-3 | Hsp70 | Hsp60 | TNFα | МДА | Карбонільні групи |
| H ₂ S (міокард) | -0,76 | 0,60 | -0,33 | -0,61 | -0,52 | -0,55 |
| p-value | <0,001 | <0,001 | 0,005 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |

ся з інгібуванням синтезу H_2S та експресії цистатіонін- γ -ліази, тоді як донор H_2S ($NaHS$) та надекспресія цистатіонін- γ -ліази здійснювали антиапоптичний ефект і полегшували інактивацію каспази-3 в культурі кардіоміоцитів [22]. Доведено, що залежно від умов кальцитріол може виявляти як проапоптичну, так і антиапоптичну дію. Зокрема, в культурі ракових клітин кальцитріол посилював активність каспаз [2, 7, 8], активував апоптоз та пригнічував проліферацію клітин [15, 23]. За експериментального інфаркту міокарда екзогенний кальцитріол стимулював експресію VDR в кардіоміоцитах, інгібував сигнальний шлях NF- κ B та запальний процес, підвищував проліферативну активність клітин і забезпечував кардіопротекторний ефект [20]. Кальцитріол в надфізіологічних концентраціях (10 нм та 100 нм) в культурі гладеньких міоцитів судин пригнічував індуковану тепловим шоком секрецію прозапальних цитокінів (IL-6, TNF- α) та синтез Hsp70 [16]. Існують дані, що білок теплового шоку Hsp70 регулює внутрішньоклітинну концентрацію рецепторів VDR [9]; підвищує адаптивний потенціал кардіоміоцитів та забезпечує кардіопротекцію за ішемії/реперфузії, запалення, оксидативного стресу та перевантаження клітин кальцієм [14, 25]. Hsp60 контролює мітохондріальний протеостаз, впливає на синтез АТФ, метаболічні процеси та клітинні функції [7]. Однак при вивільненні з клітин Hsp60 викликає низку прозапальних та проатерогенних ефектів, стимулює синтез прозапальних цитокінів і діє як чинник ендотеліальної дисфункції [7]. Зв'язок між системою H_2S та цитозольними шаперонами в серцево-судинній системі потребує подальшого вивчення. Ймовірно, що Hsp60 та Hsp70 залучені до фолдингу та стабілізації H_2S -синтезуючих ензимів. Так, нещодавно було засвідчено, що нокаут гена Hsp70 спричиняє зниження синтезу H_2S в епітелії нир-

кових каналців [18], а підвищення рівня Hsp70 призводить до нормалізації глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи та підвищення стійкості нервових клітин до ішемії [3].

Отже, система H_2S / цистатіонін- γ -ліаза інтегрована в механізми біологічної дії кальцитріолу, а її модулятори можуть модифікувати фармакотерапевтичні ефекти вітаміну D в серцево-судинній системі.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Кальцитріол залучений до регуляції рівня гідроген сульфід у міокарді: $1,25(OH)_2D_3$ у фізіологічній концентрації (0,1 мкг/кг) підвищує рівень H_2S , а у високій концентрації (1 мкг/кг) здійснює інгібуючий ефект на систему H_2S .

2. Модулятори обміну H_2S модифікують патохімічні зміни в міокарді, індуковані високою дозою кальцитріолу: інгібітор цистатіонін- γ -ліази пропаргілгліцин потенціює зростання рівнів медіаторів запалення та апоптозу (каспази-3, TNF α), поглиблює дисбаланс в системі білків теплового шоку (Hsp70, Hsp60) та ознаки оксидативного стресу. Натомість $1,25(OH)_2D_3$ у фізіологічній концентрації зменшує біохімічні ознаки кардіотоксичної дії пропаргілгліцину.

3. Введення $NaHS$ не викликає суттєвих змін біохімічних показників міокарда щурів за дії фізіологічної дози $1,25(OH)_2D_3$ і суттєво зменшує проапоптичний та прозапальний ефекти високої дози $1,25(OH)_2D_3$.

Перспективними напрямками подальших досліджень є зв'язок між системою гідроген сульфід та цитозольними шаперонами в серцево-судинній системі, а також дослідження ролі кальцитріолу в регуляції H_2S -залежної цитопротекції за різних патологічних станів.

Список посилань - References

- [1] Acharya, P., Dalia T., Ranka S., Sethi, P., Olurinde, A. O., Safarova, M. S., ... & Barua, R. S. (2021). The effects of vitamin D supplementation and 25-hydroxyvitamin D levels on the risk of myocardial infarction and mortality. *Journal of the Endocrine Society*, 5(10), 124. <https://doi.org/10.1210/jendsobvab124>
- [2] Al-Oanzi, Z. H., Alenazy, F. O., Alhassan, H. H., Alruwaili, Y., Alessa, A. I., Alfarm, N. B., ... & Alghofaili, S. I. (2023). The role of vitamin D in reducing the risk of metabolic disturbances that cause cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Dev Dis.*, 10(5), 209. doi: 10.3390/jcdd10050209
- [3] Belenichev, I. F., Aliyeva, O. G., Popazova, O. O., & Bukhtiyarova, N. V. (2023). Involvement of heat shock proteins HSP70 in the mechanisms of endogenous neuroprotection: the prospect of using HSP70 modulators. *Front Cell Neurosci.*, 17, 1131683. doi: 10.3389/fncel.2023.1131683
- [4] Chen, S., Glenn, D. J., Ni, W., Grigsby, C. L., Olsen, K., Nishimoto, M., ... & Gardner, D. G. (2008) Expression of the vitamin D receptor is increased in the hypertrophic heart. *Hypertension*, 52(6), 1106-1112. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.119602
- [5] Crowther, J. R. (2001). *The ELISA Guidebook*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc.
- [6] Kang, S. C., Sohn, E. H., & Lee, S. R. (2020). Hydrogen sulfide as a potential alternative for the treatment of myocardial fibrosis. *Oxid Med Cell Longev.*, 2020, 4105382. doi: 10.1155/2020/4105382
- [7] Krishnan-Sivadoss, I., Mijares-Rojas, I. A., Villarreal-Leal, R. A., Torre-Amione, G., Knowlton, A. A., & Guerrero-Beltran, C. E. (2021). Heat shock protein 60 and cardiovascular diseases: An intricate love-hate story. *Med Res Rev.*, 41(1), 29-71. doi: 10.1002/med.21723
- [8] Latic, N., & Erben, R. G. (2021). Vitamin D and cardiovascular disease, with emphasis on hypertension, atherosclerosis, and heart failure. *Int J Mol Sci.*, 21(18), 6483. doi: 10.3390/ijms21186483
- [9] Lutz, W., Kohno, K., & Kumar R. (2001). The role of heat shock protein 70 in vitamin D receptor function. *Biochem Biophys Res Commun.*, 282(5), 1211-1219. doi: 10.1006/bbrc.2001.4711.
- [10] Manousaki, D., Mokry, L. E., Ross, S., Goltzman, D., & Richards, J. B. (2016). Mendelian randomization studies do not support a role for vitamin D in coronary artery disease. *Circulation. Cardiovascular genetics*, 9(4), 349-356. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.116.001396>
- [11] Mihara, M., & Uchiyama, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.*, 86(1), 271-278. doi: 10.1016/0003-

- 2697(78)90342-1
- [12] Nizami, H. L., Katare, P., Prabhakar, P., Kumar, Y., Arava, S. K., Chakraborty, P., ... & Banerjee, S. K. (2019). Vitamin D deficiency in rats causes cardiac dysfunction by inducing myocardial insulin resistance. *Mol Nutr Food Res.*, 63(17), e1900109. doi: 10.1002/mnfr.201900109
- [13] Pilz, S., Trummer, C., Theiler-Schwetz, V., Grubler, M.R., Verheyen, N.D., Odler, B., ... & Marz, W. (2022). Critical appraisal of large vitamin D randomized controlled trials. *Nutrients*, 14(2), 303. doi: 10.3390/nu14020303
- [14] Song, Y. J., Zhong, C. B., & Wang, X. B. (2019). Heat shock protein 70: A promising therapeutic target for myocardial ischemia-reperfusion injury. *J Cell Physiol.*, 234(2), 1190-1207. doi: 10.1002/jcp.27110
- [15] Sutedja, E. K., Amarassaphira, D., Goenawan, H., Susanti Pratiwi, Y., Sylviana, N., Setiabudiawan, B., ... & Lesmana, R. (2022). Calcitriol inhibits proliferation and potentially induces apoptosis in B16-F10 cells. *Medical Science Monitor Basic Research.*, (28), 935139. doi: 10.12659/msmbr.935139
- [16] Tukaj, S., Trzonkowski, P., & Tukaj, C. (2012). Regulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on vascular smooth muscle cells. *Acta Biochim Pol.*, 59(3), 395-400. PMID: 22910558
- [17] Wang, J., Zhou, J. J., Robertson, G. R., & Lee, V. W. (2018). Vitamin D in vascular calcification: a double-edged sword? *Nutrients*, 10(5), 652. doi: 10.3390/nu10050652
- [18] Wetzel, C., Pfeffer, T., Bulkescher, R., Zemva, J., Modafferi, S., Polimeni, A., ... & Peters, V. (2022). Anserine and carnosine induce HSP70-dependent H2S formation in endothelial cells and murine kidney. *Antioxidants* (Basel), 12(1), 66. doi: 10.3390/antiox12010066
- [19] Wilinski, B., Wilinski, J., Somogyi, E., Piotrowska, J., & Opoka, W. (2012). Vitamin D3 (cholecalciferol) boosts hydrogen sulfide tissue concentrations in heart and other mouse organs. *Folia Biol* (Krakow), 60(3-4), 243-247. doi: 10.3409/fb60_3-4.243-247
- [20] Yang, S., Wang, C., Ruan, C., Chen, M., Cao, R., Sheng, L., ... & Gao, S. (2022). Novel insights into the cardioprotective effects of calcitriol in myocardial infarction. *Cells*, 11(10), 1676. doi: 10.3390/cells11101676
- [21] Yang, R., Teng, X., Li, H., Xue, H. M., Guo, Q., Xiao, L., & Wu, Y. M. (2016). Hydrogen sulfide improves vascular calcification in rats by inhibiting endoplasmic reticulum stress. *Oxid Med Cell Longev*, (2016), 9095242. doi: 10.1155/2016/9095242
- [22] Ye, X., Li, Y., Lv, B., Qiu, B., Zhang, S., Peng, H., ... & Jin, H. (2022). Endogenous hydrogen sulfide persulfidates caspase-3 at cysteine 163 to inhibit doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, (2022), 6153772. <https://doi.org/10.1155/2022/6153772>
- [23] Yu, W.-D., Ma, Y., Flynn, G., Muindi, J. R., Kong, R.-X., Trump, D. L., & Johnson, C. S. (2010). Calcitriol enhances gemcitabine antitumor activity in vitro and in vivo by promoting apoptosis in a human pancreatic carcinoma model system. *Cell Cycle*, 9(15), 3094-3101. doi: 10.4161/cc.9.15.12381
- [24] Zaichko, N. V. (2003). Окислювальна модифікація білків сироватки крові як маркер активності ревматоїдного артриту та її зміни під впливом фармакотерапії амізонам, індометацином, німесулідом [Oxidative modification of blood serum proteins as a marker of rheumatoid arthritis activity and its changes under the influence of pharmacotherapy with amizone, indomethacin, and nimesulide]. *Вісник Вінницького державного медичного університету - Reports of the Vinnitsia State Medical University*, 7(2/2), 664-666.
- [25] Zhang, J., Wang, H., & Sun, X. (2021). Sevoflurane postconditioning reduces hypoxia/reoxygenation injury in cardiomyocytes via upregulation of heat shock protein 70. *J Microbiol Biotechnol.*, 31(8), 1069-1078. doi: 10.4014/jmb.2103.03040

THE INFLUENCE OF CALCITRIOL ON INDICATORS OF APOPTOSIS, INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS IN THE MYOCARDIUM OF RATS UNDER CONDITIONS OF MODULATION OF THE HYDROGEN SULFIDE / CYSTATHIONINE-GAMMA-LYASE SYSTEM

Ostrenyuk R. S., Zaichko N. V.

Annotation. Vitamin D plays an important role in the control of the cardiovascular system, including myocardial remodeling and hypertrophy. Hydrogen sulfide (H_2S) is an important mediator of cardiomyocyte adaptive mechanisms to stress factors. The role of the H_2S system in the mechanisms of biological action of vitamin D in the cardiovascular system has not been clarified. The aim of the work was to determine the effect of the active form of vitamin D - calcitriol on the indicators of apoptosis, inflammation and oxidative stress in the myocardium of rats under conditions of modulation of the H_2S / cystathionine- γ -lyase system. The experiments were performed on 90 white male laboratory rats in accordance with the principles of bioethics (Strasbourg, 1986). Over a period of 4 weeks, 6 groups of animals were administered 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ at doses of 0.1 and 1 μ g/kg. To modulate the H_2S system, propargylglycine (PPG) and NaHS were administered. The H_2S content, markers of inflammation, apoptosis, and oxidative stress were determined in the myocardium. Statistical analysis was performed using the IBM Statistics SPSS 26 software package. It was established that 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ in a dose of 0.1 μ g/kg increases the level of H_2S in the myocardium, while at a dose of 1 μ g/kg it has an inhibitory effect on the H_2S system. Modulators of H_2S exchange modify pathochemical changes in the myocardium induced by 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ at a dose of 1 μ g/kg. PPG potentiates the increase in the levels of mediators of inflammation and apoptosis, deepens the imbalance in the system of heat shock proteins and signs of oxidative stress. Administration of NaHS does not cause significant changes in myocardial parameters under the influence of a physiological dose of 1.25 (OH) $_2$ D $_3$ and significantly reduces the pro-apoptotic and pro-inflammatory effects of a high dose of 1.25 (OH) $_2$ D $_3$.

Keywords: hydrogen sulfide, vitamin D, calcitriol, apoptosis, inflammation, oxidative stress, cardiovascular system, rats.