

УДК 612.127.4:796.92

DOI 10.34014/2227-1848-2023-1-155-164

МОНООКСИД АЗОТА В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ЛИНИИ «ВИСТАР» ПРИ ВВЕДЕНИИ ВИТАМИНА D3

О.И. Паршукова, Н.Н. Потолицына, Ж.Е. Иванкова, Н.Ж. Алисултанова,
Н.А. Вахнина, Л.Б. Каликова, А.М. Третьякова, А.А. Черных,
В.Д. Шадрина, Е.Р. Бойко

ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук»,
г. Сыктывкар, Россия

В последнее время публикуется все больше данных о взаимосвязи витамина D с функционированием эндотелия, являющегося регулятором сосудистого гомеостаза и гемодинамики. Монооксид азота характеризуется сильным сосудорасширяющим действием, а также является мощным ингибитором агрегации тромбоцитов и адгезии к сосудистой стенке. Показано, что витамин D и его рецепторы могут регулировать синтез монооксида азота посредством изменения активности эндотелиальной NO-синтазы.

Цель исследования – изучение влияния потребления витамина D3 в составе эмульсий на степень изменения уровня монооксида азота в крови крыс линии «Вистар».

Материалы и методы. Исследование проводили на половозрелых самцах крыс линии «Вистар» с массой тела 200–300 г (2–3 мес.). Крысы были разделены случайным образом на две группы: 1) контрольную (n=6), содержащуюся в условиях вивария в течение всего эксперимента; 2) опытную (n=6), получавшую эмульсию с витамином D3 ежедневно в течение 30 сут. Расчет дозы витамина D3 осуществляли исходя из данных литературы о максимально допустимой терапевтической суточной дозе витамина D3 для человека (4000 МЕ). Биохимический анализ крови включал определение концентрации 25-гидроксивитамина D, 1,25-дигидроксивитамина D и уровня стабильных метаболитов монооксида азота. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica.

Результаты. Результаты исследования показали, что 30-суточный прием эмульсии с витамином D3 способствует увеличению концентрации данных форм витамина D и уровня монооксида азота в крови крыс, что может свидетельствовать об интенсификации ферментативного синтеза монооксида азота и улучшении эндотелиальной функции.

Выводы. Таким образом, витамин D и монооксид азота являются важными соединениями, имеющими функциональную связь друг с другом, и обеспечение адекватного статуса витамина D может смягчить развитие сердечно-сосудистой дисфункции.

Ключевые слова: монооксид азота, нитриты, нитраты, витамин D, кровь, крысы линии «Вистар».

Введение. В последнее время публикуется все больше данных о взаимосвязи витамина D с функционированием эндотелия, являющегося регулятором сосудистого гомеостаза и гемодинамики [1, 2]. Под влиянием различных раздражителей эндотелий высвобождает вазодилаторы (монооксид азота, простациклин, натрийуретический пептид С-типа и др.) и вазоконстрикторы (активные формы кислорода, ангиотензин-2, эндотелин-1) [1, 3]. Среди них монооксид азота (NO) характеризуется наиболее мощным сосудорасширяющим действием, а также является мощным

ингибитором агрегации тромбоцитов и адгезии к сосудистой стенке [3, 4]. Дисбаланс в синтезе NO может привести к развитию таких сердечно-сосудистых патологий, как гипертония, ишемическая болезнь сердца и атеросклеротическое поражение сосудов, что в результате может снизить функциональные возможности организма спортсменов [5, 6]. На данный момент существует большое число исследований, доказывающих влияние витамина D и его рецепторов (VDR) на синтез монооксида азота путем геномного и негеномного действия. Показано, что витамин D и его рецеп-

торы могут регулировать синтез NO посредством изменения активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) [1]. Кроме того, отсутствие VDR приводит к снижению биодоступности L-аргинаина из-за повышенной экспрессии аргиназы-2, которая конкурирует с eNOS за L-аргинин [7]. Негеномное действие витамина D может усиливать внутриклеточную активность eNOS через внутриклеточный кальцийзависимый путь [8]. Увеличение внутриклеточной концентрации кальция способствует образованию комплекса кальций/кальмодулин, который играет важную роль в активации eNOS [9]. 1,25(OH)-витамин D может увеличивать продукцию NO в эндотелиальных клетках за счет быстрой негеномной активации эндотелиальной NO-синтазы с помощью VDR-зависимого каскада фосфорилирования [10]. Таким образом, поддержание высокого уровня витамина D является важным условием нормального функционирования эндотелия.

Цель исследования. Изучение влияния потребления витамина D3 в составе эмульсий на степень изменения уровня монооксида азота в крови крыс линии «Вистар».

Материалы и методы. Исследование проводили на половозрелых самцах крыс линии «Вистар» с массой тела 200–300 г (2–3 мес.). Содержание животных в течение 7–10-дневного периода адаптации и во время проведения исследования осуществляли при температуре 21 ± 1 °C и 12-часовом освещении на стандартном рационе вивария с доступом к воде *ad libitum*. Протокол исследования соответствовал Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей, и был одобрен на заседании комитета по биоэтике Института физиологии Коми НЦ УрО РАН.

По истечении периода адаптации крысы были взвешены и разделены случайным образом на две группы: 1) контрольную (n=6), содержащуюся в условиях вивария в течение всего эксперимента; 2) опытную (n=6), получавшую эмульсию с витамином D3 ежедневно в течение 30 сут. Животные, вес которых отличался от средней массы тела животных остальной выборки на 10 % (в большую или меньшую стороны), были исключены из экс-

перимента. В дальнейшем контроль массы тела осуществляли путем взвешивания животных 1 раз в неделю с целью коррекции содержания витамина D3 в составе эмульсии. Расчет дозы витамина D3 проводили исходя из данных литературы о максимально допустимой терапевтической суточной дозе витамина D3 для человека и формулы расчета биоэквивалентной дозы вещества с учетом метаболического коэффициента данного вида лабораторного животного. Доза витамина D3 составляла 4000 МЕ.

Эмульсию, содержащую витамин D3, вводили *per os* в объеме 0,5 мл с помощью зонда из нержавеющей стали (18G×76 мм, диаметр оливы – 2,25) без наркотизации, натошак (для имитации перорального потребления препарата человеком). Выбор объема вводимой эмульсии сделан с учетом рекомендаций отечественных и зарубежных авторов [11, 12], а также данных о том, что маслянистые вещества из-за их удельной массы могут хуже переноситься животными, чем средства, вводимые в виде водного раствора.

Выведение животных из эксперимента осуществляли методом декапитации под легким наркозом (через сутки после последнего введения) в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ № 755 от 12.08.1987) и Федеральным законом «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997.

Уровень витамина D3 в организме оценивали посредством измерения в плазме крови концентрации 25-гидроксивитамина D (25-OH-витD) и 1,25-дигидроксивитамина D (1,25-OH-витD) с использованием иммуноферментных наборов фирмы «БиоХимМак» (Россия).

Уровень стабильных метаболитов монооксида азота – нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-), сумма которых дает показатель стабильных метаболитов NO – (NO_x), определяли в плазме крови колориметрическим методом в реакции с реактивом Грисса [13].

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica (версия 6.0, StatSoft Inc., 2001, США). Описательные статистические данные были

использованы для расчета средней (M) и ошибки (m). Значимость различий между группами оценивали по критерию Крускала – Уолиса. Коэффициенты корреляции между двумя переменными рассчитывали с помощью рангового анализа Спирмена. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Важнейшими формами витамина D в организме являются

25-гидроксивитамин D и 1,25-дигидроксивитамин D. Первый из них синтезируется в печени и является транспортной формой витамина D. Второй является основным биологически активным метаболитом, гормональной формой витамина D [14]. Проведенное нами исследование показало значительное увеличение уровня данных форм витамина D в организме крыс (рис. 1).

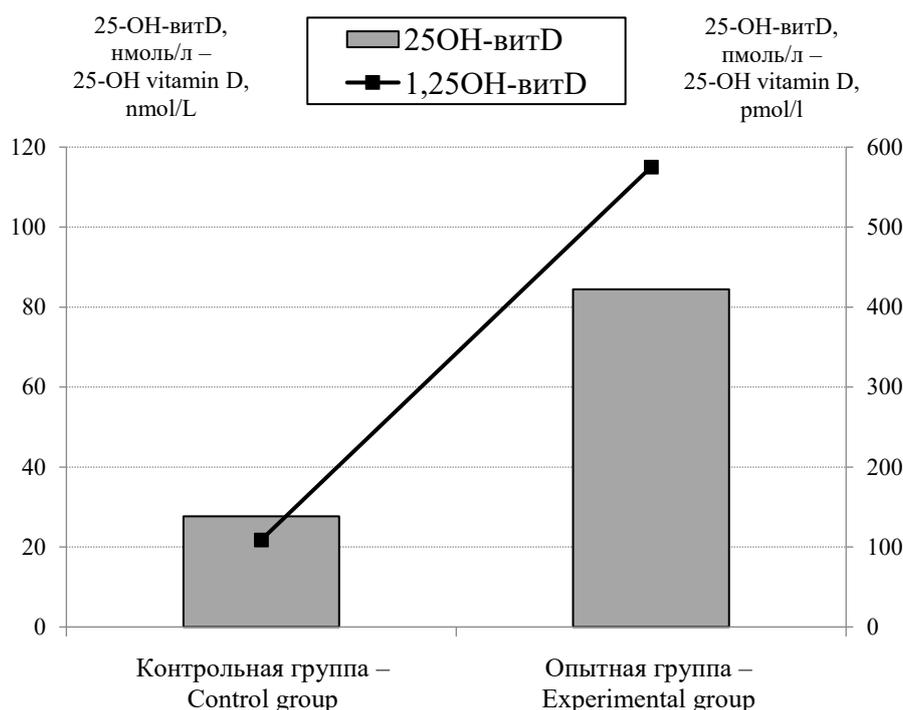


Рис. 1. Уровень витамина D в контрольной и опытной группах крыс

Fig. 1. Vitamin D level in the control and experimental groups of Wister rats

Согласно литературным данным пероральное введение витамина D приводит к более быстрому, по сравнению с другими способами, увеличению его уровня [15], причем максимальный уровень после однократного введения достигается через 24 ч [16]. Наши исследования показали эффективность 30-дневного приема витамина D3 крысами. Уровень гормональноактивной формы 1,25-ОН-витD был в 6 раз выше контрольного. Концентрация 25-ОН-витD при этом была уже не такой высокой (в 3,1 раза выше по сравнению с кон-

трольной группой), что связано, вероятно, с оптимизацией его транспорта в крови.

Значения NO_x и NO_2^- в плазме крови крыс опытной группы (NO_x – $41,2 \pm 1,9$ мкмоль/л; NO_2^- – $12,3 \pm 0,9$ мкмоль/л) были выше, чем в контроле (NO_x – $28,3 \pm 1,1$ мкмоль/л; NO_2^- – $6,9 \pm 0,5$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) (рис. 2). Уровень NO_3^- в плазме крови также имел тенденцию к увеличению, однако статистически значимых различий не выявлено (контрольная группа – $21,4 \pm 0,9$ мкмоль/л; опытная группа – $28,9 \pm 2,07$ мкмоль/л).

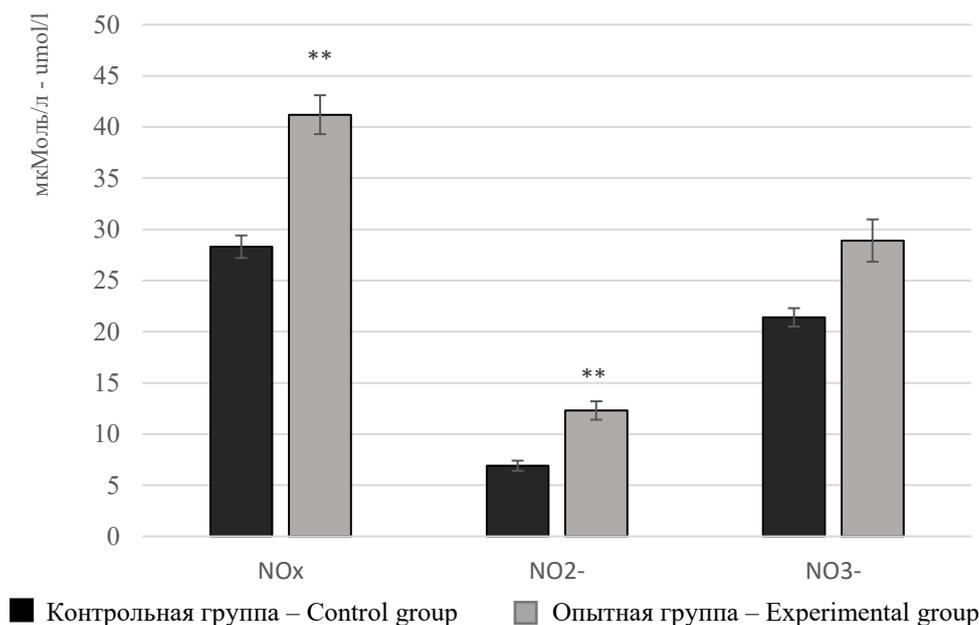


Рис. 2. Показатели монооксида азота в плазме крови у крыс при введении витамина D3 (** – $p < 0,01$ при сравнении контрольной и опытной группы)

Fig. 2. Nitric oxide level in blood plasma in Wister rats receiving vitamin D3 (** – the differences are significant compared to the control ($p < 0.01$))

Проведенный корреляционный анализ показателей NO и уровня витамина D в крови

крыс выявил взаимосвязь уровня NO_x, NO₂⁻ с показателями 25ОН-витD и 1,25ОН-витD (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Коэффициенты корреляции между уровнем стабильных метаболитов монооксида азота и содержанием витамина D3 в плазме крови крыс

Correlation coefficients between the levels of stable nitric oxide metabolites and vitamin D3 in the blood plasma of Wistar rats

Параметр Parameter	n	Значение коэффициента корреляции (r) Correlation coefficients (r)	
		25ОН-витD, пмоль/мл 25OH-vitD, pmol/ml	1,25ОН-витD, пмоль/мл 1.25OH-vitD, pmol/ml
NO _x , мкмоль/л NO _x , μmol/l	12	0,71**	0,85***
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л NO ₂ ⁻ , μmol/l	12	0,70**	0,97***
NO ₃ ⁻ , мкмоль/л NO ₃ ⁻ , μmol/l	12	0,28	0,27

Примечание. Уровни статистической значимости: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Note. ** – the differences are statistically significant ($p < 0.01$); *** – the differences are statistically significant ($p < 0.001$).

Согласно данным литературы монооксид азота – сигнальная молекула, ответственная за вазодилатацию. Она играет важную роль в регуляции кровообращения и артериального давления [17]. Известно, что уровень NO в крови резко снижается у пожилых людей и у пациентов с низким уровнем витамина D [18], ухудшая реакцию кровеносных сосудов. Четырехнедельный прием витамина D в дозе 2000 МЕ/день улучшает реакцию микрососудов у афроамериканцев [19]. Таким образом, витамин D и монооксид азота являются важ-

ными соединениями, имеющими функциональную связь друг с другом. Их оптимальный уровень в организме людей может улучшить здоровье, увеличить аэробную и физическую работоспособность [20, 21].

Заключение. Результаты наших исследований показали, что 30-суточный прием эмульсии с витамином D3 способствует увеличению уровня NO в крови крыс, что может свидетельствовать об интенсификации ферментативного синтеза NO и улучшении эндотелиальной функции.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ №19-73-10091 «Эмульсии Пикеринга, стабилизированные анизотропными металлоксид/полисахаридными нанокристаллами: формирование коллоидных систем и их биомедицинские приложения» (рук. – к.х.н. В.И. Михайлов, 2019–2022 гг.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: Бойко Е.Р., Вахнина Н.А., Потолицына Н.Н.

Литературный поиск, участие в исследовании, обработка материала: Паршукова О.И.,

Потолицына Н.Н., Вахнина Н.А., Каликова Л.Б., Иванкова Ж.Е., Алисултанова Н.Ж.,

Третьякова А.М., Черных А.А., Шадрин В.Д.

Статистическая обработка данных: Паршукова О.И., Иванкова Ж.Е., Алисултанова Н.Ж.

Анализ и интерпретация данных: Паршукова О.И., Третьякова А.М., Черных А.А., Шадрин В.Д.

Написание и редактирование текста: Паршукова О.И., Потолицына Н.Н., Бойко Е.Р.

Литература

1. Kim D.H., Meza C.A., Clarke H., Kim J.S., Hickner R.C. Vitamin D and Endothelial Function. *Nutrients*. 2020; 12 (2): 575. DOI: 10.3390/nu12020575.
2. Shirvani A., Persons K.S., Holick M.F. Evaluation of Effectiveness of Ultraviolet Emitting Lamps on the Cutaneous Production of Vitamin D3: Relationship of the Lamps Vitamin D3 Producing Potential to the Production of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and Nitric Oxide. *J. Anticancer Res.* 2020; 40 (1): 565–572. DOI: 10.21873/anticancer.13986.
3. Higashi Y., Noma K., Yoshizumi M., Kihara Y. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ. J.* 2009; 73: 411–418. DOI: 10.1253/circj.cj-08-1102.
4. Förstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart. J.* 2012; 33 (7): 837a–837d. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304.
5. Besedina A. NO-Synthase Activity in Patients with Coronary Heart Disease Associated with Hypertension of Different Age Groups. *J. Med. Biochem.* 2016; 35 (1): 43–49. DOI: 10.1515/jomb-2015-0008.
6. Parshukova O.I., Varlamova N.G., Bojko E.R. Nitric Oxide Production in Professional Skiers During Physical Activity at Maximum Load. *Front. Cardiovasc. Med.* 2020; 7: 582021. DOI: 10.3389/fcvm.2020.582021.
7. Andrukhova O., Slavic S., Zeitz U., Riesen S.C., Heppelmann M.S., Ambrisko T.D., Markovic M., Kuebler W.M., Erben R.G. Vitamin D is a regulator of endothelial nitric oxide synthase and arterial stiffness in mice. *Mol. Endocrinol.* 2014; 28 (1): 53–64. DOI: 10.1210/me.2013-1252.
8. Fleet J.C. Rapid, Membrane-Initiated Actions of 1,25 Dihydroxyvitamin D: What Are They and What Do They Mean? *J. Nutr.* 2004; 134 (12): 3215–3218. DOI: 10.1093/jn/134.12.3215.
9. Busse R., Mülsch A. Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. *FEBS Lett.* 1990; 265 (1–2): 133–136. DOI: 10.1016/0014-5793(90)80902-u.
10. Molinari C., Uberti F., Grossini E., Vacca G., Carda S., Invernizzi M., Cisari C. 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol induces nitric oxide production in cultured endothelial cells. *Cell Physiol. Biochem.* 2011; 27 (6): 661–668. DOI: 10.1159/000330075.

11. Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Кухаренко А.Е., Вичаре А.С., Рюффер Ф.-Р. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018; 8 (4): 207–217. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217.
12. Hankenson F.C. Critical care management for laboratory mice and rats. New York: CRC Press; 2013: 254.
13. Bikle D.D. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. Chem. Biol. 2014; 21 (3): 319–329. DOI: 10.1016/j.chembiol.2013.12.016.
14. Granger D.L., Taintor R.R., Boockvar K.S., Hibbs J.B.Jr. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. Methods Enzymol. 1996; 268: 142–151. DOI: 10.1016/s0076-6879(96)68016-1.
15. Whyte M.P., Haddad Jr.J.G., Walters D.D., Stamp T.C. Vitamin D bioavailability: serum 25-hydroxyvitamin D levels in man after oral, subcutaneous, intramuscular, and intravenous vitamin D administration. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1979; 48 (6): 906–911. DOI: 10.1210/jcem-48-6-906.
16. Haddad J.G., Matsuoka L.Y., Hollis B.W., Hu Y.Z., Wortsman J. Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. J. Clin. Invest. 1993; 91 (6): 2552–2555. DOI: 10.1172/JCI116492.
17. Lewis N.C.S., Bain A.R., Wildfong K.W., Green D.J., Ainslie P.N. Acute hypoxaemia and vascular function in healthy humans. Exp. Physiol. 2017; 102: 1635–1646. DOI: 10.1113/EP086532.
18. Machado P. de A., Escrivani D.O., Oliveira G., Claudio D. Vitamin D increases killing of intracellular *Leishmania amazonensis* in vitro independently of macrophage oxidative mechanisms. Parasitology. 2020; 147: 1792–1800. DOI: 10.1017/S0031182020001791.
19. Wolf S.T., Jablonski N.G., Ferguson S.B. Four weeks of vitamin D supplementation improves nitric oxide-mediated microvascular function in college-aged African Americans. Amer. J. of physiol.-heart and circulatory physiol. 2020; 319: H906–H914. DOI: 10.1152/ajpheart.00631.
20. Dahlquist D.T., Dieter B.P., Koehle M.S. Plausible ergogenic effects of vitamin D on athletic performance and recovery. J. Int. Soc. Sports Nutr. 2015; 19 (12): 33. DOI: 10.1186/s12970-015-0093-8.
21. Паршукова О.И., Бойко Е.П., Ларина В.Е. Маркеры сосудистого тонуса в крови высококвалифицированных лыжников-гонщиков Республики Коми в течение годового тренировочного цикла. Жур. мед.-биол. исслед. 2019; 2: 169–177. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.2.169.

Поступила в редакцию 29.12.2022; принята 27.01.2023.

Авторский коллектив

Паршукова Ольга Ивановна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: olga-parshukova@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1862-6936>.

Потолицына Наталья Николаевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: potol_nata@list.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4804-6908>.

Иванкова Жанна Евгеньевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: shivank@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7733-2407>.

Алисултанова Надежда Жафаровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: alisultanova.nadezhda@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8442-3558>.

Вахнина Надежда Алексеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: vakhnina80@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0779-5171>.

Каликова Любовь Борисовна – младший научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: kalikova_81@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7963-1662>.

Третьякова Анастасия Михайловна – младший научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: anastasiaromanova2509@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0040-7276>.

Черных Алексей Анатольевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: chernykh.al.an@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1574-5588>.

Шадрина Вера Дмитриевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела экологической и медицинской физиологии Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: vera.shadrina56@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4553-6218>.

Бойко Евгений Рафаилович – доктор медицинских наук, профессор, директор Института физиологии, ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50; e-mail: boiko60@inbox.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8027-898X>.

Образец цитирования

Паршукова О.И., Потолитсына Н.Н., Иванкова Ж.Е., Алисултанова Н.Ж., Вахнина Н.А., Каликова Л.Б., Третьякова А.М., Черных А.А., Шадрина В.Д., Бойко Е.Р. Монооксид азота в плазме крови крыс линии «Вистар» при введении витамина D3. Ульяновский медико-биологический журнал. 2023; 1: 155–164. DOI: 10.34014/2227-1848-2023-1-155-164.

NITRIC OXIDE IN BLOOD PLASMA OF WISTAR RATS RECEIVING VITAMIN D3

O.I. Parshukova, N.N. Potolitsyna, Zh.E. Ivankova, N.Zh. Alisultanova, N.A. Vakhnina,
L.B. Kalikova, A.M. Tret'yakova, A.A. Chernykh, V.D. Shadrina, E.R. Boyko

Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

Recently, much data has been published on the correlation between vitamin D and endothelium. Which is known to regulate vascular homeostasis and hemodynamics. Nitric oxide is characterized by a strong vasodilating effect. It is also a powerful inhibitor of platelet aggregation and adhesion to the vascular wall. Vitamin D and its receptors can regulate the nitric oxide synthesis by changing the activity of endothelial NO synthase.

The purpose of the study was to examine the effect of vitamin D3 (emulsion) consumption on the level of nitric oxide in the blood of Wistar rats.

Materials and Methods. The study was carried out on mature male Wistar rats weighing 200–300 g (aged 2–3 months). The rats were randomly divided into two groups: 1) control (n=6), kept in vivarium during the whole experiment, 2) experimental (n=6), daily receiving vitamin D3 in emulsion for 30 days. The calculation of vitamin D3 dose was based on the recommended daily amount of vitamin D3 for an adult person (4000 IU). A biochemical blood test determined 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and the level of stable nitric oxide metabolites. Statistica software was used for statistical analysis.

Results. The trial study showed that a 30-day intake of vitamin D3 in emulsion increased its concentration and the nitric oxide level in the blood of rats. It may indicate the intensification of the enzymatic nitric oxide synthesis and the improvement in endothelial function.

Conclusion. Thus, vitamin D and nitric oxide are important functionally correlated compounds. Adequate vitamin D status can mitigate the development of cardiovascular disease.

Key words: nitric oxide, nitrites, nitrates, vitamin D, blood, Wistar rats.

The work is supported by RSF grant No. 19-73-10091 "Pickering emulsions stabilized by anisotropic metal oxide/polysaccharide nanocrystals: formation of colloidal systems and their biomedical applications" (Head of research group – Ph.D., V.I. Mikhailov, 2019–2022).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Author contributions

Research concept and design: Boyko E.R., Vakhnina N.A., Potolitsyna N.N.

Literary search, participation in the research study, data processing: Parshukova O.I., Potolitsyna N.N., Vakhnina N.A., Kalikova L.B., Ivankova Zh.E., Alisultanova N.Zh., Tret'yakova A.M. Chernykh A.A., Shadrina V.D.

Statistical data processing: Parshukova O.I., Ivankova Zh.E., Alisultanova N.Zh.

Data analysis and interpretation: Parshukova O.I., Tret'yakova A.M., Chernykh A.A., Shadrina V.D.

Text writing and editing: Parshukova O.I., Potolitsyna N.N., Boyko E.R.

References

1. Kim D.H., Meza C.A., Clarke H., Kim J.S., Hickner R.C. Vitamin D and Endothelial Function. *Nutrients*. 2020; 12 (2): 575. DOI: 10.3390/nu12020575.
2. Shirvani A., Persons K.S., Holick M.F. Evaluation of Effectiveness of Ultraviolet Emitting Lamps on the Cutaneous Production of Vitamin D3: Relationship of the Lamps Vitamin D3 Producing Potential to the Production of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and Nitric Oxide. *J. Anticancer Res.* 2020; 40 (1): 565–572. DOI: 10.21873/anticancerres.13986.
3. Higashi Y., Noma K., Yoshizumi M., Kihara Y. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ. J.* 2009; 73: 411–418. DOI: 10.1253/circj.cj-08-1102.
4. Förstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart. J.* 2012; 33 (7): 837a–837d. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304.
5. Besedina A. NO-Synthase Activity in Patients with Coronary Heart Disease Associated with Hypertension of Different Age Groups. *J. Med. Biochem.* 2016; 35 (1): 43–49. DOI: 10.1515/jomb-2015-0008.
6. Parshukova O.I., Varlamova N.G., Bojko E.R. Nitric Oxide Production in Professional Skiers During Physical Activity at Maximum Load. *Front. Cardiovasc. Med.* 2020; 7: 582021. DOI: 10.3389/fcvm.2020.582021.
7. Andrukhova O., Slavic S., Zeitz U., Riesen S.C., Heppelmann M.S., Ambrisko T.D., Markovic M., Kuebler W.M., Erben R.G. Vitamin D is a regulator of endothelial nitric oxide synthase and arterial stiffness in mice. *Mol. Endocrinol.* 2014; 28 (1): 53–64. DOI: 10.1210/me.2013-1252.
8. Fleet J.C. Rapid, Membrane-Initiated Actions of 1,25 Dihydroxyvitamin D: What Are They and What Do They Mean? *J. Nutr.* 2004; 134 (12): 3215–3218. DOI: 10.1093/jn/134.12.3215.
9. Busse R., Mülsch A. Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. *FEBS Lett.* 1990; 265 (1–2): 133–136. DOI: 10.1016/0014-5793(90)80902-u.
10. Molinari C., Uberti F., Grossini E., Vacca G., Carda S., Invernizzi M., Cisari C. 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol induces nitric oxide production in cultured endothelial cells. *Cell Physiol. Biochem.* 2011; 27 (6): 661–668. DOI: 10.1159/000330075.
11. Rybakova A.V., Makarova M.N., Kukharensko A.E., Vichare A.S., Ryuffer F.-R. Sushchestvuyushchie trebovaniya i podkhody k dozirovaniyu lekarstvennykh sredstv laboratornym zhitovnym [Current requirements for and approaches to dosing animal studies]. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya.* 2018; 8 (4): 207–217. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217 (in Russian).
12. Hankenson F.C. *Critical care management for laboratory mice and rats.* New York: CRC Press; 2013: 254.
13. Bikle D.D. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem. Biol.* 2014; 21 (3): 319–329. DOI: 10.1016/j.chembiol.2013.12.016.
14. Granger D.L., Taintor R.R., Boockvar K.S., Hibbs J.B.Jr. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. *Methods Enzymol.* 1996; 268: 142–151. DOI: 10.1016/s0076-6879(96)68016-1.
15. Whyte M.P., Haddad Jr.J.G., Walters D.D., Stamp T.C. Vitamin D bioavailability: serum 25-hydroxyvitamin D levels in man after oral, subcutaneous, intramuscular, and intravenous vitamin D administration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979; 48 (6): 906–911. DOI: 10.1210/jcem-48-6-906.

16. Haddad J.G., Matsuoka L.Y., Hollis B.W., Hu Y.Z., Wortsman J. Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *J. Clin. Invest.* 1993; 91 (6): 2552–2555. DOI: 10.1172/JCI116492.
17. Lewis N.C.S., Bain A.R., Wildfong K.W., Green D.J., Ainslie P.N. Acute hypoxaemia and vascular function in healthy humans. *Exp. Physiol.* 2017; 102: 1635–1646. DOI: 10.1113/EP086532.
18. Machado P. de A., Escrivani D.O., Oliveira G., Claudio D. Vitamin D increases killing of intracellular *Leishmania amazonensis* in vitro independently of macrophage oxidative mechanisms. *Parasitology.* 2020; 147: 1792–1800. DOI: 10.1017/S0031182020001791.
19. Wolf S.T., Jablonski N.G., Ferguson S.B. Four weeks of vitamin D supplementation improves nitric oxide-mediated microvascular function in college-aged African Americans. *Amer. J. of physiol.-heart and circulatory physiol.* 2020; 319: H906–H914. DOI: 10.1152/ajpheart.00631.
20. Dahlquist D.T., Dieter B.P., Koehle M.S. Plausible ergogenic effects of vitamin D on athletic performance and recovery. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 2015; 19 (12): 33. DOI: 10.1186/s12970-015-0093-8.
21. Parshukova O.I., Boyko E.R., Larina V.E. Markery sosudistogo tonusa v krovi vysokokvalifitsirovannykh lyzhnikov-gonshchikov Respubliki Komi v techenie godovogo trenirovochnogo tsikla [Markers of vascular tone in the blood of elite cross-country skiers of the Komi Republic during the annual training cycle]. *Zhur. med.-biol. issled.* 2019; 2: 169–177. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.2.169 (in Russian).

Received December 29, 2022; accepted January 27, 2023.

Information about the authors

Parshukova Olga Ivanovna, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: olga-parshukova@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1862-6936>.

Potolitsyna Natal'ya Nikolaevna, Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: potol_nata@list.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4804-6908>.

Ivankova Zhanna Evgen'evna, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: shivank@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7733-2407>.

Alisultanova Nadezhda Zhafarovna, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: alisultanova.nadezhda@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8442-3558>.

Vakhnina Nadezhda Alekseevna, Candidate of Sciences (Biology), Senior Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: vakhnina80@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0779-5171>.

Kalikova Lyubov' Borisovna, Junior Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: kalikova_81@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7963-1662>.

Tret'yakova Anastasiya Mikhaylovna, Junior Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: anastasiaromanova2509@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0040-7276>.

Chernykh Aleksey Anatol'evich, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: chernykh.al.an@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-1574-5588>.

Shadrina Vera Dmitrievna, Candidate of Sciences (Biology), Researcher, Department of Ecological and Medical Physiology, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: vera.shadrina56@mail.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4553-6218>.

Boyko Evgeniy Rafailovich, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Director, Institute of Physiology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 167982, Russia, Syktyvkar, Pervomayskaya St., 50; e-mail: boiko60@inbox.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8027-898X>.

For citation

Parshukova O.I., Potolitsyna N.N., Ivankova Zh.E., Alisultanova N.Zh., Vakhnina N.A., Kalikova L.B., Tret'yakova A.M., Chernykh A.A., Shadrina V.D., Boyko E.R. Monooksid azota v plazme krovi krysi linii «Vistar» pri vvedenii vitamina D3 [Nitric oxide in blood plasma of Wistar rats receiving vitamin D3]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2023; 1: 155–164. DOI: 10.34014/2227-1848-2023-1-155-164 (in Russian).