

FIBROGENESI ED EPIGENETICA: "UN LEGAME PERICOLOSO"



Dr. Fabrizio Grosjean

Division of Experimental Diabetes and Aging
Mount Sinai Medical School
New York

✉ e-mail: fabrizio.grosjean@gmail.com

La fibrosi tubulo-interstiziale è una caratteristica comune nella progressione di delle patologie renali differenti e si correla negativamente con la funzione renale e la prognosi (1, 2). Stimoli quali citochine prodotte da cellule infiammatorie, ipossia e iperglicemia, rappresentano gli insulti iniziali in grado di attivare fibroblasti e miofibroblasti, responsabili della produzione delle componenti della matrice extracellulare (MEC). Nella progressione del danno fibrotico, a differenza del normale processo di riparazione delle ferite, i fibroblasti sono in grado di rimanere attivati anche dopo la risoluzione

dello stimolo iniziale (3). È stato ipotizzato che alla base di questo fenomeno possano giocare un ruolo modificazioni epigenetiche. Tra queste ricordiamo le modificazioni enzimatiche degli istoni (acetilazione, metilazione, fosforilazione) e la metilazione del DNA. Le prime modificano la conformazione della cromatina da aperta (trascrizionalmente attiva) a chiusa (inattiva) rendendola inaccessibile ai fattori di trascrizione. La metilazione del DNA invece, che avviene ad opera delle DNA-metiltransferasi in posizione C⁵ di regioni CpG del DNA, impedisce il legame dei fattori di trascrizione alle sequenze *promoters* (4). Il risultato finale di tali modificazioni è il silenziamento del messaggio genico. Betchtel et al. (5), mediante uno *screening* in grado di individuare regioni metilate di DNA, hanno paragonato fibroblasti umani ottenuti da reni fibrotici con quelli ottenuti da reni normali. Nei fibroblasti da reni fibrotici tra i geni che risultavano metilati e con ridotta espressione, gli Autori hanno focalizzato la loro attenzione su *RASAL1*, il cui prodotto è in grado di inattivare *Ras*, protooncogene che stimola la proliferazione cellulare. Utilizzando poi un modello murino di fibrosi renale indotta da acido folico, gli Autori hanno osservato che il gene codificante *RASAL1* nel tessuto renale era ipermetilato e la sua espressione era ridotta nei fibroblasti. Tale fenomeno veniva confermato in un secondo modello di fibrosi renale indotta da siero nefrotossico, ma non in un modello murino di danno da ischemia riperfusione normalmente non caratterizzato da fibrosi progressiva. Gli Autori hanno quindi osservato che il trattamento con un agente demetilante (5' azacitidina) riduceva la metilazione di *RASAL1* e il numero di fibroblasti attivati, migliorando i parametri funzionali. *In vitro* i fibroblasti *knockdown* per *RASAL1* assumevano caratteristiche simili a fibroblasti attivati (produzione di MEC e proliferazione intrinseca). Il trattamento con inibitori di *Ras* nello stesso modello murino era in grado di ridurre la fibrosi e migliorare i parametri funzionali. Gli Autori hanno quindi utilizzato topi con una ridotta espressione di *Dnmt1* (DNA metiltransferasi 1), *Dnmt1* ^{-/-}. Questi, trattati con acido folico, presentavano ridotta fibrosi renale e ridotta metilazione di *RASAL1* rispetto ai topi wild type. *In vitro* l'esposizione dei fibroblasti per tempi brevi a *TGF-β1*, citochina profibrotica, era in grado di ridurre in maniera reversibile l'espressione di *RASAL1*. L'esposizione per tempi più lunghi invece induceva la metilazione di *RASAL1* mediata da *Dnmt1*, ed era in grado di inibirne permanentemente l'espressione. Nei reni fibrotici inoltre *Smad 3* e *Smad 2* fosforilati, mediatori intracellulari del *TGF-β1*, si associavano ad una aumentata espressione di *Dnmt1*.

Questo lavoro dimostra che il controllo dell'attività di *Ras* è fondamentale nel determinare il fenotipo dei fibroblasti, e che insulti in grado di determinare un prolungato stimolo *TGF-β1* mediato possano determinare lo stabile silenziamento dell'espressione di *RASAL1* ad opera di *Dnmt1*. Sugerisce inoltre non solo un'ulteriore applicazione di farmaci inibitori delle DNA-metiltransferasi attualmente in fase di studio in ambito oncologico (6), ma anche il potenziale utilizzo di specifiche regioni metilate di DNA come *marker* di progressione del danno renale.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI: L'Autore dichiara di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

- Rodríguez-Iturbe B, Johnson RJ, Herrera-Acosta J. Tubulointerstitial damage and progression of renal failure. *Kidney Int Suppl* 2005; 68: S82-6.
- Haas M, Rahman MH, Cohn RA, Fathallah-Ahayk S, Ansari A, Bartosh SM. IgA nephropathy in children and adults: comparison of histologic features and clinical outcomes. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2537-45.
- Strutz F, Zeisberg M. Renal fibroblasts and myofibroblasts in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2992-8.
- Ptak C, Petronis A. Epigenetics and complex disease: from etiology to new therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008; 48: 257-76.
- Bechtel W, McGoohan S, Zeisberg EM, et al. Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney. *Nat Med* 2010; 16: 544-50.
- Mirza S, Sharma G, Pandya P, Ralhan R. Demethylating agent 5-aza-2-deoxycytidine enhances susceptibility of breast cancer cells to anticancer agents. *Mol Cell Biochem* 2010 May 9.