

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2022-26(4)-05

УДК: 546.221.1:577.161.2:616.132:599.323.4

РІВЕНЬ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В АОРТІ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ВІТАМІНУ D В УМОВАХ МОДУЛЯЦІЇ СИСТЕМИ H_2S / ЦИСТАТІОНІН-ГАМА-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 10 серпня 2022 р.; прийнято до друку 16 вересня 2022 р.

Анотація. Вітамін D та гідроген сульфід (H_2S) належать до плейотропних регуляторів, які залучені до контролю багатьох клітинних функцій і біохімічних процесів, визначають адаптивний потенціал серцево-судинної системи. Зв'язок між вітаміном D та системою H_2S остаточно не з'ясований. Метою роботи було оцінити вплив активної форми вітаміну D - кальцитріолу ($1,25(OH)_2D_3$) на морфологічний стан грудної аорти щурів та рівень її насиченості гідроген сульфідом в умовах модуляції системи H_2S /цистатіонін- γ -ліаза. Досліди проведені на 90 білих лабораторних щурах-самцях з дотриманням принципів біоетики (Страсбург, 1986). $1,25(OH)_2D_3$ вводили в дозах 0, 1 мкг/кг та 1 мкг/кг упродовж 4-х тижнів. З метою модуляції стану системи H_2S /цистатіонін- γ -ліаза застосовували пропарігеліцин (50 мг/кг) та NaHS (1 мг/кг). У грудній аорті щурів визначали вміст H_2S та оцінювали морфологічні зміни. Статистичну обробку проводили у пакеті IBM Statistics SPSS 26, відмінності оцінювали в тесті Мана-Уїтні при рівні значущості $p < 0,05$. Встановлено, що $1,25(OH)_2D_3$ у дозі 1,0 мкг/кг призводить до формування дефіциту H_2S та комплексу морфологічних змін в аорті, які проявляються пошкодженнями епітеліальних клітин і стромальних елементів, утворенням кальцинатів. Модуляція системи H_2S /цистатіонін- γ -ліаза є чинником, який модифікує вплив високих доз $1,25(OH)_2D_3$ на судини: дефіцит H_2S поглиблює ураження судинної стінки, у той час як підвищення рівня насиченості тканин H_2S справляє протилежний ефект. $1,25(OH)_2D_3$ у дозі 0, 1 мкг/кг виявляє здатність підвищувати рівень ендogenous H_2S і зменшує розвиток патологічних змін у судинах за умов тривалого інгібування системи H_2S /цистатіонін- γ -ліаза.

Ключові слова: гідроген сульфід, вітамін D, кальцитріол, серцево-судинна система, аорта, щурі.

Вступ

За сучасними уявленнями, вітамін D, окрім регуляції кальцієво-фосфорного обміну, процесів мінералізації та осифікації, залучений до контролю багатьох клітинних функцій і біохімічних процесів, володіє плейотропною біологічною дією [2, 14]. Біологічною активністю володіє продукт гідроксилування вітаміну D - кальцитріол ($1,25(OH)_2D_3$), який взаємодіє зі специфічними рецепторами (VDR) клітин-мішеней і регулює експресію вітамін D-залежних генів [2, 14]. Дефіцит вітаміну D асоціюється з підвищеним ризиком атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, серцевої недостатності, аритмій, цукрового діабету, ожиріння [3, 15]. Надмірне надходження вітаміну D в організм також негативно впливає на стан серцево-судинної системи, нирок, шлунково-кишкового тракту [10, 11]. Негативний вплив вітаміну D на стан серцево-судинної системи пов'язують з порушеннями кальцієво-фосфорного обміну та розвитком судинної кальцифікації, активацією ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, імунозапальних процесів [3, 7, 12]. Експериментально засвідчено, що кальцифікація атеросклеротичних бляшок у судинах посилюється і за умов дефіциту вітаміну D, і за умов його надлишку [4].

Серед чинників, які визначають адаптивний потенціал і гомеостаз серцево-судинної системи вагому роль відіграє поліфункціональний газотрансмітер гідроген сульфід (H_2S) [12]. Зниження ендogenous продукції H_2S інтегровано в патогенез тих самих "хвороб цивілізації", що й дефіцит вітаміну D: серцево-судинної патології, не-

врологічних розладів, ренальної дисфункції та інших патологічних станів [18]. Існують окремі свідчення щодо можливого зв'язку між системою H_2S та вітаміном D. Зокрема, В. Wilinski (2012) було уперше засвідчено, що введення вітаміну D_3 (10000 та 40000 МО/кг інтраперітонеально) викликає підвищення рівня H_2S у серці (на 29,6% та 74,1%), нирках і мозку (на 10%) у здорових мишей [17]. У дослідях in vivo відмічена здатність донору H_2S - натрій гідрогенсульфіду (NaHS) зменшувати кальцифікацію судин, індуковану застосуванням високих доз вітаміну D сумісно з ніотином [8, 19]. Однак, вплив вітаміну D на стан серцево-судинної системи за різної насиченості організму H_2S остаточно не визначений.

Метою роботи було оцінити вплив активної форми вітаміну D - кальцитріолу ($1,25(OH)_2D_3$) на морфологічний стан грудної аорти щурів і рівень її насиченості гідроген сульфідом 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 із дотриманням "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", затверджених у резолюціях I-VII національних конгресів України з біоетики (Київ, 2001-2019 рр.), 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 20-24о С та відносної вологості повітря 50-60%, з вільним доступом до води та їжі (стандартного повнораціонного гранульованого корму для лабораторних гризунів ТОВ "НВП Ф.У.Д.", Україна). Розподіл щурів на дослідні групи здійснювали випадковим чином, за принципом мінімізації відмінностей за масо-ростовими параметрами. Було сформовано 9 груп (n=10): 1) контроль; 2) 1,25 (ОН)₂D₃ 0,1 мкг/кг; 3) 1,25 (ОН)₂D₃ 1 мкг/кг; 4) пропаргілгліцин (ППГ); 5) 1,25 (ОН)₂D₃ 0,1 мкг/кг + ППГ; 6) 1,25 (ОН)₂D₃ 1 мкг/кг + ППГ; 7) натрій гідроген сульфід (NaHS); 8) 1,25 (ОН)₂D₃ 0,1 мкг/кг + NaHS; 9) 1,25 (ОН)₂D₃ 1 мкг/кг + NaHS. Кальцитріол (1,25 (ОН)₂D₃, Calcitriolo 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 H₂S 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. Дози 1,25 (ОН)₂D₃ [20] та модуляторів обміну H₂S [1, 5] були запозичені з літератури і не викликали загибелі тварин. Контрольні тварини отримували еквівалентні кількості розчинників. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під тіопенталовим нарко-

зом (100 мг/кг в/оч).

Після вилучення грудної аорти відбирали фрагменти судини, фіксували їх 10 % розчином нейтрального формаліну для стабілізації клітин і тканин, проводили через батарею спиртів зростаючої концентрації, заливали в парафінові блоки, готували напівтонкі зрізи (5-7 мкм), забарвлювали гематоксиліном та еозином. Препарати аналізували методом світлової мікроскопії при збільшенні в 400 разів за допомогою мікроскопу "Olympus BX-41" (об'єктив x 40; окуляр x 10). Мікрофотографії виготовляли за допомогою фотокамери Olympus C-5050 Zoom (Olympus Europe GmbH, Японія).

Вміст H₂S у грудній аорті визначали спектрофотометричним методом за реакцією N,N-диметил-пара-феніллендіаміном у присутності FeCl₃ як описано [17]. 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±m.

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

Результати

Встановлено, що у щурів контрольної групи вміст H₂S в аорті коливався від 1,69 до 2,21 нмоль/мг протеїну

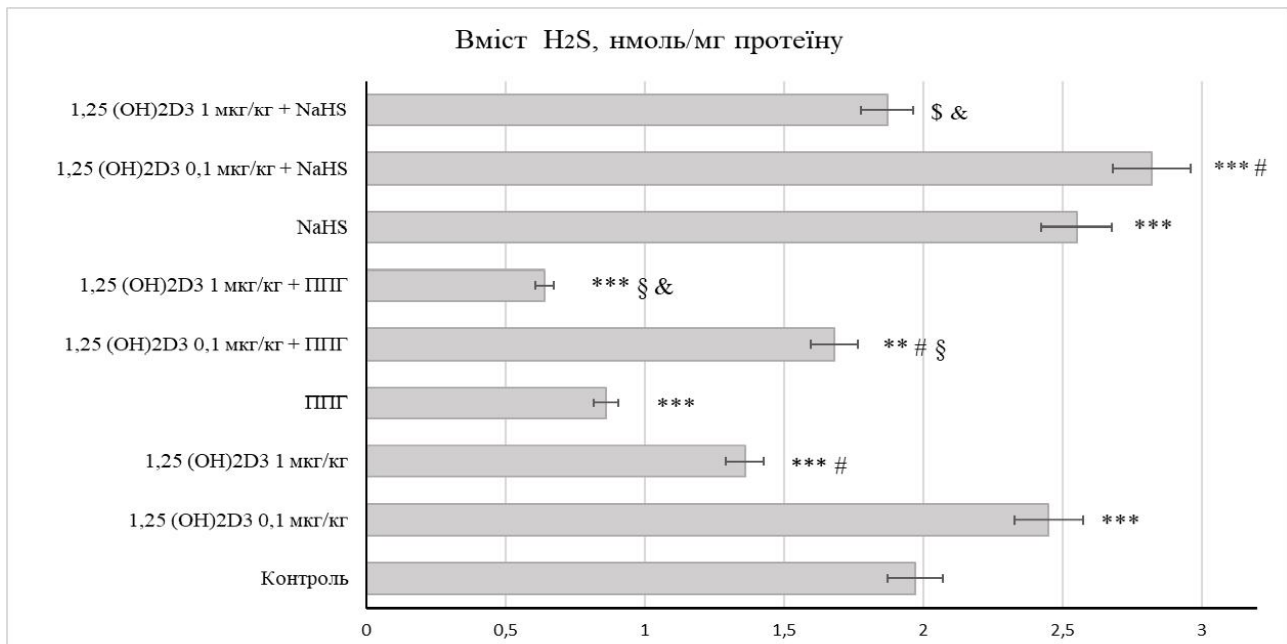


Рис. 1. Рівень H₂S в грудній аорті щурів за умов введення 1,25 (ОН)₂D₃ та модуляторів системи H₂S/цистатіонін-γ-ліази (M±m, n=10).

Примітки: 1) * - статистично значущі відмінності відносно групи контролю (** - p<0,01; *** - p<0,001); 2) # - p<0,05 відносно групи 1,25 (ОН)₂D₃ 0,1 мкг/кг; 3) § - p<0,05 відносно групи ППГ (пропаргілгліцин); 3) & - p<0,05 відносно групи 1,25 (ОН)₂D₃ 1 мкг/кг; 4) \$ - p<0,05 відносно групи NaHS.

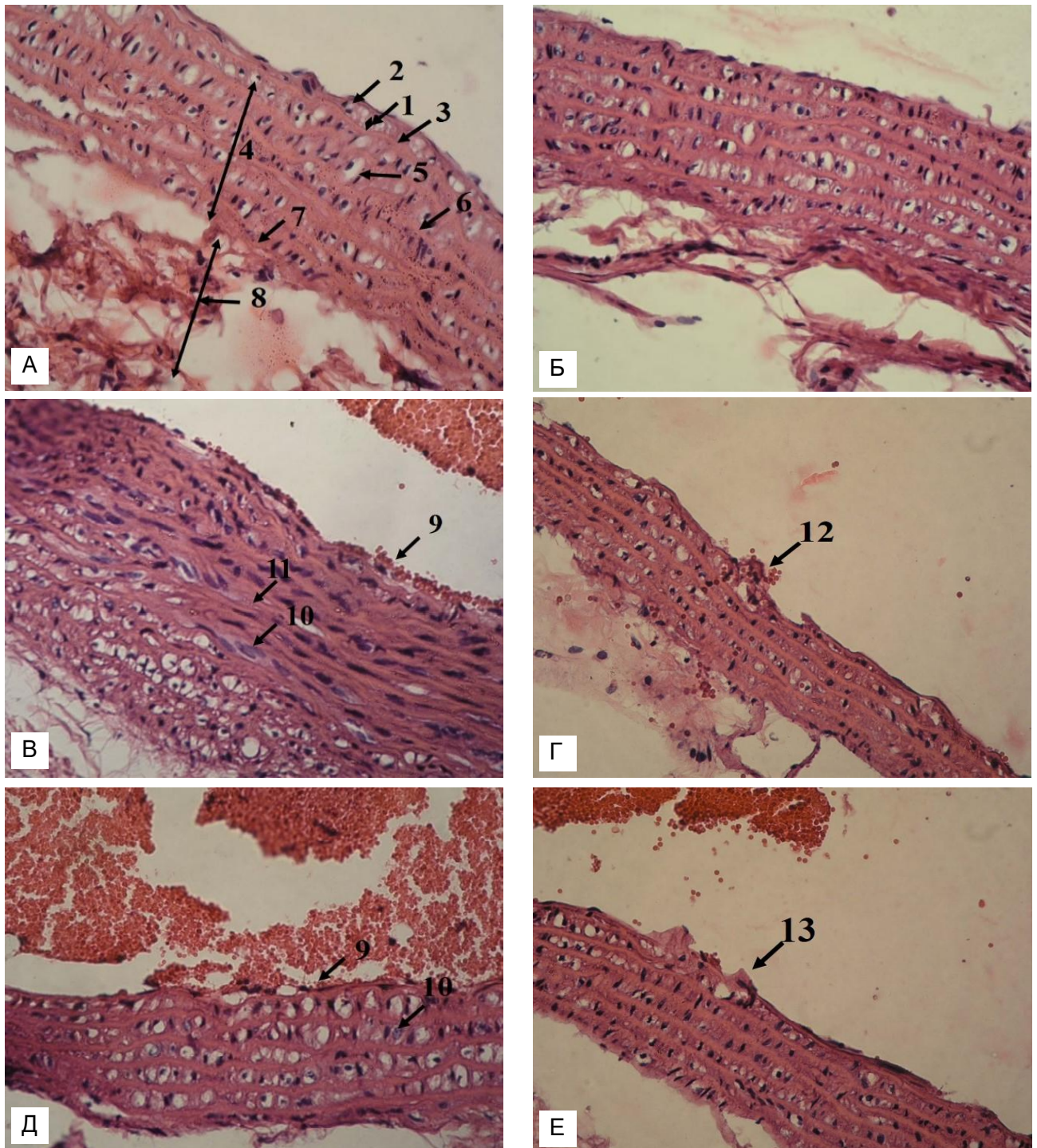


Рис. 2. Мікрофотографія гістологічного препарату аорти щурів. А - контроль, Б - 1,25 (ОН)2D3 0,1 мкг/кг, В - 1,25 (ОН)2D3 1 мкг/кг, Г - пропаргілгліцин 50 мг/кг (ППГ), Д - 1,25 (ОН)2D3 0,1 мг/кг + ППГ, Е - 1,25 (ОН)2D3 1 мкг/кг + ППГ. Забарвлення гематоксилін-еозином, x400 (ок. 10, об. 40).

Примітки: 1 - внутрішній шар аорти, 2 - ендотелій, 3 - внутрішня еластична мембрана, 4 - середній шар аорти, 5 - гладком'язові клітини, 6 - еластичні ламели, 7 - зовнішня еластична мембрана, 8 - зовнішній шар аорти, 9 - адгезія еритроцитів, 10 - набряк гладком'язових клітин, 11 - кальцифікати, 12 - злушування ендотеліоцитів, 13 - набряк ендотеліоцитів .

(min-max) і в середньому становив $1,98 \pm 0,057$ нмоль/мг протеїну (рис. 1). Введення активної форми вітаміну D упродовж 4-х тижнів викликало статистично значущі

зміни судинного рівня H_2S , спрямованість яких відрізнялась залежно від обраної дози препарату. Так, у щурів, які отримували $1,25 (OH)_2D_3$ у дозі 0,1 мкг/кг, вміст H_2S в

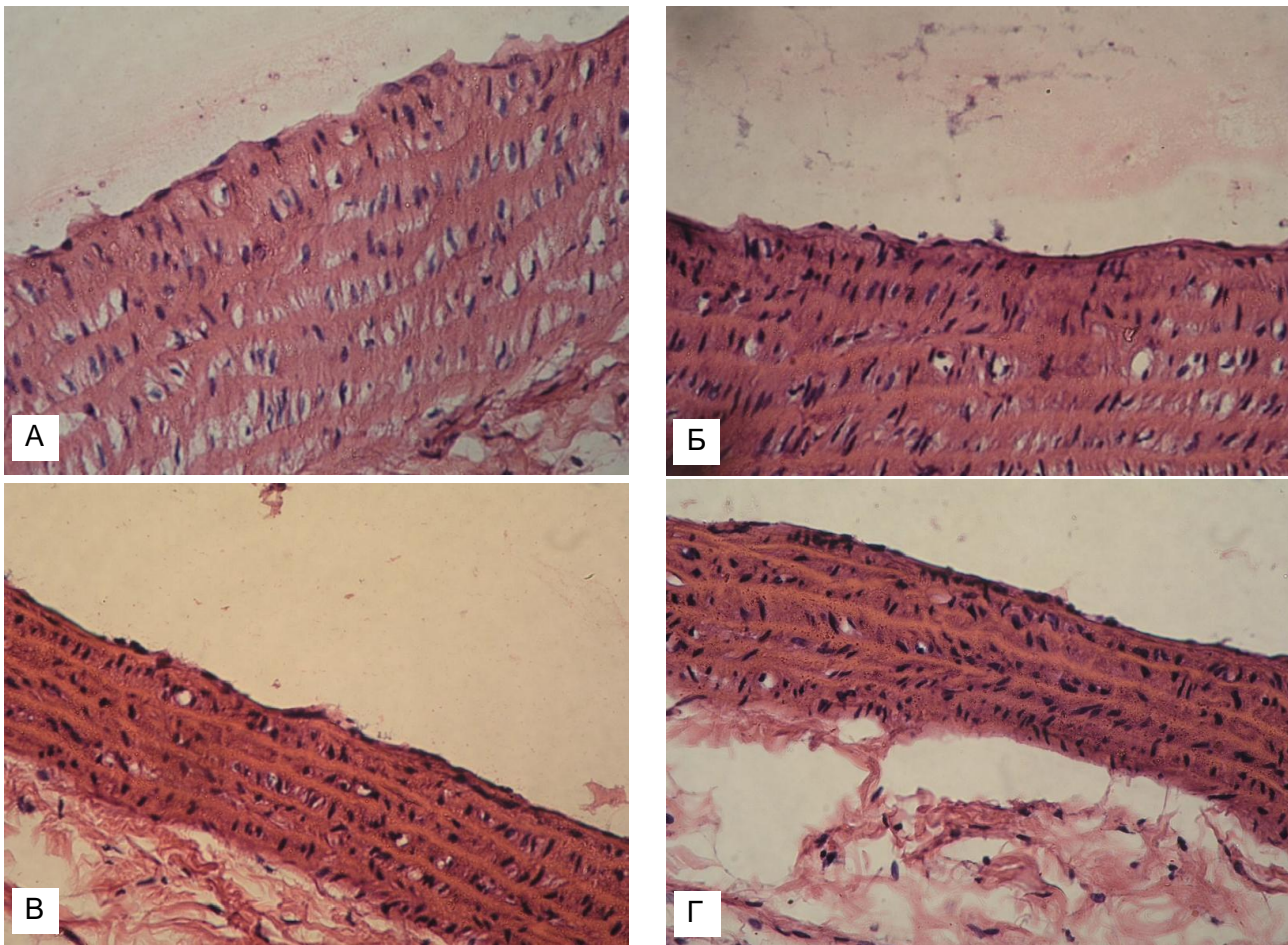


Рис. 3. Мікрофотографія гістологічного препарату грудної аорти щурів. А - NaHS (1 мкг/кг), Б - 1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг + NaHS, В, Г - 1,25 (OH)₂D₃ 1 мкг/кг + NaHS. Забарвлення гематоксилін-еозином, х 400 (ок. 10, об. 40).

аорті виявився вищим на 23,7% ($p=0,001$), а у щурів, які отримували 1,25 (OH)₂D₃ у дозі 1 мкг/кг, навпаки, нижчим на 31,3% ($p=0,001$), ніж у контролі.

Введення ППГ щурам, які не отримували 1,25 (OH)₂D₃, забезпечило формування дефіциту ендogenous H₂S: його рівень в аорті був нижчим на 56,6%, ніж у контролі ($p<0,001$). Виявилось, що у щурів, які отримували ППГ на тлі застосування 1,25 (OH)₂D₃ у дозі 0,1 мкг/кг, рівень H₂S в аорті знизився істотно менше (на 15,1%, $p=0,01$ порівняно з контролем) і був статистично значуще вищим (на 95,3%, $p=0,012$), ніж при ізольованому введенні вказаного інгібітору. Натомість, у щурів, які отримували 1,25 (OH)₂D₃ у дозі 1 мкг/кг, введення ППГ поглибило дефіцит H₂S на 25,6% ($p=0,009$) відносно групи "ППГ". Введення NaHS забезпечило підвищення рівня H₂S в аорті (на 28,7%, $p=0,001$ відносно контролю) у щурів, які не отримували 1,25 (OH)₂D₃. Застосування NaHS не викликало надмірного приросту рівня H₂S в аорті щурів, які отримували 1,25 (OH)₂D₃ у дозі 0,1 мкг/кг, і ефективно запобігало зниженню рівня H₂S при введенні високої дози 1,25 (OH)₂D₃. Зокрема, рівень H₂S в групах "1,25 (OH)₂D₃ 0,1 мкг/кг + NaHS" та "1,25 (OH)₂D₃ 1

мкг/кг + NaHS" був вищим на 15,1% ($p=0,043$) та 37,5% ($p=0,002$), ніж у групах із аналогічними дозами кальцитріолу.

При мікроскопічному дослідженні грудної аорти щурів контрольної групи були засвідчені наступні загальні закономірності її структурної організації (рис. 2, А): судинна стінка складалась із трьох шарів: внутрішнього, середнього і зовнішнього; внутрішній шар з боку просвіту аорти вистелений ендотелієм, під яким розташований тонкий шар пухкої сполучної тканини, відокремлений від середнього шару внутрішньою пограничною мембраною. Середній шар був утворений шарами косо орієнтованих гладком'язових клітин, які чергувались з еластичними ламелами, і відмежований від зовнішнього шару зовнішньою еластичною мембраною. Зовнішній шар був утворений пухкою сполучною тканиною: фібробластами, колагеновими і еластичними волокнами, макрофагами. У щурів, які отримували 1,25 (OH)₂D₃ у дозі 0,1 мкг/кг, не виявлено суттєвих змін структурної організації аорти (рис. 2, Б): зберігалась цілісність ендотеліального вистелення інтими та внутрішньої пограничної мембрани, звичайна структура гладком'язо-

вих клітин і коса орієнтація їх шарів в середньому шарі, не виявлено змін у адвенциї.

У щурів, які отримували $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у дозі 1 мг/кг, виявлено наступні мікроскопічні зміни судини (рис. 2, В): спостерігались порушення плазматичної мембрани ендотеліоцитів та адгезія еритроцитів до поверхні ендотелію; потовщення внутрішньої та середньої оболонки аорти, проліферація гладком'язових клітин середньої оболонки та їх набряк. У внутрішньому та середньому шарах стінки аорти виявлені кальцифікати, яких не спостерігалось в групі контролю та в групі "1,25 $(\text{OH})_2\text{D}_3$ 0,1 мг/кг".

Інгібування системи H_2S / цистатіонін- γ -ліаза викликало характерні зміни мікроскопічного стану аорти: у щурів, які отримували ППГ (50 мг/кг), виявлялись ознаки пошкодження ендотелію та стромальних елементів аорти із потовщенням внутрішньої еластичної мембрани; набряк ендотеліоцитів, їх злушчування, зменшення розмірів гладком'язових клітин; подекуди мала місце адгезія еритроцитів до поверхні ендотеліоцитів (рис. 2, Г).

У щурів, які отримували $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у дозі 0,1 мг/кг, введення ППГ викликало менш виразні структурні зміни стінки аорти (рис. 2, Д): виявлена адгезія еритроцитів до поверхні ендотелію, набряк і дегенеративні зміни судинної стінки, але не спостерігалось проліферації гладком'язових клітин середньої оболонки та не було потовщення судинної стінки.

У щурів, які отримували $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у дозі 1 мг/кг, інгібування ендогенної продукції H_2S істотно поглиблювало патологічні зміни стінки аорти: виявлено значні порушення внутрішньої оболонки, із виразним набряком ендотеліоцитів, їх злушчуванням і оголенням сполучнотканинного матриксу в просвіті судини; реєструвалось просочування еритроцитів у стінку аорти; потовщення внутрішньої еластичної мембрани із одночасним витонченням середньої оболонки аорти, зменшення розмірів гладком'язових клітин на тлі потовщення еластичних ламел (рис. 2, Е).

Введення NaHS (1 мг/кг) не викликало змін структурної організації стінки аорти у щурів, які не отримували кальцитріол, а також у щурів, які отримували $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у дозі 0,1 мг/кг (рис. 3, А, Б): внутрішня інтима мала збережене ендотеліальне вистелення, чітко відокремлювалась внутрішньою пограничною мембраною від медії; гладком'язові клітини середнього шару мали звичайну структуру, їх шари чергувались з еластичними ламелами; пухка сполучна тканина адвенциї мала звичайну структуру.

У щурів, які отримували $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у дозі 1 мг/кг, введення NaHS зменшувало патологічні зміни мікроскопічної структури аорти (рис. 3, В, Г): реєструвалось помірне витончення середньої оболонки, зменшення розмірів гладком'язових клітин та ущільнення еластичних ламел, але не виявлялось набряку та ділянок злушчування ендотеліоцитів, зберігалась цілісність плазма-

тичної мембрани, практично не виявлялось кальцифікатів у комплексі інтима-медія, не було діapedезу еритроцитів.

Обговорення

За результатами наших досліджень, застосування $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у високій дозі призводить до формування дефіциту H_2S та комплексу морфологічних змін в аорті, які проявляються пошкодженнями епітеліальних клітин і стромальних елементів, зумовлюють зниження тромборезистентності судинної стінки та погіршують умови функціонування серцево-судинної системи. Модуляція системи H_2S / цистатіонін- γ -ліаза є чинником, який модифікує вплив високих доз $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ на судини: дефіцит H_2S поглиблює ураження судинної стінки, у той час як підвищення рівня насиченості тканин H_2S справляє протилежний ефект. Слід відзначити, що $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у дозі 0,1 мг/кг виявляє здатність підвищувати рівень ендогенного H_2S у здорових тварин і зменшує розвиток патологічних змін в судинах за умов тривалого введення ППГ. Отже, вплив кальцитріолу на рівень H_2S в судинах виявився неоднозначним і молекулярні механізми, через які реалізується цей ефект потребують подальшого вивчення. Існують дані, що $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ підвищує експресію цистатіонін- γ -ліази та продукцію H_2S у культурі людських моноцитів [6] та адипоцитів [9]. Не виключено, що цей ефект кальцитріолу може реалізуватись і в судинах. Здатність донорів H_2S запобігати кальцифікації судин засвідчена в окремих експериментальних роботах [8, 16, 19]. Зокрема, R. Yang (2016) та H. Li (2017) показали, що введення NaHS зменшувало стрес ендоплазматичного ретикулула в аорті щурів з судинною кальцифікацією, індукованою вітаміном D та ніотином [8, 19]. Введення NaHS (50 мкмоль/кг/добу 8 тижнів) викликало зниження рівня кальцію та фосфору, зменшувало кальциноз аорти та пригнічувало остеогенну трансформацію гладком'язових клітин у щурів з діабетичною нефропатією [16]. Донори H_2S (NaHS, Na_2S) зменшували остеобластну трансдиференціацію інтерстиціальних клітин, інгібували експресію остеокальцину та лужної фосфатази в культурі аортальних клапанів людини [13]. Слід відзначити, що в серцево-судинній системі цистатіонін- γ -ліаза є ключовим, але не єдиним H_2S -продукуючим ферментом [18], тому подальші дослідження ролі вітаміну D в регуляції обміну H_2S залишаються актуальними.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Активна форма вітаміну D - кальцитріол може викликати протилежно спрямовані зміни рівня H_2S у судинах щурів залежно від умов: $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$ у дозі 0,1 мг/кг підвищує рівень H_2S в аорті щурів (в 1,2 рази), а у дозі 1 мг/кг справляє депримуєчий ефект. Пропаргілгліцин поглиблює дефіцит H_2S у судинах на тлі застосування високої дози $1,25 (\text{OH})_2\text{D}_3$, за цих умов NaHS справляє

протилежний ефект.

2. Інгибування ендогенної продукції H_2S під впливом пропаргілгіліцину потенціює небажаний вплив високих доз $1,25 (OH)_2D_3$ на морфологічний стан судин, про що свідчить поглиблення ознак пошкодження ендотелію, потовщення внутрішньої еластичної мембрани та зміни гладком'язових клітин. Натомість, $1,25 (OH)_2D_3$ у терапевтичній дозі стримує формування дефіциту H_2S в аорті та зменшує морфологічні ознаки вазотоксичної дії про-

паргілгіліцину.

3. Введення $NaHS$ не викликає суттєвих змін морфологічного стану аорти щурів за дії терапевтичних доз $1,25 (OH)_2D_3$ і суттєво зменшує ушкодження судинної стінки за дії високих доз $1,25 (OH)_2D_3$.

Подальше вивчення ролі вітаміну D у регуляції обміну H_2S дозволить встановити нові механізми підвищення адаптаційних резервів серцево-судинної системи та напрямки профілактики судинних ускладнень.

Список посилань - References

- [1] Barrera, A., Morales-Loredo, H., Garcia, J. M., Fregoso, G., Pace, C. E., Mendiola, P. J., ... & Kanagy, N. L. (2021) Simulated sleep apnea alters hydrogen sulfide regulation of blood flow and pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 320(2), 511-519. doi: 10.1152/ajpheart.00672.2019
- [2] Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L., & Carmeliet, G. (2016). Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev.*, 96(1), 365-408. doi: 10.1152/physrev.00014.2015
- [3] Cosentino, N., Campodonico, J., Milazzo, V., De Metrio, M., Brambilla, M., Camera, M., & Marenzi, G. (2021). Vitamin D and cardiovascular disease: current evidence and future perspectives. *Nutrients*, 13, 3603. doi.org/10.3390/nu13103603
- [4] Ellam, T., Hameed, A., ul Haque, R., Muthana, M., Wilkie, M., Francis, S. E., & Chico, T. J. (2014). Vitamin D deficiency and exogenous vitamin D excess similarly increase diffuse atherosclerotic calcification in apolipoprotein E knockout mice. *PLoS One.*, 9(2), e88767. doi: 10.1371/journal.pone.0088767
- [5] Feng, X., Zhang, H., Shi, M., Chen, Y., Yang, T., & Fan, H. (2020). Toxic effects of hydrogen sulfide donor NaHS induced liver apoptosis is regulated by complex IV subunits and reactive oxygen species generation in rats. *Environ Toxicol.*, 35(3), 322-332. doi: 10.1002/tox.22868
- [6] Jain, S. K., Manna, P., Micinski, D., Lieblong, B. J., Kahlon, G., Morehead, L., ... Levine, S. N. (2013). In African American type 2 diabetic patients, is vitamin D deficiency associated with lower blood levels of hydrogen sulfide and cyclic adenosine monophosphate, and elevated oxidative stress? *Antioxid Redox Signal.*, 18(10), 1154-1158. doi: 10.1089/ars.2012.4843
- [7] Kheiri, B., Abdalla, A., Osman, M., Ahmed, S., Hassan, M., & Ghassan, B. (2018). Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular diseases: a narrative review. *Clin. Hypertens.*, 24, 9. doi:10.1186/s40885-018-0094-4
- [8] Li, H., Teng, X., Yang, R., Guo, Q., Xue, H., Xiao, L., ... & Wu, Y. (2017). Hydrogen sulfide facilitates the impaired sensitivity of carotid sinus baroreflex in rats with vascular calcification. *Front Pharmacol.*, 8, 629. doi: 10.3389/fphar.2017.00629
- [9] Manna, P., & Jain, S. K. (2012). Vitamin D up-regulates glucose transporter 4 (GLUT4) translocation and glucose utilization mediated by cystathionine- γ -lyase (CSE) activation and H_2S formation in 3T3L1 adipocytes. *J Biol Chem.*, 287(50), 42324-42332. doi: 10.1074/jbc.M112.407833
- [10] Marcinowska-Suchowierska, E., Kupisz-Urban'ska, M., Łukaszkiwicz, J., Pludowski, P., & Jones, G. (2018). Vitamin D toxicity - a clinical perspective. *Front. Endocrinol.*, 9, 550. doi: 10.3389/fendo.2018.00550
- [11] Misgar, R. A., Sahu, D., Bhat, M. H., Wani, A. I., & Bashir, M. I. (2019). Vitamin D toxicity: A prospective study from a tertiary care centre in Kashmir Valley. *Indian J Endocr Metab.*, 23, 363-366. doi:10.4103/ijem.IJEM_116_19
- [12] Pan, L.-L., Qin, M., Liu X.-H., & Zhu, Y.-Z. (2017). The role of hydrogen sulfide on cardiovascular homeostasis: an overview with update on immunomodulation. *Front. Pharmacol.*, 2017, Sec. Experimental Pharmacology and Drug Discovery. doi:10.3389/fphar.2017.00686
- [13] Sikura, K. E., Potor, L., Szerafin, T., Oros, M., Nagy, P., Mehes, G., ... & Balla, J. (2020). Hydrogen sulfide inhibits calcification of heart valves; implications for calcific aortic valve disease. *Br J Pharmacol.*, 177(4), 793-809. doi: 10.1111/bph.14691
- [14] Tuckey, R. C., Cheng, C. Y. S., & Slominski, A. T. (2019). The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 186, 4-21. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.09.003
- [15] Vranić, L., Mikolasević, I., & Milić, S. (2019). Vitamin D deficiency: consequence or cause of obesity? *Medicina (Kaunas)*, 55(9), 541. doi: 10.3390/medicina55090541
- [16] Wang, F. Z., Zhou, H., Wang, H. Y., Dai, H. B., Gao, Q., Qian, P., & Zhou, Y. B. (2021). Hydrogen sulfide prevents arterial medial calcification in rats with diabetic nephropathy. *BMC Cardiovasc Disord.*, 21(1), 495. doi: 10.1186/s12872-021-02307-9
- [17] 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
- [18] Wilkie, S. E., Borland, G., Carter, R. N., Morton, N. M., & Selman, C. (2021). Hydrogen sulfide in ageing, longevity and disease. *Biochem J.*, 478(19), 3485-3504. doi: 10.1042/BCJ20210517
- [19] 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
- [20] Yi, Yin, Zhiwen, Yu, Min, Xia, Xiaoqin, Luo, Xiaofei, Lu, & Wenhua, Ling. (2012). Vitamin D attenuates high fat diet-induced hepatic steatosis in rats by modulating lipid metabolism. *Eur J Clin Invest.*, 42(11), 1189-1196. doi: 10.1111/j.1365-2362.2012.02706.x

THE LEVEL OF HYDROGEN SULFIDE AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE AORTA OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF VITAMIN D UNDER THE CONDITIONS OF MODULATION OF THE H_2S / CYSTATHIONINE- γ -LYASE SYSTEM

Ostrenyuk R. S., Zaichko N. V.

Annotation. Vitamin D and hydrogen sulfide (H_2S) belong to pleiotropic regulators, which are involved in the control of many cellular functions and biochemical processes, determine the adaptive potential of the cardiovascular system. The relationship between vitamin D and the H_2S system is not fully investigated. The aim of the study was to evaluate the effect of the active form of vitamin D - calcitriol ($1,25 (OH)_2D_3$) on the morphological state of the thoracic aorta of rats and the level of its saturation with hydrogen sulfide under the conditions of the H_2S / cystathionine- γ -lyase system modulation. The experiments were performed on 90 white male

laboratory rats in accordance with the principles of bioethics (Strasbourg, 1986). $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ was administered in doses of $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ and $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ for 4 weeks. Propargylglycine ($50 \text{ mg}/\text{kg}$) and NaHS ($1 \text{ mg}/\text{kg}$) were used to modulate the state of the $\text{H}_2\text{S}/\text{cystathionine-}\gamma\text{-lyase}$ system. The content of H_2S was determined in the thoracic aorta and morphological changes were evaluated. Statistical calculations were performed in IBM Statistics SPSS 26, differences were evaluated in the Mann-Whitney test at the significance level of $p < 0.05$. It was established that $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in a dose of $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ leads to the formation of H_2S deficiency and a complex of morphological changes in the aorta, which are manifested by damage of epithelial cells and stromal elements, and the formation of calcifications. Modulation of the $\text{H}_2\text{S} / \text{cystathionine-}\gamma\text{-lyase}$ system is a factor that modifies the effect of high doses of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ on vessels: H_2S deficiency increases damage of the vascular wall, while increasing tissue H_2S saturation has the opposite effect. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in a dose of $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ shows the ability to increase the level of endogenous H_2S and reduces the development of pathological changes in blood vessels under the conditions of long-term inhibition of the $\text{H}_2\text{S} / \text{cystathionine-}\gamma\text{-lyase}$ system.

Keywords: hydrogen sulfide, vitamin D, calcitriol, cardiovascular system, aorta, rats.
