

© О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, М.И. Зарайский, М. Хасун, А.Г. Кучер, 2021
УДК 612.39 : 661.833.321] : 577.216.3-092.4

doi: 10.36485/1561-6274-2021-25-4-82-89

О.Н. Береснева^{1}, М.М. Парастаева¹, М.И. Зарайский^{2,4}, М. Хасун³, А.Г. Кучер³*

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ РАЦИОНА С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ МИКРОРНК В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ЯВАНСКИХ МАКАК

¹Научно-исследовательский институт нефрологии; ²кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины; ³кафедра пропедевтики внутренних болезней, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; ⁴Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. Высокое поступление хлорида натрия с пищей ассоциируется с повреждением не только сердечно-сосудистой системы, но и почек. Механизмы негативного воздействия высокосолевых рационов на почки не установлены. Одним из важных звеньев в данном процессе могут служить микроРНК, обладающие способностью модулировать экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Неизвестно также, могут ли протеины сои противостоять ремоделированию почек, ассоциированному с повышенным потреблением поваренной соли. **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** оценить уровни экспрессии микроРНК-133 и 203 в сыворотке крови и моче и микроРНК-21 в моче яванских макак, получавших длительное время рационы с различным содержанием поваренной соли, включающие и не включающие соевые протеины. **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Исследованы 3 группы (по 6 особей в каждой) самцов яванских макак в возрасте 6–8 лет. Первая группа (контроль) получала стандартный рацион, вторая – рацион с высоким содержанием поваренной соли (8 г NaCl/кг корма), третья – рацион с высоким содержанием соли в сочетании с соевым протеином SUPRO 760 (200 г белка/кг корма). Через 12 мес у животных измеряли АД. В моче обезьян определяли относительные уровни экспрессии микроРНК-21, микроРНК-133 и микроРНК-203, в сыворотке крови – уровни экспрессии микроРНК-133 и микроРНК-203. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** За время наблюдения в контрольной группе не зарегистрировано существенных изменений исследованных показателей. У животных, получавших в течение года высокосолевые рационы, артериальное давление также значимо не менялось. Не выявлено изменения уровня экспрессии микроРНК-133 в сыворотке крови обезьян, получавших высокосолевой рацион и стандартную белковую диету. Однако у макак, потреблявших диету с высоким содержанием соли в сочетании с соевым белком, уровень экспрессии данного микроРНК в сыворотке значимо снижался. Экспрессия микроРНК-203 в сыворотке крови существенно не менялась. В контрольной группе не выявлены изменения экспрессии микроРНК-21 в моче. В двух других выборках имел место рост данного параметра по сравнению с начальными величинами. Оба высокосолевых рациона приводили к значимому нарастанию относительного уровня экспрессии микроРНК-133 в моче по сравнению с базальными значениями. Однако рост этого показателя в группе животных, получавших высокосолевую диету в сочетании с соевым изолятом, был значимо меньше, чем у макак, находившихся только на высокосолевом рационе. Экспрессия микроРНК-203 в моче достоверно повышалась только в группе с высоким содержанием поваренной соли без добавления соевого протеина. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Возможно, что воздействие высокосолевых рационов на почки может опосредоваться эпигеномными механизмами и частично модулироваться включением в диету изолированных соевых протеинов.

Ключевые слова: яванские макаки, высокосолевой рацион, соевый белок, артериальное давление, экспрессия микроРНК

О.Н. Beresneva^{1}, М.М. Parastaeva¹, М. I. Zaraiski^{2,4}, Mohamad Khasun³,
A.G. Kucher³*

EFFECT OF LONG-TERM CONSUMPTION OF A DIET WITH A HIGH SODIUM CHLORIDE CONTENT ON MICRORNA EXPRESSION IN BLOOD SERUM AND URINE OF CYNOMOLGUS MACAQUES

¹Research Institute of Nephrology; ²Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course of Molecular Medicine; ³Department of Propeдевitics of Internal Diseases, Pavlov University, Saint Petersburg, Russian Federation; ⁴North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

Контактная информация:

*Береснева О.Н. 197022, Россия, Санкт-Петербург; ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория клинической физиологии почек. Тел.: +7(812)346-39-26. e-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

Corresponding author:

*Beresneva O.N. 197022, Russia, St-Petersburg, L.Tolstoy st., 17, build. 54. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University Research Institute of Nephrology Laboratory of Clinical Physiology of the Kidney, Senior researcher. Phone (812)346-39-26, E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

ABSTRACT

INTRODUCTION. A high intake of sodium chloride from food is associated with damage not only to the cardiovascular system but also to the kidneys. The mechanisms of the negative effects of high-salt diets on the kidneys have not been established. One of the important links in this process can be microRNAs, which can modulate gene expression at the post-transcriptional level. It is also not known whether soy proteins can counter the kidney remodeling associated with increased salt intake. **THE AIM.** To estimate the expression levels of miRNA-133 and 203 in blood serum and urine and miRNA-21 in the urine of cynomolgus macaques received diets for a long time with various table salt contents, including and not including soy proteins. **MATERIALS AND METHODS.** Three groups (6 individuals in each) of male cynomolgus macaques at the age of 6–8 years were studied. The first group (control) received a standard diet, the second – a diet with a high content of table salt (8 g NaCl / kg feed), the third – a diet with high salt content in combination with SUPRO 760 soy protein (200 g protein/kg feed). Blood pressure was measured in animals 12 months later. In monkey urine, the relative expression levels of miRNA-21, miRNA-133, and miRNA-203 were determined, in blood serum – the expression levels of miRNA-133 and miRNA-203. **RESULTS.** During the follow-up period in the control group, there were no significant changes in the studied parameters. In the groups that received high-salt diets throughout the year, blood pressure also did not change significantly. There was no change in the level of expression of miRNA-133 in the blood serum of monkeys fed a high-salt diet and a standard protein diet. However, in macaques fed a diet high in salt in combination with soy protein, the serum expression of this miRNA was significantly reduced. The expression of miRNA-203 in blood serum did not change significantly. In the control group, there were no changes in the expression of miRNA-21 in urine. In the other two samples, this parameter increased in comparison with the initial values. Both high-salt diets resulted in a significant increase in the relative level of miRNA-133 expression in urine compared to basal values. However, the increase in this indicator in the group of animals fed a high-salt diet in combination with soy isolate was significantly less than in monkeys fed only a high-salt diet. Expression of miRNA-203 in urine was significantly increased only in the group with a high content of table salt without added soy protein. **CONCLUSIONS.** It is possible that the effects of high-salt diets on the kidney may be mediated by epigenomic mechanisms and partially modulated by the inclusion of isolated soy proteins in the diet.

Keywords: cynomolgus macaques, high-salt diet, soy protein, blood pressure, miRNA expression

Для цитирования: Береснева О.Н., Парастаева М.М., Зарайский М.И., Хасун М., Кучер А.Г. Влияние длительного потребления рациона с высоким содержанием хлорида натрия на экспрессию микроРНК в сыворотке крови и моче яванских макак. *Нефрология* 2021;25(4):82-89. doi: 10.36485/1561-6274-2021-25-4-82-89

For citation: Beresneva O.N., Parastaeva M.M., Zaraiski M.I., Khasun Mohamad, Kucher A.G. Effect of long-term consumption of a diet with a high sodium chloride content on microRNA expression in blood serum and urine of Cynomolgus Macaques. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2021;25(4): 82-89 (In Russ.) doi: 10.24884/1561-6274-2021-25-4-82-89

ВВЕДЕНИЕ

Принято считать, что высокое потребление натрия ассоциировано с нарастанием артериального давления и риска сердечно-сосудистых заболеваний. Однако результаты работ по исследованию влияния рационов с высоким содержанием поваренной соли на АД, проведенных в последние годы, оказались неоднозначными. Установлено, что высокосолевого рацион далеко не у всех людей и экспериментальных животных приводит к росту АД (феномены соль-чувствительности и соль-резистентности) [1–5]. В то же время, рационы с очень низким содержанием натрия также могут приводить к целому ряду негативных последствий [6]. Кроме того, результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что даже если потребление натрия велико, то побочные эффекты такого пищевого поведения в значительной мере независимы от АД [7]. Особый интерес вызывают представления о том, что рацион с высоким содержанием поваренной соли является независимым фактором развития ремоделирования органов, не ассоциированным с существенным ростом артериального давления (АД).

Следует подчеркнуть, что, несмотря на длительное изучение, проблема солевой чувстви-

тельности и солевой нагрузки остается не решенной окончательно, поскольку представления о механизмах развития данного состояния противоречивы [8, 9]. Традиционно считалось, что высокое потребление соли способствует задержке воды, экспансии объема внеклеточной жидкости и приводит к развитию АГ по объемзависимому пути. Однако в последние годы получены новые данные (как клинические, так и экспериментальные), меняющие представления о механизмах развития кардиоваскулярных (в том числе АГ) и почечных нарушений при повышенном потреблении соли. Полагают, что хлорид натрия может оказывать прямое воздействие на некоторые органы и ткани, вызывая, в конечном итоге, ремоделирование компонентов микроциркуляторного русла. Данный механизм, возможно, реализуется за счет активации различных пролиферативных, профибротических и провоспалительных цитокинов, сигнальные пути которых контролируются изменениями экспрессии ряда нуклеарных факторов транскрипции. При этом нарастание резистивности мелких сосудов кожи может стать одной из причин, способствующих росту АД, вне зависимости от экспансии объема [8].

В последнее время внимание уделяется также возможному негативному влиянию высокого потребления поваренной соли на состояние почек [10, 11]. Одним из важных звеньев в данном процессе могут служить микроРНК (миРНК), представляющие собой небольшие некодирующие РНК и обладающие способностью модулировать экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Более 90% генов у млекопитающих находятся под их контролем. Результаты многочисленных исследований показывают, что микроРНК играют значительную роль в различных биологических процессах, включая клеточный цикл, пролиферацию, апоптоз [12]. Они также вовлечены в прогрессирование многих заболеваний [13–15]. В частности, изменения экспрессии ряда миРНК могут ассоциироваться с развитием воспаления и фиброза в почечной ткани [16–18].

Установлено, что для почек высокоспецифичными являются миРНК-196a/b, миРНК-10a/b, миРНК-130, миРНК-146, миРНК-200a, миРНК-30a-e, миРНК-872 и миРНК-21 [19]. Наиболее изученной многофункциональной миРНК является миРНК-21. Ее ген локализуется в межгенной области хромосомы 17q23.1 и фланкирован белок-кодирующим геном TMEM49. При этом, ген миРНК-21 имеет свой собственный промотор и транскрибируется вне зависимости от TMEM49.

В норме миРНК-21 широко экспрессируется в различных тканях и клетках человека. Многие ее мишени имеют отношение к фиброзу и связаны с модуляцией сигнального пути TGF- β 1/Smad. Установлено, что данный путь играет центральную роль в инициации и развитии фиброза в нескольких органах, в том числе миокарде [20–22] и почках [23, 24]. Значение различных миРНК в формировании ремоделирования почек при высоком потреблении поваренной соли остается практически не изученным. Полученные к настоящему времени данные указывают на то, что введение в рацион соевых продуктов способно оказывать определенное нефропротективное воздействие при заболеваниях почек [25–27]. Однако неизвестно, могут ли протеины сои противостоять ремоделированию почек, ассоциированному с повышенным потреблением поваренной соли. В связи с этим мы сочли целесообразным проследить изменения экспрессии миРНК-21 в моче, миРНК-133 и миРНК-203 в моче и сыворотке крови яванских макак (*Macaca fascicularis*), находящихся длительное время на рационах с высоким содержанием поваренной соли, включающих и не включающих соевые протеины.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследованы 18 самцов яванских макак (*Macaca fascicularis*) в возрасте 6–8 лет с массой тела 5,15–9,7 кг. Обезьяны были распределены на три группы (по шесть особей в каждой). Первая (контрольная) группа получала стандартный рацион. Вторая – рацион с высоким содержанием поваренной соли (8 г NaCl/кг). Третья группа – рацион с высоким содержанием соли в сочетании с соевым протеином SUPRO 760 (200 г соевого белка/кг корма; ProteinTechnologyInternational, USA). Весь период эксперимента приматы находились в индивидуальных клетках, оборудованных кормушками и поилками. Доступ к воде был свободным. Животные были обследованы через 12 мес содержания на соответствующем пищевом рационе.

Условия содержания обезьян соответствовали стандартам, указанным в ГОСТе Р 53434–2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», ГОСТе 33218–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за нечеловекообразными приматами» и в Постановлении об утверждении СП 2.2.1.3218–14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Все манипуляции с приматами выполняли в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, от 18 марта 1986 года (текст изменен в соответствии с положениями Протокола, ETS № 170, дата его вступления в силу 2 декабря 2005 года) и Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. – Washington, D.C. 1996.

Измерение артериального давления (АД) проводили у наркотизированных обезьян. В качестве наркоза использовали комбинацию тилетамин/золазепам – Золетил 100 (серия 75 TD, «Virbac», Франция), 0,05 мл/кг и ксилазин – Ксила (серия 358047, «INTERCHEMIE», Голландия) 2%, 0,1 мл/кг. АД измеряли при помощи ветеринарного тонометра МЛ-410 VET («Микролюкс», Россия) манжеточным методом на верхней левой конечности.

Мочу собирали в течение 3 ч. Перед сбором мочи индивидуальные клетки, в которых находились животные, тщательно мыли. Воду в поилках перекрывали во избежание попадания ее на поддон. Образцы мочи собирали в пробирки шприцем. В моче обезьян определяли относительные уровни экспрессии микроРНК-21, микроРНК-133 и микроРНК-203. У животных также

брали кровь для определения уровней экспрессии микроРНК-133 и микроРНК-203.

Определение относительного уровня экспрессии микроРНК (миРНК) в сыворотке крови и моче экспериментальных животных заключалось в выделении тотальной РНК с помощью фенольного реактива (Triagent-LS) и последующей ее экстракцией хлороформом. Реакция обратной транскрипции (РОТ) для приготовления «копийной» ДНК (кДНК) проводилась по технологии «Stem Loop» отдельно для исследуемых микроРНК с использованием следующих праймеров: миРНК-21 – 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTCAAC-3', миРНК-133 – 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACATTTG-GTT-3', миРНК-203 – 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACCTAGTG-3' и U6 – 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAATATG-3', которая рассматривалась как ген сравнения. Температурный профиль РОТ был следующий: 16 °C – 30 мин, 42 °C – 30 мин, 85 °C – 5 мин в один цикл. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) осуществлялась в присутствии интеркалирующего красителя EvaGreen для реализации протокола учета результатов в режиме реального времени на амплификаторе DTLite-4 («ДНК-Технология», Москва). В ПЦР использовались следующие праймеры: миРНК-21 – 5'-GCCCCGTAGCTTATCAGACTGATG-3', миРНК-133 – 5'-GCCCCGAGCTGGTA AAATGGAAC-3', миРНК-203 – 5'-GCCGGTGAA ATGTTTAGGACC-3' и U6 – 5'-GCGC-GTCGTGAAGCGTTC-3', и общий обратный 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'. Реакционные смеси приготавливались отдельно для каждой кДНК, температурный профиль ПЦР был следующий: 95 °C – 10 мин (1 цикл), 95 °C – 15 с, 60 °C – 15 мин (45 циклов). Наборы для проведения РОТ и ПЦР приобретали на фирме «Синтол» (Москва, Россия).

При расчетах применяли полуколичественную оценку уровня экспрессии микроРНК (в относительных единицах – ОЕ) по протоколу $2^{-\Delta\Delta Ct}$ при лабораторном референте (0,09).

Все результаты представлены как медиана [интерквартильный размах] (Me[IQR]). Для сравнения

двух выборок использовали тест Манна–Уитни, при сравнении большего числа выборок – тест Крускала–Уоллеса. Межгрупповые различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание в течение 12 мес самцов яванских макаков на исследуемых вариантах солевых рационов (как в сочетании со стандартной белковой диетой, так и при замене всех белковых составляющих на соевый протеин) не привело к существенным изменениям систолического или диастолического артериального давления по сравнению с исходным уровнем (рис. 1).

В нашем исследовании не отмечено в сравнении с контрольной группой значимого изменения относительного уровня экспрессии миРНК-133 в сыворотке крови животных, получавших высокосолевой рацион и стандартную белковую диету. В то же время у макаков, потреблявших высокосолевой рацион в сочетании с соевым белком, уровень экспрессии данного миРНК в сыворотке крови значимо снижался (рис. 2). По относительному уровню экспрессии миРНК-203 в сыворотке крови значимых различий между исследуемыми группами выявлено не было. Однако можно отметить тенденцию к увеличению экспрессии миРНК-203 у обезьян, получавших корм со стандартным белком и высоким содержанием поваренной соли, и тенденцию к ее снижению у животных, потреблявших высокосолевой рацион в сочетании с соевым протеином (см. рис. 2).

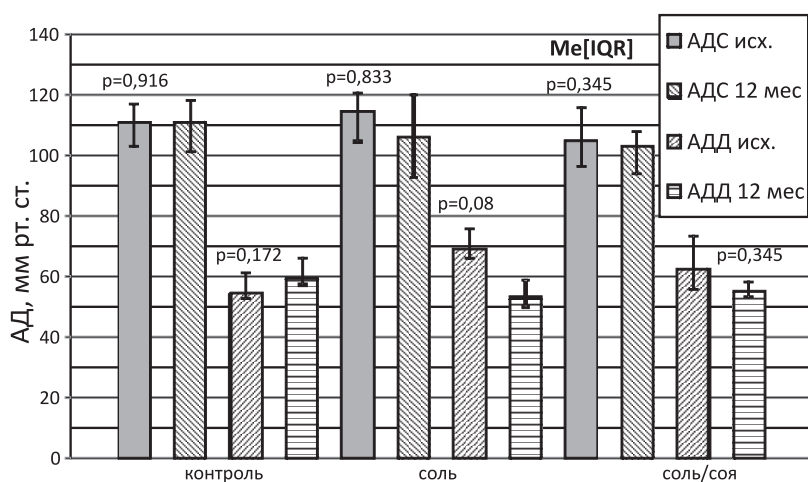


Рисунок 1. Уровень систолического и диастолического артериального давления животных исходно и через 12 мес эксперимента. АДС – систолическое артериальное давление, мм рт. ст.; АДД – диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.

Figure 1. The level of systolic and diastolic blood pressure of animals at baseline and after 12 months of the experiment. SBP – systolic blood pressure, mm Hg. st.; DBP – diastolic blood pressure, mm Hg. st

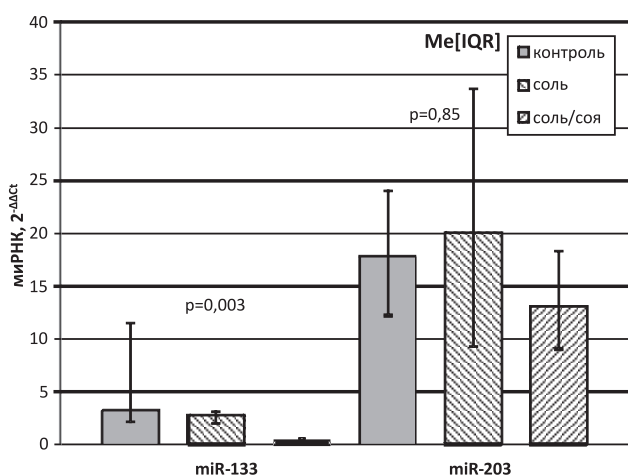


Рисунок 2. Относительный уровень экспрессии миРНК-133 и миРНК-203 в сыворотке крови яванских макак через 12 мес эксперимента.

Figure 2. Relative expression level of miRNA-133 and miRNA-203 in the blood serum of cynomolgus macaques after 12 months of the experiment.

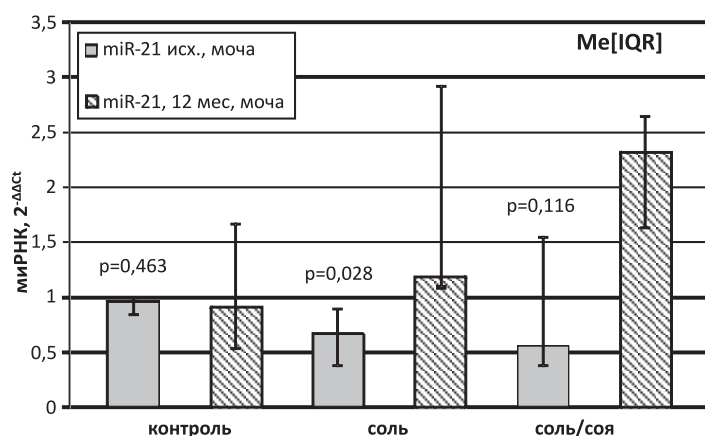


Рисунок 3. Относительный уровень экспрессии миРНК-21 в моче яванских макак исходно и через 12 мес эксперимента.

Figure 3. Relative expression level of miRNA-21 in cynomolgus macaques urine at baseline and after 12 months of the experiment.

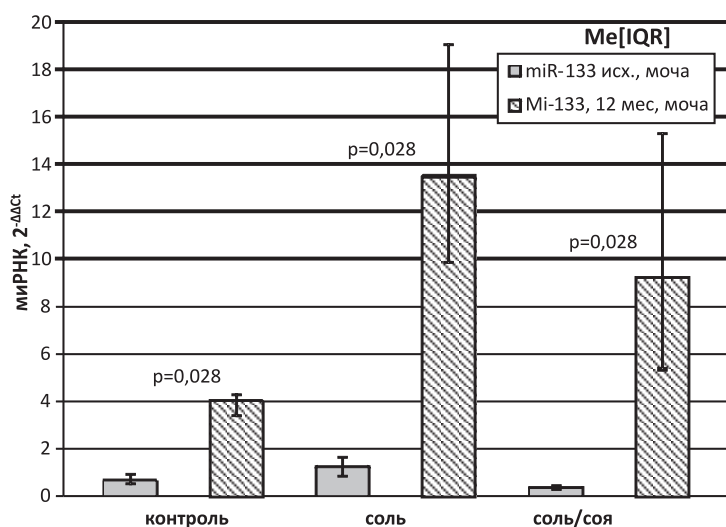


Рисунок 4. Относительный уровень экспрессии миРНК-133 в моче яванских макак исходно и через 12 мес эксперимента.

Figure 4. Relative expression level of miRNA-133 in cynomolgus macaques urine at baseline and after 12 months of the experiment.

В контрольной группе относительный уровень экспрессии миРНК-21 в моче к 12 мес эксперимента не изменялся по сравнению с исходным показателем. У обезьян, получавших диеты с высоким содержанием поваренной соли, отмечалось повышение экспрессии данного микроРНК, однако, значимым различие было в группе, потреблявших рацион со стандартным белком (рис. 3).

Изменения миРНК-133 (рис. 4) в изучаемых группах яванских макак, в принципе, были похожи на выявленные для миРНК-21. Оба высокосолевых рациона приводили к нарастанию относительного уровня экспрессии этих миРНК в моче по сравнению с базальными значениями. При этом, медиана относительного уровня экспрессии миРНК-133 у обезьян, потреблявших большое количество хлорида натрия в течение 12 мес, была больше, чем в то же время у животных на высоко-

солевом рационе, дополненном соевым изолятом (см. рис. 4). Иная ситуация складывалась в отношении миРНК-203. Относительный уровень ее экспрессии значимо повышался только в группе на рационе с высоким содержанием поваренной соли и стандартном белке (рис. 5). У обезьян, получавших диету с соевым изолятом, высокое потребление хлорида натрия длительное время не приводило к значимому росту экспрессии миРНК-203 (см. рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о том, что длительное (в течение 1 года) содержание самцов яванских макак на исследуемых высокосолевых рационах не привело к существенным изменениям систолического или диастолического артериального давления по сравнению с исходным уровнем. Эти данные согласуются с результатами, полученными нами ранее у нормотензивных крыс стока Wistar или спонтанногипертензивных крыс линии SHR, потреблявших рационы с высоким содержанием хлорида натрия [2, 3, 28], и могут служить подтверждением того, что феномен сольрезистентности свойствен не только людям, но и млекопитающим других видов, в частности, приматам и грызунам. Механизмы данного явления в настоящее время до конца не выяснены. Существенная роль может принадлежать способности почек экскретировать натрий, а также емкости кожных депо для натрия.

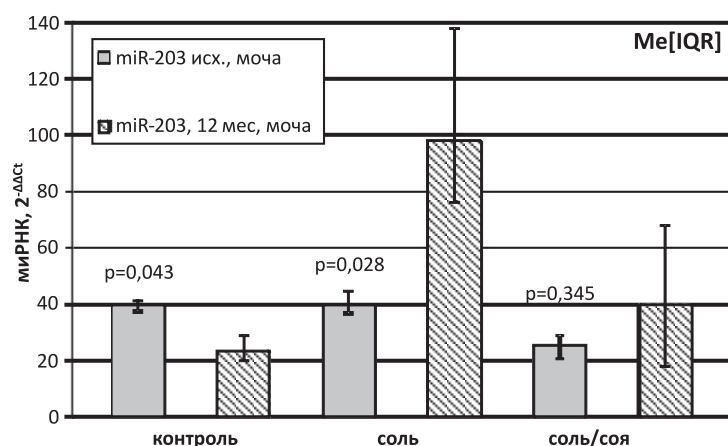


Рисунок 5. Относительный уровень экспрессии миРНК-203 в моче яванских макаков исходно и через 12 мес эксперимента
Figure 5. Relative expression level of miRNA-203 in cynomolgus macaque urine at baseline and after 12 months of the experiment

Когда эти механизмы работают эффективно, АД может не возрастать до определенного времени. Во многих случаях при длительном поступлении больших количеств соли с рационом АД все же повышается, что и находит отражение в результатах исследований [7].

В нашей работе выявлен значимый рост экспрессии миРНК-21 в моче по сравнению с исходными величинами в обеих солевых группах. Известно, что миРНК-21 может способствовать пролиферации клеток, воспалению и ангиогенезу. Показано также, что эта миРНК участвует в развитии почечного фиброза, и ее уровень повышается в плазме крови [29] или моче [30] у пациентов с патологией почек. Повышение экспрессии миРНК-21 усиливает индуцированное TGF- β 1 нарастание альфа-гладкомышечного актина и снижение E-кадгерина за счет прямого угнетения smad7/p-smad7 и не прямой стимуляции smad3/p-smad3, что, в конечном итоге, способствует развитию склероза [31]. При этом рост экспрессии данной миРНК ассоциируется со степенью снижения функции почек [30].

В исследованиях последних лет, в том числе и наших работах, выполненных на крысах различных генетических линий [26, 27, 32], подтвержден ренопротективный эффект соевых рационов (как малобелковых, так и высокобелковых). Однако конкретные механизмы позитивного воздействия диетарных соевых протеинов на почки до конца не установлены. Не исключено, что существенная роль в этом процессе принадлежит определенным миРНК. Так, можно было предположить, что активация экспрессии миРНК-21 в почках (см. рис. 3) при высоком поступлении хлорида натрия с пищей будет способствовать развитию почечных нарушений, тогда как дополнение рациона соей должно

противодействовать повышению экспрессии миРНК-21 и оказывать нефропротективный эффект. Однако снижения экспрессии миРНК-21 в моче у макаков, получавших в течение года высокосолевого рациона, дополненный соевым изолятом, мы не выявили. Поэтому можно заключить, что влияние соевых протеинов на состояние почек при повышенном поступлении хлорида натрия с пищей, по-видимому, реализуется не через модуляцию экспрессии миРНК-21. Экспрессия миРНК-133 или миРНК-203 в моче экспериментальных животных под влиянием изученных диетарных воздействий менялась иначе, чем миРНК-21. Высокосолевого рациона вызывал значимый рост активности миРНК-133. Однако дополнение

диеты соевым изолятом ограничивало нарастание экспрессии данного миРНК в моче. В сыворотке крови приматов, получавших диету с высоким содержанием соли в сочетании с соевым протеином, экспрессия миРНК-133 снижалась не только относительно группы, получавшей высокосолевого рациона и стандартный белок, но и контрольной группы. Аналогичная тенденция была отмечена и для экспрессии сывороточного миРНК-203. Экспрессия миРНК-203 в моче обезьян значимо нарастала только в группе, получавшей длительное время рацион с высоким содержанием соли без добавления соевого протеина.

О патофизиологической роли миРНК-133 и -203 в настоящее время известно меньше, чем о миРНК-21. Полагают, что миРНК-203 является супрессором злокачественных опухолей у людей, в том числе и почек. Она подавляет пролиферацию, миграцию, инвазию [33], индуцирует апоптоз [34] клеток различных опухолей. Эти данные позволяют приписать миРНК-203 определенные протекторные свойства, но реализуются ли они в почках в условиях высокого потребления поваренной соли, остается неясным. миРНК-133 обычно ассоциируют с участием в развитии повреждений сердечно-сосудистой системы. Она экспрессируется в миокарде и играет важную регуляторную роль в апоптозе и ремоделировании миокарда, проявляет кардиопротективные свойства при остром инфаркте миокарда [35, 36]. О роли миРНК-133 в почках известно очень немного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами на приматах данные позволяют полагать, что воздействие высокосолевых рационов на состояние почек может опосредо-

ваться эпигеномными механизмами, в частности, изменениями экспрессии определенных микроРНК. Не исключено, что активация экспрессии микроРНК-21 (которая на данном сроке наблюдения не подавляется назначением протеинов сои) в условиях длительного потребления высокосолевого рациона в какой-то мере ответственна за повреждение почек. Мы полагаем, что микроРНК-203 и микроРНК-133 при высоком потреблении натрия также могут вовлекаться как в механизмы повреждения, так и защиты почечной ткани. Возможно, что диетические соевые протеины могут участвовать в процессах регуляции функции почек, изменяя экспрессию некоторых микроРНК. Результаты проведенного исследования могут свидетельствовать о том, что организм яванских макак, как и млекопитающих других видов, может длительное время противодействовать гипертензивному действию высокосолевых рационов, а изменения активности изученных микроРНК на данном этапе независимы от роста АД.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 19-015-00221 «Физиологические механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы и почек к высокому поступлению хлорида натрия с пищей у млекопитающих разных видов»).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК REFERENCES

- Felder RA, White MJ, Williams SM, Jose PA. Diagnostic tools for hypertension and salt sensitivity testing. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013; 22(1):65–76. doi: 10.1097/MNH.0b013e32835b36934-8b013e32835b3693
- Парастаева ММ, Береснева ОН, Иванова ГТ и др. Артериальная гипертензия и потребление соли: вклад в ремоделирование сердца. *Нефрология* 2016; 20(5):97–105
- Parastaeva MM, Beresneva ON, Ivanova GT et al. Hypertension and salt intake: contribution to cardiac remodeling. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2016;20(5):97–105. (In Russ.)
- Береснева ОН, Парастаева ММ, Иванова ГТ и др. Изменения сердечно-сосудистой системы у крыс, сопряженные с высоким потреблением хлорида натрия. *Артериальная гипертензия* 2014;20(5):384–390
- Beresneva ON, Parastaeva MM, Ivanova GT et al. Changes in the cardiovascular system in rats associated with high consumption of sodium chloride. *Arterial hypertension* 2014; 20(5):384–390. (In Russ.)
- Grigorova YN, Wei W, Petrashevskaya N et al. Dietary sodium restriction reduces arterial stiffness, vascular TGF- β -dependent fibrosis and marinobufagenin in young normotensive rats. *Int J Mol Sci* 2018;19(10): pii:E3168. doi: 10.3390/ijms19103168
- Grigorova YN, Juhasz O, Zemetkina V et al. Aortic fibrosis, induced by high salt intake in the absence of hypertensive response, is reduced by a monoclonal antibody to marinobufagenin. *Am J Hypertens* 2016;29(5):641–646. doi: 10.1093/ajh/hpv155
- Ritz E., Mehls O. Salt restriction in kidney disease – a missed therapeutic opportunity? *Pediatr Nephrol* 2009; 24(1): 9–17. doi: 10.1007/s00467-008-0856-4
- Mente A, O'Donnell M, Rangarajan S et al. Urinary sodium excretion, blood pressure, cardiovascular disease, and mortality: a community-level prospective epidemiological cohort study. *Lancet* 2018; 392(10146):496–506. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31376-X
- Kanbay M, Chen Y, Solak P, Sanders PW. Mechanisms and consequences of salt sensitivity and dietary salt intake. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20(1): 37–43. doi: 10.1097/MNH.0b013e32834122f1
- Mohan S, Campbell NR. Salt and high blood pressure. *Clin Sci (Lond)* 2009; 117(1): 1–11. doi: 10.1042 / CS20080207
- Oppelaar JJ, Vogt L. Body fluid-independent effects of dietary salt consumption in chronic kidney disease. *Nutrients* 2019; 11: 2779. doi: 10.3390/nu11112779
- Hosohata K. Biomarkers for chronic kidney disease associated with high salt intake. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 2080. doi: 10.3390/ijms18102080
- Wojciechowska A, Braniewska A, Kozar-Kamińska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease. *Adv Clin Exp Med* 2017; 26(5):865–874. <https://doi.org/10.17219/acem/62915>. 6
- Wang X, Ning Y, Yang L et al. Diagnostic value of circulating microRNAs for osteosarcoma in Asian populations: a meta-analysis. *Clin Exp Med* 2017;17(2):175–183. <https://doi.org/10.1007/s10238-016-0422-5>
- Oliveto S, Mancino M, Manfrini N et al. Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World J Biol Chem* 2017;8(1):45–56. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v8.i1.45>
- Li G, Song Y, Li YD et al. Circulating miRNA-302 family members as potential biomarkers for the diagnosis of acute heart failure. *Biomark Med* 2018;12(8):871–880. <https://doi.org/10.2217/bmm-2018-0132>
- Каюков ИГ, Иванова ГТ, Зарайский МИ и др. Экспрессия микроРНК-21 в почечной ткани и моче у крыс с односторонней обструкцией мочеточника. *Нефрология* 2016; 20(5): 84–89
- Kayukov IG, Ivanova GT, Zaraisky MI, et al. Expression of microRNA-21 in renal tissue and urine in rats with unilateral ureteral obstruction. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2016;20(5):97–105. (In Russ.)
- Wang G. Elevated levels of miR-146a and miR-155 in kidney biopsy and urine from patients with IgA nephropathy. *Dis Markers* 2011; 30:171–179. doi: 10.3233 / DMA-2011-0766.
- Yanai K, Kaneko S, Ishii H et al. Quantitative real-time PCR evaluation of microRNA expressions in mouse kidney with unilateral ureteral obstruction. *J Vis Exp* 2020; 27(162): 185–192. doi: 10.3791/61383
- Metzinger-Le Meuth V, Metzinger L. miR-223 and other miRNA's evaluation in chronic kidney disease: Innovative biomarkers and therapeutic tools. *Non-Coding Rna Res* 2019; 4: 30–35. doi: 10.1016 / j.ncrna.2019.01.002
- He X, Zhang K, Gao X et al. Rapid atrial pacing induces myocardial fibrosis by down-regulating Smad7 via microRNA-21 in rabbit. *Heart Vessel* 2016; 31: 1696–1708. doi: 10.1007 / s00380-016-0808-z
- Watanabe K, Narumi T, Watanabe T et al. P1626MicroRNA-21 deteriorates left ventricular reverse remodeling by promoting cardiac fibrosis in non-ischemic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2019; 40: 9–11
- Yousefi F, Shabaninejad Z, Vakili S et al. TGF- β and WNT signaling pathways in cardiac fibrosis: non-coding RNAs come into focus. *Cell Communication and Signaling* 2020; 18:87 <https://doi.org/10.1186/s12964-020-00555-4>
- Lyu H, Li X, Wu Q, Hao L. Overexpression of microRNA-21 mediates Ang II-induced renal fibrosis by activating the TGF- β 1/Smad3 pathway via suppressing PPAR α . *J Pharmacol Sci* 2019; 141: 70–78. doi: 10.1016 / j.jphs.2019.09.007
- McClelland AD, Herman-Edelstein M, Komers R et al. miR-21 promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by targeting PTEN and SMAD7. *Clin Sci* 2015; 129: 1237–1249. doi: 10.1042 / CS20150427
- Ahmed MS, Calabria AC, Kirsztajn GM. Short-term effects of soy protein diet in patients with proteinuric glomerulopathies. *J Bras Nefrol* 2011; 33:150–159. doi: 10.1590 / s0101-28002011000200006
- Береснева ОН, Парастаева ММ, Кучер АГ и др. Влияние содержания белка в диете на прогрессирование экспериментальной хронической почечной недостаточности. *Нефрология*

2003; 7(4): 66–70

Beresneva ON, Parastaeva MM, Kucher AG et al. Effect of protein content in the diet on the progression of experimental chronic renal failure. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2003;7(4):66–70. (In Russ.)

27. Смирнов АВ, Кучер АГ, Добронравов ВА и др. Диетарный соевый протеин замедляет развитие интерстициального почечного фиброза у крыс с односторонней обструкцией мочеоточника: введение в нутритивную эпигеномику. *Нефрология* 2012; 16(4): 75–83

Smirnov AV, Kucher AG, Dobronravov VA et al. Dietary soy protein slows down the development of interstitial renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction: an introduction to nutritional epigenomics. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2012; 16(4):75–83. (In Russ.)

28. Каюков ИГ, Береснева ОН, Парастаева ММ и др. Протеины сои противодействуют ремоделированию сердца у крыс Wistar, получающих рацион с высоким содержанием хлорида натрия. *Нефрология* 2019;23(6):92–99. doi: 10.36485/1561-6274-2019-236-92-99

Kayukov IG, Beresneva ON, Parastaeva MM et al. Soybean proteins counteract heart remodeling in wistar rats fed a high sodium chloride diet. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2019;23(6):92–99. (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2019-236-92-99

29. Fouad M, Salem I, Elhefnawy K et al. MicroRNA-21 as an early marker of nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Indian J Nephrol* 2020; 30(1): 21–22. doi:10.4103/ijn.IJN_80_19

30. Смирнов АВ, Карунная АВ, Зарайский МИ и др. Экспрессия микроРНК-21 в моче у пациентов с нефропатиями. *Нефрология* 2014; 18(6): 59–63

Smirnov AV, Karunnaya AV, Zaraisky MI, et al. Expression of microRNA-21 in urine in patients with nephropathy. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2014; 18(6):59–63. (In Russ.)

31. Wang JY, Gao YB, Zhang N et al. MicroRNA-21 overexpression enhances TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition by target smad7 and aggravates renal damage in diabetic nephropathy. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 392(1–2): 163–172. doi:10.1016/j.mce.2014.05.018

32. Ahmed MS, Calabria AC, Kirsztajn GM. Short-term effects of soy protein diet in patients with proteinuric glomerulopathies. *J Bras Nefrol* 2011; 33:150–159

33. Deng B, Wang B, Fang J et al. MiRNA-203 suppresses cell proliferation, migration and invasion in colorectal cancer via targeting of EIF5A2. *Sci Rep* 2016;6:28301. doi: 10.1038/srep28301

34. Kim JS, Choi DW, Kim CS et al. MicroRNA-203 induces apoptosis by targeting Bmi-1 in YD-38 oral cancer cells. *Anticancer Res* 2018; 38(6): 3477–3485. doi: 10.21873/anticancer.12618

35. Zong L, Wang W. CircANXA2 promotes myocardial apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury via inhibiting miRNA-133 expression. *Biomed Res Int* 2020;2020: 8590861. doi: 10.1155/2020/8590861. eCollection 2020

36. Zhang XG, Wang LQ, Guan HL. Investigating the expression of miRNA-133 in animal models of myocardial infarction and its effect on cardiac function. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23 (13):5934–5940. doi: 10.26355/eurrev_201907_18338

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.**

Сведения об авторах:

Береснева Ольга Николаевна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория клинической физиологии почек, старший научный сотрудник. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

Парастаева Марина Магрезовна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный

медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория клинической физиологии почек, старший научный сотрудник. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: marina_parastaeva@list.ru. ORCID:0000-0002-4526-8671

Проф. Зарайский Михаил Игоревич, д-р мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, E-mail: mzaraiski@yandex.ru. ORCID:0000-0002-7605-4369

Мохаммад Хасун, канд. мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра пропедевтики внутренних болезней, ассистент кафедры. Тел.: +7(812)346-39-26; E-mail: nefrolog2013@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5722-8693

Проф. Кучер Анатолий Григорьевич, д-р мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра пропедевтики внутренних болезней. Тел.: +7(921)421-18-17; E-mail: prof.kucher@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5616-3488

About the authors:

Olga N. Beresneva, PhD
Affiliations: 197022, Russia, St-Petersburg, L.Tolstoy st., 17, build. 54. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University Research Institute of Nephrology Laboratory of Clinical Physiology of the Kidney, Senior researcher. Phone (812)346-39-26, E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

Marina M. Parastaeva, PhD
Affiliations:197022, Russia, St-Petersburg, L.Tolstoy st., 17, build. 54. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University Research Institute of Nephrology Laboratory of Clinical Physiology of the Kidney, Senior researcher. Phone (812)346-39-26, E-mail: marina_parastaeva@list.ru. ORCID:0000-0002-4526-8671

Prof. Mikhail I. Zaraiski, MD, PhD, DMedSci
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov University, Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course of Molecular Medicine; E-mail: mzaraiski@yandex.ru. ORCID:0000-0002-7605-4369

Mohamad Khasun, MD, PhD
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov University, Department of Propedeutics of Internal Diseases, Assistant. Phone: +7(812)346-39-26; E-mail: nefrolog2013@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5722-8693

Prof. Anatoly G. Kucher, MD, PhD, DMedSci
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov University, Department of Propedeutics of Internal Diseases. Phone: +7(921)421-18-17; E-mail: prof.kucher@yandex. ru. ORCID: 0000-0002-5616-3488

Поступила в редакцию: 04.05.2021

Принята в печать: 14.06.2021

Article received: 04.05.2021

Accepted for publication: 14.06.2021