

Павлова В. А.

студент

5 курс, факультет "Педиатрический"

ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова

Россия, г. Москва

Пономаренко Ю. А.

студент

5 курс, факультет "Педиатрический"

ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова

Россия, г. Москва

Валяев А.В.

студент

5 курс, Международный факультет, специалитет «Педиатрия»

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

Россия, г. Москва

Савченко Д.В.

студент

5 курс, Международный факультет, специалитет «Лечебное дело»

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

Россия, г. Москва

ДОСТИЖЕНИЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ В ДЕТСКОЙ НЕФРОЛОГИИ

Аннотация: Эндогенная способность почек к репарации ограничена, и генерация новых нефронов после повреждения для адекватного восстановления функций остается необходимостью. Открытие факторов, которые способствуют эндогенной регенеративной способности

поврежденной почки или образованию пригодной для трансплантации почечной ткани, представляют собой многообещающие терапевтические стратегии. Хотя после введения стволовых клеток или клеток-предшественников, секрета стволовых клеток или внеклеточных везикул в экспериментальных моделях повреждения почек получено несколько обнадеживающих результатов, в клинических условиях существует очень мало данных, позволяющих сделать выводы об их эффективности. В этом обзоре мы представляем обзор передовых знаний о регенерации почек, включая доклинические методики, используемые для выяснения путей регенерации, и описываем перспективы регенеративной медицины для пациентов с почками.

Ключевые слова: почки; детская нефрология; регенеративная медицина

Abstract: *The endogenous capacity of the kidney to repair is limited, and generation of new nephrons after injury for adequate function recovery remains a need. Discovery of factors that promote the endogenous regenerative capacity of the injured kidney or generation of transplantable kidney tissue represent promising therapeutic strategies. While several encouraging results are obtained after administration of stem or progenitor cells, stem cell secretome, or extracellular vesicles in experimental kidney injury models, very little data exist in the clinical setting to make conclusions about their efficacy. In this review, we provide an overview of the cutting-edge knowledge on kidney regeneration, including pre-clinical methodologies used to elucidate regenerative pathways and describe the perspectives of regenerative medicine for kidney patients.*

Keywords: kidney; pediatric nephrology; regenerative medicine.

Введение

Хроническая болезнь почек (ХБП) у детей представляет серьезную проблему для пациентов и их семей и является глобальной проблемой здравоохранения. ХБП определяется как нарушение функции почек, которое сохраняется более 3 месяцев и имеет последствия для здоровья [1].

Заболеваемость ХБП в детском возрасте в Европе, по оценкам, составляет около 11-12 случаев на миллион возрастного населения на 3-5 стадиях, а ее распространенность составляет около 55-60 случаев в год [2, 3]. Как заболеваемость, так и распространенность ХБП выше у мужчин из-за высокой частоты сопутствующих заболеваний, врожденные аномалии почек и мочевыводящих путей.

Неполное восстановление после острого повреждения почек (ОПП) также может привести к развитию ХБП; однако дефекты развития и наследственные заболевания являются основными причинами ХБП с рождения до 4-летнего возраста. В возрасте от 5 до 14 лет наследственные заболевания, нефротический синдром и системные заболевания чаще всего приводят к необратимому повреждению почек. В возрасте от 15 до 19 лет причиной развития ХБП у подростков и молодых взрослых в основном являются заболевания клубочков [3]. ХБП - прогрессирующее заболевание, которое не поддается эффективному лечению. Оно связано с многочисленными сопутствующими заболеваниями, влияет на развитие ребенка и снижает качество жизни, особенно у пациентов с почечной недостаточностью, нуждающихся в заместительной почечной терапии (ЗПТ) [4]. Трансплантация почки в настоящее время является лучшим решением для пациентов с почечной недостаточностью, но она связана с нехваткой донорских органов и, следовательно, с длинными очередями, риском отторжения и ограниченным сроком службы донорского органа. С клинической точки зрения, существует острая потребность в новых методах лечения педиатрических пациентов с заболеваниями почек.

За последнее десятилетие регенеративная медицина превратилась в важную область исследований, направленную на моделирование заболеваний и улучшение, обновление или замену функций тканей. Хотя генетические заболевания почек являются распространенной причиной ХБП у детей, генетически модифицированные мышинные модели не полностью

воспроизводят физиологию человека; поэтому системы, полученные из стволовых клеток, становятся многообещающим инструментом для изучения механизмов заболеваний человека и тестирования лекарственных препаратов [5]. Кроме того, уже были использованы различные стратегии для повышения эндогенной регенеративной способности почек или для создания новых органов с использованием органоидов и 3D-биопечати. Однако почка является чрезвычайно сложным органом из-за своей анатомической и клеточной сложности. Поэтому, прежде чем приступить к регенерации почки, необходимо детальное понимание механизмов развития и восстановления почек, поскольку эти процессы, по-видимому, взаимосвязаны.

Связь развития почек с механизмом регенерации

Зная сложность зрелой почки, можно поразиться ее скромному началу. Современные знания о развитии почек основаны на десятилетиях исследований на животных моделях, таких как рыбки данио, лягушки, мыши и крысы. В этом обзоре мы сосредоточимся на развитии почек человека и его связи с регенерацией.

Человеческая почка проходит три стадии развития: пронефрос, мезонефрос и метанефрос. Последняя является конечным прототипом почки и возникает в результате межклеточных взаимодействий и сигнальных путей между мезенхимой метанефрия (ММ) и почкой мочеточника (UB), которые происходят из промежуточной мезодермы [6]. На взаимодействие обеих структур большое влияние оказывает выработка нефрогенных факторов, происходящих из ограниченной популяции дочерних стволовых клеток/клеток-предшественников (KSPC), локализованных в мезенхиме шляпки (CM). Дети, родившиеся недоношенными, подвержены повышенному риску развития ХБП, вероятно, из-за уменьшения количества нефронов и воздействия послеродовых факторов.

Почечная регенерация после рождения

Что мы знаем о поведении клеток почек после повреждения и как это соотносится с возможными терапевтическими подходами?

При ОПП клетки проксимальных канальцев быстро теряют щеточную окантовку и дедифференцируются в мезенхимальный фенотип. Такие процессы, как миграция клеток, отслоение, апоптоз и некроз, приводят к оголению базальной мембраны канальцев. В клубочке повреждение может привести к потере подоцитов с полным коллапсом клубочка, когда количество клеток подоцитов падает ниже 20% от первоначального количества [7]. Способность почки к функциональной регенерации при ОПП является основным фактором, определяющим исход, но до сих пор не было доказано, что какой-либо конкретный терапевтический подход может повысить эффективность регенерации [8]. После ОПП быстро активизируются различные внутренние процессы восстановления, но повторяющиеся или длительные травмы могут привести к нежелательному неадаптивному процессу регенерации. Неадекватная репарация канальцевых клеток происходит, когда эпителиальные клетки не способны к полной реодифференцировке или их рост приостанавливается в фазе клеточного цикла G2, что становится дополнительным источником профибротических факторов, воспаления и старения, приводящих к ХБП и возможной потере почек [9]. Механизмы (ограниченной) регенерации почек были предметом постоянных дискуссий в области исследований стволовых клеток в течение последних десятилетий. В то время как во многих исследованиях предпринимались попытки идентифицировать клетки, способные генерировать нефроны, растущие имеющиеся данные свидетельствуют о том, что процесс регенерации возникает благодаря фенотипической и метаболической пластичности канальцевых клеток, опосредованной средой. Ранее предполагалось, что стволовые клетки, полученные из костного мозга, могут перемещаться в почку при повреждении, но это не было подтверждено, и

возможность регенерации, вызванной внепочечными клетками, игнорировалась [10, 11].

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что процесс регенерации возникает благодаря фенотипической и метаболической пластичности канальцевых клеток, опосредованной микросредой. Ранее предполагалось, что стволовые клетки, полученные из костного мозга, могут перемещаться в почку при повреждении, но это не было подтверждено, и возможность регенерации, вызванной внепочечными клетками, игнорировалась [12, 13].

Хотя ранее предполагалось, что специфическая популяция клеток CD133+ CD24+, Виментина+ и PAX2+ будет функционировать как стволовые клетки в почках, проявляя свойства самообновления и потенциал дифференцироваться в эпителиальные клетки для восстановления поврежденной ткани [14, 15], это не так. Теперь ясно, что после повреждения почки процесс восстановления осуществляется оставшимися в канальце репаративными клетками, которые дедифференцируются, пролиферируют и редифференцируются без какого-либо участия ранее существовавшей специфической популяции клеток-предшественников [16, 17]. Чтобы прояснить этот процесс, клетки мышей были генетически помечены во время ишемического повреждения, чтобы отметить отдельные поврежденные клетки канальцев и проследить за их последующим восстановлением. Количество меченых клеток значительно увеличивалось при повреждении, что указывает на то, что канальцевый эпителий может образовываться из любой выжившей канальцевой клетки, а не из фиксированной популяции предшественников [18]. Дискуссия о точном механизме репарации и регенерации продолжается. Несмотря на то, что функция почек восстанавливается до исходного уровня после ОПП, у пациентов часто развивается ХБП, что свидетельствует о том, что восстановление клеточного цикла недостаточно для полной регенерации нефронов [19]. Это подчеркивает важность исследований и разработки

методов для определения целевых путей и факторов, которые способствуют эффективной регенерации, чтобы ускорить этот процесс.

Возрождение против развития

В моделях на грызунах поврежденные клетки канальцев начинают повторно экспрессировать гены и белки, которые активны во время развития, такие как PAX2, LHX1, SOX9, с последующей повышенной скоростью пролиферации, высвобождением нескольких факторов роста, таких как эпидермальный фактор роста (EGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF), и трансформирующимся фактор роста- β (TGF- β) и вовлечение канонического сигнального пути Wnt [20, 21]. Недавнее исследование продемонстрировало аналогичный механизм у людей. С помощью анализа межклеточных взаимодействий было показано, что при ОПП канальцевые эпителиальные клетки активировали транскрипционный фактор SOX9, и эти клетки высвобождали такие факторы, как VEGF, complement, SPP-1 и CALCR, которые влияли на окружающие клетки, способствуя эндогенной репарации [22]. В том же исследовании авторы идентифицировали кальцийсвязывающий белок S100 9 (S100A9) как белок, который усиливает пролиферацию клеток и может быть непосредственно связан с регенерацией тканей [23].

Тем не менее, о повышении активности генов, специфичных для нефрогенеза, таких как SIX1, SIX2, CITED1, OSR1, LGR5, GDNF и RET, после травмы или во время восстановления не сообщалось. Таким образом, регенерация почек не приводит к полному восстановлению развития.

Недавно впервые было показано, что инъекция неонатальных стволовых клеток/клеток-предшественников почки SIX2⁺ (nKSPC) в почки умершего донора человека индуцирует экспрессию SIX2 de novo в пролиферирующих клетках проксимальных канальцев. Эти клетки были получены из мочи новорожденных, родившихся преждевременно; следовательно, они эндогенно экспрессируют SIX2 [24]. NKSPC вводили через почечную артерию в человеческие трансплантаты, которые не использовались для трансплантации,

и перфузировали в течение 6 часов в условиях нормотермической машинной перфузии (NMP). Помимо экспрессии SIX2, в этих почках наблюдалась повышенная регуляция маркеров регенерации, таких как SOX9 и VEGF, а также значительно более низкие уровни биомаркеров повреждения почек и снижение уровня воспалительных цитокинов [25]. Реактивация SIX2, нефрогенного фактора, может быть связана с инициацией эндогенного регенеративного восстановления почечной ткани и может отражать возможность терапевтической повторной индукции нефрогенеза.

Тем не менее, механизмы регенерации до конца не изучены, и было разработано несколько технологий для изучения и улучшения регенеративного потенциала почечной ткани в терапевтических целях.

Почечные органоиды и их потенциал для клинического применения

В области регенеративной медицины культуры органоидов широко используются для моделирования заболеваний, изучения физиологии и разработки клинических применений, таких как скрининг лекарственных препаратов и подходы к персонализированной медицине, а также для регенеративной терапии. Органоиды - это самоорганизующиеся трехмерные культуры стволовых клеток, которые обладают способностью к самообновлению и дифференцировке. Они содержат множество специфичных для органа типов клеток, которые пространственно организованы и могут воспроизводить функции органа. Здесь мы опишем два типа моделей почечных органоидов, которые были разработаны за последние 5 лет: почечные органоиды, полученные из iPSC, и тубулоиды, полученные из взрослых стволовых клеток (ASC).

Органоиды, полученные из ИПСК

Основываясь на знаниях, полученных в ходе исследований, исследователи смогли разработать протоколы, позволяющие индуцировать плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) для формирования нефронов *in vitro*, так называемых почечных органоидов.

Органоиды, полученные из iPSC, стали передовыми моделями развития почек, физиологии и заболеваний *in vitro*. Органоиды, полученные из iPSC, отражают, главным образом, аспекты развития почек, имитируя нефрогенез. Когда iPSC дифференцируются в почечные органоиды, присутствует большинство сегментов нефрона: можно обнаружить клетки как проксимальных, так и дистальных канальцев, клубочковые структуры и петлю Генле, а также клетки собирательных протоков [26]. Недавно были разработаны новые гибридные протоколы для культивирования подоцитоподобных клеток в органоидах, полученных из почечных iPSC [27]. Мутации пациента могут быть созданы с помощью технологий редактирования генома, таких как CRISPR/ Cas9, для моделирования заболеваний, или клетки, полученные от пациента, могут быть перепрограммированы таким образом, чтобы они обладали плюрипотентными свойствами [28]. На сегодняшний день моделирование заболеваний на основе iPSC успешно используется для изучения генетических заболеваний почек, таких как цистиноз [29], нефронофтиз (НПХ) и нефротический синдром [30, 31], а также для разработки лекарственных препаратов. Тем не менее, у использования органоидных моделей почек, полученных из iPSC, есть ряд ограничений. Органоиды больше всего напоминают эмбриональную почечную ткань человека, а не зрелый орган [32]. Кроме того, отсутствует сосудистая система [33]. До сих пор в культуре почечных органоидов можно было индуцировать как эндотелиальные клетки (CD31+), так и интерстиций, однако, это все еще нуждается в дальнейшем развитии в направлении более зрелой и функциональной васкуляризации. Недавно было показано, что сосудистые органоиды, полученные из iPSC, являются новым источником функциональных и адаптирующихся к кровотоку сосудистых клеток для создания перфузируемой модели макрососудов, которая может вдохновить на создание будущей васкуляризированной культуры почечных органоидов. Эта новая модель воссоздает двухслойную архитектуру сосудов и позволяет

проводить исследования сосудистых заболеваний *in vitro*. К сожалению, после проведения протоколов направленной дифференцировки в отношении почечных органоидов в культуре все еще остается 10-20% нецелевых клеток, не относящихся к почкам, включая, в основном, популяции нейроподобных и мышечноподобных клеток. В настоящее время разрабатываются протоколы по улучшению органоидных культур, полученных из iPSC. Например, тубулоидные культуры, полученные из органоидов iPSC, показали исчезновение популяций незрелых и нецелевых клеток, доступность апикального участка и продолжительную способность к размножению. Примечательно, что органоиды, полученные из iPSC путем удаления одного интересующего гена, не содержат потенциальных генетических или эпигенетических модификаторов, которые могут присутствовать у отдельных пациентов. С другой стороны, это дает модель для выявления потенциальных модификаторов при сравнении органоидов, полученных от пациента, с органоидами, полученными из iPSC с генетическим редактированием.

Тубулоиды

Органоиды почек также могут быть получены из ASC, полученных либо из материала биопсии почки, либо из мочи, и, таким образом, несут точную генетическую и эпигенетическую информацию о пациенте. Эти трехмерные структуры называются тубулоидами, поскольку они в основном представляют собой канальцевый эпителий и не дифференцируются в клубочковые клетки. В тубулоидных культурах отсутствуют подоциты и строма, и, как и в органоидах, полученных из ИПСК, в тубулоидах также отсутствует сосудистая сеть. Тубулоиды могут быть расширены в долгосрочной перспективе без необходимости генетической модификации и без риска нецелевой дифференциации. На сегодняшний день протоколы редактирования генома тубулоидов еще не опубликованы. Недавно тубулоиды, полученные из мочи пациентов с цистинозом, были использованы для разработки новых стратегий лечения, что указывает на их эффективность в качестве модели заболевания

для трансляционного применения. В этом исследовании, проведенном по методике omics, была выявлена новая комбинированная терапия, которая была протестирована на тубулоидах, полученных от пациентов. В качестве контроля использовались культуры тубулоидов, полученные от здоровых доноров, соответствующих возрасту и полу. Биобанки тубулоидов, полученных из материала здоровых доноров и пациентов, будут способствовать развитию персонализированной медицины и создадут короткую очередь от скамейки до кровати больного. Почечные органоиды могут быть неинвазивно выделены из мочи пациентов с заболеваниями почек (у детей), поскольку они представляют собой культуры, способные к длительному размножению и генетически стабильные. Для детской нефрологии биобанк тубулоидных клеток, полученных из мочи, будет представлять интерес для изучения наследственных заболеваний почек. Для детей и подростков предпочтительны неинвазивные способы сбора первичных клеток у пациентов. Благодаря развитию 2D-технологий получения первичных культур клеток мочи, 3D-культуры тубулоидных клеток станут усовершенствованной моделью клеточной культуры для фундаментальных и трансляционных исследований, включая разработку лекарственных препаратов. Например, скрининг лекарственных препаратов на органоидах опухолей, полученных при злокачественных новообразованиях у детей, показал успешную идентификацию потенциальных терапевтических агентов, нацеленных на опухоли у детей. Клетки органоидов почек также можно культивировать в проточных камерах.

Заключение

Регенеративная медицина - это быстро развивающаяся область. Здесь мы описываем современное состояние знаний и понимания развития, восстановления и регенерации почек. Кроме того, мы предлагаем обзор методик, позволяющих понять и потенциально улучшить регенерацию почек. К сожалению, клиническая готовность приложений, основанных на

доклинических исследованиях с использованием омигов или стволовых клеток еще не достигнута. Однако эта область быстро развивается, и подробные знания о развитии, восстановлении и регенерации почек открывают путь к новым инновационным решениям для пациентов с заболеваниями почек. Нефроноподобные структуры культивируются в 3D и являются перспективными для продвинутого моделирования патофизиологии почек, скрининга лекарственных препаратов и персонализированной медицины, а также для регенеративной терапии как части биоискусственной почки или трансплантируемой почечной ткани. Доступные технологии omics расширяют наше понимание механизмов повреждения и восстановления почек, что открывает возможности для поиска новых медикаментозных мишеней или интервенционной генной/клеточной терапии для окончательного улучшения исходов заболеваний почек.

В настоящее время не существует одобренных методов лечения ХБП на основе стволовых клеток. Тем не менее, проводятся клинические испытания для проверки эффективности и безопасности методов лечения заболеваний почек на основе стволовых клеток. В будущем будет важно также проводить клинические испытания, специально предназначенные для детей, чтобы улучшить результаты и расширить знания. Нет сомнений в том, что клинические испытания с участием детей, направленные на улучшение состояния при ХБП или поиск лекарства от почечной недостаточности, сопряжены со многими трудностями. Кроме того, необходимо тщательно рассмотреть этические аспекты этих новых методов регенеративной медицины. Что касается долгосрочных целей по созданию донорских органов и разработать персонализированные подходы к регенеративной медицине, предстоит пройти долгий путь. Тем не менее, с каждым днем мы становимся все ближе к поиску решений для регенерации почек у пациентов.

Вклад автора: *Концептуализация: ММ; визуализация: ГОСА и МА; письмо – первоначальный вариант: МА; написание – обзор и редактирование: SS, DIF,*

CTON, JAP, VG (Бивек Гунта), AGM, VG (Вур Гунта), SM, PAH, GHS, SLG, YY и MM; надзор: MM. Все авторы одобрили окончательный вариант рукописи.

Библиографический список

1. Stevens PE, Levin A, Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group M (2013) Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med* 158:825–830
2. Harambat J, van Stralen KJ, Kim JJ, Tizard EJ (2012) Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr Nephrol* 27:363–373
3. Collins AJ, Foley RN, Chavers B, Gilbertson D, Herzog C, Johansen K, Kasiske B, Kutner N, Liu J, St Peter W, Guo H, Gustafson S, Heubner B, Lamb K, Li S, Li S, Peng Y, Qiu Y, Roberts T, Skeans M, Snyder J, Solid C, Thompson B, Wang C, Weinhandl E, Zaun D, Arko C, Chen SC, Daniels F, Ebben J, Frazier E, Hanzlik C, Johnson R, Sheets D, Wang X, Forrest B, Constantini E, Everson S, Eggers P, Agodoa L (2012) United States Renal Data System 2011 Annual Data Report: Atlas of chronic kidney disease & end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis* 59:e1-420
4. Greenbaum LA, Warady BA, Furth SL (2009) Current advances in chronic kidney disease in children: growth, cardiovascular, and neurocognitive risk factors. *Semin Nephrol* 29:425–434
5. Rota C, Morigi M, Imberti B (2019) Stem cell therapies in kidney diseases: progress and challenges. *Int J Mol Sci* 20:2790
6. Little MH, McMahon AP (2012) Mammalian kidney development: principles, progress, and projections. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4:a008300

7. Moritz KM, Wintour EM, Black MJ, Bertram JF, Caruana G (2008) Factors influencing mammalian kidney development: implications for health in adult life. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 196:1–78
8. Fetting JL, Guay JA, Karolak MJ, Iozzo RV, Adams DC, Maridas DE, Brown AC, Oxburgh L (2014) FOXD1 promotes nephron progenitor differentiation by repressing decorin in the embryonic kidney. *Development* 141:17–27
9. Little MH, Kairath P (2017) Does renal repair recapitulate kidney development? *J Am Soc Nephrol* 28:34–46
10. Starr MC, Hingorani SR (2018) Prematurity and future kidney health: the growing risk of chronic kidney disease. *Curr Opin Pediatr* 30:228–235
11. Bondue T, Arcolino FO, Veys KRP, Adebayo OC, Levtchenko E, van den Heuvel LP, Elmonem MA (2021) Urine-derived epithelial cells as models for genetic kidney diseases. *Cells* 10:1413
12. Benigni A, Morigi M, Remuzzi G (2010) Kidney regeneration. *Lancet* 375:1310–1317
13. Kumar S (2018) Cellular and molecular pathways of renal repair after acute kidney injury. *Kidney Int* 93:27–40
14. Lin F, Moran A, Igarashi P (2005) Intrarenal cells, not bone marrow-derived cells, are the major source for regeneration in postischemic kidney. *J Clin Invest* 115:1756–1764
15. Duffield JS, Park KM, Hsiao LL, Kelley VR, Scadden DT, Ichimura T, Bonventre JV (2005) Restoration of tubular epithelial cells during repair of the postischemic kidney occurs independently of bone marrow-derived stem cells. *J Clin Invest* 115:1743–1755
16. Bussolati B, Bruno S, Grange C, Buttiglieri S, Deregibus MC, Cantino D, Camussi G (2005) Isolation of renal progenitor cells from adult human kidney. *Am J Pathol* 166:545–555
17. Sagrinati C, Netti GS, Mazzinghi B, Lazzeri E, Liotta F, Frosali F, Ronconi E, Meini C, Gacci M, Squecco R, Carini M, Gesualdo L, Francini F,

Maggi E, Annunziato F, Lasagni L, Serio M, Romagnani S, Romagnani P (2006) Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the Bowman's capsule of adult human kidneys. *J Am Soc Nephrol* 17:2443–2456

18. Kusaba T, Lalli M, Kramann R, Kobayashi A, Humphreys BD (2014) Differentiated kidney epithelial cells repair injured proximal tubule. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:1527–1532 *Pediatric Nephrology* (2024) 39:383–395 393 1 3

19. Smeets B, Boor P, Dijkman H, Sharma SV, Jirak P, Mooren F, Berger K, Bornemann J, Gelman IH, Floege J, van der Vlag J, Wetzels JF, Moeller MJ (2013) Proximal tubular cells contain a phenotypically distinct, scattered cell population involved in tubular regeneration. *J Pathol* 229:645–659

20. Berger K, Bangen JM, Hammerich L, Liedtke C, Floege J, Smeets B, Moeller MJ (2014) Origin of regenerating tubular cells after acute kidney injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:1533–1538

21. De Chiara L, Conte C, Antonelli G, Lazzeri E (2021) Tubular cell cycle response upon AKI: revising old and new paradigms to identify novel targets for CKD prevention. *Int J Mol Sci* 22:11093

22. Kumar S, Liu J, Pang P, Krautzberger AM, Reginensi A, Akiyama H, Schedl A, Humphreys BD, McMahon AP (2015) Sox9 activation highlights a cellular pathway of renal repair in the acutely injured mammalian kidney. *Cell Rep* 12:1325–1338

23. Villanueva S, Cespedes C, Vio CP (2006) Ischemic acute renal failure induces the expression of a wide range of nephrogenic proteins. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290:R861–R870

24. Nie H, Zhao Z, Zhou D, Li D, Wang Y, Ma Y, Liu X, Zuo W (2023) Activated SOX9⁺ renal epithelial cells promote kidney repair through secreting factors. *Cell Prolif* 56(4):e13394

25. Arcolino FO, Zia S, Held K, Papadimitriou E, Theunis K, Bussolati B, Raaijmakers A, Allegaert K, Voet T, Deprest J, Vriens J, Toelen J, van den Heuvel

- L, Levtchenko E (2016) Urine of preterm neonates as a novel source of kidney progenitor cells. *J Am Soc Nephrol* 27:2762–2770
26. Arcolino FO, Hosgood S, Akalay S, Jordan N, Herman J, Elliott T, Veys K, Vermeire K, Sprangers B, Nicholson M, van den Heuvel L, Levtchenko E (2022) De novo SIX2 activation in human kidneys treated with neonatal kidney stem/progenitor cells. *Am J Transplant* 22:2791–2803
27. Freedman BS (2019) Better being single? Omics improves kidney organoids. *Nephron* 141:128–132
28. Balzer MS, Doke T, Yang YW, Aldridge DL, Hu H, Mai H, Mukhi D, Ma Z, Shrestha R, Palmer MB, Hunter CA, Susztak K (2022) Singlecell analysis highlights differences in druggable pathways underlying adaptive or fibrotic kidney regeneration. *Nat Commun* 13:4018
29. Liu J, Kumar S, Dolzhenko E, Alvarado GF, Guo J, Lu C, Chen Y, Li M, Dessing MC, Parvez RK, Cippa PE, Krautzberger AM, Saribekyan G, Smith AD, McMahon AP (2017) Molecular characterization of the transition from acute to chronic kidney injury following ischemia/reperfusion. *JCI Insight* 2:e94716
30. Hinze C, Kocks C, Leiz J, Karaiskos N, Boltengagen A, Cao S, Skopnik CM, Klocke J, Hardenberg JH, Stockmann H, Gotthardt I, Obermayer B, Haghverdi L, Wyler E, Landthaler M, Bachmann S, Hocke AC, Corman V, Busch J, Schneider W, Himmerkus N, Bleich M, Eckardt KU, Enghard P, Rajewsky N, Schmidt-Ott KM (2022) Single-cell transcriptomics reveals common epithelial response patterns in human acute kidney injury. *Genome Med* 14:103
31. Klocke J, Kim SJ, Skopnik CM, Hinze C, Boltengagen A, Metzke D, Grothgar E, Prskalo L, Wagner L, Freund P, Gorlich N, Muench F, Schmidt-Ott KM, Mashreghi MF, Kocks C, Eckardt KU, Rajewsky N, Enghard P (2022) Urinary single-cell sequencing captures kidney injury and repair processes in human acute kidney injury. *Kidney Int* 102:1359–1370
32. Jang C, Chen L, Rabinowitz JD (2018) Metabolomics and isotope tracing. *Cell* 173:822–837

33. Wang G, Heijs B, Kostidis S, Mahfouz A, Rietjens RGJ, Bijkerk R, Koudijs A, van der Pluijm LAK, van den Berg CW, Dumas SJ, Carmeliet P, Giera M, van den Berg BM, Rabelink TJ (2022) Analyzing cell-type-specific dynamics of metabolism in kidney repair. *Nat Metab* 4:1109–1118