

RUOLO DEL DANNO PODOCITARIO NELLA PATOGENESI DELLA GLOMERULOSCLEROSI E POSSIBILI MECCANISMI DI RIPARAZIONE

E. Ronconi, B. Mazzinghi, C. Sagrinati, M.L. Angelotti, L. Ballerini, E. Parente, P. Romagnani, E. Lazzeri, L. Lasagni

Centro Interdipartimentale di Nefrologia Cellulare e Molecolare, Centro di Eccellenza per il Trasferimento, la Ricerca e l'Alta Formazione DENOthe, Università degli Studi, Firenze

The role of podocyte damage in the pathogenesis of glomerulosclerosis and possible repair mechanisms

Converging evidence suggests that damage to podocytes plays a key role in progression towards glomerulosclerosis, in particular as the primary cause of all forms of focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), the most common glomerular disease leading to end-stage renal disease. Any damage occurring to the complex architecture of specialized proteins that constitute the podocyte foot processes, essential to the highly specialized functions of podocytes, leads inevitably to loss of function in the glomerular filtration barrier, and ultimately to proteinuria. Recent studies have also highlighted that a reduction of the podocyte number in a damaged glomerulus is a critical factor for the development of proteinuria and glomerulosclerosis. As long as the podocyte loss is limited, restitution or repair is possible, which shows that the glomerular architecture can be remodeled. However, mature podocytes have limited capacity to divide and display all the phenotypic and functional features of highly specialized, terminally differentiated cells. A potential mechanism for podocyte replacement might be stem-cell-based regeneration, since it has been established that the developmental source of podocytes are resident renal progenitors. Podocyte damage could then be potentially repaired by a stem cell population resident in the kidney. (G Ital Nefrol 2009; 26: 660-9)

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Glomerulosclerosis,
Podocyte,
Progression,
Proteinuria,
Regression,
Stem cell therapy

PAROLE CHIAVE:

Glomerulosclerosi,
Podocita,
Progressione,
Proteinuria,
Regressione,
Terapia cellulare staminale

✉ Indirizzo degli Autori:

Dr.ssa Elisa Ronconi
Centro Interdipartimentale di Nefrologia Cellulare e Molecolare
Centro di Eccellenza per il Trasferimento, la Ricerca e l'Alta Formazione DENOthe
Università degli Studi
Viale G. Pieraccini, 6
50139 Firenze
e-mail: elisa.ronconi@unifi.it

La glomerulosclerosi è il processo patologico maggiormente responsabile della progressione verso l'insufficienza renale terminale nell'uomo. Può essere originata da varie condizioni, come diabete, ipertensione, e varie forme di danno glomerulare immunomediate. Tutte insieme, queste condizioni rendono conto del 90% delle condizioni di malattia renale terminale con un costo di circa 20 miliardi di dollari all'anno negli Stati Uniti (1).

Sempre maggiori evidenze ottenute dall'identificazione di mutazioni responsabili di fenotipi glomerulari, da dati clinici bioptici e dall'utilizzo di modelli sperimentali hanno suggerito che sia il podocita, la cellula epiteliale viscerale della capsula di Bowman, a giocare un ruolo chiave nello sviluppo e nella progressione verso il danno glomerulare e la proteinuria.

In particolare, è ormai chiaro che il danno o la perdita della cellula podocitaria sono la causa primaria di tutte le forme di glomerulosclerosi focale segmentale (GSFS), la più comune patologia glomerulare che porta ad insufficienza renale terminale. È comunque noto che tutti i tipi di danno al podocita, che siano essi di tipo tossico, genetico, immunitario, infettivo, ossidativo, metabolico, emodinamico, o di altra natura, se non vengono riparati portano inevitabilmente al danneggiamento o alla perdita del podocita stesso (1). In associazione a questo danno comune, a determinare l'ampio spettro di sindromi cliniche osservate in patologia, contribuiscono poi altre condizioni come ad esempio lo stadio di sviluppo glomerulare a cui si verifica il danno, o i fattori ambientali ad esso associati. Appare quindi di fondamentale importanza la com-

pressione della biologia podocitaria, per focalizzare su questo importante tipo cellulare la ricerca di base e clinica volte al monitoraggio e alla prevenzione del danno glomerulare.

STRUTTURA DEL PODOCITA E MECCANISMI DI DANNO PODOCITARIO

Lo sviluppo e il mantenimento della struttura e della funzione glomerulare richiedono la coordinazione di tutti i tipi cellulari in esso presenti, che comprendono le cellule mesangiali, le cellule endoteliali, le cellule epiteliali parietali (CEP) e le cellule epiteliali viscerali o podociti. I podociti sono cellule altamente specializzate e differenziate in modo terminale, che possiedono limitata capacità di divisione e replicazione. La loro funzione principale è quella di supporto e mantenimento della complessa struttura detta barriera di filtrazione glomerulare, di cui sono costituenti insieme all'endotelio fenestrato dei capillari glomerulari e alla membrana basale glomerulare (MBG). I podociti possiedono infatti una serie di estroflessioni del citoplasma detti processi pedicellari, che si interdigitano con i processi pedicellari dei podociti confinanti attraverso una giunzione cellulare specializzata detta "slit diaphragm" (Fig. 1) (2). Questa complessa struttura costituisce una sorta di setaccio che ha la funzione di filtrare il sangue in preurina, permettendo il passaggio di liquidi e piccoli ioni e trattenendo componenti del plasma e proteine di alto peso molecolare. La MBG e i podociti sono inoltre carichi negativamente, perciò sono in grado di respingere proteine anioniche del siero, agendo come barriera di carica oltre che di dimensione.

Dal punto di vista molecolare, il podocita è una cellula altamente polarizzata. La sua particolare forma è dovuta ad un citoscheletro ricco in microfilamenti di actina, che costituisce il sostegno dei processi podocitari (3) e permette l'alterazione dinamica della forma del podocita. Infatti, nello "slit diaphragm", numerose proteine in grado di legare l'actina, come la sinaptopodina (4) o l' α -actinina-4 (5), sono importanti nel mantenimento della forma della cellula podocitaria, necessaria per contrastare la pressione intraglomerulare e mantenere la forma del loop capillare del glomerulo. Lo "slit diaphragm" è costituito da una serie di proteine altamente specializzate organizzate in un "dominio giunzionale" in grado di svolgerne tutte le funzioni principali (6). Una di esse è la nefrina, proteina transmembrana della superfamiglia IgG prodotta dal gene *NPHS1*, la cui coda citoplasmatica lega la podocina, codificata dal gene *NPHS2* (7); la nefrina interagisce anche con un'altra proteina detta CD2AP (8). Recentemente è stata identificata un'altra proteina

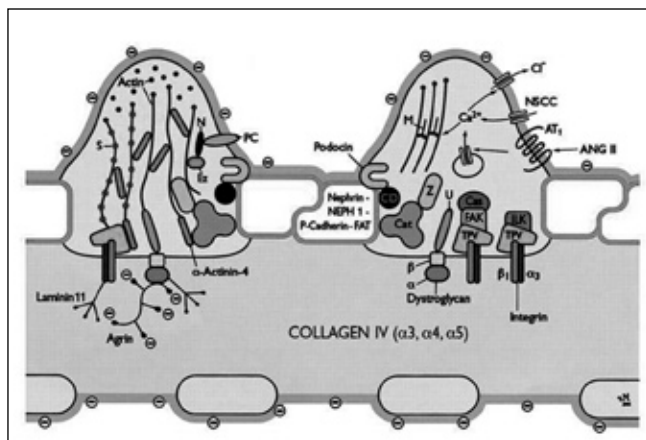


Fig. 1 - Rappresentazione schematica dei componenti molecolari presenti nei processi pedicellari. Abbreviazioni presenti in figura: Cas, p130Cas; Cat, catenine; CD, proteina associata a CD2, Ez, ezrina; FAK, chinasi della adesione focale; ILK, chinasi legata all'integrina; M, miosina; N, NHERF2; NSCC, canale cationico non selettivo; PC, podocalixina; S, sinaptopodina; TPV, talina, paxillina, vinculina; U, utropina; z, ZO-1. [Tratta da Pavenstadt H, et al. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83: 253-307 (2) e riprodotta con il permesso dell'editore]

membro della superfamiglia IgG, chiamata Neph-1, che interagisce con la nefrina, la podocina e FAT1 (9). Altre proteine importanti all'interno dello "slit diaphragm" sono ZO-1, Neph-2 e 3 e la densina (10). Anche TRPC6, un canale ionico permeabile ai cationi, riveste un ruolo critico nel mantenimento di questa struttura, in quanto interviene nei processi di modulazione del citoscheletro regolando i flussi di calcio all'interno della cellula podocitaria (11).

Sebbene tutte queste interazioni non siano ancora completamente chiare nella loro funzione, tuttavia esse appaiono indispensabili per il mantenimento della barriera di filtrazione glomerulare. La nefrina, ad esempio, per svolgere la sua funzione di trasmissione intracellulare del segnale ha bisogno di oligomerizzare in maniera omofilica tra processi pedicellari confinanti, e di interagire con la podocina a livello citoplasmatico per aumentare la trasduzione del segnale (12, 13). Molteplici evidenze suggeriscono che questa serie di eventi sia organizzata, a livello della membrana cellulare dei processi pedicellari, all'interno di strutture dinamiche dette "lipid rafts", microdomini specializzati ricchi in glicosfingolipidi e colesterolo, che sono stati associati a numerosi processi cellulari come esocitosi, endocitosi, trasduzione del segnale e adesione cellulare. È stato dimostrato che la forma oligomerizzata della nefrina si associa a questi microdomini lipidici in maniera colesterolo-dipendente, creando così piattaforme di trasduzione del segnale altamente efficienti (12). Analogamente, anche la podocina si associa ai "lipid raft" contenenti la nefrina, con la funzione di stabilizzare questi microdomini e di reclutare all'interno

di essi la nefrina stessa, promuovendone quindi la via di segnalazione intracellulare (13).

La membrana apicale del processo pedicellare forma un'altra unità funzionale, nella quale il citoscheletro di actina è associato alla podocalixina (14), un'importante proteina anionica che, con altre proteine di carica negativa, contribuisce a limitare il passaggio nella preurina di proteine cariche negativamente come l'albumina. Sulla superficie della membrana basale della cellula podocitaria si trovano invece proteine di ancoraggio alla sottostante MBG, come l'integrina $\alpha 3 \beta 1$ (15) e gli α - e β -distriglicani (16).

La complessa architettura costituita da queste proteine specializzate è indispensabile per svolgere tutte le funzioni della cellula podocitaria, perciò appare evidente che una qualsiasi alterazione di uno o più componenti di essa porta inevitabilmente alla perdita della funzionalità della barriera di filtrazione glomerulare in patologie umane o in modelli sperimentali. A seconda del tipo di danno, le glomerulopatie possono essere classificate in congenite, ereditarie ed acquisite. La sindrome nefrosica congenita di tipo Finlandese rientra nel primo gruppo, e può essere causata da più di 60 differenti mutazioni del gene *NPHS1* che portano nell'uomo alla perdita della normale struttura podocitaria e di conseguenza ad edema e proteinuria fetale, letale prima dei 2 anni di età senza trapianto d'organo (17, 18). Analogamente, topi deficienti per la nefrina sviluppano una severa sindrome nefrosica neonatale, associata a morte entro il primo giorno di vita (19). Anche CD2AP, che interagisce con la nefrina, dà origine a proteinuria in pazienti con aplousufficienza per CD2AP (20).

Tra le cause ereditarie di glomerulopatia, si possono includere mutazioni dell' α -actinina-4, che causano GSFS autosomica dominante in età adulta (5) o della podocina che causano sindrome nefrosica resistente agli steroidi e GSFS nei bambini (21). Anche mutazioni di TRPC6 portano a proteinuria ereditaria (22). È interessante però precisare che l'alterazione dell'espressione di questo gene si osserva anche in forme acquisite di sindrome nefrosica, portando all'ipotesi che alterati livelli di espressione o alterata funzionalità di TRPC6 possano contribuire alla patogenesi anche di glomerulopatie non genetiche, tramite deregolazione dei flussi di calcio a livello dello "*slit diaphragm*" (11).

La maggior parte delle glomerulopatie è comunque acquisita, e può risultare da un danno immuno o non-immuno mediato. Le forme caratteristiche di danno podocitario immuno-mediato sono la glomerulonefrite membranosa, in cui gli anticorpi che causano il danno nell'uomo sono ancora sconosciuti, e la malattia a lesioni minime, che è stata associata ad un'anomalia dei linfociti T (6). Tra le cause di danno non-immuno mediato, si possono elencare quelle infettive, come l'infezio-

ne locale podocitaria da parte del virus dell'HIV che porta alla glomerulopatia "*collapsing*" HIV-associata (23), o metaboliche, come quelle associate all'ipertensione arteriosa, alla sindrome metabolica o al diabete, che conduce alla nefropatia diabetica danneggiando il podocita oltre che la cellula mesangiale (24).

Glomerulopatie ricorrenti sono un'importante causa di danno renale terminale e di perdita d'organo a lungo termine nei riceventi di trapianto di rene. La patogenesi di queste manifestazioni, che comprendono proteinuria massiva accompagnata da perdita progressiva della funzionalità renale del paziente, si associa nel 20-30% dei casi alla GSFS, o in percentuali minori ad altre forme di danno glomerulare come la nefropatia da immunoglobuline A (IgA) o la malattia a lesioni minime (25). Con il prolungamento della sopravvivenza d'organo raggiunto attraverso nuovi agenti immunosoppressori, che hanno diminuito l'incidenza di rigetto acuto e nefropatia cronica da trapianto, questo tipo di danno ricorrente ha assunto sempre maggiore importanza, tuttavia non è ancora chiara la patogenesi che ne sta alla base. Un ruolo importante è stato attribuito da Savin et al. (26) ad un fattore di permeabilità circolante di peso molecolare tra 30 e 50 KDa, una tossina linfocitaria presente in dosi significativamente maggiori nel siero pre-trapianto di pazienti con GSFS ricorrente. Questa proteina si è dimostrata in grado di aumentare la permeabilità glomerulare all'albumina in saggi *in vitro* ed *in vivo* (26), e di indurre la redistribuzione e la perdita della nefrina e della podocina nei podociti, portando all'ipotesi che essa agisca direttamente sulla barriera di filtrazione glomerulare, alterando la fosforilazione di alcuni suoi componenti proteici e la segnalazione podocitaria (27). Dati più recenti hanno portato all'ipotesi che esistano fattori plasmatici normalmente in grado di inibire questo fattore di permeabilità, e che sia piuttosto l'assenza o la perdita di questi inibitori a causare l'alterata permeabilizzazione glomerulare; infatti, incubando siero di pazienti affetti da GSFS ricorrente con siero di donatori sani si osservano inibizione della permeabilizzazione all'albumina e prevenzione delle alterazioni podocitarie in glomeruli isolati *in vitro* (28).

Nonostante il meccanismo non sia ancora del tutto chiaro, appare evidente il ruolo chiave del podocita nella patogenesi di queste glomerulopatie. È interessante notare che il 15% dei pazienti affetti da glomerulopatie ricorrenti dopo trapianto renale presenta mutazioni del gene per la podocina o di altri geni codificanti per proteine dello "*slit diaphragm*" (29). Ciò suggerisce che l'eziologia della GSFS ricorrente sia multifattoriale, e coinvolga meccanismi sia genetici che extrarenali che hanno come bersaglio la barriera di filtrazione glomerulare.

MECCANISMI DI PROGRESSIONE VERSO LA GLOMERULOSCLEROSI

Qualunque sia il danno a cui viene sottoposto il podocita, nell'uomo e nei modelli animali al microscopio elettronico si osservano vacuolizzazione, presenza di corpi di inclusione citoplasmatici, distacco dalla MBG, associati ad un cambiamento della forma della cellula chiamato retrazione o "effacement". Questo cambiamento consiste in un graduale appiattimento dei processi podocitari, che si retraggono e si accorciano, perdendo le interdigitazioni con i processi delle cellule confinanti (6). Il podocita è una cellula differenziata in modo terminale, non in grado di dividersi; di conseguenza, se il danno è tale da indurre la morte, la perdita è irreparabile e riduce il numero di podociti all'interno della barriera di filtrazione glomerulare (Fig. 2). È ormai opinione comune che ci sia un numero finito di podociti per glomerulo e che queste cellule coprano ognuna specifiche aree della MBG; perciò, quando il numero dei podociti diminuisce, le cellule rimanenti, incapaci di proliferare, non riescono a coprire la specifica area denudata. Quando un podocita muore, la regione della MBG normalmente coperta da questa cellula rimane esposta (30) e prende contatto con le cellule epiteliali parietali della capsula di Bowman, dando luogo ad adesioni dette sinechie. Se la deplezione podocitaria progressiva persiste nel tempo o il danno glomerulare è severo, questo si assocerà con una progressiva glomerulosclerosi (Fig. 2). In corso di patologia glomerulare, nelle urine dei pazienti con proteinuria si rilevano cellule podocitarie e proteine specifiche del podocita, tipicamente invece assenti nei soggetti sani o in pazienti affetti da patologie non glomerulari (31-33). È interessante sottolineare che molti di questi podociti rilevati nelle urine in corso di danno glomerulare sono ancora vitali (34, 35). Yu et al. (36) hanno dimostrato che la presenza dei podociti nelle urine è un marcatore di danno podocitario più sensibile rispetto alla proteinuria.

Vi sono però evidenze che, se il danno glomerulare è lieve o transitorio, o intervengono meccanismi di riparazione/rigenerazione, il numero dei podociti non cambia e il glomerulo ha la capacità di recuperare una funzione e una struttura normale (Fig. 2).

IL NUMERO DEI PODOCITI CONTRIBUISCE ALLA GLOMERULOSCLEROSI

È quindi ormai sempre più evidente che il numero dei podociti in un glomerulo è un fattore critico per lo sviluppo della glomerulosclerosi: la riduzione del numero di queste cellule nel nefrone contribuisce progressivamente allo sviluppo di proteinuria e danno re-

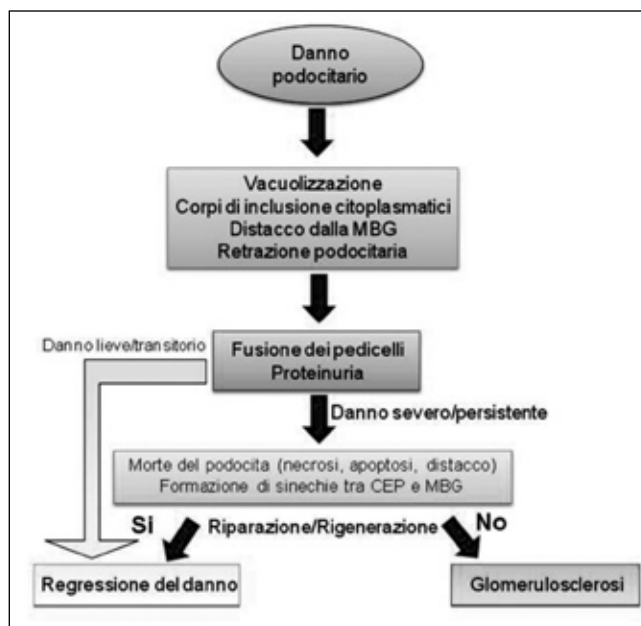


Fig. 2 - Danno podocitario e progressione verso la glomerulosclerosi. A seguito di un danno podocitario, si osservano vacuolizzazione, presenza di corpi di inclusione citoplasmatici e distacco dalla MBG, associati ad un cambiamento della forma chiamato retrazione podocitaria. Questo tipicamente risulta in fusione dei pedicelli e proteinuria. Il destino dei podociti dipende a questo punto da diversi fattori, quali l'entità e la persistenza del danno e dall'instaurarsi di eventi riparativi/rigenerativi. Se il danno è lieve/transitorio si può avere una risoluzione con recupero di una normale funzione e struttura glomerulare. Quando il danno è invece severo/persistente si ha morte podocitaria, diminuzione del numero dei podociti, esposizione di regioni della MBG e formazione di sinechie. Il mancato intervento di processi riparativi conduce alla glomerulosclerosi

nale cronico. Kim et al. (37) hanno infatti dimostrato che l'insorgenza di glomerulosclerosi correla con la perdita podocitaria nell'ambito del normale processo fisiologico di invecchiamento nel ratto; in questi animali, l'iniezione della tossina podocitaria PAN (puromicina aminonucleoside) provoca una massiva perdita podocitaria, e le regioni del glomerulo prive di podociti sviluppano glomerulosclerosi. Gli stessi Autori successivamente hanno studiato la deplezione podocitaria associata alla glomerulosclerosi in ratti in cui l'iniezione della tossina della difterite (DT) porta a morte dei podociti in maniera dose-dipendente (38). I risultati dei dati ottenuti in questo lavoro sono riassunti in Figura 3. Nei ratti con una perdita podocitaria minore del 20% gli Autori hanno osservato solo una proteinuria transitoria e una funzionalità renale stabile. Nei ratti con perdita podocitaria tra il 20 e il 40% si è verificata invece una risposta cicatriziale, con formazione di sinechia e bassi livelli di proteinuria. Nei ratti con una deplezione podocitaria maggiore del 40% la proporzione dei glomeruli con adesioni alla capsula di Bowman incrementa rapidamente, e si osserva un aumento della proporzione di glomeruli con perdita podocitaria segmentale con transizione da glomeru-

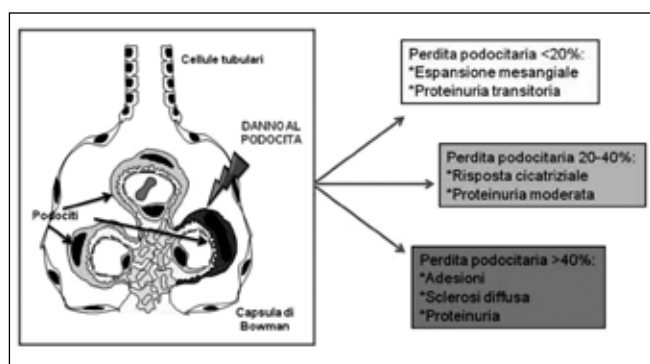


Fig. 3 - Correlazione fra perdita podocitaria e glomerulosclerosi Wharram et al. (38) ipotizzano che, a seguito di danno podocitario, finché la perdita all'interno di un singolo glomerulo è <20%, sono possibili la regressione o riparazione del danno; una perdita podocitaria compresa tra il 20 e il 40% dei podociti di un glomerulo risulta invece associata ad una risposta cicatriziale, mentre a livelli superiori al 40% i glomeruli diventano sclerotici e perdono la capacità di filtrazione. Questi differenti stadi di deplezione podocitaria sono accompagnati da gradi corrispondenti di proteinuria e di riduzione della funzionalità renale.

losclerosi a sclerosi diffusa, associata a proteinuria e perdita di funzionalità renale. Secondo questa teoria quindi la perdita podocitaria entro il 40% sembra essere la soglia limite per evitare la glomerulosclerosi, mentre una morte podocitaria che supera il 40% è lo stadio oltre il quale la glomerulosclerosi appare irreversibile (Fig. 3).

Nell'uomo, è stata osservata una diminuzione del numero dei podociti associata a malattie glomerulari diabetiche o non (39, 40). Inoltre, man mano che la malattia glomerulare progredisce nella GSFS, nel diabete, nella glomerulonefrite membranoproliferativa, nella nefropatia IgA e nella nefrite lupica, i podociti possono essere rilevati in numero sempre maggiore nelle urine (34, 41). Questo contribuisce all'ipotesi che, in queste condizioni, la perdita podocitaria sia correlata con la progressione della malattia glomerulare.

È POSSIBILE RIGENERARE IL DANNO GLOMERULARE?

Recentemente è stata oggetto di intenso dibattito la capacità di rigenerazione dei nefroni danneggiati; gli studi condotti su questo argomento conducono alla conclusione che le possibilità di riparazione del danno glomerulare sono piuttosto limitate. È utile distinguere tra lesioni endo- o extra-capillari: finché il danno resta limitato al compartimento endocapillare, può andare incontro a rigenerazione con completa restituzione della funzionalità, oppure a riparazione, residuando una cicatrice mesangiale. Questo dipende dalla capacità delle cellule endoteliali e mesangiali, che compongono questo compartimento, di migrare nella sede del danno e proliferare riparando la lesione; anche i podociti intervengono in questo processo, promuoven-

do la crescita dei capillari attraverso l'attivazione di cascate di segnale che aumentano la proliferazione e la migrazione delle cellule endoteliali (42). Tuttavia, quando la lesione coinvolge il compartimento extra-capillare, con formazione di adesioni tra la matassa capillare e la capsula di Bowman, le capacità rigenerative sono molto più limitate, e portano al massimo alla formazione di una cicatrice aderente (42).

Alcuni tipi di danno renale, come la glomerulonefrite rapidamente progressiva, evolvono molto rapidamente verso la malattia renale terminale; altre nefropatie progrediscono meno velocemente, tuttavia il loro destino è quello di evolvere anch'esse allo stadio terminale. Recenti studi condotti su modelli animali hanno dimostrato che il trattamento con ACE-inibitori o con antagonisti del recettore dell'angiotensina II (Ang II) possono fare diminuire la proteinuria e far regredire la glomerulosclerosi. In particolare è stato osservato che in un modello genetico di nefropatia progressiva, combinando ACE-inibitori e farmaci che bloccano il recettore dell'Ang II (43), la riduzione della sclerosi glomerulare è molto evidente, in particolare nei glomeruli nei quali la lesione è meno severa. Ciò dimostra che ci può essere una modificazione dell'architettura glomerulare con la rigenerazione del *network* dei capillari (44). Tra i mediatori coinvolti nella regressione della sclerosi un possibile candidato è l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1), considerato il suo ruolo - potentemente indotto dall'Ang II - di inibizione della degradazione della matrice. PAI-1 aumenta durante lo sviluppo della sclerosi, mentre in ratti ai quali è stato somministrato un ACE-inibitore, l'espressione di questo mediatore diminuisce progressivamente (44).

Alcuni studi, utilizzando particolari tecniche di "imaging" in modelli animali, hanno dimostrato che è possibile quantificare l'estensione della sclerosi e la rigenerazione della matassa glomerulare dopo trattamento farmacologico. L'analisi tridimensionale della matassa capillare ha dimostrato il riassorbimento della sclerosi e la rigenerazione del tessuto dopo trattamento con alte dosi di ACE-inibitori in ratti con nefropatia avanzata. Il trattamento riduce il volume della sclerosi nella maggior parte dei glomeruli e incrementa il volume dei capillari intatti fino al 40%. Questi cambiamenti strutturali hanno consentito al rene di riacquistare la funzionalità nel tempo (44).

I meccanismi responsabili della regressione della sclerosi comprendono l'inibizione del fattore di crescita tumorale- β (TGF- β) e il decremento della concentrazione di PAI-1. Il blocco dell'Ang II limita l'espressione di TGF- β , che a sua volta sopprime il fattore di crescita epatocitario (HGF). Perciò si potrebbe speculare che gli ACE-inibitori esercitino il loro effetto benefico preservando la via di riparazione del rene HGF-dipendente. Molte evidenze hanno dimostrato che negli

animali gli ACE-inibitori prevengono sia il danno tubulare che glomerulare upregolando l'espressione di mRNA di HGF (44). HGF può essere il cardine della rigenerazione renale poiché induce la proliferazione delle cellule renali e limita l'apoptosi, e inoltre possiede proprietà chemiotattiche sui progenitori o cellule staminali.

RUOLO DEI PROGENITORI RENALI NELLA RIGENERAZIONE PODOCITARIA

Mentre è noto che in alcune circostanze le cellule glomerulari, mesangiali ed endoteliali proliferano, è ritenuto che i podociti, cellule differenziate in modo terminale, non siano in grado di replicarsi (45), rendendo improbabile che la formazione di nuovi segmenti glomerulari possa verificarsi semplicemente attraverso la replicazione delle cellule residenti. Non è ancora chiaro quindi se i podociti possano essere rimpiazzati durante la vita adulta e, se ciò accade, in che modo e con quale frequenza avvenga (Fig. 4). Un potenziale meccanismo di sostituzione podocitaria, rappresentato dalla migrazione di cellule staminali dal midollo osseo, è stato proposto in un modello animale di malattia di Alport, in cui gli animali, caratterizzati da un'anomalia della MBG da sintesi difettosa della catena $\alpha 3$ del collagene di tipo IV (Col4 $\alpha 3$), sviluppano progressione verso la glomerulosclerosi, con perdita della funzionalità renale (46). Nello stesso modello, utilizzando il trapianto di midollo osseo totale da animali *wild-type* ad animali Col4 $\alpha 3$ -/-, sia Prodromidi et al. (47) che Sugimoto et al. (48) hanno dimostrato la presenza nel rene danneggiato di podociti e cellule mesangiali derivati dal midollo osseo, accompagnati dalla nuova espressione delle catene di collagene difettose e da un miglioramento dell'istologia e della funzione renale. Tuttavia, in un recente studio Katayama et al. (49) hanno verificato che la sola irradiazione di questi animali prima del trapianto di midollo è sufficiente ad incrementare la sopravvivenza, con un beneficio correlato non tanto alla terapia cellulare, quanto piuttosto all'attenuazione della componente infiammatoria dominante nell'induzione e nella progressione di questo tipo di danno. Altri studi basati sull'utilizzo di staminali mesenchimali hanno inoltre suggerito che l'iniziale effetto benefico di queste cellule nel preservare i glomeruli danneggiati e mantenere la funzione renale sia controbilanciato da un parziale errato differenziamento a lungo termine delle cellule integrate nei glomeruli danneggiati in adipociti, accompagnato da sclerosi glomerulare (50). Recentemente poi è stato osservato che le cellule staminali da midollo osseo possono fondersi con cellule differenziate in vari organi adulti, fatto che complica

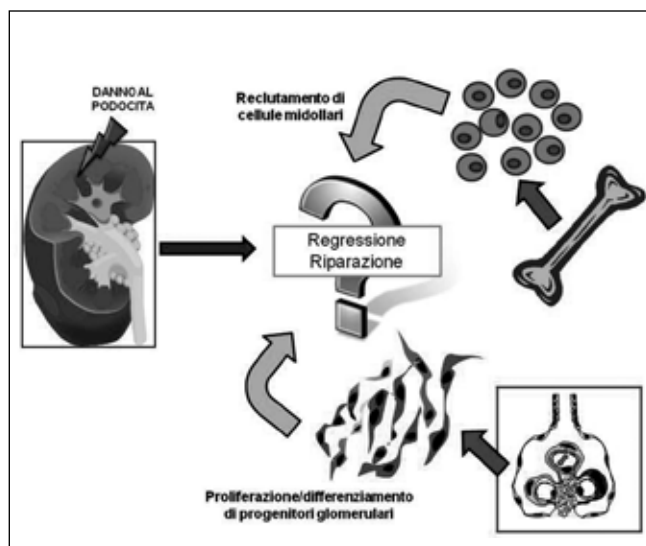


Fig. 4 - Possibili tipi cellulari coinvolti nella regressione e riparazione di un danno podocitario. Un potenziale meccanismo di sostituzione cellulare a seguito di danno podocitario potrebbe essere rappresentato dal reclutamento e dalla migrazione di cellule staminali dal midollo osseo (47, 48); in alternativa, il danno ai podociti potrebbe essere riparato da un compartimento staminale residente, tramite proliferazione e differenziamento di progenitori glomerulari (57-59).

ulteriormente l'interpretazione di questi studi basati sul trapianto di midollo osseo (51).

Comunque, è ormai stabilito che la fonte di sviluppo della popolazione podocitaria è rappresentata da progenitori renali residenti (Fig. 4). Negli ultimi anni sono state isolate varie popolazioni di possibili cellule staminali residenti nel rene adulto, in particolare a livello interstiziale (52-55), ma questa localizzazione è stata recentemente messa in discussione da Humphreys et al. (56): in questo studio, utilizzando topi transgenici per il regolatore trascrizionale Six2 in cui sono marcate le cellule di derivazione epiteliale del nefrone, ma non il compartimento interstiziale, gli Autori hanno osservato che dopo danno tubulare l'epitelio riparato si mantiene marcato, supportando così il concetto che la riparazione dell'epitelio tubulare è dovuta a proliferazione di cellule epiteliali adiacenti o all'intervento di cellule staminali/progenitrici localizzate all'interno del nefrone marcato, non al compartimento interstiziale.

Una serie di studi recenti ha permesso l'identificazione di un compartimento di cellule staminali/progenitori nel rene normale umano adulto (57-59). Queste cellule, localizzate al polo urinario della capsula di Bowman, sono caratterizzate dall'espressione dei marcatori di cellule staminali CD133 e CD24, ed esibiscono proprietà fenotipiche e funzionali tipiche delle cellule staminali. *In vivo* queste cellule sono in grado di rigenerare strutture tubulari di differenti porzioni del nefrone (57); inoltre, in seguito a danno glome-

ulare mostrano un potenziale rigenerativo verso il fenotipo podocitario e migliorano la funzionalità di glomeruli murini danneggiati (59). Da questa serie di lavori è interessante notare che le cellule staminali CD133+CD24+ sono localizzate nella capsula di Bowman in una posizione di stretta contiguità da un lato con le cellule tubulari prossimali dall'altra con i podociti. Questa particolare localizzazione anatomica ha fornito l'ipotesi che esse fossero in grado di generare podociti attraverso la loro divisione e migrazione lungo la capsula di Bowman verso il polo vascolare del glomerulo, rappresentando così una sorgente di *turnover* podocitario (59). Ciò permette di ipotizzare che il rene possa racchiudere un "sistema renopoietico", con progenitori bipotenti localizzati al polo urinario della capsula di Bowman, da cui possono partire la rigenerazione e ricostituzione sia delle cellule epiteliali glomerulari che dei tubuli. Recentemente, a conferma di ciò, Appel et al. (60) hanno identificato, attraverso un modello murino triplo-transgenico che permette la marcatura specifica ed irreversibile delle CEP dopo somministrazione di doxiciclina, una popolazione di cellule di transizione localizzata al polo vascolare del glomerulo, con caratteristiche morfologiche ed immunostochimiche miste tra cellule CEP e podociti; queste cellule della capsula in condizioni fisiologiche si sono dimostrate in grado di migrare all'interno della matassa glomerulare e differenziare a podociti. Questi risultati sono in accordo con precedenti studi che dimostrano la presenza di cellule parietali capsulari localizzate al polo vascolare del glomerulo, simili per dimensione, forma e fenotipo ai podociti viscerali, ma con funzione e ruolo sconosciuto (61). Inoltre, le cellule staminali CD133+CD24+ rappresentano i progenitori comuni di cellule tubulari e podociti nel corso dello sviluppo embrionale (62).

Questi dati nel complesso forniscono la base per ipotizzare che il danno ai podociti può essere riparato da un compartimento staminale residente, e dimostrano che la modificazione dell'architettura glomerulare è possibile. Il rene danneggiato è quindi potenzialmente in grado di rispondere ad una terapia cellulare basata sull'utilizzo di cellule staminali, perlomeno nelle fasi precoci del danno cronico, quando ancora sono preservate la funzionalità residua e l'istologia glomerulare. Cellule staminali renali residenti, capaci di autorinnovarsi e di intervenire nei processi di creazione e mantenimento dell'architettura renale, rappresentano la fonte di cellule staminali ideale per questo scopo. La terapia cellulare basata su queste cellule potrebbe essere critica nel ridurre l'incidenza e la severità delle patologie glomerulari.

TEST DI VERIFICA

1) Tra le funzioni principali dello "slit diaphragm" c'è quella di:

- Filtrare la preurina in urina
- Fornire una barriera di carica positiva per le proteine plasmatiche
- Respingere proteine cationiche del siero
- Fornire un ancoraggio del podocita alla sottostante MBG
- Permettere il passaggio di proteine ad alto peso molecolare.

2) Quali di queste cellule non sono capaci di proliferare:

- Le cellule mesangiali
- Le cellule endoteliali
- I podociti
- L'epitelio parietale della capsula di Bowman
- I linfociti.

3) Quando il podocita viene danneggiato:

- Le cellule podocitarie adiacenti ricoprono l'area di MBG denudata
- Si forma una sinechia tra MBG e cellule mesangiali
- I processi podocitari si ramificano
- Diminuiscono le cellule podocitarie nelle urine del paziente
- Al microscopio elettronico si osservano vacuolizzazione e corpi di inclusione citoplasmatici.

4) La regressione della glomerulosclerosi si può avere:

- Se la perdita podocitaria supera il 40%
- Se la perdita podocitaria è compresa tra il 40 e il 60%
- Se la perdita podocitaria è inferiore al 20%
- Sempre
- Mai.

5) Il trattamento con ACE-inibitori in corso di glomerulosclerosi:

- Induce un aumento della proteinuria
- Provoca una riduzione dei capillari glomerulari intatti
- Provoca l'attivazione di TGF- β
- Non riduce la sclerosi glomerulare
- Provoca il decremento di PAI-1.

6) In una lesione endocapillare:

- Non c'è mai risposta cicatriziale
- Non c'è coinvolgimento di cellule endoteliali
- Si formano adesioni tra matassa capillare e capsula di Bowman
- Le capacità rigenerative sono molto più limitate rispetto alla lesione extra-capillare

e. Il podocita promuove la crescita dei capillari attraverso l'attivazione di cascate di segnale che aumentano la proliferazione e la migrazione delle cellule endoteliali.

7) Il modello animale di malattia di Alport:

- a. È caratterizzato da un difetto del gene della podocina
- b. Non può essere utilizzato in studi di terapia cellulare
- c. Non sviluppa spontaneamente progressione verso la glomerulosclerosi
- d. Non è caratterizzato da difetti della MBG
- e. È caratterizzato da sintesi difettosa della catena $\alpha 3$ del collagene tipo IV.

8) Popolazioni di progenitori renali residenti:

- a. Sono state localizzate solo a livello della papilla renale
- b. Sono in grado di rigenerare cellule podocitarie
- c. Non sono in grado di rigenerare strutture tubulari
- d. A lungo termine differenziano in adipociti in vivo
- e. Non migliorano la funzionalità di glomeruli danneggiati *in vivo*.

9) I progenitori renali CD133+CD24+:

- a. Si localizzano al polo urinario della capsula di Bowman
- b. Non sono presenti nel rene embrionale
- c. Si localizzano a livello interstiziale renale
- d. Si possono isolare solo in reni patologici
- e. Non sono progenitori bipotenti.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

RIASSUNTO

Sempre maggiori evidenze suggeriscono che il danno al podocita abbia un ruolo chiave nella progressione verso il danno glomerulare, in particolare come causa primaria di tutte le forme di GSFS, la più comune patologia glomerulare che porta ad insufficienza renale terminale. Una qualsiasi alterazione della complessa architettura costituita dalle proteine specializzate che compongono i processi podocitari, indispensabile per svolgere tutte le funzioni della cellula podocitaria, porta inevitabilmente alla perdita della funzionalità della barriera di filtrazione glomerulare e di conseguenza a proteinuria. Studi recenti hanno messo in luce che la riduzione del numero dei podociti in un glomerulo danneggiato è un fattore critico per lo sviluppo di proteinuria e della glomerulosclerosi. Tuttavia, finché la perdita podocitaria è limitata, possono avvenire la regressione o la riparazione del danno, a dimostrazione del fatto che il rimodellamento dell'architettura glomerulare è possibile. Comunque, i podociti maturi hanno limitata capacità di divisione e mostrano tutte le caratteristiche fenotipiche e funzionali proprie di cellule altamente specializzate e differenziate in modo terminale. Un potenziale meccanismo di sostituzione podocitaria potrebbe essere rappresentato dalla riparazione da parte di cellule staminali, dal momento che è stato stabilito che la fonte di rigenerazione podocitaria è costituita da progenitori renali residenti. Il danno ai podociti potrebbe essere quindi potenzialmente riparato da un compartimento staminale residente nel rene stesso.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. *Kidney Int* 2007; 71: 1205-14. Epub 2007 Apr 4.
2. Pavenstädt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83: 253-307.
3. Mundel P, Reiser J, Zúñiga Mejía Borja A, et al. Rearrangements of the cytoskeleton and cell contacts induce process formation during differentiation of conditionally immortalized mouse podocyte cell lines. *Exp Cell Res* 1997; 236: 248-58.
4. Mundel P, Heid HW, Mundel TM, Krüger M, Reiser J, Kriz W. Synaptopodin: an actin-associated protein in telencephalic dendrites and renal podocytes. *J Cell Biol* 1997; 139: 193-204.
5. Kaplan JM, Kim SH, North KN, et al. Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2000; 24: 251-6.
6. Shankland SJ. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2006; 69: 2131-47. Epub 2006 May 10.
7. Huber TB, Kottgen M, Schilling B, Walz G, Benzing T. Interaction with podocin facilitates nephrin signaling. *J Biol*

- Chem 2001; 276: 41543-6. Epub 2001 Sep 18.
8. Shih NY, Li J, Cotran R, Mundel P, Miner JH, Shaw AS. CD2AP localizes to the slit diaphragm and binds to nephrin via a novel C-terminal domain. *Am J Pathol* 2001; 159: 2303-8.
9. Benzing T. Signaling at the slit diaphragm. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1382-91.
10. Ahola H, Heikkilä E, Aström E, et al. A novel protein, densin, expressed by glomerular podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1731-7.
11. Möller CC, Wei C, Altintas MM, et al. Induction of TRPC6 channel in acquired forms of proteinuric kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 29-36. Epub 2006 Dec 13.
12. Simons M, Schwarz K, Kriz W, et al. Involvement of lipid rafts in nephrin phosphorylation and organization of the glomerular slit diaphragm. *Am J Pathol* 2001; 159: 1069-77.
13. Huber TB, Simons M, Hartleben B, et al. Molecular basis of the functional podocin-nephrin complex: mutations in the NPHS2 gene disrupt nephrin targeting to lipid raft microdomains. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 3397-405. Epub 2003 Oct 21.
14. Kerjaschki D, Sharkey DJ, Farquhar MG. Identification and characterization of podocalyxin-the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J Cell Biol* 1984; 98: 1591-6.
15. Kreidberg JA, Donovan MJ, Goldstein SL, et al. Alpha 3 beta 1 integrin has a crucial role in kidney and lung organogenesis. *Development* 1996; 122: 3537-47.
16. Raats CJ, van den Born J, Bakker MA, et al. Expression of agrin, dystroglycan, and utrophin in normal renal tissue and in experimental glomerulopathies. *Am J Pathol* 2000; 156: 1749-65.
17. Tryggvason K, Ruotsalainen V, Wartiovaara J. Discovery of the congenital nephrotic syndrome gene discloses the structure of the mysterious molecular sieve of the kidney. *Int J Dev Biol* 1999; 43: 445-51.
18. Kestilä M, Lenkkeri U, Männikkö M, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin-is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998; 1: 575-82.
19. Putaala H, Soininen R, Kilpeläinen P, Wartiovaara J, Tryggvason K. The murine nephrin gene is specifically expressed in kidney, brain and pancreas: inactivation of the gene leads to massive proteinuria and neonatal death. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 1-8.
20. Kim JM, Wu H, Green G, et al. CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 2003; 300: 1298-300.
21. Boute N, Gribouval O, Roselli S, et al. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2000; 24: 349-54.
22. Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, et al. A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 2005; 308: 1801-4. Epub 2005 May 5.
23. Ross MJ, Klotman PE. Recent progress in HIV-associated nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2997-3004.
24. Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99: 342-8.
25. Musante L, Candiano G, Zennaro C, et al. Humoral permeability factors in the nephrotic syndrome: a compendium and prospectus. *J Nephrol* 2001; 14 (Suppl. 4): S48-50.
26. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, et al. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 878-83.
27. Coward RJ, Foster RR, Patton D, et al. Nephrotic plasma alters slit diaphragm-dependent signaling and translocates nephrin, Podocin, and CD2 associated protein in cultured human podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 629-37. Epub 2005 Jan 19.
28. Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Ge XL, Savin VJ. Components of normal serum block the focal segmental glomerulosclerosis factor activity in vitro. *Kidney Int* 2000; 58: 1973-9.
29. Bertelli R, Ginevri F, Caridi G, et al. Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation in patients with mutations of podocin. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 1314-21.
30. Kriz W, Elger M, Nagata M, et al. The role of podocytes in the development of glomerular sclerosis. *Kidney Int Suppl* 1994; 45: S64-72.
31. Hara M, Yanagihara T, Kihara I, Higashi K, Fujimoto K, Kajita T. Apical cell membranes are shed into urine from injured podocytes: a novel phenomenon of podocyte injury. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 408-16. Epub 2004 Dec 29.
32. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, et al. Urinary excretion of podocytes in patients with diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1379-83.
33. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, et al. Urinary podocytes for the assessment of disease activity in lupus nephritis. *Am J Med Sci* 2000; 320: 112-6.
34. 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: F40-8. Epub 2003 Mar 11.
35. Petermann AT, Pippin J, Krofft R, et al. Viable podocytes detach in experimental diabetic nephropathy: potential mechanism underlying glomerulosclerosis. *Nephron Exp Nephrol* 2004; 98: e114-23.
36. Yu D, Petermann A, Kunter U, Rong S, Shankland SJ, Floege J. Urinary podocyte loss is a more specific marker of ongoing glomerular damage than proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1733-41. Epub 2005 Apr 13.
37. Kim YH, Goyal M, Kurnit D, et al. Podocyte depletion and glomerulosclerosis have a direct relationship in the PAN-treated rat. *Kidney Int* 2001; 60: 957-68.
38. Wharram BL, Goyal M, Wiggins JE, et al. Podocyte depletion causes glomerulosclerosis: diphtheria toxin-induced podocyte depletion in rats expressing human diphtheria toxin receptor transgene. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2941-52. Epub 2005 Aug 17.
39. Lemley KV, Lafayette RA, Safai M, et al. Podocytopenia and disease severity in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2002; 61: 1475-85.
40. Steffes MW, Schmidt D, McCreery R, Basgen JM.; International Diabetic Nephropathy Study Group. Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients. *Kidney Int* 2001; 59: 2104-13.
41. Hara M, Yanagihara T, Kihara I. Urinary podocytes in primary focal segmental glomerulosclerosis. *Nephron* 2001; 89: 342-7.
42. Kriz W, LeHir M. Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases-insights from animal models. *Kidney Int* 2005; 67: 404-19.
43. Matsumoto K, Morishita R, Moriguchi A, et al. Prevention of renal damage by angiotensin II blockade, accompanied by increased renal hepatocyte growth factor in experimental hypertensive rats. *Hypertension* 1999; 34: 279-84.
44. Remuzzi G, Benigni A, Remuzzi A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. *J Clin Invest* 2006; 116: 288-96.
45. Shankland SJ, Eitner F, Hudkins KL, Goodpaster T, D'Agati V, Alpers CE. Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in human glomerular disease: role in podocyte proliferation and maturation. *Kidney Int* 2000; 58: 674-83.
46. Cosgrove D, Rodgers K, Meehan D, et al. Integrin alpha1beta1 and transforming growth factor-beta1 play distinct roles

- in alport glomerular pathogenesis and serve as dual targets for metabolic therapy. *Am J Pathol* 2000; 157: 1649-59.
47. Prodromidi EI, Poulosom R, Jeffery R, et al. Bone marrow-derived cells contribute to podocyte regeneration and amelioration of renal disease in a mouse model of Alport syndrome. *Stem Cells* 2006; 24: 2448-55. Epub 2006 Jul 27.
 48. 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.
 49. Katayama K, Kawano M, Naito I, et al. Irradiation prolongs survival of Alport mice. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1692-700. Epub 2008 May 14.
 50. Kunter U, Rong S, Boor P, et al. Mesenchymal stem cells prevent progressive experimental renal failure but maldifferentiate into glomerular adipocytes. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1754-64. Epub 2007 Apr 25.
 51. Rizvi AZ, Swain JR, Davies PS, et al. Bone marrow-derived cells fuse with normal and transformed intestinal stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 6321-5. Epub 2006 Apr 10.
 52. Maeshima A, Yamashita S, Nojima Y. Identification of renal progenitor-like tubular cells that participate in the regeneration processes of the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3138-46.
 53. Oliver JA, Maarouf O, Cheema FH, Martens TP, Al-Awqati Q. The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 795-804.
 54. Bussolati B, Bruno S, Grange C, et al. Isolation of renal progenitor cells from adult human kidney. *Am J Pathol* 2005; 166: 545-55.
 55. Dekel B, Zangi L, Shezen E, et al. Isolation and characterization of nontubular sca-1+lin- multipotent stem/progenitor cells from adult mouse kidney. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3300-14. Epub 2006 Nov 8.
 56. Humphreys BD, Valerius MT, Kobayashi A, et al. Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 284-91.
 57. 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.
 58. Mazzinghi B, Ronconi E, Lazzeri E, et al. Essential but differential role for CXCR4 and CXCR7 in the therapeutic homing of human renal progenitor cells. *J Exp Med* 2008; 205: 479-90. Epub 2008 Feb 11.
 59. Ronconi E, Sagrinati C, Angelotti ML, et al. Regeneration of glomerular podocytes by human renal progenitors. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 322-32. Epub 2008 Dec 17.
 60. Appel D, Kershaw DB, Smeets B, et al. Recruitment of podocytes from glomerular parietal epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 333-43. Epub 2008 Dec 17.
 61. Bariety J, Mandet C, Hill GS, Bruneval P. Parietal podocytes in normal human glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2770-80. Epub 2006 Aug 30.
 62. 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.