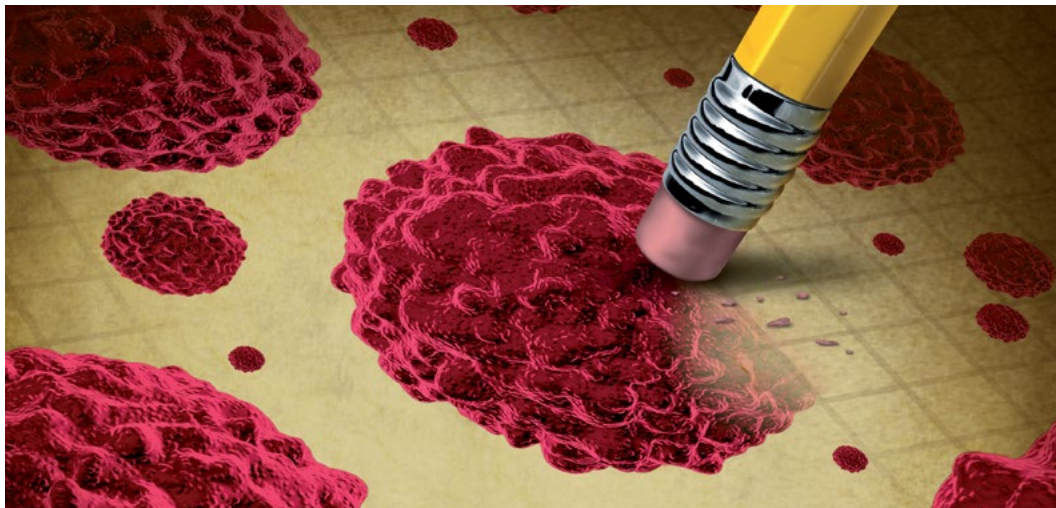


TUMOR NECROSIS FACTOR: UNA CITOCHINA A TUTTO CAMPO

Mario Pezzella



UNA MOLECOLA POLIVALENTE

Il Tumor Necrosis Factor (TNF) è una citochina proinfiammatoria e immunoregolatoria il cui ruolo principale consiste nella regolazione delle cellule del sistema immunitario. Essa è prodotta da cellule della linea monocito/macrofagica e natural killer e secreta nel mezzo circostante in risposta a uno stimolo quale una infezione parassitaria, batterica o virale e in grado di modificare il comportamento di altre cellule inducendo nuove attività come crescita, differenziazione o morte cellulare. Inoltre svolge funzioni importanti nella resistenza alle infezioni e al cancro. La prima osservazione che ha aperto la strada alla scoperta del TNF risale a circa un secolo fa quando fu rilevato che in alcuni soggetti con cancro la neoplasia regrediva spontaneamente dopo infezioni batteriche acute.

La teoria della risposta antitumorale da parte del sistema immunitario in vivo fu proposta nel 1968 da Gale A. Granger che aveva scoperto un fattore citotossico prodotto dai linfociti chiamato linfotossina (LT). Successivamente nel 1975 nello studiare la necrosi emorragica di un tipo di

sarcoma, Carswell et al. (1) rilevarono che alcune endotossine agivano indirettamente inducendo una seconda sostanza selettivamente tossica per le cellule maligne, prodotta principalmente dai macrofagi.

Vari esperimenti indicarono che il TNF non era un residuo delle endotossine ma un distinto fattore responsabile della soppressione delle cellule tumorali da parte dei macrofagi attivati. Così comincia la storia del Tumor Necrosis Factor. Altri studi hanno successivamente mostrato che il TNF serve a trasmettere segnali tra le cellule con un meccanismo d'azione complesso e a veicolare messaggi apparentemente "ambigui" stimolando in alcuni casi la resistenza delle cellule e in altri la loro apoptosi (2).

STRUTTURA CHIMICA

Nel 1984 fu possibile, grazie a studi di biologia molecolare, distinguere il TNF α da TNF β . Il gene umano del TNF fu successivamente purificato e il suo DNA clonato ed espresso. La sua disponibilità ha quindi aperto la strada alla sperimentazione clinica che ha consentito di individuare le distinte attività.

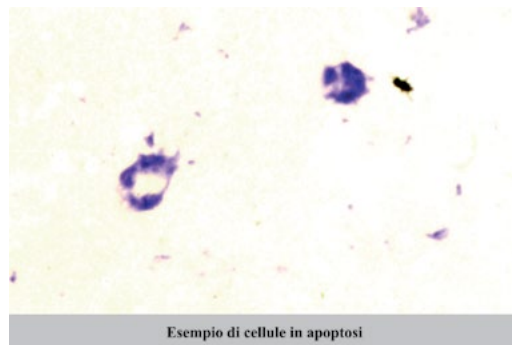
Nel cromosoma fu osservato che esso è posizionato nel locus 6p21.3, di circa tremila coppie di basi e contiene 4 esoni. L'ultimo esone codifica più dell'80% degli amminoacidi riscontrabili nella proteina finale. Il TNF è una proteina solubile, espressa principalmente da macrofagi attivati, generalmente associati con le prime fasi dell'inflammatione acuta, e dai linfociti T.

In forma omotrimerica è liberata e messa in circolo per taglio proteolitico ad opera di un enzima metalloproteasi (3). Furono quindi scoperti due recettori di membrana in grado di legare entrambi le citochine per cui fu osservato che il TNF faceva parte di un gruppo di citochine che venne chiamato TNF family costituito da 19 ben caratterizzate citochine e 29 recettori.

FUNZIONE BIOLOGICA

Il TNF è una molecola multifunzionale che presenta diversi effetti biologici giocando un importante ruolo nell'inflammatione e nell'apoptosi. Sostanzialmente tutte le cellule umane hanno recettori per il TNF. La loro risposta può essere diversa a seconda del contesto patofisiologico. Tramite i recettori induce varie azioni proinflammatorie nelle cellule endoteliali, tra cui la produzione di citochine, l'espressione di molecole di adesione, la liberazione di sostanze procoagulatorie e l'induzione di sintetasi dell'ossido nitrico (NOS) che genera radicali perossinitrici altamente reattivi e capaci di uccidere i microbi con elevata efficienza. Inoltre, il TNF induce febbre, sopprime la lipasi lipoproteica negli adipociti e stimola gli epatociti a produrre proteine di fase acuta. In particolare il TNF può essere pirogeno per sua diretta azione stimolando la sintesi di prostaglandine da parte dei neuroni ipotalamici causando la comparsa di febbre. Una sostenuta produzione di TNF in una varietà di malattie umane, specialmente cancro e infezioni severe, può favorire una sindrome cachettica. L'azione del TNF mira a eliminare le cellule neoplastiche provocandone condensazione e frammentazione della cromatina, la conseguente formazione di corpi apoptotici e quindi la fagocitosi ad opera dei fagociti adiacenti (4).

Il TNF è utile anche per la difesa contro le infezioni favorendo l'apoptosi delle cellule infettate da virus.



D'altro canto la presenza di lipopolisaccaridi sulla superficie dei batteri stimola le cellule del sangue a rilasciare TNF promuovendo risposta antinflammatoria. L'aumentata quantità di espressione nel tessuto adiposo è ritenuta responsabile per lo sviluppo dell'obesità e diabete dovuto all'induzione da parte di TNF di resistenza all'insulina. Inoltre la disregolazione della produzione è coinvolta nella malattia parodontale, nelle malattie cardiache e nella osteoartrite. Infine, anche se non c'è un consenso unanime sulla eziologia delle neuropatie, i risultati sperimentali condotti su animali sembrano indicare un ruolo importante del TNF sia a livello centrale che periferico. I ruoli multipli, giocati dal TNF hanno condotto a una sorta di paradosso medico insolito: in alcuni casi il trattamento desiderato richiede un TNF attivo mentre in altri casi il trattamento mira ad impedire la sua azione.

A basse concentrazione plasmatica di TNF $<10^9$ M la attivazione leucocitaria favorisce la risposta alle infezioni, stimolando la sintesi di molecole chemiotattiche e di molecole di adesione. A elevata concentrazione plasmatica $>10^7$ M induce la febbre e reazioni cardiovascolari potenzialmente letali (5). Il TNF rappresenta forse il principale mediatore della risposta infiammatoria acuta diretta contro i batteri Gram neg e altri microrganismi patogeni, agendo più o meno in sinergia con l'IL-1. Il TNF stimola la produzione di proteine di adesione, quali le selectine, che favoriscono il passaggio dei leucociti

ti dallo spazio intravascolare al tessuto lesivo per eliminare l'agente lesivo. Inoltre il TNF stimola la secrezione di IL-1 da parte dei macrofagi e potenzia l'attività microbica nei neutrofili e macrofagi.

Sono stati identificati due diversi recettori di superficie detti rispettivamente TNF-R1 e TNF-R2 situati su tutti i tipi di cellule. Sebbene l'affinità per TNF R2 sia 5 volte maggiore di quella per TNF R1 è quest'ultimo a iniziare la maggioranza delle attività biologiche del TNF quali gli effetti infiammatori e citotossici mentre TNF R2, espresso principalmente dalle cellule del sistema immunitario, sembra svolgere un ruolo maggiore nelle risposte proliferative (6).

APPLICAZIONE CLINICA

Le scoperte sull'immunobiologia delle citochine hanno portato allo sviluppo di strategie terapeutiche innovative per malattie quali l'artrite reumatoide, la psoriasi e le malattie infiammatorie intestinali consentendo l'impiego di diversi farmaci che contrastano i differenti stadi della produzione e secrezione del TNF.

La moderna terapia farmacologica tesa ad interrompere la patogenesi dell'autoimmunità, mira principalmente al blocco degli agonisti endogeni con anticorpi monoclonali umanizzati o proteine di fusione ricombinanti di IgG e recettori solubili.

Una delle linee di ricerca nelle malattie au-

toimmuni è focalizzata sulla regolazione dell'espressione del TNF. Poiché il TNF esercita ruoli spesso contrapposti un attento bilancio deve essere fatto in ogni momento per essere sicuri nella valutazione di una somministrazione di farmaci inibitori attenta e necessaria.

Una sovrapproduzione di TNF conduce ad alcune malattie associate all'infiammazione, tra cui la sindrome di Behçet e il morbo di Crohn.

D'altra parte non è sorprendente che il trattamento di pazienti affetti da artrite reumatoide trattati con farmaci interferenti con TNF possa aumentare il rischio di una riattivazione della tubercolosi o di epatite virale da HCV o HBV. Il TNF è emerso come un importante regolatore dell'espressione di altre citochine pro-infiammatorie come l'IL-1 e l'IL-6, diventando così un bersaglio chiave per l'intervento terapeutico.

Sono stati resi disponibili, in anni recenti, farmaci come Infliximab (Remicade) e Adalimumab (Humira) che rappresentano un'importante linea di farmaci biologici anti-TNF con applicazione clinica.

La scoperta delle funzioni dei recettori solubili dimerici TNF è stata un'altra importante linea di sviluppo e rappresenta un ottimo modo di controllo delle citochine. In tali casi una forma solubile del recettore è utilizzata per arrestare e ridurre la risposta infiammatoria. ■

Bibliografia

1. Carswell E.A., Old L.J., Kassel R.L., Green S., Fiore N., and Williamson B: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Nat. Acad. Sci* 72: 1975; 3666-70
2. David S. Goodsell: The molecular perspective: Tumor Necrosis Factor. *The Oncologist* 11: 2006; 893-84
3. Bénédicte Chazaud: Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration. *Immunobiology* (2013) <http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.201309.001>
4. Van Horssem R, Timo L-M-, Den Hoed D: TNF- in Cancer Treatment: Molecular insights, antitumor effects and clinical utility. *Oncologist* 11: 2006; 397-408
5. Abbas: *Immunologia cellulare e molecolare* 4° ed. Italiana Piccin
6. G. Chen and D.V. Goeddel: TNF-R1 signaling. A beautiful pathway. *Science* 2002;296:1634-5 a phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. 2013; *Arthritis*:1732-42

Presso la BIOS S.p.A. di Roma in via Domenico Chelini 39, viene eseguito il test per la valutazione del TNF.

Per informazioni e prenotazioni: CUP 06 809641