

# Podocyturia jako nowy marker w diagnostyce uszkodzeń ciałek nerkowych w medycynie weterynaryjnej

Barbara Szczepankiewicz<sup>1</sup>, Urszula Paślawska<sup>1,2</sup>, Piotr Sławuta<sup>1</sup>, Jan Paweł Madej<sup>3</sup>, Marcin Nowak<sup>4</sup>, Remigiusz Bąchor<sup>5</sup>, Krzysztof Marycz<sup>6</sup>, Tomasz Gębarowski<sup>7</sup>, Agnieszka Czyżewska-Buczyńska<sup>8</sup>, Zbigniew Szewczuk<sup>5</sup>

z Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu<sup>1</sup>, Centrum Weterynarii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu<sup>2</sup>, Katedry Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu<sup>3</sup>, Katedry Patologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu<sup>4</sup>, Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego<sup>5</sup>, Katedry Biologii Eksperymentalnej Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt we Wrocławiu<sup>6</sup>, Katedry i Zakładu Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej we Wrocławiu<sup>7</sup> oraz Ośrodka Badawczo Rozwojowego Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu<sup>8</sup>

## Podocyturia as a new marker in renal corpuscles damage diagnostic tests in veterinary medicine

Szczepankiewicz B.<sup>1</sup>, Paślawska U.<sup>1,2</sup>, Sławuta P.<sup>1</sup>, Madej J.P.<sup>3</sup>, Nowak M.<sup>4</sup>, Bąchor R.<sup>5</sup>, Marycz K.<sup>6</sup>, Gębarowski T.<sup>7</sup>, Czyżewska-Buczyńska A.<sup>8</sup>, Szewczuk Z.<sup>5</sup>, Department of Internal Medicine and Clinic of Diseases of Horses, Dogs and Cats, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences<sup>1</sup>, Veterinary Center of Nicolaus Copernicus University in Toruń<sup>2</sup>, Department of Biostructure and Animal Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences<sup>3</sup>, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences<sup>4</sup>, Faculty of Chemistry, University of Wrocław<sup>5</sup>, Department of Experimental Biology, Faculty of Biology and Animal Science, Wrocław University of Environmental and Life Sciences<sup>6</sup>, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Pharmacy with Division of Laboratory Diagnostics, Wrocław Medical University<sup>7</sup>, Voivodship Specialist Hospital in Wrocław<sup>8</sup>

This article aims at the presentation of podocyturia, a reliable marker of kidney diseases, that is increasingly applied to kidney diseases diagnosis, also in veterinary medicine. Podocytes are highly specialized epithelial cells of the visceral glomerular capsule. They are essential in selective plasma filtration and the formation of primary urine. The presence of an increased number of podocytes in the urine, podocyturia, may be used as a diagnostic tool for early diagnosis of renal corpuscles injury (glomerulopathy). This study presents methods for determining podocytes in urine for diagnostic purposes. The detection of podocyturia is possible due to the detection of proteins associated with podocytes, such as nephrin, podocalyxin, synaptopodin, Wilms tumor protein, glomerular epithelial protein 1, alpha actinin-4 and podocin. According to the current literature, canine podocin can be successfully detected using a commercial ELISA test (MyBioSource, San Diego, California USA). The podocin to creatinine ratio in urine (UPoC), is a reliable marker of the degree of glomerular injury that takes also into account the degree of urine concentration. Podocyturia has been demonstrated to precede proteinuria, showing that the clinical management of proteinuria cannot be considered an early intervention.

**Keywords:** podocytes, podocyturia, renal corpuscle, glomerulopathy, diagnostic.

Nerki są narządem, który posiada ogromne rezerwy czynnościowe, co sprawia, że wiele groźnych chorób nerek rozwija się przez długi czas w ukryciu (beobjawowo). Aby nie dopuścić do znacznego uszkodzenia tego bardzo ważnego dla życia narządu, trwają nieustanne poszukiwania markera wczesnego uszkodzenia nerek. Analiza podocytów uważana jest za pierwszą

nieinwazyjną metodę umożliwiającą nie tylko wczesne rozpoznanie uszkodzenia ciałek nerkowych, ale – co ważniejsze – zróżnicowanie aktywnego stadium chorób nerek od nieaktywnego ich uszkodzenia (1).

Nerki zbudowane są z jednostek funkcjonalnych – nefronów, składających się z ciałka nerkowego, kanalka proksymalnego, pętli nefronu i kanalka dystalnego. Ciało nerkowe zbudowane jest z kłębuszka naczyniowego i torebki kłębuszka. Jest miejscem wstępnej filtracji krwi, w wyniku której dochodzi do produkcji moczu pierwotnego. Bariera filtracyjna oddzielająca krew od światła torebki kłębuszka (przestrzeni moczowej) składa się z trzech warstw:

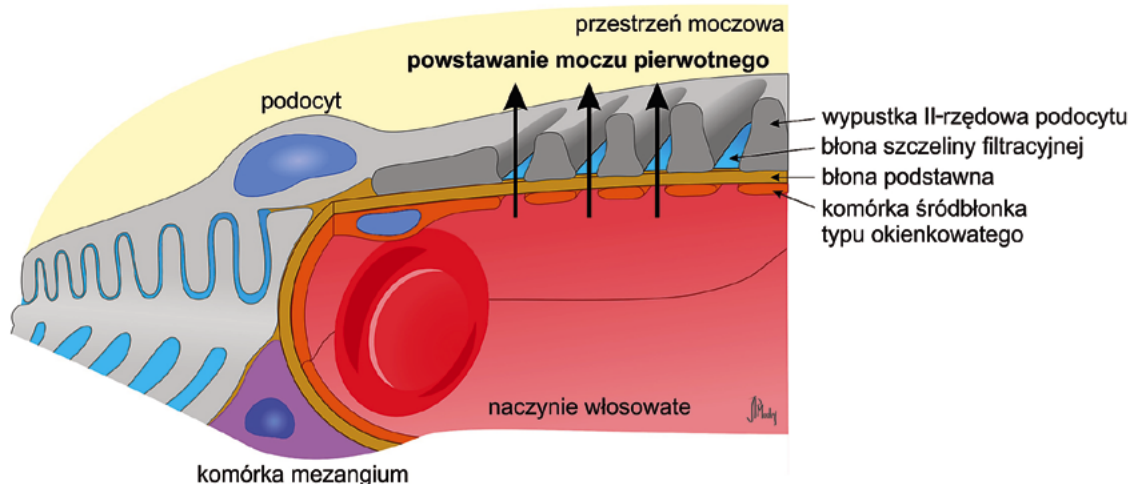
- 1) naczyń włosowatych o ścianie okienkowej,
- 2) błony podstawnej kłębuszka,
- 3) nabłonka zbudowanego z podocytów tworzących listek trzewny torebki kłębuszka (ryc. 1; 2).

Podocyty stanowią kluczowy element z punktu widzenia selektywnej filtracji osocza i produkcji moczu pierwotnego. Od ciała komórki podocyta odchodzą długie wypustki pierwszorzędowe i wypustki drugorzędowe, zwane również stopowatymi (ryc. 2). Ciało komórki i wypustki pierwszorzędowe są zawieszony w przestrzeni torebki kłębuszka, podczas gdy wypustki stopowate spoczywają na błonie podstawnej naczynia włosowatego kłębuszka, owijając się wokół niego (3).

Wielkość podocyta jest trudna do oszacowania ze względu na jego nieregularny kształt. Liczba podocytów u ludzi wynosi ok. 550 w jednym ciałku nerkowym, a liczbę ciałek nerkowych szacuje się na około 1 milion (od 0,8–1,1 miliona; 4). Wykazano, że gdy ciało nerkowe traci od 20 do 40% podocytów, tj. 100–200 podocytów, następuje jego stwardnienie (*glomerulosclerosis*; 5, 6). Jednocześnie stwierdzono, że proces zanikania tych komórek może przebiegać nierównomiernie. Badania histologiczne wskazują, że utrata podocytów powoduje powstawanie zrostów pomiędzy naczyniami i krwionośnymi kłębuszka a nabłonkiem ściennym torebki kłębuszka (7). Utrata podocytów jest nieodwracalna z uwagi na brak możliwości ich regeneracji, natomiast inne komórki ciałka nerkowego, takie jak komórki śródbłonka czy mezangium, zachowują zdolność do proliferacji i wraz z wiekiem ich liczba rośnie dwukrotnie (3).

Wypustki pierwszorzędowe podocytów posiadają dobrze rozwinięty cytoszkielek zbudowany z mikrotubuli i filamentów pośrednich, natomiast wypustki

**Ryc. 1.**  
Schemat prawidłowej bariery filtracyjnej

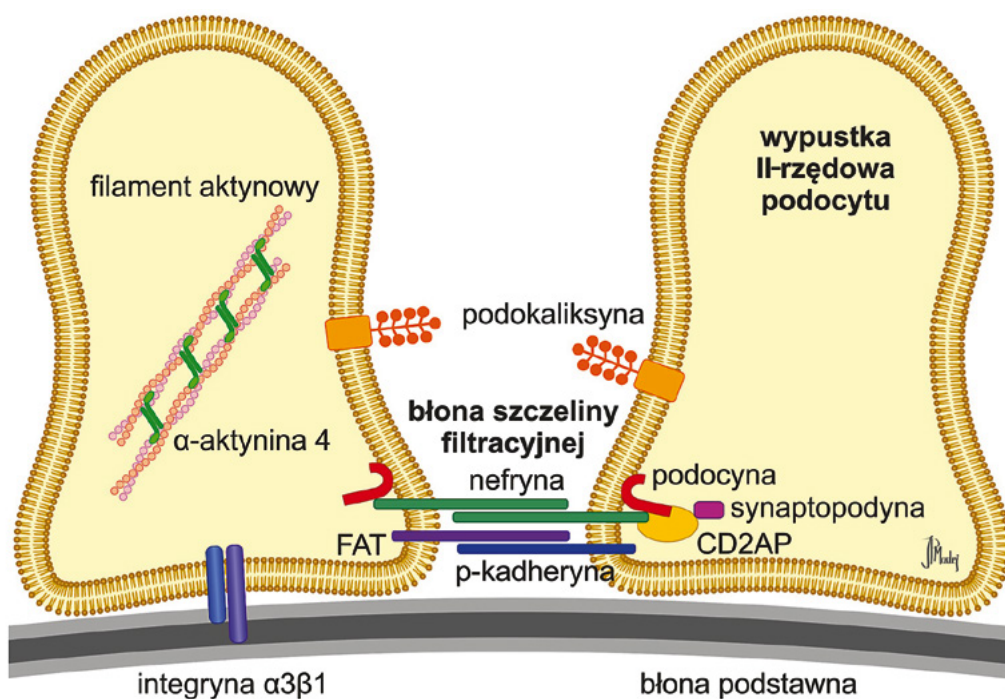


stopowate zawierają aparat kurczliwy złożony z aktyny, aktyniny, miozyny, winkuliny, wimentyny, paksyliny i taliny (8, 9). Białka te są wykorzystywane do rozpoznawania podocytów spośród innych komórek. Wypustki stopowate zazębiają się na kształt zamka błyskawicznego, gęsto oplatając naczynia włosowate. Pomiędzy nimi znajdują się szczeliny filtracyjne, przesłonięte błoną szczeliny filtracyjnej o grubości 6 nm (ryc. 1 i 3).

Błona filtracyjna umożliwia przepuszczenie wody i małych cząstek, a zatrzymywanie większych (10). Powierzchnia wypustek podocytów pokryta jest glikokaliksem, w skład którego wchodzi podokaliksyna, która – będąc silnym polianionem – zatrzymuje ujemnie naładowane cząsteczki, np. albuminy. Za prawidłową budowę wypustek stopowatych odpowiada szereg białek – oprócz wspomnianej podokaliksyny są to m.in. podoplanina, kłębuszkowe białko nabłonkowe 1, synaptopodyna oraz receptor składowej dopełniacza C3b (9). Elementy błony filtracyjnej mogą ulegać uszkodzeniu w przebiegu chorób zakaźnych, nowotworowych, procesów zapalnych, nadciśnienia tętniczego i w syndromie kardionefrologicznym (11, 12).



**Ryc. 2.** Morfologia podocytów nerki psa z ciężką endokardiozą mitralną – stadium Da według klasyfikacji ACVIM. Skaningowy mikroskop elektronowy (SEM): ciało podocytu – gwiazdka, wypustka pierwszorzędowa (strzałka) i wypustki drugorzędowe (grot strzałki) podocytu otaczającego kapilarę; oryginalne powiększenie 7000x



**Ryc. 3.**  
Budowa molekularna błony szczeliny filtracyjnej oraz wypustek drugorzędowych podocytów

Liczne doniesienia naukowe wskazują, iż podocyty mogą stać się pomocne zarówno u ludzi, jak i u zwierząt w diagnozowaniu chorób ciałek nerkowych, takich jak: amyloidoza, kłębuszkowe zapalenie nerek, stwardnienie kłębuszków nerkowych, rodzinna glomerulopatia czy nefropatie toczniowe (6, 13).

Wykrywanie podocytyrii możliwe jest dzięki detekcji białek związanych z podocytami, takich jak: podokaliksyna, nefryna, synaptopodyna, białko guza Wilmsa, kłębuszkowe białko nabłonkowe 1, alfa aktynina-4 oraz podocyna.

### Podokaliksyna (PDX)

Jest główną sialoglikoproteiną zlokalizowaną na powierzchni podocytów o masie cząsteczkowej 140kDa (14). Przez związek z mikrofilamentami aktynowymi cytoszkieletu, PDX wpływa na strukturę wypustek stopowatych, a tym samym warunkuje selektywną przepuszczalność bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego (14). Białko to ma również właściwości przeciwdhezyjne, dzięki czemu zapobiega zlepianiu się wypustek stopowatych, co warunkuje utrzymanie otwartych szczelin filtracyjnych (15). Wykorzystanie oznaczenia PDX w moczu jako markera podocytów komplikuje fakt, że część PDX może pochodzić z innych PDX-pozytywnych komórek, np. komórek nabłonka blaszki ściennej torebki kłębuszka. Ekspresję PDX stwierdzono również w płytkach krwi, megakariocytach, hemangioblastach, niektórych populacjach neuronów oraz w nowotworach piersi, prostaty, trzustki, wątroby, guzie Wilmsa oraz w nowotworach układu hemopoetycznego, takich jak białaczka (14).

### Nefryna

Jest białkiem o masie 135 kDa. Jej uwalnianie jest wczesną oznaką zaburzenia metabolizmu podocytów, poprzedzającą ich degradację i utratę z moczem (16, 17). W chorobach przebiegających z silnym białkomoczem, takich jak zespół nerczycowy, dochodzi do obniżenia ekspresji nefryny oraz jej przemieszczenia z błony komórkowej do cytoplazmy komórki (18).

### Synaptopodyna

Jest białkiem charakterystycznym dla podocytów, wchodzącym w skład cytoszkieletu tych komórek (9). Odgrywa ważną rolę w regulacji kształtu i ruchliwości wypustek stopowatych. Pojawienie się ekspresji tego białka świadczy o znacznym zaawansowaniu rozwoju cytoszkieletu, dlatego synaptopodyna jest ważnym markerem dojrzałości fenotypowej podocyta. Podobnie jak w przypadku nefryny oraz podocyny, ekspresja synaptopodyny jest wyraźnie zmniejszona w wielu glomerulopatiach (20).

### Białko guza Wilmsa (Wilms tumor protein 1 – WT1)

Jest białkiem występującym na powierzchni podocytów w bardzo wczesnym stadium rozwoju tych komórek (3). WT1 odgrywa ważną rolę w różnicowaniu komórek, natomiast w okresie postnatalnym zapewnia utrzymanie

prawidłowej czynności podocyta oraz związanej z tym prawidłowej morfologii kłębuszka. Mutacja genu *WT-1*, poza zaburzeniami w innych narządach, w nerkach powoduje sklerotyzację kłębuszka nerkowego (21). Mimo iż podczas rozwoju nerek białko to jest obecne na wielu komórkach, to jednak w dojrzałym ciałku nerkowym występuje wyłącznie na podocytach, stanowiąc charakterystyczny marker tych komórek.

### Kłębuszkowe białko nabłonkowe 1 (glomerular epithelial protein 1 – GLEPP 1)

Pełni rolę w regulacji struktury i funkcji wypustek cytoplazmatycznych podocytów. GLEPP1 jest integralnym białkiem błonowym o masie 132kDa. Znajduje się w błonie cytoplazmatycznej szczytowej powierzchni wypustek stopowatych i jest zaangażowane w regulację struktury i funkcji podocytów (22).

### Alfa aktynina-4 (ACTN4)

Jest białkiem należącym do kompleksu błony filtracyjnej, mającym zdolność wiązania aktyny (23). Odgrywa ono ważną rolę zarówno w rozluźnianiu wiązań krzyżowych filamentów aktynowych, jak również w wiązaniu cytoplazmatycznej części integryny, przez co bierze udział w adhezji wypustek stopowatych do błony podstawnej (24). Utrata genu *ACTN4* prowadzi do nasilającego się z wiekiem zaniku wypustek stopowatych podocytów (24).

### Podocyna

Jest białkiem o masie 42 kDa, które u ludzi jest kodowane przez gen *NPHS2* (25). Podocyna wiąże się z cytoplazmatyczną częścią nefryny oraz z dwoma innymi białkami: CD2AP oraz białkiem podobnym do nefryny – Neph1 (26). Ich współdziałanie umożliwia utrzymanie ważnych funkcji podocytów, takich jak: przeżycie, proliferacja, różnicowanie i budowa cytoszkieletu (9). Przemieszczenie podocyny do cytoplazmy, mające miejsce w pewnych typach chorób, takich jak nefropatia typu IgA u ludzi, wiąże się ze złym rokowaniem (27). Podocyna jest jednym z najbardziej czułych markerów redukcji współczynnika filtracji kłębuszkowej oraz jednym z najlepszych markerów podocytów (28).

Obecnie w ofercie rynkowej dostępny jest tylko jeden test wykrywający podocyty psa – test ELISA na podocynę (MyBioSource, San Diego, California USA). Test ELISA jest ceniony w praktyce klinicznej, ponieważ jest prostą i czułą metodą pozwalającą na wykrywanie poszukiwanego antygeny nie tylko w surowicy, homogenatach komórkowych czy płynach ustrojowych, lecz również w moczu (pełnym, osadzie i supernatancie; 29). Test ELISA przeznaczony do wykrywania podocyny u psów określany jest jako typ sandwich, ponieważ antygen wiązany jest pomiędzy dwiema warstwami przeciwciał. Wartość absorbancji światła pozwala na wyliczenie ilości podocyny w badanej próbce. Test charakteryzuje się dużą czułością: 31 pg/ml – 1000 pg/ml.

Z wykorzystaniem podocytów do celów diagnostycznych w medycynie weterynaryjnej wiąże się wielkie nadzieje – przede wszystkim wykrywania

aktywnych procesów patologicznych w obrębie ciała nerkowego. Uważa się, że podocyna jest jednym z najbardziej czułych markerów identyfikujących podocyty. Jednak należy pamiętać, że dodatnią reakcję wykazują nie tylko podocyty błony podstawnej kłębuszków, ale także komórki nabłonka kłębuszkowego (parietal epithelial cell, PEC) i komórki nabłonkowe kanalików proksymalnych (proximal tubular epithelial cells, PTEC) (30, 31). Jednak większość komórek podocyno-dodatnich stanowią podocyty, a nie PEC i PTEC (30, 31).

Podczas praktycznego wykorzystania testu wykrywającego podocyty (komórki podocyno-dodatnie) w moczu powinniśmy wziąć pod uwagę stężenie kreatyniny w moczu. Kreatynina jest dobrym wskaźnikiem stopnia zagęszczenia moczu, a tym samym stopnia zagęszczenia podocytów. Stąd parametry, które silnie zależą od zagęszczenia moczu, są przeliczane w odniesieniu do stężenia kreatyniny, np.: stosunek albuminy do kreatyniny w moczu (urine albumin to creatinine ratio, UAC), stosunek białka do kreatyniny w moczu (urine protein to creatinine ratio, UPC) i stosunek podocyny do kreatyniny w moczu (urine podocine to creatinine ratio, UPOC). Jednak na wydalanie kreatyniny z moczem wpływa kilka czynników pozanerkowych, np. niska masa mięśniowa i zmniejszona aktywność fizyczna (32). Z badań nad psami wynika, że UPOC jest metodą diagnostyczną umożliwiającą wykrycie wczesnej fazy uszkodzenia ciałek nerkowych, ponieważ jej stężenie rośnie znacznie szybciej niż inne markery uszkodzenia nerek, tj.: stężenie kreatyniny, cystatyny C i symetrycznej dimetyloargininy (SDMA; 29). Jest to spowodowane prawdopodobnie tym, że przedostające się podocyty mogą być zdiagnozowane bezpośrednio w moczu, a do podwyższenia parametrów odpowiedzialnych za przesączanie kłębuszkowe w krwi potrzeba czasu (29). W medycynie człowieka udowodniono, że u pacjentów z aktywną glomerulopatią do moczu przenika powyżej 388 podocytów/mg kreatyniny, natomiast u osób zdrowych lub pacjentów z ustabilizowaną niewydolnością nerek przenika mniej niż 0,5 podocytów/mg kreatyniny (35). Podobnych badań nie wykonywano u zwierząt.

Podocyturia może być związana z podwyższonym ciśnieniem tętniczym – w tym z aktywacją osi renina-angiotensyna-aldosteron, ponieważ na powierzchni podocytów obecne są receptory dla angiotensyny (33, 34). W bieżącym roku ukazała się praca oceniająca uszkodzenie ciałek nerkowych u psów z niewydolnością serca spowodowaną zwyrodnieniem zastawki mitralnej. Wykazano, że wzrost wskaźnika podocyna/kreatynina w moczu powyżej  $12,93 \times 10^{-10}$  wskazuje na aktywny proces uszkodzania ciałek nerkowych (29). UPOC jest metodą atrakcyjną z punktu widzenia lekarza praktyka, ponieważ jest metodą nieinwazyjną. UPOC wydaje się być szczególnie przydatne w przypadku pacjentów, u których choroba nerek nie daje zmian w obrazie ultrasonograficznym, a którzy jednocześnie nie kwalifikują się (z powodu istotnych przeciwwskazań, np. choroby serca) do badań biopsyjnych (36).

Poznanie czynników regulujących fizjologiczne właściwości podocytów i mechanizmów ich odpowiedzi na uszkodzenie może doprowadzić do istotnego

postępu w ustaleniu patogenezы białkomoczu i chorób ciała nerkowego. Podocyturia może stanowić prosty i nieinwazyjny marker wczesnej diagnostyki aktywnych procesów patologicznych. Zdiagnozowanie pacjentów we wczesnym stadium niewydolności nerek i przerwanie samonapędzającego się procesu destrukcji nerek będzie stanowiło ważny krok w zapobieganiu rozwojowi niewydolności nerek. Badanie moczu przy użyciu komercyjnego testu ELISA jest tanie, szybkie oraz bezbolesne. Jak pokazują badania oznaczenie podocyny w moczu przy użyciu testu ELISA może wykazać uszkodzenie bariery filtracyjnej kłębuszka wcześniej niż dotychczasowe markery, tj. kreatynina, cystatyna C i SDMA oznaczane w surowicy krwi.

## Piśmiennictwo

- Konieczny A., Czyżewska-Buczyńska A., Ryba M., Rukasz D., Krajewska M., Witkiewicz W., Hruby Z. Expression of Cell Membrane Antigens in Cells Excreted in the Urinary Sediment Predicts Progression of Renal Disease in Patients with Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Am. J. Nephrol.* 2015, 42, 35–41.
- Pavenstädt H. Roles of the podocyte in glomerular function. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2000, 278, 173–179.
- Wagner K.D., Wagner N., Schedl A. The complex life of WT1. *J. Cell Sci.* 2003, 1, 1653–1658.
- Kikuchi M., Wickman L., Rabah R., Wiggins RC. Podocyte number and density changes during early human life. *Pediatr Nephrol.* 2017, 32, 823–834.
- Puelles VG., Douglas-Denton R.N., Cullen-McEwen LA., Li J., Hughson M.D., Hoy W.E., Kerr P.G., Bertram J.F. Podocyte Number in Children and Adults: Associations with Glomerular Size and Numbers of Other Glomerular Resident Cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015, 26, 2277–2288.
- Sato Y., Wharram B.L., Lee SK., Wickman L., Goyal M., Venkatarreddy M., Chang J.W., Wiggins J.E., Lienczewski C., Kretzler M., Wiggins RC. Urine podocyte mRNAs mark progression of renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009, 20, 1041–1052.
- Hill G.S., Karoui K.E., Karras A., Mandet C., Duong Van Huyen J.P., Nychy D., Bruneval P. Focal segmental glomerulosclerosis plays a major role in the progression of IgA nephropathy. I. Immunohistochemical studies. *Kidney Int.* 2011, 79, 635–642.
- Tae-Sun Ha. Roles of adaptor proteins in podocyte biology. *World J. Nephrol.* 2013, 6, 1–10.
- Tian X., Ishibe S. Targeting the podocyte cytoskeleton: from pathogenesis to therapy in proteinuric kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2016, 31, 1577–1583.
- Nakamura T., Ushiyama C., Suzuki S., Hara M., Shimada N., Ebihara I., Koide H. Urinary excretion of podocytes in patients with diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000, 15, 1379–1383.
- Camici M. Urinary detection of podocyte injury. *Biomed Pharmacother.* 2007, 61, 245–249.
- Reiser J., Sever S. Podocyte biology and pathogenesis of kidney disease. *Annu Rev. Med.* 2013, 64, 357–366.
- Bąchor; R.; Szczepankiewicz; B.; Paślowska; U.; Mojsa; K.; Stefanowicz; P.; Szewczuk; Z. Detection of tryptic podocin peptide in the feline urine samples using LC-MS/MS method. *Int. J. Mass. Spectrom.* 2019, 444, DOI: 10.1016/j.ijms.2019.116174.
- Behairy M.A., Shakweer M.M., El Said T.W., ElGharbawy N.H. Value of immunohistochemical expression of podocalyxin in active lupus nephritis. *Nefrologia* 2018, 38, 64–72.
- Doyonnas R., Kershaw D.B., Duhme C., Merckens H., Chelliah S., Graf T., McNagy KM. Anuria, omphalocele, and perinatal lethality in mice lacking the CD34-related protein podocalyxin. *J. Exp. Med.* 2001, 194, 13–27.
- Nielsen J.S., McNagy K.M. The Role of Podocalyxin in Health and Disease. *J. Am. Soc. Neph.* 2009, 20, 1669–1676.
- Pätäri A., Forsblom C., Havana M., Taipale H., Groop P.H., Holthöfer H. Nephropathy in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes.* 2003, 52, 2969–2974.
- Wernerson A., Dunér F., Pettersson E., Widholm SM., Berg U., Ruotsalainen V., Tryggvason K., Hulténby K., Söderberg M. Altered ultrastructural distribution of nephrin in minimal change nephrotic syndrome. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003, 18, 70–76.
- Antignac C. Molecular basis of steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nefrologia* 2005, 25, 25–28.
- Szeto C.C., Lai KB., Chow K.M., Szeto C.Y., Yip T.W., Woo K.S., Li P.K., Lai F.M. Messenger RNA expression of glomerular podocyte markers in the urinary sediment of acquired proteinuric diseases. *Clin. Chim. Acta* 2005, 361, 182–190.

21. Guo J.K., Menke A.L., Gubler M.C., Clarke A.R., Harrison D., Hammes A., Hastie N.D., Schedl A. WT1 is a key regulator of podocyte function: reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and mesangial sclerosis. *Hum. Mol. Genet.* 2002, **11**, 651–659.
22. Wharram B.L., Goyal M., Gillespie P.J., Wiggins J.E., Kershaw D.B., Holzman L.B., Dysko R.C., Saunders T.L., Samuelson L.C., Wiggins R.C. Altered podocyte structure in GLEPP1 (Ptpro)-deficient mice associated with hypertension and low glomerular filtration rate. *J. Clin. Invest.* 200, **106**, 1281–1290.
23. Kaplan J.M., Kim S.H., North K.N., Rennke H., Correia L.A., Tong H.Q., Mathis B.J., Rodríguez-Pérez J.C., Allen P.G., Beggs A.H., Pollak M.R. Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Genet.* 2000, **24**, 251–25.
24. Kos C.H., Le T.C., Sinha S., Henderson J.M., Kim S.H., Sugimoto H., Kalluri R., Gerszten R.E., Pollak M.R. Mice deficient in alpha-actinin-4 have severe glomerular disease. *J. Clin. Invest.* 2003, **111**, 1683–1690.
25. Boute N., Gribouval O., Roselli S., Benessy F., Lee H., Fuchshuber A., Dahan K., Gubler M.C., Niaudet P., Antignac C. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat. Genet.* 2000, **24**, 349–354.
26. Jalanko H. Pathogenesis of proteinuria: lessons learned from nephrin and podocin. *Pediatr. Nephrol.* 2003, **18**, 487–491.
27. Fukuda H., Hidaka T., Takagi-Akiba M., Ichimura K., Oliva Trejo JA., Sasaki Y., Wang J., Sakai T., Asanuma K., Tomino Y. Podocin is translocated to cytoplasm in puromycin aminonucleoside nephrosis rats and in poor-prognosis patients with IgA nephropathy. *Cell. Tissue Res.* 2015, **360**, 391–400.
28. Pena M.J., Heinzel G., Alkhalaf A., Bakker S.J., Nguyen T.Q., Goldschmeding R., Bilo H.J., Perco P., Mayer B., de Zeeuw D., Lambers Heerspink H.J. A panel of novel biomarkers representing different disease pathways improves prediction of renal function decline in type 2 diabetes. *PLoS One.* 2015, **14**, 10(5):e0120995.
29. Szczepankiewicz B., Paslawska U., Paslawski R., Gebarowski T., Zasadna W., Michalek M., Noszczyk-Nowak A. The urine podocin/creatinine ratio as a novel biomarker of cardiorenal syndrome in dogs due to degenerative mitral valve disease. *J. Physiol. Pharmacol.* 2019, **2**:DOI: 10.26402/jpp.2019.2.xx.
30. Achenbach J., Mengel M., Tossidou I., Peters I., Park J.K., Haubitz M., Ehrlich J.H., Haller H., Schiffer M. Parietal epithelia cells in the urine as a marker of disease activity in glomerular diseases. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008, **23**, 3138–3145.
31. Gharib S.A., Pippin J.W., Ohse T., Pickering S.G., Kroff R.D., Shankland S.J. Transcriptional landscape of glomerular parietal epithelial cells. *PLoS One* 2014, **15**, 9–11.
32. Choi B.S., Moon H.S., Seo S.H., Hyun C. Evaluation of serum cystatin-C and symmetric dimethylarginine concentrations in dogs with heart failure from chronic mitral valvular insufficiency. *J. Vet. Med. Sci.* 2017, **79**, 41–46.
33. Endlich N., Endlich K. The challenge and response of podocytes to glomerular hypertension. *Semin Nephrol.* 2012, **32**, 327–341.
34. Shankland S.J., Pippin J.W., Reiser J., Mundel P. Podocytes in culture: past, present, and future. *Kidney Int.* 2007, **72**, 26–36.
35. Vogelmann SU, Nelson WJ., Myers BD, Lemley KV. Urinary excretion of viable podocytes in health and renal disease. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2003, **285**, 40–48.
36. Liu J., Zhang Y.D., Chen X.L., Zhu X.L., Chen X., Wu J.H., Guo N.F. The protective effect of the EP2 receptor on TGF- $\beta$ 1 induced podocyte injury via the PI3K / Akt signaling pathway. *PLOS ONE* 2018, **10**, 13–18.

---

Lek. wet. Barbara Szczepankiewicz,  
e-mail: barbara.szczepankiewicz@upwr.edu.pl