

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ Экспериментальные исследования

ORIGINAL ARTICLES Experimental investigations

© М.И. Зарайский, Г.И. Лобов, Г.Т. Иванова, М.М. Парастаева, А.Г. Кучер, О.Н. Береснева, 2022
УДК 612.46 : 577.213.7] : 611.018.74-092.4

doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-1-75-87

ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК В МОЧЕ И ЭНДОТЕЛИЙ-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА СОСУДОВ КРЫС ЛИНИИ WISTAR, ПОЛУЧАВШИХ ВЫСОКОСОЛЕВОЙ РАЦИОН

Михаил Игоревич Зарайский^{1,3}, Геннадий Иванович Лобов²,
Галина Тажимовна Иванова², Марина Магрезовна Парастаева¹,
Анатолий Григорьевич Кучер¹, Ольга Николаевна Береснева¹✉

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

² Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия;

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

¹ mzaraiski@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7605-4369>

² lobovgi@infran.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3088-4647>

³ tazhim@list.ru. <https://orcid.org/000-0003-0188-5173>

⁴ marina_parastaeva@list.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4526-8671>

⁵ prof.kucher@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5616-3488>

⁶ beresnevaolga@list.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7532-2405>

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ: оценить влияние высокосолевого рациона на уровень экспрессии микроРНК в моче и механизмы эндотелий-зависимой вазодилатации у крыс. **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** 20 крыс Wistar разделили на две равные группы. Высоко-солевая (HS) группа получала 8 % NaCl в рационе, контрольная (NS) – стандартный рацион (0,34 % NaCl). Через 4 мес у крыс оценивали артериальное давление (АД), индекс массы левого желудочка (ИМЛЖ), в моче определяли относительные уровни экспрессии микроРНК-21, микроРНК-133 и микроРНК-203. Оценку реактивности колец аорты и верхней брыжеечной артерии (ВБА) на ацетилхолин (ACh) проводили in vitro в изометрическом режиме. **РЕЗУЛЬТАТЫ:** по уровню АД различий между группами не выявлено ($p > 0,05$), однако, у HS-крыс отмечено увеличение ИМЛЖ. Относительные уровни экспрессии микроРНК-21, микроРНК-133 и микроРНК-203 в моче у HS-крыс значительно повышались по сравнению с показателями контрольных животных. Высокосолевая диета приводила к уменьшению реактивности предконтрактированных фенилэфрином сосудистых сегментов на ACh. У HS-группы снижение амплитуды вазодилатации при действии ACh в условиях блокады NO-синтазы (при применении L-NIO) по сравнению с реакцией в отсутствие блокатора было меньше, чем у NS-группы: у ВБА HS-группы – на 45 %, NS-группы – на 69,4 %, у аорты HS-группы – на 49,4 %, NS-группы – на 80,7 %. В отличие от аорты в ВБА блокада Ca^{2+} -чувствительных K^{+} -каналов (в условиях введения тетраэтиламмония, TRAM-34 или апамина) ослабляла ACh-индуцируемую релаксацию, причем у HS-крыс снижение вазодилатации было более выраженным. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** длительное потребление высокосолевого рациона, не изменяя АД, увеличивает ИМЛЖ и уровень экспрессии микроРНК в моче, а также снижает эндотелий-зависимую релаксацию сосудов, опосредованную, в частности, нарушением продукции эндотелием NO, более выраженным в аорте, чем в ВБА.

Ключевые слова: высокосолевая диета, артериальное давление, экспрессия микроРНК, аорта, верхняя брыжеечная артерия, эндотелий

Грант: фрагмент работы по исследованию уровня экспрессии микроРНК в моче выполнен при поддержке грантом РФФИ 19-015-00221 «Физиологические механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы и почек к высокому поступлению хлорида натрия с пищей у млекопитающих разных видов».

Источник финансирования. Работа выполнена по госзаданию №075-00776-19-02.

Для цитирования: Зарайский М.И., Лобов Г.И., Иванова Г.Т., Парастаева М.М., Кучер А.Г., Береснева О.Н. Изменения экспрессии микроРНК в моче и эндотелий-зависимой регуляции тонуса сосудов крыс линии Wistar, получавших высокосолевого рациона. *Нефрология* 2022;26(1):75-87. doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-1-75-87

CHANGES IN MICRORNA EXPRESSION IN THE URINE AND ENDOTHELIUM-DEPENDENT REGULATION OF VESSEL TONE IN WISTAR RATS RECEIVED A HIGH-SALT DIET

Mikhail I. Zارايسي^{1,3}, Gennady I. Lobov², Galina T. Ivanova², Marina M. Parastaeva¹, Anatoly G. Kucher¹, Olga N. Beresneva¹✉

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia;

² Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

¹ mzaraiski@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7605-4369>

² lobovgi@infran.ru. <https://orcid.org/0000-0003-3088-4647>

³ tazhim@list.ru. <https://orcid.org/000-0003-0188-5173>

⁴ marina_parastaeva@list.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4526-8671>

⁵ prof.kucher@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-5616-3488>

⁶ beresnevaolga@list.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7532-2405>

ABSTRACT

THE AIM: to evaluate the effect of a high-salt diet on the level of miRNA expression in urine and the mechanisms of endothelium-dependent vascular dilatation in rats. **MATERIALS AND METHODS:** 20 Wistar rats were divided into two equal groups. The high salt (HS) group received 8 % NaCl in the diet, the control (NS) received the standard diet (0.34 % NaCl). After 4 months, blood pressure (BP), left ventricular mass index (IMLV) were assessed in rats, and relative expression levels of miRNA-21, miRNA-133, and miRNA-203 were determined in urine. The reactivity of the rings of the aorta and the superior mesenteric artery (SMA) to acetylcholine (ACh) was assessed in vitro in isometric mode. **RESULTS:** there was no significant difference between the groups in terms of mean blood pressure ($p > 0.05$). However, in HS-rats an increase in IMLV was noted. The relative levels of expression of miRNA-21, miRNA-133, and miRNA-203 in the urine of rats fed a high-salt diet increased significantly as compared to the values of control animals. A high-salt diet resulted in a decrease in the reactivity of vascular segments precontracted with phenylephrine to ACh. A high-salt diet resulted in a decrease in the reactivity of vascular segments precontracted with phenylephrine to ACh. In the HS-group, the decrease in the amplitude of vasodilation under the action of ACh under conditions of blockade of NO-synthase (with the use of L-NIO) was less compared to the reaction in the absence of the blocker, than the NS-group: in the SMA of the HS group – by 45 %, NS group – by 69.4 %, in the aorta HS-group – by 49.4 %, NS-group – by 80.7 %. In contrast to the aorta, blockade of Ca^{2+} -sensitive K^{+} -channels in SMA (under the conditions of administration of tetraethylammonium, TRAM-34, or apamin) weakened ACh-induced relaxation, and in HS-rats, the decrease in vasodilation was more pronounced. **CONCLUSION:** consumption of a high-salt diet, without changing blood pressure, increases IMLV and the level of miRNA expression in the urine, and also reduces endothelium-dependent vascular relaxation, mediated, in particular, by impaired endothelial NO production, which is more pronounced in the aorta than in the SMA.

Keywords: high-salt diet, blood pressure, microRNA expression, aorta, superior mesenteric artery, endothelium

Grants: A fragment of the work on studying the level of microRNA expression in urine was supported by RFBR grant 19-015-00221 "Physiological mechanisms of adaptation of the cardiovascular system and kidneys to a high intake of sodium chloride with food in mammals of different species."

For citation: Zارايسي V.I., Lobov G.I., Ivanova G.T., Parastaeva M.M., Kucher A.G., Beresneva O.N. Changes in microRNA expression in the urine and endothelium-dependent regulation of vessel tone in Wistar rats received a high-salt diet. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2022;26(1):75-87 (In Russ.) doi: 10.24884/1561-6274-2022-26-1-75-87

ВВЕДЕНИЕ

Высокое потребление поваренной соли традиционно считают важным фактором роста артериального давления (АД). Показано, что длительное повышение поступления пищевого натрия на 1,0 г приводит к росту уровня артериального давления на 2,86 мм рт. ст. [1]. В то же время, ограничение соли в рационе ассоциируется со снижением как систолического, так и диастолического АД [2]. Помимо влияния на артериальное давление, избыточное содержание натрия в рационе связывают с нарастанием риска ишемической болезни сердца и инсульта [3, 4].

Однако взаимоотношения между содержанием натрия в диете, артериальной гипертензией (АГ) и повреждениями сердечно-сосудистой системы далеко не однозначны. Показано, что и существенное ограничение натрия в рационе может приводить к целому ряду негативных последствий [5], так как этот ион играет важную роль в регуляции многих физиологических процессов. Натрий обеспечивает поддержание осмотического давления, задержку воды в организме, участвует в процессах всасывания в кишечнике и реабсорбции в почках глюкозы и аминокислот, в активации некоторых ферментов. Он определяет величину мембранно-

го потенциала и возбудимость клеток, стимулирует АТФазную активность клеточных мембран, принимает участие в регуляции тонуса сосудов.

Следует отметить, что у значительной части людей и лабораторных животных рост АД на фоне высокосолевого рациона может не проявляться достаточно долго (феномен сольрезистентности). Результаты ряда наших предыдущих исследований также показали, что у крыс и яванских макаков высокое содержание хлорида натрия в рационе далеко не всегда ассоциируется с ростом АД. Причиной отсутствия повышения АД в таком случае, возможно, является способность почек значительно увеличивать экскрецию натрия [6, 7]. Однако даже в случаях отсутствия роста АД при высоком поступлении натрия с пищей в миокарде крыс отмечаются отчетливые проявления ремоделирования в виде гипертрофии и, преимущественно, периваскулярного фиброза [8, 9]. Это позволяет предполагать наличие механизма прямого воздействия хлорида натрия на мышцу сердца у крыс. Механизм реализуется за счет активации различных пролиферативных, профибротических и провоспалительных цитокинов, сигнальные пути которых в той или иной мере ассоциированы или 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 [10, 11].

Результаты исследований последних лет указывают на участие микроРНК в патогенезе многих заболеваний, в том числе коронарного атеросклероза [12]. Доказана роль микроРНК на всех этапах атерогенеза, включая эндотелиальную дисфункцию (микроРНК-23/27/24, микроРНК-130a, микроРНК-133 и др.), клеточную адгезию (микроРНК-27a/b, микроРНК-221 и др.), хроническое воспаление, активацию моноцитов в стенке сосудов (микроРНК-27a, микроРНК-203 и др.), образование липопротеинов (микроРНК-122, микроРНК-133a/b и др.), функцию гладкомышечных клеток (микроРНК-26, микроРНК-195 и др.). МикроРНК контролируют пролиферацию, дифференцировку, метаболизм и апоптоз клеток на посттранскрипционном уровне и могут оказывать как протективное, так и повреждающее воздействие [13, 14]. Не исключено и участие микроРНК в ремоделировании миокарда при высоком потреблении хлорида натрия. Однако среди большого числа известных молекул РНК есть ряд малоизученных последовательностей, к которым относится

и микроРНК-203. В настоящее время имеются единичные экспериментальные работы, посвященные роли микроРНК-203 в поражении сердца, выполненные на культурах кардиомиоцитов. Показано, что эта микроРНК контролирует гены, ответственные за развитие воспалительных процессов и механизмы фиброобразования миокарда. Описано также ее участие в онкогенезе [15, 16].

Следует отметить, что повышенное содержание натрия в диете приводит не только к ремоделированию миокарда, но и к изменению структуры сосудистой стенки (в частности, увеличению жесткости сосудов за счет активации синтеза коллагена) [17, 18] и развитию эндотелиальной дисфункции, проявляющейся, прежде всего, в снижении синтеза вазодилаторов, при этом усиливается констрикция сосуда и, как следствие, повышается его тонус [19–21]. Основными вазодилаторами, синтезируемыми эндотелием, являются оксид азота (NO), сосудорасширяющие простагландины (PG), в частности, простациклин (PGI₂), и эндотелиальный гиперполяризующий фактор (EDHF) [22]. Показано, что потребление высокосолевого рациона у крыс и мышей приводит к эндотелиальной дисфункции, которая часто проявляется снижением синтеза или биодоступности NO [23]. Однако мало изученным остается вопрос о функционировании механизма EDHF при высокосолевой нагрузке. Существует мнение, что механизм EDHF может компенсировать недостаток синтеза NO и выступать в роли вазодилаторного резерва при развитии эндотелиальной дисфункции [24, 25].

Таким образом, многие вопросы о конкретных путях воздействия высокого потребления натрия на состояние гемодинамики и ремоделирование сердца остаются открытыми, поскольку противоречивы представления о механизмах развития данного состояния [10, 26].

Целью настоящего исследования было оценить влияние высокосолевой диеты на уровень экспрессии микроРНК в моче, эндотелий-зависимую дилатацию изолированных сосудов (аорты и верхней брыжеечной артерии) у крыс Wistar и выявить роль отдельных механизмов вазодилатации (опосредованные NO, PGI₂ и эндотелиальной гиперполяризацией) в регуляции тонуса сосудов при длительном потреблении рациона с высоким содержанием поваренной соли.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самцах крыс стока Wistar с исходной массой 240–260 г, полу-

ченных из Центра коллективного пользования «Биоколлекция» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с принципами Базельской декларации при одобрении этической комиссии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН и этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Для проведения исследования 20 животных были случайным образом распределены на 2 равные группы. Крысы ежедневно получали сбалансированный лабораторный корм (28–30 г), различающийся лишь по содержанию хлорида натрия. В первой, высокосолевого (HS) группе, животные потребляли корм, содержащий 8% NaCl, во второй, контрольной группе (NS) – рацион, содержащий 0,34% NaCl. Доступ к воде был свободным. Температура в помещении составляла 20–22 °С. Световой режим контролировался автоматически: 12 ч свет/12 ч темнота. Длительность диетического воздействия составила 16 нед.

Перед окончанием эксперимента у животных собирали суточную мочу в метаболических камерах и отбирали образцы для последующего определения уровня экспрессии микроРНК. Также у бодрствующих крыс измеряли артериальное давление (АД) манжеточным методом на хвосте, используя электроманометр фирмы «ELEMA» (Швеция). Среднее трех последовательных измерений считали величиной АД.

После эвтаназии у животных извлекали сердце, выделяли левый желудочек (ЛЖ) и рассчитывали индекс массы миокарда левого желудочка (ИМЛЖ, мг/г) как отношение массы миокарда ЛЖ (мг) к массе крысы (г).

Определение относительного уровня экспрессии микроРНК в моче заключалось в выделении тотальной РНК с помощью фенольного реактива (Triagent-LS) и последующей ее экстракцией хлороформом. Реакцию обратной транскрипции (РОТ) для приготовления «копийной» ДНК (кДНК) проводили по технологии «Stem Loop» отдельно для исследуемых микроРНК с использованием следующих праймеров: микроРНК-21 – 5'-GTCTG TATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACT GGATACGACTCAAC -3', микроРНК-133 – 5'-GT CGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCA CTGGATACGACATTTGGT T-3', микроРНК-203 – 5'- GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTAT TCGCACTGGATACGACCTAGTG3' и U6 – 5'-GT CGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCA CTGGATACGACAAAAA TATG-3', которую рассматривали как ген сравнения. Полимераз-

ную цепную реакцию (ПЦР) проводили в присутствии интеркалирующего красителя EvaGreen для реализации протокола учета результатов в режиме реального времени на амплификаторе DTLite-4 (ДНК-Технология, Москва). В ПЦР использовали следующие праймеры: микроРНК-21 – 5'-GCCCCGCTAGCTTATCAGACTGATG-3', микроРНК-133 – 5'-GCCCCGAGCTGGTAAATGG AAC-3', микроРНК-203 – 5'- GCCGGTGA AATGTTTAGGACC-3' и U6 – 5'-GCGCGTCGTG AAGCGTTC-3', и общий обратный 5'-GTGCA GGGTCCGAGGT-3'. Реакционные смеси приготавливали отдельно для каждой кДНК. При расчетах применяли полуколичественную оценку уровня экспрессии микроРНК (в относительных единицах – ОЕ) по протоколу 2-ΔΔCt при лабораторном референте (0,09).

Для исследования эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса были выбраны сосуды двух типов – коллекторный (аорта) и сосуд распределения (верхняя брыжеечная артерия, ВБА). После эвтаназии у крыс выделяли участки данных сосудов длиной до 10 мм, которые после освобождения от соединительной и жировой ткани разрезали на кольцевые сегменты длиной 2 мм. Всего было подготовлено и исследовано более 80 сегментов: по 20 сосудистых колец из аорты и ВБА от крыс каждой серии. Полученные фрагменты сосудов до исследования хранили в холодильнике на льду в сатурированном газовой смесью (95% O₂ и 5% CO₂) изотоническом растворе NaCl. Оценка реактивности сосудистых сегментов проводили в изометрическом режиме, силу сокращений регистрировали датчиком силы FORT-10 (WPI, США), соединенным с блоком Labmaster (усилитель + аналогово-цифровой преобразователь, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, РФ) и компьютером. Первичную обработку данных осуществляли программой Labmaster и Microsoft Excel.

При проведении исследований сосудистое кольцо надевали на две титановые проволоки, размещенные в термостатируемой камере миографа, через которую непрерывно протекал подогретый до 37 °С сатурированный физиологический раствор (состав в mM: NaCl – 120.4; KCl – 5.9; CaCl₂ – 2.5; MgCl₂ – 1.2; NaH₂PO₄ – 1.2; NaHCO₃ – 15.5; глюкоза – 11.5, pH 7.4). После постановки сосудистый сегмент растягивали до пассивного напряжения 20 мН и оставляли на 30 мин для стабилизации напряжения покоя. Затем проводили тестирование сосудов по протоколу. Все используемые агенты вводили в протекающий через камеру миографа раствор. В статистику брали толь-

ко сосуды с сохранным эндотелием, т.е. те, которые отвечали дилатацией на ацетилхолин (ACh).

Оценку реактивности сосудов на ACh (acetylcholine chloride, 1×10^{-6} моль/л) проводили после предсокращения сосудистых сегментов PHE (phenylephrine hydrochloride, 1×10^{-5} M), амплитуду дилатации на ACh выражали в процентах от амплитуды констрикции данного сосудистого кольца на PHE. Для оценки механизмов эндотелийзависимой вазодилатации перед проведением теста на ACh кольца сосудов в течение 20 мин инкубировали с различными ингибиторами и блокаторами. Использовали ингибитор эндотелиальной NO-синтазы – L-N5-(1-Iminoethyl) ornithine, dihydrochloride (L-NIO, 10^{-5} M); ингибитор циклооксигеназы – диклофенак, diclofenac sodium salt (DF, 5×10^{-6} M); неспецифический блокатор K⁺-каналов – тетраэтиламмония хлорид, tetraethylammonium chloride (TEA, 10^{-3} M); блокатор Ca²⁺-активируемых K⁺-каналов промежуточной проводимости – TRAM-34 (10^{-5} M); блокатор Ca²⁺-активируемых K⁺-каналов малой проводимости – апамин (Ара, 10^{-6} M); ингибитор цистатионин-γ-лиазы – пропаргилглицин, DL-propargylcine (PPG, 10^{-4} M). Все химические вещества были приобретены у Sigma-Aldrich (США). ACh, PHE, L-NIO, TEA, PPG и Ара непосредственно перед экспериментами растворяли в дистиллированной воде, DF и TRAM-34 – в метаноле.

Статистическую обработку данных проводили с помощью Microsoft Excel и Stat-Soft STATISTICA 6.1.478. Результаты представлены в виде средних значений с их стандартной ошибкой ($M \pm SE$). Для выявления достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием общепринятых параметрических и непараметрических методов. Применяли стандартные методы описательной статистики. Методы описательной статистики включали в себя оценку среднего арифметического (M) и ошибки средней (SE). Статистическую значимость межгрупповых различий количественных переменных определяли с помощью дисперсионного анализа (ANOVA), критерия Манна–Уитни или Уилкоксона, бинарных переменных – с помощью χ^2 -критерия. Для оценки взаимосвязи двух переменных использовали корреляционный анализ с расчетом непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (R_s). Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии

различий и связей отвергали при $p < 0,05$. Для расчетов использовали пакет прикладных статистических программ «Statistica Ver. 6.1» («StatSoft, Inc.», США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследования показали, что достаточно длительное (4 мес) потребление рациона с высоким содержанием хлорида натрия не влияло на массу тела крыс (370 ± 32 г – в HS-группе, 393 ± 21 г – в группе NS, $p > 0,05$). В наших экспериментах так же не было выявлено значимого различия между группами по уровню систолического АД, при этом у животных, получавших высокосолевого рацион, отмечено увеличение ИМЛЖ (рис. 1).

Экспрессия микроРНК-21, микроРНК-133 и микроРНК-203 в моче крыс, получавших рацион с 8% содержанием хлорида натрия, существенно повышалась по сравнению с соответствующими показателями у контрольных животных (рис. 2). Так, относительный уровень экспрессии микроРНК-21 у крыс высокосолевого группы в среднем в 2,7 раза превышал показатель у контрольных животных, микроРНК-133 – в 2,4 раза, микроРНК-203 – в 1,5 раза.

Исследования эндотелийзависимой релаксации сосудов показали, что высокосолевого диета оказывает влияние и на реактивность сосудов. Так, величина ACh-индуцированной дилатации предсокращенных фенилэфрином сосудистых фрагментов в физиологических условиях (при отсутствии воздействия каких-либо блокаторов) была значимо меньше в высокосолевого группе по сравнению с контрольной (рис. 3, А), т.е. высокое потребление поваренной соли в течение длительного времени приводило к снижению реактивности как ВБА, так и аорты на ACh. Однако выраженность различий между группами зависела от типа сосуда. Амплитуда релаксации сегментов сосудов HS-группы по сравнению с контрольной NS-группой у ВБА была меньше на 18,5%, а у аорты – только на 5,9%.

Для определения эффективности NO-зависимого механизма вазодилатации в реакции предсокращенных сосудистых фрагментов на ACh была оценена амплитуда релаксации в условиях блокады синтеза NO (инкубирование сосудов в изотоническом растворе NaCl, содержащем L-NIO, блокатор NO-синтазы). Оказалось, что при выключении NO-зависимого пути введение ACh приводит к противоположной ситуации по сравнению с реакцией в изотоническом растворе NaCl (см. рис. 3, Б). В этом случае амплитуда релак-

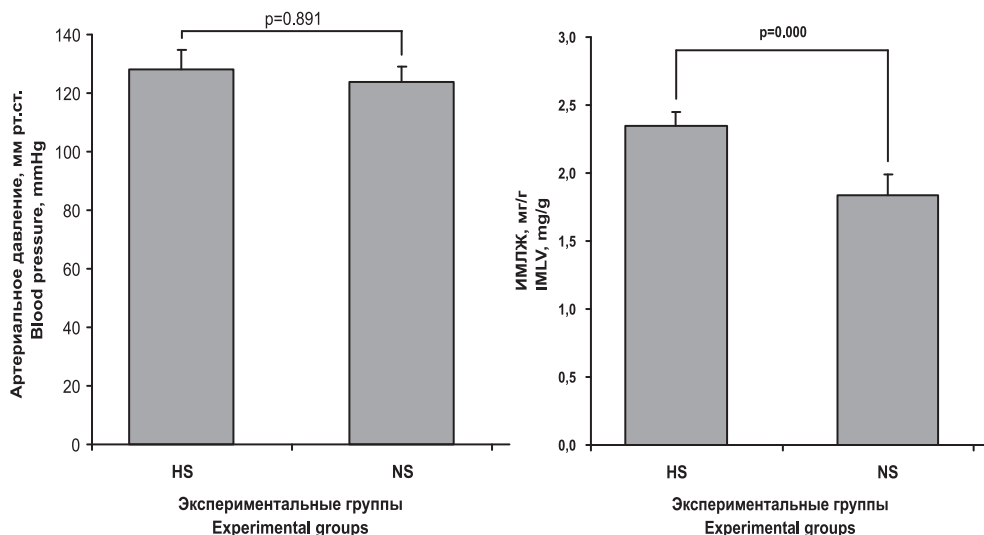


Рисунок 1. Артериальное давление и индекс массы левого желудочка крыс, получавших диету с высоким (HS, 8%) и нормальным (NS, 0.34 %) содержанием поваренной соли.
Figure 1. Blood pressure and left ventricular mass index of rats fed a diet with high (HS, 8%) and normal (NS, 0.34%) salt content.

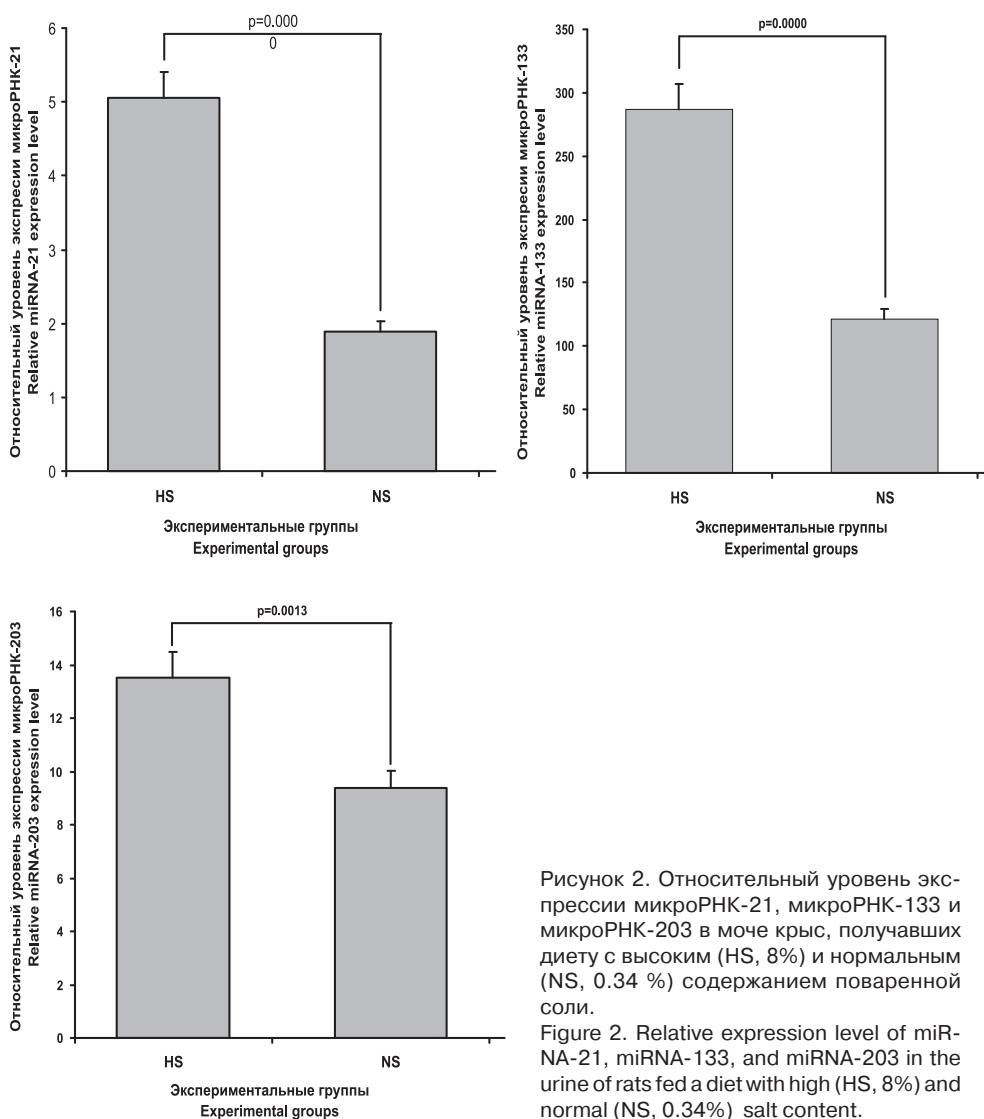


Рисунок 2. Относительный уровень экспрессии микроРНК-21, микроРНК-133 и микроРНК-203 в моче крыс, получавших диету с высоким (HS, 8%) и нормальным (NS, 0.34 %) содержанием поваренной соли.

Figure 2. Relative expression level of miRNA-21, miRNA-133, and miRNA-203 in the urine of rats fed a diet with high (HS, 8%) and normal (NS, 0.34%) salt content.

сации сегментов как ВБА, так и аорты оказалась значимо выше у HS-крыс по сравнению с контрольными. При этом у HS-группы амплитуда Ach-индуцированной дилатации ВБА была на 37,8%, а аорты – на 60% больше, чем в контроле. Сравнение величины релаксации сосудистых колец при воздействии Ach в физиологических условиях и при применении L-NIO показало, что блокада NO-синтазы приводит к снижению амплитуды дилатации, вызванной Ach: у ВБА высокосолевого группы – на 45%, контрольной – на 69,4%, у аорты высокосолевого группы – на 49,4%, контрольной – на 80,7%.

Для выявления роли простаноидов в регуляции сосудистого тонуса у крыс, получавших различную по содержанию хлорида натрия диету, была исследована Ach-индуцированная дилатация предсокращенных сосудистых фрагментов в условиях блокады циклооксигеназы диклофенаком (рис. 4, А). Оказалось, что блокада циклооксигеназы значимо не изменяет амплитуду вазодилатации на Ach при сохранении связанных с NO механизмов. Сочетанное применение

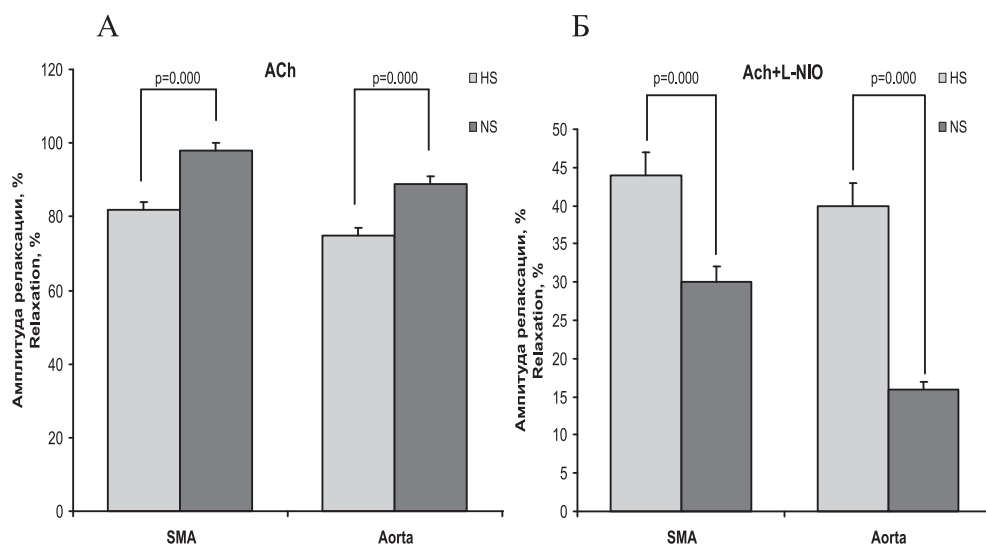


Рисунок 3. Влияние ацетилхолина (1×10^{-6} моль/л) в физиологических условиях (А) и условиях блокады синтеза NO (L-NIO, 1×10^{-4} моль/л) (Б) на тонус предварительно сокращенных фенилэфрином (1×10^{-5} моль/л) фрагментов аорты (Aorta) и верхней брыжеечной артерии (SMA) крыс, получавших диету с высоким (HS, 8%) и нормальным (NS, 0.34 %) содержанием поваренной соли. Figure 3. The effect of acetylcholine (1×10^{-6} mol/l) under physiological conditions (ACh) and under conditions of blockade of NO synthesis (L-NIO, 1×10^{-4} mol/l) (ACh+L-NIO), on the tone previously reduced by phenylephrine (1×10^{-5} mol/L) segments of the aorta (Aorta) and superior mesenteric artery (SMA) of rats fed a diet with high (HS, 8%) and normal (NS, 0.34%) salt content.

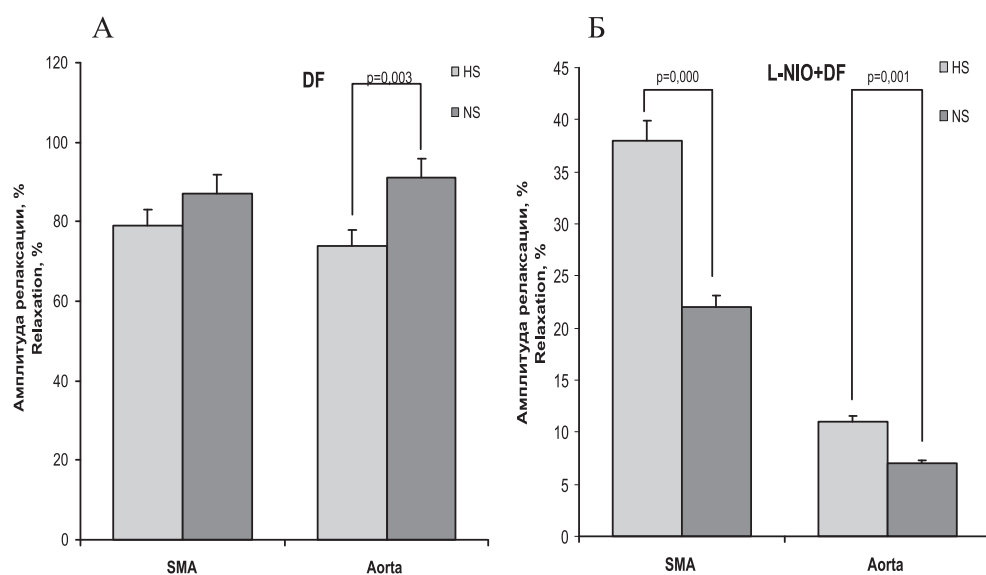


Рисунок 4. Влияние ацетилхолина (1×10^{-6} моль/л) на тонус предварительно сокращенных фенилэфрином (1×10^{-5} моль/л) фрагментов аорты и верхней брыжеечной артерии (SMA) в условиях блокады циклооксигеназы диклофенаком (DF, 5×10^{-6} моль/л) (А) и при сочетании блокады синтеза NO применением L-NIO (1×10^{-4} моль/л) и блокады циклооксигеназы диклофенаком (DF, 5×10^{-6} моль/л) (Б) у крыс, получавших диету с высоким (HS, 8%) и нормальным (NS, 0.34 %) содержанием поваренной соли. Figure 4. The effect of acetylcholine (1×10^{-6} mol/l) on the tone of previously contracted phenylephrine (1×10^{-5} mol/l), segments of the aorta and superior mesenteric artery (SMA) under conditions: DF - blockade of cyclooxygenase by diclofenac (DF, 5×10^{-6} mol/l); L-NIO + DF - with a combination of blockade of NO synthesis using L-NIO (1×10^{-4} mol/l), and blockade of cyclooxygenase with diclofenac (DF, 5×10^{-6} mol/l) in rats fed a diet with a high (HS, 8%) and normal (NS, 0.34%) salt content.

ние L-NIO и диклофенака снижает величину дилатации на ACh как при сравнении с применением только диклофенака, так и без использования блокаторов (см. рис. 4, Б). При этом амплитуда релаксации сегментов ВБА в условиях блокады

проводимости, практически не влияло на величину релаксации ВБА высокосолевого группы, но снижало на 10,2% амплитуду ВБА у контрольных животных (см. рис. 5, Б). Значимых изменений в реакции аорты на ACh при применении АРА не обнаружено.

NO-синтазы и циклооксигеназы по сравнению с таковой без применения блокаторов у крыс высокосолевого группы снижалась на 53,6%, контрольной – на 77,5%, сегментов аорты – на 85,3% у высокосолевых крыс и на 92,1% – у контрольных.

Для оценки роли эндотелиальной гиперполяризации в ACh-индуцированной вазодилатации у крыс, получавших различный по содержанию соли рацион, измеряли амплитуду дилатации на ACh после инкубации сосудистых фрагментов в течение 20 мин в изотоническом растворе, содержащем блокаторы K^+ -каналов различной проводимости (рис. 5). После применения неспецифического блокатора K^+ -каналов ТЭА амплитуда вызванной ACh дилатации сосудов высокосолевого группы значительно изменилась только у сегментов ВБА. Она оказалась на 11,3% меньше, чем в контроле (см. рис. 5, А). Применение АРА, блокатора Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов малой

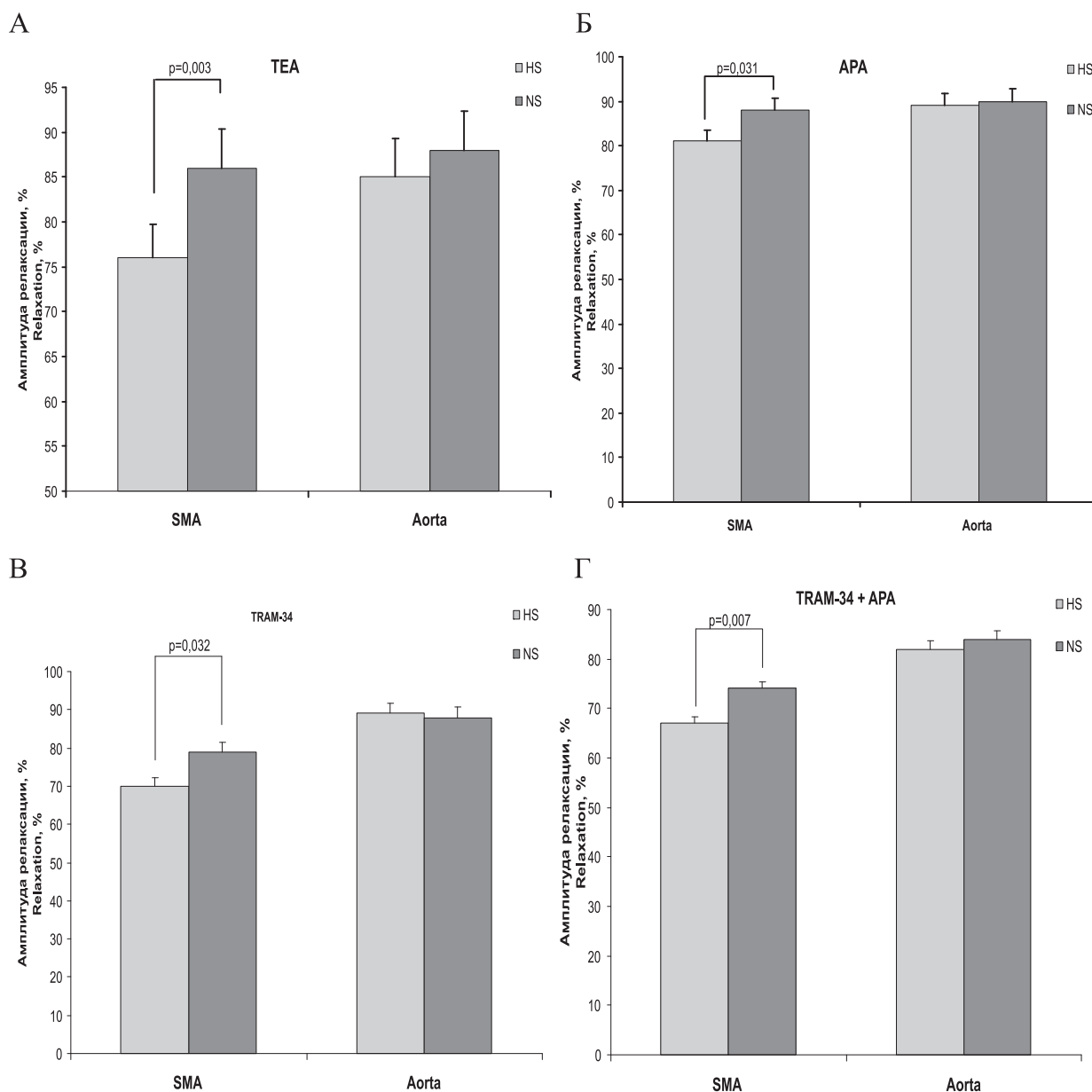


Рисунок 5. Влияние ацетилхолина (1×10^{-6} моль/л) на тонус предварительно сокращенных фенилэфрином (1×10^{-5} моль/л) фрагментов аорты и верхней брыжеечной артерии (SMA) у крыс, получавших диету с высоким (HS, 8%) и нормальным (NS, 0.34 %) содержанием поваренной соли в условиях: А – блокады K^+ -каналов (ТЭА, 1×10^{-6} моль/л); Б – блокады Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов малой проводимости (АРА, 1×10^{-6} моль/л); В – блокады Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов промежуточной проводимости TRAM-34 (1×10^{-6} моль/л); Г – блокады Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов промежуточной (TRAM-34, 1×10^{-6} моль/л) и малой проводимости (АРА, 1×10^{-6} моль/л).

Figure 5. The effect of acetylcholine (1×10^{-6} mol/L) on the tone of the aorta and superior mesenteric artery (SMA) segments previously contracted with phenylephrine (1×10^{-5} mol/L) in rats fed a diet with high (HS, 8%) and normal (NS, 0.34%) by the content of sodium chloride under the conditions: TEA – blockade of K^+ channels (TEA, 1×10^{-6} mol/L); APA – blockade of Ca^{2+} -activated K^+ channels of low conductivity (APA, 1×10^{-6} mol/L); TRAM-34 – blockade of Ca^{2+} -activated K^+ channels of intermediate conductivity TRAM-34 (1×10^{-6} mol/L); TRAM-34 + APA – blockade of Ca^{2+} -activated K^+ channels of intermediate (TRAM-34, 1×10^{-6} mol/L) and low conductivity (APA, 1×10^{-6} mol/L).

При инкубации сосудов с блокатором Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов промежуточной проводимости TRAM-34 амплитуда индуцированной ACh релаксации была на 11,2% меньше у крыс, получавших рацион с высоким содержанием соли, по сравнению с контрольными животными (см. рис. 5, В). При этом величина амплитуды сосудов ВБА у крыс высокосолевой группы

снизилась на 12,5%, и на 19,4% – у контрольной группы по сравнению с амплитудой без применения блокаторов. Значимых изменений амплитуды дилатации фрагментов аорты на ACh при применении TRAM-34 не отмечено ни в высоко-солевой, ни в контрольной группах. Совместное применение блокаторов АРА и TRAM-34 приводило к наиболее выраженному снижению ACh-

индуцированной вазодилатации у крыс исследуемых групп (см. рис. 5, Г). Так, ее снижение в условиях блокады Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов промежуточной и малой проводимости у фрагментов ВБА составляло 16,3% у высокосолевого и 24,5% – у контрольной групп по сравнению с дилатацией без применения блокаторов. Применение АРА и TRAM-34 не оказывало значимого влияния на вызванную ACh дилатацию сегментов аорты.

Таким образом, потребление рациона с высоким содержанием хлорида натрия в течение 16 нед приводит к снижению реактивности сосудов, которое частично может быть опосредовано нарушением NO-зависимого пути регуляции сосудистого тонуса. Наибольшую роль NO-зависимый механизм играет в дилатации аорты, в то время как в функционировании ВБА его роль несколько меньше. Можно предположить, что вклад отдельных механизмов вазорелаксации в общую реакцию сосудов на действие агонистов определяется типом сосуда, но может быть модифицирован составом получаемого рациона, в частности, повышением содержания в нем поваренной соли.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показало, что длительное (4 мес) потребление нормотензивными крысами стока Wistar рациона с высоким содержанием хлорида натрия не привело к существенному росту уровня среднего АД. Эти данные согласуются как с нашими предыдущими результатами, полученными на крысах различных генетических линий [6, 27, 28], так и с исследованиями других авторов [17]. Они могут служить подтверждением того, что феномен сольрезистентности свойствен как людям, так и млекопитающим других видов. В то же время, в нашем эксперименте значительное поступление натрия с рационом независимо от уровня АД ассоциируется с ростом индекса массы левого желудочка у крыс. Возможно, эти изменения миокарда связаны с эпигеномными механизмами, в частности, с активацией NFκB-ассоциированных сигнальных путей [6]. Однако их роль в ремоделировании миокарда в условиях высокосолевого рациона требует дальнейших исследований.

В нашей работе выявлен также рост уровня экспрессии исследуемых микроРНК (миРНК-21, -133 и -203) в моче у крыс на высокосолевого рациона по сравнению с контрольной группой. В последнее время получены данные о ключевой роли микроРНК в различных патофизиологических процессах. Показано, что некоторые микроРНК мо-

дулируют развитие фиброза в тканях. Одной из наиболее изученных является микроРНК-21, которая участвует в инициации и развитии почечного и миокардиального фиброзов. Не исключено, что и в условиях высокосолевого рациона микроРНК-21 также принимает участие в формировании фиброза и ремоделировании миокарда. Механизм ее действия связан с модуляцией сигнального пути TGF-β1/Smad [29]. Установлено также, что уровень микроРНК-21 повышается в моче у пациентов при дисфункции почек, а ингибирование микроРНК-21 приводит к заметному улучшению как структурной организации, так и функциональной способности почек. Полагают, что в будущем данная микроРНК может стать мишенью для антифибротической терапии [30, 31].

Кроме того, рацион с высоким содержанием хлорида натрия приводил к росту и уровней экспрессии микроРНК-133 и -203. О роли этих микроРНК известно меньше, чем о микроРНК-21. Полагают, что микроРНК-203 подавляет пролиферацию опухолей различных тканей [32]. В исследовании Q. He и соавт. (2017) было показано, что избыточное содержание микроРНК-203 в культуре кардиомиоцитов мыши (*in vitro*) снижает экспрессию генов TGF-β1, фактора роста соединительной ткани и фибронектина, которые участвуют в регуляции активности фибробластов миокарда в условиях ишемии. В то же время, при ингибировании экспрессии данной микроРНК наблюдалось повышение уровней TGF-β1 и фибронектина, потенцирующих развитие фиброза в миокарде [15]. В настоящее время установлено, что микроРНК-203 участвует в регуляции функций около 21 гена-мишени, среди которых можно выделить ген рецептора эндотелина типа А (активация этого типа рецепторов приводит к вазоконстрикции, клеточной пролиферации, гипертрофии сосудистой стенки), ген фактора некроза опухоли (влияет на липидный метаболизм, функцию эндотелия), ген фактора роста соединительной ткани (участвует в ангиогенезе, адгезии и миграции макрофагов), ряд генов интерлейкинов, принимающих участие в процессах хронического воспаления. Имеющиеся данные позволяют приписать микроРНК-203 определенные протекторные свойства, но проявляются ли они в условиях высокого потребления поваренной соли, остается неясным.

В отличие от микроРНК-203 микроРНК-133, прежде всего, связывают с участием в развитии нарушений кардиоваскулярной системы. Данная микроРНК специфически экспрессируется в сердце и выполняет регуляторную роль в эмбриональном

развитии, апоптозе и ремоделировании миокарда. Полагают, что миРНК-133 обладает антиапоптотическим действием [33]. Свои кардиопротективные свойства она проявляет, например, при остром инфаркте миокарда [34, 35]. Об эффектах миРНК-133 в отношении миокарда и почек при высокосолевой диете практически ничего не известно.

Наблюдаемое в наших экспериментах у крыс высокосолевой группы увеличение ИМЛЖ, а также повышение экспрессии микроРНК, указывающее на активизацию эпигеномных механизмов, способных привести к ремоделированию миокарда и сосудов, позволило предположить, что повышенное потребление поваренной соли окажет влияние и на реактивность сосудов. Это предположение подтверждают результаты исследований, показавших, что диета с высоким содержанием натрия влияет на функциональное состояние сосудов [19, 20], в частности, приводит к нарушению процессов расслабления ГМК. Поэтому была исследована реактивность сосудов ВБА и аорты посредством оценки Ach-индуцированной эндотелийзависимой вазодилатации. Дилататорное действие Ach опосредуется эндотелием, поскольку у денудированных сосудов отсутствует реакция на Ach [36]. В наших экспериментах выявлено значительное снижение реактивности сосудов ВБА и аорты на Ach у крыс, получавших высокосолевой рацион в течение 16 нед, причем выраженность этих изменений зависела от типа сосуда. Так, сегменты ВБА высокосолевых крыс имели амплитуду Ach-индуцированной дилатации на 18,5% меньше, чем контрольные, а аорты – только на 5,9%. Это может быть связано, в частности, с различиями строения и функций аорты и брыжеечной артерии, относящихся к сосудам различного типа [37].

Известно, что эндотелийзависимая вазодилатация, посредством которой реализуется воздействие Ach на сосудистый тонус, осуществляется несколькими путями. Для оценки участия конкретных механизмов в общей реакции сосуда на Ach было проведено исследование Ach-индуцированной дилатации сосудистых сегментов при отключении различных механизмов эндотелийзависимой вазодилатации.

В настоящее время основной механизм вазодилатации в физиологических условиях связывают с функционированием NO-зависимого пути. Синтез NO, одного из самых мощных вазодилаторов, осуществляется, в частности, посредством активации эндотелиальной NO-синтазы (eNOS)

[19, 38]. Для оценки вклада синтезируемого эндотелием NO была проведена предварительная инкубация сосудистых колец с L-NIO, селективным ингибитором eNOS. Эксперименты показали, что NO-связанный путь является ведущим в Ach-индуцированной дилатации исследованных сосудов. Блокада eNOS приводила к значительному снижению амплитуды дилатации при воздействии Ach как у ВБА, так и у аорты, однако вклад этого механизма зависел не только от получаемой крысами диеты, но и от типа сосуда. У контрольных животных NO-зависимый механизм обеспечивал до 80% величины дилатации аорты и только около 68% – у ВБА. Можно предположить, что расслабление аорты при воздействии Ach осуществляется, преимущественно, через синтез эндотелием NO, тогда как в дилатацию ВБА активно вовлечены и другие механизмы регуляции сосудистого тонуса. В условиях блокады eNOS у сосудов крыс, получавших 8% соли в рационе, также наблюдалось снижение амплитуды, вызванной Ach релаксации, по сравнению с исходной реакцией на Ach (при отсутствии блокаторов). Однако эффективность связанного с NO механизма вазодилатации у животных на высокосолевом рационе была снижена по сравнению с контрольной группой: NO-зависимый путь обеспечивал только 49,4% дилатации аорты и 42,5% – ВБА. Таким образом, потребление рациона с высоким содержанием хлорида натрия нарушает NO-зависимый механизм регуляции сосудистого тонуса, вызывая снижение продукции NO эндотелием, при этом функциональное состояние сосудов мышечного типа нарушается в большей степени, чем эластичного типа.

Учитывая, что блокада NO-зависимого механизма вазодилатации не приводит к полному прекращению ответа на воздействие Ach, очевидно, что и другие, не связанные с NO механизмы, играют определенную роль в осуществлении процесса расслабления ГМК. В качестве одного из таких механизмов рассматривают синтез эндотелием простагландинов, также являющихся мощными вазодилаторами [39]. Для выявления роли этого механизма в реакциях фрагментов сосудов на Ach использовали предварительную инкубацию сосудистых препаратов с ингибитором циклооксигеназы диклофенаком и блокатором NO-синтазы L-NIO. Степень вовлечения простагландинзависимого пути в Ach-индуцированную дилатацию пресокращенных фенилэфрином фрагментов аорты и ВБА у крыс зависела от содержания соли в рационе. Высокосолевая диета приводила

к усилению роли этого механизма в вазодилатации, тогда как у контрольных животных участие простаноидов в вызванной ACh дилатации было незначительным. Таким образом, при длительном потреблении диеты с высоким содержанием натрия происходит активизация синтеза простагландинов циклооксигеназой. Возможно, это частично компенсирует снижение реактивности сосудов в условиях уменьшения эффективности NO-зависимого пути, причем этот эффект более выражен в сосудах ВБА по сравнению с аортой. При нормальных физиологических условиях роль связанного с простагландинами пути дилатации как аорты, так и ВБА, незначительна.

Большое внимание в последнее время уделяют еще одному механизму реализации эндотелийзависимой вазодилатации – эндотелиальной гиперполяризации. Несмотря на то, что химическая природа этого процесса до конца не изучена [25], полагают, что механизм его действия опосредуется работой Ca^{2+} -чувствительных K^+ -каналов, открытие которых вызывает выход ионов K^+ из клеток, приводя к гиперполяризации мембран ГМК с последующим их расслаблением [40]. Поскольку существуют несколько типов Ca^{2+} -чувствительных K^+ -каналов, различающихся по проводимости, мы использовали блокаторы, имеющие специфичность к определенным типам каналов: тетраэтиламмоний – неспецифический блокатор K^+ -каналов, апамин – блокатор Ca^{2+} -чувствительных K^+ -каналов малой и TRAM-34 – промежуточной проводимости. Исследования показали, что эффективность данных механизмов в вазодилатации отличается у сосудов разных типов. Так, применение любого из блокаторов Ca^{2+} -чувствительных K^+ -каналов не вызывало изменения реактивности сегментов аорты на ACh. Однако в релаксации ВБА продемонстрировано участие эндотелиальной гиперполяризации. У сосудов данного типа при использовании блокаторов дилататорный ответ на воздействие ACh снижался, причем снижение было более выраженным у крыс, получавших высокосолевого рацион. Участие Ca^{2+} -чувствительных K^+ -каналов в дилататорных реакциях ВБА показаны и другими авторами [41, 42]. Однако настоящее исследование показало, что в условиях повышенного потребления поваренной соли роль данного механизма значительно повышается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследования позволяют полагать, что воздействие высокосоле-

вых рационов на сердечно-сосудистую систему и почки может опосредоваться эпигеномными механизмами, в частности, изменениями экспрессии микроРНК. Не исключено, что активация экспрессии микроРНК-21 в условиях высокого потребления соли в какой-то мере ответственна за повреждение почек. Представленные результаты могут также свидетельствовать о том, что организм нормотензивных крыс может достаточно длительное время эффективно противодействовать гипертензивному действию высокосолевого рациона, а изменения активности изученных микроРНК в моче в значительной мере независимы от роста АД. Кроме того, высокосолевая диета приводит к нарушению продукции эндотелием вазодилаторов в артериях различного типа: как в коллекторных сосудах (аорта), так и в артериях распределения (ВБА). Она также снижает эндотелий-зависимую релаксацию сосудов, опосредованную NO. Нарушение более выражено в аорте, чем в ВБА.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ REFERENCES

1. 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
2. Newberry SJ, Chung M, Anderson CAM et al. Rockville (MD): sodium and potassium intake: effects on chronic disease outcomes and risks [Internet]. *Agency for Healthcare Research and Quality (US)* 2018; Jun. Report No: 18-EHC009-EF
3. Rust P, Ekmekcioglu C. Impact of Salt Intake on the Pathogenesis and Treatment of Hypertension. *Adv Exp Med Biol* 2017;956: 61–84. doi: 10.1007/5584_2016_147
4. Markou ME, Maragkoudakis S, Anastasiou I et al. Salt-induced effects on microvascular function: A critical factor in hypertension mediated organ damage. *J Clin Hypertens* 2019; 21: 749–757. doi:10.1111/jch.13535
5. 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
6. 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. doi: 10.18705/1607-419X-2014-20-5-384-390
7. 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. (In Russ.) doi: 10.18705/1607-419X-2014-20-5-384-390
8. Куликов АН, Береснева ОН, Парастаева ММ и др. Влияние длительного потребления рациона с высоким содержанием хлорида натрия на сердечно-сосудистую систему яванских макаков (*Macaca fascicularis*). *Нефрология* 2020;24(6): 93–99. doi:10.36485/1561-6274-2020-24-6-93-99
9. Kulikov AN, Beresneva ON, Parastaeva MM et al. Effects of long-term high dietary sodium chloride intake on the cardiovascular system of cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2020;24(6):93–99. (In Russ.) doi:10.36485/1561-6274-2020-24-6-93-99
10. Каюков ИГ, Береснева ОН, Парастаева ММ и др. Протеины соли противодействуют ремоделированию сердца у

крыс Wistar, получающих рацион с высоким содержанием хлорида натрия. *Нефрология* 2019;23(6):92–99. <https://doi.org/10.36485/1561-6274-2019-236-92-99>

Kayukov IG, Beresneva ON, Parastayeva 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

9. Кучер АГ, Береснева ОН, Парастаева ММ и др. Высокое потребление соли, сердечно-сосудистая система и почки у спонтанно гипертензивных крыс. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция* 2017;16(3):62–69. doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-3-62-69

Kucher AG, Beresneva ON, Parastayeva MM et al. High salts intake, cardiovascular system and kidney in spontaneous hypertensive rats. *Regional blood circulation and microcirculation* 2017;16(3):62–69. (In Russ.) doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-3-62-69

10. 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

11. Pase MP, Grima NA, Sarris J. The effects of dietary and nutrient interventions on arterial stiffness: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2011;93(2):446–454. doi:10.3945/ajcn.110.002725

12. Chao Chen, Murugavel Ponnusamy, Cuiyun Liu et al. MicroRNA as a Therapeutic Target in Cardiac Remodeling. *BioMed Res Int* 2017;(3):1–25. doi: 10.1155/2017/1278436

13. Papageorgiou N, Tousoulis D, Charakida M et al. Prognostic role of miRNAs in coronary artery disease. *Curr Top Med Chem* 2013;13(13):1540–1547. doi: 10.2174/15680266113139990103

14. Mirzaei H, Ferns GA, Avan A, Mobarhan MG. Cytokines and MicroRNA in Coronary Artery Disease. *Adv Clin Chem* 2017;82:47–70. doi: 10.1016/bs.acc.2017.06.004

15. He Q, Wang C, Qin J et al. Effect of miR-203 expression on myocardial fibrosis. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2017;21(4):837–842

16. Zheng I, Jian X, Guo F et al. miR-203 inhibits arecoline-induced epithelial-mesenchymal transition by regulating secreted frizzled-related protein 4 and transmembrane-4 L six family member 1 in oral submucous fibrosis. *Oncol Rep* 2015;33(6):2753–2760. doi: 10.3892/or.2015.3909

17. 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):3168. doi:10.3390/ijms19103168

18. Guers JJ, Farquhar WB, Edwards DG, Lennon SL. Voluntary Wheel Running Attenuates Salt-Induced Vascular Stiffness Independent of Blood Pressure. *Am J Hypertens* 2019;32(12):1162–1169. doi: 10.1093/ajh/hpz128. PMID: 31401651

19. Boegehold MA. The effect of high salt intake on endothelial function: reduced vascular nitric oxide in the absence of hypertension. *J Vasc Res* 2013;50(6):458–467. doi: 10.1159/000355270

20. Zhu J, Mori T, Huang T, Lombard JH. Effect of high-salt diet on NO release and superoxide production in rat aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286(2):H575–83. doi: 10.1152/ajpheart.00331.2003

21. Li SC, Wang QH, Chen LF et al. High Sodium Intake Impairs Small Artery Vasoreactivity in vivo in Dahl Salt-Sensitive Rats. *J Vasc Res* 2019;56(2):65–76. doi: 10.1159/000498895

22. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: beyond eNOS. *J Pharmacol Sci* 2015;129(2): 83–94. doi: 10.1016/j.jphs.2015.09.002

23. Nurkiewicz TR, Boegehold MA. High salt intake reduces endothelium-dependent dilation of mouse arterioles via superoxide anion generated from nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292(4): R1550–R1556. doi: 10.1152/ajpregu.00703.2006

24. Lenda DM, Sauls BA, Boegehold MA. Reactive oxygen species may contribute to reduced endothelium-dependent dilation in rats fed high salt. *Amer J Physiol* 2000; 279(1): H7–H14. doi: 10.1152/ajpheart.2000.279.1.H7

25. Feletou M, Vanhoutte PM. EDHF: an update. *Clin Sci (Lond)*

2009;117(4):139–155. doi: 10.1042/CS20090096

26. Mohan S, Campbell NR. Salt and high blood pressure. *Clin Sci (Lond)* 2009;117(1): 1–11. doi: 10.1042/CS20080207

27. Парастаева ММ, Береснева ОН, Иванова ГТ и др. Артериальная гипертензия и потребление соли: вклад в ремоделирование сердца. *Нефрология* 2016;20(5):97–105

Parastayeva MM, Beresneva ON, Ivanova GT et al. Arterial hypertension and salt intake: contribution to cardiac remodeling. *Nephrology (Saint-Petersburg)*. 2016;20(5):97–105 (In Russ.)

28. Орлов СВ, Береснева ОН, Зарайский МИ и др. Изменения экспрессии микроРНК в моче яванских макак (Macaca fascicularis) при высоком потреблении поваренной соли. *Вопросы питания* 2021;90(4):94–102. doi:10.33029/0042-8833-2021-90-4-94-102

Orlov SV, Beresneva ON, Zaraisky MI et al. Urinary miRNA expression in cynomolgus macaques (Macaca fascicularis) fed high salt ration. *Voprosy pitaniia [Problem of Nutrition]* 2021;90(4):94–102. (In Russ.) doi:10.33029/0042-8833-2021-90-4-94-102

29. 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

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, Zarayski MI. Urinary microRNA-21 expression in nephropathies. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2014;18(6):59–63 (In Russ.)

31. Abdelghaffar S, Shora H, Abdelatty S et al. MicroRNAs and risk factors for diabetic nephropathy in egyptian children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2020;13:2485–2494. doi: 10.2147/DMSO.S247062

32. 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

33. Zong L, Wang W. MiRNA-203 suppresses cell proliferation, migration and invasion in colorectal cancer via targeting of EIF5A2. *Biomed Res Int* 2020; 2020:8590861. doi: 10.1155/2020/8590861

34. Sun B, Liu S, Hao R et al. RGD-PEG-PLA delivers MiR-133 to infarct lesions of acute myocardial infarction model rats for cardiac protection. *Pharmaceutics* 2020;12(6):575. doi: 10.3390/pharmaceutics12060575

35. 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

36. Иванова ГТ, Лобов ГИ. Эндотелийзависимая регуляция тонуса артерий у нефрэктомизированных крыс. *Журнал фундаментальной медицины и биологии* 2018;(3):9–17

Ivanova GT, Lobov GI. Endothelium-dependent regulation of artery tonus in nephrectomized rats. *Fundamental medicine and biology* 2018; (3):9–17 (in Russ.)

37. Sandoo A, van Zanten JJ, Metsios GS et al. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J* 2010;4:302–312. doi: 10.2174/1874192401004010302

38. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989;2(8670):997–1000. doi: 10.1016/s0140-6736(89)91013-1

39. Kido M, Ando K, Onozato ML et al. Protective effect of dietary potassium against vascular injury in salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 2008;51(2): 225–231. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.098251

40. Feletou M. Endothelium-Dependent Hyperpolarization and Endothelial Dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2016;67(5): 73–87. doi:10.1097/FJC.0000000000000346

41. Ando M, Matsumoto T, Kobayashi S et al. Differential participation of calcium-activated potassium channel in endothelium-dependent hyperpolarization type relaxation in superior mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2018;96(8):839–844. doi:10.1139/cjpp-2017-0557

42. Stankevicius E, Lopez-Valverde V, Rivera L et al. Combination of Ca^{2+} -activated K^+ channel blockers inhibits acetylcholine-evoked nitric oxide release in rat superior mesenteric artery. *Br J Pharmacol* 2006;149(5): 60–572. doi:10.1038/sj.bjp.0706886

Сведения об авторах:

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

Проф. Лобов Геннадий Иванович, д-р мед. наук
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем, заведующий лабораторией. Тел.: 8 (812) 328-07-01. E-mail: lobovgi@infran.ru. ORCID: 0000-0003-3088-4647

Иванова Галина Тажимовна, канд. биол. наук
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем, старший научный сотрудник. Тел.: 8 (812) 328-07-01, E-mail: tazhim@list.ru. ORCID: 0000-0003-0188-5173

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. 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, Научно-исследовательский институт нефрологии, научно-клинический исследовательский центр, заместитель директора. Тел.: +7(921)421-18-17; e-mail: prof.kucher@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5616-3488

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

About the authors:

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

Prof. Gennady I. Lobov, MD, PhD, DMedSci
Affiliations: 199034, Russia. Saint-Petersburg, Makarova Emb., 6, I. P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, laboratory of physiology of the cardiovascular and lymphatic systems. Head of Laboratory. Phone: 8 (812) 328-07-01, E-mail: lobovgi@infran.ru. ORCID: 0000-0003-3088-4647

Galina T. Ivanova, PhD
Affiliations: 199034, Russia. Saint-Petersburg, Makarova Emb., 6, I. P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, laboratory of physiology of the cardiovascular and lymphatic systems. Senior researcher. Phone: 8 (812) 328-07-01, E-mail: ivanovagt@infran.ru. ORCID: 0000-0003-0188-5173

Marina M. Parastaeva, PhD
Affiliations: 197022, Russia, St-Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University 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. Anatoly G. Kucher, MD, PhD, DMedSci
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Research and Clinical Research Center, Vice-Director. Phone: +7(921)421-18-17; e-mail: prof.kucher@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5616-3488

Olga N. Beresneva, PhD
Affiliations: 197022, Russia, St-Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University 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

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: all authors made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

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

Статья поступила в редакцию 25.08.2021;
одобрена после рецензирования 01.10.2021;
принята к публикации 01.02.2022.
The article was submitted 25.08.2021;
approved after reviewing 01.10.2021;
accepted for publication 01.02.2022.