

Magda Wiśniewska¹, Natalia M. Serwin², Aleksandra Gomółka¹, Wojciech Knop¹, Rafał Heryć¹,
Elżbieta Cecerska-Heryć², Edyta Skwirczyńska³, Barbara Dołęgowska²

¹Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

²Zakład Medycyny Laboratoryjnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

³Zakład Historii Medycyny i Etyki Lekarskiej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Renalaza — działanie, aspekty kliniczne i potencjał terapeutyczny

Renalase — way of action, clinical aspects and therapeutic potential

ABSTRACT

Renalase is a small protein with a well-known structure, but a controversial mechanism of action. Due to its structure and properties, it was initially indicated that it is an enzyme similar to monoamine oxidases. Subsequent studies have shown that protective, systemic effects are probably not associated with enzymatic activity, but with participation in cell signaling. Its protective role has been demonstrated for such organs as kidneys, heart and pancreas, however, due to its cytoprotective properties, it has also been shown to promote the formation and de-

velopment of tumors. Based on animal models, the efficacy of renalase administration in diminishing the adverse effects of damage, hypoxia or inflammation has been demonstrated. At the same time, inhibition of renalase gene or the use of specific antibodies blocking its action promoted inhibition of tumor growth and improvement of patients' overall survival. Renalase may therefore be an effective therapeutic agent, with the occurrence of cancer appearing to be a significant contraindication to its use.

Forum Nefrol 2020, vol 13, no 2, 59–68

Key words: renalase, chronic kidney disease, tumorigenesis, cell signaling

WSTĘP

Renalaza jest niewielkim białkiem o strukturze przypominającej enzymy z klasy oksydoreduktaz, którego nazwa nawiązuje do okoliczności jej odkrycia i wskazania nerek jako głównego źródła tej cząsteczki. W ciągu ostatnich kilkunastu lat substancja ta stała się obiektem zainteresowania badaczy wielu dziedzin medycyny oraz nauk podstawowych. Zależności pomiędzy aktywnością i stężeniem renalazy szukano wielokrotnie w badaniach prowadzonych m.in. przez specjalistów z zakresu chorób wewnętrznych, ginekologii czy psychiatrii. Nefrologicy od lat poszukują zależności między stężeniem i aktywnością tego niezwykłego białka a chorobami nerek,

takimi jak przewlekła choroba nerek (PChN) rozwijająca się na różnym tle, ostre uszkodzenie nerek czy glomerulopatie. W kardiologii próbowano łączyć renalazę z rozwojem nadciśnienia tętniczego, choroby niedokrwiennej serca, migotania przedsionków, przerostu mięśnia sercowego czy zwiększoną śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych u chorych obciążonych kardiologicznie. W ginekologii szukano związku między renalazą a rozwojem stanu przedrzucawkowego (preeklampsji) czy występowaniem cukrzycy ciężarnych. W ostatnich latach do grup badawczych dołączyli także psychiatry, poszukujący zależności między jej stężeniem a stężeniami neuroprzekazników w przebiegu schizofrenii. W okresie blisko 15 lat powstało wiele prac mających na celu

Adres do korespondencji:
dr n. med. Natalia Serwin
Zakład Medycyny Laboratoryjnej
Pomorski Uniwersytet Medyczny
al. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin
e-mail: natser@pum.edu.pl

wyjaśnienie roli renalazy w organizmie człowieka, a mimo to funkcja tego białka stawia przed badaczami kolejne wyzwania i mobilizuje ich do intensywnych poszukiwań odpowiedzi na pytanie, jakie jest jego ogólnoustrojowe znaczenie i mechanizm działania oraz regulacji jego stężenia we krwi czy w moczu. W niniejszym opracowaniu podjęto próbę usystematyzowania wiedzy na temat tej cząsteczki i podsumowania wyników dostępnych badań z uwzględnieniem terapeutycznego i klinicznego potencjału renalazy.

BUDOWA I MECHANIZM DZIAŁANIA

STRUKTURA CZĄSTECZKI

Renalaza zawdzięcza swoją nazwę badaniom opartym na *Mammalian Gene Programme*, w toku których poszukiwano nowego białka o działaniu endokrynnym, produkowanego przez nerki. Spośród 114 kandydatów wyłoniono białko, które najlepiej wpasowywało się w określone wcześniej kryteria, na które składały się: małe podobieństwo sekwencji spotykanych w dotychczas znanych białkach, nieposiadanie przez nie domen przezbłonowych i występowanie w nim sekwencji mogących wskazywać na jego wydzielniczy charakter [1]. Ekspresja genu renalazy, *RNLS*, obserwowana jest głównie w nerkach, choć znaleźć ją można także wielu innych tkankach, w tym w niemal wszystkich strukturach mózgu, narządach endokrynnych (tarczycy, przystarczycach, nadnerczach, przysadce mózgowej), mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym, w komórkach skóry i tkanki tłuszczowej czy w narządach układu rozrodczego zarówno kobiet, jak i mężczyzn [2]. Gen *RNLS* jest zlokalizowany na chromosomie 10. w pozycji q23.31 i zawiera 309462 pary zasad [1, 3]. Dotychczas zidentyfikowano 7 specyficznych tkankowo izoform ludzkiej renalazy (h-renalaza 1–7), przy czym najlepiej poznana izoforma, h-renalaza 1, jest białkiem o masie cząsteczkowej 37,85 kDa, zbudowanym z 342 aminokwasów i składającym się z 13 eksonów [4, 5]. W swojej budowie posiada dinukleotyd flawinoadeninowy (FAD), odgrywający rolę kofaktora, oraz peptyd sygnałowy na końcu aminowym. Topologia renalazy jest znana i spotykana w wielu flawoproteinach uczestniczących w reakcjach redoks, takich jak m.in. oksydaza monoaminowa, oksydaza L-aminokwasowa czy oksydaza protoporfirynogenu [6]. Mimo że typ reakcji przeprowadzanych przez wymienione enzymy jest zgodny z tym, który postulowano dla rena-

lazy, żadne z tych białek nie posiada w miejscu aktywnym reszt aminokwasowych, które występują w renalazie. Stąd też określenie substratów dla tego białka okazało się dość poważnym wyzwaniem, opartym początkowo na jego zależności względem innych parametrów biochemicznych i diagnostycznych.

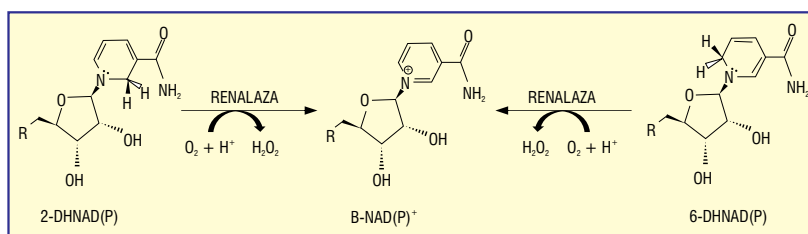
WŁAŚCIWOŚCI ENZYMATYCZNE

Przez wiele lat renalaza była szeroko definiowana jako enzym flawoproteinowy pochodzenia głównie nerkowego, który odpowiada za utlenianie krążących we krwi amin katecholowych w sposób zbliżony do działania monoaminooksydaz A i B (MAO-A i MAO-B), co próbowano udowodnić doświadczalnie [1]. W badaniach tych zakładano, że w przeciwieństwie do wymienionych enzymów renalaza ma charakter wydzielniczy i potencjał endokrynni, przez co ma możliwość regulowania stężenia katecholamin i dalej — ciśnienia tętniczego. Aby to potwierdzić, inkubowano renalazę i adrenalinę, noradrenalinę lub dopaminę, a szybkość reakcji enzymatycznej obliczono na podstawie stężenia powstającego jako produkt uboczny nadtlenu wodoru. Wartość diagnostyczna powyższego testu została jednak szybko zakwestionowana, ponieważ zaproponowana reakcja wydaje się zbyt wolna, mało efektywna i wątpliwa pod względem biochemicznym; nadtlenek wodoru może powstawać jako produkt samoutleniania się katecholamin czy też innych reakcji zachodzących w próbce [7]. W kolejnych latach zaproponowano mechanizm, w którym renalaza działa w sposób odmienny niż pozostałe aminooksydazy, reagując z tlenem i generując powstawanie anionorodnika nadtlenu wodoru, który utleniałby katecholaminy do ich potencjalnie toksycznych produktów — aminochromów, wykorzystując β -NAD(P)H jako kosubstrat [8]. Reakcja ta miałaby na celu ograniczenie niekorzystnych skutków zbyt wysokiego stężenia katecholamin we krwi, przy nieskutecznym w tym przypadku rozkładzie z udziałem pozostałych monoaminooksydaz. Wadą tego eksperymentu był jednak ponownie brak przeprowadzenia reakcji kontrolnej uwzględniającej zjawisko szybkiego samoutleniania katecholamin w obecności pierwiastków śladowych, które było prawdopodobnie podstawą wysuniętych wniosków [6]. Inna grupa badawcza na podstawie dwóch analiz zasugerowała, że renalaza może utleniać i izomeryzować α -NAD(P)H do β -NAD(P)H [9, 10]. Postawiona teza okazała się później błędna, a u jej podstaw leżały sposób przechowywania

materiału do analiz i poszukiwanie niewłaściwego substratu dla renalazy, który musiał się znajdować już w próbach zawierających to białko oraz β -NAD(P)H. W późniejszym czasie wykazano, że czynnikiem tym nie był α -NAD(P)H, lecz dwa izomery β -NAD(P)H-2 i 6-DHNAD(P), które renalaza utlenia do β -NAD(P)H z udziałem kofaktora FAD (ryc. 1). Działanie to ma przypuszczalnie znaczenie naprawcze i regulujące, ponieważ może łagodzić toksyczność wynikającą z hamowania aktywności dehydrogenaz i wielu innych enzymów, dla których β -NAD(P)H jest kluczowym substratem [11]. Aktywność ta zdaje się zatem przynosić wymierne korzyści w środowisku wewnątrzkomórkowym, jednak wciąż nie przekłada się na wyraźne działanie ogólnoustrojowe i nie tłumaczy wpływu renalazy na zmiany w ciśnieniu tętniczym w przypadku osób z chorobami nerek czy układu sercowo-naczyniowego o różnej etiologii.

UDZIAŁ W SYGNALIZACJI KOMÓRKOWEJ

Bardzo ważne okazało się odkrycie, że renalaza chroni przed ostrym uszkodzeniem nerek niezależnie od aktywności enzymatycznej, a poprzez udział w szlakach sygnałowych, jej działanie ochronne jest zaś związane z aktywowaniem szlaków Akt (kinazy białkowej B) i MAPK (kinaz aktywowanych mitogenami) [12, 13]. Kinazy te, zaangażowane w odpowiedź komórki na różne bodźce zewnętrzne, mają bardzo szeroki zakres biologicznego działania, regulując aktywność wielu białek i czynników transkrypcyjnych i tym samym wpływając na procesy wzrostowe i metaboliczne oraz przeżycie komórek. Rolę renalazy w aktywowaniu wspomnianych kinaz wykazano przy wykorzystaniu zarówno hodowli komórkowych, jak i zwierząt laboratoryjnych. W hodowli komórek linii HK-2, poddanych 24-godzinnemu działaniu chemioterapeutyku — cisplatyny, zaobserwowano zmniejszoną żywotność komórek i ekspresję genu renalazy w porównaniu z hodowlami niepoddanymi ekspozycji na ten czynnik, a dodanie rekombinowanego białka RNLS nie tylko znacznie ograniczało działanie toksyczne, ale także wiązało się z zahamowaniem aktywacji proapoptycznej kaspazy-3 i ze zwiększoną ekspresją genu białka Bcl-2 o działaniu antyapoptycznym oraz istotnym zwiększeniem fosforylowanych pozakomórkowych kinaz MAP — ERK1/2 oraz p38. Co więcej, działanie ochronne było zależne od dawki [12]. Dalsza analiza doprowadziła do odkrycia, że niemal identyczny efekt wobec komórek pod-



Rycina 1. Schemat reakcji izomeryzacji 2-DHNAD(P) i 6-DHNAD(P), zachodzącej z udziałem renalazy (na podstawie [51]); podstawniki (R): dla mononukleotydu nikotynamidowego — PO₄²⁻; dla rybozydu nikotynamidowego — OH

danych wcześniej działaniu cisplatyny uzyskuje się, stosując jedynie fragmenty cząsteczki renalazy — 20-aminokwasowe peptydy RP-220 oraz RP-H220, kodowane przez fragment eksonu 6. genu *RNLS* i nieposiadające właściwości amino- czy NADH-oksydazy. Dodanie do hodowli komórkowej RP-220 i RPH220, poza aktywacją szlaków ERK i p38, wywołało dodatkowo szybką fosforylację kinazy Akt. W doświadczeniu tym działanie ochronne RP-H220 wobec komórek było nieco skuteczniejsze niż działanie RP-220. W dalszych analizach, obejmujących już tylko peptyd RP-H220, chemiczne zahamowanie sygnalizacji komórkowej ERK i Akt (odpowiednio, 29-amino-39-metyksosflawonem oraz wortmaniną) zniósło ochronne działanie RP-H220 wobec indukowanego ostrego uszkodzenia nerek. Wadą tego doświadczenia był brak zahamowania sygnalizacji kinazy p38, zarówno w przypadku peptydu RP-H220, jak i RP-220, która również została wskazana jako istotna w opisywanych wyżej procesach. W osobnym doświadczeniu, stwierdzającym, czy ochronne działanie drugiego z peptydów — RP-220 — wobec stosowania cisplatyny wiąże się z aktywacją MAPK, wykazano, że cisplatyna sama w sobie zwiększa nieco fosforylację ERK i p38, jednak podanie peptydu istotnie, 5-krotnie zwiększa fosforylację p38, podczas gdy dla ERK zależność taka była znacznie mniejsza (0,5-krotna) w porównaniu z tą wywołaną przez samą cisplatynę. Chemiczne zahamowanie aktywacji obu szlaków wykazało, że blokowanie ERK nie hamuje istotnie ochronnego działania RP-220, podczas gdy hamowanie p38 zniósło zupełnie jego działanie cytoprotekcyjne [14]. Można zatem sądzić, że w przypadku uszkodzenia komórek renalaza oraz oba peptydy mogą w nieco inny sposób aktywować szlaki sygnałowe, wymaga to jednak potwierdzenia w pracach doświadczalnych.

Pierwsze z opisywanych wyżej badań [12] poszerzono także o analizę modeli zwie-

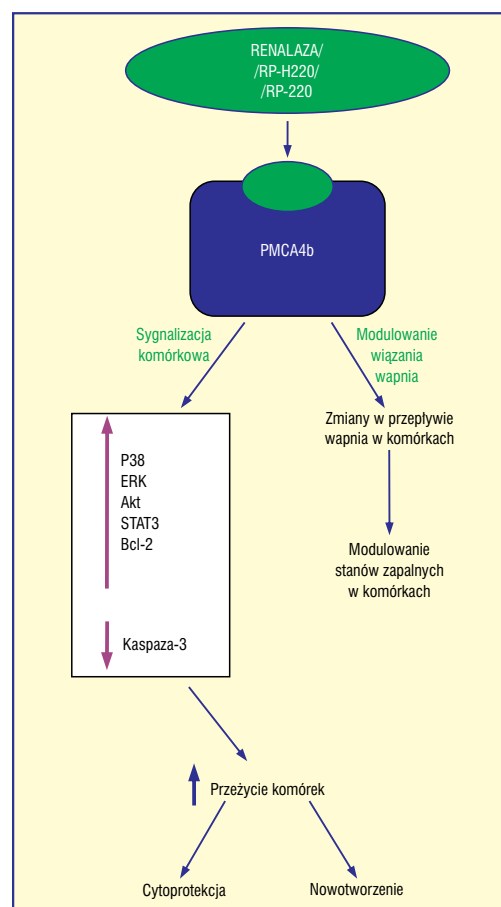
►►Renalaza chroni przed ostrym uszkodzeniem nerek niezależnie od aktywności enzymatycznej, a poprzez udział w szlakach sygnałowych, jej działanie ochronne jest zaś związane z aktywowaniem szlaków Akt (kinazy białkowej B) i MAPK (kinaz aktywowanych mitogenami)◀◀

rzęcych: niewytwarzających renalazy myszy tzw. „nokaut” (myszy renalazo-KO, *knock-out*), oraz wytwarzających renalazę myszy typu dzikiego (WT, *wild-type*), którym podano dożylnie RP-220 lub sól fizjologiczną (placebo), po 30 minutach uśpiono i pozyskano nerki do przygotowania lizatów. U myszy WT podanie peptydu RP-220 wiązało się z 5-krotnie wyższym poziomem fosforylacji ERK w nerce w porównaniu z placebo, podczas gdy u myszy KO nie zaobserwowano żadnej różnicy w poziomie fosforylacji ERK pomiędzy zwierzętami poddanymi działaniu RP-220 czy soli fizjologicznej. Pozwala to wnioskować, że u zwierząt niewytwarzających renalazy następuje zaburzone wiązanie RP-220 i/lub RP-H220 z jego/ich receptorem. Niewyjaśnione pozostaje jednak, czy wywołane jest to bezpośrednio wadliwą sygnalizacją komórkową, zmniejszeniem ekspresji genów kodujących taki receptor czy też ich nieprawidłową ekspresją.

RECEPTOR RENALAZY

Do tej pory zidentyfikowano jeden receptor dla renalazy — pompę wapniową PMCA4b (*plasma membrane Ca²⁺-ATPase-4b*), ATPazę zlokalizowaną w błonie komórkowej [12]. Ca²⁺-ATPazy należą do dużej rodziny błonowych pomp jonowych typu P, charakteryzujących się powstawaniem fosforylowanych produktów pośrednich podczas reakcji [15]. Występują w wielu izoformach (PMCA1–PMCA4) i ponad 20 wariantach splicingowych, pełniących zróżnicowane funkcje, od regulowania stężenia wapnia na poziomie komórki po modulowanie ogólnoustrojowe [16]. Izoforma PMCA4 jest główną izoformą pompy w erytrocytach i przypuszczalnie jest zaangażowana w lokalną i wysoce komórkowospecyficzną gospodarkę wapniową. Badania opierające się na zmianach genetycznych związanych z ekspresją genu dla PMCA4b wykazały, że ma ona niezmiernie istotne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania układu sercowo-naczyniowego, co jest warunkowane m.in. łączeniem się PMCA4b i syntazy tlenu azotu (nNOs) czy kalcyneuryny [15]. Funkcję receptorową, jaką pełni dla renalazy PMCA4b, udowodniono poprzez immunolokalizację, stosując peptyd RP-220 wobec komórek hodowli HK-2 i mikroskop konfokalny obrazujący związaną RP-220 i PMCA4b. Udział opisywanego receptora w sygnalizacji komórkowej aktywowanej renalazą wykazano z kolei poprzez chemiczne zahamowanie aktywności PMCA4b za pomocą specyficznego inhibitora (*caloxin1b*) lub poprzez zastosowanie

▶▶Do tej pory zidentyfikowano jeden receptor dla renalazy — pompę wapniową PMCA4b (*plasma membrane Ca²⁺-ATPase-4b*), ATPazę zlokalizowaną w błonie komórkowej◀◀



Rycina 2. Proponowany mechanizm działania renalazy poprzez łączenie się z transbłonowym receptorem wapniowym PMCA4b. Akt — kinaza serynowo-treoninowa, kinaza Akt; Bcl-2 — białko antyapoptyczne; p38, ERK — kinazy MAP; STAT3 — czynnik transkrypcyjny

małego interferującego RNA (siRNA, *small interfering RNA*), wyciszającego gen dla PMCA4b, wskutek czego fosforylacja ERK i p38 wywołana przez renalazę została całkowicie zniesiona. Proponowany mechanizm działania renalazy poprzez receptor zaprezentowano na rycinie 2. Należy się także spodziewać dalszych analiz dotyczących receptora dla renalazy, ponieważ badania w tym zakresie są do tej pory ograniczone, a postawiona teza wymaga weryfikacji i potwierdzenia w kolejnych doświadczeniach.

ASPEKTY I ZNACZENIE KLINICZNE

CHOROBY OSTRE I PRZEWLEKLE NEREK, SERCA I TRZUSTKI

Zanim opisano mechanizm cytoprotekcji, istotną rolę ochronną renalazy wobec komórek nerek, serca czy trzustki obserwowano wielokrotnie w sposób pośredni, zarówno na modelach zwierzęcych, jak i hodowlach ko-

mórkowych. Wykazano, że brak zdolności do wytwarzania renalazy u myszy KO poddawanych nerkowemu uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnemu istotnie zwiększa ryzyko wystąpienia niekorzystnych objawów choroby, takich jak martwica kanalików nerkowych, apoptoza i nasilenie stanu zapalnego [13]. Późniejsze badania tej samej grupy badawczej wykazały dodatkowo, że działanie to jest niezależne od aktywności enzymatycznej [12]. U myszy KO obserwuje się również istotnie podwyższone stężenie katecholamin we krwi, tachykardię i umiarkowane nadciśnienie tętnicze, a także hipofosfatemię; są one też bardziej podatne na występowanie niedokrwienia mięśnia sercowego oraz jego martwicy [17]. Łagodzący wpływ renalazy obserwuje się także w przypadku zapalenia trzustki. U myszy KO z ostrym zapaleniem trzustki wywołanym ceruleiną obserwuje się gorszy obraz histologiczny niż w przypadku myszy WT, w tym zwiększony obrzęk i naciekanie makrofagów [18]. Ponadto genetyczne usunięcie renalazy wiąże się z cięższym przebiegiem zapalenia, a podawanie egzogennej renalazy (profilaktyczne lub terapeutyczne) radykalnie zmniejsza nasilenie stanu zapalnego i zmienia komórkowy przepływ wapnia [19].

Dyskusyjne pozostają wciąż zmiany w stężeniu renalazy u chorych nefrologicznych czy kardiologicznych. Zdecydowana większość analiz wykazała, że u osób z chorobami nerek czy układu sercowo-naczyniowego stężenie renalazy jest istotnie wyższe niż u osób zdrowych [20–22]. Zwiększone stężenie renalazy obserwowano też wielokrotnie u chorych hemodializowanych [23–26] czy po przeszczepieniu nerki [27, 28]. Co więcej, wykazano, że u osób z PChN stężenie renalazy w moczu jest skorelowane z jej stężeniem w surowicy, jednak nie różni się istotnie od stężenia w moczu osób zdrowych [29]. Interesująca jest również obserwacja, że zwiększeniu stężenia renalazy w surowicy krwi towarzyszy jego zmniejszenie w erytrocytach; w badaniu tym ponownie stężenie renalazy w moczu nie różniło się istotnie pomiędzy osobami zdrowymi i osobami z PChN, jeśli wziąć pod uwagę całą grupę pacjentów, jak i podział na podgrupy na podstawie stadium choroby (I–V); jednocześnie nie zaobserwowano wykazanej wcześniej korelacji pomiędzy stężeniem renalazy w surowicy i w moczu [30]. Z kolei w przypadku chorych hemodializowanych stężenie renalazy w ultrafiltracie okazało się niższe niż w moczu osób zdrowych, przy czym było istotnie wyższe u osób z diurezą resztkową niż u chorych z bez-

moczem [31]. Wyniki te wskazują zatem, że u pacjentów z PChN istnieje mechanizm ograniczający wydalanie renalazy, nasilający się wraz z pogorszeniem stanu nerek, lub że dochodzi do nadprodukcji tej cząsteczki czy też jej uwalniania z komórek w wyniku ich uszkodzenia i śmierci, przy ograniczonej możliwości jej usuwania z organizmu.

PREKONDYCJONOWANIE NIEDOKRWIENNE

Ochronną rolę renalazy podkreśla się również w prekondycjonowaniu niedokrwienym, zarówno oddalonym (RPC, *remote preconditioning*), jak i lokalnym (IPC, *ischemic preconditioning*). Oddalone prekondycjonowanie niedokrwienne to proces, w którym krótkie okresy indukowanego niedokrwienia narządu lub kończyny przynoszą efekty ochronne wobec innych, także odległych, tkanek, natomiast IPC odnosi się do tego zjawiska w znaczeniu lokalnym [34, 35]. Obserwacja przeprowadzona *in vivo* na szczurzym modelu niedokrwienego uszkodzenia nerki po IPC wykazała, że prekondycjonowanie znacząco łagodzi stan zapalny w cewkach nerkowych, zmniejsza martwicę i stres oksydacyjny, czemu towarzyszy zwiększenie ekspresji genu renalazy [36]. Zahamowanie działania renalazy z użyciem swoistych przeciwciał monoklonalnych osłabia to działanie, sugerując, że renalaza częściowo pośredniczy w ochronnym działaniu IPC wobec nerek. W tym samym badaniu zastosowano hodowlę komórek nabłonkowych kanalików proksymalnych linii HK2, w której renalaza chroniła komórki przed cytotoksycznością wywołaną jowersolem, radiologicznym środkiem kontrastowym, i hamowała aktywność kaspazy-3, stres oksydacyjny oraz apoptozę indukowaną przez H₂O₂. Sugeruje to, że renalaza zapobiega nefropatii pokontrastowej (CIN, *contrast induced nephropathy*) u szczurów poprzez działanie antyoksydacyjne, antyapoptotyczne i przeciwzapalne. W ostatnim czasie ta sama grupa badaczy wykazała, że ochronne działanie RPC wobec nerek podczas CIN zależy od zwiększonej ekspresji genu renalazy wskutek aktywacji szlaku TNF- α /NF- κ B (TNF- α , *tumor necrosis factor α* — czynnik martwicy nowotworów α ; NF- κ B, *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* — jądrowy czynnik transkrypcyjny) [37]. W badaniu tym RPC zapobiegło pogorszeniu czynności nerek, zredukowało uszkodzenie kanalików i zmniejszyło stres oksydacyjny oraz odpowiedź zapalną w nerkach, a wyciszenie ekspresji *RNLS* poprzez siRNA spowodowało

▶▶U pacjentów z PChN istnieje mechanizm ograniczający wydalanie renalazy, nasilający się wraz z pogorszeniem stanu nerek, lub dochodzi do nadprodukcji tej cząsteczki czy też jej uwalniania z komórek w wyniku ich uszkodzenia i śmierci, przy ograniczonej możliwości jej usuwania z organizmu◀◀

▶▶ Ekspresja genu renalazy może być istotnym predyktorem i wskaźnikiem rozwoju nowotworu, a jej hamowanie bądź blokowanie jej działania stanowi interesujący cel terapeutyczny ◀◀

▶▶ Podobnie jak w przypadku fizjologicznej ekspresji genu renalazy w wielu narządach, ekspresję taką zaobserwowano w komórkach licznych nowotworów, w tym m.in. nerki, wątroby, prostaty, piersi czy czerniaka ◀◀

zniesienie tego działania. Badanie to określa istotną rolę renalazy w RPC w nerkach i ustanawia nieznan wcześniej mechanizm, w wyniku którego indukowane niedokrwienie obwodowe prowadzi do uwalniania TNF- α , który następnie indukuje RPC w nerce za pomocą zwiększenia ekspresji renalazy przez NF- κ B [5].

UDZIAŁ W NOWOTWORZENIU

Analizując ochronny wpływ renalazy wobec niedokrwiennego i toksycznego uszkodzenia komórek w mechanizmie sygnalizacji komórkowej przez szlaki dla PI3K-Akt i MAPK, gdzie funkcjonuje jako czynnik antyapoptyczny, zasugerowano, że może ona mieć także związek z proliferacją komórek nowotworowych. Podobnie jak w przypadku fizjologicznej ekspresji genu renalazy w wielu narządach, ekspresję taką zaobserwowano w komórkach licznych nowotworów, w tym m.in. nerki, wątroby, prostaty, piersi czy czerniaka [38, 39]. W przebiegu niektórych spośród nich wykazano stymulowanie rozwoju raka przy wzmożonym wydzielaniu renalazy przez komórki guza. Efekt taki opisano m.in. dla linii komórkowych ludzkiego czerniaka (A375.S2, SkMe128, SkMe15, SkMe15, MeWo, WM266-4), w przypadku których poziom ekspresji genu renalazy korelował dodatnio z ich przeżyciem [40]. W badaniu oceniano także wpływ zahamowania ekspresji genu *RNLS* na rozwój nowotworu, analizowano ekspresję w komórkach zdrowej skóry wobec czerniaka w różnych stadiach, a także zmiany w ekspresji *in vivo* w komórkach czerniaka u myszy. Wykazano, że inaktywacja renalazy poprzez interferencję RNA (RNAi, *RNA interference*), przeciwciała hamujące czy renalazopochodny peptyd hamujący istotnie zmniejszała przeżycie komórek czerniaka. Analizując skórę i komórki czerniaka w różnych stadiach, zaobserwowano, że ekspresja genu *RNLS* zwiększała się proporcjonalnie do stadium zaawansowania nowotworu, a w modelu *in vivo* podawanie przeciwciał przeciwrenalazowych istotnie zmniejszyło objętość nowotworu. Ta sama grupa badawcza przeanalizowała także zmiany w ekspresji genu renalazy dla modelu raka trzustki, co wynikało z zaobserwowanej wcześniej istotnej nadexpresji względem zdrowych komórek tego narządu. Stosując linie komórkowe BxPC-3, Panc1 i MiaPaCa-2, wykazano, że zwiększona sygnalizacja komórkowa wyzwalana przez renalazę stymuluje wzrost gruczolakoraka przewodowego trzustki, a zahamowanie ekspresji genu

renalazy wykazuje działanie przeciwnowotworowe [39]. W badaniu tym, podobnie jak w przypadku czerniaka, zahamowano ekspresję genu *RNLS*, co spowodowało zahamowanie rozwoju nowotworu, podobnie jak podanie przeciwciał zwierzętom stanowiącym model raka trzustki. Powyższe obserwacje wskazują, że ekspresja genu renalazy może być istotnym predyktorem i wskaźnikiem rozwoju nowotworu, a jej hamowanie bądź blokowanie jej działania stanowi interesujący cel terapeutyczny.

CHOROBY PSYCHICZNE I NEURODEGENERACYJNE

Zależności pomiędzy stężeniem renalazy a stężeniem amin katecholowych skłoniły badaczy do analizy zmian w jej stężeniu w przypadku niektórych zaburzeń czy chorób psychicznych oraz neurodegeneracyjnych, jak schizofrenia czy choroba Parkinsona. Kluczowe znaczenie miało wykazanie, że ludzka renalaza jest wytwarzana przez mózg i nerwy obwodowe [41]. W modelu szczurzym wykazano, że renalaza znajduje się w podwzgórzcu, moście, rdzeniu przedłużonym i rdzeniu kręgowym, gdzie zlokalizowane są neurony przedczołowe i przedwojowe, przez co jest wysoce prawdopodobne, że renalaza uczestniczy również w regulacji wydajności układu współczulnego [42]. Rozważając dopaminową hipotezę schizofrenii, porównano stężenia renalazy i amin katecholowych — dopaminy, adrenaliny i noradrenaliny — u pacjentów z tym schorzeniem i u osób zdrowych. Interesująca okazała się obserwacja, że stężenie renalazy w surowicy osób ze zdiagnozowaną schizofrenią było istotnie (4-krotnie) niższe niż u osób zdrowych, czemu towarzyszyło istotnie wyższe stężenie dopaminy we krwi [43]. Zależność tę przypisuje się zdolności renalazy do rozkładania dopaminy i wskazuje, że niewielkie stężenie renalazy sprzyja rozwinięciu się choroby.

STAN PRZEDZRUCAWKOWY

Związek renalazy z ciśnieniem tętniczym stał się podstawą do przeanalizowania zmian w jej stężeniu u kobiet ze stanem przedzruciawkowym, u których obserwuje się pogorszenie czynności nerek oraz nadciśnienie tętnicze, którego przyczyną jest wciąż niepoznana i dyskusyjna. Porównując zdrowe kobiety w ciąży, kobiety ciężarne ze stanem przedzruciawkowym oraz kobiety nieciężarne stanowiące grupę kontrolną, wykazano, że u zdrowych ciężarnych stężenie renalazy jest istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej, podczas gdy u kobiet ze

Tabela 1. Potencjał terapeutyczny rekombinowanego białka renalazy wykazany na podstawie badań z wykorzystaniem zwierzęcych modeli chorób nerek, układu sercowo-naczyniowego oraz nowotworów

Model choroby	Analizowane zjawisko	Obserwacje i wnioski	Piśmiennictwo
Szczury albinosy szczepu Wistar po częściowej (5/6) nefrektomii, podawane i niepoddawane leczeniu renalazą	Przydatność farmakologiczna renalazy w zmniejszaniu negatywnych objawów ze strony układu sercowo-naczyniowego	Ograniczenie zwiększenia średniego ciśnienia tętniczego, przerostu lewej komory serca, stężenia noradrenaliny we krwi, hydroksyproliny w lewej komorze, zmniejszenie napięcia mięśnia brodawkowatego lewej komory, bez zmian w stężeniu kreatyniny czy azotu we krwi	[48]
Mysi model nerkowego uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego (myszy niewytwarzające renalazy)	Zmiany w stężeniu renalazy u myszy z AKI oraz wpływu podania na przebieg choroby	Istotnie rzadsze występowanie AKI, jak również zmniejszenie jego negatywnych skutków	[13]
Szczury szczepu Sprague Dawley po częściowej (5/6) nefrektomii	Wpływ podania renalazy na ciśnienie tętnicze	Istotne krótkotrwałe obniżenie ciśnienia tętniczego (do 48 h)	[8]
Szczury SHRSP, z nadciśnieniem wywołanym dietą wysokosolną	Wpływ podania renalazy na ciśnienie tętnicze	Obniżenie ciśnienia tętniczego o 7 mm Hg 12 h po podaniu białka rekombinowanego	[8]
Myszy niewytwarzające renalazy (KO)	Wpływ rekombinowanej renalazy na ciśnienie tętnicze i stężenie katecholamin	Obniżenie ciśnienia tętniczego skutkujące ograniczeniem nadciśnienia wywołanego niezdolnością do wytwarzania renalazy, zahamowanie rozwoju martwicy mięśnia sercowego	[17]
Szczury szczepu Sprague-Dawley poddane MIRI	Ocena wpływu prewencyjnie podanego preparatu renalazy na przebieg i skutki MIRI	Ograniczenie martwicy i apoptozy komórek mięśnia sercowego wywołanych MIRI	[49]
Szczury szczepu Sprague-Dawley po częściowej (5/6) nefrektomii	Wpływ podawania renalazy na nasilenie objawów zespołu sercowo-nerkowego	Złagodzenie nadciśnienia, uszkodzenia nerek i przebudowy mięśnia sercowego	[50]
Mysi model zapalenia trzustki (wywołany ceruliną)	Wpływ podania renalazy przed indukcją zapalenia na jego przebieg i obraz histologiczny trzustki	Zmniejszenie obrzęku, nacieku makrofagów i neutrofilii, poprawa obrazu histologicznego	[19]
Mysi model raka skóry (czerniaka)	Wpływ podania przeciwciał antyrenalazowych na rozwój nowotworu	Zablokowanie/zahamowanie renalazy hamuje rozwój nowotworu	[40]
Mysi model raka trzustki	Wpływ podania przeciwciał antyrenalazowych na rozwój nowotworu	Zablokowanie/zahamowanie renalazy hamuje rozwój nowotworu	[39]

AKI (*acute kidney injury*) — ostre uszkodzenie nerek; SHRSP (*spontaneously hypertensive stroke prone*) — szczury z nadciśnieniem pierwotnym podatne na udar; MIRI (*myocardial ischemia-reperfusion injury*) — niedokrwiennie-reperfuzyjne uszkodzenie mięśnia sercowego

stanem przedrzucawkowym zależność jest ta odwrotna. Wskazuje to, że wysokie ciśnienie tętnicze i uszkodzenie nerek, które charakteryzują to zaburzenie, mediowane są — przynajmniej częściowo — przez niskie stężenia renalazy [45]. Niemal identyczne obserwacje poczyniono w podobnym badaniu, uwzględniającym zdrowe kobiety ciężarne oraz ciężarne ze stanem przedrzucawkowym w różnym (średnim i ciężkim) stopniu nasilenia, w którym stężenie renalazy zmniejszało się wraz ze stopniem nasilenia stanu przedrzucawkowego [46]. Również polimorfizm w genie kodującym renalazę (rs10887800) wiązał się ze zmianami w ciśnieniu tętniczym i ryzyku wystąpienia preeklampsji co wskazuje, że ciśnienie tętnicze może być podwyższone przez genotyp

GG i allel G polimorfizmu, a polimorfizm może zwiększać podatność na wystąpienie preeklampsji [47].

POTENCJAŁ TERAPEUTYCZNY

Równoległe z odkryciem renalazy (2005) złożone zostały wnioski patentowe dotyczące jej zastosowania terapeutycznego, zarówno w formie aktywnej, jak i nieaktywnej (patent nr US7858084B2, Stany Zjednoczone). W późniejszych latach (2013), wraz z odkryciem zależności pomiędzy stężeniem renalazy a ryzykiem chorób układu sercowo-naczyniowego oraz nerek, złożono wnioski o opatentowanie preparatów zawierających renalazę lub jej fragmenty do stosowania w zapobieganiu chorobom lub

▶▶Renalaza jest zarówno białkiem o aktywności enzymatycznej, jak i cząsteczką aktywującą różne szlaki sygnałowe. Jako enzym utrzymujący odpowiednie stężenie aktywnej formy β -NAD(P)H w komórce łagodzi toksyczość wynikającą z hamowania wielu enzymów przez nieaktywne izomery tego dinukleotydu. Z kolei aktywacja kinaz MAP oraz Akt może wykazywać istotne korzystne działanie ogólnoustrojowe, sprzyjające łagodzeniu niekorzystnych objawów wielu chorób ostrych i przewlekłych◀◀

zaburzeniom ze strony serca lub nerek (patent nr EP2872166A1, Europejski Urząd Patentowy). W 2019 roku do amerykańskiego urzędu patentowego spłynął także wniosek dotyczący stosowania preparatów renalazy oraz nowych metod leczenia i zapobiegania zapaleniu trzustki, uszkodzeniu nerek oraz nowotworom (patent nr 20190382736). Na dzień dzisiejszy wszelkie wnioski patentowe dotyczące renalazy mają jednak status „oczekujący”, stąd informacje dotyczące stosowania tych preparatów są wciąż niedostępne. Jednocześnie przeprowadzono wiele badań z wykorzystaniem modeli zwierzęcych, w których stosowano z powodzeniem zarówno rekombinowany preparat tego białka, jak i przeciwciała antyrenalazowe. Zaobserwowane zależności podsumowano w tabeli 1.

PODSUMOWANIE

Renalaza jest zarówno białkiem o aktywności enzymatycznej, jak i cząsteczką aktywującą różne szlaki sygnałowe. Jako enzym utrzymujący odpowiednie stężenie aktywnej

formy β -NAD(P)H w komórce łagodzi toksyczość wynikającą z hamowania wielu enzymów przez nieaktywne izomery tego dinukleotydu. Z kolei aktywacja kinaz MAP oraz Akt może wykazywać istotne korzystne działanie ogólnoustrojowe, sprzyjające łagodzeniu niekorzystnych objawów wielu chorób ostrych i przewlekłych. Ochronny wpływ renalazy na komórki i sprzyjanie ich proliferacji mogą jednak przynieść także niekorzystne efekty w przypadku chorych onkologicznych. Biorąc pod uwagę aktualne dane, stężenie renalazy we krwi czy w moczu może się okazać ważnym parametrem wspomagającym diagnostykę i określenie postępu wielu chorób nerek, układu sercowo-naczyniowego czy trzustki, konieczne jest jednak określenie przyczyny zmian w stężeniu tego białka w różnych materiałach klinicznych. Należy również oczekiwać, że postęp w badaniach dotyczących działania renalazy w niedługim czasie będzie skutkował przeprowadzeniem badań klinicznych z zastosowaniem jej preparatów.

STRESZCZENIE

Renalaza to niewielkie białko o dobrze poznanej budowie, lecz dyskusyjnym mechanizmie działania. Ze względu na jej strukturę i właściwości początkowo wskazywano, że jest enzymem o działaniu zbliżonym do monoaminooksydaz. Kolejne badania wykazały, że jej ochronne, ogólnoustrojowe działanie prawdopodobnie nie ma związku z aktywnością enzymatyczną, lecz z uczestnictwem w sygnalizacji komórkowej. Ochronną rolę renalazy wykazano wobec takich narządów, jak m.in. nerki, serce i trzustka, jednak z uwagi na jej właściwości cytoprotekcyjne okazała się także sprzyjać powstawaniu i rozwojowi niektórych nowotworów. Opierając się na modelach

zwierzęcych, wykazano skuteczność podawania preparatów renalazy w łagodzeniu niekorzystnych skutków uszkodzenia, niedotlenienia czy stanu zapalnego. Jednocześnie w przypadku nowotworów hamowanie renalazy na poziomie genu bądź stosowanie specyficznych przeciwciał blokujących jej działanie sprzyjało zahamowaniu rozrostu nowotworu i poprawie ogólnego czasu przeżycia chorych. Renalaza może się zatem okazać skutecznym środkiem terapeutycznym, przy czym występowanie nowotworów wydaje się istotnym przeciwwskazaniem do jej stosowania.

Forum Nefrol 2020, tom 13, nr 2, 59–68

Słowa kluczowe: renalaza, przewlekła choroba nerek, nowotworzenie, sygnałowanie komórkowe

Piśmiennictwo

1. Xu J., Li G., Wang P. i wsp. Renalase is a novel, soluble monoamine oxidase that regulates cardiac function and blood pressure. *J. Clin. Invest.* 2005; 115: 1275–1280.
2. The Human Protein Atlas 2020. Tissue expression of RNLS. Summary; <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000184719-RNLS/tissue>.
3. Aydin S. Renalase, catecholamine and nitric oxide changes before and after sodium nitroprusside administration to patients who develop post-coronary artery by-pass (CABG) hypertension. *Heart Surg. Forum.* 2018; 21: E330–E336.
4. Desir G.V., Wang L., Peixoto A.J. Human renalase: a review of its biology, function, and implications for hypertension. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2012; 6: 417–426.
5. Giordano F.J., Wang Y., Desir G.V. A remote role for renalase. *EBioMedicine* 2016; 9: 27–28.
6. Moran G.R., Hoag M.R. The enzyme: renalase. *Arch. Biochem. Biophys.* 2017; 632: 66–76.
7. Boomsma F., Tipton K.F. Renalase, a catecholamine-metabolising enzyme? *J. Neural. Transm.* 2007; 114: 775–776.
8. Desir G.V., Tang L., Wang P. i wsp. Renalase lowers ambulatory blood pressure by metabolizing circulating adrenaline. *J. Am. Heart Assoc.* 2012; 1: e002634.
9. Beaupre B.A., Hoag M.R., Carmichael B.R., Moran G.R. Kinetics and equilibria of the reductive and oxidative half-reactions of human renalase with alpha-NADPH. *Biochemistry* 2013; 52: 8929–8937.

10. Beaupre B.A., Carmichael B.R., Hoag M.R., Shah D.D., Moran G.R. Renalase is an alpha-NAD(P)H oxidase/anomerase. *J. Am. Chem. Soc.* 2013; 135: 13980–13987.
11. Beaupre B.A., Hoag M.R., Roman J., Forsterling F.H., Moran G.R. Metabolic function for human renalase: oxidation of isomeric forms of beta-NAD(P)H that are inhibitory to primary metabolism. *Biochemistry* 2015; 54: 795–806.
12. Wang L., Velazquez H., Moeckel G. i wsp. Renalase prevents AKI independent of amine oxidase activity. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014; 25: 1226–1235.
13. Lee H.T., Kim J.Y., Kim M. i wsp. Renalase protects against ischemic AKI. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2013; 24: 445–455.
14. Wang L., Velazquez H., Chang J., Safirstein R., Desir G.V. Identification of a receptor for extracellular renalase. *PLoS One* 10: e0122932.
15. Strehler E.E. Plasma membrane calcium ATPases as novel candidates for therapeutic agent development. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2013; 16: 190–206.
16. Penniston J.T., Padanyi R., Paszty K., Varga K., Hegedus L., Enyedi A. Apart from its known function, the plasma membrane Ca(2+)-ATPase can regulate Ca(2+) signaling by controlling phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate levels. *J. Cell Sci.* 2014; 127 (cz. 1): 72–84.
17. Wu Y., Xu J., Velazquez H. i wsp. Renalase deficiency aggravates ischemic myocardial damage. *Kidney Int.* 2011; 79: 853–860.
18. Kolodecik T.R., Reed A.M., Date K. i wsp. The serum protein renalase reduces injury in experimental pancreatitis. *J. Biol. Chem.* 2017; 292: 21047–21059.
19. Kolodecik T., Gorelick F., Desir G., Reed A. Renalase protects against acute pancreatitis. *Pancreas* 2014; 43: 1381.
20. Baek S.H., Cha R.H., Kang S.W. i wsp. Circulating renalase predicts all-cause mortality and renal outcomes in patients with advanced chronic kidney disease. *Korean J. Intern. Med.* 2019; 34: 858–866.
21. Gluba-Brzozka A., Michalska-Kasiczak M., Franczyk-Skora B. i wsp. Markers of increased cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease. *Lipids Health Dis.* 2014; 13: 135.
22. Wang F., Li J., Xing T., Xie Y., Wang N. Serum renalase is related to catecholamine levels and renal function. *Clin. Exp. Nephrol.* 2015; 19: 92–98.
23. Dziedzic M., Petkowicz B., Bednarek-Skublewska A. i wsp. Relationship between renalase and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT pro-BNP) in haemodialysis patients. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2014; 21: 132–135.
24. Oguz E.G., Gursoy G.K., Yayar O. i wsp. Increased serum renalase in hemodialysis patients: is it related to left ventricular hypertrophy? *Ren. Fail.* 2016; 38: 1180–1186.
25. Koc-Zorawska E., Malyszko J., Zbroch E., Mysliwiec M. Vascular adhesion protein-1 and renalase in regard to diabetes in hemodialysis patients. *Arch. Med. Sci.* 2012; 8: 1048–1052.
26. Zbroch E., Malyszko J., Malyszko J.S., Koc-Zorawska E., Mysliwiec M. Renalase, a novel enzyme involved in blood pressure regulation, is related to kidney function but not to blood pressure in hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res.* 2012; 35: 395–399.
27. Zbroch E., Malyszko J., Koc-Zorawska E., Mysliwiec M. Renalase, kidney function, and markers of endothelial dysfunction in renal transplant recipients. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2012; 122: 40–44.
28. Malyszko J., Zbroch E., Malyszko J.S., Koc-Zorawska E., Mysliwiec M. Renalase, a novel regulator of blood pressure, is predicted by kidney function in renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2011; 43: 3004–3007.
29. Serwin N.M., Wiśniewska M., Cecerska-Heryć E. i wsp. Serum-to-urine renalase ratio and renalase fractional excretion in healthy adults and chronic kidney disease patients. *BMC Nephrol.* 2020; 21: 77.
30. Wisniewska M., Serwin N., Dzieziczko V. i wsp. Chronic kidney disease is associated with increased levels of renalase in serum and decreased in erythrocytes. *Pol. Arch. Intern. Med.* 2019; 129: 790–797.
31. Malyszko J., Koc-Zorawska E., Zorawski M. i wsp. Renalase is removed by kidneys and during dialysis — excess related to CKD complications? *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2015; 13: 134–140.
32. Maciorkowska D., Zbroch E., Malyszko J. Circulating renalase, catecholamines, and vascular adhesion protein 1 in hypertensive patients. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2015; 9: 855–864.
33. Dziedzic M., Orłowska E., Petkowicz B., Bednarek-Skublewska A., Solski J., Gozdziwska M. Levels of renalase and advanced oxidation protein products with regard to catecholamines in haemodialysed patients. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2017; 24: 453–458.
34. Heusch G., Botker H.E., Przyklenk K., Redington A., Yellon D. Remote ischemic conditioning. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015; 65: 177–195.
35. Dave K.R., Saul I., Prado R., Busto R., Perez-Pinzon M.A. Remote organ ischemic preconditioning protect brain from ischemic damage following asphyxial cardiac arrest. *Neurosci. Lett.* 2006; 404: 70–75.
36. Wang F., Zhang G., Xing T. i wsp. Renalase contributes to the renal protection of delayed ischaemic preconditioning via the regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha. *J. Cell. Mol. Med.* 2015; 19: 1400–1409.
37. Wang F., Yin J., Lu Z. i wsp. Limb ischemic preconditioning protects against contrast-induced nephropathy via renalase. *EBioMedicine* 2016; 9: 356–365.
38. The Human Protein Atlas 2020. Expression of RNLS in cancer. Summary; <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000184719-RNLS/pathology>.
39. Guo X., Hollander L., MacPherson D. i wsp. Inhibition of renalase expression and signaling has antitumor activity in pancreatic cancer. *Sci. Rep.* 2016; 6: 22996.
40. Hollander L., Guo X., Velazquez H. i wsp. Renalase expression by melanoma and tumor-associated macrophages promotes tumor growth through a STAT3-mediated mechanism. *Cancer Res.* 2016; 76: 3884–3894.
41. Hennebry S.C., Eikelis N., Socratous F., Desir G., Lambert G., Schlaich M. Renalase, a novel soluble FAD-dependent protein, is synthesized in the brain and peripheral nerves. *Mol. Psychiatry* 2010; 15: 234–236.
42. Wang F., Xing T., Li J. i wsp. Renalase's expression and distribution in renal tissue and cells. *PLoS One* 2012; 7: e46442.
43. Catak Z., Kocdemir E., Ugur K. i wsp. A novel biomarker renalase and its relationship with its substrates in schizophrenia. *J. Med. Biochem.* 2019; 38: 299–305.
44. Aydin S., Oruc Y., Yardim M. May excessiveness of renalase enzyme be one of the underlying biochemical and endocrinal mechanisms of late reanimation from anaesthesia. *J. Cell Biol. Metabol.* 2018; 1: 10–11.
45. Yilmaz Z.V., Akkas E., Yildirim T., Yilmaz R., Erdem Y. A novel marker in pregnant with preeclampsia: renalase. *J. Matern. Fetal Neonatal. Med.* 2017; 30: 808–813.
46. Allam H.A., Abdelaal D.E. Renalase as a biomarker in gestations with preeclampsia. *J. Gynecol. Women's Health* 2018; 11: 1–4.

47. Bagci B., Karakus S., Bagci G., Sancakdar E. Renalase gene polymorphism is associated with increased blood pressure in preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2016; 6: 115–120.
48. Baraka A., El Ghotny S. Cardioprotective effect of renalase in 5/6 nephrectomized rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2012; 17: 412–416.
49. Li X., Xie Z., Lin M. i wsp. Renalase protects the cardiomyocytes of Sprague-Dawley rats against ischemia and reperfusion injury by reducing myocardial cell necrosis and apoptosis. *Kidney Blood Press. Res.* 2015; 40: 215–222.
50. Yin J., Lu Z., Wang F. i wsp. Renalase attenuates hypertension, renal injury and cardiac remodelling in rats with subtotal nephrectomy. *J. Cell Mol. Med.* 2016; 20: 1106–1017.
51. Beaupre B.A., Roman J.V., Hoag M.R. i wsp. Ligand binding phenomena that pertain to the metabolic function of renalase. *Arch. Biochem. Biophys.* 2016; 612: 46–56.