
lek. Wiktoria Grycuk

PROENKEFALINA W PRZEWLEKŁEJ CHOROBY NEREK

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

Promotor: prof. dr hab. n. med. Jolanta Małyszko

Promotor pomocniczy: dr n. med. Zuzanna Jakubowska

Klinika Nefrologii, Dializoterapii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego
Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2025 r.

Słowa kluczowe: proenkefalina, PENK, biomarker, przewlekła choroba nerek, dializoterapia

Keywords: proenkephalin, PENK, biomarker, chronic kidney disease, dialysis therapy

Nazwa i numer projektu badawczego:

Badanie stężenia proenkefaliny u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek hemodializowanych i dializowanych otrzewnowo.

Projekt numer 38/M/MG/N/21 realizowany w ramach konkursu „Mini-grantów studenckich”, finansowany ze środków subwencji uzyskanej przez Warszawski Uniwersytet Medyczny przeznaczonych na naukę.

Numer źródła finansowania: 1WM/2/M/MG/N/21

Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską:

1. Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis

Wiktoria Grycuk, Zuzanna Jakubowska, Jolanta Małyszko

International Journal of Molecular Sciences. 2023, 24(19), 15015.

doi : 10.3390/ijms241915015

2023 Impact Factor: 4.9; MEiN: 140

2. Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?

Wiktoria Grycuk, Zuzanna Jakubowska, Jolanta Małyszko

Journal of Nephrology. 2025.

doi: 10.1007/s40620-025-02268-8

2024 Impact Factor: 2.7; MEiN: 100

Łączny Impact Factor: **7.6**

Łączna punktacja MEiN: **240**

Spis treści

1. Wykaz stosowanych skrótów	- 6 -
2. Streszczenie w języku polskim	- 8 -
3. Streszczenie w języku angielskim	- 11 -
4. Wstęp	- 13 -
4.1. Proenkefalina	- 13 -
4.2. Ograniczenia konwencjonalnie używanych biomarkerów	- 14 -
4.3. Proenkefalina jako wskaźnik funkcji nerek	- 15 -
4.4. Proenkefalina jako marker predykcyjny	- 16 -
4.5. Proenkefalina w populacji pacjentów z przewlekłą chorobą neerek	- 17 -
4.6. Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji	- 18 -
5. Założenia i cel pracy	- 19 -
6. Prace tworzące cykl publikacji	- 20 -
6.1. Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis	- 20 -
6.2. Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?	- 32 -
7. Podsumowanie	- 43 -
8. Wnioski	- 45 -
9. Piśmiennictwo	- 46 -
10. Opinia Komisji Bioetycznej lub Etycznej	- 50 -
11. Oświadczenia współautorów publikacji	- 53 -

1. Wykaz stosowanych skrótów

<i>Skrót</i>	<i>Rozwinięcie w języku angielskim</i>	<i>Rozwinięcie w języku polskim</i>
AKI	acute kidney injury	ostre uszkodzenie nerek
PENK	proenkephalin	proenkefalina
SCr	serum creatinine	stężenie kreatyniny w surowicy
eGFR	estimated glomerular filtration rate	szacowana wielkość przesączania kłębuszkowego
CKD	chronic kidney disease	przewlekła choroba nerek
ESKD	end-stage kidney disease	schyłkowa niewydolność nerek
KRT	kidney replacement therapy	terapia nerkozastępcza
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease	
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration	
CysC	cystatin C	cystatyna C
IL18	interleukin-18	interleukina-18
NGAL	neutrophil gelatinase-associated lipoprotein	lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą
KIM-1	kidney injury molecule-1	cząsteczka uszkodzenia nerek 1
IGFBP-7	insulin-like-growth-factor-binding protein 7	białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 7
TIMP-2	tissue inhibitor of metalloproteinase 2	tkankowy inhibitor metaloпротеinazy 2

SuPAR	soluble urokinase plasminogen activator receptor	rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu
HD	hemodialysis	hemodializa
PD	peritoneal dialysis	dializa otrzewnowa
NT-proBNP	N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide	N-końcowy fragment prohormonu peptydu natriuretycznego typu B

2. Streszczenie w języku polskim

Proenkefalina w przewlekłej chorobie nerek

Badania nad użytecznością kliniczną nowych biomarkerów ostrego uszkodzenia nerek (ang. *acute kidney injury*, AKI) pozwoliły na zidentyfikowanie proenkefaliny 119-159 (proenkefalina, PENK), która zyskała w ostatnich latach duże zainteresowanie jako potencjalny wskaźnik funkcji nerek oraz biomarker predykcyjny wystąpienia AKI. W takich populacjach, jak pacjenci z sepsą, czy z ostrą niewydolnością serca wykazywała ona przewagę nad tradycyjnie używanymi metodami opartymi na ocenie stężenia kreatyniny w surowicy (ang. *serum creatinine*, SCr).

Proenkefalina, wraz z innymi przedstawicielami rodziny enkefalin, należy do układu endogennych peptydów opioidowych, które za pośrednictwem receptorów opioidowych pełnią liczne funkcje w układzie nerwowym i tkankach obwodowych. Proenkefalina wykazuje największe powinowactwo do receptorów delta, których najwyższa ekspresja tkankowa stwierdzana jest w nerkach. Rola enkefalin w nerkach nie została do tej pory jednoznacznie wyjaśniona, sugeruje się jednak ich potencjalny efekt nasilający diurezę i natriurezę w efekcie bezpośredniej aktywacji receptorów lub hamowania wydzielania hormonu antydiuretycznego. Uważa się, że ze względu na małą masę cząsteczkową proenkefalina, ulega swobodnemu przesączaniu kłębuszkowemu. W przeciwieństwie do enkefalin, cechuje się długim okresem półtrwania i stabilnością po pobraniu. Te własności, jak również brak dotychczas znanych pozanerkowych mechanizmów usuwania proenkefaliny, uczyniły z niej obiecujący marker odzwierciedlający wielkość przesączania kłębuszkowego (ang. *glomerular filtration rate*, GFR). Badania potwierdzają odwrotną korelację stężenia proenkefaliny ze zmniejszeniem przesączania kłębuszkowego, zarówno w populacji pacjentów ze stabilną czynnością nerek, jak i w przypadku AKI. Dostępne dane wskazują na możliwą zależność między proenkefaliną a ryzykiem wystąpienia oraz stopniem ciężkości AKI. Proenkefalina może mieć również wartość rokowniczą w przewidywaniu ryzyka wystąpienia niekorzystnych wyników klinicznych w populacji pacjentów z AKI, takich jak konieczność leczenia nerkozastępczego, utrzymująca się dysfunkcja nerek i śmiertelność. Wzrost stężenia proenkefaliny u pacjentów z uszkodzeniem nerek może być tłumaczony zmniejszeniem klirensu lub wtórnym do uszkodzenia zwiększeniem produkcji enkefalin, bądź występowaniem obu tych mechanizmów jednocześnie.

Zwraca uwagę fakt, że dotychczasowe badania koncentrowały się głównie na roli proenkefaliny jako biomarkera funkcjonalnego i predykcyjnego u pacjentów z wyjściowo

zachowaną funkcją nerek. Tymczasem populacja chorych z przewlekłą chorobą nerek (ang. *chronic kidney disease*, CKD) cechuje się istotnie zwiększonym ryzykiem gwałtownego pogorszenia czynności nerek, co podkreśla potrzebę walidacji biomarkera również w tej grupie pacjentów. Brakuje badań oceniających, w jaki sposób schyłkowa niewydolność nerek (ang. *end-stage kidney disease*, ESKD) wpływa na stężenie proenkefaliny oraz czy cząsteczka ta podlega eliminacji podczas terapii nerkozastępczej.

Rozprawę stanowi cykl publikacji, których celem była ocena wartości diagnostycznej proenkefaliny jako biomarkera funkcji nerek u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, w tym w grupie pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek poddawanych przewlekłej dializoterapii.

W pracy oryginalnej („*Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis*”) po raz pierwszy oceniano stężenie proenkefaliny u pacjentów ze schyłkową niewydolnością leczonych metodą hemodializ i dializ otrzewnowych. W badaniu poszukiwano potencjalnych korelacji pomiędzy stężeniem proenkefaliny a wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi oraz oceniano wpływ hemodializoterapii na zmianę stężenia biomarkera we krwi. Co istotne, w analizowanej grupie pacjentów nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem proenkefaliny a takimi parametrami, jak stężenie kreatyniny, mocznika czy wielkość diurezy resztkowej. Ponadto zaobserwowano, że stężenia proenkefaliny były istotnie niższe przed hemodializą niż po jej zakończeniu, co może sugerować, że proenkefalina nie jest skutecznie usuwana przez błony dializacyjne, a wzrost jej stężenia po dializie może wynikać z eliminacji płynów w trakcie zabiegu przewyższającą eliminację samego peptydu. Jest to zgodne z obserwacją, że wyższe stężenia proenkefaliny stwierdzane były u pacjentów dializowanych z wykorzystaniem dializatorów typu low-flux, które cechują się ograniczoną zdolnością do usuwania substancji o średniej masie cząsteczkowej. Wyniki badania zasługują na uwagę, ponieważ budzą wątpliwości dotyczące przydatności proenkefaliny jako funkcjonalnego biomarkera w AKI. W kontekście częstej konieczności wdrożenia terapii nerkozastępczej w AKI, możliwość wiarygodnego monitorowania funkcji nerek stanowi nieodłączny element terapii.

W artykule przeglądowym („*Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?*”) podsumowano dotychczasową wiedzę na temat proenkefaliny jako biomarkera funkcji nerek oraz markera predykcyjnego AKI u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, z różnego stopnia zaburzeniem funkcji nerek.

Uwzględniono również dostępne dane dotyczące zastosowania proenkefaliny w kontekście terapii nerkozastępczej. Przegląd literatury wskazuje, że wartość diagnostyczna proenkefaliny może być ograniczona w populacji chorych z przewlekłą chorobą nerek, zwłaszcza w aspekcie identyfikacji osób zagrożonych rozwojem AKI. Ponadto w artykule zwrócono uwagę na niespójność dotychczasowych wyników badań dotyczących wpływu dializoterapii na stężenie peptydów opioidowych i podkreślono potrzebę większej ilości danych.

Podsumowując, obecnie dostępne dane mogą podważać przydatność proenkefaliny jako markera funkcjonalnego czynności nerek w CKD i ESKD, zwłaszcza u pacjentów leczonych metodą hemodializ. Konieczne są dalsze badania w celu oceny przydatności proenkefaliny jako wskaźnika dysfunkcji nerek w różnych populacjach klinicznych, w tym u pacjentów poddawanych dializoterapii oraz obciążonych chorobami towarzyszącymi. Przyszłe badania powinny również określić mechanizmy usuwania proenkefaliny przez nerki oraz błony dializacyjne.

3. Streszczenie w języku angielskim

Proenkephalin in chronic kidney disease

Previous studies aiming to identify novel biomarkers of acute kidney injury (AKI) have highlighted the potential clinical utility of proenkephalin 119–159 (Proenkephalin, PENK) as a promising indicator of kidney function and a predictor of AKI. In various populations, such as patients with sepsis or acute heart failure, proenkephalin has demonstrated superior accuracy in the early detection of AKI compared to traditional markers of kidney function such as serum creatinine (SCr). Proenkephalin exhibits high affinity for delta opioid receptors, which were shown to have highest expression in the kidney. Although its exact role in the kidney remains unknown, it has been suggested that proenkephalin may promote natriuresis and diuresis, either via receptor binding or by inhibiting the release of antidiuretic hormone. Given its low molecular weight, proenkephalin is presumed to be freely filtered through the glomerulus. Also, no extrarenal elimination mechanism have been identified to date. Furthermore, unlike enkephalins, proenkephalin has a longer half-life and remains stable after collection, which makes it a promising surrogate marker of glomerular filtration rate (GFR).

Previous studies have shown a negative correlation between proenkephalin levels and GFR in patients with both stable kidney function and acute injury. Proenkephalin has been shown not only to improve the early AKI detection but also correlate with AKI severity. Moreover, in the AKI setting, high proenkephalin levels has been shown to predict adverse clinical outcomes, such as the need for kidney replacement therapy (KRT), persistent renal dysfunction or mortality. The rise of proenkephalin concentrations in the setting of kidney dysfunction might reflect impaired clearance, upregulation of proenkephalin production or a combination of both mechanisms.

While numerous studies have explored proenkephalins value as a functional and predictive biomarker in patients with preserved kidney function, limited data are available on its role in chronic kidney disease (CKD), especially in advanced stages. Given that patients with CKD are particularly susceptible to acute-on-chronic kidney injury AKI, validation of PENK in this high-risk group is essential. Moreover, it remains unclear how end-stage kidney disease (ESKD) and kidney replacement therapy influence PENK levels and whether this molecule is effectively cleared during dialysis.

This dissertation comprises a series of thematically consistent studies aimed at evaluating the diagnostic performance of proenkephalin as a biomarker of renal function in patients with CKD, including those with ESKD receiving dialysis therapy.

In the original research (“Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis”) we evaluated proenkephalin concentrations for the first time in patients undergoing either hemodialysis or peritoneal dialysis. The study examined correlations between proenkephalin levels and selected clinical and biochemical parameters as well as analyzed how hemodialysis affects its serum concentrations. Notably, no association were found between proenkephalin and renal function indicators such as serum creatinine, urea, or residual urine output. Furthermore, proenkephalin levels were found to be significantly higher after hemodialysis than before, suggesting that the molecule may not be effectively removed across hemodialysis membranes. The rise in concentration may result from fluid removal during treatment which exceeds the elimination of the peptide itself. These findings were consistent with the observation that patients treated with low-flux dialyzers, which are less efficient in removing middle-molecular-weight molecules, had higher proenkephalin levels. Altogether, these results raise into question the reliability of proenkephalin as a functional biomarker in the setting of AKI, particularly in patients requiring dialysis, where continuous renal function monitoring is crucial.

In the review article (“Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?”), we provide an overview of proenkephalin as a renal function biomarker and discuss its potential role in detecting AKI in patients with CKD. Based on available data, the diagnostic value of proenkephalins seems to be reduced in subjects with CKD, especially regarding AKI prediction. The review also summarizes current evidence on proenkephalin in patients receiving kidney replacement therapy and highlights the need for further research, given the inconsistencies in data regarding its removal by dialysis.

In conclusion, the available data may undermine the usefulness of proenkephalin as a functional marker of kidney function in CKD and ESKD, especially in patients undergoing hemodialysis. Further studies are warranted to assess the utility of proenkephalin as an indicator of kidney dysfunction in various clinical populations, including patients receiving dialysis and those with comorbidities. Future research should also aim to determine the mechanisms of proenkephalin elimination via the kidneys and dialysis membranes.

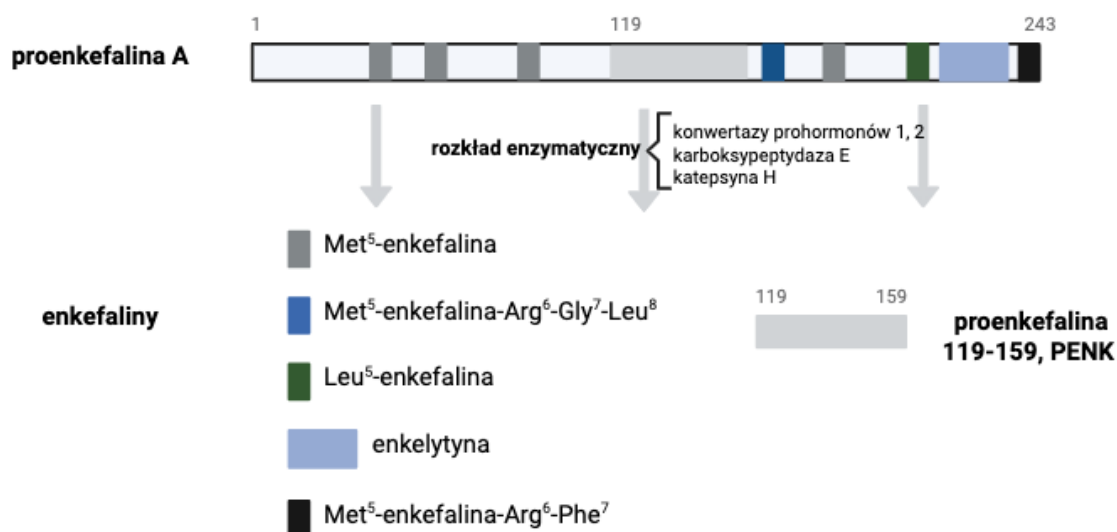
4. Wstęp

4.1. Proenkefalina

Proenkefalina 119-159 (proenkefalina, PENK) należy do rodziny enkefalin, opisanych po raz pierwszy w 1975 roku [1]. Enkefaliny, obok endorfin, dynorfin oraz nocyceptyn, tworzą układ endogennych peptydów opioidowych [2, 3]. Proenkefalina powstaje w wyniku rozkładu proteolitycznego cząsteczki prekursorowej enkefalin – proenkefaliny A, złożonej z 243 aminokwasów (Ryc. 1) [3]. W efekcie rozkładu enzymatycznego powstają również aktywne biologicznie peptydy, m.in. met-enkefalina i leu-enkefalina, które wykazują silne powinowactwo do receptorów opioidowych typu μ i δ [4, 5]. Układ endogennych opioidów, działający za pośrednictwem tych receptorów, uczestniczy w modulacji reakcji na bodźce nocyceptywne oraz przewlekły stres, regulacji zachowań związanych z odczuwaniem przyjemności i rozwojem uzależnień, a także w kontroli oddychania, czy odpowiedzi immunologicznej [5, 6]. Chociaż początkowo badania nad endogennymi peptydami opioidowymi koncentrowały się głównie na ich roli w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym, Denning i wsp. w 2008 roku wykazali wysoką ekspresję proenkefaliny również w innych tkankach, takich jak serce, mięśnie szkieletowe, jelita, nerki czy płuca [4]. Tkanki te wykazywały również wysoką ekspresję receptorów opioidowych δ , przy czym najwyższe ich stężenie zaobserwowano w nerkach [4]. Choć rola aktywacji receptorów δ w nerkach nie została do tej pory dobrze poznana, badania *in vivo* sugerują ich możliwe działanie diuretyczne i natriuretyczne [7]. Działanie to może stanowić efekt bezpośredniej aktywacji receptorów lub wynikać z hamowania wydzielania hormonu antydiuretycznego [8], jednak dane te wymagają dalszego potwierdzenia.

Początkowo, ocena potencjalnego zastosowania klinicznego enkefalin w badaniach była ograniczona ze względu ich krótki okres półtrwania w osoczu oraz podatność na degradację *in vitro* [2]. Ernst i wsp. wykazali, że proenkefalina produkowana jest w stężeniach proporcjonalnych do aktywnych peptydów, jednak w przeciwieństwie do enkefalin, zachowuje stabilność po pobraniu [2]. Dzięki temu, pomiar jej stężenia może służyć jako wiarygodny wskaźnik aktywności endogennego układu opioidowego w badaniach klinicznych [2].

Rycina 1. Rozkład proteolityczny białka prekursorowego enkefalin (proenkefaliny A).



Na podstawie: Grycuk i wsp. (2025) [9], wersja zmodyfikowana.

4.2. Ograniczenia konwencjonalnie używanych biomarkerów

W warunkach praktyki klinicznej rutynową metodą oceny funkcji nerek pozostaje monitorowanie szacowanej wielkości przesączania kłębuszkowego (eGFR, *estimated glomerular filtration rate*) [10]. Powszechnie stosowane wzory służące do szacowania GFR, w tym MDRD, 2009 CKD-EPI oraz 2021 CKD-EPI, opierają się m.in. na ocenie stężenia kreatyniny w surowicy (SCr, *serum creatinine*) [11–13]. Pomimo szerokiego zastosowania, oznaczanie kreatyniny posiada liczne ograniczenia. Jej stężenie zależy od wielu czynników pozanerkowych, wśród których największe znaczenie mają płeć, wiek, masa mięśniowa, aktywność fizyczna oraz dieta pacjenta [10, 14]. Dodatkowo, wzrost stężenia kreatyniny następuje niekiedy z istotnym opóźnieniem w stosunku do momentu zadziałania czynnika uszkadzającego nerki, co istotnie ogranicza jej przydatność diagnostyczną u pacjentów niestabilnych, z dynamicznie zmieniającą się czynnością nerek [14]. Ponadto, aktywna sekrecja kreatyniny przez kanaliki nerkowe może prowadzić do przeszacowania wartości przesączania kłębuszkowego, zwłaszcza w przypadku pogarszającej się funkcji nerek [10].

Ocena rzeczywistej wartości GFR możliwa jest przy pomocy obliczenia klirensu egzogennej substancji, takich jak inulina, jotalamat lub joheksol [10]. Metody te, uznawane za złoty standard oceny GFR, wymagają jednak dożylnego podania substancji, są kosztowne i czasochłonne, co sprawia, że ich wykorzystanie ograniczone jest niemal wyłącznie do badań klinicznych [10].

W związku z ograniczoną czułością tradycyjnie używanych metod w wykrywaniu gwałtownych zmian w czynności nerek, takich jak te obserwowane w przypadku ostrego uszkodzenia nerek (ang. *acute kidney injury*, AKI), obecnie trwają intensywne poszukiwania nowych biomarkerów, które poprawiłyby wczesną wykrywalność AKI. Badania prowadzone w ostatnich latach doprowadziły do odkrycia szeregu nowych, potencjalnych biomarkerów AKI, do których należą m.in.:

- cystatyna C (CysC, *cystatin C*),
- proenkefalina (PENK),
- interleukina-18 (IL18),
- NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipoprotein*),
- KIM-1 (*kidney injury molecule-1*),
- białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 7 (IGFBP-7, *insulin-like-growth-factor-binding protein 7*),
- tkankowy inhibitor metaloproteinazy 2 (TIMP-2, *tissue inhibitor of metalloproteinase 2*),
- rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu (SuPAR, *soluble urokinase plasminogen activator receptor*) [14, 15].

Proenkefalina zyskała zainteresowanie jako wiarygodny wskaźnik funkcji nerek oraz obiecujący, wczesny biomarker AKI, wykazując przewagę nad konwencjonalnie stosowanymi metodami opartymi na oznaczaniu stężenia kreatyniny [3, 16–18]. Obecnie proenkefalina jest intensywnie badana w różnych populacjach pacjentów pod kątem możliwości jej zastosowania w rutynowej praktyce klinicznej.

4.3. Proenkefalina jako wskaźnik funkcji nerek

Ze względu na niską masę cząsteczkową (ok. 4,5 kDa), uważa się, że proenkefalina najprawdopodobniej ulega swobodnemu przesączaniu w kłębuszkach nerkowych [16, 18–20]. Dotychczas nie wykazano istnienia białka nośnikowego wiążącego proenkefalinę w osoczu. Nie ma również danych na temat aktywnego wydzielania peptydu w cewkach nerkowych, co czyni proenkefalinę potencjalnie wiarygodnym wykładnikiem czynności nerek. Mechanizm eliminacji proenkefaliny przez nerki nie został jednak jednoznacznie wyjaśniony, ponieważ brakuje badań potwierdzających jej wydalanie z moczem, co podkreśla konieczność dalszych badań.

W różnych populacjach pacjentów, proenkefalina wykazywała odwrotną korelację zarówno z prawdziwym GFR zmierzonym przy pomocy joheksolu lub jotalamatu [3, 16, 21, 22], jak również z eGFR [23–25]. W badaniu obejmującym pacjentów z niestabilną czynnością nerek, hospitalizowanych w oddziale intensywnej terapii wykazano silniejszą korelację proenkefaliny z GFR zmierzonym przy pomocy klirensu joheksolu w porównaniu z metodami opartymi na oznaczeniu stężenia kreatyniny [17]. Co istotne, związek wzrostu stężenia proenkefaliny ze zmniejszeniem GFR obserwowano zarówno w grupach pacjentów z zachowaną czynnością nerek, jak również w przypadku różnego stopnia dysfunkcji nerek u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek [16, 26]. Wzrost stężenia proenkefaliny obserwowany w przypadku zmniejszenia GFR może wynikać ze zmniejszonego klirensu lub też stanowić rodzaj odpowiedzi kompensacyjnej [17, 27]. Enkefaliny, jako peptydy o potencjalnym działaniu kontrregulacyjnym nasilającym diurezę, mogą być wydzielane w AKI wtórnie, w odpowiedzi na bodziec uszkadzający [7, 27].

Powyższe obserwacje stanowiły podstawę do opracowania nowego wzoru do szacowania GFR, opartego na ocenie stężenia proenkefaliny [16]. W jednym z badań, opracowano nowe równanie PENK-Crea (Proenkephalin-Creatinine eGFR), którego trafność diagnostyczną potwierdzono oceniając mGFR przy pomocy klirensu joheksolu lub jotalamatu [16]. Proenkefalina okazała się najsilniejszym predyktorem mGFR, a dodanie kreatyniny i wieku dodatkowo zwiększało dokładność wzoru. Nowe równanie wykazywało przewagę w stosunku do powszechnie stosowanych wzorów, takich jak MDRD i CKD-EPI z 2009 roku pod względem dokładności i zakresu błędu w oszacowaniu GFR. Skuteczność była natomiast porównywalna z nowszym wzorem CKD-EPI z 2021 roku, rekomendowanym obecnie jako standardowa metoda oceny eGFR przez National Kidney Foundation [16, 28]. Co istotne, model nie uwzględniał rasy ani płci, gdyż zmienne te nie poprawiały jego precyzji, co również jest zgodne z rekomendacjami National Kidney Foundation dotyczącymi nieuwzględniania rasy jako zmiennej podczas szacowania wielkości GFR [28].

4.4. Proenkefalina jako marker predykcyjny

W dotychczasowych badaniach wykazano związek proenkefaliny z niekorzystnymi wynikami klinicznymi w różnych stanach chorobowych, takich jak sepsa [18], niewydolność serca [29], przeszczepienie nerki [21] oraz przewlekła choroba nerek (ang. *chronic kidney disease*, CKD) [30].

W grupie pacjentów poddawanych operacjom kardiochirurgicznym, podwyższone stężenia proenkefaliny były czynnikiem predykcyjnym wystąpienia ostrego uszkodzenia nerek [31, 32]. Podobny związek obserwowano u pacjentów z sepsą hospitalizowanych w oddziałach intensywnej terapii, gdzie stężenia proenkefaliny wykazywały silną korelację z wielkością GFR zmierzoną przy użyciu jotalamatu, wykazując przewagę nad metodami opartymi na ocenie stężenia kreatyniny [17]. W populacji chorych z sepsą, proenkefalina była nie tylko predyktorem wystąpienia i stopnia nasilenia AKI [18, 33], ale również markerem rokowniczym w zakresie takich punktów końcowych jak niewydolność wielonarządowa, konieczność wdrożenia terapii nerkozastępczej oraz śmiertelność [18, 33–35]. Wyższe stężenia proenkefaliny było również związane z pogorszeniem funkcji nerek oraz śmiertelnością w populacji pacjentów z ostrą niewydolnością serca [24]. U biorców przeszczepu nerki, proenkefalina okazała się niezależnym predyktorem niewydolności graftu [36].

Ponadto, w grupie osób z wyjściowo z zachowaną czynnością nerek, wyższe stężenia proenkefaliny wiązały się z szybszą utratą czynności nerek, mierzoną jako spadek wartości eGFR oraz z wyższym ryzykiem rozwoju CKD w długoterminowej obserwacji [23].

Większość dotychczasowych badań nad proenkefaliną (PENK) koncentrowała się na jej przydatności w wykrywaniu ostrych zaburzeń czynności nerek, w stanach takich jak sepsa czy ostra niewydolność serca. Jej wartość u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek pozostaje jednak słabo poznana.

4.5. Proenkefalina w populacji pacjentów z przewlekłą chorobą nerek

Choć wstępne dane sugerują, że proenkefalina może być nowym biomarkerem funkcjonalnym odzwierciedlającym wielkość GFR oraz predyktorem AKI i niekorzystnych rokowniczo wyników klinicznych, na uwagę zasługuje fakt, że większość z dotychczas przeprowadzonych badań nie uwzględniała pacjentów z CKD z wyjściową dysfunkcją nerek.

Choć mechanizm tłumaczący wzrost stężenia proenkefaliny w ostrych stanach klinicznych, w tym w AKI nie jest jasny, uważa się, że może on stanowić efekt zmniejszonego usuwania peptydu przez nerki, bądź też stanowić rodzaj odpowiedzi kompensacyjnej wtórnej do uszkodzenia nerek [7, 17, 27]. Zgodnie z tą hipotezą, obserwowany w CKD stopniowy spadek GFR powinien prowadzić do wzrostu stężenia proenkefaliny, proporcjonalnie do stopnia dysfunkcji nerek. Niestety, aktualnie brakuje szczegółowych danych na temat stężeń proenkefaliny w kolejnych stadiach przewlekłej choroby nerek. Co więcej, w naszym badaniu obejmującym 88 pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek (ang. *end-stage kidney*

disease, ESKD) nie zaobserwowaliśmy korelacji pomiędzy kreatyniną a eGFR, co podważa jej użyteczność jako biomarkera czynności nerek w tej populacji.

Z tego względu konieczne są dalsze badania obejmujące pacjentów z różnym stopniem przewlekłej dysfunkcji nerek, które pozwolą lepiej ocenić potencjał proenkefaliny jako wskaźnika filtracji kłębuszkowej oraz narzędzia służącego do identyfikacji osób szczególnie zagrożonych pogorszeniem funkcji nerek.

4.6. Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji

Prace wchodzące w skład cyklu publikacji w sposób spójny koncentrują się na zagadnieniu proenkefaliny jako biomarkera w populacji pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, w tym grupie pacjentów z chorobą nerek w schyłkowym stadium.

Artykuł numer 1 stanowi pracę oryginalną, w której dokonano oceny stężenia proenkefaliny u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek poddawanych leczeniu nerkozastępczemu, pozostających pod opieką Kliniki Nefrologii, Dializoterapii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Do badania włączono 88 pacjentów hemodializowanych (n=66) i dializowanych otrzewnowo (n=22). Pomiaru stężenia proenkefaliny dokonano przy użyciu gotowych zestawów testowych ELISA. Dane demograficzne, kliniczne i biochemiczne uczestników badania zgromadzono w bazie danych. Uzyskane dane poddano analizie statystycznej, określono średnie stężenie proenkefaliny oraz poszukiwano korelacji stężenia proenkefaliny z wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi. W badaniu nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem biomarkera a parametrami funkcji nerek, takimi jak eGFR, stężenie kreatyniny, stężenie mocznika. Praca jest pierwszym badaniem oceniającym stężenie proenkefaliny w populacji pacjentów z ESKD.

W artykule numer 2 dokonano przeglądu badań dotyczących proenkefaliny, ze szczególnym uwzględnieniem prac obejmujących pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. W artykule omówiono m.in. takie zagadnienia, jak zdolność proenkefaliny do odzwierciedlania GFR oraz jej wartość predykcyjną w kontekście wystąpienia AKI u pacjentów z CKD. Dostępna literatura nie pozwala stwierdzić, czy proenkefalina jest wiarygodnym markerem funkcjonalnym na wszystkich etapach zaawansowania przewlekłej choroby nerek.

5. Założenia i cel pracy

Aktualnie prowadzone badania nad proenkefaliną koncentrują się na możliwości jej wykorzystania w praktyce klinicznej jako nowego wskaźnika biochemicznego odzwierciedlającego wielkość przesączania kłębuszkowego oraz wczesnego biomarkera AKI. Ponadto, sugeruje się, że proenkefalina może odgrywać istotną rolę w podejmowaniu decyzji klinicznych jako czynnik predykcyjny niekorzystnych wyników klinicznych u pacjentów z AKI. Mimo to, nie przeprowadzono jak dotąd wiarygodnych badań oceniających wartość diagnostyczną proenkefaliny u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, w szczególności u pacjentów poddawanych dializoterapii. Biorąc pod uwagę, iż ta populacja pacjentów cechuje się dużą heterogennością i narażona jest na gwałtowne pogorszenie czynności nerek, nowy biomarker powinien umożliwiać wiarygodną ocenę czynności nerek na każdym etapie przewlekłej choroby nerek.

Celem pracy była ocena wartości diagnostycznej proenkefaliny jako wykładnika czynności nerek w populacji pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, w tym w grupie pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek. Prace tworzące cykl publikacji obejmowały w szczególności:

- 1) analizę stężenia proenkefaliny u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych metodą hemodializ (ang. *hemodialysis*, HD) i dializ otrzewnowych (ang. *peritoneal dialysis*, PD) oraz ocenę potencjalnej korelacji między stężeniem proenkefaliny a wybranymi parametrami biochemicznymi i klinicznymi;
- 2) ocenę wpływu hemodializy oraz rodzaju stosowanych dializatorów na stężenie proenkefaliny;
- 3) szczegółowe podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat proenkefaliny jako wskaźnika czynności nerek i biomarkera AKI u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek.

6. Prace tworzące cykl publikacji

6.1. Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis



Article

Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis

Wiktoria Grycuk , Zuzanna Jakubowska and Jolanta Małyszko *

Department of Nephrology, Dialysis and Internal Medicine, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; wiktoriagrycuk@gmail.com (W.G.); zuzanna.jakubowska@wum.edu.pl (Z.J.)

* Correspondence: jolmal@poczta.onet.pl

Abstract: Recently, proenkephalin A (PENK A) has been shown to reflect glomerular dysfunction and to predict new-onset acute kidney injury and heart failure. While previous studies have investigated PENK A as a biomarker in individuals with preserved renal function, PENK A concentration in patients with end-stage kidney disease (ESKD) was not investigated. Plasma PENK A concentration was assessed in 88 patients with ESKD treated with hemodialysis (HD) or peritoneal dialysis (PD), and its associations with kidney function and heart failure indicators were investigated. In HD patients, the difference in PENK A levels before and after hemodialysis, was measured and further assessed for an association with the type of HD membrane used. PENK A levels did not differ significantly between HD and PD patients. In HD patients, the median PENK A concentration was significantly higher before than after hemodialysis (1.368 vs. 2.061, $p = 0.003$). No correlation was found between PENK A level and urea ($p = 0.192$), eGFR ($p = 0.922$), dialysis vintage ($p = 0.637$), and residual urine output ($p = 0.784$). Heart failure ($p = 0.961$), EF ($p = 0.361$), and NT-proBNP ($p = 0.949$) were not associated with increased PENK A concentration. PENK A does not reflect renal function and cardiac status in patients with ESKD. Further research is required to establish the clinical utility of the new biomarker in patients with impaired kidney function.



Citation: Grycuk, W.; Jakubowska, Z.; Małyszko, J. Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 15015. <https://doi.org/10.3390/ijms241915015>

Academic Editors: Marcus Brand and Giovana S. Di Marco

Received: 5 September 2023

Revised: 1 October 2023

Accepted: 6 October 2023

Published: 9 October 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Keywords: proenkephalin; enkephalins; biomarker; end-stage kidney disease; dialysis; hemodialysis

1. Introduction

In recent years, clinical research on early biomarkers of kidney damage has been intense and proenkephalin A (PENK A) has been identified as a promising filtration biomarker [1]. PENK A is a common precursor of peptides which belongs to the enkephalin family and forms an endogenous opioid system in the central and peripheral nervous system [2]. Enkephalins, including met-enkephalin and leu-enkephalin, act primarily on delta opioid receptors, which exhibit a wide expression in non-neuronal tissues, including the kidney, heart, skeletal muscle, and lungs [2]. In animal studies, delta-opioid receptor activation in the kidney has been shown to increase renal blood flow and diuresis, but its role in regulating renal function in humans has not been well established [3]. The utility of enkephalins in research is limited due to their short half-life and lability in vitro. Unlike enkephalins, PENK A, which reflects the activity of the endogenous opioid system, can be easily measured in plasma and remains stable after collection [4,5].

In several clinical settings, PENK A has been proposed as an accurate marker for the detection of acute kidney injury (AKI) or worsening of renal function (WRF), including chronic kidney disease [6], acute heart failure [7], cardiac surgery [8], and sepsis [9–12]. In large cohort studies, plasma PENK A concentration has shown a strong correlation with the measured GFR (mGFR) by using iothexol or iothalamate clearance

in both a steady renal state and an acute setting [4,9]. In healthy individuals, elevated PENK A concentrations have been shown to be associated with a greater yearly decline of eGFR and to predict the risk of developing chronic kidney disease (CKD) [13,14] during 16.6 years of follow-up. Although these results suggest that PENK A might reflect glomerular dysfunction in individuals with both adequate and reduced filtration rates, and therefore serve as a predictive marker of CKD [4,13], to the best of our knowledge, its concentration in patients undergoing dialysis treatment has not been investigated previously.

More recently, opioid peptides have also emerged as potential modulators of cardiac function [15,16]. Through the activation of G protein-coupled receptors, enkephalins have been shown to inhibit sympathetic stimulation in the autonomic nervous system leading to a decrease in myocardial contractility, heart rate, and blood pressure [15,16]. PENK A levels have been shown to increase in response to cardiac injury both in acute conditions and chronic heart failure (HF) [7,8,17,18]. Elevated levels of PENK A in a large cohort of patients with HF were significantly associated with more advanced stages of the disease and increased mortality [18]. It has been hypothesized that enkephalins might play a compensatory role in HF explained by its cardio-depressive effects, and therefore could be considered to be a disease severity marker [16,18]. However, it remains unclear to what degree proenkephalin concentration can be influenced by confounding factors, including kidney function. As cardiovascular disease is a risk factor for cognitive impairment, a recent study reported associations of PENK A with incident cognitive impairment [19].

While most studies have been focused on investigating PENK A in individuals with AKI or CKD, PENK A levels and its determinants in patients with end-stage kidney disease (ESKD) undergoing dialysis therapy have not yet been established. Since patients with CKD and AKI are susceptible to a rapid decline in kidney function requiring dialysis treatment, further validation of the role of PENK A as an indicator of GFR is required in this setting. Our study aimed to assess the plasma PENK A concentration in patients with ESKD treated with hemodialysis (HD) and peritoneal dialysis (PD) and to investigate its correlation with renal function and heart failure. Additionally, we aimed to determine whether PENK A is removed through hemodialysis membranes.

2. Results

2.1. Patient Characteristics

The baseline characteristics of the 88 eligible patients are listed in Table 1. The mean age was 60.61 ± 16.43 , and 41 (47%) patients enrolled in the study were female. The average eGFR was 5.864 ± 2.374 mL/min/1.73 m² which did not differ between HD and PD patients (5.727 ± 2.012 and 6.273 ± 3.254 , $p = 0.856$). In addition, 48 patients (55%) had no or very low (≤ 500 mL/24 h) residual urine output. Most patients ($n = 35$, 40%) had been receiving dialysis treatment for ≥ 1 and < 5 years, and the remainder of the study population had been treated for < 1 year ($n = 19$, 22%), ≥ 5 and < 10 years ($n = 20$, 23%), and ≥ 10 years ($n = 14$, 16%). The result of the baseline PENK A measurement was available for 86 patients. The median baseline PENK A concentration in the overall population was 1.492 (1.071–4.380) ng/mL. No significant differences were observed between the HD and PD groups (1.368 [1.068–4.030] ng/mL vs. 1.706 [1.211–5.858] ng/mL, $p = 0.305$). In the HD patients, the median PENK A concentration was significantly higher before than after hemodialysis (1.368 [1.068–4.030] ng/mL vs. 2.061 [1.708–3.695] ng/mL, $p = 0.003$).

Table 1. Baseline characteristics of the study group.

	Overall (<i>n</i> = 88)	HD (<i>n</i> = 66)	PD (<i>n</i> = 22)	<i>p</i> Value
Age (years)	65 (51–72)			
Female, <i>n</i> (%)	41 (47)	26 (39)	15 (68)	
eGFR (CKD-EPI) (creatinine-based)	5 (4–7)	5 (4–7)	5 (4–8)	0.856
Plasma PENK A (ng/mL)	1.492 (1.071–4.380)	1.368 (1.068–4.030) <i>n</i> = 65 *	1.706 (1.211–5.858) <i>n</i> = 21 *	0.305
Dialysis vintage, <i>n</i> (%)				
<1 year	19 (22)	17 (26)	2 (9)	
≥1 and <5 years	35 (40)	27 (41)	8 (36)	
≥5 and <10 years	20 (23)	13 (20)	7 (32)	
≥10 years	14 (16)	9 (14)	5 (23)	
Residual diuresis (mL/24 h), <i>n</i> (%)				
≤500	49 (56)	38 (58)	11 (50)	
>500 and ≤1000	7 (8)	5 (8)	2 (9)	
>1000 and ≤2000	26 (30)	18 (27)	8 (36)	
>2000	6 (7)	5 (8)	1 (5)	
Heart failure, <i>n</i> (%)	24 (27)	23 (35)	1 (5)	
Hypertension, <i>n</i> (%)	77 (88)	60 (90)	17 (77)	
Coronary artery disease, <i>n</i> (%)	22 (25)	22 (33)	0	
Diabetes, <i>n</i> (%)	31 (35)	26 (40)	5 (23)	
NT-proBNP (ng/L)	14,100 (52,000–30,828)	16,164 (7196–32,586) <i>n</i> = 40	8270 (3784– 21,231) <i>n</i> = 16	0.059

PENK A, proenkephalin A; NT-proBNP, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide. Note: Categorical data are presented with percentage (numbers). Continuous variables are presented with interquartile ranges (IQR). * In the remaining two cases, PENK A concentration was not measured due to the sample hemolysis.

2.2. PENK A and Kidney Function Parameters

Figure 1 shows the results of the correlation analyses which failed to show the link between PENK A levels and eGFR ($p = 0.922$) (a) or urea ($p = 0.192$) (b). PENK A levels did not differ significantly between groups, with varying degrees of residual urine output ($p = 0.784$) (c). Dialysis vintage did not seem to influence PENK A concentrations ($p = 0.067$) (d).

2.3. PENK A and HF Indicators

The echocardiography report was available in 60 (68%) patients and the NT-proBNP measurement was obtained in 56 (64%) patients. Based on standard criteria (see Section 4.2.) heart failure was diagnosed in 24 (28%) patients. Heart failure with reduced or mildly reduced EF accounted for only eight (33%) cases. The remaining 16 (66%) patients (for whom an echocardiography report was available) were diagnosed with HF with preserved EF. As depicted in Figure 2, Spearman's rank correlation showed no correlation between PENK A and NT-proBNP ($p = 0.949$) (a). There was no significant difference in PENK A level between patients with varying EF ($p = 0.361$) (b). Similarly, no significant differences in PENK A levels were found between patients with or without HF ($p = 0.961$) (c).

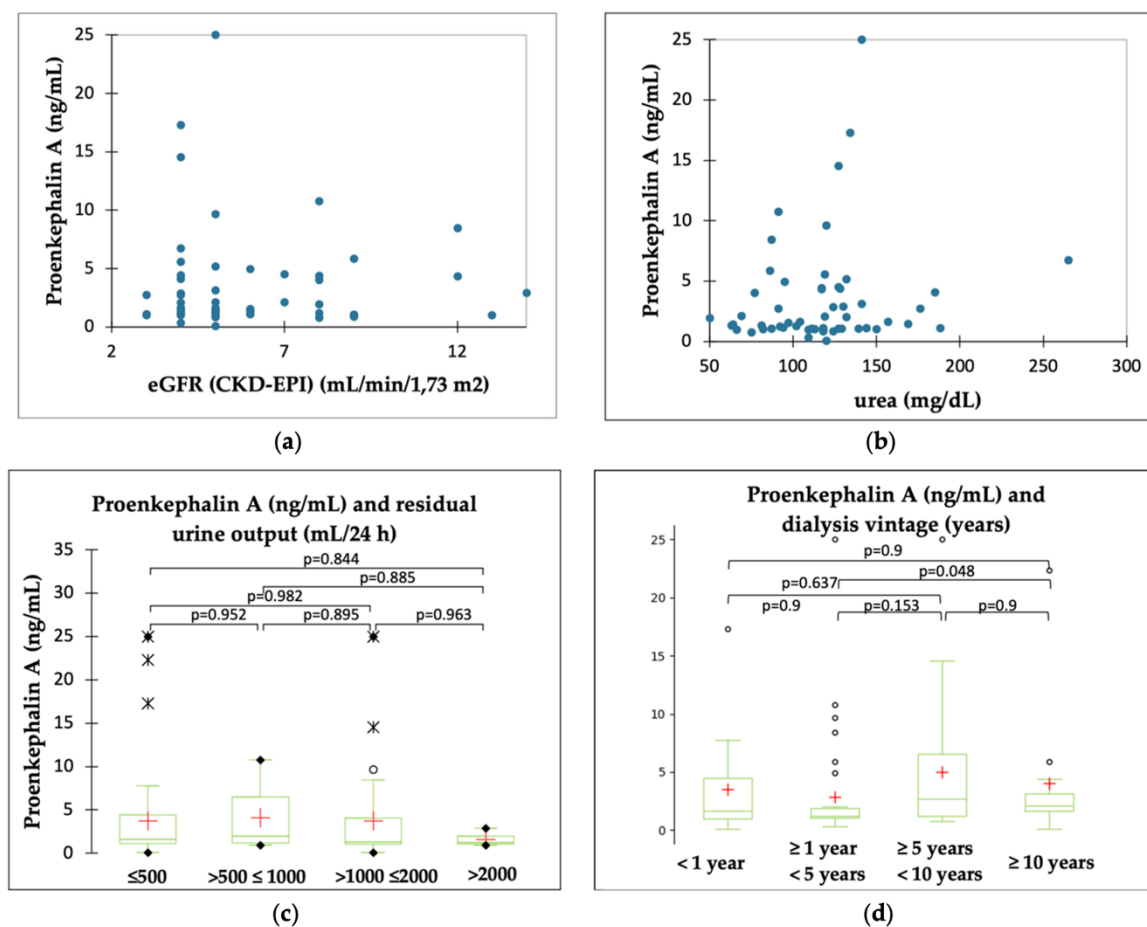


Figure 1. Graphs showing the relationship between PENK A levels and kidney function indicators. No correlation was found between proenkephalin A and (a) eGFR ($p = 0.922$) and (b) urea ($p = 0.192$); (c) there were no significant differences in PENK A levels depending on the residual urine output ($p = 0.784$) and (d) dialysis vintage ($p = 0.067$).

2.4. PENK A and Type of Dialysis Membrane

In our study, the median PENK A level was significantly lower before hemodialysis than afterwards (1.368 [1.068–4.030] ng/mL vs. 2.061 [1.708–3.695] ng/mL, $p = 0.003$) suggesting that its concentration might depend on fluid removal during the procedure. PENK A concentrations were compared between patients using high-flux ($n = 36$) and low-flux ($n = 30$) membranes. In the high-flux group, the median PENK A levels were 1.174 (IQR 1.061–1.55) ng/mL before hemodialysis and 1.876 (IQR 1.685–2.381) ng/mL after the procedure, and ranged from 2.833 (IQR 1.158–6.333) ng/mL before hemodialysis to 3.205 (IQR 1.954–5.465) ng/mL afterwards in the low-flux group. As shown in Figure 3, PENK A concentrations differed significantly between the two groups; however, higher levels were found in patients treated with low-flux membranes, both before ($p = 0.003$) and after hemodialysis ($p = 0.003$). To determine whether these differences are not influenced by different degrees of residual diuresis, a comparison between high-flux and low-flux groups was performed. As displayed in Figure 4, no difference in residual urine output was found between the high-flux and low-flux groups ($p = 0.793$) (suggesting that residual diuresis does not affect the removal of PENK A in patients undergoing high-flux dialysis).

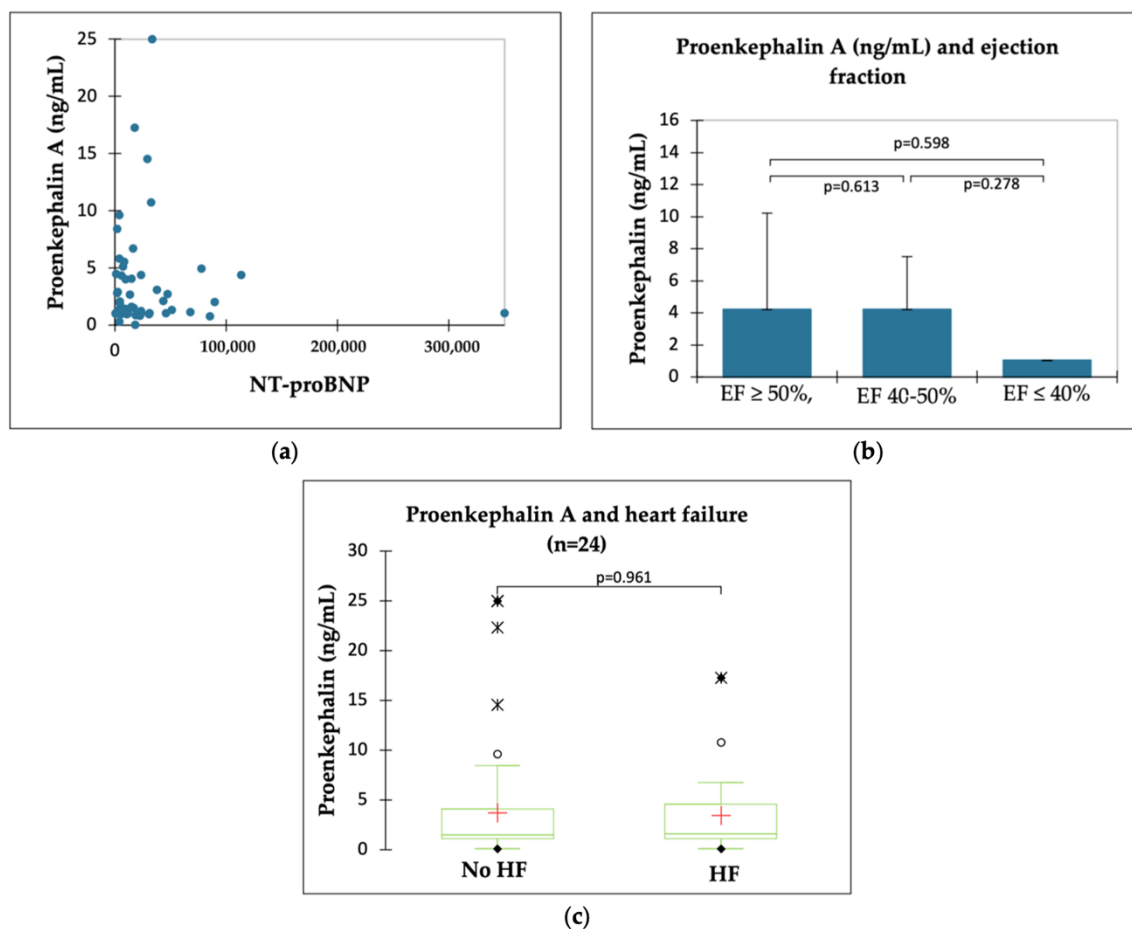


Figure 2. (a) No correlation was found between PENK A level and NT-proBNP. The comparison between groups showed no significant differences in PENK A levels depending on (b) the range of EF ($p = 0.361$) or (c) presence of HF ($p = 0.961$).

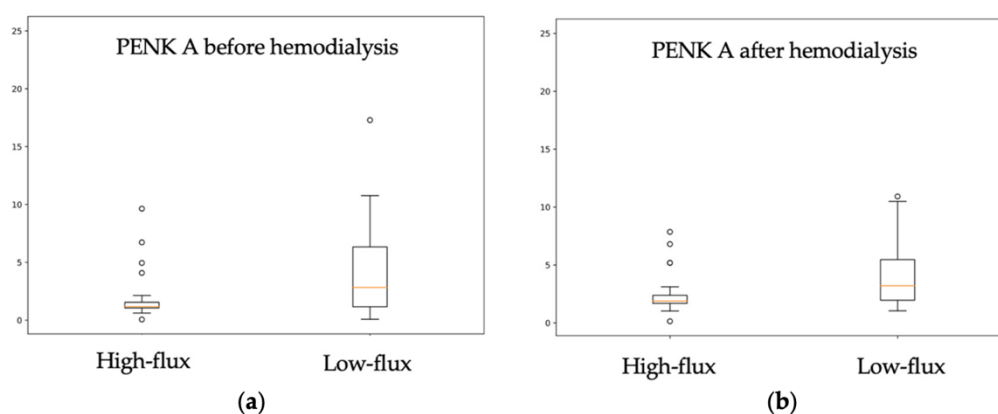


Figure 3. Figure presenting PENK A levels in patients treated with high-flux (boxplot on the left) and low-flux (boxplot on the right) hemodialysis membranes. PENK A concentration was significantly higher in patients using low-flux membrane vs. patients using high-flux membranes, both before hemodialysis ($p = 0.003$) and afterwards ($p = 0.003$): (a) PENK A levels in samples drawn directly before hemodialysis; (b) PENK A levels after hemodialysis.

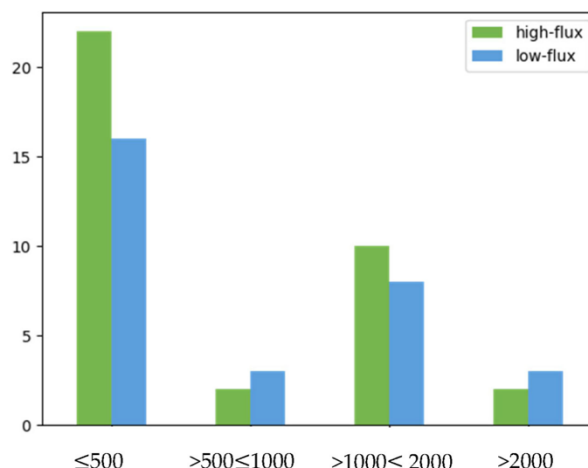


Figure 4. Figure presenting the distribution of residual urine output (mL/24 h) in patients treated with high-flux (green) and low-flux (blue) hemodialysis. No significant differences in residual diuresis were observed between the high-flux and low-flux groups ($p = 0.793$).

3. Discussion

3.1. PENK A as a Biomarker of Kidney Dysfunction

To date, there has been no accurate description of the mechanism by which PENK A levels increase in renal diseases. Glomerular filtration usually allows the passage of small, non-protein-bound molecules into renal tubules; however, there has been no published evidence of PENK A excretion in urine that could validate the data on its renal clearance. The proposed explanation of elevated PENK A levels in renal diseases implicates impaired clearance or upregulation [14,20]. This would imply the accumulation of PENK A in CKD and ESKD, proportionally to the degree of impaired kidney function, whilst our study proved that, in patients with ESKD, PENK A did not reflect kidney function. In this cohort, we did not observe the correlation of PENK A level with creatinine, urea, or residual urine output, which are parameters that represent the reference method to assess the degree of kidney dysfunction.

PENK A and Hemodialysis

In our study, PENK A seems to be affected by hemodialysis such that its concentration rises when measured directly after the procedure. Therefore, it might be speculated that PENK A is not removed across hemodialysis membranes and the observed increase in the concentration of PENK A is due to intra-dialytic fluid loss.

Dialysis membranes usually allow the passage of small molecules into dialysate; thus, a post-dialysis decrease in PENK A concentration would be expected. The possible explanation of our finding could be the protein binding of PENK A which stops the molecule's transfer across hemodialysis membrane. The enkephalins, of which proenkephalin is a precursor, bind to albumin in the blood of mammals, so it can be hypothesized that proenkephalin also interacts with plasma albumin [21]. If our hypothesis is correct, it would also explain why the retention of PENK A is not proportional to the degree of accumulation of low-weight toxins, including creatinine and urea. Further investigations are, however, required to establish PENK A levels in the dialysate and confirm the albumin-binding.

Previous studies on enkephalins (met-enkephalin and leu-enkephalin) and products of proteolytic cleavage of PENK A, have shown the retention of opioid peptides in ESKD [20,22]. In patients with ESKD receiving hemodialysis treatment, plasma met-enkephalin concentration was four times higher than in healthy subjects and correlated with plasma urea and creatinine [22]. Both standard hemodialysis and hemofiltration caused a slight decrease in met-enkephalin concentration [22]. In contrast, leu-enkephalin concentration was significantly lower in patients with ESKD as compared with healthy control and

was not affected by dialysis [22]. Similar results were obtained by Wala-Zielińska et al. [23] who investigated the correlation of CKD-associated pruritus with concentrations of endogenous opioids. In this study, the concentration of met-enkephalin was higher in the group of dialysis patients with pruritus compared to the healthy control group, whereas no significant differences in leu-enkephalin serum levels were found between the study groups.

This is the first study to investigate the precursor molecule, PENK A, in patients with ESKD and to evaluate the impact of hemodialysis on plasma levels of PENK A. The reason for the varying concentrations of opioid peptides in ESKD treated with hemodialysis remains to be elucidated; however, we cannot rule out the possibility that these differences are due to protein binding and the resulting decreased permeability for some molecules.

The fact that PENK A is not removed by hemodialysis calls into question the usefulness of proenkephalin as an everyday use biomarker in AKI. Patients with AKI represent a highly vulnerable group, who are prone to a rapid decline of kidney function, and who might require treatment with hemodialysis. Therefore, a marker that aims to improve the early detection of AKI should also allow monitoring of kidney function during the treatment with hemodialysis.

However, there is no evidence, to date, that PENK A binds to proteins. Given its low molecular weight of 4586 Da, PENK A has been assumed to be freely filtered at the glomerulus [9,13,24]. Thus, we cannot rule out the possibility that PENK A is also removed through the hemodialysis membranes and the concentration rise is due to removal of fluid which exceeds the elimination of the molecules. This could explain why, in our study, we observed higher concentrations in patients dialyzed with low-flux dialyzers, which have smaller pores and lower diffusion potential compared to high-flux membranes. However, as the groups of patients on low-flux and high-flux dialysis were not homogenous, these data should be analyzed with caution.

3.2. PENK A in Patients with Heart Failure

The concentration of PENK A has been shown to increase in response to cardiac injury in a variety of disorders, including heart failure [17,18,25]. It has been hypothesized that enkephalins might play a compensatory role in HF explained by its cardio-depressive effects and could, therefore, be considered to be a disease severity marker [16,18]. In a study that evaluated the utility of PENK A in stable ambulatory patients with HF, higher levels of PENK A were associated with lower eGFR and decreased EF [17]. In another cohort of patients with new onset or worsening heart failure, higher PENK A levels were found in patients with more severe HF (reflected by a higher NYHA score and higher natriuretic peptides) and with poorer kidney function (higher creatine and urea levels, lower eGFR) [23]. Importantly, in all of the studies investigating PENK A in patients with HF, PENK A levels were strongly associated with eGFR [17,18,25]. Emmens et al. found that eGFR was the strongest independent predictor of elevated PENK A levels in [18].

Renal dysfunction is a common comorbidity in patients with HF and worsening of the kidney function is associated with increased risk of death and prolonged hospitalization in decompensated HF [26]. Thus, a biomarker which allows monitoring of both kidney and cardiac dysfunction would be desirable. In our study, investigating PENK A in patients with ESKD, no significant differences in PENK A levels were observed between patients with and without HF and with varying degrees of EF. Likewise, no correlation was found between PENK A level and NT-proBNP. As the assessment of the kidney function is desired in all subsets of patients, these results further support our observation that PENK A should not be used as a biomarker in patients with HF and kidney dysfunction, who might potentially require renal replacement therapy.

3.3. Limitations of the Study

Patients with end-stage kidney disease represent a highly heterogenous group of patients, making it likely that the results were influenced by a variety of confounding factors. Due to a single-centered design of the study, the results are not necessarily generalizable.

Furthermore, the number of patients with diagnosed chronic heart failure was limited in our study and the echocardiographic report was not obtained in all individuals. The gold standard heart failure biomarker, i.e., the NT-proBNP level was not obtained in 32 (36%) patients. Moreover, the measurement of NT-proBNP could likely be influenced by the fluid overload during the inter-hemodialysis period. The available literature suggests that HF coexists with ESKD in approximately 32–44% (PD and HF respectively) [27] of cases which outweighs the percentage of patients with diagnosed HF in our study and may indicate that the number of patients with HF in our cohort was underevaluated.

Despite the fact that anuria is a typical finding in patients with ESKD, it should also be noted that more than half of all patients had no or very low (55%) residual diuresis. Assuming that PENK A is freely filtered at the glomerulus, varying degrees of residual kidney function could have contributed to the retention of PENK A.

In summary, unlike other studies which support the link between PENK A levels with steady-state renal function, we did not find a correlation between PENK and simultaneously drawn creatinine or urea levels and eGFR. Moreover, our study suggests that PENK A is not dialyzable. These findings raise questions about the value of PENK A as a marker of kidney function, particularly when used in a vulnerable subset of patients with AKI or CKD who might require renal replacement therapy.

4. Materials and Methods

4.1. Patients

We identified 101 patients treated with dialysis in our center between May and June 2022. The inclusion criteria involved: (1) 18 years of age or older, (2) HD or PD treatment for at least 90 days, (3) ability to provide informed consent. A total of 88 patients undergoing HD ($n = 66$) or PD ($n = 22$) who met the inclusion criteria were enrolled in this cross-sectional study. Patients with decompensated heart failure and patients receiving dialysis treatment in the intensive care unit were excluded. All patients received either standard continuous ambulatory and automated PD or HD two ($n = 9$), three ($n = 55$), or four ($n = 2$) times per week using high flux ($n = 36$) and low flux ($n = 30$) membranes.

This study received approval from the Medical University of Warsaw Ethics Committee (no. KB/131/2021, issued on 6 September 2021) and all patients provided their written, informed consent to participate in the study.

4.2. Methods

The blood samples for PENK A determination were collected directly before and at the end of a hemodialysis session in HD patients. In PD patients, the samples were drawn at a single time point on regular outpatient visits. The blood samples were collected in tubes containing EDTA-Na and directly centrifuged at 4 °C for 15 min. The obtained plasma was transferred into 1.5 mL microfuge tubes and stored at −80 °C until assay. The samples for determination of serum creatinine, urea, and NT-proBNP levels were drawn at the time of collection of PENK A, and measurements were performed by using standard procedures of the hospital's central laboratory. Demographic (gender, age) and clinical data (comorbidities, years on dialysis, and residual urine output) were collected from the patients' histories and recorded in the clinical database. The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated by using the creatinine-based 2009 Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation (including serum creatinine, age, gender, and race). The ejection fraction (EF) was estimated by using the standard formula on echocardiography. According to the 2021 Guidelines of European Society of Cardiology, the diagnostic criteria for chronic heart failure involved the presence of clinical signs or symptoms, objective measures of cardiac dysfunction on echocardiography, and elevated plasma concentration of natriuretic peptides. HF was classified based on echocardiographic results into HF with preserved, mildly reduced, or reduced EF if EF was $\geq 50\%$, 40–50%, or $\leq 40\%$, respectively.

4.3. Measurements

The plasma samples were distributed in 96-well plates. The concentration of PENK A was measured by using the Human (PENK A) Elisa Kit (Shanghai SunRedBio, Shanghai, China), a double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal antibodies specific to the PENK A peptide. The standards (PENK A peptide) and samples were incubated in tubes with the detector antibody, and the tubes were washed, and bound chemiluminescence was detected with a luminometer. The lower limit of detection was 0.041 ng/mL, and the measurement range was 0.05–10 ng/mL. According to the manufacturer's protocol, the samples were run in duplicate. PENK A assay intra- and inter-assay CV were below 9%.

4.4. Statistical Analyses

Statistical analyses were performed by using XLSTAT 2022 version 4.1 and STATA software, and *p*-values <0.05 were considered to represent statistical significance. Continuous variables are described as means $\pm$ standard deviation (SD) or medians and interquartile range (IQR) unless stated otherwise. Categorical data are described as numbers and percentages. The following continuous variables were categorized based on established cut-off values: residual diuresis (≤ 500 mL/24 h, >500 and ≤ 1000 mL/24 h, >1000 and ≤ 2000 mL/24 h, >2000 mL/24 h), dialysis vintage (<1 year, ≥ 1 and <5 years, ≥ 5 and <10 years, ≥ 10 years), ejection fraction ($<40\%$, $40\text{--}50\%$, $>50\%$). Comparisons between the (two or more) groups were done by using the Kruskal–Wallis test or the Mann–Whitney U test. Spearman rank correlation was used to examine the correlation between two variables.

5. Conclusions

Further validation of the role of PENK A as a measure of kidney function is, however, required. Additionally, investigations are required to establish PENK A excretion in urine that would validate the data on its renal clearance and the possibility of using it as a biomarker of kidney injury. Moreover, it needs to be determined whether PENK A is removed through different dialysis membranes and might, therefore, be considered to be uremic toxin in subjects undergoing renal replacement therapy. At present, utility of PENK A as a biomarker of kidney function poses more questions than answers.

Author Contributions: Conceptualization, W.G., Z.J. and J.M.; methodology, W.G., Z.J. and J.M.; validation, J.M.; formal analysis, W.G., Z.J. and J.M.; investigation, W.G. and Z.J.; resources, J.M.; writing—original draft preparation, W.G., Z.J. and J.M.; visualization, W.G., Z.J. and J.M.; supervision, Z.J. and J.M.; project administration, W.G., Z.J. and J.M.; funding acquisition, W.G., Z.J. and J.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Medical University of Warsaw, Poland; grant number: 38/M/MG/N/21.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Medical University of Warsaw (protocol code KB/131/2021; date of approval, 6 September 2021).

Informed Consent Statement: Written informed consent has been obtained from the patient(s) to publish this paper.

Data Availability Statement: The datasets generated and analyzed in the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Khorashadi, M.; Beunders, R.; Pickkers, P.; Legrand, M. Proenkephalin: A New Biomarker for Glomerular Filtration Rate and Acute Kidney Injury. *Nephron* **2020**, *144*, 655–661. [\[CrossRef\]](#)
2. Denning, G.M.; Ackermann, L.W.; Barna, T.J.; Armstrong, J.G.; Stoll, L.L.; Weintraub, N.L.; Dickson, E.W. Proenkephalin Expression and Enkephalin Release Are Widely Observed in Non-Neuronal Tissues. *Peptides* **2008**, *29*, 83–92. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Sezen, S.F.; Kenigs, V.A.; Kapusta, D.R. Renal Excretory Responses Produced by the Delta Opioid Agonist, BW373U86, in Conscious Rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, *287*, 238–245. [\[PubMed\]](#)
4. Donato, L.J.; Meeusen, J.W.; Lieske, J.C.; Bergmann, D.; Sparwaßer, A.; Jaffe, A.S. Analytical Performance of an Immunoassay to Measure Proenkephalin. *Clin. Biochem.* **2018**, *58*, 72–77. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Ernst, A.; Köhrle, J.; Bergmann, A. Proenkephalin A 119–159, a Stable Proenkephalin A Precursor Fragment Identified in Human Circulation. *Peptides* **2006**, *27*, 1835–1840. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Breidthardt, T.; Jaeger, C.; Christ, A.; Klima, T.; Mosimann, T.; Twerenbold, R.; Boeddinghaus, J.; Nestelberger, T.; Badertscher, P.; Struck, J.; et al. Proenkephalin for the Early Detection of Acute Kidney Injury in Hospitalized Patients with Chronic Kidney Disease. *Eur. J. Clin. Invest.* **2018**, *48*, e12999. [\[CrossRef\]](#)
7. Ng, L.L.; Squire, I.B.; Jones, D.J.L.; Cao, T.H.; Chan, D.C.S.; Sandhu, J.K.; Quinn, P.A.; Davies, J.E.; Struck, J.; Hartmann, O.; et al. Proenkephalin, Renal Dysfunction, and Prognosis in Patients with Acute Heart Failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2017**, *69*, 56–69. [\[CrossRef\]](#)
8. Mossanen, J.; Pracht, J.; Jansen, T.; Buendgens, L.; Stoppe, C.; Goetzenich, A.; Struck, J.; Autschbach, R.; Marx, G.; Tacke, F. Elevated Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor and Proenkephalin Serum Levels Predict the Development of Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 1662. [\[CrossRef\]](#)
9. Beunders, R.; van Groenendael, R.; Leijte, G.P.; Kox, M.; Pickkers, P. Proenkephalin Compared to Conventional Methods to Assess Kidney Function in Critically Ill Sepsis Patients. *Shock* **2020**, *54*, 308–314. [\[CrossRef\]](#)
10. Hollinger, A.; Wittebole, X.; François, B.; Pickkers, P.; Antonelli, M.; Gayat, E.; Chousterman, B.G.; Lascarrou, J.-B.; Dugernier, T.; Di Somma, S.; et al. Proenkephalin A 119–159 (Penkid) Is an Early Biomarker of Septic Acute Kidney Injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) Study. *Kidney Int. Rep.* **2018**, *3*, 1424–1433. [\[CrossRef\]](#)
11. Rosenqvist, M.; Bronton, K.; Hartmann, O.; Bergmann, A.; Struck, J.; Melander, O. Proenkephalin a 119–159 (PenKid)—A Novel Biomarker for Acute Kidney Injury in Sepsis: An Observational Study. *BMC Emerg. Med.* **2019**, *19*, 75. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Kim, H.; Hur, M.; Struck, J.; Bergmann, A.; Somma, S.D.; GREAT Network. Proenkephalin Predicts Organ Failure, Renal Replacement Therapy, and Mortality in Patients with Sepsis. *Ann. Lab. Med.* **2020**, *40*, 466–473. [\[CrossRef\]](#)
13. Schulz, C.-A.; Christensson, A.; Ericson, U.; Almgren, P.; Hindy, G.; Nilsson, P.M.; Struck, J.; Bergmann, A.; Melander, O.; Orho-Melander, M. High Level of Fasting Plasma Proenkephalin-A Predicts Deterioration of Kidney Function and Incidence of CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2017**, *28*, 291–303. [\[CrossRef\]](#)
14. Kieneker, L.M.; Hartmann, O.; Bergmann, A.; de Boer, R.A.; Gansevoort, R.T.; Joosten, M.M.; Struck, J.; Bakker, S.J.L. Proenkephalin and Risk of Developing Chronic Kidney Disease: The Prevention of Renal and Vascular End-Stage Disease Study. *Biomarkers* **2018**, *23*, 474–482. [\[CrossRef\]](#)
15. Headrick, J.P.; See Hoe, L.E.; Du Toit, E.F.; Peart, J.N. Opioid Receptors and Cardioprotection—‘Opioidergic Conditioning’ of the Heart. *Br. J. Pharmacol.* **2015**, *172*, 2026–2050. [\[CrossRef\]](#)
16. Siong Chan, D.C.; Cao, T.H.; Ng, L.L. Proenkephalin in Heart Failure. *Heart Fail. Clin.* **2018**, *14*, 1–11. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Matsue, Y.; ter Maaten, J.M.; Struck, J.; Metra, M.; O’Connor, C.M.; Ponikowski, P.; Teerlink, J.R.; Cotter, G.; Davison, B.; Cleland, J.G.; et al. Clinical Correlates and Prognostic Value of Proenkephalin in Acute and Chronic Heart Failure. *J. Card. Fail.* **2017**, *23*, 231–239. [\[CrossRef\]](#)
18. Emmens, J.E.; ter Maaten, J.M.; Damman, K.; van Veldhuisen, D.J.; de Boer, R.A.; Struck, J.; Bergmann, A.; Sama, I.E.; Streng, K.W.; Anker, S.D.; et al. Proenkephalin, an Opioid System Surrogate, as a Novel Comprehensive Renal Marker in Heart Failure. *Circ. Heart Fail.* **2019**, *12*, e005544. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Short, S.A.P.; Wilkinson, K.; Schulte, J.; Renteria, M.A.; Cheung, K.L.; Nicoli, C.D.; Howard, V.J.; Cushman, M. Plasma Pro-Enkephalin A and Incident Cognitive Impairment: The Reasons for Geographic and Racial Differences in Stroke Cohort. *J. Am. Heart Assoc.* **2023**, *12*, e029081. [\[CrossRef\]](#)
20. Smith, R.; Grossman, A.; Gaillard, R.; Clement-Jones, V.; Ratter, S.; Mallinson, J.; Lowry, P.J.; Besser, G.M.; Rees, L.H. Studies on Circulating Met-Enkephalin and Beta-Endorphin: Normal Subjects and Patients with Renal and Adrenal Disease. *Clin. Endocrinol.* **1981**, *15*, 291–300. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. De Marco, V.; Possenti, R.; Vita, F.; Rapposelli, B.; D’Alagni, M.; Giorgio Roda, L. Enkephalin Binding Systems in Human Plasma II: Leu-Enkephalin Serum Albumin Interaction. *Neurochem. Res.* **1985**, *10*, 1355–1369. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Zoccali, C.; Ciccarelli, M.; Mallamaci, F.; Maggiore, Q.; Lotti, M.; Zucchelli, G.C. Plasma Met-Enkephalin and Leu-Enkephalin in Chronic Renal Failure. *Nephrol. Dial. Transplant.* **1987**, *1*, 219–222.
23. Wala-Zielińska, K.; Świerczyńska-Mróż, K.; Krajewski, P.K.; Nowicka-Suszko, D.; Krajewska, M.; Szepietowski, J.C. Endogenous Opioid Imbalance as a Potential Factor Involved in the Pathogenesis of Chronic Kidney Disease-Associated Pruritus in Dialysis Patients. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 2474. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

24. Marino, R.; Struck, J.; Hartmann, O.; Maisel, A.S.; Rehfeldt, M.; Magrini, L.; Melander, O.; Bergmann, A.; Di Somma, S. Diagnostic and Short-Term Prognostic Utility of Plasma pro-Enkephalin (pro-ENK) for Acute Kidney Injury in Patients Admitted with Sepsis in the Emergency Department. *J. Nephrol.* **2015**, *28*, 717–724. [[CrossRef](#)]
25. Arbit, B.; Marston, N.; Shah, K.; Lee, E.L.; Aramin, H.; Clopton, P.; Maisel, A.S. Prognostic Usefulness of Proenkephalin in Stable Ambulatory Patients with Heart Failure. *Am. J. Cardiol.* **2016**, *117*, 1310–1314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Testani, J.M.; Coca, S.G.; Shannon, R.P.; Kimmel, S.E.; Cappola, T.P. Influence of Renal Dysfunction Phenotype on Mortality in the Setting of Cardiac Dysfunction: Analysis of Three Randomized Controlled Trials. *Eur. J. Heart Fail.* **2011**, *13*, 1224–1230. [[CrossRef](#)]
27. United States Renal Data System. *2022 USRDS Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States*; National Institutes of Health: Bethesda, MD, USA; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases: Bethesda, MD, USA, 2022.

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

6.2. Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?



Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?

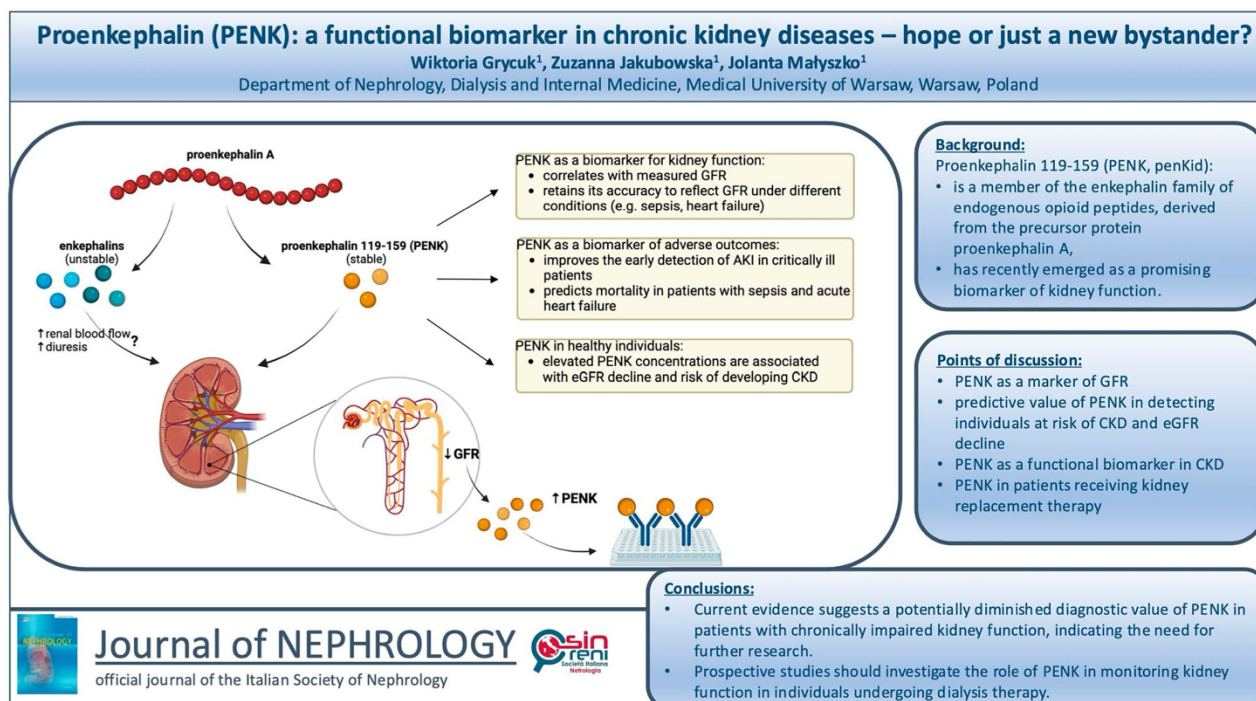
Wiktoria Grycuk¹ · Zuzanna Jakubowska¹ · Jolanta Małyszko¹

Received: 23 August 2024 / Accepted: 28 February 2025
© The Author(s) under exclusive licence to Italian Society of Nephrology 2025

Abstract

Proenkephalin has recently emerged as a promising biomarker of kidney function which improves the early detection of acute kidney injury (AKI) compared to creatinine-based methods. Plasma Proenkephalin concentrations have shown a correlation with glomerular filtration rate (GFR) as assessed by gold standard methods. Previous studies have demonstrated its association with adverse clinical outcomes in various settings, including sepsis, heart failure, kidney transplantation, and chronic kidney disease (CKD). Additionally, in healthy individuals, elevated Proenkephalin concentrations have been linked to a decline in GFR and an increased risk of developing CKD. While evidence suggests that Proenkephalin may be a more accurate tool for assessing glomerular filtration and detecting AKI, recent research has primarily focused on subjects with preserved kidney function, leaving its value in CKD patients less explored. Given the heterogeneity and high risk of rapid renal deterioration in patients with chronically impaired kidney function, a reliable biomarker should retain its ability to reflect kidney function in both CKD and AKI settings. This review summarizes the current evidence on Proenkephalin in patients with chronic kidney diseases.

Graphical abstract



Extended author information available on the last page of the article

Published online: 15 April 2025

Springer

Keywords Proenkephalin · PENK · Biomarker · Chronic kidney disease · ESKD

Background

Currently, kidney function is primarily monitored by estimating the glomerular filtration rate (GFR) based on serum creatinine. However, this method has limited value in acute settings, as it detects changes in kidney function with a significant delay [1]. Moreover, serum creatinine concentration is influenced by various extra-renal factors, such as nutritional status, diet, muscle mass, or ethnicity, which may impede the assessment of true GFR in some patient groups [1, 2]. Since none of the commonly used methods for assessing glomerular function improved the early detection of acute kidney injury (AKI), much effort has been made to identify novel, more accurate markers.

Among many biomarkers investigated in recent years, Proenkephalin (PENK) has emerged as a promising indicator of kidney function. Proenkephalin belongs to the enkephalin family of endogenous opioid peptides, first described in 1975 [3]. These peptides are derived from the proteolytic cleavage of the 243-amino-acid protein Proenkephalin A [4, 5]. As a precursor protein, Proenkephalin A gives rise to several biologically active molecules, including met-enkephalin and leu-enkephalin, all of which act as opioid receptor ligands (Fig. 1) [4, 5]. In addition to enkephalins, the cleavage also produces the Proenkephalin 119–159 peptide, also referred to as penkid [4, 6, 7]. Early research focusing on enkephalins has been limited due to their short half-life in

human plasma and lability in vitro [4, 5]. In contrast, Proenkephalin is produced in proportional concentrations to active peptides and, unlike enkephalins, retains its stability after sample collection, allowing for reliable measurement [4, 5]. For this reason, Proenkephalin has been proposed as a surrogate marker for the synthesis of enkephalins [2, 4, 5, 7]. To specify, in this article, Proenkephalin and penkid refer to Proenkephalin 119–159, a cleavage product of Proenkephalin A. Initial studies on endogenous opioid peptides focused on their role in the central and peripheral nervous systems [2, 8]. Acting primarily through delta-opioid receptors in neuronal tissue, these peptides are thought to be implicated in antinociception, drug dependence, respiratory function, and immune response [2, 8, 9]. In 2008, Denning and al. first reported high concentrations of Proenkephalin in non-neuronal tissues, including kidney, heart, skeletal muscle, and lungs [9]. Although delta-opioid receptors exhibit the highest expression in the kidney compared to other peripheral tissues [9], their role in modulating kidney function is not yet understood. Based on in vivo studies, it has been postulated that receptor agonists might enhance renal blood flow and increase urinary output through the inhibition of the antidiuretic hormone [10]. However, these results require further confirmation.

Proenkephalin has recently been proposed as a reliable marker of kidney function, showing a strong negative correlation with measured GFR in both steady renal state and

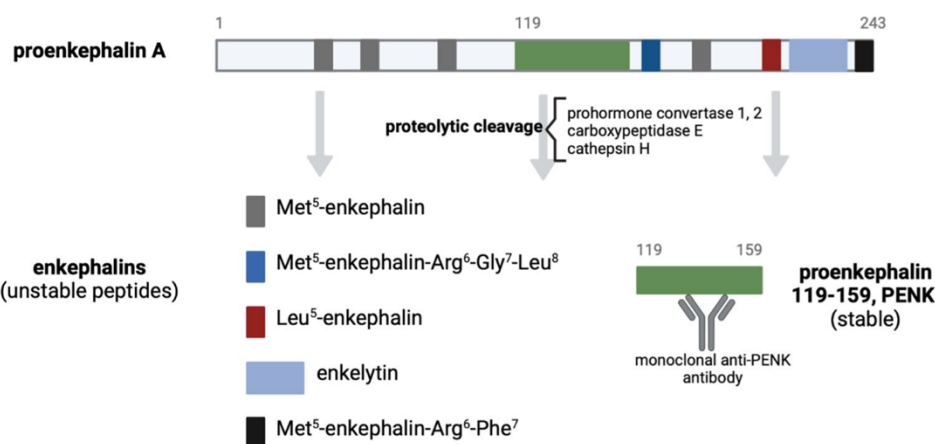


Fig. 1 Cleavage of Proenkephalin and measurement of Proenkephalin. Proteolytic cleavage of the 243-amino-acid precursor protein Proenkephalin A by peptidases, including prohormone convertases 1 and 2, carboxypeptidase E, and cathepsin H, generates several bioactive enkephalin peptides. These include four copies of Met-enkepha-

lin and one copy each of Leu-enkephalin, Met-enkephalin-Arg-Gly-Leu, Met-enkephalin-Arg-Phe, and enkelytin. The cleavage also produces a stable Proenkephalin fragment (PENK 119–159), which can be further detected using Proenkephalin-targeted monoclonal antibody assays

acute injury [2, 4, 11]. This correlation remained consistent across different stages of kidney dysfunction, and in healthy individuals; Proenkephalin levels were not influenced by age or sex [4, 12]. Given its low molecular mass of 4586 Da, Proenkephalin is postulated to be freely filtered through the glomerulus, which could potentially explain its increased concentration as GFR declines [2, 13, 14]. However, the exact mechanism of Proenkephalin clearance by the kidneys is not well understood, as no data currently confirm its excretion in urine.

Evidence from observational studies also suggests its possible application as a predictor of unfavorable clinical outcomes across various settings, including heart failure [15], sepsis [7, 16], or chronic kidney disease (CKD) [17]. When compared to creatinine-based estimated GFR (eGFR), Proenkephalin has demonstrated improved accuracy in the early detection of AKI in patients with sepsis [7, 11]. The link between kidney dysfunction and adverse clinical outcomes may also clarify why elevated Proenkephalin levels predict mortality in populations with acute heart failure [18–20] and sepsis [16]. Moreover, in the acute heart failure setting, Proenkephalin was predictive of worsening kidney function [20]. Even in healthy individuals, elevated Proenkephalin concentrations were associated with a decline in eGFR and predicted the risk of developing CKD [21, 22].

While most of the previous studies have focused on the role of Proenkephalin in detecting changes in kidney function in acute states, its value in patients with chronically impaired kidney function has not been extensively investigated. As the population with CKD is highly heterogeneous and carries a high risk for rapid kidney function deterioration, a biomarker aiming to improve the early diagnosis of AKI should retain its ability to accurately reflect kidney function in both CKD and AKI settings. In this review, we summarize the associations of Proenkephalin with kidney function in patients with chronically impaired kidney function and discuss its potential clinical applications across various settings.

Search strategy

This review article focuses on the current knowledge about Proenkephalin as a biomarker for kidney function and adverse clinical outcomes in patients with chronic kidney disease and in those undergoing kidney replacement therapy (KRT). A search was conducted in the PubMed/Medline and Google Scholar databases for published records using the keywords ‘Proenkephalin’ and ‘PENK’ combined with the following search terms: ‘renal’, ‘kidney’, ‘CKD’, ‘RRT’, ‘replacement’, ‘hemodialysis’. The search was limited to studies published in English within the last 10 years (2014–2024). The selected manuscripts covered

Proenkephalin in the context of chronic kidney disease and KRT. References from these articles were also reviewed to expand the original searches. The final list of references comprised 35 articles, selected based on their relevance to the topics covered in this review.

Proenkephalin as a marker of glomerular filtration

Plasma Proenkephalin concentrations have shown a strong association with both measured and estimated GFR in different clinical settings [4, 11, 12, 23].

While data on Proenkephalin’s value in reflecting actual GFR are sparse, recent studies indicate a correlation between Proenkephalin levels and GFR measured by gold standard methods, such as iohalamate or iothexol clearance [4, 12]. In a cohort of 1191 patients with stable kidney function with and without known kidney disease, Proenkephalin concentrations were associated with GFR assessed by iohalamate clearance, with a multivariate model identifying Proenkephalin, age, sex, and history of kidney transplantation as significant predictors of measured GFR (mGFR) [4]. In another multicenter study of 1354 stable and critically ill patients with diverse degrees of kidney function, a new Proenkephalin-creatinine equation for eGFR estimation was developed and validated against iothexol or iohalamate clearance [12]. In the variable selection analysis, Proenkephalin concentration showed the strongest correlation with mGFR and contributed most significantly to the equation’s accuracy, with further improvements when creatinine and age were added [12]. Notably, the Proenkephalin-creatinine equation did not include commonly used covariates like race or sex, as they did not improve the model’s performance [12]. The Proenkephalin-based equation outperformed the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) and 2009 Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equations, demonstrating less bias and higher accuracy, while the performance was comparable to the race-free 2021 CKD-EPI equation [12].

Furthermore, recent work suggests that compared to conventional creatinine-based methods, Proenkephalin may improve the assessment of glomerular filtration in acute settings. In a cohort of 23 critically ill sepsis patients, Proenkephalin was superior to creatinine-based methods in reflecting the actual GFR determined by iothexol plasma clearance [11]. The correlation between Proenkephalin and mGFR ($R^2=0.90$, $p<0.0001$) was significantly stronger than that of eGFR calculated using the MDRD formula ($p=0.06$) and endogenous creatinine clearance ($p=0.08$) [11].

A similar relationship was shown between Proenkephalin and GFR estimated using a creatinine-based formula [23, 24]. Among 664 kidney transplant recipients with steady

renal state and 95 healthy kidney donors, Proenkephalin levels were inversely correlated with eGFR ($r_s = -0.80$, $p < 0.001$) [23]. In a population-based study by Nilsson et al. exploring the differences in Proenkephalin levels between Iraqi-born and native Swedish residents, lower Proenkephalin levels were associated with higher eGFR, however, this association was influenced by other covariates (i.e. age, sex, diabetes, systolic blood pressure, country of birth) [24]. Additionally, the relationship was slightly weaker in the Iraqi-born group [24], suggesting that Proenkephalin's accuracy as a functional kidney biomarker may vary across ethnicities.

While Proenkephalin has shown strong associations with kidney function, it has not yet been widely used to directly calculate GFR. To date, only one equation, the Proenkephalin-creatinine equation, has been developed to estimate GFR using Proenkephalin, demonstrating superior performance compared to commonly used creatinine-based equations [12]. Its further validation in larger cohorts, particularly those including critically ill patients, is required, however, its development may be of interest, as it could aid in the implementation of Proenkephalin into clinical practice and facilitate comparisons with other kidney function biomarkers. In the only single-center, prospective study involving 56 critically ill children and 41 term-born neonates, iohexol-based mGFR, serum creatinine (SCr), and cystatin C (cysC) were determined in each patient. Bedside Schwartz equation was used to estimate GFR, incorporating SCr and height [25]. In this population, correlation between Proenkephalin and mGFR was as good as between SCr-based eGFR and mGFR, whereas for cysC and SCr, the correlation with mGFR was lower [25].

However, it still remains unclear to what degree Proenkephalin concentration can be influenced by confounding factors, including kidney function, as populations with CKD are largely excluded from studies. In addition, the majority of studies used IB10 sphingotest penkid (SphingoTec GmbH, Hennigsdorf, Germany), a rapid point-of-care immunoassay for in vitro quantitative determination of penkid. Nowadays, other ELISA assays, as well as flow luminescence immunoassays, are commercially available. However, no comparative data on these assays have been published to date. The use of different assays may also affect the results.

Proenkephalin in chronic kidney disease

Despite CKD being a known risk factor for rapid deterioration of kidney function, studies investigating Proenkephalin have largely involved subjects with preserved eGFR. Consequently, data on the utility of Proenkephalin in individuals with chronically impaired kidney function are scarce, as this patient subset has mostly been excluded from research.

Prediction of CKD

Higher plasma Proenkephalin levels have been associated with the decline of eGFR and an increased risk of developing CKD [21, 26]. In a prospective study including 2568 healthy individuals, participants with higher baseline Proenkephalin levels experienced a greater annual decline of eGFR compared to those in the lowest tertile (-1.6 vs -1.4 mL/min/1.73 m²; $p = 0.001$) [26]. Moreover, during the follow-up period of 16.6 years, elevated Proenkephalin levels were linked to an increased risk of incident CKD [26]. This association was independent of the baseline eGFR and known risk factors for kidney function decline (OR: 1.51; 95% confidence interval [95% CI], 1.18–1.94) [26]. Similar results were observed by Bullen et al. in a study of 4400 participants of African and European ancestry [21]. Individuals with higher Proenkephalin levels were more likely to experience a $\geq 30\%$ decline in eGFR (OR for fully adjusted model: 1.11; 95% CI 1.00–1.24) over a 9.4-year follow-up. However, the link between Proenkephalin and the occurrence of CKD varied depending on the criteria of CKD used, with no significant association when CKD was defined as new eGFR < 60 mL/min/1.73 m² and at least 40% eGFR decline (OR for fully adjusted model: 1.02; 95% CI 0.88–1.18) [21]. These results did not differ significantly by race [21]. Among participants without albuminuria at baseline, higher Proenkephalin levels were also associated with incident albuminuria at follow-up, even after adjusting for baseline eGFR and albumin-creatinine ratio (OR: 1.16; 95% CI 1.02–1.33), with a stronger association observed among participants of European ancestry [21]. These findings were not fully replicated in 4375 subjects from the PREVEND study [22]. In this cohort, baseline Proenkephalin levels were inversely correlated with both eGFR ($r = -0.27$, $p < 0.001$) and, notably, urinary albumin excretion ($r = -0.09$, $p < 0.001$) [22]. During a median follow-up of 8.4 years, higher Proenkephalin levels were associated with an increased risk of developing CKD defined as eGFR < 60 mL/min/1.73 m², however, after adjusting for the baseline eGFR this association remained significant only in men (HR: 1.65; 95% CI 1.15–2.36), but not in women [22]. This study found no association between Proenkephalin and the occurrence of urinary albumin excretion > 30 mg/24 h at the follow-up [22].

The disparities observed in these studies suggest the need for further research to determine Proenkephalin's potential role as a biomarker for identifying individuals at high risk of developing CKD. The important limitation of each of these studies is that Proenkephalin was measured only at baseline, precluding evaluation of longitudinal changes in Proenkephalin in relation to CKD occurrence

[21, 22, 26]. Future research incorporating repeated Proenkephalin measurements over time could help determine whether longitudinal Proenkephalin changes may improve its effectiveness in predicting CKD. Moreover, it remains unclear whether Proenkephalin is associated with incident albuminuria. Since albuminuria is an early indicator of worsening kidney function [22], it would be valuable to investigate the relationship between Proenkephalin, eGFR decline, and incident CKD based on albuminuria.

Proenkephalin as a functional biomarker in CKD

Proenkephalin levels are thought to increase in AKI patients due to reduced clearance, increased production, or a combination of both mechanisms [11, 22]. If this hypothesis is true, similar elevations in Proenkephalin might be expected in CKD patients, proportional to the degree of glomerular filtration reduction. However, there is a significant lack of data on Proenkephalin levels across different stages of CKD and additional research is required to validate its utility as a kidney function marker in this population.

In a study by Mossanen et al. investigating Proenkephalin's predictive value for AKI among patients undergoing cardiac surgery, baseline Proenkephalin levels were significantly higher in CKD patients ($n = 10$) compared to those with preserved kidney function (132.5 vs 81.7 pmol/L, $p < 0.001$) [27]. Notably, elevated pre-surgery Proenkephalin levels were associated with a risk of subsequent AKI [27]. However, this association was no longer observed when patients with preexisting CKD were excluded from the analysis [27], suggesting that Proenkephalin's predictive value for kidney function decline may be reduced in individuals with already impaired kidney function. Given the limited number of patients with CKD ($n = 10$) included in this study [27], these results require further confirmation. In another work, a relationship between Proenkephalin and GFR measured using iothalamate clearance was investigated in 1191 patients with varying degrees of kidney dysfunction [4]. In the same study, median plasma Proenkephalin concentrations were significantly higher in patients with GFR reduced to < 60 mL/min/1.73 m² compared to levels observed in patients with adequate filtration rate (105 vs 60 pmol/L, $p < 0.0001$) [4]. Among kidney transplant recipients with stable kidney function, subjects with higher Proenkephalin levels were more likely to have lower baseline eGFR and higher urinary albumin excretion [23]. These findings were not consistent with those observed in our previous study [28]. In a cohort of 101 patients with end-stage kidney disease (ESKD) undergoing dialysis therapy, Proenkephalin levels did not reflect kidney function [28]. Specifically, no significant associations were found between Proenkephalin

concentrations and eGFR ($p = 0.922$), urea ($p = 0.192$), or residual urine output ($p = 0.784$) [28].

Studies investigating Proenkephalin that included patients with CKD are summarized in Table 1.

Prediction of AKI in CKD

The utility of Proenkephalin in predicting contrast-induced AKI (CI-AKI) was investigated in a study involving 111 hospitalized patients with CKD undergoing radiographic contrast procedures [17]. Baseline Proenkephalin concentrations measured prior to contrast media administration did not significantly differ between patients who developed AKI and those without AKI, failing to predict AKI occurrence. Conversely, levels of Proenkephalin drawn on day 1 after contrast injection were markedly elevated in AKI compared to no-AKI patients (198 vs. 121 pmol/L, $p < 0.01$), but no difference in the predictive ability for AKI was found between day 1 Proenkephalin and creatinine. Notably, the change in Proenkephalin levels from baseline to day 1 (delta PENK) was significantly higher in AKI patients compared to no-AKI patients (53 pmol/l vs. 1 pmol/l, $p < 0.01$) and showed a greater predictive potential for CI-AKI than creatinine [17]. However, as only few patients in this study developed AKI ($n = 7$) [17], these results should be interpreted with caution. The fact that baseline Proenkephalin was similar in AKI and no-AKI patients could potentially be explained by the specific inclusion of CKD patients [17]. This is further corroborated by a previously cited study by Mossanen et al. in patients undergoing cardiac surgery, which found that the association between pre-surgery Proenkephalin and subsequent AKI decreased after excluding patients with CKD [27]. Taken together, these findings suggest that Proenkephalin's predictive value for kidney function decline may be diminished in individuals with preexisting renal impairment.

Proenkephalin in patients receiving kidney replacement therapy

AKI

The current evidence on Proenkephalin in the context of KRT is limited and largely confined to acute settings. In a multi-center study, plasma Proenkephalin concentrations were measured in critically ill patients with AKI undergoing continuous renal replacement therapy (CRRT) to evaluate whether Proenkephalin could serve as a predictive marker for CRRT liberation [29]. Among 369 samples analyzed, low baseline plasma Proenkephalin concentrations did not predict the study endpoint [29]. Lower Proenkephalin concentrations at day 3 were associated with successful CRRT

Table 1 Proenkephalin as a biomarker of kidney function in CKD and ESKD patients

Authors	Study population (n)	Study type	Study objective	Correlation of PENK with kidney function indicator		CKD population included in the study	PENK as a functional biomarker in CKD
				Parameter tested	Outcome		
Kieneker et al. [23]	Kidney transplant recipients (664)	Prospective observational	To investigate PENK's association with chronic kidney injury and poor long-term outcome in kidney transplant recipients	Correlation with eGFR (CKD-EPI) and UAE	PENK was inversely correlated with eGFR ($r_s = -0.80$; $p < 0.001$) and positively with UAE ($r_s = 0.34$; $p < 0.001$)	NA	Subjects with higher PENK levels were more likely to have lower baseline eGFR and higher UAE ($p < 0.001$)
Donato et al. [4]	Patients with varying degrees of kidney dysfunction (1191): potential kidney donors (142), post kidney donors (53), patients with CKD (82), kidney transplant recipient (687), non-kidney solid organ transplant recipient (227)	Cross-sectional	1. To evaluate PENK assay's performance 2. To establish PENK reference interval in healthy individuals 3. To investigate PENK's association with mGFR	Correlation with mGFR assessed by iothalamate clearance	PENK demonstrated a significant inverse relationship with mGFR (Stand $b = -0.755$; $p < 0.001$)	n = 82	Median plasma PENK concentration was significantly higher in patients with reduced GFR of < 60 mL/min/1.73 m ² compared to concentrations observed in patients with adequate filtration rate (105 vs 60 pmol/L; $p < 0.0001$)
Mossanen et al. [27]	Patients undergoing elective cardiac surgery (107)	Prospective observational	To investigate PENK's association with the development of AKI post-surgery	NA	NA	n = 10	Baseline PENK levels were significantly elevated in CKD patients compared to those with preserved kidney function (132.5 vs 81.7 pmol/L; $p < 0.001$)
Kanagala et al. [13]	HFpEF (522)	Prospective observational	To assess the prognostic utility of PENK in predicting mortality or HF rehospitalization	Correlation with eGFR	PENK showed a significant inverse relationship with eGFR ($r_s = -0.741$; $p < 0.0005$)	n = 155	Patients classified in the highest PENK tertile (> 111.6 pmol/L) had highest prevalence of CKD ($p < 0.0005$)

Table 1 (continued)

Authors	Study population (n)	Study type	Study objective	Correlation of PENK with kidney function indicator		CKD population included in the study	PENK as a functional biomarker in CKD
				Parameter tested	Outcome		
Matsue et al. [19]	HFREF (95)	Prospective observational	To investigate PENK's association with kidney function indicators	Correlation with mGFR assessed with ^{125}I -iothalamate clearance and RBF assessed with ^{131}I -Hippuran clearance	PENK was associated with both mGFR (stand $b = -0.71$; $p < 0.001$) and RBF (stand $b = -0.66$; $p < 0.001$); PENK showed a significant inverse relationship with mGFR (Stand $b = -0.377$; $p = 0.002$)	NA	Patients classified in the highest PENK tertile ($> 102.5 \text{ pmol/L}$) had significantly lower mGFR values ($p < 0.001$)
Gryczuk et al. [28]	ESKD (88)	Cross-sectional	1. To investigate PENK's association with kidney function indicators 2. To assess PENK concentrations pre- and postdialysis	Correlation with eGFR (CKD-EPI)	No correlation was found between PENK levels and eGFR ($p = 0.922$)	$n = 88$	No correlation was found between PENK levels and eGFR ($p = 0.922$) Table 2)
Hollinger et al. [7]	Patients admitted to the intensive care unit with sepsis or septic shock (583)	Prospective observational	To investigate penkid's predictive value in detecting major adverse kidney events (MAKES), AKI, worsening kidney function, and 28-day mortality	NA	NA	$n = 76$	Patients with CKD showed significantly higher penkid concentrations at admission (median 206, IQR = 135–318, vs. median 74, IQR = 48–133, pmol/L , $p < 0.0001$)
Emmens et al. [15]	A community-based, middle-aged cohort (6677)	Prospective observational	To investigate whether plasma PENK concentrations are associated with new-onset HF in the general population	Correlation with KDIGO eGFR and albuminuria categories	PENK concentrations increased over ascending KDIGO eGFR categories (G1–G5) in all albuminuria categories (all $p < 0.001$); lower eGFR was the strongest independent correlate of higher log-transformed PENK (Stand $b = -0.379$; $p < 0.001$)	$n = 205$	Subjects with KDIGO G3 category or higher (eGFR $< 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$) had significantly higher PENK concentrations (p for trend < 0.001)

Table 1 (continued)

Proenkephalin, CKD chronic kidney disease, eGFR estimated glomerular filtration rate, CKD-EPI Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, UAE urinary albumin excretion, NA not applicable, mGFR measured glomerular filtration rate, Stand b Standardized Beta, AKI acute kidney injury, HFpEF heart failure with preserved ejection fraction, HFrrEF heart failure with reduced ejection fraction, RBF renal blood flow

liberation (subdistribution hazard ratio (sHR) 2.35, 95% CI 1.45–3.81, $p < 0.001$), however daily urinary output proved to be a stronger predictor of outcome [29]. In a small study of 57 patients undergoing liver transplantation, Proenkephalin, creatinine, and cystatin C were assessed before and 48 h post-transplantation. Lima et al. reported that 50 out of 57 patients developed AKI, and 23 required KRT. Notably, Proenkephalin detected AKI 48 h earlier than serum creatinine [30]. In addition, during the postoperative period, Proenkephalin was the only independent predictor of severe AKI (odds ratio (OR) 1.02 (CI 1.00–1.04), $p = 0.01$), and alongside water balance and urine output, an independent predictor of the need for KRT. However, no correlation analyses between markers were provided [30]. On the other hand, there is still insufficient evidence regarding the optimal timing for KRT liberation. In a recent study of 61 patients undergoing cardiac surgery for a cardiopulmonary bypass with postoperative AKI, 20 patients experienced AKI progression requiring KRT in the form of continuous kidney replacement therapy [31]. Proenkephalin levels were measured at AKI diagnosis, as well as at the time of KRT initiation and liberation [31]. This study suggested that Proenkephalin may have the potential to predict successful KRT liberation [31].

Kidney failure

While only one study explored Proenkephalin levels in patients requiring dialysis therapy [28], previous studies have shown that the concentration of met-enkephalin is increased in individuals undergoing hemodialysis [32–34]. Among 28 patients treated with hemodialysis, met-enkephalin levels were observed to be fourfold higher than those in healthy controls and showed a significant reduction after both hemodialysis and hemofiltration (86 ± 21 vs. 74 ± 22 pg/ml; 8 ± 28 vs. 71 ± 25 pg/ml, respectively, $p < 0.02$). [32]. In contrast, leu-enkephalin concentrations were suppressed in subjects with ESKD and remained unchanged after dialysis [32]. Similar results were presented in a cohort of uremic patients, where leu-enkephalin levels were elevated compared to controls and did not significantly decrease after hemodialysis [35]. In another study exploring the link between endogenous opioid peptides and chronic pruritus in kidney failure, the serum concentration of met-enkephalin was significantly higher in the dialysis group with pruritus compared to the control group (75.98 ± 65.48 ng/mL vs. 48.06 ± 92.09 ng/mL, $p = 0.009$), but no significant difference was observed in leu-enkephalin levels [33]. Since Proenkephalin is a precursor protein, its concentration is expected to reflect the enkephalin levels [2, 4]. Thus, it can be assumed that in kidney failure, similar changes in Proenkephalin concentration might occur, however, no confirmation of this hypothesis has been provided so far. Our study examined Proenkephalin in

88 patients treated with hemodialysis ($n=66$) or peritoneal dialysis ($n=22$) [28]. We found that Proenkephalin concentrations were significantly lower before hemodialysis than after the procedure (1.368 vs. 2.061 ng/ml; $p=0.003$) [28]. This finding suggests that Proenkephalin is not effectively removed by hemodialysis membranes, and the observed increase in concentration post-dialysis could be attributed to fluid removal exceeding the molecule's elimination during the procedure [28]. This may explain why, in our study, higher Proenkephalin concentrations were observed in patients dialyzed with low-flux dialyzers, which have smaller pores and diminished capacity to remove middle-sized uremic toxins [28]. It could also be hypothesized that Proenkephalin binds to a protein, which may impede its transport across the membranes. However, further investigations are required to establish Proenkephalin levels in the dialysate or confirm the albumin binding.

Proenkephalin in kidney transplant recipients

In a previously cited study of 664 kidney transplant recipients, plasma Proenkephalin concentration predicted graft failure defined as a return to dialysis therapy or retransplantation over a median follow-up period of 3.1 years ($HR=2.36$; 95% CI 1.37–4.06) [23]. Importantly, this association was independent of eGFR, urinary albumin excretion, and other factors potentially influencing kidney function [23]. Although these results warrant further confirmation, the study suggests that Proenkephalin may offer additional value in identifying kidney transplant recipients at higher risk of graft failure.

Conclusions

Although Proenkephalin has emerged as a promising biomarker both reflecting kidney function and predicting AKI and adverse clinical outcomes, its utility in individuals with chronic kidney diseases remains uncertain.

Proenkephalin has demonstrated correlations with both estimated and measured GFR and may provide a more accurate reflection of glomerular filtration rate than creatinine [4, 11, 12]. A recently developed Proenkephalin-creatinine equation, validated in a cohort with varying degrees of kidney function, outperformed conventional creatinine-based equations, highlighting its potential for implementation as a clinical tool [12]. However, the extent to which Proenkephalin concentrations are influenced by confounding factors, including kidney function, remains

unclear, as studies involving patients with CKD are limited and yield inconsistent findings regarding the correlation between Proenkephalin levels and GFR [4, 23, 27, 28]. Moreover, evidence suggests that Proenkephalin levels may increase in response to cardiac injury, both in acute and chronic heart failure [19, 26], as well as in cognitive impairment [27]. These conditions, common in the CKD population, raise concerns about the potentially diminished utility of Proenkephalin as a functional biomarker in patients with multiple comorbidities. Notably, no studies to date have confirmed the clearance of Proenkephalin through the kidneys, which could provide insight into the mechanisms underlying its elevation in kidney diseases.

Furthermore, Proenkephalin has been proposed as a biomarker predictive of AKI, adverse clinical outcomes, and the risk of GFR decline and incident CKD [7, 11, 16, 19, 21, 22, 26]. While recent studies investigating Proenkephalin have primarily focused on its role in detecting and monitoring AKI in critically ill patients, such as those with sepsis or acute heart failure [7, 11, 16, 19], data on its accuracy in individuals with chronic kidney diseases are lacking. Given the high risk of acute-on-chronic kidney injury in CKD patients, future studies should include this population to evaluate Proenkephalin's performance across different stages of kidney dysfunction. Current evidence has yielded inconsistent results, suggesting a potentially reduced predictive value of Proenkephalin in patients with impaired kidney function, e.g. in terms of AKI detection [7, 17, 27]. Also, given the mixed results of the previous research, the association between Proenkephalin and CKD, eGFR decline, and albuminuria needs to be clarified to determine whether Proenkephalin could serve as a biomarker for identifying subjects at risk of developing CKD.

Additionally, prospective studies should investigate the role of Proenkephalin in monitoring kidney function in individuals with CKD undergoing dialysis, as this population has been largely excluded from previous studies. It has been suggested that Proenkephalin might not be removed by hemodialysis membranes, which could limit its accuracy as a biomarker in this setting [28]. Therefore, determining Proenkephalin concentrations in the dialysate and conducting albumin-binding studies could help establish whether Proenkephalin may serve as a biomarker for monitoring kidney function during kidney replacement therapy. Since recent data suggest that Proenkephalin may be associated with the risk of graft failure, future research among kidney transplant recipients would also be of interest [23].

Funding No funding.

Data availability Not applicable.

Declarations

Conflict of interest The authors have no competing interests to declare that are relevant to the content of this article.

Ethical approval Not applicable.

Human and animal rights Not applicable.

Informed consent Not applicable.

References

- Bufkin KB, Karim ZA, Silva J (2024) Review of the limitations of current biomarkers in acute kidney injury clinical practices. *SAGE Open Med* 12:20503121241228450. <https://doi.org/10.1177/20503121241228450>
- Beunders R, Struck J, Wu AHB et al (2017) Proenkephalin (PENK) as a novel biomarker for kidney function. *J Appl Lab Med* 2:400–412. <https://doi.org/10.1373/jalm.2017.023598>
- Kosterlitz HW, Hughes J (1975) Some thoughts on the significance of enkephalin, the endogenous ligand. *Life Sci* 17:91–96. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(75\)90243-X](https://doi.org/10.1016/0024-3205(75)90243-X)
- Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC et al (2018) Analytical performance of an immunoassay to measure Proenkephalin. *Clin Biochem* 58:72–77. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.05.010>
- Ernst A, Köhrle J, Bergmann A (2006) Proenkephalin A 119–159, a stable Proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides* 27:1835–1840. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2006.03.008>
- Rosenqvist M, Bronton K, Hartmann O et al (2019) Proenkephalin a 119–159 (penKid)—a novel biomarker for acute kidney injury in sepsis: an observational study. *BMC Emerg Med* 19:75. <https://doi.org/10.1186/s12873-019-0283-9>
- Hollinger A, Wittebole X, François B et al (2018) Proenkephalin A 119–159 (Penkid) Is an Early Biomarker of Septic Acute Kidney Injury: The Kidney in Sepsis and Septic Shock (Kid-SSS) Study. *Kidney International Reports* 3:1424–1433. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2018.08.006>
- Cullen JM, Cascella M (2024) Physiology, Enkephalin. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
- Denning GM, Ackermann LW, Barna TJ et al (2008) Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides* 29:83–92. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.11.004>
- Sezen SF, Kenigs VA, Kapusta DR (1998) Renal excretory responses produced by the delta opioid agonist, BW373U86, in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther* 287:238–245
- Beunders R, van Groenendael R, Leijte GP et al (2020) Proenkephalin compared to conventional methods to assess kidney function in critically ill sepsis patients. *Shock* 54:308–314. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001510>
- Beunders R, Donato LJ, Van Groenendael R et al (2023) Assessing GFR With Proenkephalin. *Kidney Int Rep* 8:2345–2355. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2023.08.006>
- Kanagala P, Squire IB, On behalf of the GREAT (Global REsearch on Acute Conditions Team) Network et al (2019) Proenkephalin and prognosis in heart failure with preserved ejection fraction: a GREAT network study. *Clin Res Cardiol* 108:940–949. <https://doi.org/10.1007/s00392-019-01424-y>
- Marino R, Struck J, Hartmann O et al (2015) Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency department. *J Nephrol* 28:717–724. <https://doi.org/10.1007/s40620-014-0163-z>
- Emmens JE, Maaten JM, Brouwers FP et al (2021) Proenkephalin and the risk of new-onset heart failure: data from prevention of renal and vascular end-stage disease. *Clin Cardiol* 44:1662–1672. <https://doi.org/10.1002/clc.23729>
- Kim H, Hur M, Struck J et al (2020) Proenkephalin predicts organ failure, renal replacement therapy, and mortality in patients with sepsis. *Ann Lab Med* 40:466–473. <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.6.466>
- Breidhardt T, Jaeger C, Christ A et al (2018) Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* 48:e12999. <https://doi.org/10.1111/eci.12999>
- Ng LL, Squire IB, Jones DJL et al (2017) Proenkephalin, renal dysfunction, and prognosis in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol* 69:56–69. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.10.038>
- Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J et al (2017) Clinical correlates and prognostic value of Proenkephalin in acute and chronic heart failure. *J Cardiac Fail* 23:231–239. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2016.09.007>
- Molvin J, Jujic A, Navarin S et al (2019) Bioactive adrenomedullin, Proenkephalin A and clinical outcomes in an acute heart failure setting. *Open Heart* 6:e001048. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2019-001048>
- Bullen AL, Katz R, Poursadrolah S et al (2024) Plasma Proenkephalin A and incident chronic kidney disease and albuminuria in the REasons for Geographic And Racial Differences in Stroke (REGARDS) cohort. *BMC Nephrol* 25:16. <https://doi.org/10.1186/s12882-023-03432-7>
- Kieneker LM, Hartmann O, Bergmann A et al (2018) Proenkephalin and risk of developing chronic kidney disease: the prevention of renal and vascular end-stage disease study. *Biomarkers* 23:474–482. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1443514>
- Kieneker LM, Hartmann O, Struck J et al (2017) Plasma Proenkephalin and poor long-term outcome in renal transplant recipients. *Transpl Direct* 3:e190. <https://doi.org/10.1097/TXD.0000000000000700>
- Nilsson C, Christensson A, Nilsson PM et al (2021) Pro-Enkephalin and its association with renal function in Middle Eastern immigrants and native Swedes. *Scand J Clin Lab Invest* 81:573–578. <https://doi.org/10.1080/00365513.2021.1979243>
- Smeets NJL, Hartmann O, Schulte J et al (2023) Proenkephalin A as a marker for glomerular filtration rate in critically ill children: validation against gold standard iohexol GFR measurements. *Clin Chem Lab Med* 61:104–111. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0545>
- Schulz C-A, Christensson A, Ericson U et al (2017) High level of fasting plasma Proenkephalin-A predicts deterioration of kidney function and incidence of CKD. *JASN* 28:291–303. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015101177>
- Mossanen J, Pracht J, Jansen T et al (2017) Elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor and Proenkephalin serum levels predict the development of acute kidney injury after cardiac surgery. *IJMS* 18:1662. <https://doi.org/10.3390/ijms18081662>
- Grycuk W, Jakubowska Z, Małyszko J (2023) Proenkephalin levels and its determinants in patients with end-stage kidney disease treated with hemodialysis and peritoneal dialysis. *IJMS* 24:15015. <https://doi.org/10.3390/ijms241915015>
- Von Groote T, Albert F, Meersch M et al (2023) Evaluation of Proenkephalin A 119–159 for liberation from renal replacement therapy: an external, multicenter pilot study in critically ill patients with acute kidney injury. *Crit Care* 27:276. <https://doi.org/10.1186/s13054-023-04556-w>

7. Podsumowanie

Proenkefalina zyskała w ostatnich latach zainteresowanie jako obiecujący wskaźnik odzwierciedlający czynność nerek oraz biomarker predykcyjny, umożliwiający wczesne wykrywanie ostrego uszkodzenia nerek i prognozowanie niekorzystnych wyników klinicznych. W badaniach wykazano korelacje pomiędzy stężeniem proenkefaliny a wielkością przesączania kłębuszkowego, a także jej potencjalną wyższość diagnostyczną nad klasycznymi markerami, takimi jak kreatynina. Na tej podstawie zaproponowano również nowy wzór służący do szacowania wielkości GFR, uwzględniający stężenie kreatyniny, który wstępnie wykazał lepszą precyzję w porównaniu z dotychczasowymi równaniami opartymi wyłącznie na kreatyninie. Pomimo obiecujących danych pochodzących z badań przeprowadzonych w populacjach z zachowaną funkcją nerek, przydatność proenkefaliny w grupie pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, zwłaszcza w jej schyłkowym stadium, pozostaje niejasna.

Praca oryginalna stanowi pierwsze badanie oceniające proenkefalinę w populacji pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych nerkozastępczo metodą hemodializy oraz dializy otrzewnowej. Badanie nie wykazało istotnej korelacji pomiędzy stężeniem proenkefaliny a tradycyjnymi wskaźnikami, takimi jak eGFR, kreatynina, mocznik czy objętość diurezy resztkowej. Co istotne, w badanej populacji zaobserwowano wzrost stężenia proenkefaliny po zakończeniu sesji hemodializy. Ponadto stężenia były istotnie wyższe w grupie pacjentów leczonych przy użyciu dializatorów typu low-flux, cechujących się ograniczoną zdolnością usuwania substancji o średniej masie cząsteczkowej, do których zaliczana jest proenkefalina. Obserwacje te budzą wątpliwości co do skuteczności usuwania tej cząsteczki przez błony dializacyjne i sugerują konieczność dalszych badań w celu określenia mechanizmów eliminacji proenkefaliny przez nerki oraz przez błony dializacyjne. Brak danych potwierdzających usuwanie proenkefaliny przez błony dializacyjne podczas hemodializy dodatkowo podważa jej użyteczność jako biomarkera stosowanego rutynowo do monitorowania czynności nerek w ostrym uszkodzeniu nerek. U pacjentów z AKI istnieje ryzyko gwałtownego pogorszenia funkcji nerek i konieczności wdrożenia leczenia nerkozastępczego. Dlatego biomarker, którego celem jest poprawa wczesnego wykrywania AKI i ocena GFR w tej grupie pacjentów, powinien umożliwiać także monitorowanie czynności nerek w trakcie hemodializy. Ograniczeniami badania była stosunkowo niewielka liczba pacjentów (n=88) oraz znaczna heterogenność grupy w zakresie m.in. diurezy resztkowej i chorób współistniejących, które to czynniki mogą wpływać na stężenia proenkefaliny. Mimo to, uzyskane wyniki rzucają nowe

światło na złożoną biologię proenkefaliny u pacjentów z zaawansowaną chorobą nerek i podkreślają potrzebę dalszych analiz w tym zakresie.

W drugiej publikacji dokonano przeglądu dostępnych badań nad proenkefalina, koncentrując się na populacji pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. Na podstawie dostępnej literatury nie można jednoznacznie rozstrzygnąć czy proenkefalina zachowuje wartość diagnostyczną w tej grupie chorych. Niektóre badania wskazują na zmniejszoną wartość predykcyjną proenkefaliny w wykrywaniu AKI w przypadku CKD [30]. W innych kohortach np. pacjentów poddawanych operacjom kardiochirurgicznym, korelację pomiędzy podwyższonym stężeniem proenkefaliny przed operacją a wystąpieniem AKI wykrywano wyłącznie przed wykluczeniem pacjentów z CKD z badania, co może wynikać z faktu, że podwyższone stężenia markera stanowią odzwierciedlenie CKD, a nie ostrego uszkodzenia [31]. Na uwagę zasługuje fakt, że artykuł stanowi pierwsze, usystematyzowane zestawienie danych na temat proenkefaliny w tej grupie pacjentów.

Podsumowując, uzyskane dane mogą podważać przydatność proenkefaliny jako markera funkcjonalnego czynności nerek w CKD i ESKD, zwłaszcza u pacjentów leczonych metodą hemodializ. Idealny biomarker do monitorowania czynności nerek powinien charakteryzować się wysoką wiarygodnością niezależnie od poziomu dysfunkcji nerek i obecności chorób współistniejących. Brak dowodów na klirens nerkowy markera i skuteczne usuwanie peptydu drogą hemodializy oraz brak korelacji z klasycznymi markerami wskazują, że proenkefalina może nie spełniać kryteriów wiarygodnego biomarkera w tej populacji.

Z tego względu niezbędne są dalsze badania oceniające przydatność proenkefaliny jako wskaźnika dysfunkcji nerek w różnych populacjach klinicznych, w tym u pacjentów poddawanych dializoterapii oraz obciążonych innymi chorobami towarzyszącymi, takimi jak niewydolność serca.

8. Wnioski

- 1) Stężenie proenkefaliny nie wykazuje istotnej korelacji z klasycznymi wskaźnikami funkcji nerek u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek.
- 2) Proenkefalina nie jest usuwana przez błony dializacyjne, co podważa jej przydatność jako biomarkera do monitorowania czynności nerek u pacjentów leczonych metodą hemodializ.
- 3) Dostępne dane na temat przydatności proenkefaliny w przewlekłej chorobie nerek są ograniczone i wskazują na możliwą ograniczoną wartość diagnostyczną proenkefaliny w tej populacji, zwłaszcza w zakresie predykcji wystąpienia ostrego uszkodzenia nerek.
- 4) Konieczne są badania w celu określenia mechanizmów eliminacji proenkefaliny przez nerki oraz przez błony dializacyjne podczas hemodializy.
- 5) Zastosowanie proenkefaliny jako biomarkera funkcji nerek w rutynowej praktyce klinicznej wymaga walidacji w bardziej zróżnicowanych populacjach pacjentów, obejmujących osoby z różnym stopniem niewydolności nerek, leczone nerkozastępczo oraz obciążone chorobami współistniejącymi.

9. Piśmiennictwo

1. Kosterlitz HW, Hughes J (1975) Some thoughts on the significance of enkephalin, the endogenous ligand. *Life Sciences* 17:91–96. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(75\)90243-X](https://doi.org/10.1016/0024-3205(75)90243-X)
2. Ernst A, Köhrle J, Bergmann A (2006) Proenkephalin A 119–159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides* 27:1835–1840. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2006.03.008>
3. Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, et al (2018) Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clinical Biochemistry* 58:72–77. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.05.010>
4. Denning GM, Ackermann LW, Barna TJ, et al (2008) Proenkephalin expression and enkephalin release are widely observed in non-neuronal tissues. *Peptides* 29:83–92. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.11.004>
5. Henry MS, Gendron L, Tremblay M-E, Drolet G (2017) Enkephalins: Endogenous Analgesics with an Emerging Role in Stress Resilience. *Neural Plasticity* 2017:1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/1546125>
6. Higginbotham JA, Markovic T, Massaly N, Morón JA (2022) Endogenous opioid systems alterations in pain and opioid use disorder. *Front Syst Neurosci* 16:1014768. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2022.1014768>
7. Sezen SF, Kenigs VA, Kapusta DR (1998). *J Pharmacol Exp Ther* 287:238–245
8. Grossman A (1980) INHIBITION OF VASOPRESSIN RELEASE IN MAN BY AN OPIATE PEPTIDE. *The Lancet* 316:1108–1110. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(80\)92542-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(80)92542-8)
9. Grycuk W, Jakubowska Z, Małyszko J (2025) Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander? *J Nephrol*. <https://doi.org/10.1007/s40620-025-02268-8>
10. Ferguson MA, Waikar SS (2012) Established and Emerging Markers of Kidney Function. *Clinical Chemistry* 58:680–689. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.167494>
11. Levey AS, Coresh J, Greene T, et al (2007) Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate with Standardized Serum Creatinine Values. *Clinical Chemistry* 53:766–772. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.077180>
12. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al (2009) A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med* 150:604–612. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006>

-
13. Inker LA, Eneanya ND, Coresh J, et al (2021) New Creatinine- and Cystatin C–Based Equations to Estimate GFR without Race. *N Engl J Med* 385:1737–1749.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2102953>
 14. Bufkin KB, Karim ZA, Silva J (2024) Review of the limitations of current biomarkers in acute kidney injury clinical practices. *SAGE Open Medicine* 12:20503121241228446.
<https://doi.org/10.1177/20503121241228446>
 15. Yang H, Chen Y, He J, et al (2025) Advances in the diagnosis of early biomarkers for acute kidney injury: a literature review. *BMC Nephrol* 26:115.
<https://doi.org/10.1186/s12882-025-04040-3>
 16. Beunders R, Donato LJ, Van Groenendael R, et al (2023) Assessing GFR With Proenkephalin. *Kidney International Reports* 8:2345–2355.
<https://doi.org/10.1016/j.ekir.2023.08.006>
 17. Beunders R, van Groenendael R, Leijte GP, et al (2020) Proenkephalin Compared to Conventional Methods to Assess Kidney Function in Critically Ill Sepsis Patients. *Shock* 54:308–314. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001510>
 18. Marino R, Struck J, Hartmann O, et al (2015) Diagnostic and short-term prognostic utility of plasma pro-enkephalin (pro-ENK) for acute kidney injury in patients admitted with sepsis in the emergency department. *J Nephrol* 28:717–724. <https://doi.org/10.1007/s40620-014-0163-z>
 19. On behalf of the GREAT (Global REsearch on Acute Conditions Team) Network, Kanagala P, Squire IB, et al (2019) Proenkephalin and prognosis in heart failure with preserved ejection fraction: a GREAT network study. *Clin Res Cardiol* 108:940–949.
<https://doi.org/10.1007/s00392-019-01424-y>
 20. Beunders R, Struck J, Wu AHB, et al (2017) Proenkephalin (PENK) as a Novel Biomarker for Kidney Function. *The Journal of Applied Laboratory Medicine* 2:400–412.
<https://doi.org/10.1373/jalm.2017.023598>
 21. Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, et al (2017) Plasma Proenkephalin and Poor Long-Term Outcome in Renal Transplant Recipients. *Transplantation Direct* 3:e190.
<https://doi.org/10.1097/TXD.0000000000000700>
 22. Matsue Y, Ter Maaten JM, Struck J, et al (2017) Clinical Correlates and Prognostic Value of Proenkephalin in Acute and Chronic Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure* 23:231–239. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2016.09.007>
 23. Schulz C-A, Christensson A, Ericson U, et al (2017) High Level of Fasting Plasma Proenkephalin-A Predicts Deterioration of Kidney Function and Incidence of CKD. *JASN* 28:291–303. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015101177>

-
24. Ng LL, Squire IB, Jones DJL, et al (2017) Proenkephalin, Renal Dysfunction, and Prognosis in Patients With Acute Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology* 69:56–69. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.10.038>
 25. Arbit B, Marston N, Shah K, et al (2016) Prognostic Usefulness of Proenkephalin in Stable Ambulatory Patients With Heart Failure. *The American Journal of Cardiology* 117:1310–1314. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.01.042>
 26. Donato LJ, Meeusen JW, Lieske JC, et al (2018) Analytical performance of an immunoassay to measure proenkephalin. *Clinical Biochemistry* 58:72–77. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.05.010>
 27. Kieneker LM, Hartmann O, Bergmann A, et al (2018) Proenkephalin and risk of developing chronic kidney disease: the Prevention of Renal and Vascular End-stage Disease study. *Biomarkers* 23:474–482. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1443514>
 28. Delgado C, Baweja M, Crews DC, et al (2021) A Unifying Approach for GFR Estimation: Recommendations of the NKF-ASN Task Force on Reassessing the Inclusion of Race in Diagnosing Kidney Disease. *JASN* 32:2994–3015. <https://doi.org/10.1681/ASN.2021070988>
 29. Emmens JE, ter Maaten JM, Damman K, et al (2019) Proenkephalin, an Opioid System Surrogate, as a Novel Comprehensive Renal Marker in Heart Failure. *Circ: Heart Failure* 12:e005544. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005544>
 30. Breidthardt T, Jaeger C, Christ A, et al (2018) Proenkephalin for the early detection of acute kidney injury in hospitalized patients with chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* 48:e12999. <https://doi.org/10.1111/eci.12999>
 31. Mossanen J, Pracht J, Jansen T, et al (2017) Elevated Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor and Proenkephalin Serum Levels Predict the Development of Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery. *IJMS* 18:1662. <https://doi.org/10.3390/ijms18081662>
 32. Shah KS, Taub P, Patel M, et al (2015) Proenkephalin predicts acute kidney injury in cardiac surgery patients. *CN* 83 (2015):29–35. <https://doi.org/10.5414/CN108387>
 33. Caironi P, Latini R, Struck J, et al (2018) Circulating Proenkephalin, Acute Kidney Injury, and Its Improvement in Patients with Severe Sepsis or Shock. *Clinical Chemistry* 64:1361–1369. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.288068>
 34. Rosenqvist M, Bronton K, Hartmann O, et al (2019) Proenkephalin a 119–159 (penKid) – a novel biomarker for acute kidney injury in sepsis: an observational study. *BMC Emerg Med* 19:75. <https://doi.org/10.1186/s12873-019-0283-9>
 35. Kim H, Hur M, Struck J, et al (2020) Proenkephalin Predicts Organ Failure, Renal Replacement Therapy, and Mortality in Patients With Sepsis. *Ann Lab Med* 40:466–473.

<https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.6.466>

36. Kieneker LM, Hartmann O, Struck J, et al (2017) Plasma Proenkephalin and Poor Long-Term Outcome in Renal Transplant Recipients. *Transplantation Direct* 3:e190.

<https://doi.org/10.1097/TXD.0000000000000700>

10. Opinia Komisji Bioetycznej lub Etycznej



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/...../2021

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym
w dniu 06 września 2021 r. po zapoznaniu się z wnioskiem:

Prof. dr hab. n. med. Jolanta Małyszko
Katedra i Klinika Nefrologii, Dializoterapii
i Chorób Wewnętrznych,
ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa

dotyczącym: wyrażenia opinii w sprawie badania pt.: "Badanie stężenia proenkefaliny u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek hemodializowanych i dializowanych otrzewnowo."

- Badanie może być prowadzone wyłącznie w okresie obowiązywania polisy ubezpieczeniowej.

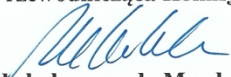
**wyraża następującą
opinię**

- 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 MZiOŚ 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 .

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej


Prof. dr hab. n. med. Magdalena Kuźma-Kozakiewicz

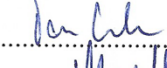
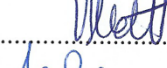
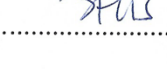
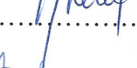
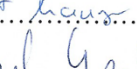
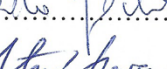
*niepotrzebne skreślić

Komisja wyraża pozytywną opinię w sprawie przeprowadzenia wnioskowanych badań- na warunkach określonych we wniosku oraz dodatkowo zastrzegając:

1/ obowiązek przedstawienia Komisji:

- wszystkich zmian w protokole mających wpływ na przebieg oraz ocenę badania,
- wszystkich przypadków zdarzeń niepożądanych,
- zawiadomienia o przyczynach przedwczesnego zakończenia badania,
- sprawozdania w toku przeprowadzonych badań-za sześć miesięcy,
- raportu końcowego.

**strona podpisowa do uchwały Komisji Bioetycznej przy Warszawskim
Uniwersytecie Medycznym nr KB/.....¹³¹..... z dnia 06 września 2021r.**

- | | |
|--|---|
| 1. Prof. dr hab. n.med. Magdalena Kuźma –Kozakiewicz |  |
| 2. Dr hab. n. med. Tomasz Grzela |  |
| 3. Dr hab. n. med. Andrea Horvath-Stolarczyk |  |
| 4. Dr hab. n. med. Urszula Ambroziak |  |
| 5. Dr hab. n.med. Maciej Siński |  |
| 6. Dr hab. n. farm. Sylwia Flis |  |
| 7. Prof. dr hab.n.med Tomasz Jakimowicz | |
| 8. Dr n. med. Leszek Kraj |  |
| 9. Mec. Danuta Lewandowska |  |
| 10. Dr n .farm. Agata Maciejczyk |  |
| 11. Dr hab. n.med. Barbara Grzechocińska |  |
| 12. Dr n. med. Artur Hącia OP |  |
| 13. Mgr Anna Jasińska |  |

11. Oświadczenia współautorów publikacji

Warszawa, dn. 02.06.2025

prof. dr hab. n. med. Jolanta Małyszko

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. **„Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis”** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: *współtworzenie koncepcji pracy, opracowanie metodyki badań, nadzór naukowy, nadzór nad realizacją badania, współudział w tworzeniu ostatecznej wersji manuskryptu, ocena merytoryczna pracy*. Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako **25 %**.

Wkład współautorki lek. Wiktorii Grycuk w powstawanie publikacji określám jako **50 %**, obejmował on: *współtworzenie koncepcji pracy, pozyskanie środków na realizację badań, opracowanie metodyki badań, gromadzenie materiału do badań, gromadzenie danych do analizy statycznej, opracowanie statystyczne danych, interpretację wyników, współudział w pisaniu wszystkich części publikacji, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu*.

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek Wiktorii Grycuk.

Podpisany elektronicznie przez
Jolanta Małyszko
06.06.2025
8:12:30 +02'00'
(podpis elektroniczny)

Warszawa, dn. 02.06.2025

prof. dr hab. n. med. Jolanta Małyszko

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie pracy w formie publikacji stanowi: *przegląd piśmiennictwa, współtworzenie koncepcji pracy, nadzór naukowy, współudział w pisaniu wszystkich części publikacji, współudział w tworzeniu ostatecznej wersji manuskryptu.*

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako **20 %**.

Wkład współautorki lek. Wiktorii Grycuk w powstawanie publikacji określám jako **60 %**, obejmował on: *przegląd piśmiennictwa, współtworzenie koncepcji pracy, współudział w pisaniu wszystkich części publikacji, współudział w tworzeniu ostatecznej wersji manuskryptu.*

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek Wiktorii Grycuk.

Podpisany elektronicznie przez
Jolanta Małyszko
06.06.2025
8:14:03 +02'00'
(podpis oświadczającego)

Warszawa, dn. 02.06.2025

dr n. med. Zuzanna Jakubowska

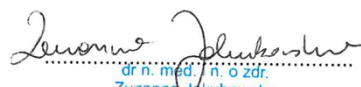
OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Proenkephalin Levels and Its Determinants in Patients with End-Stage Kidney Disease Treated with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: *współtworzenie koncepcji pracy, gromadzenie materiału do badań, gromadzenie danych do analizy statystycznej, współudział w tworzeniu ostatecznej wersji manuskryptu.*

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako **25 %**.

Wkład współautorki lek. Wiktorii Grycuk w powstawanie publikacji określam jako **50 %**, obejmował on: *współtworzenie koncepcji pracy, pozyskanie środków na realizację badań, opracowanie metodyki badań, gromadzenie materiału do badań, gromadzenie danych do analizy statystycznej, opracowanie statystyczne danych, interpretację wyników, współudział w pisaniu wszystkich części publikacji, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu.*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek Wiktorii Grycuk.


dr n. med. / n. o zdr.
Zuzanna Jakubowska
(podpis oświadczającego)
lek.12
2702415

Warszawa, dn. 02.06.2025

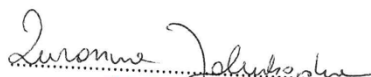
dr n. med. Zuzanna Jakubowska

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „**Proenkephalin (PENK): a functional biomarker in chronic kidney diseases – hope or just a new bystander?**” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie pracy w formie publikacji stanowi: *współtworzenie koncepcji pracy, nadzór naukowy, współudział w tworzeniu ostatecznej wersji manuskryptu*.
Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako **20 %**.

Wkład współautorki lek. Wiktorii Grycuk w powstawanie publikacji określam jako **60 %**, obejmował on: *przegląd piśmiennictwa, współtworzenie koncepcji pracy, współudział w pisaniu wszystkich części publikacji, współudział w tworzeniu ostatecznej wersji manuskryptu*.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek Wiktorii Grycuk.


dr n. med. i n. o.zdr.
(podpis oświadczającego)
lek. 3782415