

NUOVI MECCANISMI E RECENTI ACQUISIZIONI NELLA PATOGENESI DEL DANNO RENALE ACUTO

Vincenzo Cantaluppi, Alessandro Domenico Quercia, Sergio Dellepiane, Federico Figliolini, Davide Medica, Michela De Lena

S.C.U. Nefrologia, Dialisi e Trapianti, Centro Ricerca Medicina Sperimentale (CeRMS), Università di Torino, Azienda Ospedaliera Universitaria San Giovanni Battista di Torino "Molinette", Torino

New mechanisms and recent insights in the pathogenesis of acute kidney injury (AKI)

Acute kidney injury (AKI) is a frequent complication in hospitalized patients often associated with multiple organ failure, increased mortality and progression toward chronic kidney disease. The identification of new cellular and molecular targets involved in AKI may lead to an improvement of diagnostic and therapeutic approaches. In recent years, the pathogenetic mechanisms of AKI have been fully elucidated: tubular epithelial cells and endothelial cells present in the microvasculature have been identified as the main targets of ischemia and of nephrotoxic drugs. Indeed, endothelial cell injury is associated with an extension phase of AKI, whereas tubular cells are subjected to an alteration of cell polarity, mislocalization of tight junction proteins and membrane transporters, and finally to the development of necrosis or apoptosis. Apoptosis, or programmed cell death, is also a key component of sepsis-associated AKI in which the mechanisms of tissue damage are associated not only with hypoperfusion but also with a direct detrimental effect of bacterial products and inflammatory mediators on resident kidney cells. Endothelial and tubular epithelial cells also represent the main targets in the immunological mechanisms of AKI in kidney transplantation during cell-mediated and antibody-mediated rejection. Recent studies evidenced new molecules as early biomarkers of AKI. Among these molecules, NGAL and KIM-1 play a possible role in the progression toward chronic kidney disease. Lastly, the new frontier of AKI therapy is represented by the use of bone marrow-derived mesenchymal stem cells able to induce a regenerative program in the damaged kidney.

Conflict of interest: None

Financial support: None

KEY WORDS:

Biomarkers,
Stem cells,
Acute kidney
injury,
Tubular injury,
Ischemia,
Sepsis

PAROLE CHIAVE:

Biomarcatori,
Cellule staminali,
Danno renale
acuto,
Danno tubulare,
Ischemia,
Sepsi

Indirizzo degli Autori:

Dr. Vincenzo Cantaluppi
S.C.U. Nefrologia, Dialisi e Trapianti
Università di Torino
A.O.U. San Giovanni Battista di
Torino "Molinette"
Corso Bramante 88
10126 Torino
e-mail: vincenzo.cantaluppi@unito.it

INTRODUZIONE

Il danno renale acuto (*Acute Kidney Injury*, AKI), definito come una rapida contrazione della funzione renale nella maggior parte dei casi reversibile, rappresenta una patologia frequentemente riscontrata in ambito ospedaliero (7-31% dei pazienti ospedalizzati), con elevata mortalità (sino all'83%), spesso correlata a un aumento della degenza ospedaliera per la presenza di plurime co-morbidità (1). L'uso del termine AKI ha trovato ampio spazio negli ultimi anni per meglio

definire, o a volte impropriamente sostituire, il concetto di insufficienza renale acuta (IRA) (2). Va, infatti, ricordato che con il termine di "insufficienza", utilizzato per esprimere una spesso transitoria inadeguatezza depurativa e/od omeostatica del rene, si è soliti definire un fenomeno strettamente funzionale, mentre il termine "injury" esprime meglio l'insulto organico che può in molti casi anche essere "sub-clinico". Come noto, sulla base dell'eziologia è possibile discernere classicamente tre diverse tipologie di IRA: pre-renale, renale e post-renale, caratterizzate da protocolli terapeutici e

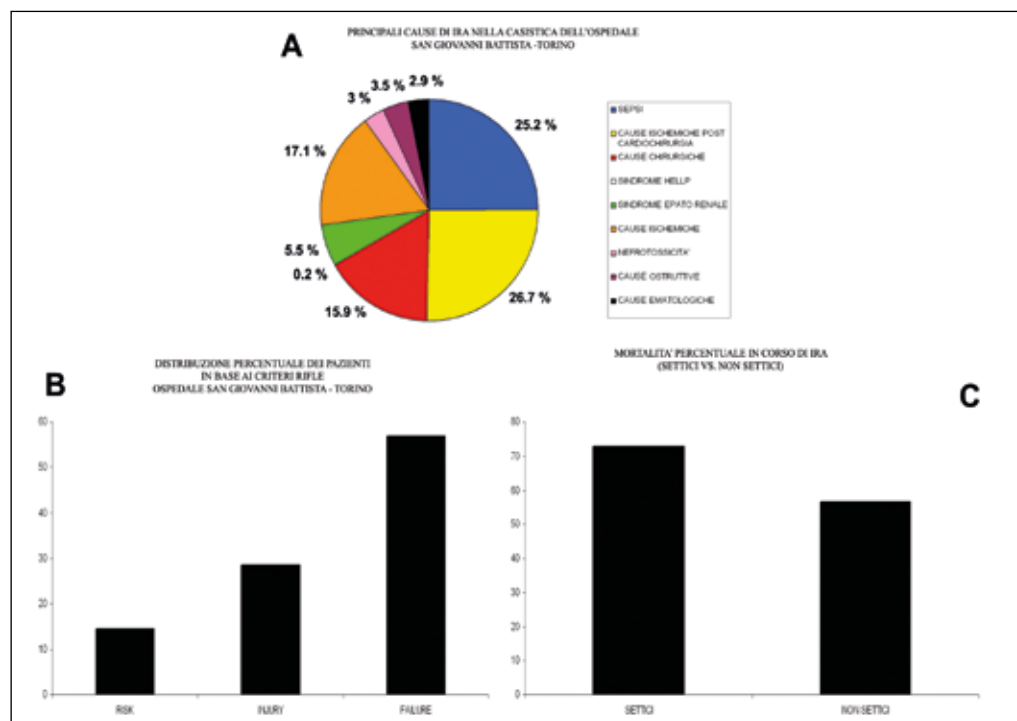


Fig. 1 - Analisi retrospettiva dei pazienti trattati per AKI presso l'AOU San Giovanni Battista "Molinette" di Torino nel periodo 2001-2010. A) Principali cause di AKI. B) Suddivisione dei pazienti trattati per AKI in base allo score RIFLE. C) Differenza di mortalità tra pazienti settici e non settici trattati per AKI.

gestionali differenti (1-3). L'IRA pre-renale (70% dei casi) avviene in seguito a riduzione della volemia, vasodilatazione patologica come nella sepsi, aumento delle resistenze vascolari renali, cirrosi epatica, scompenso cardiaco, sequestro di liquidi e vasocostrizione correlata a cause iatrogene (4, 5). L'IRA da causa renale o intrinseca (25%) è prevalentemente rappresentata (circa 70-80% dei casi) dalla necrosi tubulare acuta (ATN) da cause tossiche o ischemiche. Infine, circa il 5% dei casi di IRA è correlato a cause ostruttive (6, 7).

L'analisi della mortalità nei pazienti con AKI in Terapia Intensiva si attesta intorno al 60%, con un picco del 70-75% nei pazienti settici o con AKI post-interventi di cardiocirurgia (3, 7). Inoltre, diversi studi hanno dimostrato come in seguito a episodi di AKI si possa instaurare un quadro di "memoria uremica", ovvero un insieme di alterazioni patologiche che aumentano il rischio di evoluzione verso l'insufficienza renale cronica e l'aumento della mortalità a breve e a lungo termine (8). I risultati di un'analisi retrospettiva dei pazienti trattati per AKI nel nostro centro hanno confermato l'incidenza di elevata mortalità e progressione verso il danno renale cronico dei pazienti con AKI. Nel periodo 2001-2010, abbiamo trattato con metodiche sostitutive 1833 pazienti con AKI in terapia intensiva, dei quali il 64.7% era di sesso maschile e con età media 66.4 ± 11.5 anni: come rappresentato nella Figura 1A, le principali cause di AKI nei nostri

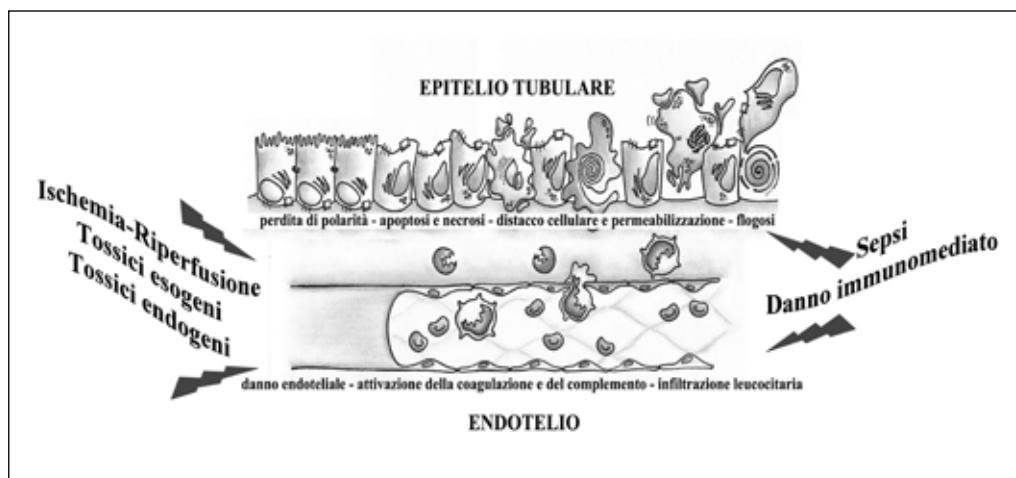
pazienti ricalcavano quelle descritte in letteratura ed erano rappresentate principalmente da interventi cardiocirurgici (26.7%) e sepsi (25.2%). In base allo score RIFLE (Fig. 1B), la maggior parte dei pazienti faceva parte del gruppo *Failure* (56.8%) con livelli di creatinemia media all'avvio del trattamento dialitico di 3.8 ± 1.9 mg/dL. A un mese dalla diagnosi di AKI, la mortalità globale era pari a 1257/1833 (68.6%); inoltre, tra i settici, la mortalità era maggiore rispetto ai non settici (72.9% vs 56.7%, $p < 0.05$) (Fig. 1C). Infine, i pazienti sopravvissuti a 28 giorni dalla diagnosi di AKI mostravano dei livelli di creatinemia superiori alla norma in circa il 60-70% dei casi.

Su tali basi, appare evidente che l'identificazione di nuovi meccanismi e target cellulari/molecolari coinvolti nella fisiopatologia delle diverse tipologie di AKI potrebbe consentire un miglioramento della prognosi e limitare la progressione verso il danno renale cronico.

MECCANISMI PATOGENETICI DEL DANNO RENALE ACUTO ISCHEMICO

Negli ultimi anni, i meccanismi patogenetici dell'AKI sono stati ben identificati a livello cellulare. La maggior parte delle più recenti acquisizioni in questo campo deriva dallo studio del danno da ischemia-riperfusionne; tuttavia, i vari tipi di AKI condividono i meccani-

Fig. 2 - Meccanismi patogenetici fondamentali delle diverse tipologie di AKI: fisiopatologia del danno tubulare e del microcircolo.



smi fondamentali riassunti in questo paragrafo e nella Figura 2.

Le alterazioni organiche di maggior rilievo patogenetico avvengono a carico delle cellule endoteliali e dell'epitelio tubulare. Infatti, in seguito ad AKI di tipo ischemico, le cellule endoteliali dei capillari glomerulari e peritubulari perdono il glicocalice, espongono molecole di adesione (ICAMs, VCAMs, selectine), re-traggono i loro processi cellulari tramite attivazione del citoscheletro ed espongono la membrana basale al flusso ematico (9). L'insieme di queste alterazioni causa attivazione miointimale con vasocostrizione, richiamo di cellule infiammatorie, edema interstiziale e attivazione dei sistemi della coagulazione e del complemento. La disfunzione endoteliale risulta, pertanto, elemento cardine dell'AKI, soprattutto in corso di ischemia e sepsi. Questo epifenomeno comporta una rapida caduta del flusso ematico che si aggiunge alla *noxa* primitiva ed è pertanto identificato come *fase di estensione* dell'AKI (10).

Le cellule epiteliali tubulari si trovano fisiologicamente in uno stadio sub-ipossico, in quanto perfuse da arteriole già capillarizzate. In questo contesto, il regime di flusso controcorrente nel parenchima renale crea un gradiente di concentrazione dell'O₂ con ipossia tanto maggiore quanto più si scende nella regione midollare. Le cellule della midollare interna sono, tuttavia, scarsamente attive da un punto di vista metabolico, pertanto la porzione più suscettibile al danno acuto ipossico è la midollare esterna (segmento S3 prossimale e tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle). Nelle fasi precoci del danno, le cellule tubulari vanno incontro a una rapida deplezione dell'ATP intracellulare, da cui derivano profondi riarrangiamenti strutturali. Il citoscheletro viene

completamente alterato con redistribuzione dell'actina, viene meno la polarità cellulare e il *brush border* viene perso nel lume tubulare per esocitosi (*shedding*). A livello delle giunzioni cellulari, le *tight junction* sono regolate dalle GTPasi della famiglia Rho e, pertanto, la caduta della concentrazione di GTP porta alla loro rapida retrazione (11). Questa complessa serie di alterazioni cellulari causa apoptosi da perdita del contatto intercellulare, necrosi, ma anche distacco dalla membrana basale tubulare di cellule vitali. Nel lume tubulare si accumulano pertanto cellule necrotiche, cellule vitali e corpi apoptotici. Tali detriti rimangono imprigionati nei polimeri reticolari della proteina di Tamm Horsfall (THP), generando i cast che sono un elemento patognomonico del danno tubulare acuto (9).

La morte cellulare programmata, o apoptosi, delle cellule tubulari è un fattore chiave nella fisiopatologia dell'AKI. L'apoptosi può essere indotta dall'attivazione della via mitocondriale con liberazione del citocromo c o mediata da sistemi recettoriali specifici (TNF/TNF-Receptor e FAS/FAS-Ligand). L'effetto finale di entrambe le vie è quello di attivare le caspasi effettrici del danno cellulare. Le proteine regolatrici della membrana mitocondriale appartengono alla superfamiglia di BCL2 e sono suddivise in proteine pro-apoptotiche permeabilizzanti la membrana e proteine protettive della stessa; nell'epitelio il rapporto di attivazione Bax/Bcl2, anche definito reostato dell'apoptosi, è frutto di un equilibrio finemente regolato da proteine che agiscono nell'immediato (kinasi, fosfatasi ed enzimi di degradazione) e fattori di trascrizione che agiscono nell'arco di ore modificando l'espressione genica (9, 12).

Alle alterazioni organiche del danno renale si asso-

ciano le alterazioni funzionali. Infatti, l'AKI ischemico si instaura quando il deficit di ossigenazione oltrepassa la capacità di compenso renale e quando il danno funzionale diventa organico. Con il cessare dell'ischemia e l'inizio della riperfusione renale, il ristabilirsi della normale tensione di O₂ nel tessuto danneggiato induce la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che possono perpetuare il danno (13). Inoltre, le cellule infiammatorie possono infiltrare il rene ischemico contribuendo a un ulteriore danno istologico e funzionale legato al rilascio di mediatori solubili tossici (14). Nonostante i neutrofili siano le prime cellule richiamate nei tessuti ischemici essendo in grado di infarcire l'endotelio vascolare nei primi stadi del processo infiammatorio, recenti studi hanno evidenziato il ruolo dei linfociti T e B e dei macrofagi nel danno da ischemia e riperfusione. In particolare, i linfociti T CD4⁺ sono degli importanti effettori di AKI ischemico attraverso l'attivazione di IFN-gamma e di molecole di costimolazione (14). Al contrario, altri tipi linfocitari come i T regolatori CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ (Tregs) sembrano svolgere un ruolo protettivo nell'AKI ischemico attraverso la modulazione del rilascio di citochine pro-infiammatorie da altri subset linfocitari T attivati (15).

RECENTI ACQUISIZIONI NEL DANNO NEFROTOSICO

Molte sostanze endogene ed esogene sono in grado di esercitare un'azione tossica diretta sulle cellule residenti nel rene, in particolare sull'epitelio tubulare (Tab. I). Recenti studi hanno identificato i meccanismi molecolari specifici di AKI legati a particolari agenti dotati di nefrotossicità.

I pazienti oncologici, per esempio, possono sviluppare AKI per diverse cause, in primo luogo per le terapie adottate (16). Tra gli agenti chemioterapici, il cisplatino può essere responsabile di AKI nel 20% dei casi ed esplica la sua nefrotossicità soprattutto sui tubuli prossimali, attraverso l'attivazione di *pathway* intracellulari regolati da una serie di chinasi serina/treonina (MAPK) che modulano proliferazione cellulare, differenziazione e sopravvivenza interagendo con ERK, p38 e JNK/SAPK (17). I meccanismi di danno sono mediati da *stress* ossidativo, apoptosi e infiammazione con produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS). Il cisplatino è in grado di favorire apoptosi anche mediante attivazione di Fas/Fas-Ligand e favorisce l'infiammazione locale facendo aumentare i livelli di IL1 β , nuclear factor KB, MCP-1, ICAM, RANTES e, soprattutto, TNF-R1 e 2 (17). Infine, è stata evidenziata la perdita di espressione del recettore endocitico megalina sul lume tubulare: tale recettore è fondamentale

TABELLA I - ELENCO DELLE SOSTANZE NEFROTOSICHE

Mezzo di contrasto iodato	
Antibiotici	Aminoglicosidi Penicilline Cefalosporine Vancomicina Sulfonamidi
Antimicotici	Amfotericina
Antivirali	Aciclovir Antiretrovirali
Inibitori delle calcineurine	Tacrolimus Ciclosporina
Fattori anti-angiogenetici	Anticorpi anti-VEGF
Farmaci antineoplastici	Cisplatino
Sostanze vegetali	Erbe cinesi, tossine di funghi, ecc.
Metalli pesanti	Piombo, mercurio, arsenico, ecc.
Solventi organici	Glicole etilenico, tetracloruro di carbonio

FANS, ACE inibitori, Sali d'oro

VEGF: vascular endothelial growth factor.

per l'internalizzazione di albumina e per il riassorbimento proteico ed è potenzialmente implicato nella proteinuria tubulare tipica dei pazienti trattati con cisplatino (18, 19).

L'angiogenesi è divenuta un nuovo *target* della terapia antineoplastica, con lo sviluppo di molteplici agenti in grado di interagire con VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), uno dei più potenti fattori di crescita endoteliali (20). Farmaci come bevacizumab, sorafenib o sunitinib sono in grado di interagire con il recettore del VEGF, ma il loro utilizzo è frequentemente complicato da proteinuria (nel 41% dei casi) e ipertensione (43%) (20). Una minima quota di pazienti (<10%) sviluppa AKI con aspetti istologici molto simili a quelli riscontrati nella sindrome emolitico-uremica, caratterizzata in particolare dalla presenza di endoteliosi. VEGF viene prodotto dai podociti e agisce a livello vascolare mediante legame con recettori presenti sulle cellule endoteliali (VEGFR-1 e 2, Flt-1 e Flk-1). L'inibizione farmacologica di VEGF comporta l'alterazione della barriera di filtrazione con successiva proteinuria correlata alla perdita delle fenestrate endoteliali

nei capillari glomerulari, proliferazione di cellule endoteliali glomerulari e perdita dell'integrità strutturale dei podociti, legata in particolare alla diminuzione di espressione della nefrina, la proteina presente a livello dello *slit diaphragm* ed essenziale per il corretto funzionamento del filtro glomerulare (21).

Alcuni tipi di tumori, prevalentemente ematologici, si associano frequentemente ad AKI. In particolare, le catene leggere delle immunoglobuline anomale prodotte in corso di discrasie plasmacellulari inducono danno tubulare. L'interessamento renale in corso di discrasia plasmacellulare può arrivare sino al 50% e rappresenta una co-morbilità di rilievo in questi pazienti dopo le infezioni (28%) (22). Una volta filtrate a livello del glomerulo, le catene leggere sono riassorbite dal tubulo prossimale per mezzo del sistema di trasporto cubulina/megalina (22). Un eccesso di catene leggere comporta maggiore eliminazione urinaria delle stesse e la loro stimolazione sulle cellule tubulari è alla base dell'eccessiva produzione di enzimi idrolitici lisosomiali con danno tubulare legato alla formazione di vacuoli, frammentazione e apoptosi (22). Inoltre, l'endocitosi delle catene leggere stimola la produzione di citochine (IL6, IL8, TNF- α) con successiva reazione infiammatoria e produzione di TGF- β con conseguente fibrosi e atrofia interstiziale (23). Il principale meccanismo di induzione dell'apoptosi mediata dalle catene leggere sarebbe imputabile al fatto che la loro endocitosi attiverebbe c-Src con conseguente stimolo pro-infiammatorio mediante attivazione di NF-kB (24).

Un'altra tipologia di pazienti a rischio di sviluppo di AKI sono i portatori di trapianti di organo solido a causa dell'uso di farmaci dal comprovato effetto nefrotossico come gli inibitori delle calcineurine (CNI). I CNI, infatti, possono favorire alterazioni vascolari per vasocostrizione delle arteriole afferenti, aumento dei fattori vasocostrittori (endotelina, trombossano) con attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAA) per mezzo della stimolazione delle cellule iuxtaglomerulari, riduzione dei vasodilatatori (prostaciclina, prostaglandine, NO) e produzione di radicali liberi dell'ossigeno (25). Il ruolo degli agenti vasocostrittori nel peggioramento funzionale renale acuto in corso di CNI è stato dimostrato dal miglioramento funzionale renale in animali da esperimento trattati con CNI stessi e con anticorpi anti-endotelina. Inoltre, i CNI possono stimolare il sistema nervoso simpatico con ulteriore vasocostrizione e riduzione del GFR (25). Sui tubuli, l'effetto nefrotossico dei CNI è stato associato a vacuolizzazione isometrica del citoplasma come risultato di un allargamento del reticolo endoplasmatico e di un aumento dei lisosomi: spesso, infatti, sono messi in evidenza dei corpi inclusi rappresentati da mitocondri di maggiori dimen-

sioni e lisosomi. Attraverso l'accumulo di p53, i CNI possono inibire il ciclo cellulare delle cellule epiteliali tubulari (25). La ridotta espressione di un isoenzima del citocromo P epatico chiamato CYP3A5 presente anche a livello tubulare soprattutto prossimale può essere un ulteriore fattore di rischio per lo sviluppo di nefrotossicità da CNI, verosimilmente per ridotta capacità di detossificazione intrarenale (26). Il coinvolgimento tubulare prossimale in corso di CNI è stato confermato dall'incremento nella concentrazione urinaria di proteine quali retinol binding protein (RBP) o alcuni enzimi lisosomiali in corso di terapia con questi farmaci (25). Infine, i CNI possono indurre anche lesioni tipiche della microangiopatia trombotica correlabili con l'effetto vasocostrittivo e pro-coagulante e il conseguente danno ischemico tissutale (25).

In considerazione degli effetti nefrotossici dei CNI, sono stati introdotti dei protocolli terapeutici immunodepressivi con farmaci in grado di inibire il *mammalian target of rapamycin* (m-TOR inibitori), il più noto dei quali è la rapamicina. È sembrato che l'utilizzo degli m-TOR inibitori abbia aperto la possibilità di utilizzare dei farmaci con notevoli potenzialità anti-rigetto ma dotati di minore effetto nefrotossico. Tuttavia, alcuni studi hanno dimostrato che, a livello dell'epitelio tubulare, la rapamicina inibisce l'attivazione e la proliferazione cellulare mediante la modulazione di p70S6k e riduce la presenza di fattori di crescita essenziali per la proliferazione cellulare (27). Inoltre, la rapamicina è in grado di inibire la regolazione dell'asse Akt-NF-kB che viene attivato in seguito a danno da ischemia-riperfusionem nel rene trapiantato, con conseguente *shift* verso un ambiente pro-infiammatorio che può favorire la ritardata ripresa funzionale dell'organo trapiantato (28).

DANNO RENALE ACUTO IN CORSO DI SEPSI

Nelle unità di terapia intensiva, l'AKI rappresenta il principale fattore predittivo indipendente di mortalità e la sepsi è la causa più frequente di AKI (50% dei casi), nonché quella associata a prognosi peggiore (mortalità >80%) (29). Inoltre, spesso l'AKI è compreso nel quadro della *multiple organ failure* (MOF). Per lungo tempo l'AKI in corso di sepsi è stato attribuito all'ipoperfusione causata dall'ipovolemia funzionale tipica dello *shock* distributivo. Tuttavia, recenti studi hanno dimostrato che, in assenza di patologia cardiaca pregressa, la gittata cardiaca è incrementata notevolmente e che il rene va incontro a uno stato non di ipoperfusione, bensì di iperperfusione (30).

Le nuove teorie sulla patogenesi dell'AKI in corso di sepsi si focalizzano sul ruolo dei mediatori circolanti di danno, ovvero dei fattori esogeni ed endogeni in

grado di indurre danno renale necrotico e apoptotico, in particolare a livello tubulare e del microcircolo. Tra i tossici esogeni è stato particolarmente studiato il LPS, ma sono stati chiamati in causa anche altri prodotti di degradazione batterica come l'acido lipoteicoico e le porine (31). Questi mediatori indurrebbero un danno diretto e una massiva attivazione dell'immunità innata. In particolare, il LPS, oltre ad attivare differenti leucociti, agisce direttamente su podociti e cellule tubulari legando il TLR-4, inducendo la produzione di citochine pro-infiammatorie e riducendo l'espressione di megalina e cubulina; questo fenomeno spiegherebbe almeno in parte la proteinuria in corso di sepsi (32). Alcuni Autori hanno evidenziato una correlazione tra mortalità in corso di sepsi e livelli di citochine circolanti (33); è stato osservato che anche alcune citochine anti-infiammatorie come IL-10 sono associate ad aumento della mortalità: tale associazione potrebbe essere spiegata dall'immunoparalisi tipica delle fasi tardive dello *shock* settico. Un'ulteriore conferma del ruolo diretto dei mediatori circolanti endogeni sul tessuto renale deriva da studi *in vitro* che hanno dimostrato cambiamenti strutturali e l'aumento dell'apoptosi sia nelle cellule tubulari sia nei podociti stimolati con sieri di pazienti settici (34, 35).

Un altro aspetto importante in corso di AKI settico è il *cross-talk* tra organi. In corso di sepsi, infatti, sono state dimostrate svariate vie di segnalazione molecolare tra rene, fegato, midollo ematopoietico, polmone, encefalo e intestino; queste vie hanno spesso carattere bidirezionale e possono causare peggioramento o attenuazione del danno a seconda dei *pattern* molecolari coinvolti (36).

Di recente, si è posto l'accento su un ulteriore meccanismo patogenetico dell'AKI correlato a sepsi: il danno mitocondriale. In corso di sepsi infatti, molti tessuti vanno incontro a una riduzione della respirazione cellulare come in corso di ipossia. Lo studio delle cellule mononucleate circolanti ha evidenziato una correlazione significativa tra danno mitocondriale e *performance* clinica del paziente. Tali meccanismi di danno mitocondriale possono essere presenti anche a livello tubulare renale: secondo alcuni Autori, un fattore chiave sarebbe l'eccessiva produzione di NO da parte del sistema immunitario con conseguente formazione di radicali ad alto potere ossidante. Altri Autori chiamano in causa alterazioni intracellulari dei trascritti indotte dalle citochine; per esempio PGC-1 α , una proteina che attiva il metabolismo lipidico nei mitocondri, è fortemente down-regolata dal TNF (37).

Tutte le alterazioni molecolari descritte, pur essendo correlate con la clinica, si associano ad alterazioni istologiche relativamente modeste: la spiegazione starebbe nel fatto che alterazioni puramente funzionali o l'apoptosi piuttosto che la necrosi siano le principali

conseguenze dell'AKI in corso di sepsi (38). Questa osservazione conferma il ruolo prioritario dei fattori circolanti endogeni con particolare riferimento ai prodotti di derivazione batterica e alle citochine pro-infiammatorie (36, 39).

Il sommarsi delle evidenze sul ruolo dei mediatori circolanti in corso di sepsi apre la prospettiva terapeutica della loro rimozione tramite metodiche depurative extracorporee: sono state proposte varie metodologie di cui molte già sperimentate in campo clinico seppur con risultati non ancora definitivi. Tra le varie tecniche vanno ricordati l'uso dell'emofiltrazione ad alti volumi e ad alta permeabilità, l'adsorbimento tramite particolari resine e la rimozione diretta di LPS per mezzo dell'emoperfusione con polimixina B (40-42).

MECCANISMI DI AKI NEL RENE TRAPIANTATO

I meccanismi patogenetici di AKI nel rene trapiantato sono sovrapponibili a quelli descritti nel rene nativo. Tuttavia, il rene trapiantato si contraddistingue per alcuni aspetti legati al danno da ischemia-riperfusion durante la procedura e all'attivazione del sistema immunitario con fenomeni di rigetto.

Delayed Graft Function (DGF)

Il 30-40% dei trapianti di rene va incontro a una lenta ripresa funzionale che può essere considerata un'insufficienza renale acuta che insorge sull'organo trapiantato. A oggi, è comunemente accettata la definizione di *delayed graft function* (DGF) in quei casi in cui vi è necessità dialitica nella prima settimana post-trapianto. La DGF è quindi favorita da una lunga serie di fattori di rischio inerenti al donatore, al ricevente e alla procedura. Il tempo di ischemia fredda risulta uno degli elementi più studiati in letteratura ed è indicato da molti Autori come determinante principale di DGF, con aspetti fisiopatologici sovrapponibili al danno da ischemia-riperfusion descritto nel rene nativo (43). Anche la terapia immunosoppressiva può essere determinante: gli inibitori delle calcineurine (CNI) possono causare nefrotossicità acuta e favorire o prolungare la DGF, in particolare con l'uso di organi da donatori "marginali" (43). Inoltre, l'insorgenza di DGF si associa a una maggiore incidenza di rigetto acuto per aumentata immunogenicità tissutale e a una perdita funzionale precoce del *graft* (44).

Rigetto cellulo-mediato e anticorpo-mediato

L'innescò della risposta immunitaria verso l'organo trapiantato è correlato con la presentazione degli antigeni da parte di diversi tipi di cellule ai linfociti

T (45). Infatti le cellule che esprimono in superficie molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (HLA) di classe II possono esplicare l'azione di cellule presentanti l'antigene (APCs) e stimolare le cellule T *naive* o memoria entrando in contatto negli organi linfatici secondari (46). Recentemente è stata descritta una popolazione di cellule dendritiche a livello renale (KDCs) (46). Le KDCs possono avere un ruolo nelle prime fasi del rigetto del rene trapiantato mediante presentazione antigenica diretta alle cellule T infiltranti il *graft* (46). Inoltre, altre cellule residenti renali possono contribuire alla presentazione diretta dell'antigene: tra di esse, le cellule epiteliali tubulari (TECs) sono immunologicamente attive e in grado di esercitare la funzione di APCs non professionali influenzando l'attività biologica delle cellule T infiltranti attraverso la produzione di citochine infiammatorie che modulano l'infiltrazione leucocitaria, la differenziazione, l'attivazione e la proliferazione cellulare nel *graft* (47). Il *cross-talk* tra TECs e cellule T è mediato dall'attivazione di una varietà di *pathway* che includono le molecole di costimolazione linfocitaria. È stato dimostrato che le TECs esprimono CD40 che viene attivato da CD154 (CD40-ligando) presente sulla superficie delle cellule T (47). Inoltre, le TECs esprimono altre molecole costimolatorie come B7-H1 e ICOS-L, che sono iperesprese dalla stimolazione del CD40-ligando inducendo un'ulteriore attivazione linfocitaria.

Tali alterazioni sono alla base del rigetto cellulare mediato dai linfociti T (TCMR), che rappresenta la forma più comune di rigetto precoce e che è caratterizzato dal tipico quadro istologico di tubulite e danno tubulare attivo dovuto all'attivazione di linfociti T infiltranti il *graft* che secernono una serie di molecole (Fas-Ligand, *perforin*, *granzyme B*) in grado di innescare i processi apoptotici. Recentemente è stata ipotizzata un'altra possibile spiegazione basata sull'osservazione che l'infiammazione interstiziale tipica del rigetto cellulare stimola una risposta epiteliale simile a quella osservata in altre cause non immunologiche di danno (48). In particolare, è stata osservata una ridotta espressione di solute carrier a livello tubulare simile a quella che si instaura nel danno da ischemia-riperfusion. I *solute carrier* sono in grado di controllare la permeabilità cellulare a diversi soluti (aminoacidi, zuccheri, farmaci) regolandone assorbimento, distribuzione, metabolismo ed eliminazione. Differenti tipi di *solute carrier* sono espressi a livello delle cellule tubulari e sono molto sensibili al danno renale acuto. La perdita di questi trascritti epiteliali in corso di TCMR può essere imputabile alla risposta organizzata all'insulto con de-differenziazione parenchimale (48).

Le cellule endoteliali glomerulari e peritubulari sono invece i principali *target* del rigetto anticorpo-media-

to (ABMR) e la principale causa di perdita funzionale acuta e cronica del rene trapiantato e caratterizzata istologicamente da presenza di neutrofili e cellule mononucleate, trombosi dei capillari peritubulari glomerulari, arterite intimale, necrosi fibrinoide, infiammazione arteriosa intramurale o transmurale e danno tubulare acuto in presenza di anticorpi circolanti anti-HLA e in particolare donatore-specifici (DSA) (49). ABMR è mediato dall'attivazione di anticorpi in grado di innescare la via classica del complemento, conducendo alla formazione del complesso di attacco alla membrana (MAC o C5b9) in grado di causare un danno osmotico alle cellule endoteliali glomerulari e peritubulari (citotossicità complemento-mediata), la cui caratteristica tipica è la positività per la frazione C4d del complemento a livello microvascolare (49). Studi più recenti hanno messo in evidenza il ruolo di anticorpi diretti verso antigeni non-HLA nei meccanismi di ABMR. In particolare, gli anticorpi anti-cellule endoteliali (AECA) agiscono attraverso meccanismi correlati o meno all'attivazione del complemento e sono associati a una precoce perdita funzionale del *graft* nei pazienti con ABMR (50). Infine, Hidalgo et al. (51) hanno messo in evidenza il ruolo delle cellule NK in corso di ABMR: infatti, è stata descritta l'incrementata infiltrazione del *graft* da parte di cellule CD56+CD68+ in corso di ABMR. Si può ipotizzare che FcγR presente sulle cellule NK legghi la porzione Fc dei DSA presente sulle cellule endoteliali danneggiate del *graft*, stimolando così il rilascio di citochine pro-infiammatorie e del contenuto dei granuli citotossici (*perforin*, *granzyme B*) con successiva apoptosi endoteliale (51).

BIOMARCATORI DI AKI

I criteri "RIFLE" e "AKIN" sono stati riconosciuti per la diagnosi di AKI e tengono conto dei valori di creatinemia, GFR e *output* urinario, distinguendo i pazienti in classi di rischio e correlando ciascuna classe con il rischio di mortalità (1). Quindi, la diagnosi di AKI viene fatta principalmente sulla base delle variazioni della creatinemia che si manifestano 24-72 ore dopo il danno. Negli ultimi anni si è cercato di risolvere questo problema attraverso un'intensa ricerca su nuovi biomarcatori precoci di AKI. Allo stato attuale, sono state proposte più di trenta molecole con tale scopo: tuttavia, solo alcune di esse risultano particolarmente promettenti: L-FABP, KIM-1 e NGAL.

Fatty acid binding protein: la proteina legante gli acidi grassi (FABP) presenta diverse isoforme: la *liver-type* (L-FABP) è espressa dal tubulo prossimale, mentre la *heart-type* (H-FABP) è espressa nel tubulo distale. In entrambi i casi, FABP regola in condizioni

fisiologiche il metabolismo lipidico intracellulare. In corso di AKI tale proteina è massivamente dismessa nelle urine, ma solo la forma L raggiunge una potenza statistica significativa. Il primo studio clinico condotto su tale marcatore ha indagato la capacità di L-FABP di individuare AKI post-cardiochirurgia con una AUC di 0.81 e con una cinetica di rilevazione più precoce rispetto agli altri biomarcatori (52).

KIM-1 (Kidney Injury Molecule-1): KIM-1 è una glicoproteina di membrana caratterizzata da un dominio *Ig-like* e da uno *mucin-like*, entrambi posti nel versante extracellulare, ed è conosciuta anche come recettore cellulare del virus dell'epatite A (HAVCR). In condizioni fisiologiche, KIM-1 è espressa dall'epitelio del tubulo prossimale in minima quantità e non risulta rilevabile nelle urine. In tale epitelio è stato dimostrato che mRNA di KIM-1 aumenta in corso di danno tubulare più di qualsiasi altro gene conosciuto (53). Inoltre, è stato dimostrato che in corso di danno tubulare prossimale il dominio extracellulare di KIM-1 è clivato da una metalloproteasi ed eliminato con le urine dove può essere quantificato. Sono stati anche condotti studi clinici su vari tipi di danno tubulare tra cui il danno da ischemia-riperfusion associato al trapianto di rene e il danno nefrotossico. In tutti i lavori la misurazione dei valori urinari di KIM-1 risultava un metodo sensibile e specifico per individuare il danno.

Lipocalina associata alla gelatinasi dei neutrofili (NGAL): NGAL o lipocalina-2 è una proteina solubile di peso molecolare 25 KDa in grado di legare ad alta affinità lo ione ferrico. Nei processi infettivi i neutrofili rilasciano NGAL allo scopo di chelare il ferro e di inibire la crescita batterica. In corso di AKI, NGAL viene dismesso in modo massivo nel plasma e nelle urine. La principale fonte urinaria di NGAL è il tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle, mentre la fonte plasmatica è ancora oggetto di studio, potendo essere il fegato, il pool circolante di neutrofili o il rene stesso. Secondo Cai et al. il tubulo renale secerne la forma monomerica di NGAL, mentre la forma dimerica è prevalentemente prodotta dai neutrofili (54). Negli ultimi anni sono stati pubblicati numerosi studi sulla misurazione dei livelli ematici e urinari di NGAL in pazienti nefrologici acuti (Tab. II). Questi studi hanno dimostrato che NGAL è un marcatore precoce, sensibile e specifico in diverse patologie che comportano un danno organico renale, come la tubulopatia da cisplatino, l'interstiziopatia da farmaci, la tossicità da ciclosporina, la nefropatia diabetica, la tubulopatia da mezzo di contrasto, la malattia renale ischemica miocardica e le glomerulonefriti (55). Un altro aspetto a favore dell'uso di NGAL è dato dal fatto che un numero crescente di studi indica un suo potenziale ruolo nei meccanismi di progressione verso il danno renale cronico (56).

In particolare, è stato osservato che NGAL contribuisce in modo significativo al deterioramento tissutale e funzionale del rene. Nei topi uremici vi è una disregolazione della produzione dei fattori di crescita, in particolare l'eccesso di EGF induce l'iperespressione di NGAL. L'attivazione di tale via molecolare comporta un aumento inappropriato della proliferazione tubulare con formazione di cisti e fibrosi interstiziale. Tali alterazioni non si osservano nei topi knock-out per NGAL che appaiono anche più resistenti alla progressione verso il danno renale cronico (57).

RIGENERAZIONE CELLULARE DOPO AKI E CELLULE STAMINALI: LA NUOVA FRONTIERA TERAPEUTICA

La fase rigenerativa è caratterizzata dall'attivazione di meccanismi di neoangiogenesi e da de-differenziazione delle cellule tubulari sopravvissute al danno, a cui fanno seguito proliferazione, migrazione cellulare e, infine, la ridifferenziazione e il recupero funzionale. In questo processo sono chiamati in causa svariati elementi, come i fattori di crescita (GF), le cellule staminali (CS) e prodotti da esse derivati tra cui le microvescicole (Fig. 3).

Tra i GF maggiormente studiati vi sono *insulin-like growth factor* (IGF), *hepatocyte growth factor* (HGF), *epidermal growth factor* (EGF) e *macrophage stimulating protein* (MSP) (18). L'IGF ricombinante è stato utilizzato anche in alcuni studi clinici sull'AKI: sebbene alcuni studi abbiano mostrato risultati incoraggianti, la maggior parte non è riuscita a dimostrare un beneficio significativo (58).

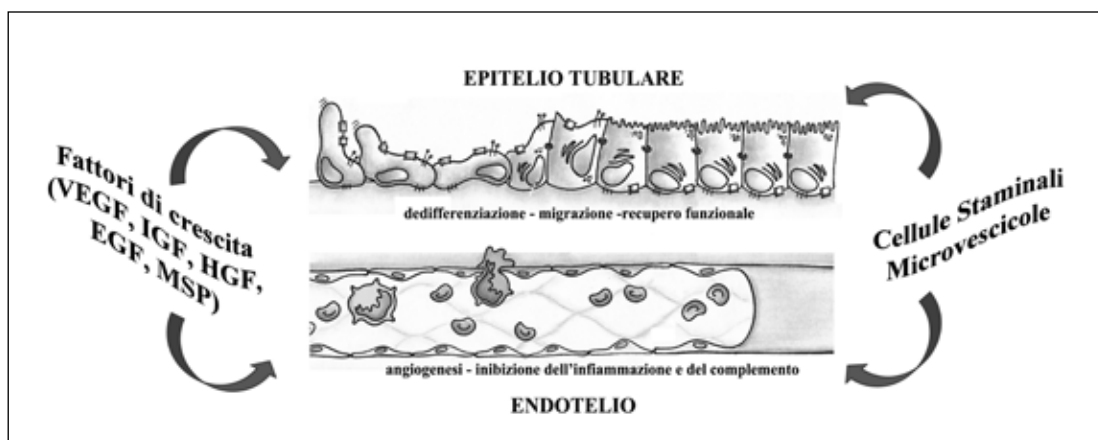
La fonte cellulare che induce la riparazione dell'epitelio tubulare è ancora oggi oggetto di dibattito: alcuni Autori propongono le CS midollari ematopoietiche, altri le CS midollari mesenchimali e alcuni studi hanno identificato anche una popolazione staminale residente nella papilla renale; infine, recentemente è stata isolata una popolazione staminale residente nel tessuto tubulo-interstiziale stesso (59). Che le CS siano alla base del processo rigenerativo è ormai un'evidenza, ma non è ancora chiaro se queste migrino nella sede del danno o inducano de-differenziazione e proliferazione delle cellule residenti sopravvissute. L'evidenza dell'efficacia terapeutica delle CS nei processi rigenerativi ha indotto alcuni Autori ad attivare le prime sperimentazioni cliniche basate sulla terapia cellulare (Tab. III). Rimane, comunque, da sottolineare che la terapia con CS potrebbe essere associata a un possibile aumentato rischio di maldifferenziazione o degenerazione neoplastica degli elementi cellulari infusi (59). Studi eseguiti in modelli sperimentali di AKI hanno evidenziato che solo una piccola porzione delle CS somministrate a scopo terapeutico si localizza nel rene e che tale innesto è co-

TABELLA II - LETTERATURA SU NGAL COME BIOMARCATORE DI AKI

STUDIO	CONCLUSIONI
Nejat M. Kidney Int, 2012	NGAL e altri BM nell'IRA pre-renale. NGAL non si innalza significativamente, contrariamente a KIM-1, Cis-C e IL18, conseguentemente NGAL è il più accurato nel distinguere l'IRA intrinseca da quella pre-renale.
Breidhardt T. Am J Med, 2012	L'uso combinato di NGAL e BNP permette di stabilire il coinvolgimento cardiaco e renale nei pz con polmonite.
Endre ZH. Kidney Int, 2011	La performance dei vari BM migliora dopo la stratificazione in base al GFR e/o alla funzione renale precedente il danno.
Martensson J. Intensive Care Med, 2011	NGAL è incrementato in corso di sepsi e SIRS indipendentemente dall'IRA.
De Geus HR. Am J Respir Crit Care Med, 2011	Misurare NGAL all'ammissione in ICU indipendentemente dalla causa di ricovero predice l'insorgenza di IRA.
Shapiro NI. Ann Emerg Med, 2010	NGAL misurato all'ammissione in ICU nei pazienti con sospetta sepsi è predittivo di IRA.
Cruz DN. Intensive Care Med, 2010	NGAL è predittivo di IRA nei pz che accedono all'ICU.
Baqshaw SM. Intensive Care Med, 2011	NGAL urinario e plasmatico sono aumentati nei pazienti con IRA e sepsi rispetto ai pazienti con sola IRA.
Kumpers P. Crit Care Med, 2010	NGAL misurato all'inizio della RRT predice la mortalità a 28 giorni.
Makris K. Clin Chem Lab Med, 2009	NGAL è marcatore di IRA nei politraumatizzati.
Nickolas TL. Ann Intern Med, 2008	NGAL distingue precocemente tra IRA organica e pre-renale.

IRA: insufficienza renale acuta; BM: biomarcatori; RRT: renal replacement therapy; pz: pazienti.

Fig. 3 - Fase riparativa dell'AKI caratterizzata da angiogenesi e rigenerazione tubulare indotte da diversi fattori protettivi.



munque fugace e non più evidenziabile già a distanza di 24 ore (59). In base a tali osservazioni si ritiene che l'attenuazione del danno renale da parte delle cellule staminali sia dovuta a un processo endocrino o para-

crino piuttosto che a un impianto delle cellule stesse in sede di danno. In questo ambito, le microvescicole (MV) rilasciate dalle CS potrebbero avere un ruolo chiave. Le MV sono microparticelle di dimensioni inferiori al mi-

TABELLA III - TRIAL CLINICI IN CORSO SULL'UTILIZZO DELLE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI (MSCs) IN CAMPO NEFROLOGICO (dati da www.clinicaltrials.gov)

Trial	Tipo	End-point cellulare	Studio primario	Struttura	Risultati
Riceventi un trapianto renale da donatore vivente	MSCs autologhe	Efficacia e sicurezza	Randomizzato controllato	<i>Fuzhou General Hospital, Cina</i>	Minore incidenza di rigetto acuto, infezioni da germi opportunisti e migliore funzionalità renale a 1 anno.
Rigetto sub-clinico nel trapianto renale	MSCs autologhe	Efficacia e sicurezza	Non randomizzato non controllato	LUMC, Olanda	Evidenza di meccanismi nefroprotettivi da parte di MSCs; possibili prospettive terapeutiche in corso di malattia renale acuta e cronica e nel rigetto di trapianto.
MSC con basiliximab nel trapianto renale eterologo	MSCs autologhe	Efficacia e sicurezza nell'indurre tolleranza immunologica al trapianto	Randomizzato controllato	Istituto Mario Negri, Italia	L'infusione di MSCs nei riceventi di trapianto renale appare in grado di favorire l'aumento della quota di Tregs circolanti e la riduzione della funzionalità di cellule T memoria CD8+.
Nefropatia cronica da trapianto	MSCs autologhe e allogeniche	Efficacia e sicurezza	Randomizzato controllato	<i>Fuzhou General Hospital, Cina</i>	Dimostrazione di potenziale efficacia immunosoppressiva e riparativa delle MSCs. Attestazione di sicurezza ed efficacia nel corso di infusione di MSCs.
Lupus eritematoso sistemico refrattario	MSCs allogeniche	Efficacia e sicurezza	Non randomizzato	<i>Nanjing Medical University, Cina</i>	Miglioramento della malattia nelle sue fasi di attività e stabilità della funzione renale. MSCs sembrano dare beneficio nel LES refrattario alle terapie convenzionali.
IRA post-interventi cardiocirurgici	MSCs allogeniche	Sicurezza	Non randomizzato	<i>Intermountain Medical Center, USA</i>	MSCs si sono dimostrate sicure in trial clinico di fase I. Analisi sulla funzionalità renale dei pazienti risulta in corso.

cron, generate per gemmazione della membrana plasmatica o per esocitosi dai corpi multi vescicolari che contengono al loro interno proteine e acidi nucleici della cellula d'origine, e possono essere internalizzate in cellule *target* danneggiate inducendone una riprogrammazione epigenetica grazie al trasferimento di specifici mRNA e microRNA (59). È stato dimostrato che le MV derivate da CS mesenchimali di origine midollare sono

in grado di indurre rigenerazione tissutale dopo AKI su base ischemica e tossica (60, 61).

Infine, bisogna sottolineare che la fase di rigenerazione non sempre esita in un recupero funzionale e istologico ottimale. È stato, infatti, dimostrato che, in seguito a danno massivo, il tessuto tubulo-interstiziale può andare incontro a un processo di riparazione anomala che induce degenerazione, infiammazione

e disfunzione ingravescente con aumentato rischio di progressione verso il danno renale cronico. Due fattori cardine di questo processo sarebbero la rarefazione capillare e la de-differenziazione tubulare. Secondo recenti studi, le cellule tubulari rimarrebbero bloccate tra la fase G2 e la fase M del ciclo cellulare e non sarebbero quindi in grado di raggiungere una fase terminale di differenziazione. Tali cellule non differenziate presentano molte analogie con i fibroblasti con conseguente produzione di molecole pro-fibrotiche (TGF-beta, ecc.) che causano alterazioni istologiche non reversibili (62).

RIASSUNTO

Il danno renale acuto (AKI) è una complicanza frequente nei pazienti ospedalizzati che può associarsi a insufficienza multiorgano, aumentata mortalità e progressione verso l'insufficienza renale cronica (IRC). L'identificazione di nuovi bersagli cellulari e molecolari coinvolti nella fisiopatologia dell'AKI potrebbe condurre a migliorare gli approcci diagnostici e terapeutici. Negli ultimi anni, i meccanismi patogenetici dell'AKI sono stati descritti esaurientemente: le cellule epiteliali tubulari e le cellule endoteliali nei vasi sono state identificate come i principali bersagli del danno ischemico e nefrotossico. Il danno endoteliale è associato a una fase di estensione dell'AKI, mentre le cellule tubulari sono soggette ad alterazione della polarità cellulare, diminuita espressione delle proteine giunzionali e dei trasportatori di membrana e, infine, allo sviluppo di necrosi e apoptosi. L'apoptosi, o morte cellulare programmata, è anche una componente chiave dell'AKI correlata a sepsi, in cui i meccanismi di danno tissutale sono associati non solo a ipoperfusione, ma anche a un effetto deleterio diretto dei prodotti batterici e dei me-

diatori dell'infiammazione sulle cellule residenti renali. Le cellule epiteliali tubulari ed endoteliali rappresentano anche i bersagli principali nei meccanismi immuno-mediati di AKI in corso di trapianto renale come il rigetto cellulo-mediato e anticorpo-mediato. Recenti studi hanno evidenziato nuove molecole come biomarcatori precoci di AKI: in particolare, NGAL e KIM-1 possono anche avere un ruolo nella progressione verso l'IRC. Infine, la nuova frontiera della terapia dell'AKI è rappresentata dall'uso delle cellule staminali mesenchimali di origine midollare in grado di indurre un programma di rigenerazione nel rene danneggiato.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Gli Autori dichiarano di non aver ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo.

FIGURE O TABELLE SOGGETTE AD AUTORIZZAZIONE

Nessuna.

STUDI SPERIMENTALI SU ESSERI UMANI

Nessuno.

STUDI SPERIMENTALI SU ANIMALI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Cruz DN, Bagshaw SM, Ronco C, Ricci Z. Acute kidney injury: classification and staging. *Contrib Nephrol* 2010; 164: 24-32.
2. Srisawat N, Kellum JA. Acute Kidney injury: definition, epidemiology and outcome. *Curr Opin Crit Care* 2011; 17 (6): 548-55.
3. Ricci Z, Cruz DN, Ronco C. Classification and staging of acute kidney injury: beyond the RIFLE and AKIN criteria. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7 (4): 201-8.
4. Coca SG, Yusuf B, Shlipak MG, Garg AX, Parikh CR. Long term risk of mortality and other adverse outcomes after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009; 53 (6): 961-73.
5. Bellomo R, Auriemma S, Fabbri A, et al. The pathophysiology of cardiac surgery-associated acute kidney injury (CSA-AKI). *Int J Artif Organs* 2008; 31 (2): 166-78.
6. Hobson CE, Yavas S, Segal MS, et al. Acute kidney injury is associated with increased long-term mortality after cardiothoracic surgery. *Circulation* 2009; 119 (18): 2444-53.
7. Bagshaw SM, Wald R. Acute kidney injury in 2010: advances in diagnosis and estimated disease prognosis. *Nat Rev Nephrol* 2011; 7 (2): 70-1.
8. Golestaneh L, Melamed ML, Hostetter TH. Uremic memory: the role of acute kidney injury in long-term outcomes. *Kidney Int* 2009; 76 (8): 813-4.
9. Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *J Clin Invest* 2011; 121 (11): 4210-21.
10. Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int* 2004; 66 (2): 496-9.
11. Prakash J, de Borst MH, Lacombe M, et al. Inhibition of renal rho kinase attenuates ischemia/reperfusion-induced injury. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19 (11): 2086-97.
12. Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pa-

- thophysiology of ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (8): 2199-210.
13. Alejandro V, Scandling JD Jr, Sibley RK, et al. Mechanisms of filtration failure during postischemic injury of the human kidney. A study of the reperfused renal allograft. *J Clin Invest* 1995; 95 (2): 820-31.
 14. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004; 66 (2): 486-91.
 - 15) Gandolfo MT, Jang HR, Bagnasco SM, et al. Foxp3+ regulatory T cells participate in repair of ischemic acute kidney injury. *Kidney Int* 2009; 76 (7): 717-29.
 16. Denker B, Robles-Osorio ML, Sabath E. Recent advances in diagnosis and treatment of acute kidney injury in patients with cancer. *Eur J Intern Med* 2011; 22 (4): 348-54.
 17. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci* 2007; 334 (2): 115-24.
 18. Cantaluppi V, Biancone L, Romanazzi GM, et al. Macrophage stimulating protein may promote tubular regeneration after acute injury. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19 (10): 1904-18.
 19. Takano M, Nakanishi M, Kitahara Y, Sasaki Y, Murakami T, Nagai J. Cisplatin induced inhibition of receptor-mediated endocytosis of protein in the kidney. *Kidney Int* 2002; 62 (5): 1707-17.
 20. Gurevich F, Perazella MA. Renal effects of anti-angiogenesis therapy: update for the internist. *Am J Med* 2009; 122 (4): 322-8.
 21. Kamba T, McDonald DM. Mechanisms of adverse effects of anti-VEGF therapy for cancer. *Br J Cancer* 2007; 96: 1788-95.
 22. Batuman V. Proximal tubular injury in myeloma. *Contrib Nephrol* 2007; 153: 87-104.
 23. De Sanctis LB, Sestigiani E, Sgarlato V, et al. Renal involvement in monoclonal gammopathy and multiple myeloma. *G Ital Nefrol* 2010; 27 (Suppl. 50): S19-33.
 24. Ying WZ, Wang PX, Sanders PV. Pivotal role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in monoclonal free light chain-mediated apoptosis. *Am J Pathol* 2012; 180 (1): 41-7.
 25. Naesens M, Kuypers DRJ, Sarwal M. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 481-508.
 26. Hesselink DA, Bouamar R, Van Gelder T. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity. *Ther Drug Monit* 2010; 32 (4): 387-93.
 27. Lieberthal W, Levine JS. The role of mammalian target of rapamycin (mTOR) in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20 (12): 2493-502.
 28. Loverre A, Ditonno P, Crovace A, et al. Ischemia-reperfusion induces glomerular and tubular activation of proinflammatory and antiapoptotic pathways: differential modulation by rapamycin. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (10): 2675-86.
 29. Metha RL, Bouchard J, Soroko SB, et al. Sepsis as a cause and consequence of acute kidney injury: Program to Improve Care in Acute Renal Disease. *Intensive Care Med* 2011; 37 (2): 241-8.
 30. Wan L, Bagshaw SM, Langenberg C, Saotome T, May C, Bellomo R. Pathophysiology of septic acute kidney injury: what do we really know? *Crit Care Med* 2008; 36 (4 Suppl.): S198-203.
 31. Biancone L, Conaldi PG, Toniolo A, Camussi G. Escherichia Coli porin induces proinflammatory alterations in renal tubular cells. *Exp Nephrol* 1997; 5 (4): 330-6.
 32. Schreiber A, Theilig F, Schweda F, Höcherl K. Acute endotoxemia in mice induces downregulation of megalin and cubilin in the kidney. *Kidney Int* 2012; 82 (1): 53-9.
 33. Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney Int* 2004; 65 (4): 1357-65.
 34. Mariano F, Cantaluppi V, Stella M, et al. Circulating plasma factors induce tubular and glomerular alterations in septic burns patients. *Crit Care* 2008; 12 (2): R42.
 35. Cunningham PN, Dyanov HM, Park P, Wang J, Newell KA, Quigg RJ. Acute renal failure in endotoxemia is caused by TNF acting directly on TNF receptor-1 in kidney. *J Immunol* 2002; 168 (11): 5817-23.
 36. Molls RR, Rabb H. Limiting deleterious cross-talk between failing organs. *Crit Care Med* 2004; 32 (11): 2358-9.
 37. Tran M, Tam D, Bardia A, et al. PGC-1 α promotes recovery after acute kidney injury during systemic inflammation in mice. *J Clin Invest* 2011; 121 (10): 4003-14.
 38. Lerolle N, Nochy D, Guèrot E, et al. Histopathology of septic shock induced acute kidney injury: apoptosis and leukocytic infiltration. *Intensive Care Med* 2010; 36 (3): 471-8.
 39. Jacobs R, Honore PM, Joannes-Boyau O, et al. Septic acute kidney injury: the culprit is inflammatory apoptosis rather than ischemic necrosis. *Blood Purif* 2011; 32 (4): 262-5.
 40. Cantaluppi V, Weber V, Lauritano C, et al. Protective effect of resin adsorption on septic plasma-induced tubular injury. *Crit Care* 2010; 14 (1): R4.
 41. Cruz DN, Antonelli M, Fumagalli R, et al. Early use of polymyxin B hemoperfusion in abdominal septic shock: the EUPHAS randomized controlled trial. *JAMA* 2009; 301 (23): 2445-52.
 42. Cantaluppi V, Assenzio B, Pasero D, et al. Polymyxin-B hemoperfusion inactivates circulating proapoptotic factors. *Intensive Care Med* 2008; 34 (9): 1638-45.
 43. Hetzel GR, Klein B, Brause M, et al. Risk factors for delayed graft function after renal transplantation and their significance for long-term clinical outcome. *Transplant Int* 2002; 15: 10-6.
 44. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 2004; 364 (9447): 1814-27.
 45. Ponticelli C. The mechanisms of acute transplant rejection revisited. *J Nephrol* 2012; 25 (2): 150-8.
 46. Rogers NM, Matthews TJ, Kausman JY, Kitching AR, Coates PT. Review article: Kidney dendritic cells: their role in homeostasis, inflammation and transplantation. *Nephrology (Carlton)* 2009; 14 (7): 625-35.
 47. Nguan CY, Du C. Renal tubular epithelial cells as immunoregulatory cells in renal allograft rejection. *Transplant Rev* 2009; 23 (3): 129-38.
 48. Einicke G, Kayser D, Vanslambrouck JM, et al. Loss of solute carriers in T cell mediated rejection in mouse and human kidneys: an active epithelial injury-repair response. *Am J Transplant* 2010; 10 (10): 2241-51.
 49. Mosquera Reboledo JM, Vázquez Martul E. Diagnostic criteria of antibody mediated rejection in kidney transplants. *Nefrologia* 2011; 31 (4): 382-91.
 50. Regele H. Non-HLA antibodies in kidney allograft rejection: convincing concept in need of further evidence. *Kidney Int* 2011; 79 (6): 583-6.
 51. Hidalgo LG, Sis B, Sellares J, et al. NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients with donor specific antibodies: evidence for NK cell involvement in antibody mediated rejection. *Am J Transplant* 2010; 10 (8): 1812-22.
 52. Portilla D, Dent C, Sugaya T, et al. Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int* 2008; 73 (4): 465-72.
 53. Bonventre JV, Vaidya VS, Schmoeder R, Feig P, Dieterle F. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nat Biotechnol* 2010; 28 (5): 436-40.
 54. Cai L, Rubin J, Han W, Venge P, Xu S. The origin of mul-

- multiple molecular forms in urine HNL/NGAL. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5 (12): 2229-35.
55. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, et al. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009; 54 (6): 1012-24.
 56. Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4 (2): 337-44.
 57. Viau A, El Karoui K, Laouari D, et al. Lipocalin 2 is essential for chronic kidney disease progression in mice and humans. *J Clin Invest* 2010; 120 (11): 4065-76.
 58. Perico N, Casiraghi F, Inrona M, et al. Autologous mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: a pilot study of safety and clinical feasibility. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6 (2): 412-22.
 59. Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. Paracrine/endocrine mechanism of stem cells on kidney repair: role of microvesicle-mediated transfer of genetic information. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010; 19 (1): 7-12.
 60. Gatti S, Bruno S, Deregibus MC, et al. Microvesicles derived from human adult mesenchymal stem cells protect against ischaemia-reperfusion-induced acute and chronic kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26 (5): 1474-83.
 61. Bruno S, Grange C, Collino F, et al. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury. *PLoS One* 2012; 7 (3): e33115.
 62. Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, Shah JV, Bonventre JV. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury. *Nat Med* 2010; 16 (5): 535-43.