

©Коллектив авторов

## ПРОТЕОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ПОЧЕК НОРМО- И ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕНАЛАЗНОГО ПЕПТИДА RP220 В КАЧЕСТВЕ АФФИННОГО ЛИГАНДА

*О.А. Бунеева\*, В.И. Федченко, С.А. Калошина, М.Г. Завьялова, В.Г. Згода, А.Е. Медведев*

Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,  
119121, Москва, Погодинская ул., 10; \*эл. почта: olbuneeva@gmail.com

Реналаза (RNLS) — недавно открытый белок, который играет важную роль в регуляции артериального давления, действуя внутри и снаружи клеток. Внутриклеточная RNLS — FAD-зависимая оксидоредуктаза, которая осуществляет окисление изомерных форм  $\beta$ -NAD(P)H. Внеклеточная реналаза, лишённая своего N-концевого пептида и кофактора FAD, проявляет различные защитные эффекты при помощи некаталитических механизмов. По данным ряда авторов, пептид RP220 (20-членный пептид, соответствующий аминокислотной последовательности RNLS 220–239) воспроизводит ряд некаталитических эффектов этого белка, действуя на рецепторные белки плазматической мембраны. Возможность взаимодействия этого пептида с внутриклеточными белками не изучена. С учётом известной роли RNLS как возможного антигипертензивного фактора, в данной работе осуществлено протеомное профилирование почек нормо- и гипертензивных крыс с использованием RP220 в качестве аффинного лиганда. Протеомная (полуколичественная) идентификация выявила изменения относительного содержания связавшихся с аффинным сорбентом около 200 индивидуальных белков почек гипертензивных крыс по сравнению с почками нормотензивных животных. При этом оказалось, что связавшиеся с RP220 белки, для которых обнаружено наиболее выраженное увеличение относительного содержания у гипертензивных животных по сравнению с нормотензивными, вовлечены в развитие сердечно-сосудистой патологии. Снижение связывания с RP220 белков почек гипертензивных животных отмечено для компонентов убиквитин-протеасомной системы, рибосом и цитоскелета.

**Ключевые слова:** реналаза; пептиды реналазы; артериальная гипертензия; крысы WKY и SHR; протеомное профилирование ткани почек

**DOI:** 10.18097/PBMC20247003145

### ВВЕДЕНИЕ

Реналаза (RNLS) — открытый в 2005 г. секреторный белок, который выполняет различные функции внутри и снаружи клеток [1–5]. Внутриклеточная RNLS проявляет свойства FAD-зависимой оксидоредуктазы (КФ 1.6.3.5), которая осуществляет окисление изомерных форм  $\beta$ -NAD(P)H, восстановленных по 2 или 6 положению никотинамидного кольца вместо метаболически активного 4 положения [5–7]. Внеклеточная RNLS, лишённая N-концевого сигнального пептида, необходимого для секреции этого белка во внеклеточное пространство, проявляет многочисленные регуляторные эффекты при помощи некаталитических механизмов, включающих рецепторные белки [8–11]. Вместе с тем, полученные нами данные свидетельствуют о том, что в крови интактная RNLS не детектируется [12], а рекомбинантная RNLS в плазме крови здоровых добровольцев подвергается протеолитическому процессингу [13]. Это свидетельствует в пользу того, что эффекты внеклеточной RNLS могут быть обусловлены пептидами, образующими в ходе протеолиза этого белка. Одним из наиболее интересных реналазных пептидов, привлекающих внимание исследователей, стал пептид RP220 (20-членный пептид, соответствующий аминокислотной последовательности RNLS 220–239) [10, 11]. Помимо влияния на выживаемость различных

клеток [11, 14], есть данные о том, что RP220 повышает жизнеспособность эпителиальных клеток роговицы человека после воздействия щелочи [15], а также снижает проявления волчаночного нефрита у мышей MRL/lpr (генетическая модель системной красной волчанки) [16].

Хотя ряд этих эффектов связывают с участием рецептора (или рецепторов) плазматических мембран, есть указания о том, что RP220 и рекомбинантная RNLS осуществляют быструю активацию внутриклеточных протеинкиназ [10]. С учётом этих данных, а также пока разрозненных данных о позитивном эффекте рекомбинантной RNLS при остром повреждении клеток (см. обзор [17]), по-видимому, назрел анализ потенциальных внутриклеточных мишеней как самой RNLS, так и её пептидов. Это особенно важно в связи с тем, что недавно проведенный протеомный анализ клеток HEK293T с использованием рекомбинантных белков RNLS1 и RNLS2 в качестве аффинных лигандов [18] показал полное их несовпадение.

Целью настоящей работы было протеомное профилирование ткани почек нормотензивных крыс Wistar Kyoto (WKY) и крыс со спонтанной гипертензией SHR (spontaneously hypertensive rats), полученных на основе WKY, с использованием реналазного пептида RP220 в качестве аффинного лиганда.

## МЕТОДИКА

### Реактивы

В работе использовали: бромциан-активированную сефарозу 4В, гидрокарбонат аммония, дитиотреитол, мочевины, гуанидин гидрохлорид, хлористый натрий, тритон X-100, 4-винилпиридин, Кумасси бриллиантовый синий G-250 (“Merck”, США); муравьиную кислоту, ацетат натрия, борную кислоту, тетраборат натрия, гидроксид натрия (“Acros Organics”, США), ацетонитрил (“Fisher Chemical”, Великобритания); изопропанол, трифторуксусную кислоту (“Fluka”, США); трис-(2-карбоксиэтил)-фосфин (“Pierce”, США); модифицированный трипсин (mass spectrometry grade, “Promega”, США). Двадцатичленный пептид RP220, аминокислотная последовательность которого соответствует фрагменту реназы человека 220–239 (CIRFVSIDNKKRNIESSEIG), был синтезирован в фирме “БелкиАнтитела” (Россия). Чистота этого пептида составляла 98%. Остальные реактивы были отечественного производства максимально доступной чистоты.

### Экспериментальные животные

В экспериментах использовали 14-недельных крыс-самцов линии WKY (n=6; артериальное давление 110–120 мм рт. ст.) и SHR (n=5; артериальное давление 180+ мм рт. ст.), полученных из питомника лабораторных животных Пущино (филиал Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук). Животных декапитировали под лёгким эфирным наркозом, быстро удаляли почки, которые немедленно замораживали и хранили до исследования при температуре -70°C.

### Получение лизатов гомогенатов почек крыс

Ткань почек гомогенизировали при помощи гомогенизатора Heidolph SilentCrusher (50000 оборотов в минуту) в 0,05 М калий-фосфатном буфере (pH 7,4)

до конечной концентрации 30 мг/мл. Для оценки относительных количественных изменений содержания белков при подготовке проб использовали одинаковое количество общего белка, которое контролировали с помощью метода Бредфорда [19]. После инкубации в присутствии 3% Тритона X-100 (4°C, 1 ч) лизаты разводили в 3 раза тем же буфером и центрифугировали 30 мин при 16000 g для получения осветлённой надосадочной жидкости.

*Аффинная хроматография белков почек крыс с использованием пептида реназы RP220, иммобилизованного на бромциан-активированной сефарозе 4В*

Подготовку аффинного сорбента и аффинную хроматографию проводили согласно [20].

*Идентификация и сравнение относительного содержания связавшихся с иммобилизованным пептидом реназы RP220 белков крыс линии WKY и SHR*

Подготовку проб для масс-спектрометрического анализа (экстракцию белков, алкилирование и трипсинолиз) осуществляли, как описано ранее [21]. Масс-спектрометрический анализ проводили с использованием оборудования центра коллективного пользования “Протеом человека”, Институт биомедицинской химии (ИБМХ). Условия масс-спектрометрического анализа и биоинформатической обработки данных подробно приведены в [22, 23].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Протеомный анализ показал достоверные изменения относительного содержания большого количества связавшихся с пептидом реназы RP220 белков почек нормотензивных (WKY) и гипертензивных (SHR) животных (таблицы S1 и S2. Дополнительные материалы, таблицы 1 и 2, рисунки 1 и 2). При этом нами было учтено

Таблица 1. Связавшиеся с пептидом RP220 белки почек крысы, относительное содержание которых увеличивается у гипертонических животных по сравнению с контрольными в 9 и более раз

№	Номер в базе Uniprot	Ген по Uniprot	Название белка по Uniprot	Функции	Локализация	-LOG(P-значение)	Кратное увеличение	Роль при сердечно-сосудистой патологии
1	O35331	<i>Pdxk</i>	Pyridoxal kinase	3	C	1,761	10,126	[24]
2	O70351	<i>Hsd17b10</i>	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	7	Mch	4,770	51,732	[25, 26]
3	Q66HT1	<i>Aldob</i>	Fructose-bisphosphate aldolase B	1	C	2,640	45,664	[27, 28]
4	P02761	<i>Mup</i>	Major urinary protein	3	C, S	2,074	19,427	[29]
5	Q6LDS4	<i>Sod1</i>	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	4	C, N	3,504	16,621	[30, 31]
6	P08461	<i>Dlat</i>	Dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex, mitochondrial	1	Mch	2,527	43,622	[32–34]
7	P09034	<i>Ass1</i>	Argininosuccinate synthase	6	C	4,856	12,193	[35]

Таблица 1. Связавшиеся с пептидом RP220 белки почек крысы, относительное содержание которых увеличивается у гипертонических животных по сравнению с контрольными в 9 и более раз (продолжение)

№	Номер в базе Uniprot	Ген по Uniprot	Название белка по Uniprot	Функции	Локализация	-LOG(P-значение)	Кратное увеличение	Роль при сердечно-сосудистой патологии
8	P14408	<i>Fh</i>	Fumarate hydratase, mitochondrial	1	C, N	2,732	25,386	[36, 37]
9	P14604	<i>Echs1</i>	Enoyl-CoA hydratase, mitochondrial	7	Mch	2,590	44,323	[38]
10	P19112	<i>Fbp1</i>	Fructose-1,6-bisphosphatase 1	1	C	4,084	159,786	[39]
11	P21533	<i>Rpl6</i>	60S ribosomal protein L6	5	C, ER	2,095	10,585	[40, 41]
12	P62718	<i>Rpl18a</i>	60S ribosomal protein L18a	5	C	2,184	9,815	[40, 41]
13	P98158	<i>Lrp2</i>	Low-density lipoprotein receptor-related protein 2	3	PM, ER, M	3,085	117,621	[42–44]
14	G3V6P2	<i>Dlst</i>	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial	1	Mch	3,482	21,377	[33, 34, 45, 46]
15	G3V7J0	<i>Aldh6a1</i>	Aldehyde dehydrogenase 6 family, member A1	4	C	3,150	9,952	—
16	Q07523	<i>Hao2</i>	2-Hydroxyacid oxidase 2	7	Per	3,387	202,390	[47]
17	Q64057	<i>Aldh7a1</i>	Alpha-aminoacidic semialdehyde dehydrogenase	4	C, N, Mch	3,047	32,334	—
18	Q64428	<i>Hadha</i>	Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	7	Mch	3,115	13,832	[48]
19	Q60587	<i>Hadhb</i>	Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial	7	Mch	4,465	9,666	[49]
20	Q68FP1	<i>Gsn</i>	Gelsolin	2	C, S	2,631	9,279	[50, 51]
21	Q6AYS7	<i>Acy1a</i>	Aminoacylase-1A	6	C	4,640	208,225	[52, 53]
22	Q6AYT0	<i>Cryz</i>	Quinone oxidoreductase	1	C	2,930	29,712	[54, 55]
23	Q6IRK9	<i>Cpq</i>	Carboxypeptidase Q	6	ER, G, L	3,608	43,865	—
24	Q7M0E	<i>Dstm</i>	Destrin	2	C	3,047	32,334	[56, 57]
25	Q7TPB1	<i>Cct4</i>	T-complex protein 1 subunit delta	4	C	3,115	13,832	[58]
26	Q63716	<i>Prdx1</i>	Peroxiredoxin-1	4	C	6,248	10,140	[59–62]
27	P35704	<i>Prdx2</i>	Peroxiredoxin-2	4	C	2,649	8,907	[59, 63]
28	A0A0G2JSS8	<i>Prdx5</i>	Peroxiredoxin-5	4	C	4,640	208,225	[59]
29	Q9WUW9	<i>Sult1c2a</i>	Sulfotransferase 1C2A	3	C, L	2,930	29,712	[60]
30	F1LMC7	<i>Septin7</i>	Septin 7	3	C, N	3,608	43,865	[64]
31	F7FKI5	<i>Pdha1</i>	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha	1	Mch	3,738	21,288	[32, 65]
32	A6JVU7	<i>Vil1</i>	Vil1 protein	2	C	4,858	144,407	[66]
33	D4A830	<i>Ppa2</i>	Inorganic diphosphatase	3	C, Mch	6,498	141,828	[67, 68]
34	F1LR02	<i>Col18a1</i>	Collagen type XVIII alpha 1 chain	2	PM	6,010	9,917	[69]
35	G3V8T4	<i>Ddb1</i>	DNA damage-binding protein 1	5	N	2,020	16,111	[70, 71]

Примечание. Здесь и в таблице 2 цифры в колонке “функции” обозначают следующие функциональные группы белков: 1. Белки/ферменты, участвующие в процессах генерации энергии и углеводного обмена. 2. Белки, участвующие в образовании цитоскелета, транспорте и экзоцитозе. 3. Белки, участвующие в передаче сигнала и регуляции активности ферментов. 4. Антиоксидантные и защитные белки/ферменты. 5. Белки-регуляторы экспрессии генов, клеточного деления и дифференцировки. 6. Ферменты, участвующие в метаболизме белков, аминокислот и других азотистых соединений. 7. Ферменты, участвующие в метаболизме липидов. Локализация белков: C – цитоплазма, N – ядро, M – мембраны, PM – плазматическая мембрана, Mch – митохондрии, Mi – микросомы, Me – меланосомы, ER – эндоплазматический ретикулум, G – комплекс Гольджи, L – лизосомы, Ve – везикулы, Per – пероксисомы, S – секретируемые белки.

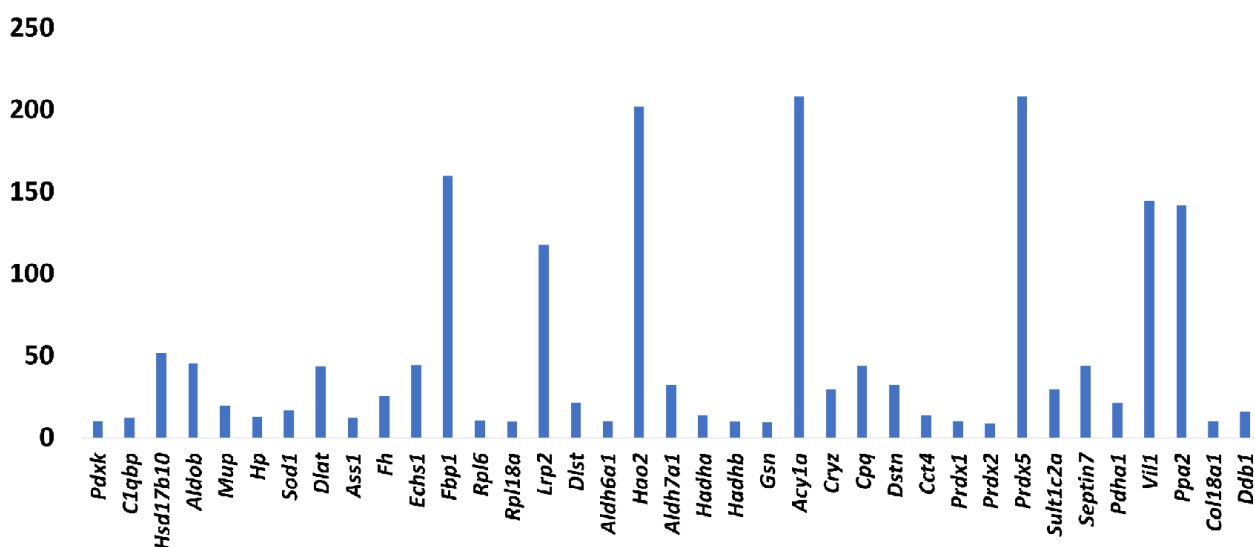
## ПРОФИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ПОЧЕК, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С ПЕПТИДОМ RP220

Таблица 2. Связавшиеся с пептидом RP220 белки почек крысы, относительное содержание которых уменьшается у гипертоических животных по сравнению с контрольными в 4 и более раз

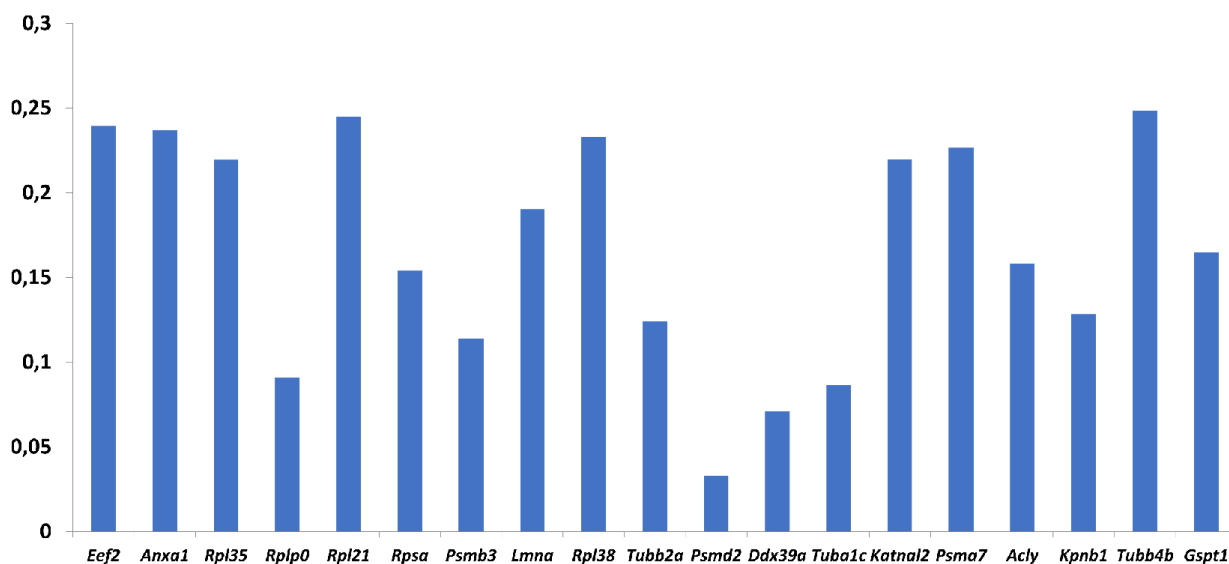
№	Номер в базе Uniprot	Ген по Uniprot	Название белка по Uniprot	Функции	Локализация	-LOG(P-значение)	Кратное уменьшение	Роль при сердечно-сосудистой патологии
1	P05197	<i>Eef2</i>	Elongation factor 2	5	C, N	4,039	0,239	[72]
2	P07150	<i>Anxa1</i>	Annexin A1	2	PM, C	1,907	0,237	[73]
3	P17078	<i>Rpl35</i>	60S ribosomal protein L35	5	C	1,313	0,219	[40, 41]
4	P19945	<i>Rplp0</i>	60S acidic ribosomal protein P0	5	C, N	2,273	0,091	[40, 41]
5	P20280	<i>Rpl21</i>	60S ribosomal protein L21	5	C, ER	1,188	0,245	[40, 41]
6	P38983	<i>Rpsa</i>	40S ribosomal protein SA	5	PM, M, N, C	2,343	0,154	[40, 41]
7	P40112	<i>Psmb3</i>	Proteasome subunit beta type-3	6	C, N	2,171	0,113	[74–76]
8	P48679	<i>Lmna</i>	Prelamin-A/C	2	N	2,922	0,190	[77]
9	P63174	<i>Rpl38</i>	60S ribosomal protein L38	5	C	1,452	0,233	[40, 41]
10	P85108	<i>Tubb2a</i>	Tubulin beta-2A chain	2	C, Mch	2,128	0,124	[78]
11	Q4FZT9	<i>Psmd2</i>	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2	6	C, N	1,788	0,032	[74–76]
12	Q5U216	<i>Ddx39a</i>	ATP-dependent RNA helicase DDX39A	5	C, N	1,354	0,071	[79]
13	A0A0H2UHM7	<i>Tuba1c</i>	Tubulin alpha chain	2	C	3,962	0,086	[78]
14	F1M5A4	<i>Katnal2</i>	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2	2	C	2,449	0,219	[78]
15	P48004	<i>Psm7</i>	Proteasome subunit alpha type-7	6	C, N	3,111	0,226	[74–76]
16	G3V9G4	<i>Acly</i>	ATP-citrate synthase	1	C	2,156	0,158	[80]
17	P52296	<i>Kpnbl</i>	Importin subunit beta-1	3	C, N	3,573	0,128	—
18	G3V7C6	<i>Tubb4b</i>	Tubulin beta chain	2	C	4,010	0,248	[78]
19	Q6AYD5	<i>Gspt1</i>	G1 to S phase transition protein 1	5	N, C	2,179	0,164	—
20	Q6P3V8	<i>Eif4a1</i>	ATP-dependent RNA helicase	5	C	3,053	0,239	[79]

Таблица 3. Распределение связавшихся с пептидом RP220 белков почек крысы, относительное содержание которых значимо и достоверно меняется у гипертензивных животных, по функциям

Функции	Увеличение относительного содержания	Уменьшение относительного содержания
Генерация энергии и углеводный обмен	7	1
Цитоскелет, транспорт и экзоцитоз	4	6
Передача сигнала и регуляция активности ферментов	6	1
Антиоксидантные и защитные свойства	7	—
Регуляция экспрессии генов, клеточного деления и дифференцировки	3	9
Метаболизм белков, аминокислот и других азотистых соединений	3	3
Метаболизм липидов	5	—
Всего	35	20



**Рисунок 1.** Связавшиеся с пептидом RP220 белки почек гипертонических крыс, относительное содержание которых увеличивается по сравнению с контрольными животными (обозначены гены белков, изменение относительного содержания которых наиболее выражено).



**Рисунок 2.** Связавшиеся с пептидом RP220 белки почек гипертонических крыс, относительное содержание которых уменьшается по сравнению с контрольными животными (обозначены гены белков, изменение относительного содержания которых наиболее выражено).

изменение относительного содержания белков в почках SHR по сравнению с нормотензивными крысами [23]. Например, относительное содержание супероксиддисмутазы [Cu-Zn] в почках гипертонических крыс увеличено по сравнению с таковым у контрольных животных менее чем в 7 раз, в то время как для этого фермента почек SHR, связавшегося с пептидом RP220, соответствующий показатель увеличен более чем в 16 раз по сравнению с ферментом почек WKY крыс. Аналогично — для липоилдегидрогеназного компонента пируватдегидрогеназного и 2-оксоглутарат-дегидрогеназного комплексов (увеличение в почках SHR крыс относительного содержания этого фермента в том и в другом случае в 3 раза по сравнению с нормой, а в случае связывания с пептидом RP220 — увеличение более, чем в 43 раза и более, чем в 21 раз,

соответственно). Для связавшейся с пептидом RP220 сульфотрансферазы 1C2A, относительное содержание которой в случае гипертонических крыс превосходит таковое у контрольных животных почти в 30 раз [23], наоборот, показано сниженное в 2 раза содержание в почках SHR крыс по сравнению с нормой.

Для 98 белков у SHR крыс наблюдалось увеличение, а для 90 белков — уменьшение относительного содержания белков, относящихся к различным функциональным группам, связавшихся с пептидом RP220 (соответственно таблицы S1 и S2 Дополнительных материалов). Связавшиеся с пептидом RP220 белки, изменение относительного содержания которых наиболее выражено у гипертонических крыс по сравнению с контрольными животными, приведены в таблицах 1 и 2 и на рисунках 1 и 2.

Увеличение относительного содержания в 9 и более раз показано для 35 белков. Почти все они ассоциированы с гипертензией и/или сердечно-сосудистой патологией (табл. 1). Как видно из таблицы 3, в которой показано распределение связавшихся с пептидом RP220 белков по функциям, большое их количество (7) относится к ферментам, участвующим в процессах генерации энергии и углеводного обмена. Это гликолитический фермент фруктозобисфосфат-альдолаза В [27, 28], ферменты цикла Кребса: фумаратгидратаза [36, 37], дигидролипоилдегидрогеназный компонент пируватдегидрогеназного [32–34] и 2-оксоглутарат-дегидрогеназного митохондриальных ферментных комплексов [33, 34, 45, 46], альфа субъединица E1 компонента пируватдегидрогеназного комплекса [32, 65], мультиферментный комплекс дыхательной цепи NADH-убихинон-оксидоредуктаза [54, 55], — а также ключевой фермент глюконеогенеза фруктозо-1,6-бисфосфатаза 1 [39].

Такое же, как и у ферментов углеводного обмена, количество связавшихся с пептидом RP220 белков (7), чьё относительное содержание существенно увеличивается у гипертензивных крыс, мы наблюдали у группы защитных и антиоксидантных белков. К ним относятся пероксиредоксины 1, 2 и 5 [59–63], компонент шаперонин-содержащего Т-комплекса, регулирующего фолдинг белков, супероксиддисмутаза [Cu-Zn] [30, 31], альдегиддегидрогеназа, а также мультифункциональный фермент альфа-аминоадипинат-семиальдегиддегидрогеназа.

Большую группу (6) среди связавшихся с пептидом RP220 белков, относительное содержание которых больше у SHR, составляют и белки, участвующие в передаче сигнала и регуляции активности ферментов. Среди них пиридоксалькиназа [24], основной белок мочи [29], белок, относящийся к семейству рецепторов липопротеинов низкой плотности [42–44], сульфотрансфераза 1C2A [60], септин 7 [64] и неорганическая дифосфатаза [67, 68].

Значимо увеличивается у SHR относительное содержание связавшихся с пептидом RP220 пяти ферментов липидного обмена: 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы 2 типа [25, 26], митохондриальной еноил КоА гидратазы [38], пероксисомной гликолатоксидазы [47], альфа и бета субъединиц митохондриального трифункционального фермента [48, 49].

На долю белков цитоскелета, транспорта и экзоцитоза, белков регуляции экспрессии генов, клеточного деления и дифференцировки и ферментов метаболизма белков, аминокислот и других азотистых соединений приходится соответственно 4, 3 и 3 белка (табл. 1 и 3).

Как видно из приведённых в таблице 1 данных литературы, все эти белки так или иначе связаны с сердечно-сосудистой патологией. Так, например, протеомные исследования модели гипертензии у животных с использованием крыс, чувствительных к соли (SS (salt-sensitive) rats), выявили существенное увеличение содержания

у этих животных метаболитов цикла Кребса и гликолиза и соответствующее уменьшение активности ферментов этих процессов [45].

Известна роль оксидативного стресса в развитии сердечно-сосудистой патологии. Антиоксидантные ферменты, такие, как супероксиддисмутаза, пероксиредоксины и другие, поддерживают баланс активных форм кислорода в организме, препятствуя их резкому увеличению в патогенезе этого заболевания. Было показано, что активность супероксиддисмутазы Cu/Zn (поглотителя активных форм кислорода) у крыс SHR на диете, обеднённой цинком, была существенно ниже, чем в случае стандартной диеты, что коррелировало с высокими показателями артериального давления [30, 31]. Пероксиредоксины 1 и 2 играют существенную роль в предотвращении атеросклероза, миокардита, тромбообразования, что позволяет рассматривать эти белки в качестве мишеней для терапевтических стратегий при лечении сердечно-сосудистых заболеваний [59–63]. Менее изучена роль пероксиредоксина 5 в патогенезе этих нарушений [59], однако, наши результаты свидетельствуют о том, что увеличение относительного содержания в почках SHR крыс этого белка, связавшегося с пептидом RP220, по сравнению с контрольными животными, на порядок превышает увеличение содержания пероксиредоксинов 1 и 2 (табл. 1, рис. 1).

Из регуляторных белков у SHR животных наиболее значительное увеличение связавшегося с пептидом RP220 количества по сравнению с нормой наблюдалось у белка, относящегося к семейству рецепторов липопротеинов низкой плотности, и у неорганической дифосфатазы. Семейство рецепторов липопротеинов низкой плотности активно изучается в контексте атеросклероза, заболеваний почек и лёгочной гипертензии. Эти белки участвуют не только в регуляции липидного обмена, но и во многих клеточных процессах, взаимодействуя с различными лигандами и рецепторами [42–44]. Что касается неорганической дифосфатазы, широко известна роль фосфата в развитии гипертензии [68]. В то же время, известно, что мутации кодируемой ядерной ДНК митохондриальной неорганической дифосфатазы ассоциированы с кардиомиопатией, приводящей к ранней смерти [67].

Относительное содержание связавшегося с пептидом RP220 животных группы SHR фермента липидного обмена гликолатоксидазы (оксидазы L-2-гидроксикислот) показало одно из наибольших отличий от такового у контрольной группы животных. Этот пероксисомный фермент преимущественно экспрессируется в печени и почках. Ген оксидазы L-2-гидроксикислот недавно идентифицирован как локус количественного признака артериального давления; на моделях гипертензии у животных исследуются селективные ингибиторы этого фермента с целью разработки соответствующих терапевтических стратегий [47].

Среди связавшихся с пептидом RP220 животных группы SHR белков, относительное содержание которых значительно и достоверно уменьшается

по сравнению с таковым у контрольных животных, преобладают ферменты синтеза и деградации белков и компоненты цитоскелета (табл. 2, рис. 2). Это рибосомные и протеасомные субъединицы, фактор элонгации eEF2, компоненты микротрубочек и связанных с ними белков.

Для ряда рибосомных белков грызунов и человека показана связь нарушения их экспрессии с регуляцией роста клеток гладкой мускулатуры и, как следствие, с сердечно-сосудистой патологией [40, 41]. Связан с сердечно-сосудистыми нарушениями и фактор элонгации eEF2, белок, определяющий движение рибосом по мРНК от одного кодона к другому в процессе трансляции. Известно, что протеинкиназа, фосфорилирующая фактор элонгации, которая ингибируется своим собственным субстратом и регулирует таким образом его активность, ассоциирована с атеросклерозом и лёгочной гипертензией [72].

Убиквитин-протеасомная система (UPS) поддерживает динамическое равновесие белков в клетке, контролируя многие биологические процессы и взаимодействуя с целым рядом белков, образующих протеасомные протеомы [81–84]. Ряд работ, посвящённых UPS, касается регуляции работы протеасом в контексте окислительного стресса [85–87]. Нарушение функции UPS показано при сердечно-сосудистых заболеваниях: гипертрофической кардиомиопатии [74], лёгочной гипертензии [75]. Рассматривается роль регуляторов протеасом в фармакотерапии сердечно-сосудистых нарушений [76]. Неудивительно поэтому, что у животных группы SHR среди взаимодействующих с пептидом реналазы RP220 белков, относительное содержание которых меньше по сравнению с таковым у контрольных животных, были найдены субъединицы каталитической и регуляторной протеасомных субчастиц (табл. 2, рис. 2).

Ещё одна группа взаимодействующих с пептидом реналазы RP220 белков SHR с уменьшающимся относительным содержанием по сравнению с контролем, — белки микротрубочек и связанные с ними: альфа- и бета-цепи тубулина, аннексин, катанин, преламин (табл. 2, рис. 2). Ряд исследований демонстрирует роль нарушения функции микротрубочек и взаимодействующих с ними компонентов цитоскелета в развитии сердечно-сосудистой патологии [73, 76, 78].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что, помимо внутриклеточных протеинкиназ, взаимодействующих с RP220 [10], в клетках почек есть немало белков, которые могут представлять потенциальные мишени для этого пептида. Значение такого взаимодействия остаётся неясным и требует дальнейших исследований. Однако изменённые взаимодействия (в контексте гипертония-нормотония) белков определённых функциональных групп, особенно белков, вовлечённых в развитие

сердечно-сосудистой патологии, свидетельствует о потенциальной биомедицинской важности обнаруженных сдвигов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Масс-спектрометрический анализ белков выполнен с использованием оборудования и ресурсов ЦКП “Протеом человека” при ИБМХ.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.) (№ 122030100170-5).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты проводили с соблюдением общепринятых норм гуманного отношения к лабораторным животным, в соответствии с Приказом Минздрава РФ №199н от 1 апреля 2016 г. “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики” и директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Дополнительные материалы доступны в электронной версии статьи на сайте журнала (pbmc.ibmc.msk.ru).*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Xu J., Li G., Wang P., Velazquez H., Yao X., Li Y., Wu Y., Peixoto A., Crowley S., Desir G.V. (2005) Renalase is a novel, soluble monoamine oxidase that regulates cardiac function and blood pressure. *J. Clin. Invest.*, **115**(5), 1275–1280. DOI: 10.1172/JCI24066
2. Medvedev A.E., Veselovsky A.V., Fedchenko V.I. (2010) Renalase, a new secretory enzyme responsible for selective degradation of catecholamines: Achievements and unsolved problems. *Biochemistry (Moscow)*, **75**(8), 951–958. DOI: 10.1134/S0006297910080018
3. Baroni S., Milani M., Pandini V., Pavesi G., Horner D., Aliverti A. (2013) Is renalase a novel player in catecholaminergic signaling? The mystery of the catalytic activity of an intriguing new flavoenzyme. *Curr. Pharm. Des.*, **19**, 2540–2551. DOI: 10.2174/1381612811319140005
4. Desir G.V., Peixoto A.J. (2014) Renalase in hypertension and kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **29**(1), 22–28. DOI: 10.1093/ndt/gft083
5. Moran G.R. (2016) The catalytic function of renalase: A decade of phantoms. *Biochim. Biophys. Acta*, **1864**(1), 177–186. DOI: 10.1016/j.bbapap.2015.04.010

6. Moran G.R., Hoag M.R. (2017) The enzyme: Renalase. Arch. Biochem. Biophys., **632**, 66–76. DOI: 10.1016/j.abb.2017.05.015
7. Beaupre B.A., Hoag M.R., Roman J., Forsterling F.H., Moran G.R. (2015) Metabolic function for human renalase: Oxidation of isomeric forms of beta-NAD(P)H that are inhibitory to primary metabolism. Biochemistry, **54**(3), 795–806. DOI: 10.1021/bi5013436
8. Wang Y., Safirstein R., Velazquez H., Guo X.J., Hollander L., Chang J., Chen T.M., Mu J.J., Desir G.V. (2017) Extracellular renalase protects cells and organs by outside-in signalling. J. Cell Mol. Med., **21**(7), 1260–1265. DOI: 10.1111/jcmm.13062
9. Kolodziej T.R., Reed A.M., Date K., Shugrue C.A., Patel V., Chung S.L., Desir G.V., Gorelick F.S. (2017) The serum protein renalase reduces injury in experimental pancreatitis. J. Biol. Chem., **292**(51), 21047–21059. DOI: 10.1074/jbc.M117.789776
10. Wang L., Velazquez H., Chang J., Safirstein R., Desir G.V. (2015) Identification of a receptor for extracellular renalase. PLoS One, **10**, e0122932. DOI: 10.1371/journal.pone.0122932
11. Pointer T.C., Gorelick F.S., Desir G.V. (2021) Renalase: A multi-functional signaling molecule with roles in gastrointestinal disease. Cells, **10**(8), 2006. DOI: 10.3390/cells10082006
12. Medvedev A., Kopylov A., Fedchenko V., Buneeva O. (2020) Is renalase ready to become a biomarker of ischemia? Int. J. Cardiol., **307**, 179. DOI: 10.1016/j.ijcard.2019.09.045
13. Fedchenko V.I., Veselovsky A.V., Kopylov A.T., Kaloshina S.A., Medvedev A.E. (2022) Renalase may be cleaved in blood. Are blood chymotrypsin-like enzymes involved? Medical Hypotheses, **165**, 110895. DOI: 10.1016/j.mehy.2022.110895
14. Федченко В.И., Морозевич Г.Е., Медведев А.Е. (2023) Влияние реналазных пептидов на жизнеспособность клеток HEPG2 и PC3. Биомедицинская химия, **69**(3), 184–187. [Fedchenko V.I., Morozovich G.E., Medvedev A.E. (2023) The effect of renalase-derived peptides on viability of HepG2 and PC3 cells. Biomeditsinskaya Khimiya, **69**(3), 184–187.] DOI: 10.18097/PBMC20236903184
15. Potts L., Phillips C., Hwang M., Fulcher S., Choi H. (2019) Rescue of human corneal epithelial cells after alkaline insult using renalase derived peptide, RP-220. Int. J. Ophthalmol., **12**(11), 1667–1673. DOI: 10.18240/ijo.2019.11.01
16. Wang L., Qi C., Shao X., Li S., Lin Q., Zhang M., Wu B., Shen J., Li Z., Ni Z. (2019) RP220, a renalase peptide, attenuates lupus nephritis by anti-inflammatory in MRL/lpr mice. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3311837> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3311837>
17. Stojanovic D., Stojanovic M., Milenkovic J., Velickov A., Ignjatovic A., Milojkovic M. (2023) The multi-faceted nature of renalase for mitochondrial dysfunction improvement in cardiac disease. Cells, **12**(12), 1607. DOI: 10.3390/cells12121607
18. Fedchenko V.I., Kopylov A.T., Buneeva O.A., Kaloshin A.A., Zgoda V.G., Medvedev A.E. (2018) Proteomic profiling data of HEK293 proteins bound to human recombinant renalases-1 and -2. Data Brief., **21**, 1477–1482. DOI: 10.1016/j.dib.2018.10.137
19. Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., **72**, 248–254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
20. Бунеева О.А., Копылов А.Т., Гнеденко О.В., Медведева М.В., Капица И.Г., Иванова Е.А., Иванов А.С., Медведев А.Е. (2021) Изменение митохондриального субпротеома Rpn13-связывающих белков мозга мыши под действием нейротоксина МФТП и нейропротектора изатина. Биомедицинская химия, **67**(1), 51–65. [Buneeva O.A., Kopylov A.T., Gnedenko O.V., Medvedeva M.V., Kapitsa I.G., Ivanova E.A., Ivanov A.S., Medvedev A.E. (2021) Changes in the mitochondrial subproteome of mouse brain Rpn13-binding proteins induced by the neurotoxin MPTP and the neuroprotector isatin. Biomeditsinskaya Khimiya, **67**(1), 51–65.] DOI: 10.18097/PBMC20216701051
21. Бунеева О.А., Капица И.Г., Казиева Л.Ш., Вавилов Н.Э., Згода В.Г., Медведев А.Е. (2023) Количественные изменения изатин-связывающих белков мозга у крыс с индуцированным ротеноном экспериментальным паркинсонизмом. Биомедицинская химия, **69**(3), 188–192. [Buneeva O.A., Kapitsa I.G., Kazieva L.S., Vavilov N.E., Zgoda V.G., Medvedev A.E. (2023) Quantitative changes of brain isatin-binding proteins of rats with the rotenone-induced experimental parkinsonism. Biomeditsinskaya Khimiya, **69**(3), 188–192.] DOI: 10.18097/PBMC20236903188
22. Бунеева О.А., Капица И.Г., Згода В.Г., Медведев А.Е. (2023) Нейропротекторные эффекты изатина и афобазола сопровождаются увеличением уровня растворимого в Тритоне X-100 альфа-синуклеина в мозге крыс с экспериментальным ротеноновым паркинсонизмом. Биомедицинская химия, **69**(5), 290–299 [Buneeva O.A., Kapitsa I.G., Zgoda V.G., Medvedev A.E. (2023) Neuroprotective effects of isatin and afobazole in rats with rotenone-induced Parkinsonism are accompanied by increased brain levels of Triton X-100 soluble alpha-synuclein. Biomeditsinskaya Khimiya, **69**(5), 290–299.] DOI: 10.18097/PBMC20236905290
23. Бунеева О.А., Федченко В.И., Калашина С.А., Завьялова М.Г., Згода В.Г., Медведев А.Е. (2024) Сравнительный протеомный анализ почечной ткани нормотензивных и гипертензивных крыс. Биомедицинская химия, **70**(2), 89–98. [Buneeva O.A., Fedchenko V.I., Kaloshina S.A., Zavyalova M.G., Zgoda V.G., Medvedev A.E. (2024) Comparative proteomic analysis of renal tissue of normotensive and hypertensive rats. Biomeditsinskaya Khimiya, **70**(2), 89–98.] DOI: 10.18097/PBMC20247002089
24. Dakshinamurti K., Lal K.J., Ganguly P.K. (1998) Hypertension, calcium channel and pyridoxine (vitamin B6). Mol. Cell. Biochem., **188**(1–2), 137–148.
25. Tieu K., Perier C., Vila M., Caspersen C., Zhang H.P., Teismann P., Jackson-Lewis V., Stern D.M., Yan S.D., Przedborski S. (2004) L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase II protects in a model of Parkinson's disease. Ann. Neurol., **56**(1), 51–60. DOI: 10.1002/ana.20133
26. Powell A.J., Read J.A., Banfield M.J., Gunn-Moore F., Yan S.D., Lustbader J., Stern A.R., Stern D.M., Brady R.L. (2000) Recognition of structurally diverse substrates by type II 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (HADH II)/ amyloid-beta binding alcohol dehydrogenase (ABAD). J. Mol. Biol., **303**(2), 311–327. DOI: 10.1006/jmbi.2000.4139
27. di Nicolantonio J.J., Lucan S.C., O'Keefe J.H. (2016) The evidence for saturated fat and for sugar related to coronary heart disease. Prog. Cardiovasc. Dis., **58**(5), 464–472. DOI: 10.1016/j.pcad.2015.11.006
28. di Nicolantonio J.J., Subramonian A.M., O'Keefe J.H. (2017) Added fructose as a principal driver of non-alcoholic fatty liver disease: A public health crisis. Open Heart, **4**(2), 000631. DOI: 10.1136/openhrt-2017-000631

29. Gómez-Baena G, Armstrong S.D., Halstead J.O., Prescott M., Roberts S.A., McLean L., Mudge J.M., Hurst J.L., Beynon R.J. (2019) Molecular complexity of the major urinary protein system of the Norway rat, *Rattus norvegicus*. *Sci. Rep.*, **9**(1), 10757. DOI: 10.1038/s41598-019-46950-x
30. Sato M., Yanagisawa H., Nojima Y., Tamura J., Wada O. (2002) Zn deficiency aggravates hypertension in spontaneously hypertensive rats: Possible role of Cu/Zn-superoxide dismutase. *Clin. Exp. Hypertens.*, **24**(5), 355–370. DOI: 10.1081/ceh-120004797
31. Yanagisawa H., Sato M., Nodera M., Wada O. (2004) Excessive zinc intake elevates systemic blood pressure levels in normotensive rats — potential role of superoxide-induced oxidative stress. *J. Hypertens.*, **22**(3), 543–550. DOI: 10.1097/00004872-200403000-00017
32. Chakraborty S., Mandal J., Yang T., Cheng X., Yeo J.Y., McCarthy C.G., Wenceslau C.F., Koch L.G., Hill J.W., Vijay-Kumar M., Joe B. (2020) Metabolites and hypertension: Insights into hypertension as a metabolic disorder: 2019 Harriet Dustan Award. *Hypertension*, **75**(6), 1386–1396. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.13896
33. Liu S., Kormos B.L., Knafels J.D., Sahasrabudhe P.V., Rosado A., Sommesse R.F., Reyes A.R., Ward J., Roth Flach R.J., Wang X., Buzon L.M., Reese M.R., Bhattacharya S.K., Omoto K., Filipinski K.J. (2023) Structural studies identify angiotensin II receptor blocker-like compounds as branched-chain ketoacid dehydrogenase kinase inhibitors. *J. Biol. Chem.*, **299**(3), 102959. DOI: 10.1016/j.jbc.2023.102959
34. Quinonez S.C., Thoene J.G. (2014) Dihydrolipoamide dehydrogenase deficiency. In: GeneReviews® [Internet] (Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., Pagon R.A., Wallace S.E., Bean L.J.H., Gripp K.W., Amemiya A., eds), Seattle (WA), University of Washington, Seattle, 1993–2024.
35. Guerreiro J.R., Lameu C., Oliveira E.F., Klitzke C.F., Melo R.L., Linares E., Augusto O., Fox J.W., Lebrun I., Serrano S.M., Camargo A.C. (2009) Argininosuccinate synthetase is a functional target for a snake venom anti-hypertensive peptide: Role in arginine and nitric oxide production. *J. Biol. Chem.*, **284**(30), 20022–20033. DOI: 10.1074/jbc.M109.021089
36. Zheng X., Chen M., Li X., Yang P., Zhao X., Ouyang Y., Yang Z., Liang M., Hou E., Tian Z. (2019) Insufficient fumarase contributes to hypertension by an imbalance of redox metabolism in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertens. Res.*, **42**(11), 1672–1682. DOI: 10.1038/s41440-019-0290-y
37. Tian Z., Liu Y., Usa K., Mladinov D., Fang Y., Ding X., Greene A.S., Cowley A.W. Jr., Liang M. (2009) Novel role of fumarate metabolism in dahl-salt sensitive hypertension. *Hypertension*, **54**(2), 255–260. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.129528
38. Ganetzky R., Stojinski C. (2019) Mitochondrial short-chain enoyl-CoA hydratase 1 deficiency. In: GeneReviews® [Internet] (Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., Pagon R.A., Wallace S.E., Bean L.J.H., Gripp K.W., Amemiya A., eds.), Seattle (WA), University of Washington, Seattle, 1993–2024.
39. Bonnet S., Paulin R. (2019) Involvement of PFKFB3 in pulmonary arterial hypertension pathogenesis. Is it all about glycolysis? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **200**(5), 532–534. DOI: 10.1164/rccm.201902-0394ED
40. Kang J., Brajanovski N., Chan K.T., Xuan J., Pearson R.B., Sanij E. (2021) Ribosomal proteins and human diseases: Molecular mechanisms and targeted therapy. *Signal Transduct. Target. Ther.*, **6**(1), 323. DOI: 10.1038/s41392-021-00728-8
41. Bhavsar R.B., Makley L.N., Tsonis P.A. (2010) The other lives of ribosomal proteins. *Human Genomics*, **4**(5), 327–344. DOI: 10.1186/1479-7364-4-5-327
42. Calvier L., Herz J., Hansmann G. (2022) Interplay of low-density lipoprotein receptors, LRP6, and lipoproteins in pulmonary hypertension. *JACC Basic Transl. Sci.*, **7**(2), 164–180. DOI: 10.1016/j.jacbts.2021.09.011
43. Longoni M., Kantarci S., Donnai D., Pober B.R. (2008) Donnai-Barrow syndrome. In: GeneReviews® [Internet] (Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., Pagon R.A., Wallace S.E., Bean L.J.H., Gripp K.W., Amemiya A., eds.), Seattle (WA), University of Washington, Seattle, 1993–2024.
44. Sendra J., Llorente-Cortés V., Costales P., Huesca-Gómez C., Badimon L. (2008) Angiotensin II upregulates LDL receptor-related protein (LRP1) expression in the vascular wall: A new pro-atherogenic mechanism of hypertension. *Cardiovasc. Res.*, **78**(3), 581–589. DOI: 10.1093/cvr/cvn043
45. Wang L., Hou E., Wang Z., Sun N., He L., Chen L., Liang M., Tian Z. (2014) Analysis of metabolites in plasma reveals distinct metabolic features between Dahl salt-sensitive rats and consomic SS.13(BN) rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **450**(1), 863–869. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.06.089
46. Martin-Lorenzo M., Martinez P.J., Baldan-Martin M., Ruiz-Hurtado G., Prado J.C., Segura J., de la Cuesta F., Barderas M.G., Vivanco F., Ruilope L.M., Alvarez-Llamas G. (2017) Citric acid metabolism in resistant hypertension: Underlying mechanisms and metabolic prediction of treatment response. *Hypertension*, **70**(5), 1049–1056. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09819
47. Barawkar D.A., Meru A., Bandyopadhyay A., Banerjee A., Deshpande A.M., Athare C., Koduru C., Khose G., Gundu J., Mahajan K., Patil P., Kandalkar S.R., Niranjan S., Bhosale S., De S., Mukhopadhyay S., Chaudhary S., Koul S., Singh U., Chugh A., Palle V.P., Mookhtiar K.A., Vacca J., Chakravarty P.K., Nargund R.P., Wright S.D., Roy S., Graziano M.P., Singh S.B., Cully D., Cai T.Q. (2011) Potent and selective inhibitors of long chain 1-2-hydroxy acid oxidase reduced blood pressure in DOCA salt-treated rats. *ACS Med. Chem. Lett.*, **2**(12), 919–923. DOI: 10.1021/ml2001938
48. Prasun P., LoPiccolo M.K., Ginevic I. (2022) Long-chain Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency/trifunctional protein deficiency. In: GeneReviews® [Internet] (Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., Pagon R.A., Wallace S.E., Bean L.J.H., Gripp K.W., Amemiya A., eds.), Seattle (WA), University of Washington, Seattle, 1993–2024.
49. Meng C., Jin X., Xia L., Shen S.M., Wang X.L., Cai J., Chen G.Q., Wang L.S., Fang N.Y. (2009) Alterations of mitochondrial enzymes contribute to cardiac hypertrophy before hypertension development in spontaneously hypertensive rats. *J. Proteome Res.*, **8**(5), 2463–2475. DOI: 10.1021/pr801059u
50. Li G.H., Shi Y., Chen Y., Sun M., Sader S., Maekawa Y., Arab S., Dawood F., Chen M., de Couto G., Liu Y., Fukuoka M., Yang S., da Shi M., Kirshenbaum L.A., McCulloch C.A., Liu P. (2009) Gelsolin regulates cardiac remodeling after myocardial infarction through DNase I-mediated apoptosis. *Circ. Res.*, **104**(7), 896–904. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.172882
51. Jana S., Aujla P., Hu M., Kilic T., Zhabiyev P., McCulloch C.A., Oudit G.Y., Kassiri Z. (2021) Gelsolin is an important mediator of angiotensin II-induced activation of cardiac fibroblasts and fibrosis. *FASEB J.*, **35**(10), 21932. DOI: 10.1096/fj.202100038RR
52. Lai Q., Liu F.M., Rao W.L., Yuan G.Y., Fan Z.Y., Zhang L., Fu F., Kou J.P., Yu B.Y., Li F. (2022) Aminoacylase-1 plays a key role in myocardial fibrosis and the therapeutic effects of 20(S)-ginsenoside Rg3 in mouse heart failure. *Acta Pharmacol. Sin.*, **43**(8), 2003–2015. DOI: 10.1038/s41401-021-00830-1

53. Oliveira-Paula G.H., Pereira S.C., Tanus-Santos J.E., Lacchini R. (2019) Pharmacogenomics and hypertension: Current insights. *Pharmacogenomics Pers. Med.*, **12**, 341–359. DOI: 10.2147/PGPM.S230201
54. Kim Y.H., Hwang J.H., Noh J.R., Gang G.T., Kim D.H., Son H.Y., Kwak T.H., Shong M., Lee I.K., Lee C.H. (2011) Activation of NAD(P)H:quinone oxidoreductase ameliorates spontaneous hypertension in an animal model via modulation of eNOS activity. *Cardiovasc. Res.*, **91**(3), 519–527. DOI: 10.1093/cvr/cvr110
55. Kim Y.H., Hwang J.H., Kim K.S., Noh J.R., Gang G.T., Seo Y., Nam K.H., Kwak T.H., Lee H.G., Lee C.H. (2015) NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 activation reduces blood pressure through regulation of endothelial nitric oxide synthase acetylation in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.*, **28**(1), 50–57. DOI: 10.1093/ajh/hpu116
56. Liao K.A., Rangarajan K.V., Bai X., Taylor J.M., Mack C.P. (2021) The actin depolymerizing factor destrin serves as a negative feedback inhibitor of smooth muscle cell differentiation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **321**(5), 893–904. DOI: 10.1152/ajpheart.00142.2021
57. Stanczyk P.J., Tatekoshi Y., Shapiro J.S., Nayudu K., Chen Y., Zilber Z., Schipma M., de Jesus A., Mahmoodzadeh A., Akrami A., Chang H.C., Ardehali H. (2023) DNA damage and nuclear morphological changes in cardiac hypertrophy are mediated by SNRK through actin depolymerization. *Circulation*, **148**(20), 1582–1592. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.066002
58. Lee M.J., Stephenson D.A., Groves M.J., Sweeney M.G., Davis M.B., An S.F., Houlden H., Salih M.A., Timmerman V., de Jonghe P., Auer-Grumbach M., di Maria E., Scaravilli F., Wood N.W., Reilly M.M. (2003) Hereditary sensory neuropathy is caused by a mutation in the delta subunit of the cytosolic chaperonin-containing T-complexpeptide-1 (Cct4) gene. *Hum. Mol. Genet.*, **12**(15), 1917–1925. DOI: 10.1093/hmg/ddg198
59. Jeong S.J., Park J.G., Oh G.T. (2021) Peroxiredoxins as potential targets for cardiovascular disease. *Antioxidants (Basel)*, **10**(8), 1244. DOI: 10.3390/antiox10081244
60. Jiang L., Gong Y., Hu Y., You Y., Wang J., Zhang Z., Wei Z., Tang C. (2020) Peroxiredoxin-1 overexpression attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2020**, 2405135. DOI: 10.1155/2020/2405135
61. Martinez-Pinna R., Ramos-Mozo P., Madrigal-Matute J., Blanco-Colio L.M., Lopez J.A., Calvo E., Camafrita E., Lindholt J.S., Meilhac O., Delbosc S., Michel J.B., Vega de Ceniga M., Egido J., Martin-Ventura J.L. (2011) Identification of peroxiredoxin-1 as a novel biomarker of abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **31**(4), 935–943. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.214429
62. Zhou M., Guo J., Li S., Li A., Fang Z., Zhao M., Zhang M., Wang X. (2023) Effect of peroxiredoxin 1 on the regulation of trophoblast function by affecting autophagy and oxidative stress in preeclampsia. *J. Assist. Reprod. Genet.*, **40**(7), 1573–1587. DOI: 10.1007/s10815-023-02820-0
63. Park J.-G., Yoo J.-Y., Jeong S.-J., Choi J.-H., Lee M.-R., Lee M.-N., Hwa Lee J., Kim H.C., Jo H., Yu D.-Y., Kang S.W., Rhee S.G., Lee M.-H., Oh G.T. (2011) Peroxiredoxin 2 deficiency exacerbates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circ. Res.*, **109**, 739–749. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.111.245530
64. Moore K., Moore R., Wang C., Norris R.A. (2020) Tugging at the heart strings: The septin cytoskeleton in heart development and disease. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.*, **7**(1), 3. DOI: 10.3390/jcdd7010003
65. Sutendra G., Dromparis P., Bonnet S., Haromy A., McMurtry M.S., Bleackley R.C., Michelakis E.D. (2011) Pyruvate dehydrogenase inhibition by the inflammatory cytokine TNF $\alpha$  contributes to the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *J. Mol. Med. (Berlin)*, **89**(8), 771–783. DOI: 10.1007/s00109-011-0762-2
66. Magyar C.E., Zhang Y., Holstein-Rathlou N.H., McDonough A.A. (2000) Proximal tubule Na transporter responses are the same during acute and chronic hypertension. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **279**(2), 358–369. DOI: 10.1152/ajprenal.2000.279.2.F358
67. Kennedy H., Haack T.B., Hartill V., Mataković L., Baumgartner E.R., Potter H., Mackay R., Alston C.L., O'Sullivan S., McFarland R., Connolly G., Gannon C., King R., Mead S., Crozier I., Chan W., Florkowski C.M., Sage M., Höfken T., Alhaddad B., Kremer L.S., Kopajtich R., Feichtinger R.G., Sperl W., Rodenburg R.J., Minet J.C., Dobbie A., Strom T.M., Meitinger T., George P.M., Johnson C.A., Taylor R.W., Prokisch H., Doudney K., Mayr J.A. (2016) Sudden cardiac death due to deficiency of the mitochondrial inorganic pyrophosphatase PPA2. *Am. J. Hum. Genet.*, **99**(3), 674–682. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.06.027
68. Kim H.K., Mizuno M., Vongpatanasin W. (2019) Phosphate, the forgotten mineral in hypertension. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, **28**(4), 345–351. DOI: 10.1097/MNH.0000000000000503
69. Deinum J. (2002) Collagen and hypertension. *J. Hypertens.*, **20**(7), 1275–1276. DOI: 10.1097/00004872-200207000-00008
70. Iovine B., Iannella M.L., Bevilacqua M.A. (2011) Damage-specific DNA binding protein 1 (DDB1): A protein with a wide range of functions. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **43**(12), 1664–1667. DOI: 10.1016/j.biocel.2011.09.001
71. Ranchoux B., Meloche J., Paulin R., Bouché O., Provencher S., Bonnet S. (2016) DNA damage and pulmonary hypertension. *Int. J. Mol. Sci.*, **17**(6), 990. DOI: 10.3390/ijms17060990
72. Liu R., Proud C.G. (2016) Eukaryotic elongation factor 2 kinase as a drug target in cancer, and in cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol. Sin.*, **37**(3), 285–294. DOI: 10.1038/aps.2015.123
73. Pascal A., Gallaud E., Giet R., Benaud C. (2022) Annexin A2 and Ahnak control cortical NuMA-dynein localization and mitotic spindle orientation. *J. Cell Sci.*, **135**(9), 259344. DOI: 10.1242/jcs.259344
74. Predmore J.M., Wang P., Davis F., Bartolone S., Westfall M.V., Dyke D.B., Pagani F., Powell S.R., Day S.M. (2010) Ubiquitin proteasome dysfunction in human hypertrophic and dilated cardiomyopathies. *Circulation*, **121**(8), 997–1004. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.904557
75. Li Y., Bian M., Gu S., Wang X., Wen J., Lian N., Jiang M., Qi X. (2023) Investigation of the ubiquitin proteasome system in pulmonary arterial hypertension. *Authorea*, March 27. DOI: 10.22541/au.167991844.49422974/v1
76. Drews O., Taegtmeyer H. (2014) Targeting the ubiquitin-proteasome system in heart disease: the basis for new therapeutic strategies. *Antioxid. Redox Signal.*, **21**(17), 2322–2343. DOI: 10.1089/ars.2013.5823
77. Malashicheva A., Perepelina K. (2021) Diversity of nuclear lamin A/C action as a key to tissue-specific regulation of cellular identity in health and disease. *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 761469. DOI: 10.3389/fcell.2021.761469
78. Shi X., Jiang X., Chen C., Zhang Y., Sun X. (2022) The interconnections between the microtubules and mitochondrial networks in cardiocerebrovascular diseases: Implications for therapy. *Pharmacol. Res.*, **184**, 106452. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106452

79. Daugeron M.C., Kressler D., Linder P. (2001) Dbp9p, a putative ATP-dependent RNA helicase involved in 60S-ribosomal-subunit biogenesis, functionally interacts with Dbp6p. *RNA*, **7**(9), 1317-1334. DOI: 10.1017/s1355838201010640
80. Meng L.B., Hu G.F., Shan M.J., Zhang Y.M., Yu Z.M., Liu Y.Q., Xu H.X., Wang L., Gong T., Liu D.P. (2021) Citrate synthase and OGDH as potential biomarkers of atherosclerosis under chronic stress. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2021**, 9957908. DOI: 10.1155/2021/9957908
81. Wang X., Chen C.F., Baker P.R., Chen P.L., Kaiser P., Huang L. (2007) Mass spectrometric characterization of the affinity-purified human 26S proteasome complex. *Biochemistry*, **46**, 3553-3565. DOI: 10.1021/bi061994u
82. Verma R., Chen S., Feldman R., Schieltz D., Yates J., Dohmen J., Deshaies R.J. (2000) Proteasomal proteomics: Identification of nucleotide-sensitive proteasome-interacting proteins by mass spectrometric analysis of affinity-purified proteasomes. *Mol. Biol. Cell*, **11**, 3425-3439. DOI: 10.1091/mbc.11.10.3425
83. Guerrero C., Milenkovic T., Przulj N., Kaiser P., Huang L. (2008) Characterization of the proteasome interaction network using a QTAX-based tag-team strategy and protein interaction network analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 13333-13338. DOI: 10.1073/pnas.0801870105
84. Buneeva O.A., Kopylov A.T., Medvedev A.E. (2023) Proteasome interactome and its role in the mechanisms of brain plasticity. *Biochemistry (Moscow)*, **88**(3), 319-336. DOI: 10.1134/S0006297923030033
85. Meul T., Berschneider K., Schmitt S., Mayr C.H., Mattner L.F., Schiller H.B., Yazgılı A.S., Wang X., Lukas C., Schlessner C., Prehn C., Adamski J., Graf E., Schwarzmayr T., Perocchi F., Kukat A., Trifunovic A., Kremer L., Prokisch H., Popper B., von Toerne C., Hauck S.M., Zischka H., Meiners S. (2020) Mitochondrial regulation of the 26S proteasome. *Cell Rep.*, **32**, 108059. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108059
86. Enenkel C., Kang R.W., Wilfling F., Ernst O.P. (2022) Intracellular localization of the proteasome in response to stress conditions. *J. Biol. Chem.*, **298**, 102083. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.102083
87. Rousseau A., Bertolotti A. (2018) Regulation of proteasome assembly and activity in health and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 697-712. DOI: 10.1038/s41580-018-0040-z

Поступила в редакцию: 02. 04. 2024.  
После доработки: 08. 05. 2024.  
Принята к печати: 15. 05. 2024.

## PROTEOMIC PROFILING OF RENAL TISSUE OF NORMO- AND HYPERTENSIVE RATS WITH THE RENALASE PEPTIDE RP220 AS AN AFFINITY LIGAND

O.A. Buneeva\*, V.I. Fedchenko, S.A. Kaloshina, M.G. Zavyalova, V.G. Zgoda, A.E. Medvedev

Institute of Biomedical Chemistry,  
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; \*e-mail: olbuneeva@gmail.com

Renalase (RNLS) is a recently discovered protein that plays an important role in the regulation of blood pressure by acting inside and outside cells. Intracellular RNLS is a FAD-dependent oxidoreductase that oxidizes isomeric forms of  $\beta$ -NAD(P)H. Extracellular renalase lacking its N-terminal peptide and cofactor FAD exerts various protective effects via non-catalytic mechanisms. Certain experimental evidence exists in the literature that the RP220 peptide (a 20-mer peptide corresponding to the amino acid sequence RNLS 220-239) reproduces a number of non-catalytic effects of this protein, acting on receptor proteins of the plasma membrane. The possibility of interaction of this peptide with intracellular proteins has not been studied. Taking into consideration the known role of RNLS as a possible antihypertensive factor, the aim of this study was to perform proteomic profiling of the kidneys of normotensive and hypertensive rats using RP220 as an affinity ligand. Proteomic (semi-quantitative) identification revealed changes in the relative content of about 200 individual proteins in the kidneys of hypertensive rats bound to the affinity sorbent as compared to the kidneys of normotensive animals. Increased binding of SHR renal proteins to RP220 over the normotensive control was found for proteins involved in the development of cardiovascular pathology. Decreased binding of the kidney proteins from hypertensive animals to RP220 was noted for components of the ubiquitin-proteasome system, ribosomes, and cytoskeleton.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

**Key words:** renalase; renalase peptide; arterial hypertension; WKY and SHR rats; renal tissue; proteomic profiling

**Funding.** The work was carried out within the framework of the Program of Fundamental Scientific Research in the Russian Federation for a long-term period (2021-2030) (No. 122030100170-5).

Received: 02.04.2024; revised: 08.05.2024; accepted: 15.05.2024.