

Mgr inż. Natalia Krata

**Peroksyredoksyny – markery stresu oksydacyjnego –
w przewlekłej chorobie nerek o różnej etiologii**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i
nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha

Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed
Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022 r.

Słowa kluczowe: przewlekła choroba nerek, kłębuszkowe zapalenia nerek, nefropatia IgA, nefropatia toczniowa, nefropatia błoniasta, stres oksydacyjny, peroksyredoksyny

Keywords: chronic kidney disease, glomerulonephritis, IgA nephropathy, lupus nephritis, membranous nephropathy, oxidative

Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW



Biblioteka Główna

BIBG/Punktacja/ 892 /2021/OZ

Warszawa, 17 grudnia 2021 r.

ANALIZA BIBLIOMETRYCZNA PUBLIKACJI

PANI NATALII KRATY

WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

Lp.	Opis bibliograficzny	Impact Factor	MEiN
Artykuły			
1.	Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis. <i>Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis</i> . 2022;70(1):3 (Rodzaj publikacji: praca oryginalna)	4,291	140
2.	Krata N, Zagożdżon R, Foroniewicz B, Mucha K. Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence? <i>Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis</i> . 2018;66(3):211-220 (Rodzaj publikacji: praca poglądowa)	2,878	25
Liczba punktów:		7,169	165
Książki			
1.	-		
Rozdziały w książkach			
1.	-		

KIEROWNIK
Oddziału Informacji Naukowej

mgr Anna Ajdukiewicz-Tarkowska

ul. Żwirki i Wigury 63, 02-091 Warszawa
tel. 22 116 60 11
www.biblioteka.wum.edu.pl

Wykaz publikacji z całkowitego dorobku



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Biblioteka Główna



BIBG/Punkcja/495/2021/OZ

Warszawa, 17 grudnia 2021 r.

**ANALIZA BIBLIOMETRYCZNA CAŁOKSZTAŁTU DOROBKU PUBLIKACYJNEGO
PANI NATALII KRATY
W POSTĘPOWANIU O NADANIE STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA**

Lp.	Opis bibliograficzny	Impact Factor	MEiN
1. Artykuły opublikowane w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych ujętych w aktualnym wykazie MEiN¹			
1.	Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis. <i>Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis</i> . 2022;70(1):3 (Rodzaj publikacji: praca oryginalna)	4,291	140
2.	Nazaruk P, Monticolo M, Jędrzejczak A, Krata N, Moszczuk B, Sańko-Resmer J, Pilecki T, Urbanowicz A, Florczak M, Pączek L, Foroniewicz B, Mucha K. Unexpectedly High Efficacy of SARS-CoV-2 BNT162b2 Vaccine in Liver versus Kidney Transplant Recipients—Is It Related to Immunosuppression Only? <i>Vaccines</i> . 2021;9(12):1454 (Rodzaj publikacji: praca oryginalna)	4,422	140
3.	Pac M, Krata N, Moszczuk B, Wyczalkowska-Tomasik A, Kaleta B, Foroniewicz B, Rudnicki W, Pączek L, Mucha K. NR3C1 Glucocorticoid Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Membranous and IgA Nephropathies. <i>Cells</i> . 2021;10(11):3186 (Rodzaj publikacji: praca oryginalna)	6,600	140
4.	Kaleta B, Krata N, Zagożdżon R, Mucha K. Osteopontin Gene Polymorphism and Urinary OPN Excretion in Patients with Immunoglobulin A Nephropathy. <i>Cells</i> . 2019;8(6):524 (Rodzaj publikacji: praca oryginalna)	4,366	140
5.	Krata N, Zagożdżon R, Foroniewicz B, Mucha K. Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence? <i>Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis</i> . 2018;66(3):211-220 (Rodzaj publikacji: praca poglądowa)	2,878	25
Liczba punktów:		22,557	585

¹ Wykaz sporządzony zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.). Wykaz stanowi załącznik do komunikatu MEiN z 2 grudnia 2021 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

ul. Żwirki i Wigury 63, 02-091 Warszawa
tel. 22 116 60 11
www.biblioteka.wum.edu.pl

II. Artykuły opublikowane przed 1.01.2019 r. w czasopiśmie MNISW z dnia 25.01.2017 r., o ile czasopismo uzyskało co najmniej 10 pkt.			
brak			
Liczba punktów:			
III. Pozostałe artykuły			
6.	Kamińska J, Stopiński M, Krata N, Moszczuk B, Foroniewicz B. Biomarkery uszkodzenia naczyń u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. Forum Nefrologiczne. 2017;10(1):1-9 (Rodzaj publikacji: praca poglądowa)	-	5
Liczba punktów:			5
Punktacja łączna (cz. I- III):			22,557 590
IV. Monografie naukowe/rozdziały w monografiach wydane przez wydawnictwa ujęte w wykazie MNISW² lub jednostki organizacyjne podmiotów, których wydawnictwa są ujęte w tym wykazie			
brak			
V. Pozostałe monografie lub rozdziały w monografiach			
brak			
VI. Patenty			
brak			

KIEROWNIK
 Oddziału Informacji Naukowej

 mgr Anns Ajdukiewicz-Tarkowska

² Wykaz sporządzony zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.). Wykaz ogłoszony komunikatem MNISW z dnia 29 września 2020 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe.

ŻYCIORYS NAUKOWY

WYKSZTAŁCENIE

od 1/10/2017 Studia III-go stopnia (doktoranckie) na I Wydziale Lekarskim Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Muchy

2015-2016 Studia II-go stopnia (magisterskie) na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej im. Ignacego Łukasiewicza, kierunek Biotechnologia, specjalność „Analiza i oczyszczanie produktów biotechnologicznych”

Temat pracy magisterskiej: Nośniki dendrymerowe ukierunkowujące leki przeciwnowotworowe do komórek rakowych *in vitro*.

2011-2015 Studia I-go stopnia (inżynierskie) na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej im. Ignacego Łukasiewicza, kierunek Biotechnologia, specjalność „Analiza i oczyszczanie produktów biotechnologicznych”

Temat pracy inżynierskiej: Wpływ biokoniugatu opartego na strukturze dendrymeru PAMAM G3 na hodowle *in vitro* ludzkich komórek raka płaskonabłonkowego.

2008-2011 IV Liceum Ogólnokształcące im. Mikołaja Kopernika w Rzeszowie

ZATRUDNIENIE

- od 1/06/2019 Koordynator badania klinicznego CureGN realizowanego przez Warszawski Uniwersytet Medyczny we współpracy z Columbia University w Nowym Jorku, finansowanego przez konsorcjum NIH-NIDDK
- od 10/01/2018 Technik laboratoryjny w badaniu klinicznym CureGN realizowanym przez Warszawski Uniwersytet Medyczny we współpracy z Columbia University w Nowym Jorku, finansowanego przez konsorcjum NIH-NIDDK
- 03/2019 - 08/2019 Technik diagnostyczny w Klinice Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.
- 10/2016 - 01/2018 Pracownik naukowo-techniczny w Klinice Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

ZNAJOMOŚĆ JĘZYKÓW OBCYCH

- język angielski średniozaawansowany (poziom B2)
- język niemiecki średniozaawansowany (poziom B2)

KONGRESY i KURSY SZKOLENIOWE

Międzynarodowe

- 2019** 56 Kongres ERA/EDTA, Budapeszt – prezentacja pracy
- 2018** 43 Kongres Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych (FEBS), Praga – prezentacja pracy

Krajowe

- 2019** X Kurs Transplantologii Praktycznej, 8-9/03/2019, Warszawa
- 2018** Nowoczesne metody biologii molekularnej w diagnostyce medycznej i badaniach naukowych. 19-23/03/2018, Warszawa

- 2017** IX Kurs Transplantologii Praktycznej, 15-16/09/2017, Warszawa
- 2017** Hodowla komórek adherentnych i w zawiesinie. Transfekcja. 6-7/02/2017, Warszawa
- 2017** Podstawy techniki immunoenzymatycznej ELISA – kurs praktyczny. 26/01/2017, Warszawa
- 2017** Technika cytometrii przepływowej - analiza fenotypu, proliferacji i żywotności komórek. 9-10/01/2017, Warszawa

NAGRODY i WYRÓŻNIENIA

- 2020** Naukowa Nagroda Zespołowa II° J.M. Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
- 2019** Nagroda Specjalna Zespołowa J.M. Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za współpracę z National Institute of Health w ramach projektu CureGN
- 2016** Nagroda J.M. Rektora Politechniki Rzeszowskiej za osiągnięcia naukowe
- 2015** Nagroda J.M. Rektora Politechniki Rzeszowskiej za osiągnięcia naukowe

WSPÓLAUTORSTWO W ZGŁOSZENIACH PATENTOWYCH

- 2018** PCT/EP2018/052837; WO 2018/141975 A1 (**09/08/2018**) - Use of serum 2-cysteine peroxiredoxins (2-cys-prdx) as biomarkers of chronic kidney diseases.
- 2020** a) Zgłoszenie do Urzędu Patentowego RP (**31/01/2020**) - Metoda skринingowa diagnostyki przewlekłej choroby nerek i/lub kłębuszkowych zapaleń nerek oraz metoda monitorowania odpowiedzi na leczenie przewlekłej choroby nerek i/lub kłębuszkowych zapaleń nerek.

b) PCT/IB2020/060568, International Bureau of the World Intellectual Property Organization (10/11/2020) - Method of screening for a chronic kidney disease or glomerulopathy, method of monitoring a response to treatment of a chronic kidney disease or glomerulopathy in a subject and a method of treatment of a chronic kidney disease or glomerulopathy

2020 a) Zgłoszenie do Urzędu Patentowego RP (31/01/2020) - Proteomiczna metoda diagnostyczna rozpoznawania i różnicowania typów przewlekłej choroby nerek i/lub kłębuszkowych zapaleń nerek, oraz metoda monitorowania odpowiedzi na leczenie przewlekłej choroby nerek i/lub kłębuszkowych zapaleń nerek.

b) PCT/IB2020/060569, International Bureau of the World Intellectual Property Organization (10/11/2020) - Method of differentiating of a chronic kidney disease or glomerulopathy, method of monitoring a response to treatment of a chronic kidney disease or glomerulopathy in a subject and a method of treatment of a chronic kidney disease or glomerulopathy.

DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA NA RZECZ UCZELNI

Zajęcia dydaktyczne:

- 1) Wydział Lekarski – propedeutyka interny (2019-2021)
- 2) WNoZ – w ramach zajęć z chorób wewnętrznych dla studentów: położnictwa (2017-2021); pielęgniarstwa (2017-2019); zdrowia publicznego (2017-2018)

DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA

członek Komitetu Organizacyjnego

2019 X Kurs Transplantologii Praktycznej, 8-9/03/2019, Warszawa

2017 IX Kurs Transplantologii Praktycznej, 15-16/09/2017, Warszawa

DOROBEK NAUKOWY

	CAŁKOWITY	PRACE DO DOKTORATU
IF	22,557	7,169
PUNKTY MNiSW / MEiN	590	165

CYKL PUBLIKACJI DO DOKTORATU

- 1) Arch Immunol Ther Exp (Warsz). **2018**; 66(3): 211-220
Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?
Krata N, Zagożdżon R, Foroniewicz B, Mucha K.
IF 2,878 MNiSW 25
- 2) Arch Immunol Ther Exp (Warsz). **2022, 70 (3)**
Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress
in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis.
Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L,
Mucha K
IF 4,291 MEiN 140

POZOSTAŁE PUBLIKACJE

- 3) Vaccines. **2021**; 9, 1454
Unexpectedly High Efficacy of SARS-CoV-2 BNT162b2 Vaccine in Liver versus
Kidney Transplant Recipients—Is It Related to Immunosuppression Only? Nazaruk,
P.; Monticolo, M.; Jędrzejczak, A.M.; **Krata, N.**; Moszczuk, B.; Sańko-Resmer, J.;
Pilecki, T.; Urbanowicz, A.; Florczak, M.; Pączek, L.; Foroniewicz, B.; Mucha, K.
IF 4,422 MEiN 140
- 4) Cells. **2021**; 10(11): 3186
NR3C1 Glucocorticoid Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with
Membranous and IgA Nephropathies

Pac M, **Krata N**, Moszczuk B, Wyczałkowska-Tomasik A, Kaleta B, Foroniewicz B, Rudnicki W, Pączek L, Mucha K

IF 6,600 **MEiN 140**

5) Cells. **2019**; 8(6): 524

Osteopontin Gene Polymorphism and Urinary OPN Excretion in Patients with Immunoglobulin A Nephropathy.

Kaleta B, **Krata N**, Zagożdżon R, Mucha K.

IF 4,366 **MNiSW 140**

6) Forum Nefrologiczne, **2017**; 10: 1-9

Biomarkery uszkodzenia naczyń u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek

Kamińska J, Stopiński M, **Krata N**, Moszczuk B, Foroniewicz B,

IF: 0 **MNiSW: 5**

W TRAKCIE RECENZJI

7) Nature Genetics, **2022**

GWAS defines pathogenic signaling pathways and prioritizes drug targets for IgA nephropathy.

Kiryluk K, et.al

IF: 38,33 **MEiN: 200**

PREZENTACJE PRAC NA KONFERENCJACH ZAGRANICZNYCH LUB MIĘDZYNARODOWYCH (czynny udział) - prezentacja pracy

2019

1) **Krata N**, Moszczuk B, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Niemczyk M, Pączek L, Mucha K.

SERUM 2-CYSTEINE PEROXIREDOXINS: POTENTIAL BIOMARKERS OF IGA NEPHROPATHY AND LUPUS NEPHRITIS.

Nephrol Dial Transplant 2019; 34: 428. 56th ERA-EDTA Congress, Budapest, 13-16/06/2019.

2018

- 2) **Krata N**, Zagożdżon R, Foroniewicz B, Niemczyk M, Pączek L, Mucha K. 2-CYSTEINE PEROXIREDOXINS AS OXIDATIVE STRESS-RELATED BIOMARKERS IN CHRONIC KIDNEY DISEASES OF DIFFERENT ORIGIN.
43rd FEBS Congress, Prague, 7-12/07/2018.

PREZENTACJE PRAC NA KONFERENCJACH ZAGRANICZNYCH LUB MIĘDZYNARODOWYCH - współautorstwo pracy

2021

- 1) Pac M, **Krata N**, Kaleta B, Moszczuk B, Wyczałkowska-Tomasik A, Prystupa J, Kiryluk K, Mucha K. NR3C1 POLYMORPHISMS IN MEMBRANOUS AND IGA NEPHROPATHIES.
American Society of Nephrology (ASN) Kidney Week, *Online*, 4-7/11/2021

2020

- 2) Moszczuk B, **Krata N**, Cysewski D, Perkowska-Ptasińska A, Pączek L, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Mucha K. URINARY PROTEOMIC MARKERS OF MEMBRANOUS NEPHROPATHY.
Nephrol Dial Transplant 2020; 35: 799. 57th ERA-EDTA *Virtual Congress*, 6-9/06/2020
- 3) Foroniewicz B, Mucha K, Gładki A, Moszczuk B, **Krata N**, Monticolo M, Zielenkiewicz U, Zielenkiewicz P, Pączek L. CELL FREE DNA BACTERIAL SEQUENCES IN PATIENTS WITH LUPUS NEPHRITIS DIFFER FROM PATIENTS WITH IGA NEPHROPATHY AND MEMBRANOUS NEPHROPATHY.
12th European Lupus Meeting, *Online*, 25-27/03/2020

2019

- 4) Mucha K, Foroniewicz B, Lerut J, Moszczuk B, Florczak M, Perkowska A, **Krata N**, Zagożdżon R, Urbanowicz A, Knioła E, Zieniewicz K, Pączek L. IMMUNOSUPPRESSION MINIMIZATION IN LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS.

Transplant Int 2019; 32: 386. 19th Congress of the European Society for Organ Transplantation ESOT, Copenhagen, 15-19/09/2019

- 5) Moszczuk B, **Krata N**, Pilżys T, Garbicz D, Marcinkowski M, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Cysewski D, Pączek L, Mucha K. URINARY PROTEOMIC MARKERS OF IGA NEPHROPATHY, LUPUS NEPHRITIS AND MEMBRANOUS NEPHROPATHY.
Nephrol Dial Transplant 2019; 34: 282. 56th ERA-EDTA Congress, Budapest, 13-16/06/2019

2018

- 6) Kamińska J, Stopiński M, Mucha K, Moszczuk B, Małczuk B, Krata N, Gołębiowski M, Niewczas M, Pączek L, Foroniewicz B.
INTERLEUKIN 6 AND CALCIUM SCORE PREDICT THE RISK OF 5-YEAR ALL-CAUSE MORTALITY IN CKD PATIENTS.
Nephrol Dial Transplant 2018; 33: 395. 55th ERA-EDTA Congress, Copenhagen, 24-27/05/2018

TEMAT STUDIÓW DOKTORANCKICH (2017 – 2021)

STRES OKSYDACYJNY W DIAGNOSTYCE I PROGRESJI PRZEWLEKŁEJ CHOROBY NEREK O RÓŻNEJ ETIOLOGII

TEMAT PRZEWODU DOKTORSKIEGO:

PEROKSYREDOKSYNY – MARKERY STRESU OKSYDACYJNEGO –
W PRZEWLEKŁEJ CHOROBY NEREK O RÓŻNEJ ETIOLOGII

Serdeczne podziękowania kieruję do

Prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Muchy

za stworzenie koncepcji badania, opiekę merytoryczną oraz nieocenione wsparcie i wszelkie cenne uwagi, które umożliwiły realizację niniejszej rozprawy.

Rodzicom i Grzegorzowi

Spis treści

1. Spis rycin	18
2. Wykaz stosowanych skrótów	19
3. Streszczenie w języku polskim	21
4. Streszczenie w języku angielskim	23
5. Wstęp	
4.1 Przewlekła choroba nerek	25
4.2 Markery przewlekłej choroby nerek	27
4.3 Stres oksydacyjny	28
4.4 Peroksyredoksyny	29
4.5 Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji	31
6. Założenia i cel pracy	
5.1 Założenia pracy	33
5.2 Cele pracy	34
7. Kopie opublikowanych prac	
6.1 Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?	35
6.2 Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis	47
 <u>zgłoszenie patentowe:</u>	
Use of serum 2-cysteine peroxiredoxins (2-cys-prdx) as biomarkers of chronic kidney diseases.	
numer: PCT/EP2018/052837; WO 2018/141975 A1	65
8. Podsumowanie	68
9. Wnioski	69
10. Literatura	70
11. Opinie Komisji Bioetycznej	73
12. Oświadczenia współautorów publikacji	77

1. Spis Rycin

Ryc. 1 Schemat zjawiska stresu oksydacyjnego na poziomie komórkowym (na podstawie publikacji: Krata, N., et al. *Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?* Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2018).

Ryc. 2 Barwienia immunohistochemiczne bioptatów nerki z wykorzystaniem trójkolorowego barwienia Massona, odczynnika Schiffa oraz znakowanie przeciwciałem anti-PRDX3 u pacjentów z ostrą martwicą cewek oraz w grupie kontrolnej (na podstawie publikacji: Wu, C.L., et al. *Tubular Peroxiredoxin 3 as a Predictor of Renal Recovery from Acute Tubular Necrosis in Patients with Chronic Kidney Disease*. Sci Rep, 2017).

Ryc. 3 Panel stężeń peroksyredoksyn 1-5 (tzw. heatmapa) u pacjentów z IgAN, MN lub LN (na podstawie publikacji: Krata, N., et al. *Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2021).

2. Wykaz stosowanych skrótów

- 1 – Cys – PRDX** – single cysteine peroxiredoxin / peroksyredoksyna jednocysteinowa
- 2 – Cys – PRDX** – double cysteine peroxiredoxin / peroksyredoksyna dwucysteinowa
- AKI** – acute kidney injury / ostra niewydolność nerek
- BMI** – body mass index / wskaźnik masy ciała
- C3** – complement component C3 / składowa dopełniacza C3
- C4** – complement component C4 / składowa dopełniacza C4
- CKD** – chronic kidney disease / przewlekła choroba nerek
- eGFR** – estimated glomerular filtration rate / szacowane przesączanie kłębuszkowe
- GN** – glomerularnephritis / kłębuszkowe zapalenia nerek
- GPX** – glutathione peroxidase / peroksydaza glutationu
- GR** – glutathione reductase / reduktaza glutationu
- GRX** – glutaredoxin reductase / reduktaza glutaredoksyny
- GS** – glutamine synthetase / syntetaza glutaminowa
- GSH** – glutathione (reduced) / glutation (zredukowany)
- GSSG** – glutathione (oxidized) / glutation (utleniony)
- GST** – glutathione S – transferase / S – transferaza glutationu
- H₂O₂** – hydrogen peroxide / nadtlenek wodoru
- HCT** – hematocrit / hematokryt
- HGB** – hemoglobin / hemoglobina
- IgAN** – IgA nephropathy / nefropatia IgA
- KIM-1** – kidney injury molecule-1/ cząsteczka-1 uszkodzenia nerek
- LN** – lupus nephritis / nefropatia toczniowa
- MN** – membranous nephropathy / nefropatia błoniasta
- NADPH** – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase / dinukleotydy nikotynoamidoadeninowy
- OS** – oxidative stress / stres oksydacyjny
- PChN** – przewlekła choroba nerek
- PLA2R** – phospholipase A2 receptor / receptor fosfolipazy A2
- PLT** – blood platelets / płytki krwi
- PRDXs'** – peroxiredoxins / peroksyredoksyny
- PRDX 1** – peroxiredoxin 1 / peroksyredoksyna 1

PRDX 2 – peroxiredoxin 2 / peroksyredoksyna 2

PRDX 3 – peroxiredoxin 3 / peroksyredoksyna 3

PRDX 4 – peroxiredoxin 4 / peroksyredoksyna 4

PRDX 5 – peroxiredoxin 5 / peroksyredoksyna 5

RBC – red blood cells / czerwone krwinki

ROS – reactive oxygen species / reaktywne formy tlenu

SLE – systemic lupus erythematosus / toczeń układowy

SOD – superoxide dismutase / dysmutaza ponadtlenkowa

TXN – thioredoxin / tioredoksyna

TXNRD – thioredoxin reductase / reduktaza tioredoksyny

3. Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Stres oksydacyjny (oxidative stress, OS) zwyczajowo uważany jest za zaburzenie w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. W związku z tym najprawdopodobniej jest on nieodłącznym elementem patofizjologii większości chorób, a nieprawidłowe poziomy markerów OS mogą prowadzić do uszkodzeń w obrębie komórek, tkanek i narządów.

Na podstawie publikacji naukowych wiemy, że niektóre z markerów OS – między innymi peroksyredoksyny dwucysteinowe (2-Cys-PRDX), mają znaczenie w patogenezie i progresji przewlekłej choroby nerek (PChN, Chronic Kidney Disease, CKD). Wiadomo, że 2-Cys-PRDX należą do powszechnie znanych markerów związanych ze stresem oksydacyjnym, są częścią systemów przeciwutleniającego oraz sygnałowego. Ich najbardziej znaną oraz najistotniejszą funkcją jest zdolność do redukcji nadmiaru nadtlenu wodoru, jednego z najważniejszych mediatorów stresu oksydacyjnego. Ponadto, 2-Cys-PRDX funkcjonują jako czaperony oraz regulatory i przekaźniki sygnałów komórkowych.

Uważamy - również na podstawie prac własnych - że 2-Cys-PRDX mogą w różnym stopniu brać udział w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek, np. nefropatii IgA (IgAN), nefropatii błoniastej (MN) czy nefropatii toczniowej (LN). W związku z tym, stanowią interesujący cel badań poszukujących nowych markerów diagnostycznych i/lub prognostycznych w chorobach nerek o różnej etiologii.

Celem tej pracy było przedstawienie znaczenia peroksyredoksyn 1-5 w przewlekłej chorobie nerek na przykładzie oceny ich stężenia w surowicy krwi pacjentów z kłębuszkowymi zapaleniami nerek w przebiegu nefropatii: IgA, błoniastej lub toczniowej.

Metody

Badanie zostało przeprowadzone na grupie 138 osób, z czego 108 stanowili pacjenci z potwierdzonym biopsyjnie rozpoznaniem kłębuszkowego zapalenia nerek w przebiegu nefropatii: IgA (47), błoniastej (26) lub toczniowej (35), pozostający pod opieką Poradni Nefrologiczno-Transplantacyjnej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Kolejne 30 zdrowych osób stanowiło tzw. grupę kontrolną. Pacjenci z grupy kontrolnej byli dopasowani pod

względem płci i wieku w stosunku do średniej tych parametrów w grupie 108 pacjentów z glomerulopatiami. Stężenia 2-Cys-PRDX (1-5) zmierzono z wykorzystaniem testu immunoenzymatycznego ELISA i skorelowano z danymi demograficznymi oraz klinicznymi.

Wyniki

- a. wyniki pracy potwierdzają, że stężenia poszczególnych 2-Cys-PRDX w surowicy, różnią się w zależności od typu kłębuszkowego zapalenia nerek tj. nefropatii IgA, nefropatii błoniastej oraz nefropatii toczniowej;
- b. wykazano korelacje pomiędzy stężeniami poszczególnych 2-Cys-PRDX a obniżonym wskaźnikiem przesączania kłębuszkowego, stężeniem białek układu dopełniacza w surowicy, stężeniem hemoglobiny czy też wskaźnikiem masy ciała;
- c. wyniki te potwierdzają, że poszczególne 2-Cys-PRDX mogą (najprawdopodobniej) w różnym stopniu odgrywać istotną rolę w patofizjologii i progresji wybranych typów kłębuszkowych zapaleń nerek.

Wnioski

- 1) Na podstawie uzyskanych wyników badań potwierdziliśmy, że stres oksydacyjny - w naszym przypadku oceniany na podstawie stężenia 2-Cys-PRDX - odgrywa istotne znaczenie w przewlekłej chorobie nerek w przebiegu opisanych w pracy rodzajach kłębuszkowych zapaleń nerek.
- 2) Biorąc pod uwagę zmienne stężenia 2-Cys-PRDX w poszczególnych nefropatiach, można założyć, że może mieć to istotne znaczenie w patofizjologii tych jednostek chorobowych.
- 3) Na podstawie naszych badań, wydaje się, że kompleksowa ocena 2-Cys-PRDX w poszczególnych kłębuszkowych zapaleniach nerek, pomoże zwalidować ich potencjał by zostać nowymi, dodatkowymi markerami dla IgAN, MN i LN.

Wnioski z niniejszej pracy wspierają potrzebę prospektywnego badania walidacyjnego nad potencjalnym wykorzystaniem 2-Cys-PRDX jako markerów w chorobach nerek.

4. Streszczenie w języku angielskim

Introduction

Oxidative stress (OS) is usually considered as a disturbance in regular function of an organism, which is why it is probably involved in pathophysiology of numerous diseases. The disturbed levels of OS markers may lead to the major damage within the organism's cells, tissues and organs.

According to publications, some of the OS markers, including 2-cysteine peroxiredoxins (2-Cys-PRDXs) were found to be associated with the pathogenesis and progression of chronic kidney disease (CKD). 2-Cys-PRDXs belong to commonly known oxidative stress-related markers and are a part of the antioxidant and redox-signaling systems. Their most known function is the ability to reduce excessive levels of hydrogen peroxide - one of the major oxidative stress mediators, moreover they are also functioning as chaperones and regulators of signal transduction.

We hypothesize that 2-Cys-PRDXs could be differentially involved in the pathogenesis of various types of glomerulonephritis (GNs). The possible changes in their concentration may serve as markers of specific GN, e.g. IgA nephropathy (IgAN), membranous nephropathy (MN) or lupus nephritis (LN). Therefore, they may be considered as a new diagnostic and/or predictive indicators for GNs of different etiology.

The aim of this dissertation was to evaluate 2-Cys-PRDXs serum concentrations in patients with IgA nephropathy (IgAN), membranous nephropathy (MN) and lupus nephritis (LN).

Methods

The study included 138 participants, including 108 patients with biopsy-proven GNs: IgAN (47) MN (26), LN (35) from Nephrology and Transplantation Outpatient Clinic, University Clinical Center of Medical University of Warsaw and 30 healthy age- and sex-matched controls. Serum concentrations of 2-Cys-PRDXs (1-5) were measured with commercial ELISA assays and correlated with demographic and clinical data.

Results

- a. The results of our study confirm, that serum 2-Cys-PRDXs concentrations varied depending on the GN type – IgAN, MN and LN.
- b. We observed the significant correlation of 2-Cys-PRDXs with lower estimated glomerular filtration rates, complement serum proteins, hemoglobin and body mass index.
- c. The study indicates that individual 2-Cys-PRDXs may play significant roles in the pathophysiology and the progression of selected GNs.

Conclusions

- 1) The results of this study suggest that oxidative stress plays an important role in chronic kidney disease, including GN's described in the current thesis.
- 2) Considering the differential concentration of individual 2-Cys-PRDXs in selected GN's, we may assume, that they have significant meaning in pathophysiology of these diseases.
- 3) According to our research (confirmed by patent application), 2-Cys-PRDX evaluation in GN's may validate their potential to be used as a new and supplementary diagnostic markers in IgAN, MN and LN.

Our study encourages future, prospective research on 2-Cys-PRDXs as possible markers in kidney diseases.

5. Wstęp

5.1 Przewlekła choroba nerek (PChN)

Według ogólnoswiatowego badania obciążenia zdrowotnego (ang. Global Burden of Disease, GBD), którego rolą jest kompleksowa ocena stopnia utraty zdrowia z powodu chorób, urazów i czynników zagrożenia w określonej populacji, w 2019 roku zachorowalność na przewlekłą chorobę nerek (PChN) wynosiła 9,37 % (tj. 697 294 mln) populacji światowej [1]. Zachorowanie częściej dotyczyło kobiet 10,2% (382 977 mln) niż mężczyzn 8,53% (314 316 mln). Wyliczono, że PChN była bezpośrednią przyczyną zgonu 2,53 % pacjentów (tj. 1, 427 mln), co według raportu Światowej Organizacji Zdrowia plasuje ją na 10-tej pozycji jako jedną z głównych przyczyn zgonów na Świecie w 2019 roku [2]. W 2019 roku w Polsce, zachorowalność na PChN roku wyniosła 4,361 mln. przypadków, z czego mężczyźni stanowili 9.75 % (1,701 mln) a kobiety 13.91% (2,659 mln). W tym okresie na skutek choroby zmarło 1,16% osób (tj. 4695) [1]. Statystyki dotyczące zachorowalności i śmiertelności na PChN na Świecie i w Polsce zostały przedstawione w tabeli 1.

Tabela 1. Statystyki dotyczące PChN na Świecie i w Polsce w 2019 roku, według bazy Global Health Data Exchange. Modyfikacja własna na podstawie [1].

		Świat	Polska
Zachorowalność na PChN w 2019 roku	liczba przypadków (<i>n</i>)	697 294 306	4 361 113
	liczba przypadków na 100 000 – standaryzowana na wiek (<i>n</i>)	9 012	11 347
	Zmiana liczby przypadków standaryzowanych na wiek (%) w latach: 1990 - 2017	+2,75 %	+3,39 %
Śmiertelność z powodu PChN w 2019 roku	liczba przypadków (<i>n</i>)	1 427 231	4695
	liczba przypadków na 100 000 – standaryzowanych na wiek (<i>n</i>)	18.45	12.22
	Zmiana liczby przypadków standaryzowanych na wiek (%) w latach: 1990 - 2019	+7.21%	– 0.13 %

Należy podkreślić, że zapadalność na PChN w skali świata ma tendencję wzrostową. Szacuje się, że do 2030 roku liczba osób wymagających terapii nerkozastępczych tzn. dializoterapii lub transplantacji nerki, wynosić będzie ok. 5,4 mln [3].

Dlatego też wszelkie badania dotyczące poszukiwania nowych, nieinwazyjnych markerów w chorobach nerek są kluczowe biorąc pod uwagę możliwość wcześniejszego zapobiegania i/lub wykrywania PChN, a tym samym skuteczniejszego leczenia i obniżenia kosztów opieki zdrowotnej. Należy podkreślić, że istotną rolę w takich projektach odgrywają badania kliniczno-obszaryjne, czego przykładem jest m.in. Cure Glomerulonephropathy Network (CureGN). W ramach tego projektu trwającego od 2014 roku, tworzona jest baza danych klinicznych, biorepozytorium oraz cyfrowe repozytorium biopsji pacjentów z takimi chorobami jak: ogniskowe szkliwiejące kłębuszkowe zapalenie nerek, nefropatia IgA, nefropatia błoniasta oraz choroba zmian minimalnych [4]. Tego typu badania, umożliwiają poszukiwanie, definiowanie i analizę potencjalnych markerów oraz ich korelację z parametrami klinicznymi, a także budowanie większej świadomości wśród pacjentów. Oczekiwany efekt będzie opisanie ultraczułych markerów, które w przyszłości będą wykorzystywane do nieinwazyjnej diagnostyki oraz monitorowania przebiegu PChN.

W badaniu będącym przedmiotem niniejszej rozprawy, wybrano trzy rodzaje kłębuszkowych zapaleń nerek: nefropatię IgA, błoniastą oraz toczniową, które różnią się etiologią i należą do jednych z najczęstszych przyczyn PChN [5]. Kłębuszkowe zapalenia nerek odpowiadają za około 20% wszystkich przypadków PChN, najczęściej dotykając osoby młode i aktywne zawodowo [6]. IgAN i MN należą do pierwotnych kłębuszkowych zapaleń nerek a częstość ich występowania waha się odpowiednio w granicach 0,2–5 (IgAN) i 1–2 (MN) na 100 000 osób [7]. W odróżnieniu od tych nefropatii, LN rozwija się wtórnie do tocznia rumieniowatego układowego a częstość zachorowań szacuje się na 0,4–0,7 na 100 000 osób rocznie [8]. Niestety, kłębuszkowe zapalenia nerek najczęściej postępują asymptomatycznie lub charakteryzują je niespecyficzne objawy jak np.: białkomocz, krwinkomocz, rzadziej krwimocz, obrzęki kończyn dolnych czy nadciśnienie tętnicze [9]. Objawy te nie są ani wystarczająco specyficzne ani czułe dla żadnej z tych chorób, a proces diagnostyczny jest trudny i często klinicznie spóźniony. Dlatego poszukiwanie i

opisanie nowych markerów, specyficznych i czułych dla każdej z nefropatii, ma istotne znaczenie kliniczne a także społeczne biorąc pod uwagę wysokie koszty leczenia nerkozastępczego, które z roku na rok rosną w skali każdego kraju.

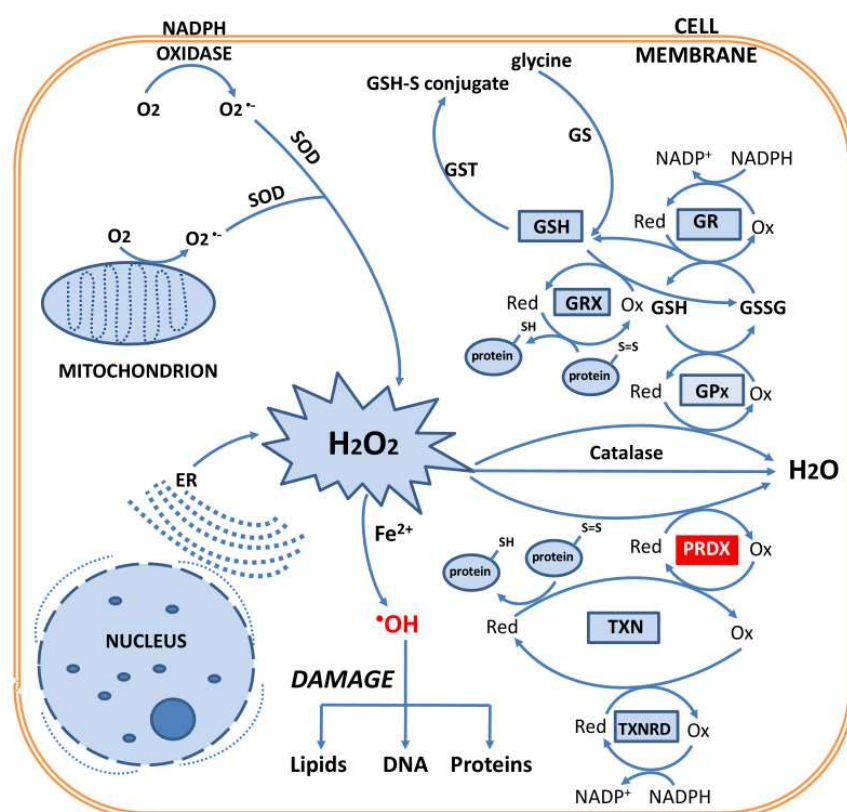
5.2 Markery przewlekłej choroby nerek

Z klinicznego punktu widzenia w procesie diagnostycznym przewlekłej choroby nerek, kluczowe jest odpowiednio wczesne zauważenie mało specyficznych objawów klinicznych, co w przypadku PChN oznacza np. zmianę w ilości czy wyglądu wydalanego moczu, pojawienia się nadciśnienia tętniczego, obrzęków czy uczucia zmęczenia [10]. Podejrzenie rozpoznania kłębuszkowego zapalenia nerek stawiane jest w oparciu o określone wyniki badań krwi oraz moczu, jednak ostateczna diagnoza wymaga potwierdzenia badaniem histopatologicznym biopsjatu nerki. Badanie to pozostaje nadal złotym standardem w diagnostyce nefrologicznej. Ze względu na inwazyjny charakter znane są powikłania biopsji nerki jak n.p.: krwinkomocz, krwimocz, wytworzenie przetoki żylna-tętniczej w obrębie mięszu nerki, krwiak okołonerkowy czy w sytuacji skrajnej nawet zgon pacjenta [11].

W związku z tym, od lat prowadzone są badania nad poszukiwaniem specyficznych i czułych markerów, które mogłyby w przyszłości zostać zastosowane przede wszystkim jako alternatywa dla zabiegu biopsji nerki ale dodatkowo również służyłyby jako narzędzie pomagające: a) pełniej zrozumieć fizjologię i patofizjologię chorób nerek oraz b) monitorować przebieg i leczenie PChN o różnej etiologii [12-15]. Istnieje szereg opisanych związków stanowiących składniki moczu i osocza, które potencjalnie umożliwiają wczesne wykrycie choroby nerek i/lub monitorowanie jej progresji. Należą do nich m.in. lipokalina związana z żelatyną neutrofilów, kalbindyna, interleukina 18, interleukina 6, β 2-mikroglobulina, KIM-1 czy przeciwciała anty-PLA2R [12, 16]. Do tej pory nie opisano znaczenia peroksyredoksyn jako potencjalnych markerów PChN w szczególności o etiologii kłębuszkowych zapaleń nerek, co biorąc pod uwagę rolę stresu oksydacyjnego w patofizjologii PChN, może mieć istotne znaczenie.

5.3 Stres oksydacyjny

Stres oksydacyjny jest rozumiany jako zaburzenie w prawidłowym funkcjonowaniu komórek i tkanek, a organizmy posiadają naturalną zdolność do utrzymywania równowagi pomiędzy układami pro- i antyoksydacyjnymi [17]. Główną przyczyną stresu oksydacyjnego jest nadprodukcja reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), które z jednej strony są odpowiedzialne za utrzymywanie homeostazy organizmu, stanowiąc integralną część układu sygnałowego redoks oraz układu immunologicznego, a z drugiej utrzymując się na wysokim poziomie przez dłuższy czas, mogą prowadzić do utlenienia DNA, lipidów czy białek [18, 19]. Wpływ stresu oksydacyjnego na zaburzenia równowagi redoks w obrębie komórki przedstawiono na ryc. 1. Szczegółowy opis ryciny znajduje się w publikacji nr 1 wchodzącej do cyklu niniejszej rozprawy (strona 39).



Ryc. 1 Schemat zjawiska stresu oksydacyjnego na poziomie komórkowym [20].

Niektóre z markerów stresu oksydacyjnego, jak np. izoprostany czy dialdehyd malonowy, nitrotyrozyna, myeloperoksydaza, utlenione lipoproteiny o niskiej gęstości, jak również markery powstającego na skutek ich oddziaływania stanu

zapalnego takie jak białko C-reaktywne czy interleukina-6 [19-21], mogą prowadzić do przyspieszenia progresji PChN a w rezultacie uszkodzenia i istotnej utraty funkcjonalności narządu.

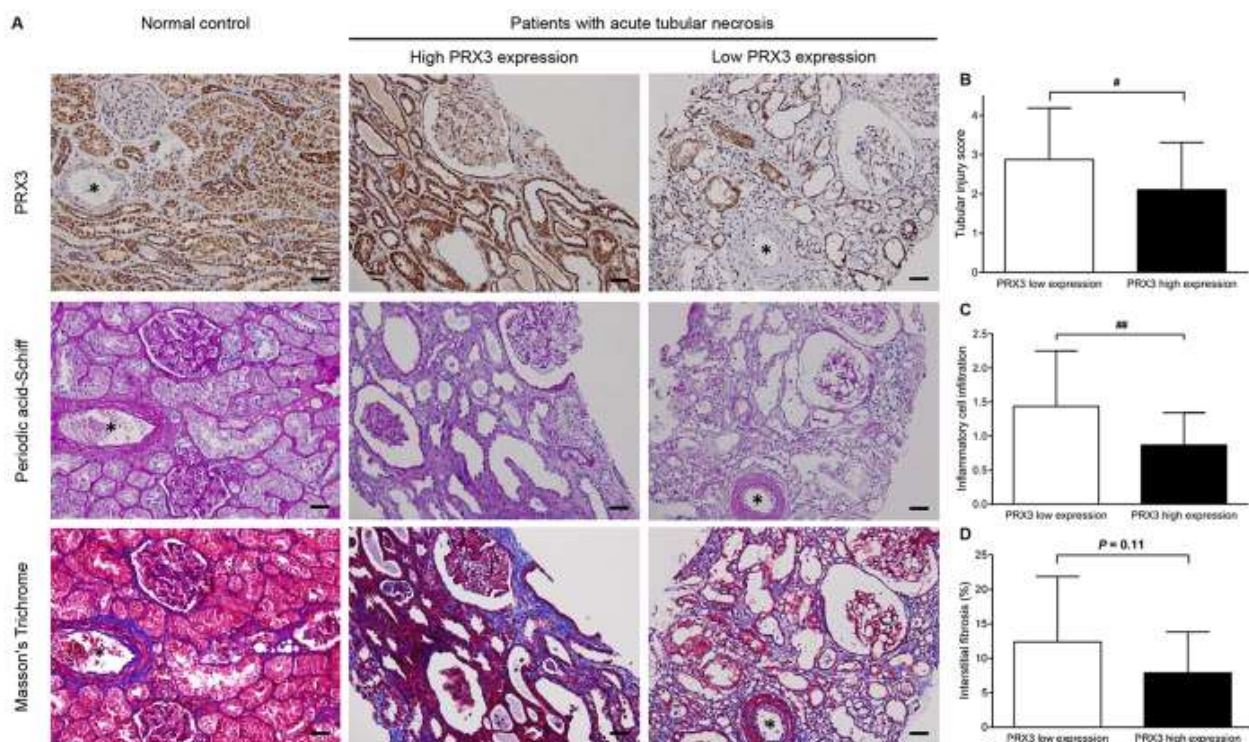
W pracy będącej przedmiotem niniejszej rozprawy skupiono się na znaczeniu peroksyredoksyn, które w przewlekłej chorobie nerek o etiologii kłębuszkowych zapaleń nerek nie zostały jak dotąd dokładnie zbadane.

5.4 Peroksyredoksyny

Peroksyredoksyny dwucysteinowe (2-Cys-PRDX) to grupa białek w przedziale wielkości 20–30 kDa, które możemy podzielić na 2 podklasy:

- a) typowe, do których należą peroksyredoksyna 1, 2, 3 i 4
- b) atypową peroksyredoksynę 5.

Fizjologicznie zlokalizowane są one w różnych miejscach w komórkach, przede wszystkim jednak w mitochondriach i cytozolu [22]. 2-Cys-PRDX należą do powszechnie znanych markerów stresu oksydacyjnego, są one częścią systemów przeciwutleniającego oraz sygnałowego, a ich najbardziej znaną funkcją jest zdolność do redukcji nadmiaru nadtlenku wodoru [23]. Ponadto, znane są z funkcjonowania jako czaperony oraz regulatory i przekaźniki sygnałów komórkowych [24, 25]. Na podstawie prac naukowych wiemy, że należą do markerów m.in. nowotworów piersi [26], chłoniaków [27], czy chorób autoimmunologicznych jak np. toczeń rumieniowaty układowy [28]. Mogą mieć również związek z progresją przewlekłej choroby nerek [29, 30]. Badanie zespołu Chia-Lin Wu wykazało, że akumulacja PRDX3 w cewkach i kłębuszkach nerkowych jest zwiększona w odpowiedzi na stan ostrej niewydolności nerek [30]. Autorzy retrospektywnie ocenili różnicę w poziomach ekspresji PRDX3 w bioptatach nerek pacjentów z ostrą niewydolnością nerek i potwierdzoną ostrą martwicą cewek nerkowych w dwóch podgrupach, u których w ciągu 6 miesięcy obserwacji klinicznej doszło (lub nie) do remisji oraz w grupie kontrolnej. Poziom PRDX3 był większy w grupie osób chorych w porównaniu do zdrowych (Ryc. 2).



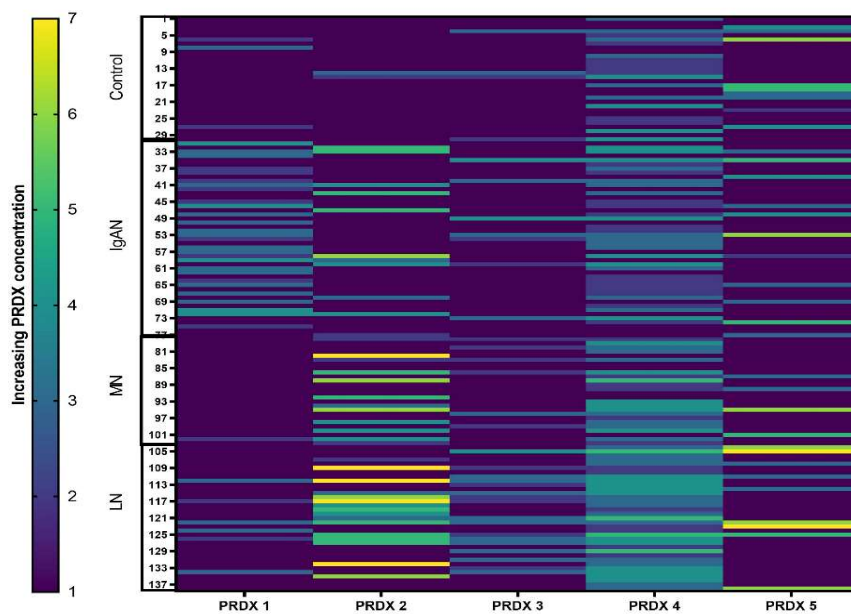
Ryc. 2 Barwienia immunohistochemiczne biopłatów nerki z wykorzystaniem trójkolorowego barwienia Massona, odczynnika Schiffa oraz znakowanie przeciwciałem anti-PRDX3 u pacjentów z ostrą martwicą cewek oraz grupy kontrolnej. (A) gwiazdką oznaczono naczynia krwionośne; (B) stopień uszkodzenia cewek; (C) naciek komórek zapalnych; (D) zwłóknienie śródmiąższu nerek (%). Dane przedstawiono jako średnie \pm odchylenie standardowe; # = $P < 0.05$; ## = $P < 0.01$. Skala na obrazach mikroskopowych to 50 μm . PRX3 = PRDX3 (peroksyredoksyna 3). [30]

Wnioski płynące z tego badania sugerują że PRDX3 może służyć jako potencjalny marker prognostyczny dla pacjentów z ostrą niewydolnością nerek. W badaniu brali udział pacjenci z chorobami nerek o różnej etiologii, a grupa pacjentów z kłębuszkowymi zapaleniami nerek stanowiła 40,74% badanej populacji. Jednak w publikacji nie ma osobnej analizy wyników dla tej podgrupy. Jakkolwiek istnieją prace opisujące rolę peroksyredoksyn w przebiegu różnych chorób, lecz publikacji dotyczących przewlekłej choroby nerek i kłębuszkowych zapaleń nerek jest niewiele.

Celem niniejszej rozprawy była ocena panelu peroksyredoksyn (1-5) w surowicy krwi pacjentów z przewlekłą chorobą nerek w przebiegu nefropatii IgA, błoniastej

oraz toczeniowej. Na podstawie uzyskanych wyników uważamy, że 2-Cys-PRDX są najprawdopodobniej w różnym stopniu zaangażowane w patogenezę poszczególnych typów kłębuszkowych zapaleń nerek. Prezentowane wyniki wymagają:

a) walidacji na większej grupie pacjentów oraz b) oceny ekspresji peroksyredoksyn (1-5) w biopsjach nerek. Jeśli nasza hipoteza się potwierdzi, to monitorowanie stężenia 2-Cys-PRDX (jak np. zaprezentowano na ryc. 3), może służyć jako marker dla wybranych kłębuszkowych zapaleń nerek.



Ryc. 3. Panel stężeń peroksyredoksyn 1-5 (heatmap) u pacjentów z IgAN, MN lub LN [13].

5.5 Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji

Jakkolwiek istnieją publikacje dotyczące stresu oksydacyjnego w chorobach nerek, to do chwili obecnej nie opisano dokładnie znaczenia i nie przedstawiono stężeń 2-Cys-PRDX w surowicy krwi pacjentów z PChN w przebiegu IgAN, MN lub LN, z propozycją wytłumaczenia ich potencjalnego kliniczno–diagnostycznego znaczenia.

W pracy nr 1 z 2018 roku, omówiono aktualny przegląd literatury dotyczącej zjawiska stresu oksydacyjnego i roli poszczególnych markerów w PChN. Tak jak przedstawia to tytuł pracy, zadaliśmy zasadnicze pytanie, które nurtuje badaczy „czy

stres oksydacyjny jest przyczyną, czy też następstwem przewlekłej choroby nerek?”. W pracy omówiono mechanizmy działania poszczególnych markerów stresu oksydacyjnego w PChN. Opisano czynniki, które mogą pobudzać aktywność markerów OS (np. stosowana dieta, styl życia, obecność chorób towarzyszących, przewlekłego stanu zapalnego czy zaburzeń lipidowych), jak również potencjalne konsekwencje, wywołane długotrwałym utrzymywaniem się ich podwyższonego poziomu. Efektem mogą być m.in. zaburzenia struktury i funkcjonowania naczyń, miażdżyca z progresją choroby niedokrwiennej serca, pojawienie się zaburzeń neurologicznych czy też zaburzenie gospodarki hormonalnej.

W pracy nr 2 z 2021 (opublikowana w 2022), przedstawiono wyniki oznaczeń stężenia peroksyredoksyn 1-5 w surowicy krwi pacjentów z wybranymi kłębuszkowymi zapaleniami nerek tj. nefropatią IgA, nefropatią błoniastą, nefropatią toczniową oraz u osób z grupy kontrolnej, które skorelowano z parametrami klinicznymi i demograficznymi. Ta publikacja stanowi część eksperymentalną niniejszej rozprawy. Ponadto, jest częścią wyników będących treścią zgłoszenia patentowego z 2018 roku (nr: PCT/EP2018/052837; WO 2018/141975 A1.: *Use of serum 2-cysteine peroxiredoxins (2-cys-prdx) as biomarkers of chronic kidney diseases*, które po odesłaniu naszych odpowiedzi na uwagi recenzentów, jest rozpatrywane w Europejskim Urzędzie Patentowym.

Należy zaznaczyć, że dostępne doniesienia naukowe omawiające rolę peroksyredoksyn 1-5 dotyczą przede wszystkim chorób nerek na modelach zwierzęcych. Badania przeprowadzone w ramach mojej pracy doktorskiej potwierdzają, że peroksyredoksyny 1-5 mogą mieć istotne znaczenie kliniczne a także służyć pełniejszemu zrozumieniu patofizjologii PChN o etiologii kłębuszkowych zapaleń nerek. Mamy nadzieję, że w efekcie pomogą również w diagnostyce i monitorowaniu efektów leczenia oraz progresji PChN. Wszystkie wymienione elementy wymagają dalszych badań oraz ich walidacji w ramach prospektywnego badania klinicznego z udziałem większej liczby pacjentów.

6. Założenia i cel pracy

6.1 Założenia pracy

Podstawowym założeniem pracy była weryfikacja hipotezy, czy stężenia peroksyredoksyn 1-5 w surowicy krwi pacjentów z kłębuszkowymi zapaleniami nerek w przebiegu nefropatii IgA, nefropatii błoniastej lub nefropatii toczniowej różnią się między sobą oraz czy dodatkowa korelacja z danymi demograficznymi oraz klinicznymi, może stanowić narzędzie różnicujące pacjentów z IgAN, MN lub LN. Projekt ten został zrealizowany w oparciu o uzyskane, opracowane i skorelowane wyniki badań wstępnych oraz istniejące doniesienia naukowe dotyczące markerów stresu oksydacyjnego w chorobach nerek.

Realizacja pracy obejmowała:

- a. wybór i przegląd aktualnej literatury naukowej związanej z proponowaną problematyką oraz przygotowanie pracy poglądowej dotyczącej roli stresu oksydacyjnego w PChN;
- b. zebranie materiału biologicznego (krew pełna, surowica krwi, mocz) pochodzącego od pacjentów z kłębuszkowymi zapaleniami nerek w przebiegu nefropatii: IgA, błoniastej lub toczniowej, pozostających pod opieką Poradni Nefrologiczno-Transplantacyjnej Kliniki Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych UCK WUM. Dobór grupy badanej oraz pacjentów z grupy kontrolnej wykonano w oparciu o dane kliniczne. Materiał biologiczny do tego projektu był pobrany podczas wizyty w Poradni, a pacjenci wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu na podstawie udzielonych wcześniej zgód Komisji Etycznej WUM (nr 9/2010 lub nr 199/2016);
- c. wykonanie badań eksperymentalnych związanych z tematem projektu - weryfikacja i oznaczanie stężenia peroksyredoksyn (1-5) w surowicy krwi z wykorzystaniem testu immunoenzymatycznego ELISA (ang. enzyme-linked immunosorbent assay), polegającego na ilościowej ocenie zawartości

wskazanych białek w materiale biologicznym z zastosowaniem technik spektrofotometrycznych. Do oznaczeń wykorzystano testy firmy EIAab Science (Wuhan, Chiny);

- d. przygotowanie bazy danych klinicznych oraz demograficznych;
- e. opracowanie statystyczne uzyskanych wyników badań;
- f. przygotowanie wyników do publikacji, zgłoszenia patentowego oraz pracy doktorskiej.

6.2 Cele pracy

- 1) Poszerzenie wiedzy na temat znaczenia stresu oksydacyjnego ze szczególnym uwzględnieniem roli peroksyredoksyn 1-5 w patofizjologii przewlekłej choroby nerek w przebiegu wybranych kłębuszkowych zapaleń nerek.
- 2) Ocena stężenia peroksyredoksyn (1-5) w surowicy krwi pacjentów z PChN w przebiegu nefropatii IgA, nefropatii błoniastej lub nefropatii toczniowej.
- 3) Analiza statystyczna z korelacją danych klinicznych i demograficznych, celem weryfikacji możliwości wykorzystania w przyszłości oznaczeń stężenia peroksyredoksyn 1-5 jako potencjalnych markerów służących nieinwazyjnej diagnostyce i/lub monitorowaniu pacjentów z PChN w przebiegu nefropatii IgAN, nefropatii toczniowej lub nefropatii błoniastej.

7. Kopie opublikowanych prac

7.1 Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?

Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 2018



Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?

Natalia Krata¹ · Radosław Zagożdżon^{1,2,3} · Bartosz Foroniewicz¹ · Krzysztof Mucha^{1,2} 

Received: 21 March 2017 / Accepted: 11 July 2017 / Published online: 6 December 2017
© The Author(s) 2017. This article is an open access publication

Abstract

Exaggerated oxidative stress (OS) is usually considered as a disturbance in regular function of an organism. The excessive levels of OS mediators may lead to major damage within the organism's cells and tissues. Therefore, the OS-associated biomarkers may be considered as new diagnostic tools of various diseases. In nephrology, researchers are looking for alternative methods replacing the renal biopsy in patients with suspicion of chronic kidney disease (CKD). Currently, CKD is a frequent health problem in world population, which can lead to progressive loss of kidney function and eventually to end-stage renal disease. The course of CKD depends on the primary disease. It is assumed that one of the factors influencing the course of CKD might be OS. In the current work, we review whether monitoring the OS-associated biomarkers in nephrology patients can support the decision-making process regarding diagnosis, prognostication and treatment initiation.

Keywords Oxidative stress · Biomarkers · Chronic kidney disease

Introduction

Chronic kidney disease (CKD) is a public health problem that, depending on country, affects approximately 8–13% of population, involving both males and females (Fig. 1a) in all ages (Fig. 1b, c) (Bruck et al. 2016; Chronic Kidney Disease Prognosis et al. 2010). The main causes of CKD are: diabetes mellitus, hypertension, glomerulonephritis and cardiovascular diseases (Fig. 1d) (Mucha et al. 2016; Vasalotti et al. 2010). CKD is frequently progressive and the progression depends on both the primary disease as well as other factors, such as diet, smoking, coexisting obesity, etc. The initial suspicion of CKD is based on the clinical symptoms, such as proteinuria, erythrocyturia or hematuria, edema or hypertension. However, the final diagnosis must be confirmed by kidney biopsy (Mucha et al. 2016), which is an invasive diagnostic method—for that reason the researchers

and nephrologists are looking for a safer and less-invasive diagnostic methods (Mucha et al. 2014). The researchers discovered numerous serum or urine components, that can contribute to the pathogenesis of kidney diseases and therefore, might be taken under consideration as potential biomarkers. However, there is still little consensus regarding the applicability of each of these markers and search for new biomarkers in CKD continues.

Some of the newly identified biomarkers in CKD are related to oxidative stress (OS). Indeed, it is currently known that several renal diseases might be related to coexisting OS (Small et al. 2012). Generally, exaggerated OS can be considered as a disturbance in regular function of organism's cells and molecules. In order to control the OS level, the organism utilizes a natural ability to keep the balance between pro- and antioxidant systems (Scholze et al. 2016). It is believed that the main mediators of OS are reactive oxygen species (ROS). Transiently increased concentrations of ROS play a significant role in maintaining organism's homeostasis, as they are a part of the redox-related signaling, and also in the immune defense system, as they are produced in high amounts in inflammation. However, the long-lasting excessive levels of ROS may lead to oxidation of DNA, lipids or proteins (Matsuyama et al. 2009; Small et al. 2012) and cause cellular damage in CKD patients (Scholze et al. 2016). Recently, this issue becomes even more important, as a number of redox modulators are considered as potential

✉ Krzysztof Mucha
kjmucha@gmail.com

¹ Department of Immunology, Transplantology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Nowogrodzka 59, 02-006 Warsaw, Poland

² Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

³ Department of Clinical Immunology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

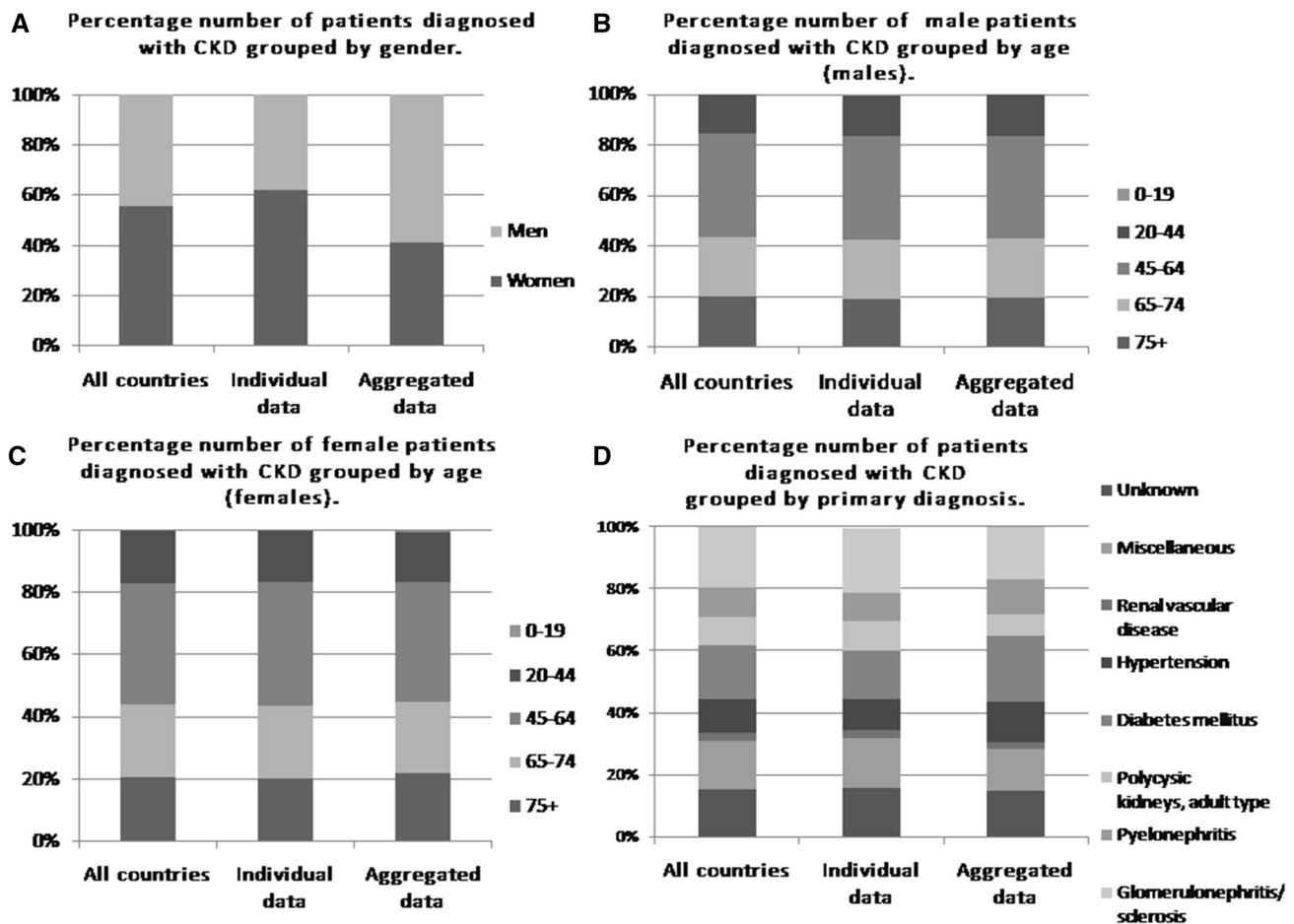


Fig. 1 Percentage number of patients diagnosed with CKD grouped by various parameters such as: **a** gender, **b** age (males), **c** age (females), **d** primary diagnosis. Figures above summarize patients data presented in ERA-EDTA Registry annual report 2014 (Pippias et al. 2017)

therapeutics in various human diseases, e.g., in a range of malignancies either as single compounds (Muchowicz et al. 2014; Trzeciecka et al. 2016) or in combinations with more classical therapies (Chou et al. 2017).

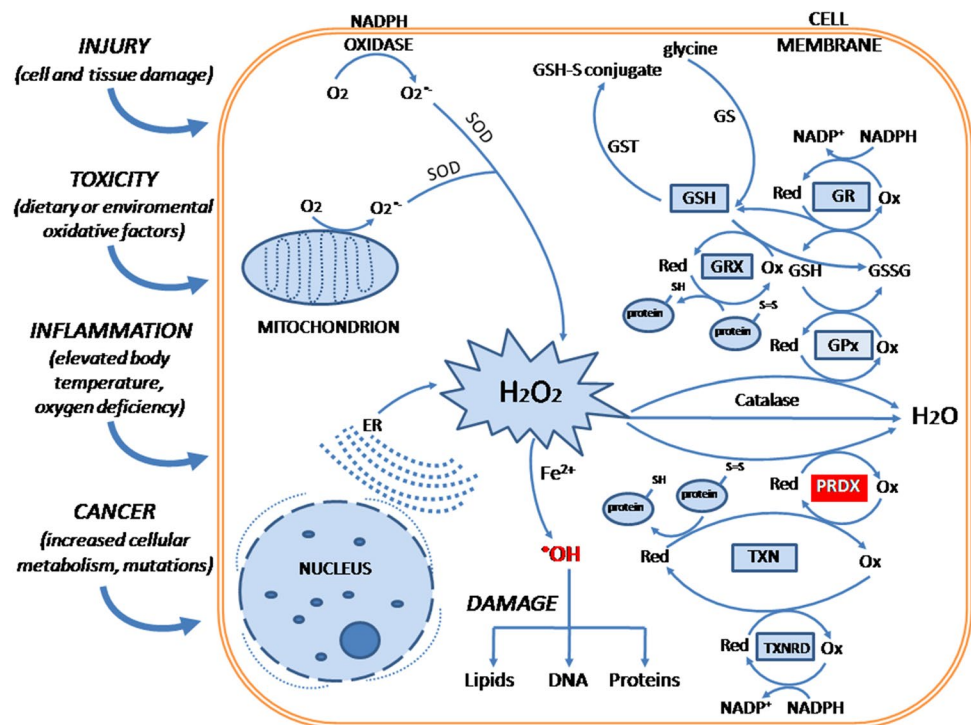
Endogenous ROS are generated by several main enzymatic processes such as cellular respiration (by the mitochondrial electron transport chain) or activity of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase enzyme complex. Exogenous-derived ROS are usually induced by external factors, such as chemical pollutants, some drugs or UV light exposure. Among ROS, the most essential ones are free radicals: superoxide and hydroxyl (HO), as well as non-radical molecules: hydrogen peroxide (H₂O₂) and singlet oxygen. On the other hand, ROS can be removed by our intrinsic enzymatic systems, such as superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione- and thiol-dependent enzymatic chains and other natural components (Fig. 2). There is also a range of antioxidant chemical agents that can be introduced to the organism, e.g., in a diet (Di Meo et al. 2016).

Regarding the kidney physiology, the main principle of proper redox regulation is to maintain the balance of electrolytes and physiological buffer systems to keep renal functions (Palm and Nordquist 2011). Additionally, kidneys remove a whole range of toxins and waste metabolites (Aveles et al. 2010), which otherwise would accumulate in the organism inducing an imbalance in redox homeostasis (Poulianiti et al. 2016). Therefore, OS should be both seen as a potential cause and a consequence of CKD.

Biomarkers of OS

Potentially, a wide range of molecules can be used as OS biomarkers. All of the presented OS biomarkers can be measured, depending on their origin (e.g., serum, plasma, urine or tissue) or chemical form using various biotechnological techniques such as: enzyme-linked immunosorbent assays, radioimmunoassay, gas chromatography/mass spectrometry, liquid chromatography/mass spectrometry,

Fig. 2 Cellular mechanisms related to oxidative stress. The mechanisms of superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) scavenging by SOD—superoxide dismutase and formation of hydrogen peroxide (H_2O_2) and subsequent removal of toxic H_2O_2 by several antioxidant enzymes that have prognostic significance in various type of diseases. The antioxidants are marked as follows: *GSH* glutathione (reduced) and its oxidized form *GSSG* glutathione disulfide, *GR* glutathione reductase, *GRX* glutaredoxin, *GPx* glutathione peroxidase, *GST* glutathione *S*-transferase, *GS* glutamine synthetase, *PRDX* peroxiredoxin, *TXN* thioredoxin, *TXNRD* thioredoxin reductase, *NADPH* nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase



immunolabeling, immunohistochemistry, etc. (Ho et al. 2013). Regardless of the disease, it ought to be mentioned that proper identification and validation of markers should follow a number of guidelines in order to produce meaningful observations (Brennan et al. 2010; O'Leary et al. 2014).

Protein-Related Markers of OS

Among the cell constituents, the common target for ROS reactivity is the thiol side chain of a cysteine residue, but ROS can induce multiple other changes in the chemical structure of intracellular and extracellular proteins (Wang et al. 2012). Indeed, it has been observed that patients with chronic CKD have increased levels of plasma thiol oxidation and protein carbonylation that can indicate or even contribute to progressive renal dysfunction (Matsuyama et al. 2009). Other protein-related markers of OS include nitrotyrosine, myeloperoxidase (MPO) and oxidized low-density lipoprotein (OxLDL), as described below.

Nitrotyrosine (Tyr- NO_2) is often considered as an oxidative/nitrosative stress biomarker in inflammatory diseases (Herce-Pagliari et al. 1998). Nitration of tyrosine can be used as an indicator of OS. Importantly, nitration of proteins and lipoproteins may also play a significant role in pathophysiology, e.g., the formation of foam cells which is mediated by macrophages that take up the nitrated LDL molecules (Graham et al. 1993).

The presence of MPO was detected in granules of human inflammatory cells such as macrophages, neutrophils and

monocytes. MPO possesses the ability to convert H_2O_2 to various types of ROS including: $\cdot OH$, $ONOO^{\cdot-}$, NO_2 and $HOCl$ which can then modify proteins, lipids or lipoproteins. Due to the ability to generate $HOCl$, a potent antimicrobial agent, the MPO plays a significant role in immune defense system. Elevated levels of circulating MPO have been found in patients diagnosed with cardiovascular disease (CVD) (Zhang et al. 2001). Prospective studies showed that high MPO levels predict increased risk of cardiovascular disease in healthy individuals (Meuwese et al. 2007). Likewise, in CKD patients altered functionality of MPO can indicate the risk of development of endothelial changes and cardiovascular complications (Kisic et al. 2016).

The accumulation of OxLDL stimulates production of pro-inflammatory cytokines by overlying endothelial cells, and therefore it becomes one of the main mediators of CVD development (Mertens and Holvoet 2001), also in patients with kidney diseases (Pandya et al. 2015). Interestingly, OxLDL has recently been reported to predict the development of renal dysfunction in atrial fibrillation (Polovina et al. 2016). However, in hemodialyzed patients OxLDL levels did not significantly correlate with the risk major adverse cardiac events (Wagner et al. 2017), so the applicability of this marker in renal disorders remains to be fully elucidated.

Lipid-Related Markers of OS

Besides proteins, lipids are the extremely vulnerable substrates for oxidation because of their specific molecular structure and presence of reactive double bonds (Porter et al. 1995). The products of lipid oxidation that are considered as a biomarkers are: lipid hydroperoxides, fluorescent products of lipid peroxidation, oxidation resistance assays and oxysterols (Ho et al. 2013). Generally, human and animal research have shown that lipid oxidation plays a significant role in predicting the progression of cardiovascular and renal diseases and their response to therapies. In kidney diseases, there are reports of using such markers as: malondialdehyde (MDA), isoprostanes (IsoPs) or isolevuglandins (IsoLGs) (Scholze et al. 2016), as described below.

MDA is generated through peroxidation of polyunsaturated fatty acids; it interacts with proteins and is potentially atherogenic. MDA is typically investigated from plasma samples. The most popular method for MDA analysis is a colorimetric assay based on the reaction between MDA and thiobarbituric acid (TBA), also the TBA reacting substances (TBARS) assay are specific for MDA (Meagher and FitzGerald 2000). MDA determination and the TBA test can clearly explain the complex process of lipid peroxidation. By using the MDA analysis and/or the TBA test, also making a sample measurements interpretation, we may determine the OS within an organism (Trevisan et al. 2001). For instance, MDA measurements were carried out in a study that included a group of 38 children diagnosed with IgA nephropathy in order to assess whether the serum OS biomarkers levels measurements can be potentially used as a non-invasive diagnostic method in this disease (Pei et al. 2016). It was reported that the increased plasma level of advanced oxidation protein products and MDA were detected, and the SOD serum levels were decreased (Pei et al. 2016). Interestingly, it has been reported that serum MDA can be downregulated by a recently synthesized caffeic acid derivative: *N*-propyl caffeamide (Cheng et al. 2017), which belongs to a class of potent candidates for anti-inflammatory and cardioprotective drugs.

IsoPs are a family of stable, prostaglandin-like compounds. They are formed in vivo from the free radical-catalyzed peroxidation of essential fatty acids (primarily arachidonic acid) (Morrow et al. 1990, 1992). IsoPs are originally located on a cell membrane then they are released into circulation by phospholipases (Stafforini et al. 2006), and then accumulate in tissues, blood and urine. The most stable form of IsoPs that are considered as a potential biomarker are F₂-IsoPs (with F-type prostanoid ring). The research concerning IsoPs levels in urine and plasma samples, collected from animals and humans, showed that there is a correlation between OS and levels

of these biomarkers (Fam and Morrow 2003). IsoPs levels are also elevated in case of various OS-related risk factors such as diabetes mellitus, obesity, cigarette smoking, hypercholesterolemia, and hyperhomocysteinemia (Morrow 2005). Elevated F₂-IsoPs level is also associated with renal vasoconstriction and major renal failure (Moore et al. 1998).

IsoLGs are products of cyclooxygenase and free radical-induced oxidation of arachidonates, they react rapidly and irreversibly with primary amines within the cell and form pyrrole (lactam) and oxidized pyrrole (hydroxylactam) adducts (Frijhoff et al. 2015). IsoLG adducts participate in pathological processes like induction of inflammation, immune response or cell death, and also act as inhibitors of ion channels. The results from research in animal models suggest that excessive levels of IsoLGs could be related to atherosclerosis, hypertension, inflammation, neurodegeneration or arrhythmia (Salomon and Bi 2015), but also renal disease (Degenhardt et al. 2002).

Biomarkers of ROS-Induced DNA and RNA Oxidation

OS induces also oxidation of DNA and RNA, through the oxidation of nucleosides (particularly the guanine moiety), which are then excreted into the urine. The measurements of urine samples may be interpreted as an indicator of the cumulative body OS. Therefore, they are most suitable to conditions where OS affects all tissues in the body and less to elevated OS in minor organs. Although more than 100 oxidative DNA-modifications have been reported to date, the most frequently used is the 7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine (8oxodG), which is one of the well-known OS biomarkers (Barregard et al. 2013), including kidney diseases (Schupp et al. 2016). While a large proportion of studies with this biomarker in renal diseases have been carried out in hemodialyzed patients, there are also indications that 8oxodG levels might correlate positively proteinuria in CKD patients (Nakamura et al. 2010). Importantly, 8oxodG can be also measured in urine, although the diagnostic significance of this method is not clear at present (Barregard et al. 2013).

It is worth mentioning that the deteriorating effects of OS on DNA structure modulate the activities of DNA-repair enzymes. Indeed, the polymorphisms of DNA-repair genes can affect the DNA-repair capacity and modulate patient's susceptibility to renal disease. Such an effect has been reported in X-ray cross-complementing group 1 repair enzyme, where Arg399Gln polymorphism conferred the increased risk of development of end-stage renal disease (ESRD) (Trabulus et al. 2012). Also, measuring the presence and/or the activity of DNA-repair enzymes, such as 8-oxoguanine-DNA-*N*-glycosylase-1

(Cerrillos-Gutierrez et al. 2016), might help monitoring the altered OS conditions in renal patients.

Biomarkers Related to Natural Antioxidant Capacity

While numerous works have evaluated the oxidant-related biomarkers in CKD, there is a scarcity of studies examining the natural body antioxidants in this disease. One of such studies has included systemic lupus erythematosus (SLE) patients with nephritis (Lalwani et al. 2015). The results of this study have shown that decreased serum thiols levels are correlated to creatinine and serum C3 levels. Interestingly, it has been suggested that thiol levels may be used to differentiate between SLE patients with and without renal pathology (serum thiol levels are not affected by immunosuppressive drug therapy). It is possible that combination of thiols and creatinine or C3 serum levels may be used as a future predictive biomarker of chronicity of renal pathology in SLE patients (Lalwani et al. 2015).

Oxidative Stress in a CKD Patient

Causes

There are different mechanisms that could explain the existence of elevated OS in patients suffering from CKD. The basic characteristics of renal patients are as follows: advanced age, diabetes and renal hypertension, all of which predispose them to increasing levels of OS comparing to the general population. Another cause of OS in CKD patients is inflammation. There is a correlation between renal dysfunction and the mediators and markers of inflammation such as C-reactive protein, interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor- α and fibrinogen, which proves that CKD is an inflammatory process itself (Cachofeiro et al. 2008). In response to activation of polymorphonuclear neutrophils, the MPO is generated and activated ROS excretion. Indeed, serum MPO was found to be associated with markers of inflammation in CKD patients (Kisic et al. 2016). The potential roles for other OS-related markers have been described above. Generally, the dysregulated systemic redox status can be already detected at an early stages of CKD (Miranda-Diaz et al. 2016) and it tends to increase along with the progression of the renal disease, which translates into gradual exaggeration of generalized tissue injury in CKD patients and contributes to CKD-associated comorbidities (Tucker et al. 2015). This exaggeration of OS mediators is not accompanied with an increase of antioxidant capacity of the body (Karamouzis et al. 2008), which induces a deepening imbalance in redox status of the CKD patient. Additionally, an obvious factor contributing to OS in late-stage CKD is a dysregulated metabolic waste disposal.

Notably, renal replacement therapy with maintenance hemodialysis does not improve the OS conditions in CKD patients after they progressed into ESRD. Conversely, each session of hemodialysis induces OS, because of ROS excretion on the surface of dialysis membranes (Peuchant et al. 1994), partly due to activation of phagocytes (Himmelfarb et al. 2001). Hemodialysis also tends to further exhaust the antioxidant capacity of the body (Jackson et al. 1995). Interestingly, vitamin E-coated dialysis membranes have been recently shown to reduce the levels of oxidative genetic damage in hemodialysis patients (Rodriguez-Ribera et al. 2017). Other studies suggested that applying cinacalcet (Ari et al. 2014) or lowering dialysate sodium (Macunluoglu et al. 2016) can improve systemic OS in maintenance hemodialysis patients. What is less understood are the causes underlying increased OS in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) (Mehmetoglu et al. 2012). According to a recent study, in CAPD patients there is a noticeable distortion in OS management caused by increased enzymatic activity of SOD combined with a decrease in the activities of catalase and glutathione peroxidase (Ertan et al. 2017). Another study suggests that elevated plasma cyclophilin A can be one of the mediators of OS and inflammation in dialyzed patients (Jin and Vaziri 2017). Generally, however, patients undergoing CAPD are considered less predisposed to OS-related disorders than the hemodialyzed patients (Stepniewska et al. 2015).

Consequences

Systemic OS can significantly contribute to endothelial dysfunction (Annuk et al. 2005) along with exaggeration of atherosclerosis (Esper et al. 2006) and development of CVD (Paoletti et al. 2005). As excessive ROS are genotoxic (Stopper et al. 2004; Stoyanova et al. 2010), OS may be a factor contributing to higher malignancy rates in ESRD patients (Shang et al. 2016). Also, the structural changes induced by ROS in β_2 -microglobulin are correlated with the incidence of amyloidosis due to inflammatory processes in renal patients (Capeillere-Blandin et al. 1991). Other OS-related problems in CKD include aggravation of hypertension (Mathis et al. 2012), and also neurologic disorders (oxidation of myelin), anemia (decrease in erythrocyte lifespan), inflammation (activation of nuclear factor κ B: NF- κ B), fibrosis and accelerated aging (reviewed in Vaziri 2004). Lastly, OS can alter multiple functions of the body through oxidation of hormones, such as parathyroid hormone (Hocher et al. 2012).

Clinical Biomarkers

To help better understanding and monitoring of CKD progression there are few basic biomarkers such as serum creatinine, which is the main biomarker of kidney function used

in clinical approach and it is used to estimate glomerular filtration rate (making eGFR), which correlates serum creatinine level with sex, age and weight of patient. However, those parameters are not fully applicable in diagnosis and prognosis of kidney injury. First of all, there are numerous limitations that enable using serum creatinine to estimate actual renal function, e.g., noticeable reduction of GFR can be present before a visible rise of creatinine level which may lead to irreversible loss of kidney function before the change of serum creatinine level. Moreover, creatinine in general is a poor biomarker that precludes the early diagnosis of acute renal injury and differentiation between various causes. That is why creatinine is an unreliable biomarker of kidney damage and there is a large need for searching an appropriate one (Malyszko 2010).

Recently, a new type of biomarker has been proposed, namely the neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), the member of lipocalin family, which is expressed at low levels in several human tissues (including kidney) and possesses the ability to scavenge iron molecules, which are rapidly induced and released from the injured distal nephron (Mishra et al. 2003). Because of small molecular size (25 kDa) and resistance to degradation, NGAL is rapidly excreted and may be easily detected in urine. NGAL has recently been validated as a useful biomarker of CKD progression (Malyszko et al. 2008), and also an indicator of acute kidney injury in kidney transplantation patients (it may be used as a predictive biomarker for delayed graft function following kidney transplantation) (Malyszko et al. 2009). Importantly for this work, production of NGAL has been reported as an indicator of a response to OS before organ dysfunction can be detected by other biomarkers in acute kidney injury (Haase et al. 2011).

Therapeutic Implications

Control of the Disease Underlying CKD

Treatment of the underlying disease in CKD patients can directly translate into better control of OS conditions in their organs. This phenomenon is clearly noticeable, e.g., in diabetes patients, in which the proper control of glycemia can indeed alleviate OS and its consequences (Fiorentino et al. 2013). The same holds true for other diseases, such as autoimmune disorders or hypertension.

Application of Antioxidants in CKD

The attempts of antioxidant therapy have been already conducted in randomized trials at various stages of renal disease, e.g., the study of Secondary Prevention with Antioxidants of Cardiovascular Disease in End-stage Renal Disease

(SPACE) with the use of high-dose vitamin E. It was found that the hemodialyzed patients with a history of CVD, treated with high-dose vitamin E, had significantly reduced cardiovascular symptoms (Boaz et al. 2000). The positive results from the SPACE trial suggest that OS may be a major factor in cardiovascular disturbance in renal disease than in others. Also other research such as Prevention of Events with Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition trial, foster the hypothesis about OS as particularly adverse in patients with CKD. It turned out that the angiotensin-converting enzyme inhibitor (trandolapril) reduce all-cause mortality only in patients with a GFR of 60 ml/min per 1.73 m² comparing to those with a preserved renal function (Solomon et al. 2006). A study by Perna et al. (1991) has shown an impaired activity of alpha-ketoglutarate dehydrogenase of heart mitochondria in chronic renal failure. Further studies have led to conclusion that alpha-ketoglutarate (AKG), which is that one of the metabolites in Krebs cycle, possesses an ability to keep the redox balance within the cells. This molecule is involved in multiple metabolic and cellular pathways, e.g., serve as an energy donor, signaling molecule, regulator of epigenetic processes and precursor of amino acid biosynthesis. AKG also mediates in biosynthesis of collagen or regulation of gene expression (Zdzisinska et al. 2017). Indeed, some previous research (Long and Halliwell 2011; Sokolowska et al. 1999) suggests that AKG may be used as a therapeutic agent in states of protein deficiency and harmful OS conditions and could be used in kidney disease patients (Birck et al. 1999).

Despite these results, antioxidant therapies have not become a standard of care in renal patients up to date and more investigations are needed. It mainly remains unknown how antioxidant treatment can potentially alter the progression of CKD itself.

Potential Antioxidant Agents in CKD

The future treatment therapies of CKD patients should be focused on reduction of ROS levels. One can suggest that it is already possible, e.g., with an application of several biological agents that may be used as an antioxidant treatment agents in CKD. According to Small et al. (2012) they are represented by group of organic compounds such as: vitamin A, C, E; beta carotene, *N*-acetyl cysteine (NAC) or flavonoids (e.g., resveratrol). Their main aim is to scavenge free radicals by incorporating into the cell plasma membrane, to block oxidation of lipids and DNA, which are the main causes of cellular damage. Vitamin E and C are usually delivered together, because in living organisms vitamin C participates in recycling of vitamin E, which increases antioxidant efficacy (Frei et al. 1990). NAC is considered an essential precursor to many endogenous antioxidant agents involved in the decomposition of ROS. L-cysteine is

the limiting precursor to biosynthesis of glutathione. The sulfhydryl-thiol group of L-cysteine revealed also an ability to scavenge free radicals. The results of NAC supplementation in CKD patients have been variable. The NAC pretreatment showed the antioxidant properties by reducing ROS-dependent activity of NF- κ B (Tumur et al. 2010), serum 8-isoprostane, MDA, and the inflammatory cytokine, e.g., IL-6 (Hsu et al. 2010; Nascimento et al. 2010). However, in general the results treatment of CKD patients with NAC were disappointing (Renke et al. 2010).

Other antioxidant agents that may be used in CKD therapy are omega-3 polyunsaturated fatty acids, represented by docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. They have been investigated in a large range of *in vitro* and *in vivo* CKD models. They support organisms' antioxidant defense systems by enhancing γ -glutamyl-cysteinyl ligase and glutathione reductase levels (Arab et al. 2006). In progressive renal fibrosis models, the structure and function of kidneys were improved using docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid supplementation. They also reduced inflammation, OS and tubulointerstitial fibrosis (Peake et al. 2011). Another antioxidant agent allopurinol and its metabolite, oxypurinol, are the inhibitors of xanthine oxidoreductase and possess the ability to decrease serum uric acid levels. Allopurinol treatment relies on blocking the reabsorption of uric acid (El-Sheikh et al. 2008) and has a protective effect in diseases involving OS. Several studies in human CKD patients show that allopurinol improved endothelial functions, prevented the increased left ventricular mass and slowed the progression of CKD by lowering patients serum uric acid levels (Kao et al. 2011; Siu et al. 2006).

The progression of CKD is strictly associated with atherosclerotic process. In regard to that, researchers proposed the use of a phenolic compound—resveratrol, which possess an antioxidant and anti-inflammatory properties. Through the modulation of mechanisms which are directly involved in OS and inflammation, resveratrol plays an important role controlling various metabolic disorders associated with CKD. It possesses ability to activate the transcription-related nuclear factor erythroid 2 or sirtulin-1 protein which are associated with the reduction of inflammation. These two agents are able to inhibit/antagonize the activity of the NF- κ B, that participates in the inflammatory response (Saldanha et al. 2013). Although promising at the beginning, clinical studies have shown that there were no significant differences in pro-inflammatory or OS-related biomarkers in non-dialyzed CKD patients (Saldanha et al. 2016). However, additional studies with different times of treatment or doses should be conducted to better understand the effects of resveratrol supplementation.

In the grand majority of conducted trials, it was noticed that the effect of antioxidant therapy depends on the stage of CKD and for patients with advanced CKD stage 3 or 4,

dialyzed or transplant recipients, there are some beneficial outcomes such as significantly reduced risk of ESRD and creatinine levels. In clinical research, antioxidant therapies require more time to confirm the applicability of various antioxidant agents as effective treatment methods.

Potential Adverse Effects of Antioxidant Treatment

Several recent studies have suggested that excessive antioxidant treatment can be the cause of a range of adverse effects (Hamishehkar et al. 2016), including an increase in all-cause mortality (Miller et al. 2005), that especially holds true for an application of antioxidant vitamins in ESRD patients (reviewed in Kosmadakis et al. 2014). For instance, some studies suggest that supplementation with high doses of vitamin C may actually increase the lipid peroxidation (De Vriese et al. 2008) or may worsen clinical symptoms (Singer 2011) in hemodialysis patients. Therefore, caution and proper monitoring shall be advised for the use of antioxidants in ESRD patients until well-designed large clinical outcome trials are available.

Conclusions

In summary, monitoring OS biomarker levels seems a promising way to improve nowadays diagnostic methods in CKD. The main question of the redox-focused studies in renal diseases is about the correlation between disturbance in balance of pro- and antioxidant systems and its influence for the development and progression of kidney failure. To study this phenomenon, it is needed to find a set of biomarkers that can be easily monitored and used for a non-invasive detection of redox disturbance in CKD. In future, it may help in the better understanding of the CKD etiology and make patient treatment and care more efficient.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

References

- Annuk M, Soveri I, Zilmer M et al (2005) Endothelial function, CRP and oxidative stress in chronic kidney disease. *J Nephrol* 18:721–726
- Arab K, Rossary A, Flourie F et al (2006) Docosahexaenoic acid enhances the antioxidant response of human fibroblasts by upregulating gamma-glutamyl-cysteinyl ligase and glutathione reductase. *Br J Nutr* 95:18–26

- Ari E, Kaya Y, Demir H et al (2014) Cinacalcet may improve oxidative DNA damage in maintenance hemodialysis patients: an observational study. *Int Urol Nephrol* 46:1843–1849
- Aveles PR, Criminácio CR, Gonçalves S et al (2010) Association between biomarkers of carbonyl stress with increased systemic inflammatory response in different stages of chronic kidney disease and after renal transplantation. *Nephron Clin Pract* 116:c294–299
- Barregard L, Møller P, Henriksen T et al (2013) Human and methodological sources of variability in the measurement of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine. *Antioxid Redox Signal* 18:2377–2391
- Birck R, Zimmermann E, Wassmer S et al (1999) Calcium ketoglutarate versus calcium acetate for treatment of hyperphosphataemia in patients on maintenance haemodialysis: a cross-over study. *Nephrol Dial Transplant* 14:1475–1479
- Boaz M, Smetana S, Weinstein T et al (2000) Secondary Prevention with Antioxidants of Cardiovascular Disease in Endstage Renal Disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 356:1213–1218
- Brennan DJ, O'Connor DP, Rexhepaj E et al (2010) Antibody-based proteomics: fast-tracking molecular diagnostics in oncology. *Nat Rev Cancer* 10:605–617
- Bruck K, Stel VS, Gambaro G et al (2016) CKD prevalence varies across the European general population. *J Am Soc Nephrol* 27:2135–2147
- Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG et al (2008) Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 111:S4–S9
- Capeillere-Blandin C, Delaveau T, Descamps-Latscha B (1991) Structural modifications of human beta 2 microglobulin treated with oxygen-derived radicals. *Biochem J* 277(Pt 1):175–182
- Cerrillos-Gutierrez JI, Miranda-Diaz AG, Preciado-Rojas P et al (2016) The beneficial effects of renal transplantation on altered oxidative status of ESRD patients. *Oxid Med Cell Longev* 2016:5757645
- Cheng YY, Luo D, Xia Z et al (2017) In vivo cardioprotective effects and pharmacokinetic profile of *n*-propyl caffeamide against ischemia reperfusion injury. *Arch Immunol Ther Exp* 65:145–156
- Chou HL, Fong Y, Wei CK et al (2017) A quinone-containing compound enhances camptothecin-induced apoptosis of lung cancer through modulating endogenous ROS and ERK signaling. *Arch Immunol Ther Exp* 65:241–252
- Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Matsushita K, van der Velde M et al (2010) Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 375:2073–2081
- De Vriese AS, Borrey D, Mahieu E et al (2008) Oral vitamin C administration increases lipid peroxidation in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 108:c28–34
- Degenhardt TP, Alderson NL, Arrington DD et al (2002) Pyridoxamine inhibits early renal disease and dyslipidemia in the streptozotocin-diabetic rat. *Kidney Int* 61:939–950
- Di Meo S, Reed TT, Venditti P et al (2016) Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev* 2016:1245049
- El-Sheikh AA, van den Heuvel JJ, Koenderink JB et al (2008) Effect of hypouricaemic and hyperuricaemic drugs on the renal urate efflux transporter, multidrug resistance protein 4. *Br J Pharmacol* 155:1066–1075
- Ertan NZ, Bozfkioğlu S, Ugurel E et al (2017) Alterations of erythrocyte rheology and cellular susceptibility in end stage renal disease: effects of peritoneal dialysis. *PLoS One* 12:e0171371
- Esper RJ, Nordaby RA, Vilarino JO et al (2006) Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol* 5:4
- Fam SS, Morrow JD (2003) The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation—a review. *Curr Med Chem* 10:1723–1740
- Fiorentino TV, Prioretta A, Zuo P et al (2013) Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Curr Pharm Des* 19:5695–5703
- Frei B, Kim MC, Ames BN (1990) Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4879–4883
- Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N et al (2015) Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 23:1144–1170
- Graham A, Hogg N, Kalyanaraman B et al (1993) Peroxynitrite modification of low-density lipoprotein leads to recognition by the macrophage scavenger receptor. *FEBS Lett* 330:181–185
- Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A et al (2011) The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies. *J Am Coll Cardiol* 57:1752–1761
- Hamishehkar H, Ranjdoost F, Asgharian P et al (2016) Vitamins, are they safe? *Adv Pharm Bull* 6:467–477
- Herce-Pagliai C, Kotecha S, Shuker DE (1998) Analytical methods for 3-nitrotyrosine as a marker of exposure to reactive nitrogen species: a review. *Nitric Oxide* 2:324–336
- Himmelfarb J, McMenamin ME, Loseto G et al (2001) Myeloperoxidase-catalyzed 3-chlorotyrosine formation in dialysis patients. *Free Radic Biol Med* 31:1163–1169
- Ho E, Karimi Galougahi K, Liu CC et al (2013) Biological markers of oxidative stress: applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol* 1:483–491
- Hoher B, Armbruster FP, Stoeva S et al (2012) Measuring parathyroid hormone (PTH) in patients with oxidative stress—do we need a fourth generation parathyroid hormone assay? *PLoS One* 7:e40242
- Hsu SP, Chiang CK, Yang SY et al (2010) *N*-acetylcysteine for the management of anemia and oxidative stress in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 116:c207–216
- Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH et al (1995) Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 41(8 Pt 1):1135–1138
- Jin K, Vaziri ND (2017) Elevated plasma cyclophilin A in hemodialysis and peritoneal dialysis patients: a novel link to systemic inflammation. *Iran J Kidney Dis* 11:44–49
- Kao MP, Ang DS, Gandy SJ et al (2011) Allopurinol benefits left ventricular mass and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 22:1382–1389
- Karamouzis I, Sarafidis PA, Karamouzis M et al (2008) Increase in oxidative stress but not in antioxidant capacity with advancing stages of chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 28:397–404
- Kisic B, Miric D, Dragojevic I et al (2016) Role of myeloperoxidase in patients with chronic kidney disease. *Oxid Med Cell Longev* 2016:1069743
- Kosmadakis G, Da Costa Correia E, Carceles O et al (2014) Vitamins in dialysis: who, when and how much? *Ren Fail* 36:638–650
- Lalwani P, de Souza GK, de Lima DS et al (2015) Serum thiols as a biomarker of disease activity in lupus nephritis. *PLoS One* 10:e0119947
- Long LH, Halliwell B (2011) Artefacts in cell culture: alpha-ketoglutarate can scavenge hydrogen peroxide generated by ascorbate and epigallocatechin gallate in cell culture media. *Biochem Biophys Res Commun* 406:20–24
- Macunluoglu B, Gumrukcuoglu HA, Atakan A et al (2016) Lowering dialysate sodium improves systemic oxidative stress in maintenance hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 48:1699–1704

- Malyszko J (2010) Biomarkers of acute kidney injury in different clinical settings: a time to change the paradigm? *Kidney Blood Press Res* 33:368–382
- Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Sitniewska E et al (2008) Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in non-diabetic patients with stage 2–4 chronic kidney disease. *Ren Fail* 30:625–628
- Malyszko J, Malyszko JS, Bachorzewska-Gajewska H et al (2009) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a new and sensitive marker of kidney function in chronic kidney disease patients and renal allograft recipients. *Transplant Proc* 41:158–161
- Mathis KW, Venegas-Pont M, Masterson CW et al (2012) Oxidative stress promotes hypertension and albuminuria during the autoimmune disease systemic lupus erythematosus. *Hypertension* 59:673–679
- Matsuyama Y, Terawaki H, Terada T et al (2009) Albumin thiol oxidation and serum protein carbonyl formation are progressively enhanced with advancing stages of chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 13:308–315
- Meagher EA, FitzGerald GA (2000) Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radic Biol Med* 28:1745–1750
- Mehmetoglu I, Yerlikaya FH, Kurban S et al (2012) Oxidative stress markers in hemodialysis and peritoneal dialysis patients, including coenzyme Q10 and ischemia-modified albumin. *Int J Artif Organs* 35:226–232
- Mertens A, Holvoet P (2001) Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J* 15:2073–2084
- Meuwese MC, Stroes ES, Hazen SL et al (2007) Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk prospective population study. *J Am Coll Cardiol* 50:159–165
- Miller ER 3rd, Pastor-Barriuso R, Dalal D et al (2005) Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 142:37–46
- Miranda-Diaz AG, Pazarin-Villasenor L, Yanowsky-Escatell FG et al (2016) Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease. *J Diabetes Res* 2016:7047238
- Mishra J, Ma Q, Prada A et al (2003) Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 14:2534–2543
- Moore KP, Holt SG, Patel RP et al (1998) A causative role for redox cycling of myoglobin and its inhibition by alkalization in the pathogenesis and treatment of rhabdomyolysis-induced renal failure. *J Biol Chem* 273:31731–31737
- Morrow JD (2005) Quantification of isoprostanes as indices of oxidant stress and the risk of atherosclerosis in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25:279–286
- Morrow JD, Hill KE, Burk RF et al (1990) A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:9383–9387
- Morrow JD, Awad JA, Boss HJ et al (1992) Non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F₂-isoprostanes) are formed in situ on phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10721–10725
- Mucha K, Bakun M, Jazwiec R et al (2014) Complement components, proteolysis related, and cell communication related proteins detected in urine proteomics are associated with IgA nephropathy. *Pol Arch Med Wewn* 124:380–386
- Mucha K, Foronczewicz B, Paczek L (2016) How to diagnose and follow patients with glomerulonephritis without kidney biopsy? *Pol Arch Med Wewn* 126:471–473
- Muchowicz A, Firczuk M, Chlebowska J et al (2014) Adenanthin targets proteins involved in the regulation of disulphide bonds. *Biochem Pharmacol* 89:210–216
- Nakamura T, Sato E, Fujiwara N et al (2010) Co-administration of ezetimibe enhances proteinuria-lowering effects of pitavastatin in chronic kidney disease patients partly via a cholesterol-independent manner. *Pharmacol Res* 61:58–61
- Nascimento MM, Suliman ME, Silva M et al (2010) Effect of oral N-acetylcysteine treatment on plasma inflammatory and oxidative stress markers in peritoneal dialysis patients: a placebo-controlled study. *Perit Dial Int* 30:336–342
- O’Leary PC, Terrile M, Bajor M et al (2014) Peroxiredoxin-1 protects estrogen receptor alpha from oxidative stress-induced suppression and is a protein biomarker of favorable prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res* 16:R79
- Palm F, Nordquist L (2011) Renal oxidative stress, oxygenation, and hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 301:R1229–R1241
- Pandya V, Rao A, Chaudhary K (2015) Lipid abnormalities in kidney disease and management strategies. *World J Nephrol* 4:83–91
- Paoletti E, Bellino D, Cassottana P et al (2005) Left ventricular hypertrophy in nondiabetic predialysis CKD. *Am J Kidney Dis* 46:320–327
- Peake JM, Gobe GC, Fassett RG et al (2011) The effects of dietary fish oil on inflammation, fibrosis and oxidative stress associated with obstructive renal injury in rats. *Mol Nutr Food Res* 55:400–410
- Pei Y, Xu Y, Ruan J et al (2016) Plasma oxidative stress level of IgA nephropathy in children and the effect of early intervention with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 17:1470320316647240
- Perna AF, Zayed MA, Massry SG (1991) Impaired activity of alpha-ketoglutarate dehydrogenase of heart mitochondria in chronic renal failure: role of secondary hyperparathyroidism. *Nephron* 59:221–225
- Peuchant E, Carbonneau MA, Dubourg L et al (1994) Lipoperoxidation in plasma and red blood cells of patients undergoing haemodialysis: vitamins A, E, and iron status. *Free Radic Biol Med* 16:339–346
- Pippias M, Kramer A, Noordzij M et al (2017) The European Renal Association—European Dialysis and Transplant Association Registry annual report 2014: a summary. *Clin Kidney J* 10:154–169
- Polovina M, Petrovic I, Brkovic V et al (2016) Oxidized low-density lipoprotein predicts the development of renal dysfunction in atrial fibrillation. *Cardiovasc Med* 7:31–41
- Porter NA, Caldwell SE, Mills KA (1995) Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 30:277–290
- Pouliantiti KP, Kaltsatou A, Mitrou GI et al (2016) Systemic redox imbalance in chronic kidney disease: a systematic review. *Oxid Med Cell Longev* 2016:8598253
- Renke M, Tylicki L, Rutkowski P et al (2010) The effect of N-acetylcysteine on blood pressure and markers of cardiovascular risk in non-diabetic patients with chronic kidney disease: a placebo-controlled, randomized, cross-over study. *Med Sci Monit* 16:PI13–P18
- Rodriguez-Ribera L, Corredor Z, Silva I et al (2017) Vitamin E-coated dialysis membranes reduce the levels of oxidative genetic damage in hemodialysis patients. *Mutat Res* 815:16–21
- Saldanha JF, Leal Vde O, Stenvinkel P et al (2013) Resveratrol: why is it a promising therapy for chronic kidney disease patients?. *Oxid Med Cell Longev* 2013:963217
- Saldanha JF, Leal VO, Rizzetto F et al (2016) Effects of resveratrol supplementation in Nrf2 and NF-kappaB expressions in nondialyzed chronic kidney disease patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover clinical trial. *J Ren Nutr* 26:401–406

- Salomon RG, Bi W (2015) Isolevuglandin adducts in disease. *Antioxid Redox Signal* 22:1703–1718
- Scholze A, Jankowski J, Pedraza-Chaverri J et al (2016) Oxidative stress in chronic kidney disease. *Oxid Med Cell Longev* 2016:8375186
- Schupp N, Stopper H, Heidland A (2016) DNA damage in chronic kidney disease: evaluation of clinical biomarkers. *Oxid Med Cell Longev* 2016:3592042
- Shang W, Huang L, Li L et al (2016) Cancer risk in patients receiving renal replacement therapy: a meta-analysis of cohort studies. *Mol Clin Oncol* 5:315–325
- Singer RF (2011) Vitamin C supplementation in kidney failure: effect on uraemic symptoms. *Nephrol Dial Transplant* 26:614–620
- Siu YP, Leung KT, Tong MK et al (2006) Use of allopurinol in slowing the progression of renal disease through its ability to lower serum uric acid level. *Am J Kidney Dis* 47:51–59
- Small DM, Coombes JS, Bennett N et al (2012) Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology* 17:311–321
- Sokolowska M, Oleszek A, Wlodek L (1999) Protective effect of alpha-keto acids on the oxidative hemolysis. *Pol J Pharmacol* 51:429–434
- Solomon SD, Rice MM, Jablonski A K et al (2006) Renal function and effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in patients with chronic stable coronary disease in the Prevention of Events with ACE inhibition (PEACE) trial. *Circulation* 114:26–31
- Stafforini DM, Sheller JR, Blackwell TS et al (2006) Release of free F2-isoprostanes from esterified phospholipids is catalyzed by intracellular and plasma platelet-activating factor acetylhydrolases. *J Biol Chem* 281:4616–4623
- Stepniewska J, Golembiewska E, Dolegowska B et al (2015) Oxidative stress and antioxidative enzyme activities in chronic kidney disease and different types of renal replacement therapy. *Curr Protein Pept Sci* 16:243–248
- Stopper H, Schupp N, Bahner U et al (2004) Genomic damage in end-stage renal failure: potential involvement of advanced glycation end products and carbonyl stress. *Semin Nephrol* 24:474–478
- Stoyanova E, Sandoval SB, Zúñiga LA et al (2010) Oxidative DNA damage in chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 25:879–885
- Trabulus S, Guven GS, Altiparmak MR et al (2012) DNA repair XRCC1 Arg399Gln polymorphism is associated with the risk of development of end-stage renal disease. *Mol Biol Rep* 39:6995–7001
- Trevisan M, Browne R, Ram M et al (2001) Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol* 154:348–356
- Trzeciecka A, Klossowski S, Bajor M et al (2016) Dimeric peroxiredoxins are druggable targets in human Burkitt lymphoma. *Oncotarget* 7:1717–1731
- Tucker PS, Scanlan AT, Dalbo VJ (2015) Chronic kidney disease influences multiple systems: describing the relationship between oxidative stress, inflammation, kidney damage, and concomitant disease. *Oxid Med Cell Longev* 2015:806358
- Tumur Z, Shimizu H, Enomoto A et al (2010) Indoxyl sulfate upregulates expression of ICAM-1 and MCP-1 by oxidative stress-induced NF-kappaB activation. *Am J Nephrol* 31:435–441
- Vassalotti JA, Fox CH, Becker BN (2010) Risk factors and screening for chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 17:237–245
- Vaziri ND (2004) Oxidative stress in uremia: nature, mechanisms, and potential consequences. *Semin Nephrol* 24:469–473
- Wagner S, Apetrii M, Massy ZA et al (2017) Oxidized LDL, statin use, morbidity, and mortality in patients receiving maintenance hemodialysis. *Free Radic Res* 51:14–23
- Wang Y, Yang J, Yi J (2012) Redox sensing by proteins: oxidative modifications on cysteines and the consequent events. *Antioxid Redox Signal* 16:649–657
- Zdzisinska B, Zurek A, Kandefers-Szerszen M (2017) Alpha-ketoglutarate as a molecule with pleiotropic activity: well-known and novel possibilities of therapeutic use. *Arch Immunol Ther Exp* 65:21–36
- Zhang R, Brennan ML, Fu X et al (2001) Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 286:2136–2142

7.2. Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis.

Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 2022



Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis

Natalia Krata^{1,2} · Bartosz Foroniewicz^{1,2} · Radosław Zagożdżon^{2,3,4} · Barbara Moszczuk^{2,3} · Magdalena Zielenkiewicz⁵ · Leszek Pączek^{1,2,4} · Krzysztof Mucha^{1,2,4}

Received: 30 July 2021 / Accepted: 12 November 2021
© The Author(s) 2021

Abstract

IgA nephropathy (IgAN), membranous nephropathy (MN), and lupus nephritis (LN) represent important causes of chronic kidney disease. They belong to the immune-mediated glomerulonephritis (GNs), and have distinct pathogenesis, distinct clinical courses, and variable responses to treatment. Therefore, specific diagnostic procedures are necessary for more effective patient management. Recently, a role for oxidative stress has been proposed in various renal disorders. Thus, molecules related to oxidative stress, such as 2-Cys-peroxiredoxins (PRDXs), may represent plausible candidates for biomarkers in renal pathologies. The aim of this study was to assess whether there are differences between individual GNs and healthy controls in the context of PRDXs serum concentration. We enrolled 108 patients with biopsy-proven IgAN (47), MN (26), LN (35) and 30 healthy age- and sex-matched controls. The serum concentrations of PRDX 1–5 were measured with ELISA assays and correlated with demographic and clinical data. The PRDXs' concentration varied depending on the GN type. We also observed an association of PRDXs with lower estimated glomerular filtration rates, complement, hemoglobin, and body mass index. Our study indicates that individual PRDX can play roles in pathophysiology of selected GNs and that their serum concentrations may become useful as a new supplementary diagnostic markers in IgAN, MN as well as LN. The results of this study open a new avenue for prospective research on PRDXs in renal diseases.

Keywords Chronic kidney disease · IgA nephropathy · Lupus nephritis · Membranous nephropathy · Oxidative stress · Peroxiredoxins

Introduction

Chronic kidney disease (CKD) is a growing public health problem, affecting approximately 8–13% of the population (Brück et al. 2016; Hill et al. 2016). Furthermore, it is projected that in 2040, CKD will be the fifth leading cause of death in the world (Foreman et al. 2018). Glomerulonephropathies (GNs) such as IgA nephropathy (IgAN), membranous nephropathy (MN), and lupus nephritis (LN) are immune-mediated, although they have different etiologies, and are among the most frequent causes of CKD (Pippias et al. 2017). GNs account for about 20% of CKD cases in most countries, usually affecting young people and carry a lifelong CKD burden (Floege and Amann 2016). IgAN and MN belong to the primary GNs, and their annual incidence is estimated at 2–5 and 1–2 cases per 100,000 adults, respectively (McGrogan et al. 2011). LN develops secondary to systemic disease, and its incidence is estimated at 0.4–0.7 cases per 100,000 population per year (Patel et al. 2006).

✉ Krzysztof Mucha
kmucha@wum.edu.pl; kjmucha@gmail.com

¹ Department of Immunology, Transplantology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

² ProMix Center (ProteogenOmix in Medicine) at the Department of Immunology, Transplantology and Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

³ Department of Clinical Immunology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

⁴ Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

⁵ Faculty of Mathematics, Informatics and Mechanics, University of Warsaw, Warsaw, Poland

Unfortunately, GNs frequently progress asymptotically or present with proteinuria, erythrocyturia or hematuria, edema, and hypertension (Vassalotti et al. 2010). These symptoms are neither specific nor sensitive enough for any GN. The diagnosis is difficult and frequently too late, and still requires histopathological evaluation by kidney biopsy, an invasive procedure with known risks (Mucha et al. 2016). Therefore, alternative, specific, reproducible, and safer methods are needed to facilitate noninvasive diagnosis.

There are specific markers that may help to diagnose glomerular diseases, including galactose-deficient IgA1 and IgG autoantibodies that correlate with IgAN (Placzek et al. 2018), anti-phospholipid 2 receptor antibodies that correlate with the histological picture of MN, and anti-double-stranded DNA antibodies associated with LN activity (Na et al. 2017). Multiple urine and serum proteins (Gao et al. 2018; Krata et al. 2018; Moszczuk et al. 2021; Mucha et al. 2014) or gene polymorphisms (Xie et al. 2020; Pac et al. 2021) have been proposed as markers of different kidney diseases in the last decade. However, their diagnostic and/or prognostic utility remains to be validated (Krata et al. 2018; Selvaskandan et al. 2020; Sethi et al. 2019, 2020; Yanagawa et al. 2014). In this study, we focused on oxidative stress-related markers, 2-cysteine peroxiredoxins (2-Cys PRDXs), as potentially discriminatory in renal diseases.

Oxidative stress (OS) is one of the mechanisms involved in the progression of every type of CKD, including GN (Krata et al. 2018). Indeed, specific CKD-related conditions may lead to the overproduction of reactive oxygen species (ROS). It was reported that CKD patients have increased levels of plasma thiol oxidation and carbonylation, but the role of PRDXs in the pathophysiology of kidney diseases remains unknown (Cachofeiro et al. 2008; Krata et al. 2018). PRDXs, which are similar in function to well-known antioxidant enzymes such as catalase and glutathione peroxidase, possess the ability to reduce excessive levels of hydrogen peroxide, one of the major OS mediators (Jeong et al. 2012; Yang and Lee 2015). Importantly, kinetics measurements imply that PRDXs reduce more than 90% of cellular peroxides (Adimora et al. 2010; Perkins et al. 2015; Winterbourn 2008), which predisposes them to being a crucial factor in cellular OS regulation. Oxidative stress has been reported in kidney disease, due to both antioxidant depletions as well as increased production of ROS (Daenen et al. 2019; Irazabal and Torres 2020). The kidney is a highly metabolic organ, rich in oxidation reactions in mitochondria, which makes it vulnerable to damage caused by ROS (Aranda-Rivera et al. 2021). Therefore, OS can accelerate kidney disease progression. Different PRDX isoforms were reported to be involved in diabetic nephropathy (Lee and Lee 2018), ischemia/reperfusion

damage (Sharapov et al. 2020), obstructive kidney disease (Hwang et al. 2019), ciliopathies (Zacchia et al. 2020) and acute tubular necrosis (Wu et al. 2017). However, the role of PRDXs in the pathophysiology of glomerular diseases is not well known.

In the current study, we hypothesized that 2-Cys PRDXs could be differentially involved in IgAN, MN, and LN. If so, the PRDX family could serve as additional markers of specific GNs. Therefore, the aim of this study was to evaluate PRDX 1–5 serum concentrations in IgAN, MN, and LN patients and healthy controls.

Materials and Methods

Patients

We enrolled 108 patients (GN group) diagnosed by renal biopsy with IgAN (47), MN (26), and LN (35). The exclusion criteria were active infection, current pregnancy, history of malignancy, or previous organ transplantation. The healthy control group was defined by the absence of any kidney disease or other chronic diseases requiring treatment and consisted of 30 age- and sex-matched volunteers. Demographic characteristics of study participants are presented in Table 1. The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki guidelines for research on human subjects and was approved by the Ethics Committee of the Medical University of Warsaw (KB/9/2010 and KB/199/2016), and written informed consent was obtained from all the participants.

Methods

Material Collection

Blood samples were collected once from each of the individuals (fasting) into serum separating tubes (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). To obtain serum, blood samples were left to clot at 23–25 °C (room temperature, RT) for 30 min and centrifuged at 2000 RPM at RT. Serum samples were stored in aliquots at – 80 °C until further measurements.

PRDX Measurements

The serum concentration of each of PRDX (1–5) was measured using commercially available enzyme-linked immunosorbent assays (EIAab, Wuhan, China). Briefly, the samples and standards were added to the microtiter plate and pre-coated with a biotin-conjugated antibody specific to the target antigen. The standards and samples

Table 1 Characteristics of study participants

	Healthy controls	IgAN	MN	LN	GN group	<i>P</i> value
Demographics						
Age (years)	44.4 ± (12.9)	43.1 ± (13.3)	54.1 ± (13.4)	45.2 ± (12.4)	46.4 ± (13.6)	0.022
Male (%)**	43.3%	51.1%	57.7%	31.4%	46.3%	0.773
BMI (kg/m ²)	23.8 ± (3.4)	27.3 ± (3.8)	25.7 ± (4.1)	24.7 ± (7.9)	26.1 ± (5.5)	<0.001
Laboratory data						
WBC (G/L)	5.6 ± (1.02)	8.2 ± (2.4)	8.6 ± (3.1)	7.0 ± (3.5)	7.9 ± (3.02)	<0.001
HGB (g/dL)	13.9 ± (1.2)	14.1 ± (1.5)	13.6 ± (1.8)	13.2 ± (1.8)	13.5 ± (2.4)	0.128
HCT (L/L)	0.422 ± (0.036)	0.434 ± (0.042)	0.423 ± (0.052)	0.411 ± (0.056)	0.424 ± (0.049)	0.289
PLT (G/L)	236.2 ± (53.8)	251.3 ± (54.6)	248.5 ± (78.9)	243.6 ± (87.2)	248.1 ± (71.5)	0.842
C3 (mg/dL)*	n.a	114.1 ± (27.7)	106.5 ± (48.9)	94 ± (26.6)	106.1 ± (30.2)	0.006
C4 (mg/dL)*	n.a	26.2 ± (6.9)	29.0 ± (11.3)	16.3 ± (8.0)	22.8 ± (9.0)	<0.001
Serum creatinine (mg/dL)	0.86 ± (0.14)	1.47 ± (1.11)	1.13 ± (0.46)	1.07 ± (0.68)	1.26 ± (0.87)	0.013
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	92.2 ± (13.7)	71.7 ± (34.4)	74.2 ± (26.2)	82.1 ± (27.9)	75.6 ± (30.5)	0.059
Proteinuria* (g/24 h)	n.a	0.96 ± (1.14)	1.00 ± (1.23)	0.46 ± (0.63)	0.82 ± (1.05)	<0.001
Total serum protein (g/dL)	7.4 ± (0.3)	7.0 ± (0.6)	6.5 ± (1.2)	7.0 ± (0.5)	6.9 ± (0.7)	0.139
Serum albumin (g/dL)	4.3 ± (0.1)	3.9 ± (0.4)	3.9 ± (0.6)	3.9 ± (0.3)	3.9 ± (0.4)	0.029
Serum α-1 (g/dL)	0.3 ± (0.03)	0.3 ± (0.05)	0.3 ± (0.06)	0.3 ± (0.06)	0.3 ± (0.05)	0.345
Serum α-2 (g/dL)	0.6 ± (0.07)	0.725 ± (0.1)	0.8 ± (0.12)	0.789 ± (0.13)	0.750 ± (0.11)	0.011
Serum β-1 (g/dL)	0.5 ± (0.05)	0.487 ± (0.07)	0.477 ± (0.07)	0.478 ± (0.11)	0.484 ± (0.07)	0.909
Serum β-2 (g/dL)	5.6 ± (1.4)	4.7 ± (2.8)	6.0 ± (1.2)	4.9 ± (2.6)	5.00 ± (2.6)	0.413
Serum γ (g/dL)	1.3 ± (0.2)	1.1 ± (0.2)	0.8 ± (0.3)	1.1 ± (0.3)	1.1 ± (0.3)	0.018

Values are given as mean ± SD. Level of significance was calculated with Chi-squared test and non-parametric Kruskal–Wallis test. *P* < 0.05 indicates that at least one studied group is significantly different from one other group. *Healthy controls group excluded from comparison; **comparison between GN and healthy control; n.a. not available; *BMI* body mass index, *WBC* white blood count, *HGB* hemoglobin, *HCT* hematocrit, *PLT* platelets, *eGFR* estimated glomerular filtration rate

were added in a determined order the amount of 100 µL per well. Then, avidin-conjugated horseradish peroxidase was added to each microplate well. The enzyme–substrate reaction was terminated by the addition of sulfuric acid solution. Color changes in each well were measured spectrophotometrically at a wavelength of 450 nm on a BioTek-PowerWave XS microplate reader (BioTek, Winooski, VT, USA). The targeted antigen concentration was determined by comparing the optical density absorbance of samples to the standard curve. Samples below the detection range for each test were set as the lowest concentration obtained from the standard curve to avoid losing the meaningful part of the results and compute reliable statistical analysis.

Biochemical and Clinical Characteristics

Laboratory tests of serum creatinine, proteins, complement, blood morphology, urine analysis, and urinary protein were assayed by routine laboratory techniques. The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated according to the Chronic Kidney Disease—Epidemiology Collaboration equation. Body weight in kilograms was divided by the

square of height in meters (kg/m²) to evaluate body mass index (BMI).

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed in R version 3.6.1. and Statistica 13.1 (StatSoft). Results were expressed as mean ± standard deviation, median ± interquartile range, or a percentage value. All variables were tested for normal distribution by the Shapiro–Wilk test. Non-normally distributed variables were analyzed by non-parametric tests. Comparisons between demographic data were tested by the Kruskal–Wallis test (quantitative variables) and Chi-squared test (qualitative variables), whereas comparisons in biomarker levels between control and GN groups were tested by the Mann–Whitney *U* test. Given that the biomarkers are non-normally distributed, the association between pairs of parameters were analyzed using Spearman's correlation. To correct for testing multiple hypotheses, in PRDX assessment in three GN groups, we used the Bonferroni method—given a total number of 15 comparative tests: 5 biomarkers and 3 disease groups compared to controls, we considered *P* value < 0.05/15 or 0.0033

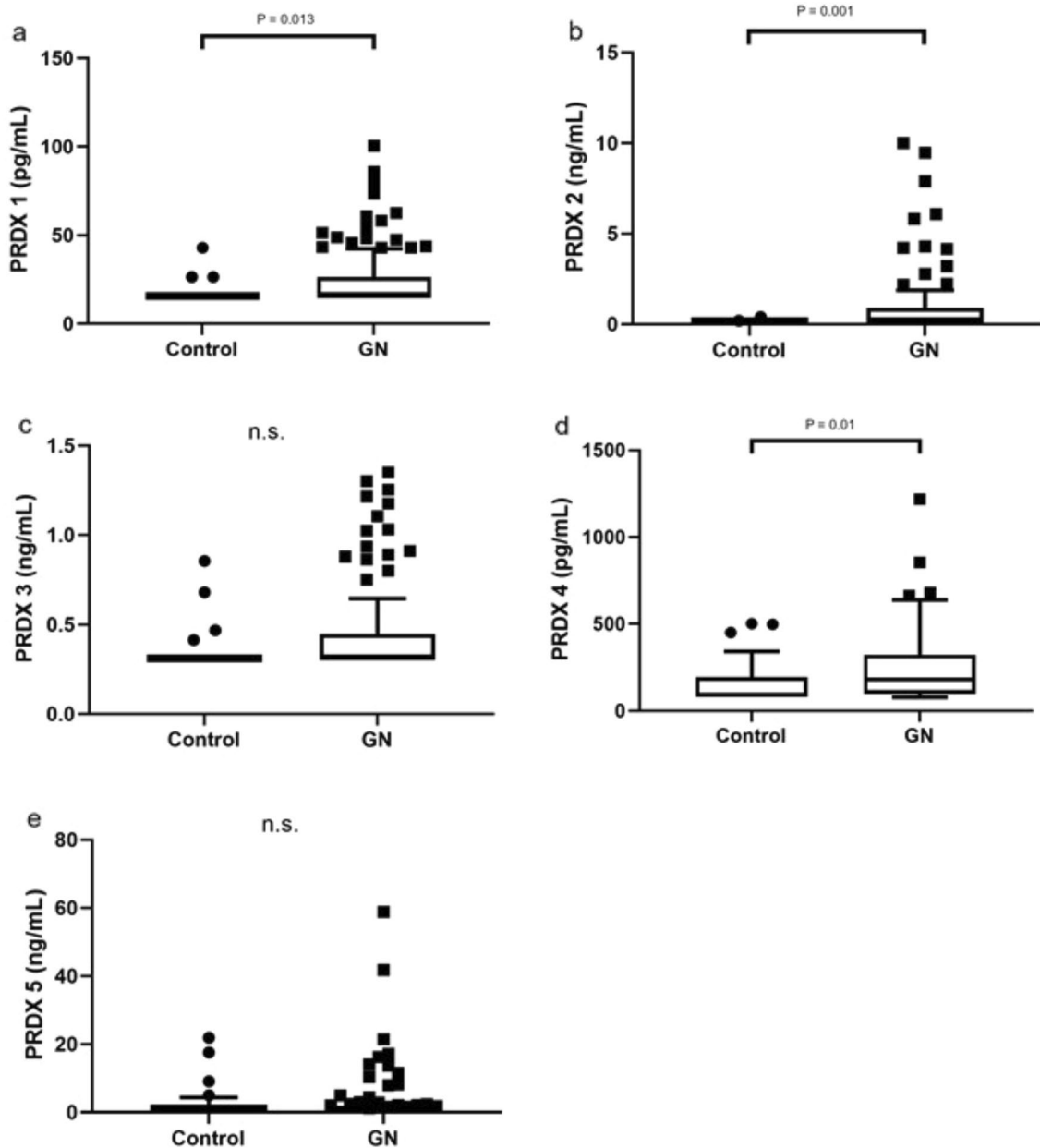


Fig. 1 PRDX 1–5 concentrations in patients with GN and healthy controls. Data are presented as box-and-whisker plots; box represents interquartile range (IRQ) with line set as median value for each PRDX concentration, ends of whiskers represent ± 1.5 IRQ of value

(maximum/minimum), and individual data points indicate outliers. $P < 0.05$ was considered significant (Mann–Whitney U test). GN—IgAN, MN, LN combined; (a) PRDX 1; (b) PRDX 2; (c) PRDX 3; (d) PRDX 4; (e) PRDX 5; n.s.—not significant

statistically significant. Receiver-operating characteristic curves (ROC) were calculated with cutoff points established by binary logistic regression with a significance level of $P < 0.05$ and 95% confidence interval. The ROC analysis results were interpreted as follows: $AUC < 0.50$, low diagnostic accuracy; AUC in the range of 0.50 – 0.70 , moderate diagnostic accuracy; and $AUC > 0.70$, high diagnostic accuracy.

Results

Discrimination Between GN Patients and Healthy Subjects

We were able to discriminate GN patients in total from healthy subjects based on significantly elevated PRDX 1, 2, and 4 (Fig. 1a, b, d). No differences in PRDX 3 and 5 levels were observed between GN and controls (Fig. 1c, e); however,

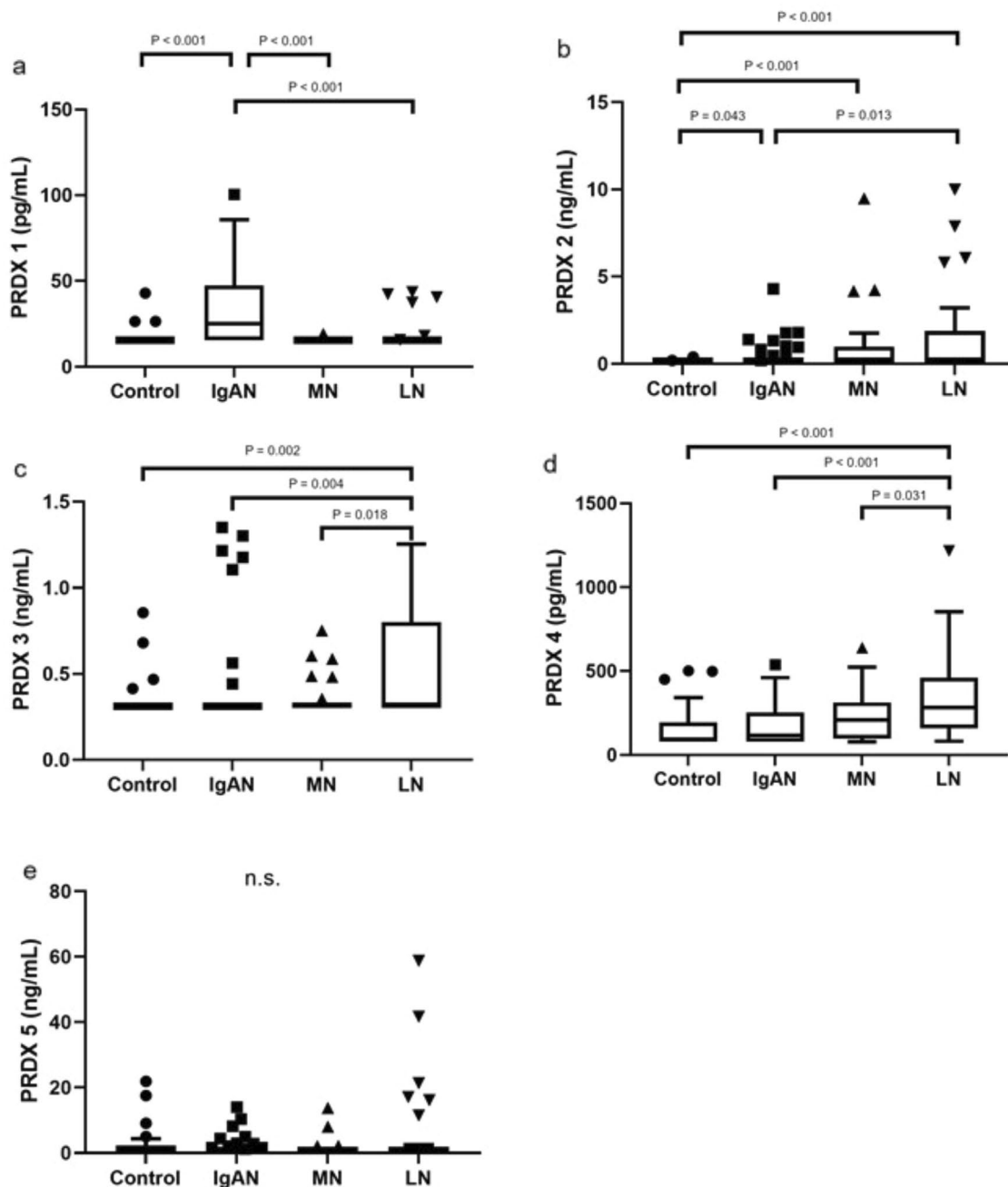


Fig. 2 Peroxiredoxin (PRDX) 1–5 concentrations in IgA nephropathy (IgAN), membranous nephropathy (MN), lupus nephritis (LN) and healthy controls. Data are presented as box-and-whisker plots; box represents interquartile range (IRQ) with line set as median value for each PRDX concentration, ends of whiskers represent ± 1.5 IQR

of value (maximum/minimum), and individual data points indicate outliers (Mann–Whitney U test). P value was considered significant if < 0.05 and < 0.033 after Bonferroni correction; (a) PRDX 1; (b) PRDX 2; (c) PRDX 3; (d) PRDX 4; (e) PRDX 5; *n.s.* not significant

a clear tendency for higher concentrations of these PRDXs in GN patients has been observed in case of PRDX 3.

Subclass Variability

Depending on the PRDX subclass, the serum concentration varied between IgAN, MN, and LN patients and healthy

controls (Fig. 2). IgAN patients had significantly higher concentrations of PRDX 1 and 2 ($P < 0.001$ and < 0.043 , respectively; however, only PRDX 1 remained significant after Bonferroni correction; Fig. 2a, b); the MN group had almost the same PRDX levels, except for PRDX 2 ($P = 0.001$; Fig. 2b), whereas the levels of PRDX 2, 3, and 4 in LN patients were significantly elevated ($P < 0.001$, < 0.002 , and

<0.001, respectively; Fig. 2b–d) compared to those in the control group. Importantly, we noticed significant differences between the disease groups. Comparing IgAN and MN, higher PRDX 1 level was revealed level in IgAN patients (Fig. 2a). The significant differences between IgAN and LN varied depending on the PRDX subclass (1–4) (Fig. 2a–d), whereas comparing LN assessment and MN revealed higher levels of PRDX 3 and 4 in LN individuals (Fig. 2c, d).

To confirm the diagnostic accuracy of PRDX levels, we performed ROC analysis to strengthen the significance of the obtained results. The most prominent AUC values were detected for PRDX 2 (0.652) and 4 (0.653) to discriminate GN from controls and for PRDX 1 to discriminate IgAN from LN (0.733) and MN (0.788) (Table 2).

Single-Patient PRDX Concentration Panel (Heatmap)

Based on our results, we prepared a heatmap (Fig. 3) of PRDX concentrations for all the studied groups. The detection range was set as consecutive concentrations obtained from the standard curve (Table 3). The heatmap suggests the PRDX 1 potential to differentiate IgAN from other GN or controls. Moreover, PRDX 2 concentrations seem significantly higher in LN patients, than in IgAN and controls (as shown in Fig. 2b). This illustrates possible differential GN diagnostic pattern for PRDX 1 and 2; however, to confirm it is applicability, further studies addressing the subclass variability, relationship to such parameters as age, eGFR, proteinuria and anemia are required.

Correlations

Glomerular Filtration Rate

We observed significant correlation between PRDX 2 serum concentration and renal function as expressed by the eGFR in IgAN ($P=0.001$) and LN ($P=0.001$) patients (Fig. 4a, b), and similarly for PRDX 3 in MN ($P=0.041$) and IgAN ($P=0.041$) patients (Fig. 4c, d).

Complement components C3 and C4

The complement component concentration showed an inverse association with PRDX 1 in IgAN ($P=0.031$) and LN ($P=0.005$ and $P=0.008$) patients (Fig. 5a, b, c) and PRDX 3 ($P=0.032$ and $P=0.035$) in LN patients (Fig. 5d,e). An association was also found with PRDX 3 in the whole GN group (Supplementary Table 1) (Fig. 5).

Other Parameters

In addition, a significant inverse correlation between PRDX 2 and hematocrit (HCT) was observed in the GN group

($P=0.001$). Further analysis revealed that HCT was correlated with PRDX 2 in LN only ($P=0.011$). The association between hemoglobin (HGB) level and serum PRDX 2 concentration was found in the whole GN group ($P=0.001$) and in IgAN ($P=0.025$) and LN ($P=0.005$) separately (Supplementary Table 1).

We noticed a significant correlation between PRDX 3 and 24 h proteinuria in the whole GN group ($P=0.013$), but not in IgAN, MN or LN separately. Moreover, 24 h proteinuria was correlated to PRDX 2 only in MN patients ($P=0.014$) (Supplementary Table 1). At the same time, we did observe an association of PRDX with serum proteinogram changes. For example, in IgAN patients, serum α -1 and β -1 globulins, were correlated significantly with PRDX 1 ($P=0.032$; $P=0.001$, respectively), while β -2 globulins were correlated with PRDX 1 ($P=0.021$), 3 ($P=0.018$) and 4 ($P=0.004$). Furthermore, in the MN group, β -2 globulins correlated with PRDX 2 ($P=0.033$), and in the LN group, β -1 globulins correlated with PRDX 1 ($P=0.048$) (Supplementary Table 1).

A significant correlation was also found between BMI and PRDX 5 in IgAN patients ($P=0.012$). Other significant associations are summarized in Supplementary Table 1.

Discussion

In this study, we show that serum levels of PRDX 1–4 were significantly elevated in IgAN, MN, and LN patients compared to healthy individuals. In addition to the differences between disease and control groups, we also found that each GN type revealed a distinct PRDX pattern. There is no straight explanation why there would be differences in oxidative stress markers between different types of GN. The data on biological reasons for these differences are largely missing.

Oxidative stress is defined as a disturbance in the natural ability of cells to maintain a balance between pro- and antioxidant systems (Krata et al. 2018; Selvaskandan et al. 2020; Sethi et al. 2019, 2020; Yanagawa et al. 2014). Although moderate levels of hydrogen peroxide are necessary for numerous cellular processes, in excessive concentrations it can cause cell and tissue damage (mediated by oxidation of lipids, proteins, or DNA). Several mechanisms are responsible for the removal of reactive oxygen species, including superoxide dismutase, catalase, peroxidase, the peroxide–redox–thioredoxin–thioredoxin reductase enzymatic chain, and a number of non-enzymatic antioxidants (Descamps-Latscha et al. 2001). PRDXs are known as biomarkers for cancer (Basu et al. 2011; O'Leary et al. 2014), bacterial infections (Yang et al. 2018), and neurodegenerative (Goemaere and Knoops 2012) and inflammatory-related diseases (Park et al. 2016). Their role in the pathophysiology and/or diagnostics of IgAN, MN, and LN has not been characterized yet.

Table 2 Receiver-operating characteristic (ROC) analysis for serum PRDX 1–5 concentration in GN's and healthy controls

	Area AUC	95% CI (lower)	95% CI (upper)	P value	Cutoff point	True positive	False positive	False negative	True negative	Sensitivity	Specificity	
PRDX 1												
IgAN_LN	0.733	0.625	0.840	<0.001	19.107	27	4	20	31	0.574	0.886	
IgAN_MN	0.788	0.687	0.890	<0.001	16.954	28	1	19	25	0.596	0.962	
IgAN_Control	0.761	0.656	0.866	<0.001	16.954	28	3	19	27	0.596	0.900	
LN_Control	0.536	0.395	0.677	0.619	15.828	6	3	29	27	0.171	0.900	
MN_Control	0.467	0.315	0.619	0.673	19.115	1	3	25	27	0.038	0.900	
LN_MN	0.568	0.424	0.711	0.357	15.828	6	1	29	25	0.171	0.962	
GN_Control	0.617	0.515	0.720	0.025	15.828	35	3	73	27	0.324	0.900	
PRDX 2												
IgAN_LN	0.365	0.240	0.491	0.035	0.165	11	16	36	19	0.234	0.543	
IgAN_MN	0.402	0.262	0.541	0.168	0.165	11	11	36	15	0.234	0.577	
IgAN_Control	0.590	0.464	0.717	0.163	0.165	11	2	36	28	0.234	0.933	
LN_Control	0.710	0.584	0.835	0.001	0.426	15	0	20	30	0.429	1.000	
MN_Control	0.688	0.544	0.833	0.010	0.476	9	0	17	30	0.346	1.000	
LN_MN	0.543	0.398	0.689	0.560	0.165	16	11	19	15	0.457	0.577	
GN_Control	0.652	0.557	0.748	0.002	0.165	38	2	70	28	0.352	0.933	
PRDX 3												
IgAN_LN	0.350	0.226	0.473	0.017	0.325	7	17	40	18	0.149	0.514	
IgAN_MN	0.470	0.330	0.609	0.670	0.325	7	6	40	20	0.149	0.769	
IgAN_Control	0.514	0.382	0.646	0.833	0.325	7	4	40	26	0.149	0.867	
LN_Control	0.690	0.561	0.818	0.004	0.513	15	2	20	28	0.429	0.933	
MN_Control	0.547	0.394	0.700	0.543	0.480	5	2	21	28	0.192	0.933	
LN_MN	0.656	0.521	0.792	0.024	0.513	15	3	20	23	0.429	0.885	
GN_Control	0.579	0.472	0.687	0.150	0.325	30	4	78	26	0.278	0.867	
PRDX 4												
IgAN_LN	0.230	0.131	0.329	<0.001	85.899	30	34	17	1	0.638	0.029	
IgAN_MN	0.394	0.257	0.531	0.131	79.722	31	20	16	6	0.660	0.231	
IgAN_Control	0.545	0.412	0.678	0.507	79.722	31	18	16	12	0.660	0.400	
LN_Control	0.800	0.691	0.909	<0.001	102.148	33	13	2	17	0.943	0.567	
MN_Control	0.650	0.504	0.796	0.045	221.942	12	5	14	25	0.462	0.833	
LN_MN	0.663	0.522	0.803	0.023	140.977	31	15	4	11	0.886	0.423	
GN_Control	0.653	0.543	0.763	0.007	79.722	86	18	22	12	0.796	0.400	
PRDX 5												
IgAN_LN	0.472	0.344	0.601	0.674	1.247	11	9	36	26	0.234	0.743	
IgAN_MN	0.538	0.400	0.675	0.591	1.247	11	4	36	22	0.234	0.846	
IgAN_Control	0.459	0.324	0.593	0.549	1.247	11	9	36	21	0.234	0.700	

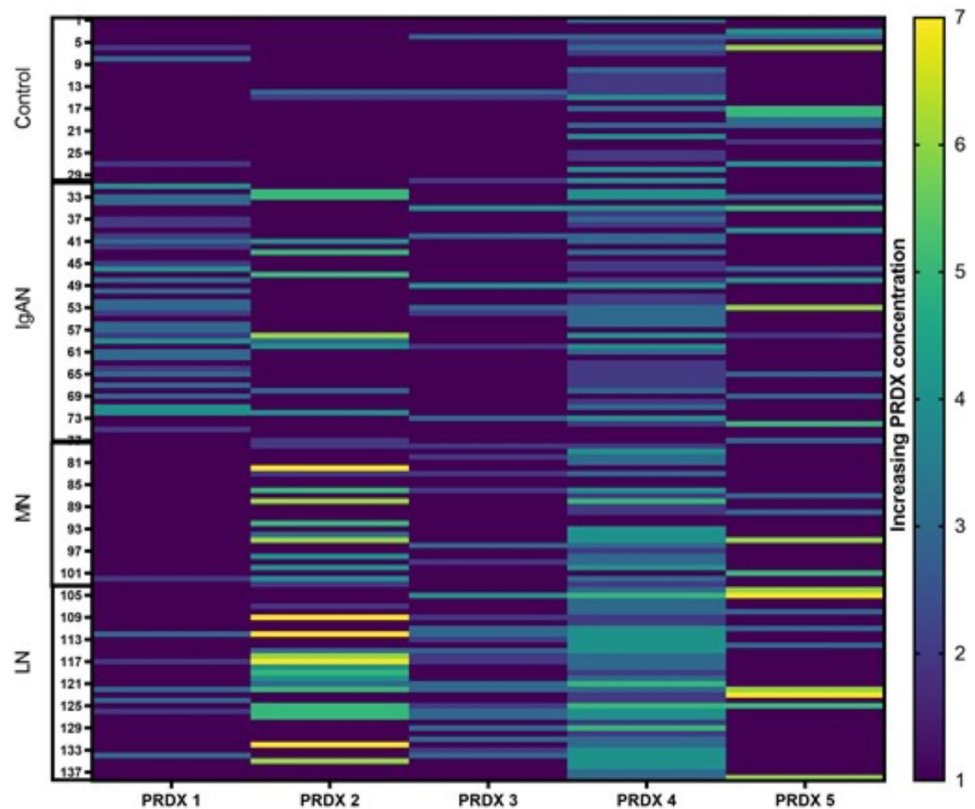
Table 2 (continued)

	Area AUC	95% CI (lower)	95% CI (upper)	P value	Cutoff point	True positive	False positive	False negative	True negative	Sensitivity	Specificity
LN_Control	0.490	0.348	0.631	0.885	1.247	9	9	26	21	0.257	0.700
MN_Control	0.424	0.274	0.575	0.324	1.247	4	9	22	21	0.154	0.700
LN_MN	0.562	0.417	0.706	0.403	1.247	9	4	26	22	0.257	0.846
GN_Control	0.460	0.341	0.580	0.517	1.247	24	9	84	21	0.222	0.700

$P < 0.05$ was considered significant. AUC under the curve, 95% CI 95% confidence interval

The fundamental method of following up CKD, including GN patients, is eGFR estimation. We observed an inverse correlation between eGFR and PRDX 2 in IgAN and LN but not MN patients and PRDX3 in IgAN and MN individuals. For the obvious reasons, a simple link between eGFR and serum PRDX probably does not exist. However, declining eGFR is the evident effect of kidney disease progression involving, e.g., oxidative stress. Coexisting secondary anemia or other comorbidities could additionally influence PRDX levels in serum (discussed below). Another gold standard for GN follow-up is 24-h urine protein loss analysis. Higher proteinuria usually indicates more advanced or active GN. However, we observed only one correlation between PRDX 2 and 24 h proteinuria in MN patients. The implication of this is unclear. The highly variable degree of proteinuria in MN patients, related to the MN biology could explain this finding. On the other hand, a potential relation to protein loss may be suspected also in other GNs based on the observed PRDX association with serum proteinogram changes. Therefore, the causes of proteinogram changes are probably multifactorial and OS is differentially involved. Moreover, to date, there has not been much published data about PRDX and GN, particularly in the context of proteinuria. Of note, proteinuria may additionally serve as an indirect indicator of the GN activity. One could speculate that due to the relative unspecificity of OS, PRDX serum levels might be expected to reflect disease activity rather than disease itself. This speculation could not be elucidated with our study design, since each studied GN has distinct activity scale. Thus, the comparison of disease activity between these groups is impossible. Moreover, diagnostic renal biopsies were performed in history, not at the time of sampling.

OS is implicated in various or almost all disease states, including atherosclerosis, cardiovascular disease, obesity, diabetes, cancer, neurodegeneration, aging, drugs (e.g., allopurinol) and many others. Such conditions could confound the results and anemia belongs to the most potent OS confounders. Along with CKD progression, the uremic toxins increase red blood cell (RBC) damage and erythropoietin deficiency reduces HGB production, resulting in tissue hypoxia. The latter may stimulate OS responses, including, e.g., increased PRDXs (Gwozdziński et al. 2021). Indeed, we found a correlation between HGB and serum PRDX 2 concentrations in IgAN and LN patients. It was reported that PRDX 2 plays an important role in the protection of RBCs from OS through HGB autoxidation (Johnson et al. 2005), e.g., in iron-deficiency anemia (Nagababu et al. 2008). The protective function of PRDX 2 in HGB stability has been investigated in PRDX 2 knockout mice and RBCs from patients with hereditary hemolytic anemia. The authors of this study suggested that PRDX 2 could bind to HGB and protect it from oxidative denaturation and aggregation in RBCs (Han et al. 2012).

Fig. 3 PRDX concentration panel (heatmap) of study participants**Table 3** Consecutive standard PRDX dilutions obtained from standard curve

PRDX	PRDX 1 (pg/mL)	PRDX 2 (ng/mL)	PRDX 3 (ng/mL)	PRDX 4 (pg/mL)	PRDX 5 (ng/mL)
Concentration range					
1	< 15.6	< 0.156	< 0.312	< 78.0	< 0.78
2	15.6–31.2	0.156–0.312	0.312–0.625	78.0–156	0.78–1.56
3	31.3–62.5	0.313–0.625	0.626–1.25	157–312	1.57–3.12
4	62.6–125	0.626–1.25	1.251–2.5	313–625	3.13–6.25
5	125.1–250	1.251–2.5	2.501–5.0	626–1250	6.26–12.5
6	250.1–500	2.501–5.0	5.001–10	1251–2500	12.51–25
7	500.1–1000	5.001–10	10.001–20	2501–5000	25.01–50

What is very important in our study is the fact that our patients had stage 2 CKD and an average eGFR of 71, 74, and 84 mL/min (for IgAN, MN, and LN, respectively), thus had normal RBC and HGB levels. One of the limitations of our study was relatively low patient numbers in each GN group, which precluded analysis of the effect other comorbidities on PRDX concentrations. Therefore, the question is, what does the increased serum PRDX really mean? Do PRDX levels behave as a damage marker or damage type marker? Is it possible that it is just a very early marker of preexisting hypoxia and/or OS in CKD patients long before the development of even early stages

of anemia? The fact that different GNs enhance different PRDX classes also suggests different disease-specific mechanisms of hypoxia, which needs additional research. Another question is whether the serum concentrations of PRDXs should be only used as markers for a specific disease type or can also reflect the activity of this particular disease at the time of sample collection? In addition, oxidative stress activity in serum may not always reflect that of changes cellular microdomains in the kidney, which should be taken under consideration while interpreting the results of the current study. Finally, it is also worth adding that evaluation of all GN groups vs. healthy individuals

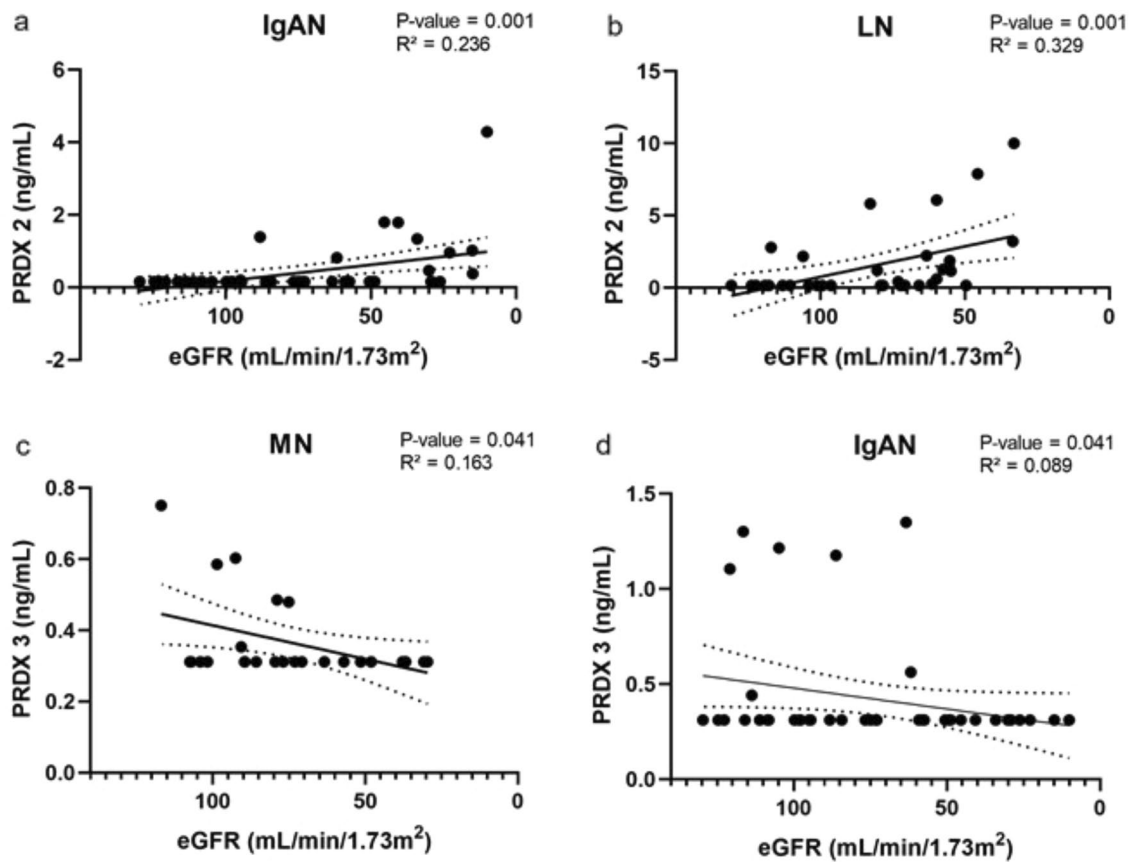


Fig. 4 Spearman's correlation analysis of eGFR and PRDX 2 (IgAN, LN) and PRDX 3 in (IgAN, MN) patients. Correlation was fitted with linear model with 95% confidence interval bands; $P < 0.05$ was considered significant

showed significant differences in PRDX 1 and 2 (as illustrated on a heatmap). Therefore, it is an open question whether serum PRDX 1 and 2 might help in the future to distinguish patients suspected of having IgAN, MN-, or LN-related oxidative stress?

Complement activation and its regulation are complex phenomena. It is not definitive whether these phenomena are the direct primary cause or the effector mechanism of kidney injury, but they are involved in GN development and progression; thus, inhibiting them has become an emerging treatment option (Kaartinen et al. 2019). In patients with IgAN, the immunoglobulin A deposited in the mesangial area of the kidney can activate the complement system through either the lectin pathway or an alternative pathway. This may amplify the local inflammatory response and contribute to renal injury (Daha and van Kooten 2016). The immunopathology of human MN shows evidence of complement activation within immune deposits (Beck and Salant 2010). Therefore, it is thought likely that the complement system also plays a substantial role in MN pathogenesis. Although serum levels of complement proteins are usually normal in MN patients, it was recently reported that measuring the circulating complement activation products may

be a way to detect ongoing complement activation (Zhang et al. 2019). Complement also has an important role in the pathogenesis of LN. On the one hand, a deficiency of complement components predisposes to lupus, while on the other hand, excess complement activation increases renal damage, and measuring it is done to assess disease activity (Sharma et al. 2020). Although OS involvement in renal injury being driven by complement activation seems obvious, to the best of our knowledge, to date there are no available data linking complement activation in GNs to PRDXs. We assume that the disease-specific PRDX associations with circulating C3 and C4 complement components observed in our study suggest differential OS responses depending on the GN etiology and the mode of complement activation. If so, PRDX subclass assessment might be useful as an adjunct in the diagnosis of GNs.

Another finding of our study is the positive correlation between PRDX 5 and BMI in the IgAN group. It was previously demonstrated in obese mouse models that PRDX 5 inhibits adipogenesis by modulating ROS generation and adipogenic gene expression, implying that it may serve as a potential target to prevent and treat obesity (Kim et al. 2018). Moreover, in vitro and in vivo experiments

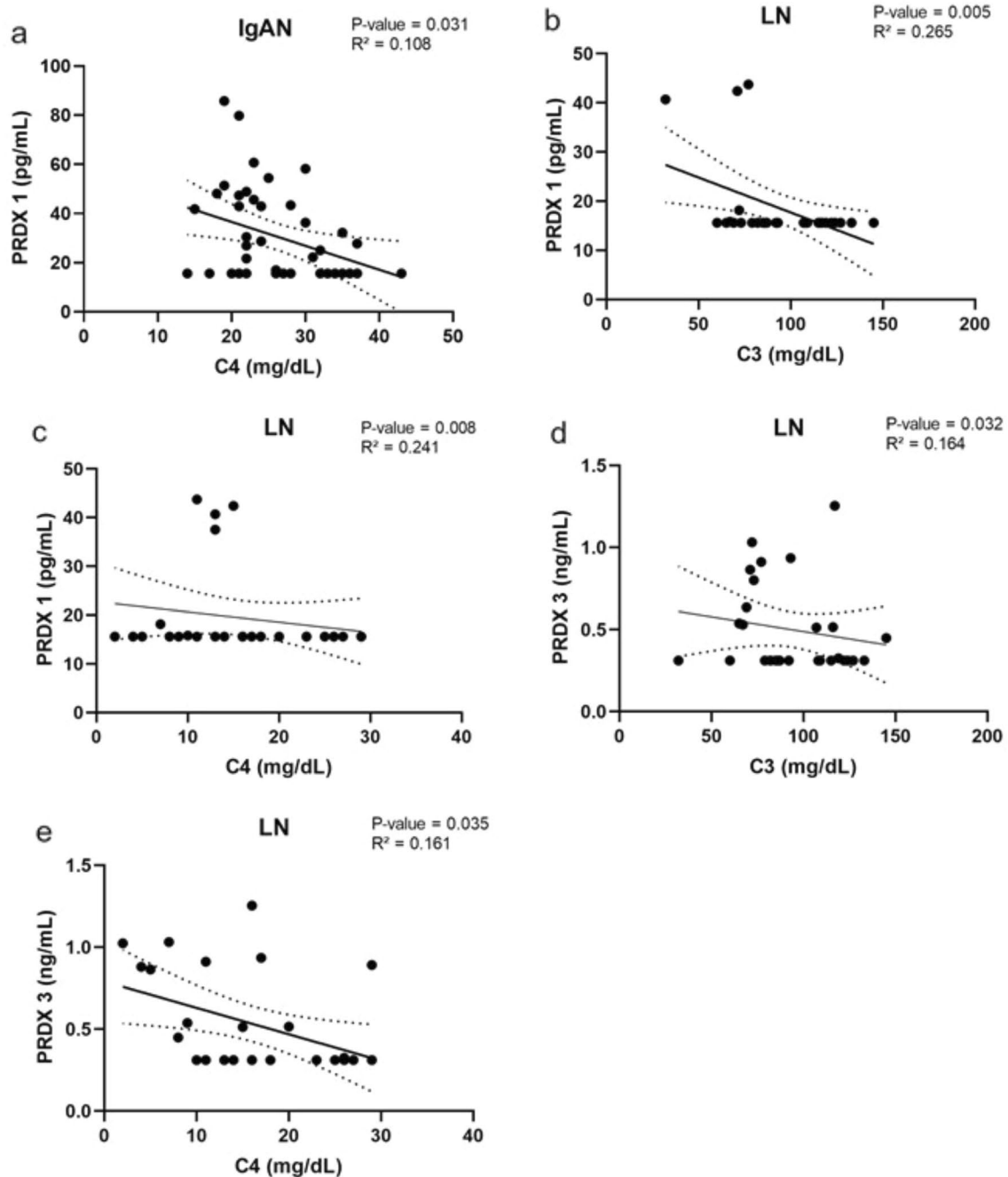


Fig. 5 Spearman's correlation analysis of complements C3 and C4 in IgAN and LN patients. Correlation was fitted with linear model with 95% confidence interval, $P < 0.05$ was considered significant

suggested that PRDX 5 functions as a protective regulator in fatty liver disease and may be a valuable therapeutic target for the management of obesity-related metabolic diseases (Kim et al. 2020). Taking these findings and our results together, it is possible that PRDX 5 is upregulated in response to chronic nephritis depending on BMI value, but this hypothesis needs further elucidation.

It is important to mention that in the current study the serum levels of PRDXs were evaluated, which might not reflect the intracellular changes in PRDXs expression within the tissue. As PRDXs can be released as damage-associated molecular pattern markers from injured tissues (He et al. 2019), this subject warrants further investigations.

Generally, our study indicates potential applicability of antioxidant supplementation in renal disease. The potential compounds to be used are, for instance: coenzyme Q10, Vitamins B, C, D, and E, L-carnitine, statins, or *N*-acetylcysteine (Liakopoulos et al. 2019). Indeed, application of coenzyme Q10 has been reported beneficial in the treatment of chronic diseases, including CKD (Gutierrez-Mariscal et al. 2020).

In conclusion, our results highlight the link between PRDXs and GNs (IgAN, MN, and LN). Our study indicates that individual PRDXs can play roles in pathophysiology of selected GNs and that their concentrations in serum may become useful as new supplementary diagnostic markers in IgAN, MN, and LN. Validation studies including other kidney diseases are required to better understand GNs and enable their less invasive diagnosis.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>.

Acknowledgements This project is the continuation of our study on the role of 2-Cys-PRDXs in GNs, the results of which have been included in the patent application from February 2017 to the European Patent Office (No. WO/2018/141975). The latest letter received from the patent office, dated 17 April 2020, stated: "The claimed subject matter is considered novel over the cited prior Art. 54 EPC". We thank prof. Krzysztof Kiryluk from the Division of Nephrology in the Department of Medicine at Columbia University (New York, USA) for consulting the results and the final version of the manuscript. The routine laboratory tests were performed at the diagnostic laboratory of Infant Jesus Hospital, University Medical Center of the Medical University of Warsaw, during routine patient visits to the Nephrology and Transplantation Outpatient Clinic. The healthy control subjects donated their blood voluntarily. The ELISA measurements were performed with kind support from Kamila Gala, PhD. Figures were prepared with GraphPad Prism 9 software.

Author Contributions KM and NK designed the study; NK carried out the experiments; NK and KM analyzed the data and generated the figures; BF, BM, and KM collected samples; NK, BF, RZ, BM, MZ, LP, and KM analyzed the data; NK, BF, RZ, BM, LP, and KM drafted and revised the article; all the authors approved the final version of the manuscript.

Funding This research was supported by the Medical University of Warsaw, internal funding No. N1/16/16.

Data Availability Data available upon request.

Code Availability Not applicable.

Declarations

Conflict of Interest None declared.

Ethics Approval The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki for research on human subjects of 1975,

revised in 2013, and approved by the Ethics Committee of the Medical University of Warsaw (KB/9/2010 and KB/199/2016).

Consent to Participate Informed consent was obtained from all the subjects involved in the study.

Consent for Publication Not applicable.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Adimora NJ, Jones DP, Kemp ML (2010) A model of redox kinetics implicates the thiol proteome in cellular hydrogen peroxide responses. *Antioxid Redox Signal* 13:731–743. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2968>
- Aranda-Rivera AK, Cruz-Gregorio A, Aparicio-Trejo OE et al (2021) Mitochondrial redox signaling and oxidative stress in kidney diseases. *Biomolecules* 11:1144. <https://doi.org/10.3390/biom11081144>
- Basu A, Banerjee H, Rojas H et al (2011) Differential expression of peroxiredoxins in prostate cancer: consistent upregulation of PRDX3 and PRDX4. *Prostate* 71:755–765. <https://doi.org/10.1002/pros.21292>
- Beck LH Jr, Salant DJ (2010) Membranous nephropathy: recent travels and new roads ahead. *Kidney Int* 77:765–770. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.34>
- Brück K, Stel VS, Gambaro G et al (2016) CKD prevalence varies across the European general population. *J Am Soc Nephrol* 27:2135–2147. <https://doi.org/10.1681/asn.2015050542>
- Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SC et al (2008) Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 111:S4–9. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.516>
- Daenen K, Andries A, Mekahli D et al (2019) Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 34:975–991. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-4005-4>
- Daha MR, van Kooten C (2016) Role of complement in IgA nephropathy. *J Nephrol* 29:1–4. <https://doi.org/10.1007/s40620-015-0245-6>
- Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V (2001) Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial* 14:193–199. <https://doi.org/10.1046/j.1525-139x.2001.00052.x>
- Floege J, Amann K (2016) Primary glomerulonephritides. *Lancet* 387:2036–2048. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)00272-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)00272-5)
- Foreman KJ, Marquez N, Dolgert A et al (2018) Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–40 for 195 countries and territories.

- Lancet 392:2052–2090. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)31694-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)31694-5)
- Gao J, Meyer K, Borucki K et al (2018) Multiplex immuno-MALDI-TOF MS for targeted quantification of protein biomarkers and their proteoforms related to inflammation and renal dysfunction. *Anal Chem* 90:3366–3373. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04975>
- Goemaere J, Knoop B (2012) Peroxiredoxin distribution in the mouse brain with emphasis on neuronal populations affected in neurodegenerative disorders. *J Comp Neurol* 520:258–280. <https://doi.org/10.1002/cne.22689>
- Gutierrez-Mariscal FM, Arenas-de Larriva AP, Limia-Perez L et al (2020) Coenzyme Q(10) supplementation for the reduction of oxidative stress: clinical implications in the treatment of chronic diseases. *Int J Mol Sci* 21:7870. <https://doi.org/10.3390/ijms21217870>
- Gwozdziński K, Pieniżek A, Gwozdziński L (2021) Reactive oxygen species and their involvement in red blood cell damage in chronic kidney disease. *Oxid Med Cell Longev* 2021:6639199. <https://doi.org/10.1155/2021/6639199>
- Han YH, Kim SU, Kwon TH et al (2012) Peroxiredoxin II is essential for preventing hemolytic anemia from oxidative stress through maintaining hemoglobin stability. *Biochem Biophys Res Commun* 426:427–432. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.08.113>
- He Y, Li S, Tang D et al (2019) Circulating peroxiredoxin-1 is a novel damage-associated molecular pattern and aggravates acute liver injury via promoting inflammation. *Free Radic Biol Med* 137:24–36. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.04.012>
- Hill NR, Fatoba ST, Oke JL et al (2016) Global prevalence of chronic kidney disease—a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 11:e0158765. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158765>
- Hwang I, Uddin MJ, Lee G et al (2019) Peroxiredoxin 3 deficiency accelerates chronic kidney injury in mice through interactions between macrophages and tubular epithelial cells. *Free Radic Biol Med* 131:162–172. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.002>
- Irazabal MV, Torres VE (2020) Reactive oxygen species and redox signaling in chronic kidney disease. *Cells* 9:1342. <https://doi.org/10.3390/cells9061342>
- Jeong J, Kim Y, Kyung Seong J et al (2012) Comprehensive identification of novel post-translational modifications in cellular peroxiredoxin 6. *Proteomics* 12:1452–1462. <https://doi.org/10.1002/pmic.201100558>
- Johnson RM, Goyette G Jr, Ravindranath Y et al (2005) Hemoglobin autoxidation and regulation of endogenous H₂O₂ levels in erythrocytes. *Free Radic Biol Med* 39:1407–1417. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.07.002>
- Kaartinen K, Safa A, Kotha S et al (2019) Complement dysregulation in glomerulonephritis. *Semin Immunol* 45:101331. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.101331>
- Kim MH, Park SJ, Kim JH et al (2018) Peroxiredoxin 5 regulates adipogenesis-attenuating oxidative stress in obese mouse models induced by a high-fat diet. *Free Radic Biol Med* 123:27–38. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.061>
- Kim MH, Seong JB, Huh JW et al (2020) Peroxiredoxin 5 ameliorates obesity-induced non-alcoholic fatty liver disease through the regulation of oxidative stress and AMP-activated protein kinase signaling. *Redox Biol* 28:101315. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101315>
- Krata N, Zagożdżon R, Foronczewicz B et al (2018) Oxidative stress in kidney diseases: the cause or the consequence? *Arch Immunol Ther Exp* 66:211–220. <https://doi.org/10.1007/s00005-017-0496-0>
- Lee E, Lee HS (2018) Peroxidase expression is decreased by palmitate in cultured podocytes but increased in podocytes of advanced diabetic nephropathy. *J Cell Physiol* 233:9060–9069. <https://doi.org/10.1002/jcp.26875>
- Liakopoulos V, Roumeliotis S, Bozikas A et al (2019) Antioxidant supplementation in renal replacement therapy patients: is there evidence? *Oxid Med Cell Longev* 2019:9109473. <https://doi.org/10.1155/2019/9109473>
- McGrogan A, Franssen CF, de Vries CS (2011) The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: a systematic review of the literature. *Nephrol Dial Transplant* 26:414–430. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq665>
- Moszczuk B, Kiryluk K, Pączek L et al (2021) Membranous nephropathy: from research bench to personalized care. *J Clin Med* 10:1205. <https://doi.org/10.3390/jcm10061205>
- Mucha K, Bakun M, Jaźwiec R et al (2014) Complement components, proteolysis-related, and cell communication-related proteins detected in urine proteomics are associated with IgA nephropathy. *Pol Arch Med Wewn* 124:380–386. <https://doi.org/10.20452/pamw.2345>
- Mucha K, Foronczewicz B, Pączek L (2016) How to diagnose and follow patients with glomerulonephritis without kidney biopsy? *Pol Arch Med Wewn* 126:471–473. <https://doi.org/10.20452/pamw.3510>
- Na W, Yi K, Song YS et al (2017) Dissecting the relationships of IgG subclasses and complements in membranous lupus nephritis and idiopathic membranous nephropathy. *PLoS ONE* 12:e0174501. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174501>
- Nagababu E, Gulyani S, Earley CJ et al (2008) Iron-deficiency anaemia enhances red blood cell oxidative stress. *Free Radic Res* 42:824–829. <https://doi.org/10.1080/10715760802459879>
- O’Leary PC, Terrile M, Bajor M et al (2014) Peroxiredoxin-1 protects estrogen receptor α from oxidative stress-induced suppression and is a protein biomarker of favorable prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res* 16:R79. <https://doi.org/10.1186/bcr3691>
- Pac M, Krata N, Moszczuk B, Wyczałkowska-Tomasik A, Kaleta B, Foronczewicz B, Rudnicki W, Pączek L, Mucha K (2021) NR3C1 Glucocorticoid Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Membranous and IgA Nephropathies. *Cells* 10(11):3186. <https://doi.org/10.3390/cells10113186>
- Park MH, Jo M, Kim YR et al (2016) Roles of peroxiredoxins in cancer, neurodegenerative diseases and inflammatory diseases. *Pharmacol Ther* 163:1–23. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.03.018>
- Patel M, Clarke AM, Bruce IN et al (2006) The prevalence and incidence of biopsy-proven lupus nephritis in the UK: Evidence of an ethnic gradient. *Arthritis Rheum* 54:2963–2969. <https://doi.org/10.1002/art.22079>
- Perkins A, Nelson KJ, Parsonage D et al (2015) Peroxiredoxins: guardians against oxidative stress and modulators of peroxide signaling. *Trends Biochem Sci* 40:435–445. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.05.001>
- Pippias M, Kramer A, Noordzij M et al (2017) The European renal association—European dialysis and transplant association registry annual report 2014: a summary. *Clin Kidney J* 10:154–169. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfw135>
- Placzek WJ, Yanagawa H, Makita Y et al (2018) Serum galactose-deficient-IgA1 and IgG autoantibodies correlate in patients with IgA nephropathy. *PLoS ONE* 13:e0190967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190967>
- Selvaskandan H, Shi S, Twaij S et al (2020) Monitoring immune responses in IgA nephropathy: biomarkers to guide management. *Front Immunol* 11:572754. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.572754>
- Sethi S, Madden BJ, Debiec H et al (2019) Exostosin 1/exostosin 2-associated membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 30:1123–1136. <https://doi.org/10.1681/asn.2018080852>
- Sethi S, Debiec H, Madden B et al (2020) Neural epidermal growth factor-like 1 protein (NELL-1) associated membranous nephropathy.

- Kidney Int 97:163–174. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.09.014>
- Sharapov MG, Goncharov RG, Filkov GI et al (2020) Comparative study of protective action of exogenous 2-Cys peroxiredoxins (Prx1 and Prx2) under renal ischemia-reperfusion injury. *Antioxidants* 9:680. <https://doi.org/10.3390/antiox9080680>
- Sharma M, Vignesh P, Tiewsoh K et al (2020) Revisiting the complement system in systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol* 16:397–408. <https://doi.org/10.1080/1744666x.2020.1745063>
- Vassalotti JA, Fox CH, Becker BN (2010) Risk factors and screening for chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 17:237–245. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2010.03.003>
- Winterbourn CC (2008) Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat Chem Biol* 4:278–286. <https://doi.org/10.1038/nchembio.85>
- Wu CL, Su TC, Chang CC et al (2017) Tubular peroxiredoxin 3 as a predictor of renal recovery from acute tubular necrosis in patients with chronic kidney disease. *Sci Rep* 7:43589. <https://doi.org/10.1038/srep43589>
- Xie J, Liu L, Mladkova N, Li Y, Ren H, Wang W, Cui Z, Lin L, Hu X, Yu X, Xu J, Liu G, Caliskan Y, Sidore C, Balderes O, Rosen RJ, Bodria M, Zanoni F, Zhang JY, Krithivasan P, Mehl K, Marasa M, Khan A, Ozay F, Canetta PA, Bomback AS, Appel GB, Sanna-Cherchi S, Sampson MG, Mariani LH, Perkowska-Ptasinska A, Durlik M, Mucha K, Moszczuk B, Foroniewicz B, Pączek L, Habura I, Ars E, Ballarin J, Mani LY, Vogt B, Ozturk S, Yildiz A, Seyahi N, Arikian H, Koc M, Basturk T, Karahan G, Akgul SU, Sever MS, Zhang D, Santoro D, Bonomini M, Ladrino F, Gesualdo L, Reiterova J, Tesar V, Izzi C, Savoldi S, Spotti D, Marcantoni C, Messa P, Galliani M, Roccatello D, Granata S, Zaza G, Lugani F, Ghiggeri G, Pisani I, Allegrì L, Sprangers B, Park JH, Cho B, Kim YS, Kim DK, Suzuki H, Amoroso A, Cattran DC, Fervenza FC, Pani A, Hamilton P, Harris S, Gupta S, Cheshire C, Dufek S, Issler N, Pepper RJ, Connolly J, Powis S, Bockenbauer D, Stanescu HC, Ashman N, Loos RJF, Kenny EE, Wuttke M, Eckardt KU, Kötting A, Hofstra JM, Coenen MJH, Kiemeneij LA, Akilesh S, Kretzler M, Beck LH, Stengel B, Debiec H, Ronco P, Wetzel JFM, Zoledziwska M, Cucca F, Ionita-Laza I, Lee H, Hoxha E, Stahl RAK, Brenchley P, Scolari F, Zhao MH, Gharavi AG, Kleta R, Chen N, Kiryluk K (2020) The genetic architecture of membranous nephropathy and its potential to improve non-invasive diagnosis. *Nat Commun*. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15383-w>
- Yanagawa H, Suzuki H, Suzuki Y et al (2014) A panel of serum biomarkers differentiates IgA nephropathy from other renal diseases. *PLoS ONE* 9:e98081. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098081>
- Yang HY, Lee TH (2015) Antioxidant enzymes as redox-based biomarkers: a brief review. *BMB Rep* 48:200–208. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2015.48.4.274>
- Yang YZ, Zhao Y, Yang L et al (2018) Characterization of 2-Cys peroxiredoxin 3 and 4 in common carp and the immune response against bacterial infection. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 217:60–69. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2017.12.012>
- Zacchia M, Marchese E, Trani EM et al (2020) Proteomics and metabolomics studies exploring the pathophysiology of renal dysfunction in autosomal dominant polycystic kidney disease and other ciliopathies. *Nephrol Dial Transplant* 35:1853–1861. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfz121>
- Zhang MF, Huang J, Zhang YM et al (2019) Complement activation products in the circulation and urine of primary membranous nephropathy. *BMC Nephrol* 20:313. <https://doi.org/10.1186/s12882-019-1509-5>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Supplementary Table 1. Spearman's correlation analysis of PRDXs in relation to biochemical and clinical characteristics.

Group	Parameter	P-value	R	R ²
GN				
PRDX 1	Serum alfa-1 (g/dL)	0.036	-0.274	0.075
PRDX 1	Serum beta-2 (g/dL)	0.014	0.319	0.102
PRDX 2	Age (years)	0.001	0.306	0.093
PRDX 2	HGB (g/dL)	0.001	-0.395	0.156
PRDX 2	HCT (L/L)	0.001	-0.358	0.128
PRDX 2	Serum creatinine (mg/dL)	0.004	0.274	0.075
PRDX 2	eGFR (mL/min/1.73m ²)	0.001	-0.402	0.161
PRDX 3	WBC (G/L)	0.007	-0.260	0.068
PRDX 3	C4 (mg/dL)	0.033	-0.243	0.059
PRDX 3	Serum creatinine (mg/dL)	0.001	-0.341	0.116
PRDX 3	eGFR (mL/min/1.73m ²)	0.002	0.301	0.091
PRDX 3	Proteinuria (g/24h)	0.013	-0.250	0.063
PRDX 3	Serum beta-2 (g/dL)	0.026	-0.290	0.084
PRDX 4	Serum alfa-1 (g/dL)	0.009	0.335	0.112
PRDX 4	Serum beta-2 (g/dL)	0.020	-0.302	0.091
PRDX 5	Age (years)	0.006	-0.262	0.069
PRDX 5	BMI (kg/m ²)	0.009	-0.250	0.063
IgAN				
PRDX 1	C4 (mg/dL)	0.031	-0.329	0.108
PRDX 1	Serum alfa-1 (g/dL)	0.032	-0.348	0.121
PRDX 1	Serum beta-1 (g/dL)	0.001	-0.555	0.308
PRDX 1	Serum beta-2 (g/dL)	0.021	0.373	0.139
PRDX 1	Serum A/G ratio	0.019	0.378	0.144
PRDX 2	HGB (g/dL)	0.025	-0.328	0.107
PRDX 2	Serum creatinine (mg/dL)	0.005	0.403	0.162
PRDX 2	eGFR (mL/min/1.73m ²)	0.001	-0.486	0.236
PRDX 3	Serum creatinine (mg/dL)	0.023	-0.332	0.110
PRDX 3	eGFR (mL/min/1.73m ²)	0.041	0.299	0.089
PRDX 3	Serum beta-2 (g/dL)	0.018	-0.383	0.147
PRDX 4	Serum beta-2 (g/dL)	0.004	-0.451	0.204
PRDX 5	BMI (kg/m ²)	0.012	-0.364	0.132
MN				
PRDX 2	WBC (G/L)	0.020	0.453	0.205
PRDX 2	Proteinuria (g/24h)	0.014	0.497	0.247
PRDX 2	Serum beta-2 (g/dL)	0.033	-0.642	0.413
PRDX 3	eGFR (mL/min/1.73m ²)	0.041	0.404	0.163
PRDX 5	Age (years)	0.007	-0.517	0.268
LN				
PRDX 1	WBC (G/L)	0.025	-0.377	0.142
PRDX 1	C3 (mg/dL)	0.005	-0.515	0.265
PRDX 1	C4 (mg/dL)	0.008	-0.491	0.241

PRDX 1	Serum beta-1 (g/dL)	0.048	0.636	0.404
PRDX 1	Serum A/G ratio	0.042	-0.649	0.421
PRDX 2	Age (years)	0.034	0.360	0.130
PRDX 2	HGB (g/dL)	0.005	-0.465	0.216
PRDX 2	HCT (L/L)	0.011	-0.424	0.180
PRDX 2	Serum creatinine (mg/dL)	0.016	0.403	0.162
PRDX 2	eGFR (mL/min/1.73m ²)	0.001	-0.573	0.329
PRDX 3	C3 (mg/dL)	0.032	-0.405	0.164
PRDX 3	C4 (mg/dL)	0.035	-0.401	0.161

Only significant associations with P < 0.05 are presented.

Zgłoszenie patentowe:

Use of serum 2-cysteine peroxiredoxins (2-cys-prdx) as biomarkers of chronic kidney diseases.

numer: PCT/EP2018/052837; WO 2018/141975 A1
z dnia 04/02/2017; data opublikowania: 09/08/2018

(12) International Application Status Report

Received at International Bureau: 10 February 2018 (10.02.2018)

Information valid as of: 23 April 2018 (23.04.2018)

Report generated on: 16 December 2021 (16.12.2021)

(10) Publication number:

WO2018/141975

(43) Publication date:

09 August 2018 (09.08.2018)

(26) Publication language:

English (EN)

(21) Application Number:

PCT/EP2018/052837

(22) Filing Date:

05 February 2018 (05.02.2018)

(25) Filing language:

English (EN)

(31) Priority number(s):

17461508.8 (EP)

(31) Priority date(s):

04 February 2017 (04.02.2017)

(31) Priority status:

Priority document received (in compliance with PCT Rule 17.1)

(51) International Patent Classification:

G01N 33/68 (2006.01); G01N 33/564 (2006.01)

(71) Applicant(s):

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY [PL/PL]; #wirki i Wigury 61 02-091 Warszawa (PL) (for all designated states)

(72) Inventor(s):

MUCHA, Krzysztof; Gwia#dzista 5b/49 01-651 Warszawa (PL)

ZAGO#D#ON, Rados#aw; Lipkowska 102 05-080 Truskaw (PL)

FORONCEWICZ, Bartosz; Bonifacego 127/2 02-909 Warszawa (PL)

P#CZEK, Leszek; Lecha 18 03-603 Warszawa (PL)

KRATA, Natalia; Raginisa 4/44 35-513 Rzeszów (PL)

GALA, Kamila; Bogus#awskiego 17/41 01-923 Warszawa (PL)

(74) Agent(s):

#EBROWSKA-KUCHARZYK, Agnieszka; Nowoursynowska 162J 02-776 Warszawa (PL)

(54) Title (EN): USE OF SERUM 2-CYSTEINE PEROXIREDOXINS (2-CYS-PRDX) AS BIOMARKERS OF CHRONIC KIDNEY DISEASES

(54) Title (FR): UTILISATION DE PEROXYRÉDOXINES 2-CYSTÉINE (2-CYS-PRDX) SÉRIQUES EN TANT QUE BIOMARQUEURS DE MALADIES RÉNALES CHRONIQUES

(57) Abstract:

(EN): The present invention relates to the use of at least two of 2-Cys-PRDXs selected from a group consisting of PRDX1, PRDX2, PRDX3, PRDX4 and PRDX5 as a biomarker to diagnose, differentiate and/or assess the risk of chronic kidney disease (CKD). The present invention also relates to a method of diagnosis and a method of determining an increased risk of chronic kidney disease (CKD). A kit suitable for diagnosis and differentiation of chronic kidney disease (CKD) selected from the group comprising lupus nephritis (LN), IgA nephropathy (IgAN) and autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD) in a subject is also provided.

(FR): La présente invention concerne l'utilisation d'au moins deux 2-Cys-PRDX choisies dans un groupe constitué de PRDX1, PRDX2, PRDX3, PRDX4 et PRDX5 en tant que biomarqueur permettant de diagnostiquer, de différencier et/ou d'évaluer le risque de maladie rénale chronique (CKD). La présente invention concerne également un procédé de diagnostic et un procédé de détermination d'un risque accru de maladie rénale chronique (CKD). L'invention concerne également un kit approprié pour le diagnostic et la différenciation d'une maladie rénale chronique (CKD) choisie dans le groupe comprenant la néphrite lupique (LN), la néphropathie à IgA (IgAN) et la polykystose rénale autosomique dominante (ADPKD) chez un sujet.

International search report:

Received at International Bureau: 27 February 2018 (27.02.2018) [EP]

International Report on Patentability (IPRP) Chapter II of the PCT:

Not available

(81) Designated States:

AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

European Patent Office (EPO) : AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR

African Intellectual Property Organization (OAPI) : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG

African Regional Intellectual Property Organization (ARIPO) : BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW

Eurasian Patent Organization (EAPO) : AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM

8. Podsumowanie

Wyniki rozprawy potwierdzają, że monitorowanie markerów stresu oksydacyjnego – w naszym przypadku peroksyredoksyn 1-5 - może w przyszłości stać się dodatkowym narzędziem, które udoskonali diagnostykę i monitorowanie przebiegu choroby i/lub leczenia PChN w przebiegu IgAN, MN lub LN. Co ważne, wiedza ta powinna dodatkowo umożliwić pełniejsze zrozumienie patofizjologii tych chorób.

Na etapie planowania badania założono, że 2-Cys-PRDX mogą być w różnym stopniu zaangażowane w patogenezę kłębuszkowych zapaleń nerek a ich stężenia w surowicy najprawdopodobniej różnią się w zależności od typu i stopnia zaawansowania choroby. Nasze wyniki potwierdziły tę tezę, a 2-Cys-PRDX nie tylko pozwalają na różnicowanie osób chorych na IgAN, MN lub LN versus zdrowi, lecz także różnią się między poszczególnymi, badanymi przez nas kłębuszkowymi zapaleniami nerek. Jak wykazaliśmy, umożliwiają różnicowanie: a) nefropatii IgA od toczniowej (na podstawie różnic w poziomach stężeń PRDX 1-4) oraz b) toczniowej od błoniastej (różnica między stężeniem PRDX 3 i 4). Ponadto korelują z takimi parametrami klinicznymi jak eGFR, stężenia białek układu dopełniacza czy białkomocz.

Nasze wyniki potwierdzają tezę, że 2-Cys-PRDX mają potencjał by w przyszłości być wykorzystane jako markery w diagnostyce i/lub monitorowaniu PChN w przebiegu wybranych kłębuszkowych zapaleń nerek. Aby postawić kropkę nad „i”, konieczne będą oczywiście badania walidacyjne na większej grupie pacjentów, uwzględniające np. analizę i korelację statystyczną:

- a) przebiegów klinicznych (czy z biegiem lat doszło do istotnego pogorszenia czynności nerek i czy 2-Cys-PRDX mogą mieć również znaczenie prognostyczne?)
- b) wpływu leczenia (czy i jak leki wpływają na równowagę redox?)
- c) z wynikami histopatologicznymi preparatów biopsyjnych

Na te i inne pytania będziemy wspólnie poszukiwali odpowiedzi.

9. Wnioski

- 1) Stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu i utrzymaniu homeostazy, również w przebiegu przewlekłej choroby nerek o etiologii kłębuszkowych zapaleń nerek.
Poszczególne peroksyredoksyny (2-Cys-PRDX) najprawdopodobniej odgrywają istotną rolę w patofizjologii opisanych w pracy kłębuszkowych zapaleń nerek tj. nefropatii IgA, błonistej lub toczniowej.
- 2) Wyniki niniejszej rozprawy potwierdziły zmienność stężeń 2-Cys-PRDX w surowicy u pacjentów z IgAN, MN lub LN.
- 3) Na podstawie naszych wyników uważamy, że 2-Cys-PRDX mogą w przyszłości służyć jako nieinwazyjny marker diagnostyczny i/lub prognostyczny, który ma potencjał by poprawić jakość opieki nad pacjentami z PChN w przebiegu IgAN, MN lub LN

10. Literatura

1. *Global Burden of Disease, Global Health Data Exchange (GHDx) query tool.* Available from: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>.
2. WHO, Department of Data and Analytics (DNA) Division of Data Analytics and Delivery for Impact (DDI) *WHO methods and data sources for country-level causes of death 2000-2019.* 2020.
3. Liyanage, T., et al., *Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease: a systematic review.* Lancet, 2015. 385(9981): p. 1975-82.
4. Mariani, L.H., et al., *CureGN Study Rationale, Design, and Methods: Establishing a Large Prospective Observational Study of Glomerular Disease.* Am J Kidney Dis, 2019. 73(2): p. 218-229.
5. Pippias, M., et al., *The European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association Registry Annual Report 2014: a summary.* Clin Kidney J, 2017. 10(2): p. 154-169.
6. Floege, J. and K. Amann, *Primary glomerulonephritides.* Lancet, 2016. 387(10032): p. 2036-48.
7. McGrogan, A., C.F. Franssen, and C.S. de Vries, *The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: a systematic review of the literature.* Nephrol Dial Transplant, 2011. 26(2): p. 414-30.
8. Patel, M., et al., *The prevalence and incidence of biopsy-proven lupus nephritis in the UK: Evidence of an ethnic gradient.* Arthritis Rheum, 2006. 54(9): p. 2963-9.
9. Vassalotti, J.A., C.H. Fox, and B.N. Becker, *Risk factors and screening for chronic kidney disease.* Adv Chronic Kidney Dis, 2010. 17(3): p. 237-45.
10. Chen, T.K., D.H. Knicely, and M.E. Grams, *Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review.* Jama, 2019. 322(13): p. 1294-1304.
11. Luciano, R.L. and G.W. Moeckel, *Update on the Native Kidney Biopsy: Core Curriculum 2019.* Am J Kidney Dis, 2019. 73(3): p. 404-415.
12. Mucha, K., B. Foronczewicz, and L. Paczek, *How to diagnose and follow patients with glomerulonephritis without kidney biopsy?* Pol Arch Med Wewn, 2016. 126(7-8): p. 471-3.
13. Krata, N., et al., *Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis.* Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2021. 70(1): p. 3.
14. Xie, J., et al., *The genetic architecture of membranous nephropathy and its potential to improve non-invasive diagnosis.* Nat Commun, 2020. 11(1): p. 1600.
15. Pac, M., et al., *NR3C1 Glucocorticoid Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Membranous and IgA Nephropathies.* Cells, 2021. 10(11).
16. Mertowski, S., et al., *Toll-Like Receptor as a Potential Biomarker in Renal Diseases.* Int J Mol Sci, 2020. 21(18).
17. Scholze, A., et al., *Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease.* Oxid Med Cell Longev, 2016. 2016: p. 8375186.
18. Matsuyama, Y., et al., *Albumin thiol oxidation and serum protein carbonyl formation are progressively enhanced with advancing stages of chronic kidney disease.* Clin Exp Nephrol, 2009. 13(4): p. 308-315.

19. Small, D.M., et al., *Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease*. *Nephrology (Carlton)*, 2012. 17(4): p. 311-21.
20. Krata, N., et al., *Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?* *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2018. 66(3): p. 211-220.
21. Cachofeiro, V., et al., *Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease*. *Kidney Int Suppl*, 2008(111): p. S4-9.
22. Perkins, A., et al., *Peroxiredoxins: guardians against oxidative stress and modulators of peroxide signaling*. *Trends Biochem Sci*, 2015. 40(8): p. 435-45.
23. Modaresi, A., M. Nafar, and Z. Sahraei, *Oxidative stress in chronic kidney disease*. *Iran J Kidney Dis*, 2015. 9(3): p. 165-79.
24. Yang, H.Y. and T.H. Lee, *Antioxidant enzymes as redox-based biomarkers: a brief review*. *BMB Rep*, 2015. 48(4): p. 200-8.
25. Jeong, J., et al., *Comprehensive identification of novel post-translational modifications in cellular peroxiredoxin 6*. *Proteomics*, 2012. 12(9): p. 1452-62.
26. O'Leary, P.C., et al., *Peroxiredoxin-1 protects estrogen receptor alpha from oxidative stress-induced suppression and is a protein biomarker of favorable prognosis in breast cancer*. *Breast Cancer Res*, 2014. 16(4): p. R79.
27. Trzeciecka, A., et al., *Dimeric peroxiredoxins are druggable targets in human Burkitt lymphoma*. *Oncotarget*, 2016. 7(2): p. 1717-31.
28. Pinna, S., et al., *Proteomic analysis of human plasma and peripheral blood mononuclear cells in Systemic Lupus Erythematosus patients*. *J Immunol Methods*, 2017. 446: p. 37-46.
29. Hwang, I., et al., *Peroxiredoxin 3 deficiency accelerates chronic kidney injury in mice through interactions between macrophages and tubular epithelial cells*. *Free Radic Biol Med*, 2019. 131: p. 162-172.
30. Wu, C.L., et al., *Tubular Peroxiredoxin 3 as a Predictor of Renal Recovery from Acute Tubular Necrosis in Patients with Chronic Kidney Disease*. *Sci Rep*, 2017. 7: p. 43589.

11. Opinie Komisji Bioetycznej



Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303
Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61
02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl
www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

KB/.....⁹...../2010

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym
po zapoznaniu się z wnioskiem /wymienić wnioskodawcę/ - w dniu 26 stycznia 2010r.
**Dr Bartosz Foroniewicz, Dr Krzysztof Mucha, Klinika Immunologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych, ul. Nowogrodzka 59, 02-006 Warszawa**

dotyczącym: wyrażenia opinii w sprawie badania pt.: " Immunologiczne i genetyczne
czynniki ryzyka progresji przewlekłej choroby nerek w przebiegu nefropatii IgA i innych
typów nefropatii."

Uwagi Komisji-verte

wyraża następującą
opinię

- stwierdza, że są one dopuszczalne i zgodne z zasadami naukowo-etycznymi*.
- stwierdza, że są one niedopuszczalne i niezgodne z zasadami naukowo-etycznymi.*

Pouczenie-w ciągu 14 dni od otrzymania decyzji wnioskodawcy przysługuje Prawo odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym.

Komisja działa na podstawie art.29 ustawy z dnia 5.12.1996r. o zawdzie lekarza /Dz.U.nr 28/97 poz.152 wraz z późn.zm./, zarządzenia MZiOS z dn.11.05.1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych /Dz.U.nr 47 poz.480/, Ustawy prawo farmaceutyczne z dnia 6 września 2001r. (Dz.U.Nr 126, poz. 1381 z późn. zm.) Zarządzenie nr 56/2007 z dnia 15 października 2007 r.w sprawie działania Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym /Regulamin Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym/.

Komisja działa zgodnie z zasadami GCP.

W załączeniu- skład Komisji oraz lista obecności.

Przewodniczący
Komisji Bioetycznej

Prof. nadzw.dr hab. n .med. Bożena Tarchalska-Kryńska

• niepotrzebne skreślić



Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303
Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61
02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl
www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

KB/¹⁹⁹...../2016

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

w dniu 11 października 2016 r. po zapoznaniu się z wnioskiem:

Dr hab. med. Krzysztof Mucha
Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Instytut
Transplantologii WUM,
ul. Nowogrodzka 59, 02-006 Warszawa,

dotyczącym: wyrażenia opinii w sprawie badania pt. „Ocena-omiczna (genomika,transkryptomika, proteomika) pacjentów z chorobami nerek o różnej etiologii.”

wyraża następującą opinię

- stwierdza, że jest ono dopuszczalne i zgodne z zasadami naukowo-etycznymi*.
- ~~— stwierdza, że jest ono niedopuszczalne i niezgodne z zasadami naukowo-etycznymi.*~~

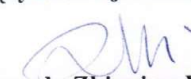
Uwagi Komisji – *verte*

Komisja działa na podstawie art.29 ustawy z dnia 5.12.1996r. o zawodzie lekarza /Dz.U.nr 28/97 poz.152 wraz z późn.zm./, zarządzenia MZiOS z dn.11.05.1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych /Dz.U.nr 47 poz.480/, Ustawy prawo farmaceutyczne z dnia 6 września 2001r. (Dz.U.Nr 126, poz. 1381 z późn. zm.) oraz Zarządzenie nr 56/2007 z dnia 15 października 2007r. w sprawie działania Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym /Regulamin Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym/.

Komisja działa zgodnie z zasadami GCP .

W załączeniu: skład komisji oraz lista obecności

Przewodniczący Komisji Bioetycznej


Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Wierzbicki

*niepotrzebne skreślić

12. Oświadczenia współautorów publikacji

Warszawa, 16/12/2021
(miejsowość, data)

Mgr inż. Natalia Krata
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji

Jako współautor pracy pt. „*Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?*” Krata N, Zagożdżon R, Foroniewicz B, Mucha K, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2018, 66(3), (211-220) 10.1007/s00005-017-0496-0.

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: zaplanowaniu układu pracy, przeglądzie literatury związanej z tematyką pracy, przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptu, edycję oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 50 %



.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejsowość, data)

Dr hab. n. med. Bartosz Foroniewicz
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji

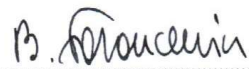
Jako współautor pracy pt. „*Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?*” Krata N, Zagożdżon R, Foroniewicz B, Mucha K, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2018, 66(3), (211-220) 10.1007/s00005-017-0496-0.

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: przeglądzie literatury związanej z tematyką pracy, korekcie edytorskiej, końcowej weryfikacji oraz akceptacji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie układu pracy, przegląd literatury związanej z tematyką pracy, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu, edycję oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejscowość, data)

Dr hab. n. med. Radosław Zagożdżon
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji


Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroncewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: analizie i interpretacji danych, weryfikacji oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie badania, przygotowanie bazy danych klinicznych, przygotowanie materiału do badań, przeprowadzenie analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizę oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata


.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji

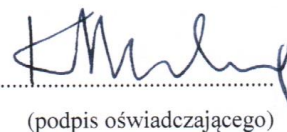
Jako współautor pracy pt. „*Oxidative Stress in Kidney Diseases: The Cause or the Consequence?*” Krata N, Zagożdżon R, Foroniewicz B, Mucha K, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2018, 66(3), (211-220) 10.1007/s00005-017-0496-0.

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: przeglądzie literatury związanej z tematyką pracy, korekcie edytorskiej, końcowej weryfikacji oraz akceptacji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 30 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie układu pracy, przegląd literatury związanej z tematyką pracy, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu, edycję oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata


.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejsowość, data)

Mgr inż. Natalia Krata
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji

Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroniewicz B, Zagózdźon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: zaplanowaniu badania, przygotowaniu bazy danych klinicznych, przygotowaniu materiału do badań, przeprowadzeniu analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizie oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 50 %



.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejsowość, data)

Dr hab. n. med. Bartosz Foroniewicz
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji


Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: rekrutacji uczestników, analizie i interpretacji danych, weryfikacji oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie badania, przygotowanie bazy danych klinicznych, przygotowanie materiału do badań, przeprowadzenie analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizę oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejscowość, data)

Dr hab. n. med. Radosław Zagożdżon
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji


Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: analizie i interpretacji danych, weryfikacji oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie badania, przygotowanie bazy danych klinicznych, przygotowanie materiału do badań, przeprowadzenie analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizę oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata


.....
(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejsowość, data)

Lek. Barbara Moszczuk
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji

Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroncewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: rekrutacji uczestników, zbieraniu danych klinicznych, weryfikacji oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie badania, przygotowanie bazy danych klinicznych, przygotowanie materiału do badań, przeprowadzenie analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizę oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejsowość, data)

Dr n. mat. Magdalena Zielenkiewicz
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji

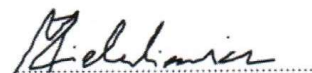
Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: analizie i interpretacji danych, weryfikacji oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 3 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie badania, przygotowanie bazy danych klinicznych, przygotowanie materiału do badań, przeprowadzenie analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizę oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 04/01/2022
(miejsowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Leszek Pączek
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji


Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: omówieniu badania, weryfikacji oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie badania, przygotowanie bazy danych klinicznych, przygotowanie materiału do badań, przeprowadzenie analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizę oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata


(podpis oświadczającego)

Warszawa, 16/12/2021
(miejscowość, data)

Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Mucha
(imię i nazwisko)

Oświadczenie o współautorstwie w publikacji


Jako współautor pracy pt. „Peroxiredoxins as Markers of Oxidative Stress in IgA Nephropathy, Membranous Nephropathy and Lupus Nephritis”. Krata N, Foroniewicz B, Zagożdżon R, Moszczuk B, Zielenkiewicz M, Pączek L, Mucha K. Arch. Immunol. Ther. Exp. 70, 3 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00005-021-00638-1>

oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: zaplanowaniu badania, rekrutacji uczestników, analizie i interpretacji danych, weryfikacji oraz akceptacji końcowej wersji manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 20 %

Wkład mgr inż. Natalii Krata w powstawanie publikacji określam jako 50 % obejmował on: zaplanowanie badania, przygotowanie bazy danych klinicznych, przygotowanie materiału do badań, przeprowadzenie analiz doświadczalnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych wyników, analizę oraz interpretację danych, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz akceptację końcowej wersji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej mgr inż. Natalii Krata



.....
(podpis oświadczającego)