



Роль витамина D в развитии и коррекции стресс-индуцированной артериальной гипертензии у крыс

**Янковская Л.В.^{1*}, Семячкина-Глушковая О.В.², Искра Т. Д.², Шариф Али Е.Ш.²,
Аль Кассаб Валид М.М.², Агранович И.М.,² Шорина Л.Н.²**

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь.

²ФГБОУ ВПО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени
Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия.

Авторы

Янковская Людмила Валерьевна, к.м.н., заведующая кафедрой поликлинической терапии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь.

Семячкина-Глушковая Оксана Валерьевна, д.б.н., профессор, заведующая кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия.

Искра Татьяна Дмитриевна, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия.

Шариф Али Есмат Шариф, аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия.

Аль Кассаб Валид Махди Муслим, магистрант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия.

Агранович Илана Михайловна, аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия.

Шорина Лидия Николаевна, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия.

Резюме

Цель

Изучение уровня 25 (ОН) D и эффектов дополнительного приема холекальциферола на функцию эндотелия и артериальное давление в условиях хронической стресс-индуцированной артериальной гипертензии (АГ) у крыс.

Материалы и методы

Исследование проводили на 136 половозрелых беспородных белых крысах-самцах массой 200–250 г. Крысы помещались в условия перенаселения на протяжении 4 месяцев, по истечении которых у подавляющего числа животных развивалась устойчивая стресс-индуцированная АГ. Для изучения роли витамина D в механизмах развития АГ, крысы потребляли холекальциферол в дозе 2500 МЕ/сутки на протяжении всего срока формирования у них гипертензивного статуса. На фоне приема холекальциферола оценивали его терапевтическое влияние на уровень АД и эндотелиальную функцию, которую определяли по содержанию оксида азота в крови и ацетилхолин-зависимой вазорелаксации. В качестве контрольных групп были гипертензивные крысы, которые не потребляли холекальциферол, а также здоровые животные.

Результаты

Развитие стресс-индуцированной АГ сопровождается подавлением эндотелиальной функции сосудов, что выражалось в снижении как содержания NO в крови, так и эндотелийзависимой вазорелаксации при введении ацетилхолина. Применение холекальциферола у гипертензивных крыс в дозе 2500 МЕ/сутки приводит к снижению среднего АД, улучшению эндотелийзависимой вазорелаксации и повышению продукции NO

Заключение

Таким образом, курсовое применение холекальциферола у ГК способствует к нормализации гемодинамических параметров, в том числе снижению среднего АД, улучшению функции эндотелиальной функции сосудов. Результаты исследования свидетельствуют, что холекальциферол может быть важным вспомогательным инструментом в антигипертензивной терапии, что требует дальнейших, более детальных исследований.

Ключевые слова

Артериальная гипертензия, холекальциферол, оксид азота, эндотелийзависимая вазодилатация, витамин D.

Role of vitamin D in the development and correction of stress-induced arterial hypertension in rats

Yankovskaya L.V.¹, Semyachkina-Glushkovskaya O.V.², Iskra T.D.², Sharif-Ali E.Sh.², Al Kassab Valid M.M.², Agranovich I.M.², Shorina L.N.²

¹Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

²Saratov Chernyshevsky State University, Saratov, Russia

Authors

Lyudmila V. Yankovskaya, M.D., PhD, head of the Department of outpatient therapy, Grodno State Medical University, Grodno, Belarus.

Oksana V. Semyachkina-Glushkovskaya, Ph.D., doctor of sciences, professor, head of the department of human and animal physiology, biological faculty, Saratov Chernyshevsky State University, Saratov, Russia.

Tatiana D. Iskra, Ph.D., associate professor of the department of human and animal physiology, biological faculty, Saratov Chernyshevsky State University, Saratov, Russia.

Esmat Sharif Sharif Ali, Ph.D student of the department of human and animal physiology, biological faculty, Saratov Chernyshevsky State University, Saratov, Russia.

Al Kassab Valid Makhdi Muslim, graduate student of the department of human and animal physiology, biological faculty, Saratov Chernyshevsky State University, Saratov, Russia.

Ilana M. Agranovich, Ph.D student of the department of human and animal physiology, biological faculty, Saratov Chernyshevsky State University, Saratov, Russia.

Lidia N. Shorina, Ph.D., associate professor of the department of human and animal physiology, biological faculty, Saratov Chernyshevsky State University, Saratov, Russia

Summary

Objective

To investigate the levels of 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) and effects of additional cholecalciferol intake on endothelial function and blood pressure (BP) in case of chronic stress-induced arterial hypertension (AH) in rats.

Materials and methods

This study was performed on 136 adult wild type male rats with body weight ranged between 200-250g. Rats were placed in the condition of overpopulation for 4 months that led to development of stress-induced AH in the majority of rats by the end of this period. In order to investigate the role of vitamin D on the mechanisms underlying AH development, rats were administered with cholecalciferol (2500 MU/day) during all the period of overpopulation experiment. We estimated therapeutic effects of cholecalciferol on BP levels and endothelial function that was evaluated using blood levels of nitric oxide and acetylcholine-dependent vasodilatation. As the control we used hypertensive rats who did not consume cholecalciferol and healthy animals.

Results

Development of stress-associated AH was accompanied with suppressed endothelial vascular function that was expressed as reduction of NO concentration in blood and endothelium-dependent vasodilatation after acetylcholine administration. Use of cholecalciferol (2500 MU/day) in hypertensive rats led to reduction of average BP levels, improved the characteristics of endothelial function and increased NO production.

Conclusion

Long-term administration of cholecalciferol (2500 MU/day) to hypertensive rats leads to normalization of hemodynamic parameters and improves the characteristics of endothelial function. The results of our study demonstrate that cholecalciferol can become an important additional component of antihypertensive therapy, but it requires further detailed studies.

Key words

Arterial hypertension, cholecalciferol, nitric oxide, endothelium-dependent vasodilatation, vitamin D.

Список сокращений

VDR — рецепторы витамина D
АГ — артериальная гипертензия
АД — артериальное давление
ГК — гипертензивные крысы

НК — нормотензивные крысы
ср. АД — среднее артериальное давление
ССС — сердечно-сосудистая система
ЧСС — частота сердечных сокращений

Введение

Многочисленные исследования демонстрируют тесную связь между низкими значениями витамина D и повышенным риском развития АГ, атеросклероза, инфаркта миокарда, метаболического синдрома, сахарного диабета, ряда аутоиммунных и др. заболеваний [1, 2, 3, 4]. В настоящее время дефицит витамина D рассматривают как новый фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, что приобретает особую актуальность в связи с широким распространением в популяции — 60–96% среди лиц разного возраста, D-гиповитаминоза [5, 6, 7]. Предположение о непосредственном участии витамина D в регуляции

сосудистого гомеостаза было сделано исходя из открытия того факта, что рецепторы витамина D (VDR) экспрессируется в клетках всей сердечно-сосудистой системы (ССС). Кроме того, многие типы клеток, в том числе гладкомышечные клетки сосудов, эндотелиальные клетки и кардиомиоциты, способны производить фермент 1- α -гидроксилазу, благодаря которому, происходит внутриклеточное преобразование 25-гидрокси-витамина D (25 (OH) D) в его более активную форму 1,25-дигидрокси-витамина D (1,25 (OH) 2D) — природный лиганд VDR. Таким образом, клетки ССС способны обеспечивать метаболизм витамина D, производить активную форму вита-

мина D для собственных регуляторных механизмов.

Благодаря своим прямым эффектам $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, как было показано во многих исследованиях, регулирует ренин-ангиотензиновую систему и функцию эндотелия, ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, уменьшает интенсивность процессов коагуляции [8, 9, 10, 11]. Кроме того, эффекты витамина D могут быть опосредованы его участием в регуляции кальциевого и фосфорного гомеостаза, иммунного/воспалительного ответа, углеводного баланса и др. Разработаны модели на животных по развитию АГ, вызванной острым дефицитом витамина D [8, 20]. В экспериментах *in vitro* установлено, что активация VDR индуцирует продукцию оксида азота в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов и повышает их функциональные свойства. Кроме того, витамин D участвует в регуляции пролиферации, миграции и минерализации гладкомышечных клеток сосудов [1, 7]. Однако, в обзорных работах приводятся весьма противоречивые данные относительно роли витамина D в поддержании гипертензивного статуса [12]. Остро дискуссионными остаются вопросы относительно механизмов, лежащих в основе витамин-D-зависимых изменений в уровне АД и развития АГ. Возможно, основным объяснением причины противоречивости результатов в проведенных исследованиях является то, что к настоящему времени мы не имеем четкого и полноценного понимания механизмов, посредством которых витамин D обеспечивает регулируемую роль на АД и в целом на ССС. Эти же пробелы в наших знаниях до сих пор не дают возможности уверенно использовать препараты витамина D для профилактики и лечения ССЗ.

Цель исследования

Изучение уровня $25(\text{OH})\text{D}$ и эффектов дополнительного приема холекальциферола на функцию эндотелия и артериальное давление в условиях хронической стресс-индуцированной АГ у крыс.

Материалы и методы

Исследование проводили на 136 половозрелых беспородных белых крысах-самцах массой 200–250 г. Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе. Все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. Регистрацию гемодинамических

параметров — среднего артериального давления (ср. АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) у бодрствующих крыс осуществляли на компьютерно-вычислительном комплексе для прямой регистрации кровяного давления у мелких животных (PowerLab/400 ML 401, ID Instruments, 2002, Австралия) с программным обеспечением Chart 4, оснащенным датчиками кровяного давления (MLT0699, PowerLab, ID Instruments). С этой целью за сутки до экспериментов животным вживляли полиэтиленовый катетер в аорту через левую ветвь сонной артерии под общей нембуталовой анестезией (0,40 мг/кг) [13, 14].

Стресс-индуцированную АГ у экспериментальных животных моделировали методом длительного пребывания в условиях высокой популяционной плотности («перенаселения») [15]. Измерение уровня АД и ЧСС проводили в соответствии со стандартной операционной процедурой прямой регистрации сигналов кровяного давления. Забор крови у экспериментальных животных проводили утром натощак. Показатели АД, $25(\text{OH})\text{D}$ и NO оценивали каждый месяц по мере формирования гипертензивного статуса у крыс.

Определение содержания в крови общего $25(\text{OH})\text{D}$ (нг/мл) проводили методом иммуноферментного анализа с применением набора RAT 25OH VITAMIN D TOTAL ELISA (Cat. No.: RIS022R).

Определение концентрации NO (мкг/мл) проводили спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса-Илосвая на спектрофотометре «СФ-2000 Био» по интенсивности окраски при длине волны 583 нм [16, 17].

Эндотелийзависимую вазорелаксацию у нормотензивных и гипертензивных крыс изучали при внутривенном введении 0,3 мкг/кг ацетилхолина (Pharma, Чехия) с оценкой максимального отклонения ср. АД в течение первой минуты после болюсной инъекции препарата.

Все экспериментальные животные были разделены на 4 группы: нормотензивные крысы (НК) — с нормальным АД; гипертензивные крысы (ГК) с высокими значениями ср.АД и ЧСС; НК+D3 и ГК+D3 — группы нормотензивных и гипертензивных крыс, которые в качестве фармакологического замещения витамина D ежедневно в течение 4 месяцев получали холекальциферол (Colecalciferol) в виде водного раствора в дозе 2500 МЕ. В каждой из указанных групп было от 8 до 12 животных.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программы «Statistica

Таблица 1

Показатели ср.АД, ЧСС и содержание 25 (ОН) D в крови крыс в процессе формирования АГ

Показатели	Контроль n=10	Модель стресс-индуцированной АГ			
		1 месяц n=10	2 месяца n=10	3 месяца n=10	4 месяца n=10
Ср.АД, мм рт. ст.	109±3	115±4	112±5	117±3	149±3*
ЧСС, уд/мин	382±14	397±12	394±11	401±12	444±14*
25 (ОН) D, нг/мл	19,9±1,1	18,2±0,6	19,0±0,6	18,1±0,5	10,8±0,5*
NO, мкг/мл	0,38±0,02	0,34±0,01	0,36±0,05	0,29±0,08	0,17±0,01 *

* — $p < 0,05$ относительно контроля

7.0». Данные представлены в виде среднего значения и ошибки среднего ($M \pm m$). Сравнение двух групп по количественному признаку проводили при помощи t-теста — критерия Стьюдента. Для оценки взаимосвязи между переменными использовался корреляционный анализ Пирсона (r). Рассчитывали показатель динамики « Δ » — как разность повторного и исходного значений. Нулевая гипотеза отвергалась на уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

В табл. 1 представлены значения ср. АД, ЧСС и содержания 25 (ОН) D в крови у крыс через 1, 2, 3 и 4 месяца эксперимента по моделированию стресс-индуцированной АГ. Как видно из представленных в таблице 1 данных, у экспериментальных крыс через 4 месяца хронического стресса отмечалось развитие АГ, что подтверждается достоверным увеличением ср.АД и ЧСС по сравнению с интактными животными. У ГК произошло достоверное снижение — на 46 % ($\Delta 46 \pm 1\%$; $p < 0,05$) содержания витамина D (см. табл. 1). Аналогичные изменения наблюдались со стороны продукции NO, которая снизилась на 56 % ($\Delta 56 \pm 1\%$; $p < 0,05$) по сравнению с контролем. Так, содержание NO в крови составило в среднем $0,17 \pm 0,01$ мкг/мл, что было ниже ($p = 0,04$) по сравнению с интактными животными, у которых содержание NO составило в среднем $0,38 \pm 0,02$ мкг/мл (табл. 1).

Значения ср.АД на введение ацетилхолина представлены на рис. 1, из которой видно, что у НК введение ацетилхолина привело к снижению ср.АД на $58 \pm 5\%$, что подтверждает сохранность эндотелийзависимой вазодилатации сосудов у интактных животных. В группе ГК, напротив, не наблюдалось статистически значимых изменений ср.АД в ответ на введение ацетилхолина — динамика составила $\Delta 8 \pm 1\%$, что подтверждает развитие дисфункции эндотелия на фоне хронически высокого АД (рис. 1).

Результаты влияния фармакологического замещения содержания витамина D на исследуемые

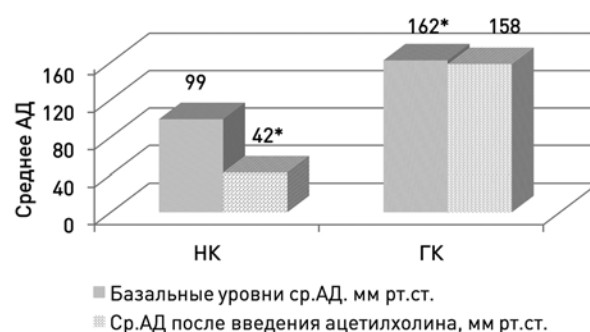


Рис. 1. Значения ср.АД при введении ацетилхолина в группах нормотензивных (НК) и гипертензивных крыс (ГК)
Примечания: * — $p < 0,05$ относительно контроля; † — $p < 0,05$ по сравнению с базальным уровнем ср.АД

показатели в группах НК+D3 и ГК+D3 представлены в табл. 2, из которой видно, что длительное, т.е. на протяжении всего срока формирования повышенного АД у крыс, ежедневное применение холекальциферола в дозе 2500 МЕ оказывало терапевтический эффект на ср. АД, содержание NO и 25 (ОН) D в крови. Так, в группе ГК+D3 уровень ср.АД достоверно снизился на 15 % ($p < 0,05$), содержание 25 (ОН) D и NO увеличилось на 29 % ($p < 0,05$) и 70 % ($p < 0,05$) соответственно. Однако, несмотря на явные улучшения исследуемых показателей, тем не менее, они не достигли нормальных значений. Отметим, что у НК применение холекальциферола не оказывало влияния ни на уровень ср.АД, ни на содержание 25 (ОН) D и NO в крови крыс (табл. 2).

Исследование эффектов длительного применения холекальциферола на эндотелийзависимую вазорелаксацию выявило аналогичные результаты, т.е. фармакологическое замещение содержания витамина D оказывало терапевтические воздействия у гипертензивных, но не у нормотензивных крыс (см. рис. 2). Как видно на рисунках 1 и 2, сосудистая чувствительность к ацетилхолину не изменилась у НК, но существенно улучшилась — на 34 % ($p < 0,05$) у ГК, что по выраженности реакции было в 4,3 раза выше ($p < 0,05$) по сравнению с группой ГК не принимавших холекальциферол (рис. 2).

Таблица 2

Показатели ср.АД и содержание 25 (ОН) D и оксида азота в крови у крыс, получавших холекальциферол

Показатели	НК, до введения препарата n=10	НК+D3 n=10	ГК, до введения препарата n=10	ГК+ D3 n=8
Ср.АД, мм рт. ст.	109±3	106±3	149±3*	127±3+*
NO, мкг/мл	0,38±0,02	0,36±0,03	0,17±0,01*	0,29±0,02+*
25 (ОН) D, нг/мл	19,9±1,1	20,3±0,7	10,8±0,5*	13,9±0,3+*

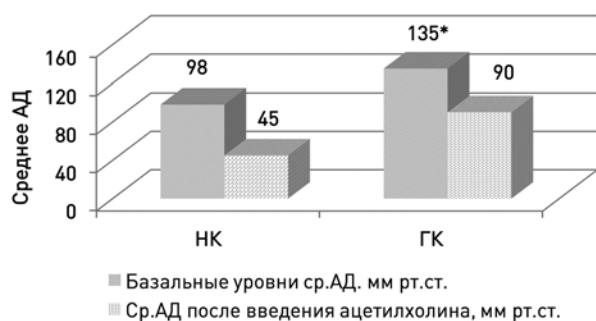
* — $p < 0,05$ относительно нормотензивных крыс (НК),† — $p < 0,05$ по сравнению с исходными значениями.

Рис. 2. Значения ср.АД при введении ацетилхолина в группах нормотензивных (НК) и гипертензивных крыс (ГК), принимавших холекальциферол в течение 4 месяцев
Примечания: * $p < 0,05$ относительно контроля; † — $p < 0,05$ по сравнению с базальным уровнем ср.АД.

Обсуждение

Результаты исследования показали, что развитие стресс-индуцированной АГ сопровождается подавлением эндотелиальной функции сосудов, что выражалось в снижении как содержания NO в крови, так и эндотелийзависимой вазорелаксации при введении ацетилхолина. Полученные научные данные согласуются с сформировавшейся концепцией о нарушении эндотелиального механизма расслабления сосудов при формировании гипертензивного статуса [17, 18]. В предыдущих клинических и экспериментальных исследованиях авторы также показали снижение активности NO-ергической системы, а также сосудистой чувствительности к ацетилхолину при АГ [10, 16, 19, 20, 21, 22].

Для исследования роли витамина D в развитии АГ, нами были проделаны эксперименты, разделенные на два этапа. На первом этапе выполнения экспериментальных исследований была произведена оценка содержания и изменения уровня витамина D в крови половозрелых крыс на фоне формирования гипертензивного статуса. Результаты наглядно показали, что высокие значения АД, соответствующие АГ, сопровождаются развитием дефицита витамина D (табл. 1). Эти результаты органично согласуются с литературными данными ряда авторов, в которых показано снижение витамина D у гипертензивных объектов [1, 2, 3, 11, 23,

24, 25, 26, 27]. На других моделях АГ, в частности, на спонтанно гипертензивных крысах, показано, что на фоне развития АГ у животных формируется дефицит продукции основного активного метаболита витамина D, что сопровождается подавлением эндотелийзависимого сокращения аорты за счет снижения концентрации свободного кальция в цитозоле эндотелиальных клеток [11].

Второй этап экспериментов был направлен на поиск ответа на вопрос: Возможно ли фармакологическим замещением витамина D проводить коррекцию его дефицита и ассоциированных с этим сосудистых нарушений? Решение второй задачи реализовывалось за счет определения таких показателей, как ср. АД, содержание 25 (ОН) D и NO в крови крыс на фоне ежедневного длительного применения холекальциферола в дозе 2500 МЕ, что, по данным ряда исследований, является наиболее эффективной дозой для вспомогательной терапии АГ [1, 2, 3, 20]. Дополнительный прием холекальциферола осуществляли в течении 4 месяцев, т.е. на протяжении всего срока формирования гипертензивного статуса у крыс. Было показано, что в условиях нормы холекальциферол не оказывал каких-либо эффектов на указанные показатели. Напротив, у гипертензивных крыс данная терапия приводила к снижению ср.АД, улучшению эндотелийзависимой вазорелаксации и повышению продукции NO (рис. 1 и 2).

Это согласуется с существующими экспериментальными данными, свидетельствующими о том, что антигипертензивные эффекты витамина D проявляются за счет улучшения функции эндотелия (путем повышения активности эндотелиальной NO-синтазы, снижения эндотелиальных молекул адгезии, через противовоспалительные свойства), подавления активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, оксидативного стресса и ряда геномных механизмов его влияния [8, 9, 11, 24, 26, 27].

Однако, стоит отметить, что фармакологическое замещение дефицита витамина D у гипертензив-

ных крыс, несмотря на значительные терапевтические эффекты в отношении ср.АД и показателей эндотелиальной функции сосудов, не достаточно для эффективного лечения АД.

Заключение

Применение холекальциферола у ГК в дозе 2500 МЕ/сутки приводит к снижению среднего АД,

улучшению показателей эндотелиальной функции сосудов и можем быть важным вспомогательным инструментом в антигипертензивной терапии, что требует дальнейших, более детальных исследований.

Конфликт интересов: не заявлен.

Литература

- Burgaz A, Orsini N, Larsson SC, et al. Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*. 2011; 29:636–645.
- Kunutsor SK. Vitamin D and high blood pressure: causal association or epiphenomenon? *Eur J Epidemiol*. 2014;29 (1): 1–14.
- Witham MD, Nadir MA, Struthers AD. Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *Hypertens*. 2014;27 (10): 1948–54.
- Yankovskaya LV, Aksenova EA, Snezhitskiy VA, et al. Comparative analysis of the vitamin D receptor genotype frequencies in the Belarus population and in patients with cardiovascular diseases of the Grodno region. *Zhurnal GrGMU*. 2017;15 (3): 17–24. Russian (Янковская Л.В., Аксенова Е.А., Снежицкий и соавт. Сравнительный анализ частот генотипов гена рецептора витамина D в белорусской популяции и у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями Гродненского региона. *Журнал ГрГМУ*. 2017;15 (3): 17–24).
- Yankovskaya LV, Snezhitskiy VA, Povoroznyuk VV, et al. The relationship of vitamin D with age, sex, diagnosis and the factors of cardiovascular risk. *Med zhurnal BGMU*. 2017;2:78–84. Russian (Янковская Л.В., Снежицкий В.А., Поворознюк В.В. и соавт. Взаимосвязь уровня витамина D с возрастом, полом, диагнозом и факторами сердечно-сосудистого риска. *Мед журнал БГМУ*. 2017;2:78–84).
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *J. Med*. 2007;357:266–281.
- Povoroznyuk VV, Snezhitskiy VA, Yankovskaya LV, et al. Extraskeletal effects of vitamin d: role in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Zhurnal Grgmu*. 2015;2 (50): 6–14. Russian (Поворознюк В.В., Снежицкий В.А., Янковская Л.В. и соавт. Значение витамина D в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2015;2 (50): 6–14).
- Li YC. Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *J Ster Biochem Molec Biol*. 2004;89 (90): 387–392.
- Tomaschitz A. Independent association between 1,25-dihydroxyvitamin D, 25-hydroxyvitamin D and the renin-angiotensin system The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clinica Chimica Acta*. 2010;411:1354–1360.
- Semyachkina-Glushkovskaya OV, Berdnikova V, Kuznecova YA, et al. Activity of Vasorelaxation and Vasoconstriction Mechanisms in Rats With Early and Established Stress-Induced Hypertension. *Journal of Hypertension*. 2011;29 (318): 93.
- Wong MS, Delansome R, Man RY, et al. Vitamin D derivatives acutely reduce endothelium-dependent contractions in the aorta of hypertensive. *Am J Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2008;289:289–96.
- Tamez H, Kalim S, Thadhani RI. Does Vitamin D Modulate Blood Pressure? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013;22 (2): 204–209.
- Dworkin BR, Filewich RJ, Da Costa J, et al. A chronic arterial catheter and low compliance system for recording blood pressure and heart rate from the rat. *Am. J. Physiol*. 1980;239:H137–H141.
- Fejes-Toth G, Naray-Fejes-Toth A, Ratge D, et al. Chronic arterial and venous catheterization of conscious, unrestrained rats. *Hypertension*. 1984;6:926–930.
- Semyachkina-Glushkovskaya OV, Kapralov SV, Shapkin YuG, et al. The method of experimental modeling of stress-induced development of ulcerous bleeding. Patent RF, no. 2472231, 2013. Russian (Семячкина-Глушковская, О.В. Патент 2472231 Рос.Федерация, Способ экспериментального моделирования стресс-индуцированного развития язвенного кровотечения / О.В. Семячкина-Глушковская, С.В. Капралов, Ю.Г. Шапкин и соавт. — № 2011124711; заявл. 16.06.2011; опубл. 10.01.2013; Бюл. № 1.)
- Anishenko TG. Effect of age and sex on renal hypertension and concentration of nitric oxide in the blood of albino rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2010;149:1–4.
- Puddu GM, Zaca F, Muscari A. Endothelial dysfunction in hypertension. *Acta Cardiol*. 2000;55 (4): 221–32.
- Ralf P. Brandes Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Hypertension*. 2014;64:924–928.
- Argacha, JF, Egrise D, Pochet S, et al. Vitamin D deficiency-induced hypertension is associated with vascular oxidative stress and altered heart gene expression. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011;58 (1): 65–71.
- Yankovskaya LV, Kezhun LV, Slobodskaya NS. Effect of supplemental intake of cholecalciferol on the plasma renin activity and endothelial function in patients with arterial hypertension. *Retsept*. 2016;5:542–553. Russian

- [Янковская Л.В., Кежун Л.В., Слободская Н.С. Влияние приема холекальциферола на активность ренина плазмы и функцию эндотелия у лиц с артериальной гипертензией. *Рецепт*. 2016;5:542–553].
21. Semyachkina-Glushkovskaya OV, Anishchenko T, Kapralov S, et al. Sex differences in cardiovascular control by nitric oxide in normotensive and hypertensive rats at rest and during stress. *Health*. 2010;2 (8): 897–905.
 22. Yankouskaya LV, Snezhitskiy VA. Relationship between vascular endothelial function and vitamin D and parathyroid hormone levels in women with arterial hypertension. *Polskie archiwum medycyny wewnętrznej*. 2014;124 (10): 532–539.
 23. Dudinskaya EN, Tkacheva ON. The role of vitamin D in the development of hypertension. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2012;11 (3): 77–81. Russian [Дудинская Е.Н., Ткачева О.Н. Роль витамина D в развитии артериальной гипертензии. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2012; 11 (3): 77–81].
 24. Argacha, JF, Egrise D, Pochet S, et al. Vitamin D deficiency-induced hypertension is associated with vascular oxidative stress and altered heart gene expression. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011;58 (1): 65–71.
 25. Stavenuiter AW, Arcidiacono MV, Ferrantelli E, et al. A Novel Rat Model of Vitamin D Deficiency: Safe and Rapid Induction of Vitamin D and Calcitriol Deficiency without Hyperparathyroidism. *BioMed Research International*. 2015; Article ID 604275: 5 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/604275>
 26. Sugden J, Davies J, Witham M, et al. Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabet Med*. 2008;25:320–325.
 27. Talmor Y. Calcitriol blunts the deleterious impact of advanced glycation end products on endothelial cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 2008;294:1059–1064.