Giuseppe Amadori (*)

VALUTAZIONE CLINICA DI ORMONI TIMICI NELLE IMMUNODEFICIENZE IN CORSO DI CHEMIOTERAPIA ANTILINFOMATOSA

Abstract - Amadori G. - *Clinical assessment of thymic hormones in immunodeficiencies of patiens under anti-lymphoma chemotherapy.*

The mechanisms of action of thymus and thymic hormones are still poor understood. There exist evidence for the influence of the thymus transplant or hormone therapy on immunodeficency secondary to thymic defects. An open randomized trial on 33 patients with advanced lymphoma under chemotherapy (21 patients with Hodgkin's lymphoma, 12 with non-Hodgkin's lymphoma) was performed. 50 mg. of Thymopentin (TP5) was administered subcutaneously every 2nd day between chemotherapy courses.Thymopentin-treated group was confronted with non treated control group in order to evaluate the effect of the hormone on performance status, level of peripheral blood cells and lymphocyte subsets. Althought the results not shown any statistically significative difference between the two groups, they document some effect on the T-helper lymphocyte number and on hemoglobin's level. The discordant opinions of the literature are discussed and some causes that might explain the failure of prolonged Thymopentin-therapy on neoplastic patients are proposed.

Key words - Immunodeficiency, Lymphoma therapy, Thymopentin.

Riassunto - Amadori G. - *Valutazione clinica di ormoni timici nelle immunodeficienze in corso di chemioterapia antilinfomatosa.*

Le funzioni del timo e degli ormoni da esso prodotti sono oggetto da sempre di discussione. È tuttavia dimostrato che la correzione di difetti immunitari legati a carenza timica può essere ottenuta con il trapianto della ghiandola o con la somministrazione di ormoni. 33 pazienti con linfoma avanzato in trattamento chemioterapico (21 con linfogranuloma di Hodgkin, 12 con linfoma non-Hodgkin di malignità aggressiva-intermedia secondo la Working Formulation) sono stati assegnati secondo un criterio di randomizzazione precedentemente stabilito ad un gruppo non trattato o ad un gruppo trattato nei periodi intervallari tra i cicli con 50 u. s.c. di Timopentina (TP5) allo

(*) Professore Associato di Ematologia dell'Università di Padova.

scopo di valutare l'effetto sulla perforamance, sui valori dell'emocromo e sulle sottopopolazioni linfocitarie. I risultati, sebbene non dimostrino mai significatività statistiche tra i due gruppi nei valori riscontrati ai vari controlli, documentano un qualche effetto dell'ormone timico sulla tenuta dei linfociti helper e dell'emoglobina. Vengono discussi i dati discordanti riportati in letteratura al proposito e si prospettano alcune cause che possono spiegare il mancato effetto del trattamento prolungato con ormoni timici in corso di neoplasia.

Parole chiave - Immunodeficienze, Chemioterapia antilinfomatosa, Ormoni timici.

Introduzione

In corso di malattie linfoproliferative esiste costantemente immunodepressione T, aggravata dalle terapie citoreduttive, oggi assai potenti ed efficaci. Il difetto immunitario rappresenta un aspetto costante in queste condizioni e può essere di grave danno in quanto favorisce la comparsa di infezioni e probabilmente impedisce quella reazione citotossica verso cellule tumorali ritenuta di essenziale importanza nel momento in cui la terapia abbia ridotto la massa tumorale virtualmente «a zero».

Sulla base di queste premesse sono in corso da qualche tempo numerose sperimentazioni terapeutiche con molecole di ormoni timici, ritenute in grado di ritemprare la funzione dei linfociti T.

È opportuno, prima di affrontare il problema specifico, premettere qualche concetto circa la fisiopatologia timica alla luce delle recenti acquisizioni.

Il microambiente timico è un tessuto complesso e specializzato che contiene cellule endodermiche, ectodermiche e stromali mesenchimali derivate dal mesoderma embrionale (1, 2, 3, 4). L'endoderma e l'ectoderma della terza e quarta tasca branchiale danno origine alla componente epiteliale mentre le cellule mesenchimali di derivazione mesodermica vanno a formare la capsula timica, i vasi ed i setti interlobari. In una fase precoce dell'ontogenesi il tessuto connettivo di derivazione mesodermica induce la maturazione di cellule epiteliali e la lobulazione del timo fetale.

Si ritiene che la componente epiteliale del microambiente timico sia composta da una regione centrale di derivazione endodermica e da una regione periferica ectodermica. Le cellule epiteliali hanno aspetto scuro o chiaro e nella zona midollare possono organizzarsi in corpi concentrici a guscio di cipolla (cosiddetti «corpuscoli di Hassal»). Esse posseggono lunghi e sottili processi che consentono il contatto reciproco attraverso desmosomi formando una complessa reticolazione interdigitante

riempita da timociti o linfociti timici (5, 6). Cellule epiteliali diverse conferiscono a timociti immaturi la capacità di riconoscere autoantigeni MHC o di classe I o di classe II e guidano ulteriormente la loro maturazione (7, 8).

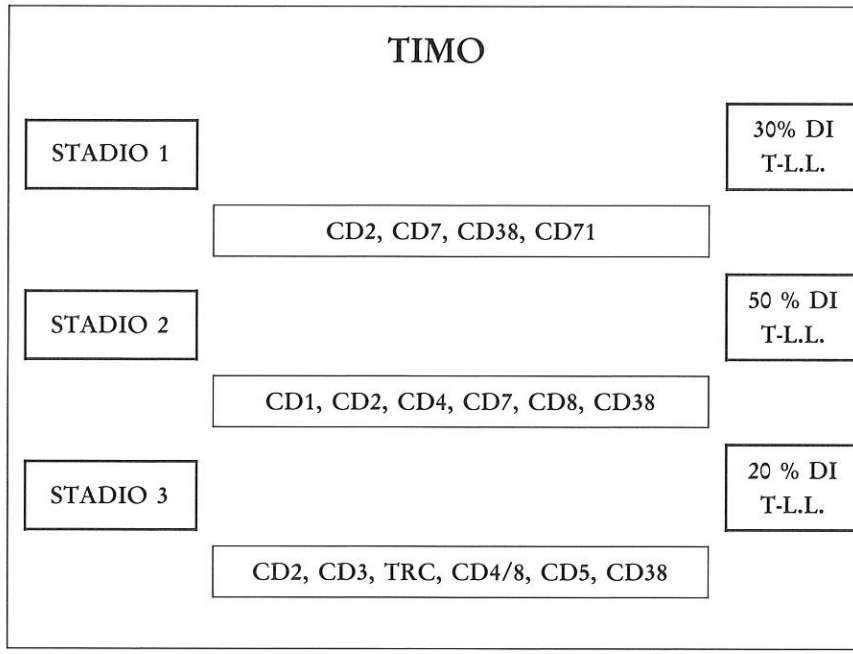
La localizzazione intratimica di numerose molecole ormonali ritenute responsabili dell'induzione di alcuni stadi della maturazione delle cellule T è stata stabilita mediante l'uso di eteroantisieri diretti (9, 10, 11). Ad esempio, il fattore timico solubile, la timulina, e la timopoietina sono stati dimostrati nelle cellule epiteliali della corticale e nella midollare, la timosina alfa-1 è presente nella corteccia sottocapsulare e nella midollare, mentre la timosina beta-3 e la timosina beta-4 si rinvengono solo nella corticale sottocapsulare e non nella midollare (12). Inoltre il fatto che la timosina beta-4 sia prodotta da macrofagi prova un loro ruolo nella maturazione dei timociti timici (13). Le cellule epiteliali corticali cheratinizzzate hanno un pattern di reazione con anticorpi monoclonali diverso dagli stessi elementi sottocapsulari e le cellule epiteliali corticali in genere non contengono timosina alfa-1 e timopoietina, mentre tutto l'epitelio midollare contiene timosina alfa-1. Ma nonostante l'importante ruolo svolto dal microambiente timico in tale funzione, si conosce ancora poco sulle sottoclassi di cellule antigenicamente definibili e sulla sequenzialità del loro ruolo all'interno della componente non linfatica del microambiente timico umano (14).

La corteccia sottocapsulare rappresenta lo spazio ove giungono le cellule staminali dal midollo emopoietico ed ivi inizia la maturazione e la moltiplicazione cellulare, stimolate in ciò dall'epitelio timico (15, 16). Lo strato interno della corteccia è occupato da piccoli linfociti non-proliferanti frammisti a più grandi cellule in mitosi, in lento movimento verso la midollare. La maggior parte dei timociti corticali ha origine all'interno del timo stesso da precursori nella corteccia sottocapsulare ed è immunoincompetente. In tale sede ha luogo una rigorosa selezione in quanto oltre il 95% delle cellule ha sopravvivenza limitata e va incontro ad apoptosi all'interno della ghiandola stessa (17). Solo una minoranza dei timociti corticali sono esportati negli organi linfatici periferici o migrano nella midollare timica. La midollare del timo contiene più cellule epiteliali e solo il 10-15% dei linfociti timici (18). Diversamente dai linfociti corticali, i midollari sono immunocompetenti, esprimono elevata densità di antigeni HLA ed un fenotipo T maturo.

Quindi il passaggio attraverso il timo rappresenta uno step obbligatorio per la generazione di cellule T immunocompetenti. In questa sede l'epitelio invia segnali biochimici a cellule emopoietiche precorritrici dei linfociti T che, arrivate nell'ambito del microambiente, vanno incon-

tro a divisioni e ad una serie di variazioni funzionali e fenotipiche per poi migrare verso i linfonodi ed il dotto toracico, per lo più in senso unidirezionale.

Nel sottostante schema è rappresentato il fenotipo di 3 stadi di maturazione intratimica con le forme linfoproliferative da essi derivanti.



Dai risultati dei primi classici esperimenti di fisiologia timica si evinceva che la maturazione T intratimica richiedeva un microambiente strutturalmente intatto la cui funzione non poteva essere sostituita da tessuto ghiandolare segregato in camere di diffusione, e pertanto la scoperta e caratterizzazione funzionale di ormoni timici è stata inizialmente accettata con non poche riserve. Ancora oggi molti ritengono che principalmente il contatto diretto tra timociti in via di sviluppo e componenti del microambiente timico e solo secondariamente con ormoni timici medino quella complessa sequenza di eventi che porta alla maturazione dei linfociti T. Essendosi poi dimostrato che esistono stadi della maturazione T pretimici e posttimici (19), è evidentemente importante anche il ruolo di sedi periferiche, quali tonsille, linfonodi, milza, pelle, mentre è richiesto il passaggio nel microambiente timico in uno stadio precoce dello sviluppo immunologico per lo sviluppo completo del repertorio di cellule T.

Ed in effetti i patterns di reattività di anticorpi monoclonali verso cellule timiche della cute e dell'epitelio tonsillare presentano parecchie analogie. I cheratinociti basali della pelle contengono infatti ormoni timotropici, simil-timopoietinici e simil-timulinici (20). Nella tonsilla a sua volta l'epitelio forma una rete dendritica di cellule alla base delle cripte che può avere il significato di comuni funzioni trofiche nei confronti delle cellule T e pertanto identificare un ambiente induttivo per le cellule T (21).

Poichè è noto che le cellule epiteliali timiche umane ed i cheratinociti della pelle hanno all'incirca le stesse esigenze per la crescita in vitro, contengono cheratina e presentano simili antigeni di superficie, sembra ragionevole ritenere che la via maturativa delle cellule epiteliali timiche sia simile a quella dei cheratinociti della pelle. Sulla base di osservazioni morfologiche comparative tra corpi di Hassal e cute si può concludere che le cellule epiteliali midollari del timo hanno un potenziale differenziativo simile ai cheratinociti della pelle (22, 23, 24, 25).

Nel timo hanno luogo due serie di eventi estremamente importanti: la selezione positiva e la selezione negativa (26).

La maggior parte dei ricercatori ritiene che esse rappresentino degli eventi separati e che le cellule selezionanti che vengono in contatto con i timociti durante la discriminazione positiva o negativa non siano dello stesso tipo. Nel corso della selezione peptidi «self» legati a molecole MHC di classe I o II sulla superficie delle cellule selezionanti sono riconosciuti da molecole del complesso «T-cell-receptor» (TCR) dei timociti CD4 e CD8.

Alla selezione positiva sono deputate prevalentemente le cellule epiteliali corticali (26, 27, 28). Se il TCR di un timocita si adatta al complesso MHC-peptide espresso dall'epitelio corticale, esso è selezionato positivamente. Sembra probabile che la specificità del TCR detti il fenotipo CD4/CD8 della cellula T che si svilupperà; se il recettore è specifico per un auto-peptide associato con un antigene di classe I, un timocita riconoscerà assieme una molecola di classe I per mezzo della sua molecola CD8 e questo co-riconoscimento in qualche modo fisserà l'espressione del CD8 ed estinguerà quella CD4. Similmente un peptide associato con un antigene di classe II promuoverà un fenotipo CD4+ CD8- (29). Sebbene non esistano dimostrazioni definitive su come e dove gli auto- peptidi guidino la selezione positiva, è ragionevole pensare che essa derivi da digestione proteolitica extracellulare e da processazione endogena. È possibile che quest'ultima abbia un ruolo critico nel modellare il repertorio del TCR.

La selezione negativa, ovvero il processo di eliminazione dei timociti autoreattivi, è indotta da cellule emopoietiche e probabilmente da cellule epiteliali midollari (30, 31, 32). La morte cellulare indotta dalla selezione negativa avviene per apoptosi (o per cosiddetta morte programmata), ed il contatto tra timocita e cellula eliminante coinvolge ancora il TCR, le molecole CD4, CD8 ed MHC (di classe I o II) complessate con peptidi autologhi. La selezione negativa non coinvolge necessariamente lo stesso contatto molecolare che avviene nel corso della selezione positiva. Ad esempio un timocita può essere selezionato positivamente attraverso l'interazione TCR-CD8 con il complesso MHC-classe I-peptide ma essere selezionato in via negativa attraverso l'interazione TCR-CD4 con un complesso MHC classe II-peptide.

Valutando bene la predetta teoria non sfugge un aspetto francamente paradossale. Infatti se sia la selezione positiva che quella negativa coinvolgono il riconoscimento da parte del TCR del complesso auto-MHC auto-peptide, come possono i timociti evitare l'eliminazione clonale? Questo problema è lontano dall'essere risolto e per spiegarlo esistono per ora delle ipotesi che mutualmente non si autoescludono. È certo, comunque, che se sia la selezione positiva che quella negativa avvengono con le stesse sostanze che si legano (auto-peptidi più molecole MHC), allora per spiegare la contraddizione può essere più adatto un modello di affinità (33).

La proposta più ovvia è che la densità dei determinanti autopeptide-MHC richiesta per la selezione positiva sia più bassa della densità necessaria per l'eliminazione clonale. Degli auto-peptidi derivati da fenomeni di processing extracellulari ed intracellulari che mediano la selezione positiva quando si legano a molecole MHC di cellule epiteliali corticali solo una parte, cioè quella endogena, è presente in concentrazioni sufficientemente elevate per indurre l'eliminazione clonale o l'anergia clonale. La densità determinante della maggior parte delle combinazioni auto-peptide-MHC non sarà mai sufficiente per indurre eliminazione o anergia, ne sarà sufficiente per attivare le cellule T in periferia (34, 35, 36).

Alcuni dati sperimentali suggeriscono che normalmente esistono cellule T reattive con auto-peptidi di derivazione extracellulare senza conseguenze patologiche e che esse possono essere attivate da elevate concentrazioni, non-fisiologiche, di auto-peptide. Quindi alcune cellule T autoselezionate possono non essere eliminate ne essere rese anergiche e tuttavia non risultano autoaggressive, almeno in circostanze normali, in vivo (37, 38, 39, 40).

Scopo della ricerca

I soggetti con linfoma di Hodgkin e non-Hodgkin presentano spiccate alterazioni del sistema immunitario, con particolare riferimento al compartimento cellulo-mediato, che possono perdurare anche dopo il raggiungimento della remissione clinica e la sospensione del trattamento.

Alcune delle principali alterazioni sono rappresentate da una riduzione dei linfociti T circolanti, da un'alterazione del rapporto tra le sottopopolazioni T (T helper/T suppressor), da una depressione dei livelli di immunoglobuline.

Al disordine immunitario, proprio delle singole neoplasie, si somma anche la depressione immunologica umorale e/o cellulare da antiblastici, cortisonici ed eventualmente da terapia radiante e da diagnostiche invasive o interventi chirurgici necessari per la stadiazione.

Così la compromissione del sistema immunitario umorale e dei granulociti è responsabile dell'alta incidenza degli episodi infettivi ricorrenti delle vie respiratorie ed enteriche da una parte, dall'altra la diminuita efficienza dell'immunità cellulo-mediata rende ragione dell' aumentata frequenza di infezioni fungine e virali.

I dati disponibili in letteratura dimostrano che, se si tralascia la mortalità legata alla malattia di base, gli episodi infettivi costituiscono la causa di morte più importante con una percentuale del 47% nei soggetti portatori di neoplasia.

Gli ormoni timici suscitano da alcuni anni notevole interesse quali potenziali agenti immunoterapici nel trattamento delle neoplasie. Stimolando la maturazione e funzione dei linfociti T e, quindi, la produzione di linfochine, questi fattori contribuiscono da una parte a potenziare la risposta immunitaria antitumorale, e dall'altra a ripristinare le difese, compromesse da fattori intrinseci o estrinseci ai tumori stessi.

La timopentina, primo ormone timico di sintesi, che riproduce il «sito attivo» della timopoietina naturale, si è dimostrata efficace nell'inibire la crescita tumorale e la diffusione metastatica in modelli tumorali murini (41, 42). Studi condotti in vitro ed in modelli clinici di immunodeficienza primitiva e secondaria hanno inoltre evidenziato come essa stimoli la produzione di Il-2 e gamma-Interferon e l'attività citotossica specifica e naturale (43, 44).

Il farmaco è risultato inoltre efficace nel ridurre l'incidenza delle recidive infettive in soggetti immunocompromessi (45, 46).

L'obbiettivo di questa indagine clinica è quello di valutare se la timopentina possegga una effettiva azione di stimolo alla maturazione e

all'efficienza funzionale dei T-linfociti e se pertanto sia ad essa attribuibile un'azione nel ripristino del normale assetto immunitario e nella profilassi delle infezioni in pazienti portatori di linfoma sottoposti a polichemioterapia.

Pazienti e metodi

Sono stati arruolati in uno studio completamente casualizzato, controllato, in aperto, verso non trattamento, 33 pazienti con linfoma (21 di Hodgkin, 12 non-Hodgkin ad aggressività intermedia-elevata secondo la Working Formulation) in stadio IIIA - IVB, tutti candidati alla polichemioterapia. Venivano osservati i seguenti

Criteri di inclusione:

— pazienti di entrambi i sessi, di età inferiore ai 75 anni, con malattia di Hodgkin definita in accordo con la Classificazione di Ann Arbor;
— pazienti di entrambi i sessi, di età inferiore ai 75 anni, con linfoma non-Hodgkin ad aggressività medio-elevata secondo la Working Formulation;
— pazienti candidati alla chemioterapia;
— pazienti con performance status secondo Karnofsky > al 30.

Criteri di esclusione:

— età superiore ai 75 anni;
— pazienti con grave cardiopatia (classe III NYA), diabete insulinodipendente, insufficienza epatica grave (AST ALT e GGT maggiori di due volte al limite di riferimento superiore), insufficienza renale grave (creatininemia > 2 mg/dl);
— pazienti che avessero eseguito trattamento immunostimolante nei 3 mesi precedenti;
— pazienti con performance status < al 30.

Le principali caratteristiche dei pazienti sono riassunte nella tabella 1, a fianco.

Come si vede, 21 pazienti sono affetti da linfogranuloma di Hodgkin, 12 da linfoma non-Hodgkin. 18 sono di sesso femminile, 15 maschile; l'età media è di 48,51 anni, rispettivamente di 44,66 per i pazienti con Hodgkin, 50,08 per quelli con linfoma non-Hodgkin.

Del primo gruppo 10 presentano la varietà istologica a sclerosi

Tab. 1 - **CARATTERISTICHE CLINICHE DEI PAZIENTI NELLO STUDIO**

Caso	Età	Sesso	Diagnosi	Stadio	Terapia	Risultato
1	74	M.	HD C.M.	IV A	MOPP/ABVD	R.C.
2	26	F.	HD S.N.	III A	MOPP/ABVD	R.C.
3	31	F.	HD S.N.	III BE	MOPP/ABVD	R.C.
4	24	M.	HD S.N.	IV A	MOPP/ABVD	R.C.
5	45	M.	HD C.M.	IV B	MOPP/ABVD	R.C.
6	22	F.	HD C.M.	III A	MOPP/ABVD	R.C.
7	21	F.	HD S.N.	IV A	MOPP/ABVD	R.C.
8	33	F.	HD S.N.	IV B	MOPP/ABVD	R.C.
9	15	F.	HD S.N.	III A	MOPP/ABVD	R.C.
10	23	M.	HD S.N.	III A	MOPP/ABVD	R.C.
11	60	F.	HD C.M.	IV A	MOPP/ABVD	R.C.
12	64	M.	HD C.M.	IV B	MOPP/ABVD	EX.
13	59	F.	HD D.L.	IV B	MOPP/ABVD	EX.
14	20	M.	HD S.N.	IV A	MOPP/ABVD	R.C.
15	58	M.	HD D.L.	IV B	MOPP/ABVD	EX.
16	52	M.	HD S.N.	III A	MOPP/ABVD	R.C.
17	49	M.	HD C.M.	III A	MOPP/ABVD	R.C.
18	66	M.	HD C.M.	IV A	MOPP/ABVD	R.C.
19	61	F.	HD C.M.	III A	MOPP/ABVD	R.C.
20	45	M.	HD C.M.	IV B	MOPP/ABVD	R.C.
21	42	F.	III A	HC S.N.	MOPP/ABVD	R.C.
22	18	F.	LB	IV A	MACOP-B	R.C.
23	50	M.	IBL	IV B	MACOP-B	R.C.
24	72	F.	DSC	IV A	CHOP	R.C.
25	52	F.	LB	III A	MACOP-B	R.C.
26	68	M.	DSC	IV A	CHOP-Bleo	R.P.
27	71	F.	DSC	IV A	CHOP-Bleo	R.C.
28	58	F.	DM	III A	CHOP-Bleo	R.C.
29	55	F.	DL	IV A	MACOP-B	R.C.
30	65	F.	DM	IV A	CHOP	R.P.
31	54	M.	DL	IV B	MACOP-B	R.C.
32	43	F.	IBL	IV A	MACOP-B	R.C.
33	62	F.	IBL	IV B	MACOP-B	R.C.

nodulare, 9 quella a cellularità mista, 2 quella a deplezione linfocitaria; al momento della diagnosi 8 erano in stadio IIIA, 1 in IIIB, 6 in stadio IVA, 6 in stadio IVB. Tutti vennero trattati con l'associazione ibrida MOPP/ABVD. 16 pazienti ebbero sei cicli, 5 ebbero 8 cicli.

Del secondo gruppo, 3 presentavano il tipo istologico diffuso a piccole cellule clivate (secondo la Working Formulation), 2 quello diffuso misto, 2 quello diffuso a grandi cellule clivate, 3 immunoblastico, due linfoblastico; al momento della diagnosi 2 erano in stadio IIIA, 7 in stadio IVA, 3 in stadio IVB. Di essi 2 vennero trattati con l'associazione CHOP (6 cicli), 3 con quella CHOP-Bleo (6 cicli), 7 con la MACOP-B.

In base al numero d'ingresso nello studio, i pazienti erano randomizzati per stratificazione secondo criterio stabilito precedentemente per ricevere timopentina, 50 mg s.c. a dì alterni, nei periodi intervallari tra le somministrazioni della chemioterapia. I pazienti trattati con le associazioni MOPP/ABVD ricevevano l'ormone dal giorno 14° al 27° compreso dei cicli 1-6, quellli che ricevevano il CHOP o CHOP-Bleo a giorni alterni dal 6° al 21°, quelli che ricevevavno il MACOP-B erano trattati con timopentina sia durante il trattamento che successivamente per 12 settimane. In tutti i casi la timopentina era somministrata a giorni alterni.

La condotta dello studio prevedeva una valutazione al momento della diagnosi (prima dell'inizio della terapia) che doveva contemplare: accurata anamnesi, esame clinico generale con determinazione del «performance status», peso corporeo, pressione arteriosa, frequenza cardiaca, attenta valutazione delle stazioni linfonodali, della milza e del fegato, oltre ad emocromo completo, profilo biochimico e determinazione del numero dei linfociti circolanti CD3+, CD4+, CD8+. Prima di ogni altro ciclo andavano ripetute tutte le predette valutazioni, eccetto lo studio delle sottopopolazioni linfocitarie. Essendo previsti 6 cicli di polichemioterapia a distanza di 21 o 28 giorni, tali erano anche gli intervalli tra le valutazioni, che ne comprendevano anche un'ultima a distanza di 28 giorni dall'ultimo ciclo. Nei pazienti con linfoma non-Hodgkin che ricevevano l'associazione MACOP-B le osservazioni, in numero di 7, come in tutti gli altri casi, partivano dal momento della diagnosi e venivano ripetute ogni 4 settimane.

Lo studio delle sottopopolazioni linfocitarie veniva eseguito in tutti i casi in occasione delle valutazioni 1, 4, 7.

Nei pazienti è stato valutato l'effetto della timopentina riguardo a:

— performance status;
— andamento dei globuli bianchi ed in particolare dei neutrofili e dei linfociti, delle piastrine, dell'emoglobina;
— comportamento delle sottopopolazioni linfocitarie;
— incidenza di complicanze infettive.

Risultati

Tre pazienti sono deceduti in corso di trattamento. I pazienti erano affetti da linfoma di Hodgkin in stadio IVB, due appartenevano alla varietà istologica «a deplezione linfocitaria», uno a quella «a cellularità mista». Il primo riguarda una paziente di 58 anni colpita dal linfogranuloma dopo 25 anni di malattia di Sjoegren, defedata, fortemente immunodepressa; venne a morte per sepsi dopo 4 mesi di terapia. Il secondo si riferisce ugualmente ad una paziente di 59 anni nella quale fu diagnosticato l'Hodgkin a deplezione linfocitaria, assai avanzato, dopo 10 anni dal trattamento radiante apparentemente con successo di una forma sclerronodulare della malattia. Il terzo si riferisce ad un uomo di 64 anni con varietà istologica «a cellularità mista». Entrambi risposero poco o nulla al trattamento e vennero a morte per polmonite fungina dopo la somministrazione del IV ciclo.

Negli altri casi di linfoma di Hodgkin si sono ottenute remissioni complete.

In due casi di linfoma non-Hodgkin si sono ottenute remissioni parziali, nei restanti remissioni complete.

In tutti i casi trattati il performance index è migliorato rapidamente dagli iniziali 50-70%, al 90-100%, senza apprezzabili differenze tra casi trattati con timopentina e non.

L'emoglobina è l'unico dato che migliora, di poco nei pazienti controllo e sensibilmente in quelli trattati con TP5 (Tab. 2). È da dire che in questi ultimi le condizioni generali in partenza erano senz'altro peggiori ma tali risultavano in base alla randomizzazione per stratificazione.

I leucociti in toto subiscono un calo evidente senza raggiungere mai valori pericolosi e così pure i neutrofili, che comunque sono sempre al di sopra della soglia di sicurezza (Tab. 3).

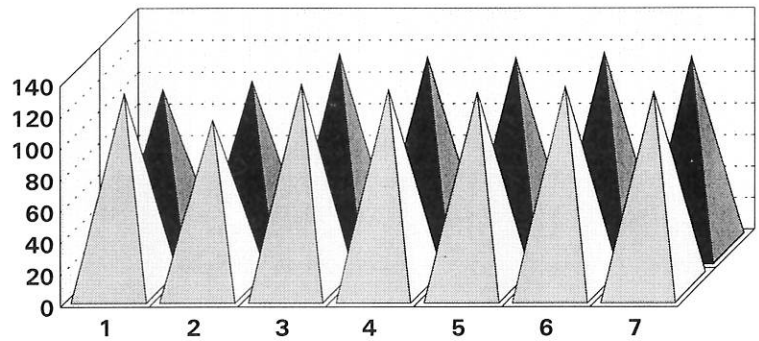
I linfociti in toto nel corso del trattamento mostrano una riduzione di circa il 30%, un po' minore nei pazienti trattati con TP5. (Tab. 4).

Per quanto riguarda la popolazione CD3+ si nota egualmente calo moderato nei controlli e minore nei trattati con ormone timico (Tab. 5).

Comportamento analogo si nota nella popolazione CD4, come è raffigurato nella (Tab. 6).

Per i CD8 invece non sembrano esserci apprezzabili differenze di andamento tra pazienti che avevano ricevuto il TP5 ed i controlli. Simile, ma sempre senza significatività statistica, l'andamento delle piastrine nei due gruppi (Tab. 7, 8).

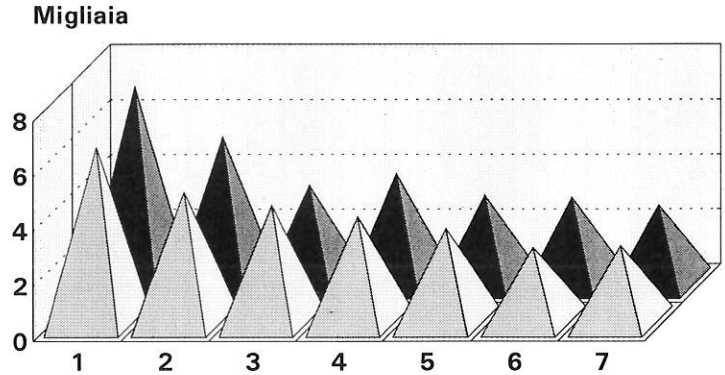
Tab. 2 - ANDAMENTO COMPARATIVO DEI VALORI DELL'EMOGLOBINA DURANTE LA CHEMIOTERAPIA



CON TP52	101.57	106.77	124.15	122.15	121.62	124.85	122.38
SENZA TP5	123.56	106.75	129.31	126	124	127.87	124.25

△ SENZA TP5 ▲ CON TP52

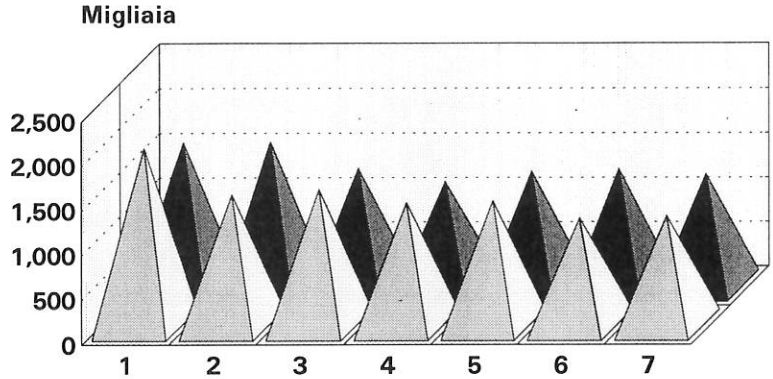
Tab. 3 - ANDAMENTO COMPARATIVO DEI NEUTROFILI IN CORSO DI CHEMIOTERAPIA ANTILINFOMATOSA



CON TP5	7.199	5.349	3.585	4.009	3.224	3.148	2.856
SENZA TP5	6.371	4.734	4.242	3.814	3.39	2.693	2.759

△ SENZA TP5 ▲ CON TP5

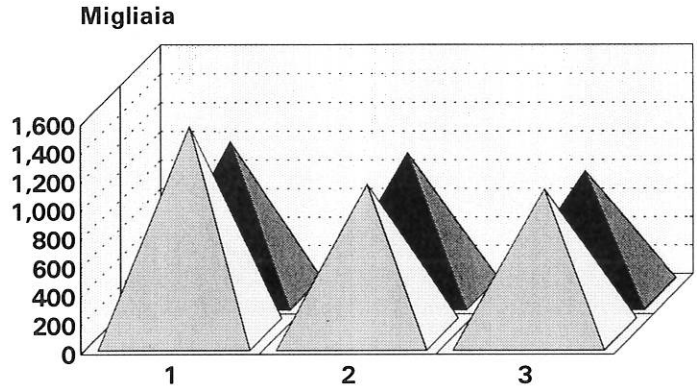
Tab. 4 - ANDAMENTO COMPARATIVO DEI LINFOCITI IN PAZIENTI IN CHEMIOTERAPIA ANTILINFOMATOSA



CON TP52	1,615	1,620	1,322	1,172	1,288	1,315	1,258
SENZA TP5	1,989	1,469	1,528	1,376	1,398	1,198	1,221

△ SENZA TP5 ▲ CON TP52

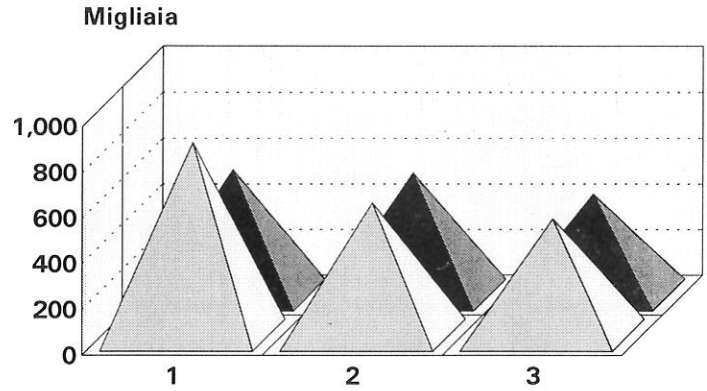
Tab. 5 - ANDAMENTO COMPARATIVO DEI LINFOCITI CD3+ IN CORSO DI CHEMIOTERAPIA ANTILINFOMATOSA



CD3 CON TP5	1,069.44	989.89	864.33
CD3 SENZA TP5	1,454.38	1,049.75	1,016

△ CD3 SENZA TP5 ▲ CD3 CON TP5

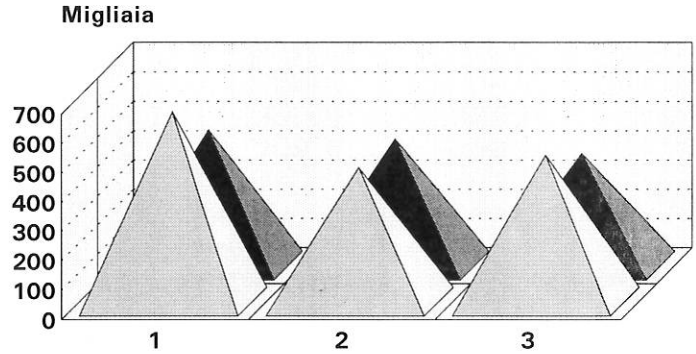
Tab. 6 - ANDAMENTO COMPARATIVO DEI LINFOCITI CD4+ IN CORSO DI CHEMIOTERAPIA ANTILINFOMATOSA



CD4 CON TR.	550.444	536.78	445
CD4 SENZA TR.	843.428	580.835	510.17

△ CD4 SENZA TR. ▲ CD4 CON TR.

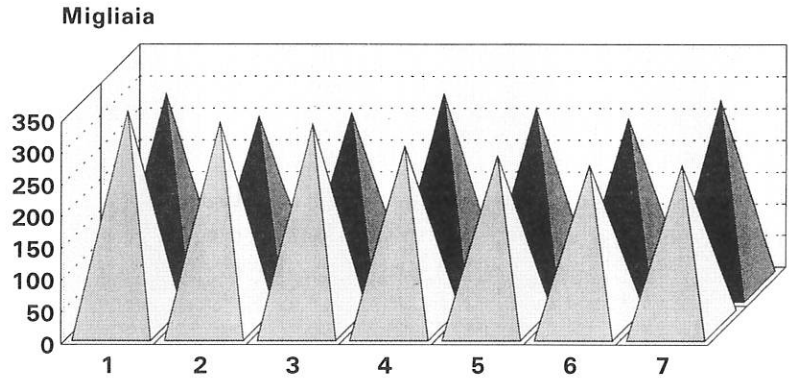
Tab. 7 - ANDAMENTO COMPARATIVO DEI LINFOCITI CD8+ IN CORSO DI CHEMIOTERAPIA ANTILINFOMATOSA



CD8 CON TR.	464.11	433.44	384.67
CD8 SENZA TR.	647.83	458.08	500.75

△ CD8 SENZA TR. ▲ CD8 CON TR.

Tab. 8 - ANDAMENTO COMPARATIVO DELLE PIASTRINE IN CORSO DI CHEMIOTERAPIA ANTILINFOMATOSA



CON TP52	304.666	268.642	273.857	304.071	282.071	265.571	294.642
SENZA TP5	338.201	320.562	317.866	282.857	267.802	252.533	252.801

△ SENZA TP5 ▲ CON TP52

DISCUSSIONE

L'importanza della funzione timica, come si può dedurre dalle ampie notizie riportate nella parte introduttiva, è essenziale per lo sviluppo dell'immunità e sta alla base della valutazione dell'uso di un ormone sintetico in corso di polichemioterapia antilinfomatosa aggressiva, al fine di ridurre l'incidenza di infezioni e di riportare più rapidamente alla normalità i parametri ematologici ed immunologici.

Si ritiene che i fattori timici solubili abbiano un importante ruolo nella risposta immune e che la loro somministrazione terapeutica possa sopperire alla carenza di funzione ghiandolare, similmente al trapianto della ghiandola. Alcuni di essi sono stati isolati e purificati, quali la timopoietina, la timosina alfa-1, e la timulina (47), altri rappresentano molecole sintetiche, quali la timopentina, sequenza aminoacidica corrispondente alla porzione attiva della timopoietina. È stato descritto che due preparati misti, la timosina frazione 5 e la timostimolina, inducono l'espressione di marcatori T su cellule in vitro ed inducono cellule T mature, oltre a favorire la secrezione di Il-2 e ad aumentare in vivo l'immunità cellulo-mediata.

Il primo trapianto terapeutico di tessuto timico è stato compiuto nel 1968 in un bambino con aplasia timica congenita (sindrome di Di George) ed ha avuto come seguito rapida correzione del numero periferico dei linfociti e miglioramento della diarrea e delle flogosi delle vie aeree superiori, oltre ovviamente al miglioramento dei parametri dell'immunità cellulare e all'aumento della resistenza verso tutte le infezioni (48, 49). Tale approccio terapeutico si è dimostrato utile anche in due casi di candidiasi mucocutanea cronica, causando correzione in vitro dell'anomala risposta alla candida, ritorno della normale positività degli skin tests e miglioramento clinico in uno dei due (50).

In difetti primitivi della ghiandola è vantaggioso anche l'impianto sottocute di camera millipore contenente tessuto timico, a dimostrazione che la diffusione di materiale non-cellulare, verosimilmente ormonale, ha funzioni simili al trapianto (51).

Alcuni Autori hanno studiato l'effetto della timopentina e della timostimolina in pazienti con sindrome di Di George, osservando ricostituzione immunitaria, aumento della citotossicità e della produzione di Il-2, almeno in alcuni pazienti, ed inoltre diminuzione della frequenza di infezioni (52, 53). Dalle prime valutazioni è comunque difficile trarre conclusioni definitive per la mancanza di follow-up sufficientemente lungo. Sembra probabile che dopo un trattamento prolungato si verifichi una sorta di «breack point», oltre il quale la terapia ormonale resta inefficace. Inoltre non esistono chiare correlazioni tra risposta clinica ed indici laboratoristici immunitari e la carenza di standardizzazione biologica complica la scelta tra i vari preparati a disposizione.

Per quanto riguarda la timopentina, essa sembra migliorare la risposta proliferativa ai mitogeni (54) e la funzionalità di cellule ex-vivo da pazienti con infezione da cytomegalovirus (55, 56) senza completa correzione dei difetti cellulari; è stato anche visto che può indurre aumento di «large granular cells» citotossiche in corso di deficit immunologico combinato (57), aumento del rapporto CD4/CD8 (58) e dell'attività NK (59). In due pazienti con linfoma non-Hodgkin in stadio IV B avrebbe da sola dato in un caso remissione completa, nell'altro parziale (60) ed analogamente 7 remissioni complete ed 8 parziali sono descritte dal gruppo della Bernengo in una casistica di 30 pazienti con sindrome di Sèzary (61). In corso di atassia-telengiectasia riduce la frequenza degli episodi infettivi e aumenta il livello delle IgA (assenti prima del trattamento) e la sintesi anticorpale specifica dopo vaccinazioni (62, 63).

In un altro studio è parso che la timopentina causasse bensì miglioramento nella sindrome di Di George ma non nella immunodeficienza combinata grave o nella atassia-teleangiectasia, mentre la somministra-

zione in 3 pazienti con sindrome da iper-IgE portò a peggioramento in 2 (64). Nell'ambito delle affezioni reumatiche in 20 soggetti affetti da sclerosi sistemica progressiva si ebbe significativo miglioramento di vari parametri clinici e di laboratorio (65) e l'iniezione intra- e periarticolare in portatori di patologia degenerativa della spalla, ginocchio ed anca fu seguita da chiaro miglioramento dei sintomi (66). Questi risultati sono di difficile interpretazione a causa delle diverse basi patogenetiche delle malattie in questione.

In corso di deficienza immunitaria in rapporto con l'uremia, in cui la causa non è ben nota, ma che sarebbe in rapporto prevalentemente con l'immunità cellulare, la somministrazione di 50 mg di timopentina 3 volte in settimana indurrebbe aumento delle sottopopolazioni CD3+ e CD4+ e lieve miglioramento dei tassi emoglobinici (ma non è nota la durata del trattamento!) (67).

È stato valutato l'effetto adjuvante della timopentina in corso di vaccinazione contro l'epatite B sulla funzione in vitro dei linfociti T e dei monociti ed in vivo sulla risposta anticorpale in uno studio prospettico, placebo-controllato, in doppio cieco in 20 pazienti in emodialisi cronica non responsivi o scarsamente responsivi allo stimolo immunologico specifico. È infatti noto che dopo vaccinazione con virus attivo dell'epatite B il 95% dei soggetti sani risponde con anticorpi contro l'HBSAg mentre tra i dializzati cronici solo il 60-70% mostra sieroconversione (68, 69, 70, 71). Secondo dati sperimentali di IKEMOTO e coll. (72) la scarsa efficienza funzionale dei linfociti T nell'uremia sarebbe dovuta ad ostacolata secrezione degli ormoni timici. DUMANN e coll. (73) hanno somministrato 50 mg di timopentina sottocute due volte in settimana per tre mesi e quindi eseguito una iniezione intramuscolare di 40 gamma di HB-Vax seguita ancora da tre iniezioni di timopentina. Dopo un mese si eseguiva un richiamo con 40 gamma di Hb- Vax. Non si notavano differenze significative nella funzione delle cellule T e dei monociti dopo somministrazione dell'ormone, come risulta dalle determinazioni in vitro del rapporto di stimolazione, ovvero del rapporto tra la sintesi di DNA spontanea dei linfociti dei pazienti con quella di soggetti normali in vitro. Dopo tre mesi tre pazienti del gruppo placebo e due di quello trattato con timopentina avevano un titolo anticorpale maggiore di 10 u./l, dimostrandosi quindi assenza di effetto adjuvante. Anche ERVO e coll. e MALAPPONI e coll. riportano esperienze di analoga valenza (74, 75).

Nei diabetici, ugualmente iporesponsivi alla vaccinazione per l'epatite B, le cose andrebbero diversamente (76, 77). PAGANI e coll. (78) hanno dimostrato che la timopentina è in grado di aumentare la formazio-

ne di anticorpi specifici dopo vaccinazione per l'epatite B, somministrandola nel dosaggio di 50 mg/s.c. tre volte in settimana per una settimana prima e tre dopo la vaccinazione. Valutando in questo modo 17 pazienti in 15 (88%) è stata dimostrata sieroconversione dopo la terza dose di vaccino rispetto al 94% di un gruppo di controllo. Sebbene il titolo anticorpale fosse significativamente più basso nei diabetici rispetto ai controlli, non vi è dubbio che l'aumento della percentuale delle sieroconversioni ha un preciso significato.

L'ormone si è anche dimostrato efficace nel migliorare i parametri immunologici ed il numero di ricadute febbrili in pazienti immunodepressi con bronchite cronica (79).

Secondo LEUG e coll. (80) il trattamento giornaliero con 50 mg per 6 settimane è utile anche nel corso di dermatite atopica medio-grave, nella quale si nota riduzione della generica gravità di malattia e dei sintomi soggettivi in modo statisticamente significativo, in assenza di sintomi collaterali.

Il farmaco è stato anche valutato in pazienti fobici allo scopo di valutare l'attività sulla depressione della funzione fagocitica dei polimorfonucleati e dei monociti. La somministrazione trisettimanale dell'abituale dosaggio è stata seguita da significativo aumento della funzione fagocitante dei polimorfonucleati, con meccanismo sconosciuto (81).

Per quanto riguarda la funzione monocitaria, RUETTNER e coll. (82) hanno valutato l'effetto della somministrazione di Timopentina in topi i giorni -4 e -1 prima dell'inoculazione di Listeria monocytogenes, senza dimostrare nè effetti positivi sulle difese nè alcun effetto dose-resistenza.

Secondo alcuni invece l'attività della molecola sarebbe minore rispetto ad altre similari, quale l'analogo derivato dalla sostituzione dell'aspartato in posizione 3 con prolina (WIECZOREK e coll., 83) ed il cosiddetto «fattore timico umorale» (84), frazione solubile immunologicamente attiva isolata da omogenati di timo di vitello (85), usata con successo nel trattamento di vari deficit T. Il principio attivo, chiamato THF-gamma2, è stato recentemente purificato fino all'omogeneità e quindi sintetizzato chimicamente (86). Si è visto che influenza la differenziazione timica e la competenza immunologica nel modello animale in vivo e nell'uomo in vitro; ma poiché i dati sperimentali dimostravano concordemente che esso è indispensabile per l'espansione clonale, differenziazione e maturazione di sottopopolazioni T e che non presentava effetti tossici, si è ritenuto fosse atto alla sperimentazione clinica.

In effetti 111 pazienti affetti da svariate affezioni immunologiche sono stati trattati con THF naturale o sintetico, compresi difetti immunitari congeniti, difetti secondari a tumori e ai trattamenti radiochemio-

terapici, virosi sistemiche, malattie autoimmuni ed altre affezioni con interessamento della funzione T (87, 88, 89). Inizialmente sono stati usati i dosaggi più bassi per via iniettiva giornaliera, per 7-14 giorni. L'efficacia del trattamento è stata valutata in base a vari criteri clinici, comprendendo segni specifici di infezione, febbre, rash, malessere generale, e sono stati monitorati parecchi parametri di laboratorio.

Prima dell'applicazione del protocollo terapeutico fu dimostrato in vitro aumento del numero e della funzione di linfociti di immunodepressi. Risultati analogamente promettenti si ottennero poi in un gruppo ristretto di pazienti con malattie linfoproliferative e 2 sarcomi.

Anche la timopentina è stata valutata in corso di polichemioterapia per carcinoma della mammella, ovaio o colorettale, sempre nel dosaggio di 50 mg s.c. tre volte in settimana, e si è dimostrata di qualche utilità nel prevenire leucopenie temibili e conseguente ritardo nella somministrazione della chemioterapia stessa, senza peraltro differenze statisticamente significative (90, 91).

Nel nostro studio il suo uso in pazienti linfomatosi sottoposti a polichemioterapia ha dato risultati di beneficio limitato.

Non ci soffermiamo sul fatto che due dei tre pazienti venuti a morte erano stati assegnati al gruppo che riceveva l'ormone, ed in effetti aveva avuto decine di somministrazioni. Come a volte si nota in queste casistiche di numero abbastanza ridotto, la randomizzazione prestabilita aveva assegnato al gruppo da trattare con l'ormone i casi chiaramente più gravi, nella fattispecie una recidiva ed una forma non responsiva, per i quali probabilmente in nessun caso si sarebbe prospettata la remissione completa.

Nei restanti pazienti che hanno ottenuto remissione completa o parziale si è osservato costantemente miglioramento dei tassi dell'emoglobina senza che mai si fosse resa necessaria la trasfusione.

I leucociti in toto ed i neutrofili hanno subito chiaramente un calo in rapporto alla terapia antitumorale che però non ha mai impedito nè ritardato nè indotto riduzioni della terapia. Alla fine del trattamento entrambi risultano lievemente superiori nel gruppo che aveva ricevuto la timopentina, ma anche i valori di partenza di questo gruppo erano leggermente più elevati, ed in ogni caso le differenze non sono statisticamente significative. Comportamento analogo presentano le piastrine.

Lo stesso vale per i linfociti, anche se effettivamente i CD3+ e CD4+ segnano riduzioni minori nei pazienti che ebbero timopentina, senza raggiungere la significatività statistica.

Sui parametri riportati nelle tabelle si possono tuttavia eseguire delle osservazioni ed avanzare delle ipotesi piuttosto interessanti. Si nota

infatti che dopo il primo ed al limite anche dopo il secondo ciclo di polichemioterapia il calo dei linfociti in toto, dei CD3+, dei CD4+ ed anche dei CD8+ è nettamente più contenuto nei pazienti trattati anche con l'ormone, mentre in seguito la differenza è meno evidente. Questo comportamento si accorda con l'ipotesi precedentemente riportata di una sorta di «esaurimento» dell'azione degli ormoni timici in corso di trattamenti prolungati, dopo un periodo iniziale di chiaro influsso sui parametri immunitari.

Questi dati testimoniano comunque un'azione della timopentina che si estende anche sulle cellule mieloidi (globuli rossi, neutrofili, piastrine) probabilmente attraverso l'induzione di secrezione di fattori di crescita da parte dei linfociti T stimolati dall'ormone. Riteniamo che la mancata eclatanza e l'assenza di significatività statistica nei dati riportati possa essere attribuita ad alcuni motivi ipotetici, e segnatamente:

1. Insufficiente dosaggio della timopentina nelle singole somministrazioni;
2. Scarsa attività intrinseca della molecola in questione rispetto ad altri ormoni timici naturali e sintetici;
3. Scarsezza di cellule substrato in circolo (cioè di cellule pre-timiche);
4. Esaurimento dell'azione della molecola dovuto al prolungamento del trattamento, non escludendo la causa immunologica;
5. Incapacità degli ormoni timici di esercitare influssi durevoli su cellule post-timiche;
6. Richiesta del microambiente timico per un'azione persistente.

Da numerosi precedenti studi non sembrerebbe che né il dosaggio dell'ormone sia scarso né che la molecola sia inattiva (92). Certamente le molecole dotate di attività biologica di ormone timico sono numerose, sicuramente dotate di attività differenziata e sono in grado di interagire con altri modificatori della risposta biologica. Ad esempio Mastino e coll. (93) hanno osservato come trattando topi normali o soppressi con ciclofosfamide o da melanoma con timosina alfa-1 o aggiungendo l'ormone a cellule mononucleate separate in vitro si otteneva aumento significativo dell'attività citotossica verso cellule tumorali indotta dall'Il-2 e che pertanto l'uso potenziale di entrambi i modificatori potrebbe essere interessante. Cordero e coll. (94) hanno notato aumento del recettore per l'Il-2 sui T linfociti normali dopo trattamento con protimosina alfa, mentre Faist e coll. hanno trovato che la terapia combinata con timopentina ed indometacina è in grado di mantenere integre le difese antiinfettive nei pazienti sottoposti a grossi interventi chirurgici più del solo ormone timico (95).

STZEIN e coll. (96) hanno rivolto l'attenzione sui meccanismi coinvolti nell'aumentata produzione di Il-2 in risposta alla PHA in presenza di timosina alfa-1 e timosina frazione 5, e nell'aumento dell'espressione del recettore per l'Il-2 indotto dagli stessi ormoni. Essi hanno potuto dimostrare che tali ormoni modulano eventi precoci nel corso dell'attivazione linfocitaria dovuta a mitogeni, in quanto un breve periodo di incubazione di cellule non aderenti con timosina seguito da ripetuti lavaggi e successiva incubazione con PHA è sufficiente nell'aumentare la produzione di Il-2 e l'espressione del recettore. Inoltre l'aggiunta contemporanea di timosina e PHA durante il periodo di preincubazione non è necessaria per ottenere i predetti aumenti. Fu anche valutato il ruolo dei macrofagi sulla modulazione di queste risposte indotta dalla timosina. I risultati sembrerebbero indicare che essi non sono necessari per l'interazione della timosina con le cellule T, ma che essi sono comunque assolutamente richiesti durante la fase di esposizione al mitogeno dopo la preincubazione con timosina, sia per l'aumento della secrezione di Il-2 che per l'incremento dell'espressione del recettore mediati dalla timosina alfa-1 e frazione 5.

L'Il-1 beta umana ricombinante è in grado di sopperire a questa funzione macrofagica, indicando così che la produzione di Il-1 da parte dei macrofagi è evento cruciale riguardo agli effetti della timosina. L'analisi citofluorimetrica a due colori ed esperimenti in cui si usavano popolazioni CD4+ e CD8+ altamente purificate indicano che entrambi i tipi cellulari sono bersaglio della timosina.

HONG (97) sottolinea come la correzione dei difetti T con trattamenti a base di ormoni timici sia sempre risultata difficile e fugace e rilancia il trapianto timico come migliore procedimento per il trattamento dei difetti T.

Appare quindi chiaro come ci si trovi in un campo in cui regna l'assoluta discordanza tra esperienze ed opinioni. I nostri risultati, che testimoniano una solo moderata azione del farmaco, sottolineano l'esigenza di approfondire l'esperienza con più ampi riscontri in vitro, con diverse schedule e diversi periodi di trattamento nella pratica clinica. Considerato il frequente uso di tipo oncologico e la stretta interdipendenza con l'Il-2 e relativo recettore, sembra inoltre indispensabile valutare i reciproci effetti delle due sostanze sulla citotossicità verso cellule neoplastiche.

BIBLIOGRAFIA

(1) WELLER G. L. - *Contrib. Embriol. Carnegie Inst.*, 1933.

(2) NORRIS E. H. - *Contrib. Embryol. Carnegie* Inst., 1938; 27: 193.

(3) AUERBACH R.: Experimental analysis of the origin of cell types in the development of the mouse thymus - *Dev. Biol.* 1960; 3: 366.

(4) PATTEN B. M.: Human Embriology - *McGraw Hill*, New York 1968, p. 206.

(5) KENDALL M. D.: The Thymus Gland. Kendall M.D. - *Ed.* - *Academic Press*, New York 1981, p. 63.

(6) KISSEL P., ANDREA J. M., JACQUIER A.: in «The Neuro-Cristopathies» - *Masson*, New York 1981, p. 131.

(7) KRUISBEEK A. M., FULTZ M. J., SHARROW S. O. et al.: Early development of the T-cell repertoire. In vivo treatment of neonatal mice with anti-Ia antibodies interferes with differentiation of I-restricted.l - *J. Exp. Med.* 1983; 157: 1932-1946.

(8) JENKINSON E. J., VAN EWIJK W. & OWEN J. J. T.: Major histocompatibility complex antigen expression on the epithelium of the developing thymus in normal and nude mice. - *J. Exp. Med.* 1981; 153: 280-292.

(9) SCHMITT D., MONIER J.C., DARDENNE M. et al.: Cytoplasmic localisation of FTS (Facteur Thymique Serique) in thymic epithelial cells. An immunoelectronmicroscopical study - *Thymus* 1980; 2: 177-186.

(10) GOLDSTEIN A. L., LOW T. L. K., THURMAN G. B. et al.: Current status of thymosin and other hormones of the thymus gland - *Rec. Progr. Horm. Res.* 1981; 37: 369.

(11) HAYNES B. F., SHIMIZU K & EISENBARTH G. S.: Identification of human and rodent thymic epithelium using thetanus toxins and monoclonal antibody A2B5 - *J. Clin. Invest.* 1983; 71: 9-14.

(12) HIROKAWA K., MCCLURE J. E. & GOLDSTEIN A. L.: Age-related changes in localisation of thymosin in the human thymus - *Thymus* 1982; 4: 19-24.

(13) BELLER D. I. & UNAUNE E. R.: Thymic maturation in vitro by a secretory product from macrophages - *J. Immunol.* 1977; 118: 1780.

(14) SINGH J.: in «The Thymus Gland», *Kendall M. D. Ed.*, 1981, *Academic Press*, New York 1981.

(15) HAYNES B. F. & EISENBARTH G. S.: «Monoclonal antibodies: probesfor the study of Autoimmunity and Immunodeficency» - *Academic Press*, New York, 1983.

(16) UMIEL T. U., DALEJ J. F., BHAN A. K. et al.: Acquisition of immune competence by a subset of human cortical thymocytes expressing mature T cell antigens - *J. Immunol.* 1982; 129: 1054.

(17) SCOLLAY R. G., BUTCHER E. C., WEISSMAN I. L.: Thymus cell migration. Quantitative aspects of cellular traffic from the thymus to the periphery in mice - *Eur. J. Immunol.* 1980; 10: 210-218.

(18) REINHERZ E. L., KUNG P. C., GOLDSTEIN G. et al.: Discrete stage og human intrathymic differentiation: analysis of normal thymocytes and leukaemic lymhoblasts of T-cell lineage - *J. Immunol.* 1980; 77: 1588-1592.

(19) MORRISSEY P. J. & SINGER A.: in «Monoclonal antibodies: Probes or the Study of Autoimmunity and Immunodeficency» - *Haynes B.F. and Eisenbarth G.S. Eds., Academic Press*, New York 1983, p. 67.

(20) CHU A. C., PATTERSON J. A. K., GOLDSTEIN G. et al.: Thymopoietin-like substance in human skin - *J. Invest. dermatol.* 1983; 81: 194-197.

(21) HAYNES B. F.: in «The thymic hormones and Lymphokines - *A. L. Goldstein Ed., Plenum*, New York, 1984.
(22) VIAC J., SCHMITT D., STAQUET M. J. et al.: Epidermis-thymus antigenic relations with special reference to Hassal's corpuscle - *Thymus* 1980; 1: 318-328.
(23) DIDIERJEAN L., SAURAT J. H.: Epidermis and thymus. Similar antigenic properties in Hassal's corpuscle and subsets of keratinocytes - *Clin. Exp. Dermatol.* 1980; 5: 395-404.
(24) SAUDER D. N., CARTER C. S., KATZ S. I. et al.: Epidermal cell production of thymocyte activating factor - *J. Invest. Dermatol.* 1982; 79: 34-39.
(25) JANOSSY G., BOFILL M., DOSIEWICZ T. J. et al.: in «Current Topics in Pathology» - *H. K. Mueller Himelink Ed., Springer Verlag*, Berlin and New York, 1983.
(26) SPRENT J., LO D., GAO K. K. et al.: T-cell selection in the thymus - *Immunol. Rev* 1988; 101: 173-190.
(27) LO D., SPRENT J.: Identity of cells that imprint H-2 restricted T-cell specificity in the thymus - *Nature* 1986; 319: 672-675.
(28) BENOIST C. & MATHIS D.: Positive selection of the T cell repertoire: where and when does it occurr? - *Cell* 1989; 58: 1027-1033.
(29) NIKOLIC-ZUGIC J. & BEVAN M.J.: Role of self-peptides in positively selecting the T-cell repertoire - *Nature* 1990; 344: 65-67.
(30) GARRETT T. P. J., SAPER M. A., BJORKMAN P. J. et al.: Specificities pockets for the side chains of peptide antigens - *Nature* 1989; 342: 692-696.
(31) SHA W. C., NELSON C. A., NEWBERRY R. D. et al.: Positive selection of trangeneic receptor-bearing thymocytes by Kb antigen is altered by Kb mutations that involve peptide binding - *Proc.Natl. Aca. Sci. USA* 1990; 87: 6186-6190.
(32) BERG L. J., FRANK G. D. & DAVIS M. M.: The effect of MHC gene dosage and allelic variation on T cell receptor selection - *Cell* 1990; 60: 1043-1053.
(33) SCHILS H., ROTZCHKE O., KALBACHER H. et al. - *Science* 1989; 247: 1587-1589.
(34) MARRACK P. & KAPPLER J.: The T-cell repertoire for antigen and MHC.ll - *Immunol. Today* 1988; 9: 308-315.
(35) KURILSKY P. & CLAVERIE J. M.: MHC restriction, alloreactivity and thymic education: a common link? - *Cell* 1989; 56: 327-329.
(36) CARBONE F. R., MOORE M. W., SHEIL M. J. et al.: Induction of cytotoxic T lymphocytes by primary in vitro stimulation with peptides - *J. Exp. Med.* 1988; 167: 1767-1779.
(37) KISIELOW P., THE H.S., BLUTHMAN H. et al.: Positive selection of antigen-specific T-cells in thymus by restricting MHC molecules - *Nature* 1988; 335:730-733.
(38) SHA W. C., NELSON C. A., NEWBWRRY R. D. et al.: Selective expression of an antigen receptor on CD8 bearing T lymphocytes in transgeneic mice - *Nature* 1988; 335: 271-274.
(39) BERG L. J., FAZEKAS D. E., GROTH B. et al.: Phenotypic differences between alfa-beta versus beta T-cell receptor transgeneic mice undergoing negative selection - *Nature* 1989; 340: 559-562.
(40) PIRCHER H., BURKI K., LANG R. et al.: Tolerance induction in double specific T-cell receptor transgeneic mice varies with antigen - *Nature* 1989; 342: 559-561.
(41) LAU C. Y., WANG E. Y. & GOLDSTEIN G.: Studies on thymopentin pentapeptide (TP5) on experimental tumors - *Cellular Immunology* 1982; 66: 217-232.

(42) Szende B., Lapis K. et al.: The effect of TP3, TP4 and TP5 on the metastatic capacity on intravenously injected Lewis lung tumor cells - *Immunopharm. Immunotoxicol.* 1987; 9: 19-24.

(43) Meroni P. L.: In vivo immunopotentiating activity of thymopentin in aging humans: increase of Il-2 production - *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1987; 42: 151.

(44) Fiorilli M., Sirianni M.C. et al.: Improvement of natural killer activity and of T cells after thymopentin pentapeptide therapy in a patient with severe combined immunodeficency - *Clin. Exp. Immunol.* 1981; 45: 344-351.

(45) Gisot (Gruppo Italiano di Studio sugli Ormoni Timici): Efficacia e tollerabilità della timopentina in pazienti a rischio di infezioni - *Rec. Progr. Med.* 1987; 78: 7-8.

(46) Raina A., Bisol A. et al.: Thymopentin in prophylaxis of infections in chemotherapy-treated cancer patients - *Curr. Ther. Res.* 1988; 43: 797-804.

(47) Hadden J. W. & Hadden E. M.: Therapy of secondary T-cell immunodeficency with biologic substances and drugs - *Med. Oncol: Tumor Pharmather.* 1989; 6: 11-17.

(48) August C. S., Rosen F. S., Filler R. M. et al.: Implantation of fetal thymus, restoring immunological competence in a patient with thymic aplasia (Di George syndrome) - *Lancet* 1968; 2: 1210-1211.

(49) Cleveland W. W., Fogel B. J., Brown W. T. et al.: Foetal thymic transplantation in a case of Di George syndrome - *Lancet* 1968; 2: 1211-1214, p. 73.

(50) Levy R. L., Bach M. L., Huang S. W. et al.: Thymic transplantation in a case of chronic mucocutaneous candidiasis - *Lancet* 1971; 2: 898-900.

(51) Kirkpatrick C. H., Ottenson E. A., Smith T. K. et al.: Reconstitution of defective cellular immunity with foetal thymus and dialysable transfer factor. Long term studies in a patient with chronic mucocutaneous candidiasis - *Clin. Exp. Immunol.* 1976; 23: 414-418.

(52) Editorial: Which thymic hormone? - *Lancet* 1983; 1: 1309-1311.

(53) Lin C. Y., Kuo Y. C., Lin C. C. et al.: Enhancement of interleukin-2 and gamma-interferon production in vitro on cord blood lymphocytes and in vivo on primary cellular immunodeficency patients with thymic extract (thymostimulin) - *J. Clin. Immunol.* 1988; 8: 103-107.

(54) Caruso C., Candore G., Modica M. A. et al.: In vitro thymopentin modulation of mitogen responsive T-cell precursos frequency - *Thymus* 1991; 17: 249-251.

(55) Abiko T., Shishido H. & Sekino H.: Synthesis and effect of (Glu.34)-thymopentin II fragment 32-45 and its analogs on the impaired T-cell transformation in a patient with common variable immunodeficency - *Biotechnol. Appl. Biochem.* 1986; 8: 160-171.

(56) Abiko T., Shishido H. & Sekino H.: Synthesis of the nonatetracontapeptide corresponding to the entire amino acid sequence of thymopentin III and its effect on the impaired T-lymphocyte transformation of a patients with a common variable immunodeficency - *Chem. Pharm. Bull.* 1986; 34: 2133-2143.

(57) Takagi S., Minakuchi J., Okawa H et al.: Phenotypical and functional heterogeneity of the large granular lymphocytes increased after various treatments in a patient with combined immunodeficency - *J. Clin. Immunol.* 1989; 9: 39-47.

(58) Hu C., Radelli R., Scorza R. et al.: In vivo enhancement of NK cell activity by thymopentin - *Int. J. Immunopharmacol.* 1990; 12: 193-197.

(59) Garavelli P. L. & Ciriello M.: Modificazioni delle popolazioni linfocitarie indotte dalla somministrazione di timopentina - *Minerva Med.* 1990; 81: 109-110.

(60) Luraschi A., Saglietti G., Fedeli P. et al.: Remissione parziale di LMNH stadio IB-B in seguito a terapia immunostimolante con timopentina - *Minerva Med.* 1992; 83: 377-380.
(61) Bernengo M. G., Appino A., Bertero M. et al.: Thymopentin in Sèzary syndrome - *J. Natl. Cancer Inst.* 1992; 84: 1341-1346.
(62) Bordigoni P., Faure G., Bene M. C. et al.: Improvement of cellular immunity and IgA production in immunodeficient children after treatment with synthetic serum thymic factor 8FTS) - *Lancet* 1982; 2: 293-297.
(63) Carco F., Gili C., Gobber M. et al.: Indicazioni terapeutiche nell'herpes zoster - *Clin. Ter.* 1991; 136: 327-332.
(64) Aiuti F., Businco L., Fiorilli M. et al.: Thymopentin pentapeptide treatment of primary immunodeficencies - *Lancet* 1983; 1: 551-555.
(65) Giordano N., Biasi G., Vaccai D. et al.: Valutazioni dell'impiego di timopentina in pazienti affetti da sclerosi sistemica progressiva - *Clin. Ter.* 1991; 136: 399-407.
(66) Zanasi S. & Caroli A.: Esperienze cliniche con timopentina per via intra- e periarticolare nella patologia degenerativa della spalla, del ginocchio, dell'anca - *Minerva Med.* 1992; 83: 47-55.
(67) Salvati F. & Riario-Sforza G.: Effects of thymopentin on the immune status and erythropoiesis of uremic patients - *Curr. Ther. Res.* 1990; 47: 911-915.
(68) Crosnier J., Jungers P., Courource A. M. et al.: Randomized placebo controlled trial of hepatitis B surface antigens vaccine in French hemodialysis units: II. Hemodialysis patients - *Lancet* 1981; 1: 797-800.
(69) Desmyter J., Colaert J., de Groote G. et al.: Efficacy of heat inactivated hepatitis B vaccine in hemodialysis patients and staff - *Lancet* 1983; 2: 1323-1327.
(70) Koehler H., Arnold W., Renschin G. et al.: Active hepatitis B vaccination of dislysis patients and medical staff - *Kindney Int.* 1984; 25: 124-128.
(71) Stevens C. E., Alter H. J., Taylor P. E. et al.: Hepatitis B vaccine in patients receiving hemodialysis - *N. Engl. J. Med.* 1984; 311: 496-501.
(72) Ikemoto S., Kamizuru M., Hayahara N. et al.: Thymus lymphocytes in uraemic rats and the effect of thymosin fraction 5 in vivo - *Clin. Exo. Immunol.* 1992; 87: 220-223.
(73) Dumann H., Meuer S., Renscin G. et al.: Influence of thymopentin on antibody-response, and monocyte and T cell function in haemodialysis patients who fail to respond to hepatitis B vaccination - *Nephron* 1990; 55: 136-140.
(74) Ervo R., Faletti P., Magni S. et al.: Evaluations of treatments for the vaccination against hepatitis B with thymopentine - *Nephron* 1992; 61: 371-372.
(75) Malapponi M., Baldassari M., Saldini S. et al.: Use of immunomodulators (thymopentine) in hepatitis B vaccine in patients undergoing chronic hemodialysis - *Nephron* 1002; 61: 358-359.
(76) Madalinski K., Brzosko W., Malezewski M. et al.: Autralia antigen in sera of diabetic patients - *Lancet* 1971; 1: 701-702.
(77) Pozzilli P., Arduini P., Visalli N. et al.: Reduced protection against hepatitis B virus following vaccination in patient with type I (insulin-dependent) diabetes - *Diabetologia* 1987; 30: 817-819.
(78) Pagani S., Cruciani L., Chianelli M. et al.: Thymopentin administration and increase of sero-conversion after B-hepatitis vaccine in diabetic patients - *Diabetes Res.* 1989; 12: 199-201.

(79) Amoroso A., Di Rosa R., Guidotti G. et al.: Studio clinico-immunologico a medio termine sull'efficacia della terapia con timopentina in pazienti affetti da bronchite cronica e deficit dell'immunità cellulare - *Rec. Progr. Med.* 1990; 81: 29-32.

(80) Leung D. Y., Hirsch R. L., Schneider L. et al.: Thymopentin therapy reduces the clinical severity of atopic dermatitis - *J. Allergy Clin. Immunol.* 1990; 85: 927-933.

(81) Covelli V., Munno I., Altamura M. et al.: Administratiobn of thymopentin to patients with phobic disorders improves depressed phagocytic functions - *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 1990; 12: 619-631.

(82) Ruettner B., Hauser T, Leist T. P. et al.: Absence of effects of thymopentin on murine host resistance to Listeria monocytogenes - *Thymus* 1991; 17: 1-10.

(83) Wieczorek Z., Voelter W., Nawrocka E. et al.: The unusually high immunomodulatory activity of thymopentin analogue pro-5-TP5 - *Molecular Immunol.* 1991; 28: 95-98.

(84) Handzel Z. T., Burstein Y., Buchner V. et al.: Immunomodulation of T cell deficency in humans by thymic humoral factor: from crude extract to synthetic thymic humoral factor-gamma2 - *J. Biol. Resp. Mod.* 1990; 9: 269-278.

(85) Kook A. I., Yakir Y. & Trainin N.: Isolation and partial chemical characterisation of THF, a thymic hormone involved in immune maturation of lymphoid cells - *Cell Immunol.* 1975; 19: 151-157.

(86) Burstein Y., Buchner V., Pecht M. et al.: THF-gamma-2: purification and amino-acid sequence of a immunoregulatory peptide from calf thymus - *Biochemistry* 1988; 27: 4066-4071.

(87) Trainin N., Burstein Y., Ben-Efraim S. et al.: The use of THF, a thymic hormone, for immunomodulation in cancer and AIDS - in: *Lapis K. and Eckhard S. Eds.*, Novel Approaches in Cancer Therapy, 1987: 253-260.

(88) Handzel Z. T., Pecht M., Apte R. N. et al.: Cell-mediated immunity and effects of thymic humoral factor in 15 patients with SSPE - *Brain Develop.* 1983; 5: 29.

(89) Simon H. H., Roth H., Forner K. et al.: Immunologische Befunde bei Patienten mit rezidivierenden Herpes-Simplex Infektionen. In-vitro-Einfluss von Thymopoietin und Splenin Abgeleiteten und teilweise partiell modifizierten Peptiden auf Blutlymphozyten im Vergleich einem Thymus-Extrakt - *Allerg. immunol. Leipz* 1990; 36: 111-118.

(90) Ciconi E., Capolungo R., Balduzzi G. F. et al.: Trattamento perioperatorio con timostimolina in pazienti affetti da neoplasia dello stomaco e del colon retto. Nostra esperienza si 114 casi - *Minerva Chir.* 1992; 47: 939-940.

(91) Cartia G. L.: Valutazione degli effetti di timopentina sull'incidenza di leucopenia in opazienti trattate con chemioterapia per carcinoma mammario - *Min. Med.* 1990; 81: 815-817.

(92) Malmann P. & Krebs D.: Investigations on cell-mediated immunity in patients with breast and ovarian carcinomas receiving a combination of chemotherapy and immunotherapy with thymopentin - *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 1990; 12: 330-340.

(93) Mastino A., Favalli C., Grelli S. et al.: Thymosin alpha-1 potentiates interleukin 2-induced cytotoxic activity in mice - *Cell. Immunol.* 1991; 133: 196-205.

(94) Cordero O. J, Sarandeses C. S., Lopez J. L. et al.: Prothymosin alpha enhances interleukin-2 receptor expression in normal human T-lymphocytes - *Int. J. Immunopharmacol.* 1991; 13: 1059-1065.

(95) FAIST E., MARKEWITZ A., FUCHS D. et al.: Immunomodulatory therapy with thymopentin and indomethacin. Successful restoration of interleukin- 2 synthesis in patients undergoing major surgery - *Ann. Surg.* 1991; 214: 264-273.
(96) STZEIN M. & SERRATE S. A.: Characterization of the immunoregulatory properties of thymosin alpha 1 on interleukin-2 production and interleukin-2 receptor expression in normal human lymphocytes - *J. Immunopharmacol.* 1989; 11: 789-800.
(97) HONG R.: Reconstitution of T-cell deficency by thymic hormone or thymus transplantation therapy - *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1986; 40: 136-141.

ZUSAMMENFASSUNG - AMADORI G. - *Klinische Erprobung thymischer Hormone in Immunodefizit während antilymphomatoser Chemotherapy.*

Die Funktionen des Thymus und seiner Hormone sind seit langem ein Diskussionpunkt. Es ist geklaert, dass Immunodefizenzien, denen eine Thymuskarenz zu Grunde Liegt, mittels Thymustransplantation oder mittels Somministration von Thymushormonen korrigiert werden können. 33 Patienten mit Lymphom (21 mit Hodgkin's Lymphogranulomatose, 12 mit non-Hodgkin's Lymphom von mitteleren-hohen Malignitäts Grad) in fortgeschrittenen Stadium in Chemiotherapie wurden in zwei Gruppen aufgeteilt: eine Gruppe erhielt keinerlei Behandlung zwischen Chemiotherapiezyklen, die andere wurde im Intervallzeitraum mit 50 mg. s.c. Thymopentin (TP5) alle zwei Tage behandelt, um den Allgemeinzustand, das Blutbild und die Lymphozytensubpopulationen zu beurteilen. Die Ergebnisse weisen zwar keine statistiche Signifikanz auf, belegen jedoch eine gewisse positive Wirkung des Thymushormons auf die Helfer-Lymphozyten und auf Hämoglobinspiegel. In der Fachliteratur finden sie zu diesem Thema widersprüchliche Ergebnisse, und es zeichnen sich verschiedene Gründe ab, die die fehlende Wirkung der langfristigen Behandlung mit Thymushormonen im Laufe von Neoplasien erklären.

SCHLÜSSWÖRTER - Immunodefizit, Lymphoma Therapy, Thymopentin.

Indirizzo dell'autore:
prof. Giuseppe Amadori - Via Monaco Padovano 12 - 35128 Padova (Italia)