

# I MECCANISMI DEL DANNO CRONICO RENALE NELLE NEFROPATIE E LA LORO POSSIBILE REVERSIBILITÀ

**B. Bussolati, F. Collino, G. Camussi**

Laboratorio di Fisiopatologia Renale e Vascolare, Dipartimento di Medicina Interna, Centro Interdipartimentale di Biotecnologie, Università degli Studi, Torino

## Mechanisms causing chronic renal injury in kidney disease and their possible reversibility

*Much study has been dedicated to the understanding of the mechanisms leading to the progression of renal injury and to the development of strategies to limit this progression or possibly induce tissue regeneration. Among several identified mechanisms, the role of angiotensin II is widely recognized. Moreover, the progression of glomerular damage is characterized by capillary loss, reduction of the proliferative response, and production of antiangiogenic factors. Several lines of evidence support the potential effect of therapeutic strategies aimed at interfering with angiotensin II or stimulating angiogenesis in order to reduce the progression of renal injury. Recent work has underlined the potential of strategies involving the use of stem cells. Different populations of stem cells have been identified in the adult kidney. During renal injury, stem cells derived from the bone marrow that migrate through the circulation to the kidney may contribute to tissue repair. The regenerative potential of stem cells could be exploited by administration of ex vivo expanded stem cell populations or by the development of techniques to expand and differentiate local stem cells. (G Ital Nefrol 2008; 25: (Suppl. S44) S3-10)*

Conflict of interest: None

## KEY WORDS:

Stem cells,  
Kidney,  
Side population,  
Mesenchymal  
stem cells,  
Cell therapy,  
Homing

## PAROLE CHIAVE:

Cellule staminali,  
Rene,  
Popolazione  
side,  
Cellule staminali  
mesenchimali,  
Terapia cellulare,  
Reclutamento

## ✉ Indirizzo degli Autori:

Prof.ssa Benedetta Bussolati  
Dipartimento di Medicina Interna  
Ospedale Maggiore S. Giovanni  
Battista  
Corso Dogliotti, 14  
10126 Torino  
e-mail: benedetta.bussolati@unito.it

## INTRODUZIONE

È noto che molte malattie renali progrediscono verso l'insufficienza renale come conseguenza degli adattamenti funzionali che intervengono a seguito della perdita di nefroni, anche quando il processo patogenetico iniziale si sia risolto (1-3). Si ritiene, infatti, che l'insufficienza renale progredisca attraverso vie patogenetiche comuni, indipendentemente dalla nefropatia iniziale (1-4). I fattori maggiormente chiamati in causa comprendono fattori emodinamici (iperfiltrazione glomerulare, ipertensione sistemica e glomerulare); fattori di crescita; fattori genetici e la proteinuria per se. Numerosi studi sono stati fatti per comprendere i meccanismi che conducono alla progressione del danno renale, nonché per identificare strategie atte a limitarne la progressione o, possibilmente, ad indurre la rigenerazione del tessuto. La Medicina Rigenerativa pone oggi giorno molte speranze in un possibile utilizzo di

cellule staminali a tale scopo. In questa review, tratteremo brevemente gli aspetti, sicuramente più noti, riguardanti i fattori di progressione del danno renale, riservando un approfondimento maggiore per gli aspetti legati alla sua reversibilità.

## MECCANISMI DI PROGRESSIONE DEL DANNO

### Il ruolo dei fattori emodinamici

L'importanza dei fattori emodinamici a livello sistemico e locale è stata evidenziata in studi sperimentali da Brenner et al. (5, 6). L'emodinamica glomerulare è profondamente alterata a seguito della perdita di nefroni: i nefroni rimanenti vanno incontro ad una rapida risposta ipertrofica, con riduzione delle resistenze arteriolarie ed aumento del flusso plasmatico glomerulare (7). Il tono dell'arteriola afferente si riduce in misu-

ra minore di quello dell'arteriola efferente e, di conseguenza, la pressione idrostatica nei capillari glomerulari e la quantità di filtrato per ogni singolo nefrone aumentano (1-3). Questi cambiamenti aumentano la capacità di filtrazione dei nefroni residui, minimizzando così le conseguenze funzionali della perdita numerica di nefroni, ma sono in ultima analisi causa di danno renale. Nell'uomo, il ruolo dell'iperfiltrazione nella progressione del danno glomerulare è stato valutato in pazienti donatori di reni per trapianto o sottoposti a nefrectomia per malattie renali acquisite. Anche dopo 10 o 20 anni, il filtrato glomerulare totale raggiunge in media valori di circa il 70% dei valori precedenti la nefrectomia, nonostante la riduzione della massa renale sia di approssimativamente del 50% (1-3). Infine, in alcune condizioni patologiche, quali il diabete, è stata documentata un'iperfiltrazione, anche se la massa renale è intatta (8, 9). Tale iperfiltrazione predice lo sviluppo successivo di nefropatia in pazienti con diabete mellito di tipo 1, indipendentemente dal grado di controllo metabolico (10).

I meccanismi che collegano i fattori emodinamici, in particolare l'ipertensione glomerulare, con la progressione del danno renale sono stati oggetto di estensivo studio. Secondo la teoria di Brenner proprio l'aumentata pressione capillare glomerulare rappresenta il mediatore chiave della glomerulosclerosi progressiva, dando origine ad un circolo vizioso, in cui la perdita progressiva di nefroni aumenta ulteriormente il flusso nei restanti glomeruli, mantenendo ed aggravando il danno (2, 3). Più recentemente, molto credito è stato attribuito alla teoria che l'ipertensione capillare glomerulare aumenti il raggio dei pori della membrana glomerulare, mettendo così in rilievo il ruolo delle proteinuria nella progressione del danno e collegandola con l'ipertensione glomerulare stessa (Fig. 1).

### Ruolo dell'angiotensina II

Tra i diversi fattori coinvolti nella progressione del danno renale l'angiotensina II (AT-II) svolge sicuramente un ruolo rilevante (11). L'AT-II, oltre agli effetti emodinamici, induce iperplasia ed ipertrofia cellulare e regola la sintesi e la degradazione della matrice extracellulare, prendendo così parte al processo di ipertrofia glomerulare. Questo processo può condurre allo sviluppo di glomerulosclerosi attraverso diversi meccanismi: aumento della tensione di parete con conseguente esaurimento delle funzioni delle cellule mesangiali, aumentata disponibilità locale di macromolecole circolanti e disfunzione delle cellule epiteliali glomerulari (1-3, 12). Inoltre, si ritiene che l'AT-II possa stimolare molteplici vie di segnale intracellulare, che portano a proteinuria e ad aumento dell'espressione o dell'attività di mediatori pro-fibrotici, quali *Transforming*

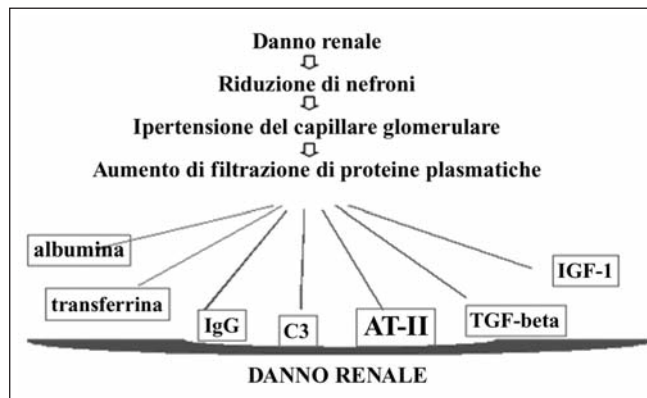


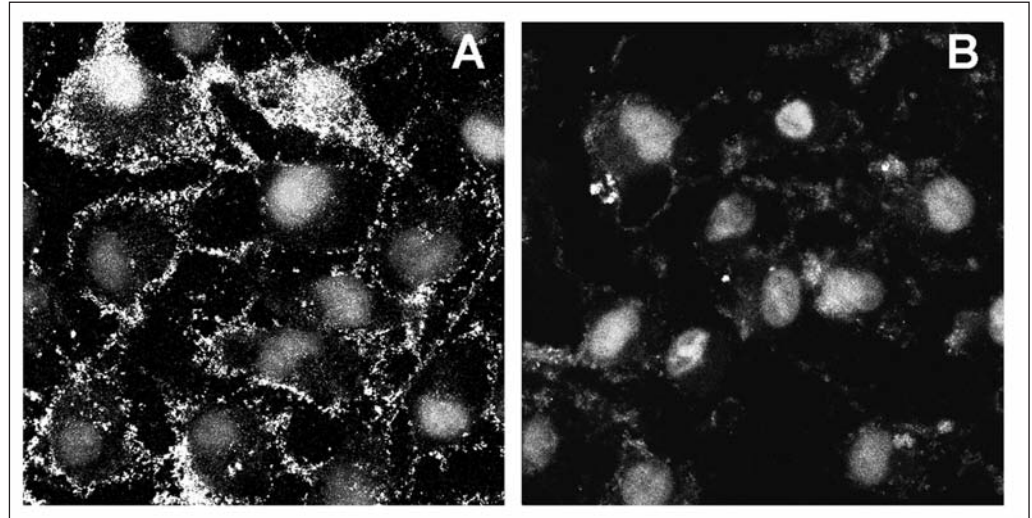
Fig. 1 - Mediatori coinvolti nella progressione del danno renale. Abbreviazioni: AT-II = angiotensina II; TGF-beta = transforming growth factor beta; IGF-I = insulin-like growth factor I.

*Growth Factor-beta* (TGF-beta), inibitore dell'attivatore del plasminogeno ed altri (13). Abbiamo recentemente dimostrato che l'AT-II esercita un effetto sui podociti, che ne esprimono il recettore, determinando la contrazione del citoscheletro e la perdita di nefrina (14) (Fig. 2). Ulteriori studi hanno confermato il rapporto tra AT-II e l'espressione di proteine del diaframma di filtrazione (podocina, Zo-1, CD2AP e NEPH-1) (15, 16). Una conferma indiretta dell'importanza dei meccanismi patogenetici descritti proviene dagli studi sperimentali in cui sono stati impiegati farmaci in grado di ristabilire la selettività dei meccanismi di filtrazione glomerulare. Tra i diversi farmaci usati, gli ACE-inibitori hanno dimostrato un'efficacia maggiore di altri farmaci antiipertensivi in diversi modelli, tra cui l'ablazione massiva di massa renale, la nefropatia diabetica, le nefropatie indotte da puromicina ed adriamicina, la nefrite di Heymann e quella diabetica, soprattutto in rapporto alla loro maggior capacità di ridurre la proteinuria e di ripristinare la sintesi delle molecole del diaframma di filtrazione (5, 12, 17, 18).

### Ruolo della proteinuria come fattore indipendente di progressione del danno renale

Numerosi studi mostrano una correlazione tra proteinuria e danno tubulo-interstiziale (19, 20). In condizioni fisiologiche, le proteine filtrate sono riassorbite dalle cellule tubulari prossimali, al cui interno sono degradate dai lisosomi. In risposta al sovraccarico di proteine le cellule tubulari prossimali cambiano il loro fenotipo (21). *In vitro*, concentrazioni crescenti di albumina, immunoglobuline G o transferrina causano un aumento di sintesi dell'endotelina-1, MCP-1 e RANTES, una citochina con attività immunoregolatoria e proprietà chemiotattiche, da parte delle cellule tubulari prossimali (22-24). È possibile pertanto ipotizzare che *in vivo* tali mediatori siano rilasciati principalmente nel

**Fig. 2** - Effetto diretto dell'AT-II sull'espressione della nefrina da parte di podociti umani. Immagini rappresentative dell'espressione della nefrina, analizzata tramite immunofluorescenza utilizzando un anticorpo specifico per la sua porzione extracellulare, in podociti in coltura incubati per 1h con medium di controllo (A) o stimolati con AT-II (B). La stimolazione con AT-II determina una perdita significativa dell'espressione della nefrina sulla superficie del podocita rispetto al medium di controllo.



l'interstizio, dove promuovono la migrazione di monociti e linfociti T (25). L'accumulo interstiziale di chemochine interviene inoltre nell'indurre la proliferazione dei fibroblasti interstiziali così come nel mantenere ed amplificare la risposta infiammatoria e la sintesi di matrice extracellulare. La stimolazione dei fattori pro-infiammatori indotta dalla proteinuria nelle cellule tubulari in coltura è dipendente dall'attivazione del fattore di trascrizione nucleare NF-kB (24), come dimostrato dall'effetto inibitorio esercitato da inibitori antiossidanti dell'attivazione di NF-kB (26) e dalla proteina inibitrice IκB (24). In aggiunta a citochine pro-infiammatorie e fattori di crescita, anche componenti del sistema del complemento in grado di passare liberamente dal glomerulo nel filtrato come conseguenza della proteinuria possono causare danno interstiziale. Infatti, è presente nel *brush border* del tubulo contorto prossimale una convertasi della via alterna capace di attivare il complemento presente nell'ultrafiltrato (27) sulla superficie endoluminale. Ratti con nefropatia indotta da sovraccarico di proteine mostrano la deposizione del fattore C3 del complemento sulla membrana luminale dei tubuli prossimali (28). Analogamente, C3 ed il complesso terminale del complemento C5b-C9 sono stati evidenziati sul versante luminale delle cellule tubulari prossimali nella sindrome nefrosica indotta da puromicina (29) (Fig. 3). Il complesso C5b-C9 svolge a livello cellulare molte funzioni. Ad esempio ha proprietà chemiotattiche, induce la generazione di radicali liberi dell'ossigeno molecolare e citochine da parte delle cellule tubulari e promuove l'infiltrazione di cellule infiammatorie nell'interstizio renale (30), che interagendo con i fibroblasti interstiziali partecipano a loro volta alla progressione del danno renale (31).

Nella patologia umana, numerosi *trial* multicentrici hanno mostrato una significativa riduzione del rischio



**Fig. 3** - Ruolo del complemento nel danno tubulo interstiziale. L'alterata permeabilità glomerulare determina la filtrazione di componenti plasmatici del complemento biologicamente attivi. Nel "brush border" del tubulo contorto prossimale è presente una convertasi della via alterna che può attivare la frazione C3 del complemento (27) presente nell'ultrafiltrato innescando la cascata complementare. L'attivazione del complemento porta all'inserzione dei componenti terminali del complemento C5-C9 (MAC = membrane attack complex) nella plasmamembrana delle cellule tubulari con stimolo alla produzione di radicali dell'ossigeno e di citochine.

di progressione e della proteinuria con l'utilizzo di farmaci in grado di bloccare il sistema renina angiotensina. In particolare, l'utilizzo combinato di ACE-inibitori e di inibitori recettoriali dell'AT-II si è mostrato efficace per determinare un blocco più completo del sistema renina angiotensina. Si può verosimilmente ritenere che l'effetto anti-proteinurico di tale blocco sia indipendente dalla riduzione della pressione arteriosa, sebbene i due effetti risultino difficilmente separabili. Inoltre, la valutazione della progressione della patologia rena-

le in pazienti con nefropatie proteinuriche ha mostrato che il blocco del sistema renina-angiotensina con duplice terapia riduce la progressione della patologia renale cronica. Un'accurata descrizione di tali *trial* risulta oltre lo scopo di questa *review*, ed è riassunta in dettaglio in (32, 33).

### Regressione del danno

La ricerca in questo campo ha tratto nuovo entusiasmo dall'evidenza che è possibile non solo arrestare ma addirittura ottenere la regressione di lesioni glomerulosclerotiche conclamate in modelli sperimentali ed in patologia umana. Infatti, biopsie renali ripetute in pazienti con lesioni tipiche della nefropatia diabetica sottoposti a trapianto pancreatico hanno dimostrato la regressione dell'espansione mesangiale, un maggior numero di anse capillari pervie ed una contemporanea riduzione della fibrosi tubulo-interstiziale (34).

In modelli sperimentali, recenti studi hanno messo in risalto la possibilità di regressione di lesioni glomerulari preesistenti. In particolare, l'utilizzo di inibitori del sistema renina-angiotensina ha dimostrato indurre una riduzione della progressione verso l'insufficienza renale, della sclerosi vascolare, interstiziale ed anche glomerulare (35-38).

### Ruolo dell'endotelio microvascolare glomerulare nella risoluzione del danno

È oggi riconosciuto che la progressione del danno glomerulare è caratterizzata da perdita dei capillari associata a riduzione della risposta proliferativa endoteliale, necessaria per la riparazione del danno (39). A seconda del tipo e della durata del danno, la risposta glomerulare può infatti evolvere secondo due modalità: da un lato, la presenza di proliferazione capillare e di rimodellamento della matrice può condurre alla riparazione; dall'altro, la mancanza di rigenerazione capillare associata con espansione mesangiale e incontrollata produzione di matrice può condurre alla sclerosi (Fig. 4). La riduzione della proliferazione endoteliale è essenzialmente dipendente dalla riduzione di fattori pro-angiogenetici ed aumento di fattori anti-angiogenetici. L'accumulo di cellule infiammatorie porta al rilascio di citochine (come IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6) che inducono un'alterazione dell'equilibrio locale tra fattori pro-angiogenetici come il VEGF e fattori anti-angiogenetici, quali TSP-1. In particolare, in modelli sperimentali di sclerosi glomerulare, la riduzione di VEGF e l'aumento di TSP-1 correla con la presenza di siti di infiltrazione macrofagica (40). Un recente lavoro del gruppo di Fogo ha dimostrato che i podociti dopo danno subletale da puomicina riducono la produzione di fattori pro-angiogenetici quali VEGF ed angiopoietina. L'inibizione dell'AT-II ripristina

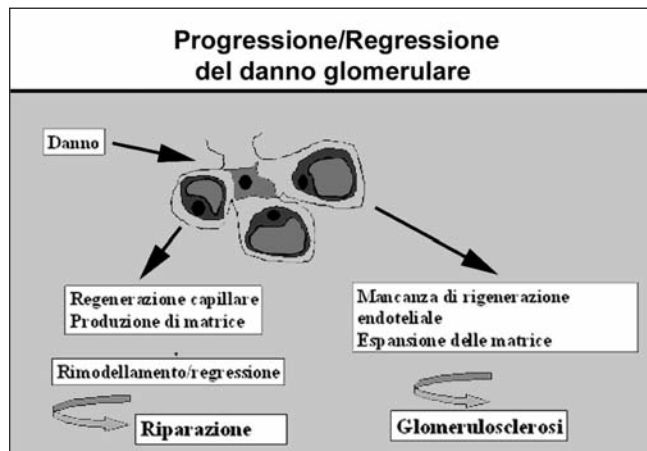


Fig. 4 - Regressione del danno glomerulare.

La regressione del danno glomerulare coinvolge un esteso rimodellamento dei capillari glomerulari con attivazione di processi di neo-angiogenesi. La perdita di capillari glomerulari e la loro mancata rigenerazione favorisce l'espansione della matrice e la progressione del danno verso una sclerosi glomerulare.

la produzione di tali fattori, inducendo quindi un effetto pro-angiogenetico sull'endotelio dei capillari glomerulari. Questo lavoro identifica quindi il podocita quale cellula determinante nella rigenerazione dei capillari glomerulari (41).

### VEGF E REGOLAZIONE DELLA NEOANGIOGENESI GLOMERULARE

Il VEGF è una glicoproteina che funziona da fattore di sopravvivenza per l'endotelio vascolare, infatti, la presenza di livelli fisiologici di VEGF nel siero sono considerati fondamentali nel mantenere l'omeostasi dell'endotelio vascolare (42). Durante lo sviluppo fetale, nel rene uno dei tipi cellulari in grado di produrre maggiori quantità di VEGF-A è il podocita. A differenza di molti altri tessuti ed organi, i podociti completamente differenziati continuano ad esprimere VEGF-A, a livelli però inferiori rispetto alla fase di sviluppo embrionale. A sua volta, l'endotelio glomerulare, intimamente associato al podocita esprime sulla sua superficie i recettori per il VEGF, chiamati VEGF-R1 (Flt-1) e VEGF-R2 (Flk-1).

Nello sviluppo, le cellule endoteliali sono in grado di migrare in risposta al VEGF, a livello del "vascular cleft", che si sviluppa tra i precursori podocitari e le cellule del tubulo prossimale nel glomerulo per formare capillari glomerulari funzionanti (43). Inoltre, modelli murini transgenici con una delezione selettiva del gene codificante per il VEGF-A nel podocita, non sono in grado di formare una barriera di filtrazione glomerulare a causa di difetti nella migrazione, sopravvivenza

e differenziamento dell'endotelio glomerulare (44).

Oggetto di ricerca è la valutazione se lo stimolo proangiogenico, con la sua capacità di incrementare la densità dei capillari, possa rallentare la progressione del danno renale. Ci sono da questo punto di vista, una serie di linee che evidenziano come lo stimolo ad una proliferazione endoteliale possa essere benefico nel danno renale cronico (45). In particolare, è stato osservato che la proliferazione di cellule endoteliali può giocare un ruolo chiave nella riparazione dei capillari glomerulari in un modello di glomerulonefrite da Thy-1 nel ratto (46). Inoltre, nello stesso modello sperimentale, la somministrazione di VEGF è in grado di aumentare il numero di capillari riparati e migliorare la funzionalità renale (46). Inoltre la densità di capillari peritubulari risulta incrementata e l'apoptosi delle cellule endoteliali ridotta, in seguito a somministrazione di VEGF, in un modello di microangiopatia trombotica nel ratto (47, 48).

Il ruolo del VEGF nella sopravvivenza endoteliale e nel mantenimento dell'integrità anatomico-funzionale del glomerulo è sottolineata in patologia umana dall'effetto del blocco del segnale del VEGF nella preeclampsia. La forma solubile del recettore 1 del VEGF (sFlt-1), in grado di neutralizzare mediatori angiogenetici presenti in circolo, quali il VEGF e il fattore di crescita placentare (PlGF), risulta *up-regolato* nel plasma di pazienti con preeclampsia rispetto a gestanti sane (49). sFlt-1 previene l'interazione del VEGF con il suo recettore transmembrana sulle superficie dell'endotelio. L'inibizione dell'effetto da parte di sFlt-1 a livello renale risulta nel danno dell'endotelio fenestrato con endoteliosi. Analogamente, il trattamento di topi adulti con anticorpi anti-VEGF o con sFlt-1 induce lesioni nelle cellule endoteliali paragonabile a quelle osservate in preeclampsia con rapida perdita delle fenestrate, rigonfiamento della cellula endoteliale e proteinuria (50). In aggiunta la delezione del fattore trascrizionale podocita-specifico, LMX1B, in grado di prevenire la sua differenziazione e l'espressione del VEGF-A, è associata con la formazione di un endotelio glomerulare incapace a sviluppare fenestrate (51).

Il nostro gruppo ha recentemente dimostrato (52) come il siero derivato da pazienti con sindrome preeclamptica sia in grado di indurre una *down-regolazione* dell'espressione delle proteine associate al podocita, nefrina e sinaptopodina, attraverso il rilascio di ET1 da cellule endoteliali glomerulari. Abbiamo inoltre dimostrato che il ruolo del recettore del VEGF circolante nel siero delle pazienti preeclamptiche sulla riduzione di nefrina non si esplica in modo diretto ma bensì mediante un'azione a livello dell'endotelio glomerulare. Infatti, l'endotelio, stimolato con anticorpi bloccanti per il VEGF, produce e rilascia ET1, determinando in maniera paragonabile al siero di pazienti

con preeclampsia, una perdita delle molecole associate al diaframma di filtrazione glomerulare nel podocita. La perdita di nefrina dalla membrana del podocita indotta da ET1, risulta associata ad un fenomeno di redistribuzione del citoscheletro di actina, ed è dovuta all'attivazione di proteasi specifiche, in grado di indurre il clivaggio della nefrina dalla membrana dei podocita e il suo rilascio nel surnatante cellulare.

Questi risultati fanno ipotizzare che i fattori circolanti, quali il recettore solubile del VEGF, inducendo endoteliosi glomerulare possano partecipare allo sviluppo di proteinuria mediante il rilascio locale di ET-1 in grado di modulare in maniera negativa l'espressione di proteine del diaframma di filtrazione del podocita.

### Ruolo delle cellule staminali nella rigenerazione tissutale

Evidenze suggeriscono un coinvolgimento di cellule staminali, residenti nell'organo o di derivazione midollare, nella rigenerazione renale. Le cellule staminali residenti possono rappresentare una riserva cellulare in grado sia di sostituire le cellule epiteliali perse sia di rigenerare il tessuto in seguito al danno.

### CELLULE STAMINALI RENALI RESIDENTI

La presenza di cellule staminali residenti renali è stata da tempo ipotizzata, come possibile supporto non soltanto per la crescita del rene durante lo sviluppo ma anche per una riparazione del danno tissutale. È stata ipotizzata l'esistenza di cellule staminali in una nicchia del tessuto renale ove vengono mantenute in condizioni di non differenziazione e bassa proliferazione. Questa caratteristica potrebbe fornire una protezione relativa dal danno tossico o ischemico. Il nostro gruppo ha recentemente isolato e caratterizzato nel rene umano adulto una popolazione di progenitori renali CD133+ a livello corticale nell'interstizio e raramente quali cellule intercalate nei tubuli (54). Le cellule CD133+ mostravano assenza di marcatori ematopoietici ed esprimevano il Pax-2, un fattore di trascrizione coinvolto nell'organogenesi renale. Inoltre, tali cellule esprimevano marcatori di cellule staminali di tipo mesenchimale, quali CD44, CD29 e CD73. *In vitro* e *in vivo* nel topo SCID, cellule CD133+ isolate dall'interstizio differenziavano sia in cellule endoteliali sia in cellule epiteliali. Il parziale commissionamento di tali cellule era mostrato dall'espressione di marcatori di tubulo renale prossimale (aminopeptidasi-A e fosfatasi alcalina) e distale (cotrasportatore Na/Cl e calbindina-D). Cellule CD133+ sono anche state caratterizzate a livello della capsula del Bowman (54). A differenza delle cellule isolate dalla componente tubulare, le cel-

lule isolate dalla capsula del Bowmann mostravano una capacità multidifferenziativa, essendo in grado di generare anche osso, cartilagine e tessuto nervoso. Tali cellule potrebbero quindi essere considerate meno commissionate in senso renale rispetto alle cellule staminali CD133+ presenti a livello corticale. Le cellule staminali residenti CD133+ sono anche state identificate nel rene embrionale, ove costituiscono il nefrone primordiale (55). L'utilizzo delle cellule renali CD133+ quale terapia cellulare utilizzando cellule espanse *in vitro* ed inoculate nel topo è stato per ora solo valutato in modelli di danno tubulare acuto, ove si integravano nel tessuto e esercitavano un effetto protettivo sul danno (56). Non sono attualmente disponibili studi di terapia cellulare in modelli di insufficienza renale cronica.

Un recente lavoro presenta un approccio farmacologico di stimolazione delle cellule staminali residenti in un modello di glomerulonefrite da Thy-1 nel ratto. Utilizzando la tricostatina, un inibitore dell'istone deacetilasi, gli Autori mostrano un aumento, da parte delle cellule staminali residenti nel rene, dell'espressione di *bone morphogenic protein-7*, e un effetto protettivo sulla glomerulonefrite (57).

## CELLULE STAMINALI DEL MIDOLLO OSSEO

Esperimenti di trapianto di midollo osseo hanno dimostrato che il midollo è una riserva di cellule in grado di ripopolare il mesangio durante la glomerulonefrite da Thy-1 nel ratto (58). Nello stesso modello, Rookmaaker et al. (59), hanno osservato che cellule staminali di origine midollare possono contribuire alla rivascolarizzazione.

Cellule staminali del midollo osseo sono anche in grado di migliorare la patologia renale in un modello murino di sindrome di Alport (60, 61). In particolare, si assisteva al reclutamento di progenitori midollari nel glomerulo danneggiato ed al loro differenziamento in podociti. Inoltre, si assisteva al ripristino della produzione della catena alfa3 del collagene di tipo IV. In tali esperimenti, la linea esatta di cellule staminali reclutate non è stata determinata.

Esperimenti di somministrazione di progenitori endoteliali (EPC) di derivazione midollare in ratti con glomerulonefrite da Thy-1 mostrava la loro incorporazione a livello glomerulare nei capillari ed il loro contributo alla rivascolarizzazione e riparazione tissutale (62, 63). Inoltre, è stato anche valutato il ruolo di una terapia con cellule staminali mesenchimali in glomerulonefriti sperimentali.

Le cellule staminali inoculate acceleravano la riparazione tissutale nella glomerulonefrite da Thy-1 producendo localmente VEGF e TGF- $\beta$ 1 in assenza di diffe-

renziamento in cellule renali (64). Al contrario, Wong et al. (65) hanno dimostrato che cellule staminali mesenchimali si localizzavano nel glomerulo in un modello di glomerulonefrite anticorpi-mediato, differenziando in cellule mesangiali. Successivamente, è stato dimostrato che le cellule staminali mesenchimali localizzate nei glomeruli dopo danno sono in grado di esercitare un effetto iniziale protettivo, ma a lungo termine possono andare incontro a maldifferenziazione in senso adipogenico, contribuendo alla sclerosi (66). Alla luce di questo lavoro, l'utilizzo possibile di una terapia con cellule staminali per limitare la progressione del danno renale necessita di una valutazione accurata della possibile differenziazione di tali cellule *in vivo* col tempo.

## CONCLUSIONI

In conclusione, l'identificazione dei meccanismi coinvolti nella progressione del danno renale rappresenta un importante avanzamento nelle conoscenze in ambito nefrologico. In effetti, questi studi hanno portato allo sviluppo di strategie terapeutiche volte ad interferire con le alterazioni emodinamiche ed i mediatori che le sostengono, nonché con i meccanismi che condizionano un fattore indipendente di progressione come la proteinuria, al fine di ridurre l'evoluzione verso l'insufficienza funzionale del danno renale. Inoltre, sulla base dei recenti progressi fatti sulla comprensione del ruolo delle cellule staminali nella riparazione del danno tissutale, è possibile prospettare future implicazioni di terapia cellulare anche in ambito renale.

## RIASSUNTO

*Numerosi studi sono stati condotti per comprendere i meccanismi di progressione del danno renale, nonché per identificare strategie atte a limitarla o a favorire una rigenerazione. Tra i molti meccanismi identificati, è oggi giorno riconosciuto il ruolo chiave dell'angiotensina II. Inoltre, la progressione del danno glomerulare è caratterizzata da perdita dei capillari, riduzione della risposta proliferativa endoteliale ed aumento della produzione di fattori anti-angiogenetici. Vi sono evidenze che strategie atte ad interferire sul sistema renina angiotensina o a stimolare l'angiogenesi possano rallentare la progressione del danno renale. Inoltre, studi recenti hanno evidenziato un potenziale contributo delle cellule staminali nella riparazione del danno renale. Nel rene adulto sono state identificate diverse popolazioni di cellule staminali residenti con diverso grado di commissione. Inoltre, cellule staminali del midollo osseo potrebbero migrare al rene durante il danno renale e contribuire alla rigenera-*

zione tissutale. Le strategie di utilizzo delle cellule staminali per la rigenerazione del tessuto renale potrebbero includere terapie cellulari con popolazioni staminali espanse *in vitro*, o strategie farmacologiche per espandere e differenziare popolazioni staminali residenti.

## RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato supportato dal finanziamento Regione Piemonte "Ricerca Scientifica applicata".

## DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Remuzzi G, Ruggenti P, Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997; 51: 2-15.
2. Brenner BM, Lawler EV, Mackenzie HS. The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. *Kidney Int* 1996; 49: 1774-7.
3. Ruggenti P, Schieppati A, Remuzzi G. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet* 2001; 357: 1601-8.
4. Fogo AB. Progression and potential regression of glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2001; 59: 804-19.
5. Mackenzie HS, Brenner BM. Current strategies for retarding progression of renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 161-70.
6. Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 1981; 241: F85-93.
7. Mogensen CE, Andersen MJ. Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes* 1973; 22: 706-12.
8. Christiansen JS, Gammelgaard J, Frandsen M, Parving HH. Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetics. *Diabetologia* 1981; 20: 451-6.
9. Rudberg S, Persson B, Dahlquist G. Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy—an 8-year prospective study. *Kidney Int* 1992; 41: 822-8.
10. Lapinski R, Perico N, Remuzzi A, Sangalli F, Benigni A, Remuzzi G. Angiotensin II modulates glomerular capillary permselectivity in rat isolated perfused kidney. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 653-60.
11. Terzi F, Burtin M, Friedlander G. Early molecular mechanisms in the progression of renal failure: role of growth factors and protooncogenes. *Kidney Int Suppl* 1998; 65: S68-73.
12. Remuzzi G, Bertani T. Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int* 1990; 38: 384-94.
13. Ketteler M, Noble NA, Border WA. Transforming growth factor-beta and angiotensin II: the missing link from glomerular hyperfiltration to glomerulosclerosis? *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 279-95.
14. Doublier S, Ruotsalainen V, Salvidio G, et al. Nephridin redistribution on podocytes is a potential mechanism for proteinuria in patients with primary acquired nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 2001; 158: 1723-31.
15. Jia J, Ding G, Zhu J, et al. Angiotensin II infusion induces nephridin expression changes and podocyte apoptosis. *Am J Nephrol* 2008; 28: 500-7. Epub 2008 Jan 17.
16. Suzuki K, Han GD, Miyauchi N, et al. Angiotensin II type 1 and type 2 receptors play opposite roles in regulating the barrier function of kidney glomerular capillary wall. *Am J Pathol* 2007; 170: 1841-53.
17. Benigni A, Tomasoni S, Gagliardini E, et al. Blocking angiotensin II synthesis/activity preserves glomerular nephridin in rats with severe nephrosis. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 941-8.
18. Bonnet F, Cooper ME, Kawachi H, Allen TJ, Boner G, Cao Z. Irbesartan normalises the deficiency in glomerular nephridin expression in a model of diabetes and hypertension. *Diabetologia* 2001; 44: 874-7.
19. Wehrmann M, Bohle A, Bogenschütz O, et al. Long-term prognosis of chronic idiopathic membranous glomerulonephritis. An analysis of 334 cases with particular regard to tubulo-interstitial changes. *Clin Nephrol* 1989; 31: 67-76.
20. Risdon RA, Sloper JC, De Wardener HE. Relationship between renal function and histological changes found in renal-biopsy specimens from patients with persistent glomerular nephritis. *Lancet* 1968; 2: 363-6.
21. Benigni A, Zoja C, Remuzzi G. The renal toxicity of sustained glomerular protein traffic. *Lab Invest* 1995; 73: 461-8.
22. Zoja C, Morigi M, Figliuzzi M, et al. Proximal tubular cell synthesis and secretion of endothelin-1 on challenge with albumin and other proteins. *Am J Kidney Dis* 1995; 26: 934-41.
23. Wang Y, Chen J, Chen L, Tay YC, Rangan GK, Harris DC. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1537-45.
24. Zoja C, Donadelli R, Colleoni S, et al. Protein overload stimulates RANTES production by proximal tubular cells depending on NF-kappa B activation. *Kidney Int* 1998; 53: 1608-15.
25. Wenzel UO, Abboud HE. Chemokines and renal disease. *Am J Kidney Dis* 1995; 26: 982-94.
26. Rovin BH, Dickerson JA, Tan LC, Hebert CA. Activation of nuclear factor-kappa B correlates with MCP-1 expression by human mesangial cells. *Kidney Int* 1995; 48: 1263-71.
27. Camussi G, Rotunno M, Segoloni G, Brentjens JR, Andres GA. In vitro alternative pathway activation of complement by the brush border of proximal tubules of normal rat kidney. *J Immunol* 1982; 128: 1659-63.
28. Eddy AA. Interstitial nephritis induced by protein-overload proteinuria. *Am J Pathol* 1989; 135: 719-33.
29. Nomura A, Morita Y, Maruyama S, et al. Role of complement in acute tubulointerstitial injury of rats with aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 1997; 151: 539-47.
30. Biancone L, David S, Della Pietra V, Montrucchio G, Cambi V, Camussi G. Alternative pathway activation of

- complement by cultured human proximal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 1994; 45: 451-60.
31. Eddy AA. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2495-508.
  32. MacKinnon M, Shurraw S, Akbari A, Knoll GA, Jaffey J, Clark HD. Combination therapy with an angiotensin receptor blocker and an ACE inhibitor in proteinuric renal disease: a systematic review of the efficacy and safety data. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 8-20.
  33. Cravedi P, Ruggenenti P, Remuzzi G. Intensified inhibition of renin-angiotensin system: a way to improve renal protection? *Curr Hypertens Rep* 2007; 9: 430-6.
  34. Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE, Goetz FC, Mauer M. Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. *N Engl J Med* 1998; 339: 69-75.
  35. Ma LJ, Nakamura S, Aldigier JC, et al. Regression of glomerulosclerosis with high-dose angiotensin inhibition is linked to decreased plasminogen activator inhibitor-1. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 966-76. Epub 2005 Feb 23.
  36. Ma LJ, Nakamura S, Whitsitt JS, Marcantoni C, Davidson JM, Fogo AB. Regression of sclerosis in aging by an angiotensin inhibition-induced decrease in PAI-1. *Kidney Int* 2000; 58: 2425-36.
  37. Remuzzi A, Gagliardini E, Donadoni C, et al. Effect of angiotensin II antagonism on the regression of kidney disease in the rat. *Kidney Int* 2002; 62: 885-94.
  38. Adamczak M, Gross ML, Krtil J, et al. Reversal of glomerulosclerosis after high-dose enalapril treatment in subtotaly nephrectomized rats. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2833-42.
  39. Kang DH, Kanellis J, Hugo C, et al. Role of the microvascular endothelium in progressive renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 806-16.
  40. Kang DH, Joly AH, Oh SW, et al. Impaired angiogenesis in the remnant kidney model: I. Potential role of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1434-47.
  41. Liang XB, Ma LJ, Naito T, et al. Angiotensin type 1 receptor blocker restores podocyte potential to promote glomerular endothelial cell growth. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1886-95. Epub 2006 Jun 21.
  42. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004; 25: 581-611.
  43. Hyink DP, Abrahamson DR. Origin of the glomerular vasculature in the developing kidney. *Semin Nephrol* 1995; 15: 300-14.
  44. Eremina V, Sood M, Haigh J, et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003; 111: 707-16.
  45. Iruela-Arispe L, Gordon K, Hugo C, et al. Participation of the glomerular endothelial cell in capillary repair in glomerulonephritis. *Am J Pathol* 1995; 147: 1715-27.
  46. Masuda Y, Shimizu A, Mori T, et al. Vascular endothelial growth factor enhances glomerular capillary repair and accelerates resolution of experimentally induced glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2001; 159: 599-608.
  47. Suga S, Kim YG, Joly A, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF121) protects rats from renal infarction in thrombotic microangiopathy. *Kidney Int* 2001; 60: 1297-308.
  48. Nangaku M, Alpers CE, Pippin J, et al. A new model of renal microvascular endothelial injury. *Kidney Int* 1997; 52: 182-94.
  49. Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003; 111: 649-58.
  50. Sugimoto H, Hamano Y, Charytan D, et al. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J Biol Chem* 2003; 278: 12605-8. Epub 2003 Jan 21.
  51. Rohr C, Prestel J, Heidet L, et al. The LIM-homeodomain transcription factor Lmx1b plays a crucial role in podocytes. *J Clin Invest* 2002; 109: 1073-82.
  52. Collino F, Bussolati B, Gerbaudo E, et al. Preeclamptic sera induce nephrin shedding from podocytes through endothelin-1 release by endothelial glomerular cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: F1185-94. Epub 2008 Feb 20.
  53. Bussolati B, Bruno S, Grange C, et al. Isolation of renal progenitor cells from adult human kidney. *Am J Pathol* 2005; 166: 545-55.
  54. Sagrinati C, Netti GS, Mazzinghi B, et al. Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the Bowman's capsule of adult human kidneys. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2443-56. Epub 2006 Aug 2.
  55. Lazzeri E, Crescioli C, Ronconi E, et al. Regenerative potential of embryonic renal multipotent progenitors in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 3128-38. Epub 2007 Oct 31.
  56. Bussolati B, Camussi G. Stem cells in acute kidney injury. *Contrib Nephrol* 2007; 156: 250-8.
  57. Imai N, Hishikawa K, Marumo T, et al. Inhibition of histone deacetylase activates side population cells in kidney and partially reverses chronic renal injury. *Stem Cells* 2007; 25: 2469-75. Epub 2007 Jul 19.
  58. Ito T, Suzuki A, Imai E, Okabe M, Hori M. Bone marrow is a reservoir of repopulating mesangial cells during glomerular remodelling. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2625-35.
  59. Rookmaaker MB, Smits AM, Tolboom H, et al. Bone-marrow-derived cells contribute to glomerular endothelial repair in experimental glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2003; 163: 553-62.
  60. Prodromidi EI, Poulosom R, Jeffery R, et al. Bone marrow-derived cells contribute to regeneration and amelioration of renal disease in a mouse model of Alport syndrome. *Stem Cells* 2006; 24: 2448-55. Epub 2006 Jul 27.
  61. Sugimoto H, Mundel TM, Sund M, Xie L, Cosgrove D, Kalluri R. Bone-marrow-derived stem cells repair basement membrane collagen defects and reverse genetic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 7321-6. Epub 2006 Apr 28.
  62. Uchimura H, Marumo T, Talase O, et al. Intrarenal injection of bone marrow-derived angiogenic cells reduces endothelial injury and mesangial cell activation in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 997-1004. Epub 2005 Mar 2.
  63. Rookmaaker MB, Verhaar MC, de Boer HC, et al. MET-RANTES reduces endothelial progenitor cell homing to activated (glomerular) endothelium in vitro and in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F624-30. Epub 2007 Jun 13.
  64. Kunter U, Rong S, Djuric Z, et al. Transplanted mesenchymal stem cells accelerate glomerular healing in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2202-12. Epub 2006 Jun 21.
  65. Wong CY, Cheong SK, Mok PL, Leong CF. Differentiation of human mesenchymal stem cells into mesangial cells in post-glomerular injury murine model. *Pathology* 2008; 40: 52-7.
  66. Kunter U, Rong S, Djuric Z, et al. Transplanted mesenchymal stem cells accelerate glomerular healing in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2202-12. Epub 2006 Jun 21.