

LE CARE VECCHIE CELLULE TUBULARI AL TEMPO DELLE STAMINALI



Dr. Massimo Torreggiani

Sezione di Nefrologia
Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica
Università degli Studi di Pavia
Pavia
e-mail: maxtorreggiani@hotmail.com

Accanto a molte prove sperimentali a favore dell'esistenza di una nicchia di cellule progenitrici all'interno del rene, siano esse nella papilla midollare (1) o al polo vascolare della capsula di Bowman (2), emergono altre evidenze che indicano come le cellule indifferenziate non concorrano direttamente a riparare l'epitelio lesionato. Humphreys et al. sostengono proprio questa seconda ipotesi in un articolo apparso recentemente su *Proceedings of the National Academy of Sciences* (3). Per dimostrare la loro teoria,

gli Autori hanno usato una tecnica di doppia marcatura del DNA. Questa metodica si basa sull'assunto che le cellule staminali, per mantenere intatto il loro patrimonio genetico preservandolo dalle mutazioni che avvengono durante la replicazione del DNA, si dividano in modo asimmetrico, segregando il cromosoma originale e cedendo alla nuova cellula solamente il cromosoma copiato. L'ipotesi del "filamento immortale" darebbe ragione del fatto che queste cellule mantengano un marker del DNA se si dividono in maniera asimmetrica o attraverso un lento ciclo di replicazione, mantenendo, così, la loro pluripotenzialità, oppure che lo stesso marcatore venga diluito fino a livelli irrilevabili, per segregazione casuale del DNA, nelle cellule figlie nella divisione simmetrica che conduce alla differenziazione terminale. Marcando dapprima il DNA con l'analogo della timidina 5-cloro-2-deossiridina (CldU) e successivamente con l'analogo 5-iodo-2-deossiridina (IdU), è possibile evidenziare le cellule staminali (CldU+) e quindi osservare il tipo di proliferazione cui vanno incontro incorporando IdU. Le cellule CldU+ sono anche denominate *label-retaining cells* (LRCs) poiché, come si è detto, sono in grado di trattenere il marcatore di DNA per lungo tempo. Essendo, inoltre, le uniche cellule residenti all'interno del rene che vanno incontro a proliferazione, seppure molto lentamente, in condizioni basali, le LRCs sono le uniche a incorporare il marker. Muovendo da questi presupposti, Humphreys e i suoi collaboratori hanno dapprima evidenziato le LRCs solamente nella papilla renale di topi C57Bl6, come era da attendersi. In seguito, sottoponendo i topi a ischemia/riperfusion renale per provocare un danno acuto, hanno osservato la proliferazione di tali cellule in diversi tempi. Ebbene, si è visto, prima di tutto, che, in seguito al danno, le LRCs non migravano dalla midollare interna alla corticale e, secondariamente, che non era possibile evidenziare cellule IdU+, vale a dire cellule proliferanti, nella papilla. Poiché alcuni ricercatori hanno messo in dubbio l'ipotesi del "filamento immortale" (4), oltre all'IdU, gli Autori hanno determinato la proliferazione utilizzando anticorpi diretti contro Ki67 e non sono stati in grado di evidenziare cellule CldU/Ki67+ nella papilla, corroborando i risultati precedenti e suggerendo che le cellule progenitrici residenti nella papilla non partecipano ai processi di riparazione. Somministrando CldU 24 ore prima e IdU 45 ore dopo l'ischemia, se un progenitore intratubulare proliferasse in maniera selettiva per riparare il danno e si dividesse attivamente, la percentuale di cellule figlie doppiamente positiva dovrebbe essere alta. Al contrario, se tutte le cellule tubulari partecipassero alla rigenerazione attraverso una duplicazione di se stesse, dividendosi in maniera casuale, la percentuale di cellule doppiamente positive sarebbe bassa e prevedibile in base alla formula $\%CldU+ \times \%IdU+$. In effetti, Humphreys ha confermato proprio la seconda possibilità, rilevando che di tutte le cellule tubulari esterne alla midollare, circa il 55% era rientrato nella fase G1/S del ciclo cellulare a 48 ore dal danno. Ma, allora, quali sono le cellule che partecipano alla rigenerazione tubulare? Sarebbero le stesse cellule tubulari lesionate. A supporto di questa teoria, ulteriori indagini hanno dimostrato che solo le cellule del tubulo prossimale che hanno subito un danno (definite come cellule positive per *Kidney injury molecule 1 -Kim-1-*) entrano nella fase G1 del ciclo cellulare per dare origine alle nuove cellule epiteliali tubulari. A riprova di ciò, le cellule positive per la bromouridina (altro tracciante di proliferazione) mostravano anche una ridotta espressione della pompa sodio-potassio-ATPasi sulla membrana basolaterale, caratteristica delle cellule tubulari ancora immature, e un'aumentata espressione di Pax-2, un fattore di trascrizione espresso durante lo sviluppo renale. Questo articolo pone l'accento su una questione molto dibattuta e propone una nuova prospettiva nel panorama della rigenerazione renale. Sebbene non credo possa essere messa in dubbio l'esistenza di cellule immature all'interno dell'organo, viene da domandarsi se queste partecipino davvero ai processi di riparazione o se non abbiano, più che altro, un ruolo mediatore-modulatore-facilitatore sugli epitelii circostanti, accreditando le teorie di un loro possibile effetto paracrino.

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

BIBLIOGRAFIA

1. Al-Awqati Q, Oliver JA. The kidney papilla is a stem cells niche. *Stem Cell Rev* 2006; 2: 181-4.
2. Lasagni L, Romagnani P. Glomerular epithelial stem cells: the good, the bad and the ugly. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 1612-9.
3. Humphreys BD, Czerniak S, Dirocco DP, et al. Repair of injured proximal tubule does not involve specialized progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 9226-31.
4. Kiel MJ, He S, Ashkenazi R, et al. Haematopoietic stem cells do not asymmetrically segregate chromosomes or retain BrdU. *Nature* 2007; 449: 238-42.