

302927
1
209



**UNIVERSIDAD FEMENINA
DE MEXICO**

**Escuela: Químico Farmacéutico Biólogo
con estudios incorporados a la U.N.A.M.**

**AVANCES OBTENIDOS EN EL TRATAMIENTO
DE PACIENTES CON CANCER, EMPLEANDO
INMUNOTERAPIA COMBINADA, BCG-LEVA-
MISOL.**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

T E S I S
Que para obtener el Título de
Químico Farmacéutico Biólogo
p r e s e n t a

ARACELI ALONSO SANCHEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

| | pág. |
|--|------|
| INTRODUCCION | 6 |
| OBJETIVO | 7 |
| CAPITULO I | |
| Generalidades. | 8 |
| 1. Cáncer. | 8 |
| 1.2 Características generales. | 8 |
| 2. Bacilo de Calmette y Guérin. | 9 |
| 2.1 Características generales. | 9 |
| 2.2 Preparación de la vacuna. | 9 |
| 3. Levamisol. | 10 |
| CAPITULO II | |
| Factores inmunitarios. | 11 |
| 1. Generalidades. | 11 |
| 2. Tumores y respuesta inmune. | 11 |
| 3. Antígenos tumorales. | 12 |
| 4. Resistencia del hospedero y respuesta inmune. | 12 |
| 5. Mecanismos de escape tumoral. | 12 |
| 6. Mecanismos inmunológicos contra células tumorales. | 13 |
| 6.1 Mecanismos humorales. | 13 |
| 6.2 Mecanismos celulares. | 15 |
| CAPITULO III | |
| Inmunoterapia del cáncer. | |
| 1. Generalidades. | 16 |
| 2. Tratamiento inmunoterápico con el BCG. | 16 |
| 2.1 Cáncer de seno. | 17 |
| 2.2 Cáncer cérvico-uterino. | 18 |
| 2.3 Cáncer gástrico. | 19 |
| 2.4 Cáncer de colon. | 20 |
| 2.5 Cáncer pulmonar. | 20 |
| 2.6 Cáncer de Vejiga. | 21 |
| 2.7 Leucemia. | 23 |
| 3. Tratamiento inmunoterápico con levamisol. | 24 |
| 4. Tratamiento inmunoterápico combinando --- BCG-levamisol. | 26 |
| 4.1 Tratamiento con el BCG. | 26 |
| 4.2 Estudios clínicos para la valoración del estado inmunológico del paciente con --- cáncer. | 27 |

| | | |
|--------------|-------------------------------------|----|
| 4.3 | Administración del BCG y levamisol. | 27 |
| 4.4 | Respuesta del paciente. | 28 |
| 4.5 | Resultados obtenidos. | 28 |
| CAPITULO IV | | |
| | Respuesta inmunológica. | |
| 1. | Sistema inmune y BCG. | 30 |
| 1.1 | Células T | 30 |
| 1.2 | Células K | 31 |
| 1.3 | Células NK | 32 |
| 1.4 | Participación de macrófagos. | 32 |
| 2. | Estimulación del sistema inmune. | 34 |
| 3. | Sistema inmune y levamisol. | 37 |
| CONCLUSIONES | | 38 |
| BIBLIOGRAFIA | | 39 |

I N T R O D U C C I O N

En la actualidad, la frecuencia y mortalidad de las enfermedades neoplásicas constituyen uno de los problemas más serios de la medicina y han dado lugar a una intensa investigación, con el propósito de lograr mejores tratamientos, que puedan ayudar a curar o por lo menos atenuar las consecuencias provocadas por ellas.

Hasta la fecha no existe droga capaz de curar totalmente al cáncer, sin embargo, puede obtenerse una prolongación del tiempo de vida con alivio sintomático.

Los informes aportados por la Unión Internacional contra el Cáncer, comunicaron que la posibilidad de que mueran los pacientes con neoplasias malignas siguen siendo bajas, ya que se ha alcanzado apenas un promedio general, de todos los tipos de cáncer, 30% de los casos en donde se ha prolongado el tiempo de vida hasta de 5 años aproximadamente. No obstante, en la mayoría de los casos el diagnóstico de la enfermedad implica una sentencia de muerte en poco tiempo.

La incidencia de cáncer es elevada a nivel mundial; ocupa el segundo lugar como causa de muerte, después de las enfermedades cardiovasculares. Dada la importancia de este padecimiento se han seguido realizando estudios clínicos y experimentales. Actualmente se ha incluido a la inmunoterapia como otra alternativa para su tratamiento, además de los métodos convencionales que se conocen como son la cirugía, radioterapia, quimioterapia y hormonoterapia.

Los enfoques experimentales hacia la inmunoterapia se han venido desarrollando a lo largo de varios lineamientos importantes. Muchos adyuvantes e inmunostimulantes se encuentran actualmente bajo investigación médica; dos de ellos son el bacilo de Calmette y Guérin (BCG) y el levamisol (droga antihelmíntica), que tienen la característica de estimular al sistema inmunológico. Las indicaciones actuales para el empleo de inmunostimulantes incluye a las enfermedades por inmunodeficiencia, enfermedades infecciosas crónicas y el cáncer.

O B J E T I V O

En base a lo anteriormente mencionado los objetivos de este trabajo son:

- Valorar la importancia de la vacuna BCG (bacilo de Calmette y Guérin) y Levamisol en el tratamiento del cáncer.
- Evaluar la integración de inmunoterapia empleando la combinación BCG-Levamisol, como otro método de tratamiento de pacientes neoplásicos, experiencia en el Hospital Universitario de la Cd. de Puebla.

CAPITULO I

C A P I T U L O I

GENERALIDADES

1. CANCER.

1.1 Definición. El término cáncer se refiere a todos los tumores sólidos o neoplasias malignas hematológicas que se originan en los tejidos del organismo (42).

1.2 Características generales.

1.2.1 Tumores sólidos. A los carcinomas y sarcomas se les denominan tumores sólidos. El crecimiento infiltrativo es un rasgo esencial de ellos, las células anormales se introducen en los tejidos, se deslizan por los espacios tisulares, destruyen las estructuras y perforan los vasos linfáticos y sanguíneos, incluyendo metástasis (22,42,79).

1.2.2 Neoplasias malignas hematológicas. A los linfomas y leucemias se les a clasificado dentro de esta categoría.

La leucemia, enfermedad neoplásica hematológica se caracteriza por infiltración diseminada en los tejidos leucopoyéticos, con aparición en la sangre de un incremento de leucocitos; puede ser aguda o crónica, según la rapidez de su evolución, predominando en la primera células más inmaduras que en la segunda (6,42,79).

El linfoma afecta a los ganglios linfáticos, es un padecimiento linfoproliferativo unicelular heterógeno siendo su desarrollo inespecífico, con presencia de células de Reed Sternber y células de Hodgkin; ocupa el segundo lugar de los tumores malignos, aproximadamente un 46%. La exposición a radiaciones es una de las causas principales de incidencia, iniciándose con aparición de adenopatía, agrandamiento de los ganglios linfáticos del cuello, extendiéndose a todo el cuerpo (42,62,79).

La diseminación y generalización del cáncer da lugar a alteraciones generales del organismo que por un mecanismo no del todo comprendido, pero en el que interviene la demanda de elementos nutritivos por parte de la neoplasia, lleva al adelgazamiento, desnutrición y anemia que conduce a la muerte del paciente (79).

Las teorías relacionadas con la incidencia de la enfermedad son: las producidas por virus (oncovirus), por carcinógenos químicos, por carcinógenos físicos y en algunos casos su incidencia puede ser por factores hereditarios, donde el paciente tenga antecedentes familiares de cáncer (42,62,79).

2. BACILO DE CALMETTE Y GUÉRIN (BCG).

En 1908, Calmette y Guérin aislaron la cepa del Mycobacterium bovis (BCG) que actualmente lleva su nombre, perteneciendo a una de las subcepas del Mycobacterium tuberculosis -- (28).

2.1 Características generales.

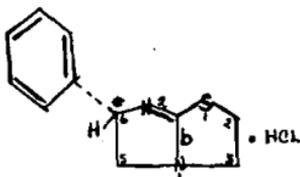
El Mycobacterium bovis (BCG) es un bacilo recto y delgado, acidorresistente, que mide aproximadamente $0.4 \times 3 \mu$, es un aerobio estricto y deriva su energía de la oxidación de -- compuestos sencillos de carbono, su crecimiento es lento viéndose estimulado por el aumento en la tensión de CO_2 . Se reproducen en medios de cultivo de papa a lo que se le adiciona -- bilis de buey con glicerina, observando colonias lisas, blancas y húmedas, con crecimiento en grumos lo que lo hace más -- resistente que otras bacterias a la acción de los agentes -- químicos. Los componentes de su pared celular tienen la capacidad de inducir reacciones de hipersensibilidad de tipo tardío, pueden dar cierta resistencia contra infecciones y en la actualidad se ha observado que estimula al sistema inmunológico de pacientes con enfermedades malignas (15,23,23).

2.2 Preparación de la vacuna.

La cepa del Mycobacterium bovis (BCG) es producida en -- aproximadamente 50 laboratorios a nivel mundial, teniendo -- características propias respecto a su crecimiento, inmunogenicidad, capacidad para producir reacciones inflamatorias locales y regionales, resistencia al calor, etc., que imponen la necesidad de identificar a cada cepa con indicadores de control durante su elaboración y producción (15,16).

La Organización Mundial de la Salud recomienda la preparación de la vacuna mediante la técnica llamada "lote de siembra", donde la cepa original es preservada en estado liofilizado en ampollitas selladas, mantenidas entre 4° y $6^{\circ}C$ eliminando la posibilidad de que ocurre una mutación, debido a la -- reducción drástica en las actividades metabólicas (15).

3. LEVAMISOL.



Clorhidrato de L-(-)-2,3,5,6-tetrahidro-6-fenil imidazol 92,1-b)iazol.

El levamisol, isómero levógiro del tetramisol es una droga antihelmíntica de amplio "espectro" usado en animales y en el hombre (42).

El descubrimiento en 1971 de que el tetramisol intensifica el efecto protector de una vacuna contra la Brucella en ratones, hizo que se intentara definir si el tetramisol y el levamisol modificaban la respuesta del sistema inmunitario y la forma en que se llevaba a cabo (7).

Los estudios comparativos han demostrado que ambos fármacos tienen el mismo perfil farmacológico y el mismo "espectro" antihelmíntico, además de que tienen efectos similares en la estimulación sobre el sistema inmune de pacientes con cáncer (7,17).

CAPITULO II

C A P I T U L O II

FACTORES INMUNITARIOS

1. El sistema inmune es un sistema homeostático muy complejo, formado por una amplia gama de células que actúan entre sí. Permite que el organismo exista en el mismo y asegura un mecanismo de tolerancia para reconocer algunos componentes -- que se consideran "extraños" (6). El sistema inmune tiene la función de descubrir y destruir componentes que podrían lesionar la integridad del organismo; sin embargo, algunas veces -- escapa a su control y en esos casos es necesario intentar -- potenciar la función inmune para ayudar al hospedero a combatir la enfermedad (15).

La inmunidad es una arma de dos filos, ya que puede proteger al organismo o inhibir injertos de órganos que pueden -- estar salvando al paciente en situaciones clínicas que ponen -- en peligro su vida, siendo necesario suprimir al sistema inmune para permitir que el injerto forme parte del organismo (22).

Uno de los aspectos importantes de la terapéutica en el campo de la inmunología es la inmunopotenciación que se define como un incremento de la respuesta inmune específica o inespecífica por sustancias biológicamente activas. Este proceso -- puede actuar aumentando o restableciendo totalmente al sistema inmunológico comprometido; actualmente esto se practica en las neoplasias (6).

2. Tumores y respuesta inmune.

Se han esbozado varias teorías para explicar la interacción entre el sistema inmune y el tumor. De acuerdo con -- Burnett, la prevención de la aparición de un tumor es una de -- las funciones más importantes del sistema inmunológico. En -- cada individuo ocurren muchas divisiones celulares en el -- transcurso de 24 hrs., en esta multiplicación por mitosis -- ocurren necesariamente varias mutaciones, que Burnett calculó -- en más de un millón cada 24 hrs. Por esto, es lógico que debe existir una manera de controlar que estas células mutantes -- proliferen; el sistema inmune es responsable de este mecanismo de vigilancia y destrucción de células anormales; un defecto -- inmunológico puede permitir que alguna de esas células escape a su control y de origen a la formación de un tumor (42,63,79).

La hipótesis de la vigilancia inmunológica postula que el mecanismo de inmunidad se desarrolló como parte del sistema homeostático del cuerpo. Su función principal es ayudar a mantener el "status quo" celular, destruyendo o eliminando células aberrantes (22).

3. Antígenos tumorales.

Las células tumorales poseen en su membrana celular una serie de estructuras antigénicas que hacen que estas se considere por el sistema inmune como extrañas y en consecuencia, sea el origen de las reacciones inmunológicas contra los tumores. Los antígenos asociados con la membrana de las células tumorales son los siguientes:

- a. Antígenos tumorales HLA que permiten a los macrófagos y a los linfocitos del hospedero reaccionar con ellos.
- b. Antígenos embrionarios o tumorales, específicos de la célula pero extraños al hospedero con los que se puede mostrar una respuesta inmune.
- c. Otros antígenos propios de cada célula.

La reacción de los distintos antígenos de membrana, parece tener relación con el comportamiento de la célula maligna. El hecho de que la célula que normalmente debería estar fija en determinado lugar se desprenda y de lugar a metástasis, parece estar controlado por los antígenos de membrana (6,22,63).

4. Resistencia del hospedero y respuesta inmune.

Un hospedero en el cual ha brotado o se ha introducido un tumor puede desarrollar cierto grado de inmunidad dependiendo de la rapidez de su crecimiento o del tamaño del trasplante. Una neoplasia pequeña o de crecimiento lento, puede incitar una respuesta de inmunidad suficiente para retardar su desarrollo y rechazarlo. Sin embargo, si el tumor es grande o crece con excesiva rapidez, puede rebasar cualquier grado de inmunidad en desarrollo y ser mortal (22,63).

5. Mecanismos de escape tumoral.

Algunos tumores logran evadir los mecanismos de defensa del hospedero y escapan, por lo tanto, al control que ellos tratan de establecer (fig.1). Son varios los mecanismos por los cuales puede tener lugar:

- a. Modulación o pérdida de antígenos de superficie. Los anticuerpos antitumorales una vez adheridos a los antígenos de la célula maligna, forman un complejo que puede ser introducido al citoplasma por endocitosis. En otros casos los antígenos tumorales se desprenden, entran en circulación y se unen a los anticuerpos lejos de la superficie celular. Por otra parte, el complejo antígeno-anticuerpo es agrupado por la célula formando acumulos o parches, interfiriendo en esta forma con la activación del sistema del complemento.
- b. Desprendimiento de antígenos. La cantidad de antígeno que se desprende de la célula tumoral, puede ser de gran magnitud que asegure la interacción con todas las moléculas de anticuerpos que se puedan formar en la circulación impidiendo la actividad directa que el anticuerpo pueda ejercer sobre la membrana de la célula maligna.
- c. Factores de bloqueo. El desprendimiento de antígenos y la formación de complejos inmunes en la circulación, son mecanismos por los cuales se bloquea la actividad del linfocito T citotóxico, evitando que estos puedan adherirse a la célula maligna. En estos casos, la aparición de anticuerpos en lugar de ser perjudicial para las células, es un factor facilitante que permite su mayor y más rápido crecimiento (6,15,16,63).

6. Mecanismos inmunológicos contra células tumorales.

El organismo responde a la presencia de células tumorales por mecanismos de inmunidad humoral y celular (fig.1)(63).

6.1 Mecanismos humorales.

La producción de anticuerpos contra los antígenos propios de los tumores malignos es un hecho claramente establecido (51).

- a. En algunos casos estos anticuerpos podrían activar al complemento y por este medio dañar a la célula maligna.
- b. La presencia de anticuerpos que actúan como opsoninas serviría para que los macrófagos pudieran actuar contra la célula maligna.
- c. Los anticuerpos servirían como puentes de unión para que los linfocitos T pudieran actuar contra esas células.

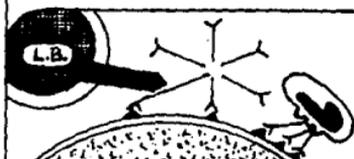
SISTEMAS DE ATAQUE DEL SISTEMA INMUNE CONTRA UN TUMOR



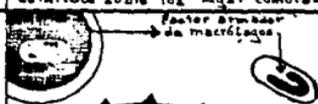
Ataque directo de un linfocito T⁺ contra una célula tumoral.



lisis de la célula tumoral por activación del complemento que se fija sobre moléculas de Acs. adheridas sobre los Aqs. tumorales.



L.B. producen Acs. que se fijan a los Aqs. de la célula tumoral. Los macrófagos por sus receptores Pc. se adhieren a la C. tumoral y la fagocitan.



El linfocito T⁺ produce el factor armador de los macrófagos, gracias al cual estos atacan a la célula tumoral.

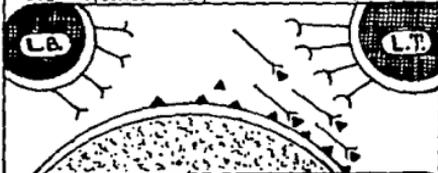
COMO LA CELULA TUMORAL ESCAPA AL ATAQUE DEL SISTEMA INMUNE



El linfocito B produce Acs. que "bloquean" los Aqs. tumorales. Los linfocitos T⁺ no pueden unirse al tumor.



Los Aqs. tumorales se desprenden y se unen a los receptores de los L.T. "bloqueados" su unión con el tumor.



Acs. producidos por el L.B. se unen con Aqs. libres por los células tumorales. Estos complejos bloquean la acción de los L.T.

Los Aqs. tumorales producirían Tolerancia Inmunológica.

- ◀ Antígenos tumorales.
- Y Anticuerpos.
- Y Receptores de Aqs.

L.B. linfocito B. (célula plasmática).
L.T. linfocito T.

las, por la llamada citotoxicidad mediada por anticuerpos (16,22,63,72).

6.2 Mecanismos celulares.

Estos mecanismos son más complejos.

- a. Efecto citotóxico por los linfocitos T. La interacción de los linfocitos T con los receptores o antígenos de membrana de la célula tumoral, permite el efecto directo de ellos sobre la célula maligna y su destrucción -- por lisis.
- b. Citotoxicidad mediada por anticuerpos. Algunos linfocitos poseen receptores Fc para anticuerpos y pueden dañar a la célula maligna debido a su unión con ella, --- previa la fijación de anticuerpos antitumorales.
- c. Citotoxicidad por macrófagos. Los macrófagos pueden -- atacar y dañar a la neoplasia directamente o mediante anticuerpos que se adhieren a dichas células. La activación de los macrófagos por el efecto del linfocito T -- realiza la acción contra la célula tumoral.
- d. Células naturales asesinas. Es una subpoblación de -- linfocitos que no son ni del tipo T ni del B, capaces -- de atacar en forma natural, sin previa estimulación --- antigénica, a las células que se separen de la estructura normal de las células de los tejidos orgánicos.

Parece ser que ambos mecanismos, humorales y celulares, -- logran controlar la mayor parte de los tumores que por mutaciones o por distintas causas, empiezan a desarrollarse en el --- organismo. Sin embargo, la interacción entre el sistema inmune y las células malignas puede fallar, rompiéndose el equilibrio en favor de la célula tumoral permitiendo su crecimiento indefinido (6,15,22,63,72,79).

CAPITULO III

C A P I T U L O I I I

I M M U N O T E R A P I A D E L C A N C E R

1. Generalidades.

El mayor problema en la terapéutica, es que la mayoría de los agentes usados para matar o para inhibir el desarrollo y multiplicación de las células tumorales, también afecta a las células normales, en especial a las del sistema linfóide (62, 75).

La "autoinmunización" del paciente con material antigénico tumoral, es un intento para estimular específicamente al sistema inmunitario. Se han usado células viables, no siendo recomendable ya que no hay respuesta y se puede desarrollar otro tumor. La inmunización debe hacerse con células sometidas a radiación o por tratamiento químico; esta forma de inmunización ha tenido un éxito parcial (6,75).

La presencia de antígenos particulares sobre la membrana de la célula tumoral sirve de base para los mecanismos de vigilancia inmunológica contra el tumor, haciendo posible el empleo de técnicas inmunológicas que incrementen la respuesta inmune contra él. Si una célula maligna puede hacerse más inmunogénica, es de esperarse que la respuesta inmune sea mayor y pueda llegar a un nivel de actividad tal que destruya el tumor (63).

Otro enfoque del tratamiento tumoral, es un intento de estimular en forma inespecífica al sistema inmunológico del paciente. Los procedimientos inespecíficos de inmunoterapia se han basado en el empleo del bacilo de Calmette y Guérin (BCG) y el levamisol, solos por separado o en combinación.

2. Tratamiento inmunoterápico con el Mycobacterium bovis (BCG).

En 1973, Morales y colaboradores sugirieron que el bacilo de Calmette y Guérin (BCG) podía ser utilizado en el tratamiento de algunos tipos de cáncer humano. Sin embargo, hasta la fecha, el tratamiento óptimo no ha quedado claramente establecido y puede variar, dependiendo del tipo de tumor y del estado inmunológico del paciente (16,23).

En los últimos años se ha utilizado en el tratamiento de pacientes con diferentes neoplasias, asociándolo con los métodos de terapia ya existentes, dentro de las cuales citamos las siguientes:

2.1 Cáncer de seno.

La incidencia de cáncer de seno o de glándula mamaria --- aumenta a medida que la edad avanza, empezando desde los 20 -- años hasta la menopausia, alcanzando su máximo entre los 40 y 50 años, luego los índices de frecuencia permanecen estables -- para aumentar momentáneamente después de los 65 años de edad -- En México, esta neoplasia es superada por la incidencia del -- cáncer cervico-uterino (43,62,79).

En el Hospital de Saint-Elói Francia, cinco centros anti cáncer participaron en un estudio clínico, encabezado por --- Serrou y Garnier P. Ellos observaron que la inmunoterapia --- utilizando al BCG mejoró los efectos obtenidos con la quimio--- terapia (16). Esto se demostró en 62 pacientes menopáusicas -- y 20 premenopáusicas, con adenocarcinomas en el seno, disemina--- dos a los ganglios linfáticos y en algunos casos con metástas--- sis; su edad fluctuó entre los 50 y 60 años de edad, respecti--- vamente. En forma general, todas fueron tratadas primero con radioterapia y después se designaron al ser en uno de los tres tratamientos de terapia establecidos por ellos mismos.

- a. El primer grupo de pacientes se sometieron a cirugía, continuando con la radioterapia.
- b. El segundo grupo de 29 pacientes, después de la ciru--- gía recibieron quimioterapia utilizando vincristina, ciclo--- fosfamida y 5-fluorouracil, administrándolos una vez al mes -- durante 12 meses.
- c. El tercer grupo de 29 pacientes, después de la cirugía recibieron inmunoterapia con BCG de la cepa Pasteur (150 mg) -- usada una vez a la semana durante un año.

Estos tratamientos se iniciaron 4 semanas después de la -- radioterapia. De los resultados obtenidos, el 54% de las -- pacientes tratadas con inmunoterapia alcanzaron un periodo de vida de 30 meses y solo el 40% de las pacientes tratadas con quimioterapia alcanzaron el mismo tiempo de sobrevivida. Las -- pacientes con menos de 50 años de edad respondieron mejor a -- los tratamientos que las que tenían entre 60 y 70 años (16,35 68,77). Tomando en cuenta factores importantes como la dosis y tiempo de administración, volumen residual del tumor después -- de la cirugía y el estado inmunológico del paciente (16,35,68, 77). Por otra parte, se ha observado que el residuo extraído -- con metanol del BCG también inhibe el desarrollo de carcinomas mamarios en animales de experimentación (39,74).

2.2 Cáncer cérvico-uterino.

El cáncer cérvico-uterino es un padecimiento tumoral que ocasiona más defunciones en nuestro país y, sin embargo, es el más fácil de diagnosticar en forma temprana, antes de que se disemine en el organismo de la mujer y ponga en peligro su vida. Se presenta con mayor frecuencia en mujeres cuya edad va de los 20 a los 42 años, con una media de 30 años, que han tenido varios partos, que han padecido durante años infecciones del cervix, ó iniciaron relaciones sexuales a una edad temprana (11,12,16).

En 1982, F. Capello y colaboradores realizaron un estudio de terapia oncológica en el Hospital de Vicenza Italia, utilizando al BCG como inmunoterapia en 45 mujeres con cáncer cervical en estado I y II de la enfermedad (11).

Inicialmente a las pacientes se les realizó una prueba de hipersensibilidad con el derivado proteico purificado (PPD) y en base a su intensidad de respuesta recibieron el tratamiento. Una vez realizada esta prueba, las designadas al estudio fueron sometidas a radioterapia (11,12).

El BCG se administró a una dosis de 0.10 ml, directamente en la vagina, después de un estudio citológico e histológico, 21 días antes de la cirugía (11,12).

Durante el estudio se observó hipersensibilidad en el área de aplicación y en el sistema linfático, con estimulación de linfocitos T y macrófagos (11,12).

Después de un año de tratamiento algunas de las pacientes se sometieron a otra cirugía por presentar lesiones abdominales benignas. Se tomó biopsia del área paracórtica de los ganglios linfáticos, sin metástasis, observando infiltración granulomatosa diseminada, histiocitos asociados con hiperplasia folicular, activación de las áreas reticulares, presencia de inmunoblastos y macrófagos activados. En los ganglios linfáticos con metástasis inicial, se observó activación de los linfocitos transformándose en inmunoblastos (11,12).

De acuerdo con Tossi y Coll., la sobrevida de las pacientes fue directamente proporcional a la intensidad de la respuesta en el área paracortical. Solo se observaron reacciones secundarias en algunas pacientes como fiebre, ligera linfadenopatía en la región vaginal, pocos días después de aplicar el BCG. Los nódulos linfáticos son los primeros y quizás los más importantes portadores de la diseminación del cáncer (11,12,16).

2.3 Cáncer gástrico.

El carcinoma es uno de los tumores más frecuentes y letales del aparato digestivo, histológicamente se trata casi siempre de adenocarcinomas que se derivan de las células mucosecretoras, dependiendo su letalidad de la profundidad de la invasión y la presencia o ausencia de metástasis (78).

En nuestro país ocupa el octavo lugar de todas las neoplasias, y el primer lugar dentro de los tumores del tubo digestivo. Se desconoce su etiología, pero se han implicado a las dietas bajas en proteínas y grasas (bajas en vitamina A) y ricas en hidratos de carbono (3). A pesar de los estudios clínicos y de los métodos de terapia siguen siendo poco benéficos en esta neoplasia (78).

Recientemente, en el Hospital de la Universidad de Chiba en Japón, se tuvo una experiencia en 140 pacientes con cáncer gástrico, sometidos al azar en uno de los tres tratamientos establecidos en el hospital.

- a. El primer grupo sólo fue sometido a cirugía (control).
- b. El segundo recibió quimioterapia a base de mitomicina C, 5-fluorouracil y citocina erabínosa, durante 10 semanas después de la cirugía.
- c. El tercer grupo recibió inmunoterapia con las fracciones celulares del BCG (CWS-BUG) a una dosis de 400 mcs y administrado por vía intravenosa una semana antes de la cirugía y después semanalmente durante 10 meses.

Después de un periodo de 2 meses de suspender la terapia en los tres grupos se volvió a iniciar, siendo el tratamiento de por vida. Pruebas de laparotomía se realizaron durante todo el tratamiento y cuando la función de la médula ósea e hígado se deprimen por el uso de quimioterapia, esta es suspendida.

De los resultados obtenidos, se observaron diferencias en las respuestas, entre el grupo tratado con inmunoterapia y el tratado con quimioterapia ($P > 0.05$) y entre el grupo control y el grupo tratado con inmunoterapia ($P > 0.01$).

La respuesta no fue variable entre el grupo control y el grupo que recibió quimioterapia. Sin embargo, los resultados más satisfactorios se obtuvieron al combinar a la quimioterapia e inmunoterapia, evaluando la efectividad del BCG por el grado de cáncer que se observó en los pacientes, al inicio y final del tratamiento. Solo pequeñas ulceraciones se presentaron por el uso del BCG, pero obteniendo periodos de vida más prolongados (56,78).

2.4 Cáncer de colon.

El colon y recto han dado lugar a la mayor cantidad de neoplasias en poblaciones occidentales; aproximadamente 100.000 nuevos casos son diagnosticados y cerca del 50% mueren de esta enfermedad cada año en los Estados Unidos. Su incidencia aumenta con la edad incrementándose a los 40 años y también entre los 60 y 70 años de edad (62).

El carcinoma de colon es el más frecuente a nivel mundial en las mujeres y, en el hombre incide más en el recto. En México, la proporción de pacientes con este tipo de cáncer varía del 1 al 5% según las estadísticas de los distintos hospitales (79,82).

La cirugía a sido el tratamiento de elección, sin embargo, en la actualidad se han obtenido resultados satisfactorios con el implemento de inmunoterapia (16,82).

Harmel demostró, en un estudio experimental, que el desarrollo de carcinomas en el colon inducidos con N-nitroso-dietilamina, puede ser suprimido por inoculación del BCG en combinación con células tumorales inmunogénicas o por administración intratumoral del BCG. En el hombre, el BCG ha sido aplicado después de la cirugía (proctosigmoidoscopia), directamente sobre el tumor residual, siendo los resultados más satisfactorios (14,16,80,82).

El mecanismo por el cual logró causar remisión o supresión tumoral no se ha establecido claramente, sin embargo, se ha relacionado con respuestas de hipersensibilidad retardada cutánea y con inflamaciones locales en el sitio de aplicación del BCG (14,16,80,82).

2.5 Cáncer pulmonar.

Esta neoplasia continúa siendo la forma letal más común en el humano. En la actualidad se han reportado casos de muerte debido a esta enfermedad. En México su frecuencia es baja, sin embargo, debido a la contaminación ambiental, principalmente en las poblaciones urbanas, se ha reportado que de cada 1 000 habitantes, 300 están expuestos a contraer esta enfermedad (7,79).

Aunque en años anteriores se han reportado avances en el tratamiento quimioterápico, los investigadores han seguido buscando otra manera de atacar a esta neoplasia. La inmunoterapia ha sido implementada a la cirugía, no obstante, que la mayoría de los pacientes con cáncer respiratorio no pueden --

ser operados inmediatamente después del diagnóstico clínico, porque esto complica el tratamiento (7,62).

Entre los tipos de cáncer pulmonar, los carcinomas formados por pequeñas clonas, representa el único tipo histológico donde se han obtenido considerables progresos utilizando radioterapia, quimioterapia e inmunoterapia, comprobado por un grupo de oncólogos de la ciudad de Kansas. En este estudio se trataron a 298 pacientes con este tipo de neoplasia; inicialmente fueron sometidos a radioterapia, después se designaron al azar para recibir uno de los cuatro tratamientos establecidos por el hospital.

- a. El primero se trató con cytoxan, vincristina, metotrexate y 5-fluorouracil, durante 5 días repitiendo el ciclo cada 21 días.
- b. El segundo grupo recibió doxorubicina, ciclofosfamida y vincristina, diariamente durante 21 días.
- c. El tercer y cuarto grupo recibieron los dos programas de terapia anteriores, con la adición de inmunoterapia con el BCG, administrado por escarificación al 8vo. y 15vo. día de cada ciclo de quimioterapia. La dosis fue de 5X10⁸ CUF de la cepa Pasteur.

Los pacientes del primero y segundo grupo que alcanzaron una completa remisión con la radioterapia y quimioterapia se les suspendió el tratamiento. La inmunoterapia con el BCG se aplicó durante un año, y en algunos casos se observó granulocitopenia; respondiendo un 49% de los pacientes al BCG y el 44% de pacientes respondió a la quimioterapia, donde se observó granulocitopenia, trombocitopenia, arritmia cardíaca, náuseas y vómito. El tiempo de vida no varió entre los grupos -- siendo entre 42 y 50 semanas, respectivamente. Los pacientes que continuaron recibiendo inmunoterapia con el BCG prolongaron su tiempo de vida en más de 103 semanas comparado con los que recibieron quimioterapia de 81 semanas solamente (7,48,36).

2.6 Cáncer de vejiga.

Los tumores superficiales de la vejiga representan entre el 70 y 75% de todas las enfermedades malignas que afectan a ese órgano. Las causas de su incidencia, como las demás neoplasias, es incierta. En México ocupa el 5to. lugar como causa de muerte tanto en hombres como en mujeres (16,62).

Varios investigadores han evaluado la administración ----

intravesical (dentro de la vejiga) de inmunoterapia y quimio-terapia después de una cirugía transuretral (16,71,79).

En 1976, Morales y colaboradores demostraron en 28 pacientes con carcinoma "in situ", tratados con el BCG, una disminución muy elevada en la reincidencia de esta neoplasia. De -- estos pacientes el 71% respondió a dicho tratamiento (18,66,--71).

Otros investigadores han continuado corroborando estos -- resultados.

De 1978 a 1985, 251 pacientes fueron evaluados clínicamente por presentar tumores superficiales papilares "in situ" en la vejiga. Todos fueron sometidos a cirugía transuretral y --- posteriormente a un tratamiento quimioterápico con tiotepa, -- doxorubicina y mitomicina C (27). Dos a tres semanas después de la cirugía y quimioterapia se administró el BCG de la cepa Pasteur y de la cepa Tice; la dosis del BCG Pasteur fue de --- 120 mg una vez a la semana durante 6 semanas y la dosis del -- BCG Tice de 5X10⁷ unidades, semanalmente por 6 semanas. El BCG Pasteur se aplicó por vía intravesical y el BCG Tice por vía -- intradérmica (26,27).

Estudios citológicos e histológicos se realizaron cada 8 semanas para evaluar la evolución o involución de la terapia. Los resultados de dichos estudios considerados como negativos indicaron una respuesta completa del hospedero hacia la inmuno-terapia. El ciclo de tratamiento se repitió por 4 veces durante todo el estudio (26,27).

De los pacientes, el 75% respondió completamente al tratamiento, el 17% en forma parcial y el 8% no respondió. El 85% de estos pacientes sanaron, el 15% tuvo reincidencia de los -- cuales algunos presentaron metástasis, de estos mismos 7 se -- volvieron a tratar con cirugía, quimioterapia e inmunoterapia (BCG). Cinco presentaron cáncer en la próstata siendo sometidos a cistectomía (26,27).

Algunas complicaciones observadas por el uso del BCG fueron: cistitis, fiebre, astralgia, contracción de la vejiga, -- hipotensión, etc., las que son controladas con isoniazida --- aplicada por 3 días antes de cada ciclo de terapia (4,31,36,37, 67,69,40,70,76).

Las remisiones obtenidas se alargaron por más de 3 años y en algunos casos hasta de 6' (19,54). El tratamiento inmunoterápico previno la reincidencia y controló a la enfermedad -- (37,40,67,76).

Se postuló que su mecanismo de acción es mediado por ----

inmunoestimulación inespecífica. El estado comparativo por la aplicación del BCG es limitado, debido a las diferentes cepas usadas, al potencial biológico variable del cáncer y a la incongruencia en los métodos de reportar los resultados que se han observado (18,20,41,52,57,73).

2.7 Leucemia.

Es una enfermedad neoplásica, de etiología desconocida, - caracterizada por una proliferación diseminada de los tejidos leucopoyéticos, con aumento en el número de linfocitos (42). - Fue el primer tipo de neoplasia donde se inició el tratamiento inmunoterápico con estimulación del sistema inmune (63). De esta forma G. Mathé, utilizando un sistema de leucemia murina, demostró que el BCG administrado por vía intraperitoneal un día después de una dosis mortal tumoral, inhibía completamente el crecimiento de la enfermedad (79).

Más recientemente diversos investigadores han realizado - estudios clínicos examinando la eficacia del BCG como estimulante general del sistema inmune de pacientes neoplásicos. Aunque gran parte de los estudios no han sido terminados, existen -- variables "no controlables" resumiéndose de la siguiente forma:

a. Después de una remisión, los pacientes con leucemia -- linfoblástica aguda, fueron sometidos a diversos regímenes de inmunoterapia, logrando remisiones prolongadas con el BCG junto con células tumorales alogénicas administradas al mismo --- tiempo.

b. Pacientes con leucemia monoblástica aguda, después de remisiones provocadas químicamente, tuvieron una supervivencia media, la que se incrementó cuando se utilizó la combinación --- de quimioterapia e inmunoterapia con el BCG.

c. Pacientes con leucemia mielocítica aguda lograron --- remisiones prolongadas, tiempo de supervivencia mayores, después - de ser tratados con el BCG y quimioterapia (6,50,62,79).

Takatsu y colaboradores demostraron que en hospederos con leucemia murina LL210, altamente maligna con baja inmunogenicidad, al ser tratados con el BCG se incrementó su respuesta --- inmunológica obteniendo remisiones y periodos de supervivencia más largos. La administración en forma separada de células leucémicas LL210 tratadas con mitomicina C y el derivado proteico --- purificado (PPD), también induce resistencia contra esta leucemia, pero dicha respuesta se establece sólo cuando ambos son -

administrados simultáneamente (55).

En 1930, Arends y colaboradores realizaron estudios --- clínicos usando inmunoterapia en 13 pacientes con leucemia -- mielóide aguda en completa remisión, de los cuales 7 se trataron con quimioterapia usando citocina arabinosa y doxorubicina y 11 se trataron con inmunoterapia usando el BCG y además -- combinando el BCG y células plasmáticas sometidas a radiaciones.

De los resultados obtenidos se observó un incremento en la actividad de células naturales asesinas (NK) en el tratamiento quimioinmunoterápico, pero fue menor en los hospederos ---- tratados con quimioterapia. La respuesta biológica del hospedero con esa leucemia pudo ser modificada con el BCG disminuyendo su agresividad e incrementando el periodo de vida, sin -- embargo, aún no se conoce su mecanismo, pero se piensa que es a través del incremento en la actividad natural asesina de -- linfocitos T y activación de macrófagos (2).

3. Tratamiento inmunoterápico con levamisol.

Como se mencionó anteriormente, se ha observado la capacidad del levamisol para activar en forma inespecífica a la ---- actividad de macrófagos y de linfocitos. Este efecto se ha -- observado cuando su respuesta se encuentra deprimida (63).

El tratamiento de pacientes con distintos tumores, ha -- mostrado tiempos de vida mayores de 5 años en donde se utilizó levamisol solo o combinado con otros agentes antineoplásicos -- (42).

En 1987, Widdle y colaboradores realizarán un estudio en 41 pacientes con cáncer colorectal, quienes fueron sometidos a cirugía antes de recibir quimioterapia con 5-fluorouracil e -- inmunoterapia con levamisol. Los pacientes con más de 80 años, con enfermedad clínicamente avanzada, se excluyeron del estudio. La quimioterapia con 5-fluorouracil se administró 25 días después de la cirugía por vía intravenosa y después por vía -- oral semanalmente durante 6 meses.

La inmunoterapia con levamisol (150 mg) se administró por vía oral 3 días después de la operación.

Los pacientes tratados con levamisol tuvieron un retorno más rápido de inmunidad celular, comprobándolo por la prueba -- de inhibición migratoria de macrófagos (MIF) en presencia de -- BCG y de un antígeno tumoral. La prueba se realizó 7 días --- después de la cirugía; un 52% de los pacientes con reincidencia tumoral tratados con quimioterapia murió comparado con un 32% de los pacientes con reincidencia tumoral tratados con --

inmunoterapia (16,80).

Un grupo de pacientes tratados con quimioinmunoterapia -- combinando 5-fluorouracil y levamisol respondieron mejor, --- alcanzando un periodo de vida más prolongado, además de reducir la reincidencia de cáncer colorectal en otros pacientes -- (30). Similares efectos usando solamente levamisol se observaron en pacientes con cáncer pulmonar y cáncer gástrico (16).

En el Hospital de Kuopio Finlandia, otros investigadores utilizaron levamisol en pacientes con cáncer de seno, con --- resultados satisfactorios, demostrando que la inmunocompetencia del individuo disminuye con la edad, el tratamiento o por el avance de su enfermedad (35).

Klefstrom y colaboradores realizaron un estudio en 44 -- pacientes afectadas por cáncer de seno siendo sometidas a --- mastectomía, radioterapia, quimioterapia e inmunoterapia con levamisol. Esto se realizó en el Hospital Universitario de Carolina del Norte, de 1979 a 1980. La condición general de las pacientes fue buena por no presentar antecedentes clínicos de enfermedades malignas. De estas pacientes, a 24 se les trató con radioterapia y después con quimioterapia, 6 ciclos --- durante 6 meses; 16 recibieron quimioterapia antes de la --- radioterapia y su edad fluctuó entre 25 y 67 años.

La quimioterapia se realizó con doxorubicina, 5-fluorouracil y ciclofosfamida aplicados una vez al día durante 4 semanas, 16 días después de la radioterapia.

En la inmunoterapia se utilizó levamisol aplicado una vez a la semana después del primer ciclo de quimioterapia durante 2 días consecutivos semanalmente durante 30 días, siendo suspendido al observar reacciones secundarias.

Las pruebas de competencia inmunológica se realizaron con estimulantes mitogénicos como la concanavalina A, cuenta de --- linfocitos T y B y reacciones con la prueba de la tuberculina, midiendo el diámetro de induración 3 días después de su aplicación. Las pacientes se observaron durante 3 años por un periodo de 5 años.

Las pruebas de rutina en el laboratorio fueron radiografías, velocidad de sedimentación, cuenta de leucocitos, fosfataza alcalina, TGP, ultrasonografía y tomografías realizadas para descartar metástasis.

Efectos adversos: La radioterapia fue tolerable en todos los casos; la quimioterapia causó náuseas, vómito, alopecia y leucopenia, pero no se presentaron complicaciones. Con el ---

levamisol se observaron náuseas, fiebre, reacciones alérgicas y agranulocitosis, no siendo tóxico a la médula ósea y desapareciendo 2 semanas después de su aplicación.

La quimioinmunoterapia combinada, administrada 6 ciclos - durante 6 meses, disminuyó la reincidencia tumoral. La radioterapia es importante para el control local de la enfermedad, aplicándola antes del tratamiento terapéutico y la inmunoterapia con el levamisol incrementó los niveles celulares en el paciente, logrando remisiones y tiempos de vida de 5 años y - en algunos casos hasta de 8 (16,35,80).

4. Tratamiento inmunoterapico combinando BCG y levamisol.

Experiencia desde 1973 a la fecha en el Hospital Universitario de Puebla. Mendoza R. y Abraham M.

4.1 Tratamiento con el BCG.

Desde 1973 se empezó a utilizar a la vacuna BCG como tratamiento adyuvante en pacientes afectados por diferentes tipos de cáncer y en terminos generales se implementó el programa de inmunoterapia a 10 años, planteando la utilización de diversos inmunoterapicos que a la fecha se conocen, de tal manera se han empleado en forma progresiva BCG, levamisol, factor de transferencia y actualmente, el interferón alfa (49).

Los datos clínicos observados establecieron inmunodeficiencia en el paciente con cáncer, independientemente del tipo de neoplasia.

De 1973 a 1981 se estudiaron 35 casos de melanoma maligno localizados en diferente órganos, de los cuales 23 casos fueron pacientes femeninas y 12 masculinos. Las edades de ellos comprendieron de la 5ta. a la 8va. década, siendo 2 casos de pacientes jóvenes (14 y 16 años). Estos pacientes después de ser valorados clínicamente, recibieron el siguiente tratamiento:

| Tratamientos Aplicados | No. de casos | Sexo | Sexo |
|------------------------------|--------------|------|------|
| | | F | M |
| Cirugía y Radioterapia | 1 | 1 | 0 |
| Cirugía-Rt-Inmunoterapia | 4 | 3 | 1 |
| Cirugía e Inmunoterapia | 7 | 4 | 3 |
| Radioterapia e Inmunoterapia | 6 | 4 | 2 |
| Inmunoterapia | 17 | 11 | 6 |

Los resultados obtenidos con los tratamientos mencionados anteriormente fueron los siguientes:

En el primero y segundo grupo el tiempo de vida de los pacientes fue corto por presentar metástasis. En los 3 últimos grupos después de la cirugía y radioterapia se trataron con inmunoterapia utilizando al BCG, obteniendo periodos de vida más prolongados y en algunos casos la recuperación total del paciente (49).

4.2 Estudios clínicos para la valoración del estado inmunológico del paciente con cáncer.

Estos estudios se empezaron a realizar por haber encontrado que el estado inmunocompetente de los pacientes con diferentes neoplasias, se encontraba disminuido. Para su valoración, se emplearon los métodos habituales de laboratorio, teniendo como referencia los valores de una población de 100 individuos clínicamente sanos de la Cd. de Puebla. Uno de los principales estudios es la valoración del perfil celular del paciente neoplásico (49).

Pruebas de intradermoreacciones (I.D.R) se realizaron, utilizando al derivado proteico purificado (obtenido del BCG), varidasa, histoplasmina, y DNBC (dinitroclorobenceno). Los resultados fueron variables, obteniendo mayores respuestas en pacientes tratados con el derivado proteico purificado (PPD) y varidasa, 90% de los casos.

Las pruebas de fagocitosis por el método del NAT (nitro azul de tetrasolium) se encontraron disminuidas en un 78%, es decir sólo hubo respuesta de un 22%.

En la prueba del MIF (factor de inhibición migratorio de macrófagos) realizada en presencia del PPD se encontraron en el 74% de la población reacciones inferiores al 50%.

Los estudios se realizaron antes de iniciar el programa de inmunoterapia, e intervalos de 3 meses durante el tratamiento. Los datos observados al inicio del estudio establecieron inmunodeficiencia en el paciente canceroso, independientemente del tipo de neoplasia, mejorando después del inicio del tratamiento inmunoterápico (49).

4.3 Administración del BCG y levamisol.

De un lote de aproximadamente 150 pacientes con cáncer cervical, cáncer de seno, cáncer vasocelular y melanoma maligno (neoplasias más frecuentes en el Hospital Universitario),

previamente tratados con cirugía, radioterapia, quimioterapia e inmunoterapia; se seleccionaron 11 casos tipo de los cuales se dividieron en dos grupos para recibir su respectivo tratamiento.

El primero recibió BCG como quimioterapia adyuvante (40% de los casos) después de la radioterapia y cirugía, siendo el tiempo de vida de 14.5 meses con un máximo de 25.

El segundo recibió la combinación BCG-levamisol, observando selección en los resultados que fueron de 25 y 38 meses en promedio, encontrándose en buenas condiciones y, a pesar de existir actividad tumoral en algunos casos, el estado general del individuo fue aceptable, desarrollando sus actividades en forma normal.

De 1931 a 1985 se continuó aplicando inmunoterapia con -- BCG-levamisol combinados y, de 1936 a la fecha se iniciaron -- estudios en grupos oncológicos con otros inmunomoduladores. -- Actualmente el tratamiento con inmunoterapia oncológica adyuvante se trabaja rutinariamente en la Unidad de Oncología del Hospital Universitario de Puebla como otro método de terapia -- en el cáncer (49).

4.4 Respuesta del paciente.

Los pacientes inicialmente estudiados inmunológicamente, con los métodos de laboratorio ya citados, recibieron BCG y/o levamisol por vía subcutánea, ya que es el más favorable para el tratamiento, en base a las otras técnicas de aplicación -- conocidas. La respuesta del paciente se evaluó por reacción -- de hipersensibilidad de tipo tardío (DTH) con administración -- de veridasa y el derivado proteico purificado (PPD), midiendo el diámetro de induración y eritema que se forma en el sitio -- de aplicación correlacionándolo con la respuesta antitumor por parte del paciente.

Las dosis usadas son entre 10 y 12 mg, ya que ha sido -- difícil establecer un estándar por la variación individual de las reacciones que se presentan (49).

4.5 Resultados obtenidos.

La asociación BCG-levamisol se ha combinado con los tratamientos tradicionales oncológicos conocidos.

Es necesario realizar una valoración clínica inmunológica antes de iniciar el tratamiento. En términos generales la -- inmunoterapia disminuye la agresividad tumoral y aumenta la --

inmunidad celular.

La inmunoterapia administrada a pacientes con compromiso severo al estado general no es recomendable, ya que las respuestas obtenidas de acuerdo a esta experiencia son muy leves. El paciente oncológico debe ser tratado de acuerdo a su estado -- inmune, manejando a la inmunoterapia en forma individual ya -- que la respuesta es variable debiendo ser modificado el tratamiento; es pertinente realizar también los estudios clínicos a los pacientes que esten en tratamiento para observar y valorar su estado general inmune (49).

CAPITULO IV

C A P I T U L O I V

RESPUESTA INMUNOLOGICA

1. Sistema inmune y BCG.

El bacilo de Calmette y Guérin (BCG) actúa en forma inespecífica, observando incremento en la depuración de partículas en la circulación provocando hiperplasia e hiperactividad en el sistema reticuloendotelial, eleva la resistencia contra diversas infecciones bacterianas favoreciendo la producción de anticuerpos, facilita e induce reacciones de hipersensibilidad retardada así como reacciones granulomatosas. Esto se ha observado en hospederos con diferentes neoplasias y se ha relacionado con la respuesta antitumoral (15,16,60,61).

De tal forma, se ha observado que la acción del BCG es a través de la estimulación de células del sistema reticuloendotelial, con la participación de células linfoides y macrófagos.

1.1 Células T.

Existen considerables evidencias, observadas en pruebas histológicas, que muestran que el BCG estimula principalmente a las células T (16).

Hawrilko y Mackanness demostraron, después de aplicar al BCG, una respuesta proliferativa esplénica, reacción granulomatosa sistémica con infiltración de histiocitos en el hígado, bazo, pulmón, nódulos linfáticos e hiperplasia debido al influxo de linfocitos. Las células forman rosetas con glóbulos rojos de carnero, son sensibles al suero antilinfocítico (ALS), son positivas al suero anti-Thy 1 y no son adherentes (83).

Por otra parte, se ha observado que la administración de dosis elevadas del BCG pueden suprimir las funciones de las células T e inducir células T supresoras (24,25,38). Esto hace que estas células supresoras inhiben la síntesis del DNA "in vitro" por la liberación de un factor supresor inespecífico, que bloquea la producción de Interleucina 2 (IL-2) (13,83).

Vittorio Colizi indicó que la administración de IL-2 tanto "in vivo" como "in vitro", reactiva la actividad de las células T e incrementa su acción citotóxica, su especificidad antitumoral, tolerancia transplantable y proliferación celular inducida con el antígeno (13).

Actualmente, Abu Salin y colaboradores han aislado 121 clones T en humanos clínicamente sanos, tratados previamente -

con el BCG. De estas clonas 74 son específicas al BCG y el resto requiere la adición de IL-2 para inducir respuestas celulares. Fenotípicamente una sola clona fue clasificada como CO8⁺ CO4⁻ y el resto como CO4⁺ CO8⁻, de las cuales algunas presentaron actividad cruzada. Su estimulación proliferativa fue variable de un 5 a un 30% (53).

Therry y Pedrazzini han obtenido varias clonas T específicas al BCG y PPD, las cuales son capaces de secretar linfocinas, por ejemplo el factor activador de macrófagos (MAF) e interferón (31), después de ser estimuladas antigénicamente. Su fenotipo es Thy-1.2⁺, L3T4⁺ y LyT2⁻. Observaron que estas clonas tienen la capacidad de inducir células T cooperadoras, las que presentan varios grados de actividad auxiliar después de ser expuestas por segunda vez al antígeno. También son capaces de inducir reacciones de hipersensibilidad retardada y de inhibir crecimientos tumorales y mycobacterianos "in vivo"; comprobado por la transferencia local de diferentes clonas a hospederos con tumores y a hospederos clínicamente sanos (59).

1.2 Células asesinas K.

Estas células pertenecen al sistema linfóide y se caracterizan por no presentar antígenos Thy 1, ni inmunoglobulinas -- superficiales pero sí portan receptores Fc. Ellas son dependientes de la presencia de anticuerpos, pero su actividad citotóxica es independiente del complemento, dicha actividad puede ser -- inhibida en presencia de complejos inmunes (16).

Su actividad citotóxica, dependiente de anticuerpos, en el bazo es estimulada e incrementada cuando el hospedero es tratado con el BCG. Al desarrollar su actividad citotóxica contra células extrañas al organismo se vuelven sensibles en presencia de anticuerpos específicos (63).

Pollak y colaboradores observaron que el BCG de la cepa - Phillips, al activar a los macrófagos incrementó la actividad citotóxica de las células K, demostrándolo al usar eritrocitos como blanco, obtenidos de pacientes con cáncer (16,34).

Joshep y Thatcher pensaron, después de las experiencias -- obtenidas tanto en humanos como en animales, que la citotoxicidad mediada por células T favorece la citotoxicidad de las células K, atribuyéndolo al régimen de administración del BCG (34, - 35).

1.3 Células naturales asesinas NK.

Las células NK se encuentran en los nódulos linfáticos mesentéricos, en el bazo y en menor grado en otros tejidos linfoides periféricos (5). Poseen una citotoxicidad natural asesina contra varias líneas de células tumorales que son resistentes a la inhibición por complejos inmunes, esta actividad disminuye mediante la tripsinización de las células efectoras (34,35,63).

Por sus características se han clasificado como no adherentes, ni fagocíticas, no portan inmunoglobulinas de superficie y son negativas al suero Thy-1 (16).

Wolfe y colaboradores demostraron que el BCG incrementa los niveles de actividad de estas células y lo han correlacionado con la regresión del tumor (5,66). La citotoxicidad desarrollada contra esas células es independiente de los anticuerpos en la naturaleza (66).

Por otra parte, Pang y Morales observaron que la estimulación de las células NK es un mecanismo primario por el cual se controla el cáncer y que el nivel de actividad es modulado por el BCG (5,16).

En pacientes con leucemia monoblástica aguda, se han encontrado niveles de actividad NK bajos, regresando al nivel normal e incrementándose por dosis seriadas del BCG; señalando que también en pacientes con melanoma se ha observado esta reacción (2).

1.4 Participación de macrófagos.

Los macrófagos son células que se originan en la médula ósea, a partir de una célula pluripotencial (63).

Se ha demostrado que su participación es necesaria para que el BCG cumpla su función inmunológica como adyuvante e inmunestimulante (10). Cuando los macrófagos son conducidos a un estado de activación con el BCG, sufren cambios morfológicos, metabólicos y funcionales como son; diseminación en el sistema linfático principalmente en el bazo, incremento fagocítico, membranas muy rugosas, niveles elevados de enzimas lisosomales hidrolíticas, actividad bactericida, actividad bacterostática y reacciones citotóxicas contra células tumorales (10, 44,45,65).

Los macrófagos alveolares activados con las fracciones del BCG (CWS-BCG), también sufren cambios funcionales presentando actividad bactericida y tumoricida, incremento del índice del anión superóxido, incremento de la actividad de la fosfata-

ácida e incremento en el diámetro de su tamaño (7,32).

Estas células al ser activadas en tal forma incrementan - sus funciones ya existentes y adquieren la capacidad para --- destruir a una amplia variedad de células neoplásicas, singéni- cas, alogénicas y xenogénicas. Al ser activados interactúan - en forma selectiva con 5 blancos neoplásicos (mastocitoma P815, linfoma EL-4, linfoma P388, Linfoma RBL-35 y Leucemia M210) - (44,45,65).

Los factores que intervienen en la acción de los macrófa- gos sobre las células neoplásicas son los siguientes:

La unión entre macrófagos y blancos es establecida por -- áreas de aproximación extremadamente cerradas, observando fir- mes uniones físicas; la unión depende del tipo de macrófagos, siendo un proceso dinámico que asciende con la temperatura en forma progresiva, dependiendo de ella; su interacción es líne- al con respecto a la cantidad de macrófagos y células blanco - interactuando; se requiere la presencia de cationes divalentes Ca^{2+} y Mg^{2+} ; es dependiente de sustancias sensibles a la tripsina; los diferentes complejos H-2 localizados en la superficie de las células blanco y de los macrófagos no son requeridos -- para la unión ni tampoco interfieren en ella (44,45).

La interacción selectiva es un paso inicial y necesario - para que se lleve a cabo la citólisis del blanco neoplásico. - La selectividad de esta respuesta sugirió que, los macrófagos al ser activados con el BCG son capaces de reconocer a compo- nentes de superficie alterada sobre las células extrañas y es - posible que sea uno de los mecanismos por los cuales se condu- ce a la destrucción del tumor (44,45).

Los posibles mecanismos por los cuales el BCG activa a -- los macrófagos son los siguientes:

a. Los linfocitos sensibilizados con antígenos especifi- cos, inducidos por estimulación antigénica con el BCG, liberan linfocinas las que aumentan la actividad de los macrófagos.

b. Los componentes celulares del BCG estimulan directamen- te a los macrófagos por la misma vía que el zimosen (44,45,54).

La activación requiere de 2 semanas para desarrollar --- completamente y es correlacionado con el tiempo en que se --- manifiesta la reacción de hipersensibilidad retardada (DTH) -- como respuesta al derivado proteico purificado (PPD), demostra- do por la prueba del MIF (factor inhibitorio de la migración de macrófagos) y por la respuesta blastogénica de los linfocitos, relacionandolo con el posible mecanismo en la activación de los

macrófagos (44).

La actividad de los macrófagos va decreciendo a medida -- que la edad del paciente avanza, pero puede regresar al nivel normal e incluso incrementarse por administración del BCG (10, 46, 54).

Otros investigadores han observado reacciones de transmetilación durante la unión de los blancos y los macrófagos, demostrando que estas reacciones deben ser establecidas como importantes mecanismos regulatorios que conducen a varias transducciones leucocitarias, ya que son vitales para la unión directa entre ellos conduciendo a la destrucción de las células tumorales (1).

2. Estimulación del sistema inmune.

Como se mencionó antes, el BCG es capaz de estimular ---- principalmente el sistema inmune. Davies y colaboradores, en sus investigaciones observaron que estimulación celular que ---- intensifica su capacidad para destruir de manera inespecífica a diferentes células malignas; observando también reacciones DTH y formación de granulomas, después de administrar el BCG, relacionándolo con la respuesta antitumor. También demostraron -- que el BCG puede afectar a las células tumorales de manera no inmunológica, al incrementar el contenido intracelular de enzimas que actúan sobre el cáncer (16, 29, 61).

Después de la estimulación con el BCG es observada una -- respuesta proliferativa de células T, las que se vuelven sensibles en presencia de antígenos asociados con tumores, atacando específicamente a las células blanco (59). Los macrófagos al ser activados reaccionan en forma citolítica e inhiben el desarrollo tumoral (21). Las células K desarrollan actividad citotóxica contra las células malignas, volviéndose sensibles en -- presencia de anticuerpos específicos. Las células NK se vuelven citotóxicas contra el tumor, independientemente de los anticuerpos en la naturaleza (10).

Esto ha llevado a los investigadores a concluir que el BCG induce regresión o inhibición de la neoplasia por mecanismos específicos e inespecíficos:

a. Mecanismo específico: Se piensa que incluye reacciones de hipersensibilidad (DTH) donde las células tumorales son -- atacadas en forma inespecífica como "blancos inocentes" induciendo inmunidad específica tumoral mediada por células T (16).

b. Mecanismo inespecífico: Se replica a través de una -

estimulación generalizada sobre el sistema reticuloendotelial, causando hiperplasia e hiperactividad de los componentes celulares, fenómeno que no ha sido limitado a la presencia del BCG, sino al hospedero que exhibe hipersensibilidad mediada por -- células, después de haber sido expuesto al antígeno (16).

Otros posibles mecanismos son:

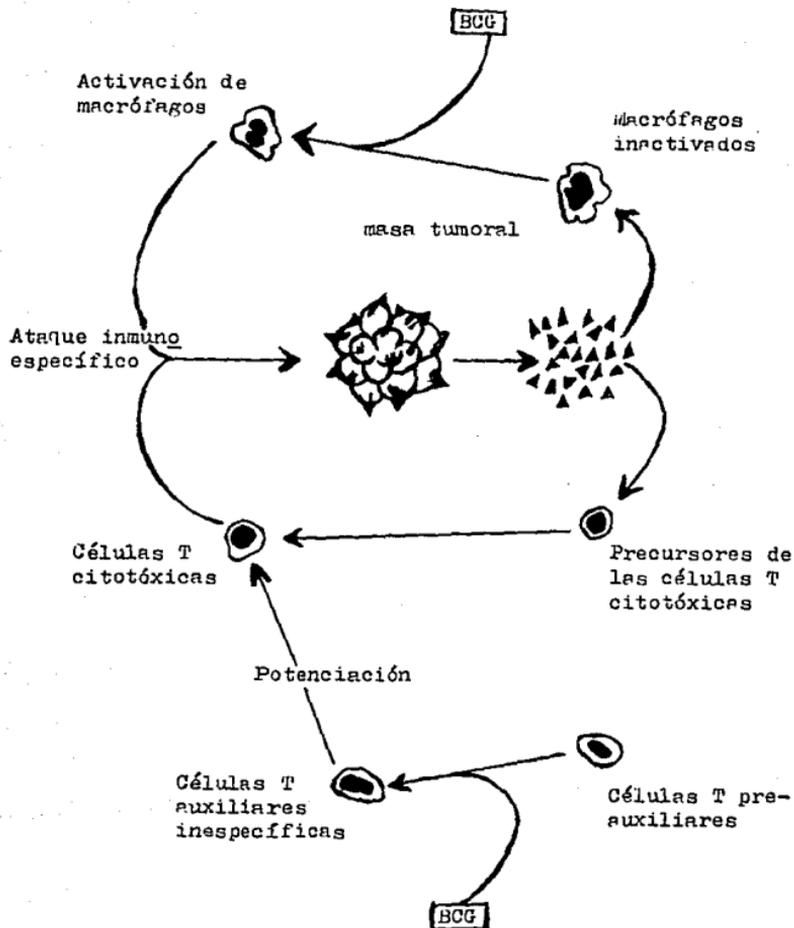
a. Incremento de la respuesta inmune. Esto requiere de que el hospedero sea capaz de reconocer a la célula tumoral y generar una respuesta inmunológica específica contra él. El adyuvante estimularía e incrementaría la respuesta resultante.

b. Reacción cruzada entre el BCG y antígenos tumorales. - Esto lo observaron Rapp y Zbar, indicando que el BCG y el hepa toma de cobayo comparten determinantes antigénicos, comprobando lo en pacientes con melanoma maligno (34,35).

c. Mecanismo no inmunológico. En los trastornos hematológicos el BCG puede estimular la proliferación de las células madre, repoblando el sistema hematopoyético que se vacía por los tratamientos con fármacos y excesivas radiaciones. Resultados satisfactorios se han obtenido en melanomas y en algunos tipos de cáncer de piel, después de administrar el BCG (35).

Otros investigadores piensan que el BCG puede actuar a -- nivel de la membrana celular para lo cual la interacción ocurre con un "receptor" del BCG, común para todos los tipos de células (59).

Devies y colaboradores presentaron un modelo hipotético -- para observar como el BCG estimula a la inmunidad celular mediada por células T, como ejemplo de interacción con el sistema -- inmunológico. Este modelo no tiene aplicación universal; sin -- embargo, sirve para ilustrar como el BCG es capaz de interactuar con células del sistema inmune. El modelo básico se desarrolló en un sistema alógeno usando animales de experimentación inoculados con mastocitoma. La respuesta esplénica observada -- dependió de la vía y dosis administradas, y ligeros cambios en esos aspectos tienden a producir cambios en la actividad de la respuesta resultante que modifica el efecto del BCG (16). Esto puede observarse en el siguiente esquema:



Como se puede apreciar en este esquema, las células de la masa tumoral desprenden antígenos que entran en circulación. -- Estos son reconocidos por el sistema inmune como extraños al organismo; los macrófagos y los linfocitos T al ser estimulados con el BCG actúan de manera inespecífica a la masa tumoral.

Los macrófagos al ser activados se vuelven citolíticos y los linfocitos T se vuelven citotóxicos(16).

3. Sistema inmune y levamisol.

El levamisol, agente antihelmíntico, al ser administrado a pacientes con inmunosupresión por enfermedades malignas ayuda a estimular el sistema inmune, observando un incremento en la actividad de las células T y de los macrófagos; sin embargo, no ha sido posible explicar bien el mecanismo por el cual se realice dicha acción (30).

Se piensa que estimula en forma inespecífica a la respuesta inmune mediada por células. Restablece las reacciones DTH, estimulando la función de monocitos y aumentando sus actividades ya existentes (35,80).

CONCLUSIONES

Actualmente la integración de inmunoterapia clínica en el cáncer ha empezado a obtener resultados favorables. El bacilo de Calmette y Guérin (BCG), una vacuna contra la tuberculosis, y el levamisol un agente antihelmíntico han sido elegidos en el tratamiento inmunoterapéutico de las neoplasias malignas.

Actúan de manera inespecífica estimulando al sistema inmune e inhibiendo el desarrollo del cáncer, logrando remisiones, periodos de vida más prolongados y en algunos casos su recuperación total. Sin embargo, existen factores importantes, con respecto al BCG, como la variabilidad en las dosis, viabilidad y cepa a que pertenece, vía y frecuencia de administración, tiempo relativo al desarrollo tumoral, inmunogenicidad del tumor y el estado general inmune del receptor. Estos factores deben ser tomados en cuenta para obtener los resultados deseados.

Por lo antes mencionado, debe ser valorado clínicamente el paciente, antes de iniciar la terapia, tratándolo de acuerdo a su estado general y grado de cáncer que presente, manejando en forma individual el tratamiento, ya que la respuesta tiende a variar debiendo modificarse dicho tratamiento.

Se debe continuar con la investigación, para que se definan bien sus mecanismos de acción y estandarizar las dosis adecuadas, para integrarlas en forma específica como otro tratamiento en el cáncer.

BIBLIOGRAFIA

1. Adams DO y col. The role of transmethylation reactions in regulating the binding of BCG-activated murine macrophages to neoplastic target cell. *J. Immunology.* 12(1)225-30, --- 1983.
2. Arends-Merino A y col. Modifying the biological response to acute myeloid leukemia I, BCG, allogenic leukemic cell and - spontaneous cytotoxicity. *Anticancer Res.* 3(4) 239-42, --- 1983.
3. Arnold W y col. Inhibition of hematogenous metastatic --- dissemination by BCG-stimulated serum obtained from rabbit and mice. *Neoplasma.* 27(2) 143-46, 1980.
4. Badalament AR y col. Monitoring intravesical bacillus --- Calmette-Guerin treatment of superficial bladder carcinoma by postoperative urinary cytology. *J. Urology.* 138(1) 763-4, 1987.
5. Betton GR y col. Cell mediated cytotoxicity in dogs ----- following systemic or local BCG treatment alone or in ----- combination with allogenic tumor cell lines. *Eur.J.Cancer.* 15(1) 745-54, 1980.
6. Bellanti JA y col. *Inmunologia.* 5a. ed. Ed. Interamericana. 214-29, 1986.
7. Bennet JA y col. Differences in biological activity among batches of lyophilized Tice BCG and their association with clinical course in stage I lung cancer. *Cancer Res.* 43(9) 4183-90, 1983.
8. Bunadona G. *Cáncer Gástrico.* 3va. ed. Ed. Masson S.A. 544 5, 1983.
9. Brungmans J. Schvermens. Restoration of host defense ---- mechanisms in man by levamisole. *Life Sciences.* 13(1) 499 - 503, 1983.
10. Campbell PA y col. Differential expression of macrophages effector functions: Bactericidal versus Tumoricidal ---- activities. *J.Leucocyte Biol.* 36(3) 293-306, 1984.
11. Capello F y col. Uses BCG as loco-regional aspecific ---- immunostimulator in cervical carcinoma. *Clin.Exp.Obst.Gyn.* 11(4) 156-7, 1984.
12. Carserlen CF. *Cáncer Ginecológico.* 4a. ed. Ed. Media --- Panamericana. 158-59, 1981.
13. Colizzi V. "In vivo" and "in vitro" administration ----- interleukin-2-containing preparation versus T-cell ----- unresponsiveness in *Mycobacterium bovis* BCG infect mice. -- *Infect Immunology.* 45(1) 52-5, 1984.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

14. Cockerell GL y col. Effect of BCG immunotherapy on ---- N-nitroso-N-methylurea induced carcinogenesis of guinea - pings colon. JNCI. 72(3) 621- 30, 1984.
15. Gumate J. Inmunidad-Inmunización Vacunas. Ediciones Medicas del Hospital Infantil de México. 2a. ed. México, D.F. 125-44, 1979.
16. Davies M. BCG as anti-tumor agent. The interaction with cell of the mammalian immune system. Biochim Biophys Acta. 29: 651(2-3) 143-74, 1983.
17. DeGisee J. Verhegen. The affect of levamisole on the ---- immunology response of it BCG positive patients. JNCJ. - 10(4-5) 30-6, 1984.
18. Deniry MI y col. Local immune response after intravesical BCG treatment for carcinoma "in situ". Br.J.Urology. 60 - (6)543-8, 1987.
19. Debruyne Fd y col. BCG verses mitomicyn intravesical --- therapy in superficial bladder cancer. Pirts results of randomized prospective trial. Urology. 31(3) 20-5, 1988.
20. Droller JM. Bacillus Calmette-Guerin in the management of bladder cancer. J.Urology. 135(2) 331-2, 1986.
21. Freedman HV y col. Macrophages elicited with heat-killed bacillus Calmette-Guerin protect C57BL/6J mice againt a syngenic melanoma. J.Esp.Med. 152(1) 657-71, 1980.
22. Fudenberg Wells. Inmunología Clínica y Básica. 6a. ed. Ed. El Manual Moderno, S.A. México, 237-43, 1987.
23. Hawrylko E y col. Induction of delayed-type hypersensitive and antitumor immunity by systemic BCG. Cell Immunology. 50(1) 136-52, 1980.
24. Hawrylko E y col. Tumor bearer T cells suppress BCG- --- potentiated antitumor responses. I. requirements for their effect. Cell Immunology. 66(1) 121-38, 1982.
25. Hawrylko E y col. Tumor bearer T cells suppress BCG- ---- potentiated antitumor responses.II. Characteristics of -- the efferent phase suppressor. Cell Immunology. 66(1) 139 51, 1982.
26. Herr WH y col. Long-term effect of intravesical bacillus Calmette-Guerin on flat carcinoma in situ of the bladder. J.Urology. 135(1) 265-7, 1986.
27. Hilliarid RW y col. Superficial transitional cell ----- carcinoma of the bladder associated with mucosal ----- involvement of the prostatic urethra: Results of treatment with intravesical bacillus Calmette-Guerin. J.Urology. --- 139(2) 290-3, 1988.

28. Jawetz, Melvick, Adelberg. Manual de Microbiología Médica. 11va. ed. Ed. El Manual Moderno, S.A. 168-81, 1985.
29. Kakinuma M y col. Failure of C3H mice to develop lung - granuloma after intr-venous injection of BCG cell wall - vaccine. Demonstration of a defect in linphoid cells. --- Immunology. 43(1) 1-9, 1981.
30. Kakinuma M y col. Strain differences in lung granuloma - formation in response to a BCG cell-wall vaccine in mice. Failure of antigen presentation by low-responder ----- macrophages. Immunology. 50(1) 423-31, 1983.
31. Katsuoka Y y col. BCG-induced enhancement of tumor growth in experimental bladder tumor model. Tokai J.Exp.Clin. - Med. 7(4) 481-487, 1982.
32. Kató K y col. Microbicidal activity and morphological --- characteristics of lung macrophages in Mycobacterium ---- bovis BCG cell wall-induced lung granuloma in mice. Infect Immunology. 45(2) 325-31, 1984.
33. Key ME y col. Mechanism of action of BCG-tumor cell --- vaccine in the generation of systemic tumor immunity.I. Synergisms between BCG and line 10 tumor cells in the --- induction of an inflamatory response. JNCI. 67(4) 853-61 1933.
34. Key ME y col. Mechanims of action of BCG-tumor cell --- vaccine in the generation of systemic tumor immunity.II. Influence of the local inflamatory response on immune -- reactivity. JNCI. 67(4) 863.9, 1983.
35. Klefstrom P y col. Postoperative radiation therapy and - adyuvant chemoinmunotherapy in breast cancer. Oncology. 25(3) 161-5, 1986.
36. Khamis OP y col. Superficial bladder cancer of reacted - with intravesical BCG o adriamycin: follow up report. --- Urology. 135-40, 1988.
37. Kovoussi LR y col. Results of 6 weckly intravesical BCG instillation on the treatment of superficial bladder -- tumor. J. Urology. 31(4) 237-93, 1983.
38. Kyuma S y col. Suppresion of BCG granuloma formation in mice by sensitized splenic linphocytes. Jpn.J.Exp.Med. 53(1) 69-72, 1983.
39. Kollmorgen MG y col. The methanol extraction residue of BCG protects agents 7,12-dimethybenz (anthracene-induced ret mammary carcinoma (40693). Exp.Biology Med. 162- (1) 410-15, 1979.
40. Lamm LD y col. Complications of bacillus Calmette-Guerin immunotherapy in 1278 patients with bladder cancer. J. - Urology. 135(1) 272-4, 1986.

41. Lee Ek y col. Reduction of bladder cancer growth in mice treated with intravesical bacillus BCG and systemic α -interleukin-2. *J Urology*. 137(1) 1270-73, 1987.
42. Litter M. *Farmacología Experimental y Clínica*. 9a. ed. Ed. El Ateneo, 1817-25, 1987.
43. Marino HJ. Cáncer de la glándula mamaria. *Ciclos IX-X -- Unidad 3, UNAM*. 19-32, 1983.
44. Marino PA y col. Interaction of BCG activated macrophages and neoplastic cell in vitro. I. Conditions of binding and its selectivity. *Cell Immunology*. 15(10) 11-25, 1980.
45. Marino PA y col. Interaction of BCG activated macrophages and neoplastic cells in vitro. II. The relationship of -- selectivity binding to cytotoxicity. *Cell Immunology*. 15-54 (1) 26-35,, 1980.
46. Matsuo K y col. T-cell-independent activation of ----- macrophages by viable BCG in tumor-bearing mice. *Cell - Immunology*. 57(1) 293-306, 1981.
47. MacCarthy EM y col. Differential effects of prostaglandin on the antitumor activity normal and BCG-activated ----- macrophages. *Cell Immunology*. 60(1) 91-99, 1981.
48. MacCracken JD y col. Combination chemotherapy, radiotherapy and BCG-immunotherapy in limited small cell carcinoma of the lung: a Southwest Oncology group study. *Cancer*. 1:49 (11) 2252-4; 1982.
49. Mendoza R y col. Boletín informativo de la Federación --- Mexicana de Químicos Clínicos A.G. Cd. de Puebla, S.A. - 1980.
50. Minden P y col. Immune complexes in children with leukemic relationship to disease characteristics and to antibody --- response to BCG in patients receiving BCG immunotherapy. *Cancer*. 45(3) 460-8, 1984.
51. Moore V y col. Genetic control of BCG-induced chronic -- granulomatous inflammation and energy. Academic Press. --- 191-200, 1980.
52. Mukamel E y col. The effect of bacillus Calmette-Guerin - on the urinary system of pigs. *J. Urology*. 139(1) 165-69, 1988.
53. Mustafa SA y col. BCG-induced human cell-T-clones from -- BCG-vaccinated healthy subjects: antigen specificity and - lymphokine production. *Infect Immunology*. 53(3) 491-97, - 1986.
54. Nakamura K y col. Monocyte cytolytic factors in promoting monocyte mediated lysis of bladder cancer cells by ----- bacillus Calmette-Guerin. *J. Urology*. 133(1) 367-69, 1987.

55. Ohno K y col. Induction of transplantation resistance to murine LL210 leukemia cells in BCG-primed mice by ----- immunizations with tuberculin protein-coupled LL210 cells. *Gann.* 75(1) 137-92, 1984.
56. Ochiai T y col. Postoperative adjuvant immunotherapy of -- gastric cancer with BCG-cell skeleton. 3-to-6 year-follow up of a randomized clinical trial. *Cancer Immunology.* -- 14(3) 167-71, 1985.
57. Pansedoro V and Francesco P. Intravesical bacillus BCG in the treatment of superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *J.Urology.* 138(1) 299-300, 1987.
58. Patillo RA y col. BCG immunotherapy in ovarian cancer. *J. Reprod.Med.* 33(1)41-5, 1988.
59. Pedrazzini T y col. Functional analysis "in vitro and in vivo" of BCG-specific T cell clones. *J.Immunology.* 136(5) 1828-33, 1986.
60. Podaval VT y col. Lectin potentiation of BCG-contac- ---- mediated antitumor action. *JNCI.* 65(1) 909-12, 1980.
61. Ridley JM y col. Experimental granulomas induced by Myco-- bacterial immune complexes in rats. *Immunology.* 136(1) 59-72, 1981.
62. Rolabins Countran. *Pathology basis of disease.* 2a. ed. Ed. Sauder, 1210-35, 1982.
64. Rumi SL y col. Growth of sarcoma 180 in normal and ---- splenectomized BAB/c mice immunized with BCG. *Acta Physiologica.* 32(1) 123-30, 1982.
63. Rojas Williams M. *Inmunología.* 5a. ed. Ed. Fondo Educativo Interamericano, 297-309, 1983.
65. Saijo N y col. Effects of BCG and 1-(4-amino-2-methyl-5-- pyrimidyl)-methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydro-- chloride (ACNU) on the cytostatic activity of macrophages in normal and tumour-bearing rats. *Br.J.Cancer.* 42(1) 161 67, 1980.
66. Shapiro A y col. Reduction of bladder tumor growth in mice treated with intravesical bacillus BCG and its correlation with BCG viability and natural killer cell. *Cancer Res.* - 43(4) 1611-15, 1984.
67. Shapiro A y col. The technical factors affecting the ---- reproductivity of intravesical mouse bladder tumor ---- implantation during therapy with BCG. *Cancer Res.* 44(7) --- 3051-4, 1985.
68. Serrou B y col. Follow-up results from a randomized trial therapy in the T3 and T4 breast cancer patients. *Cancer - Res.* 80:157-61, 1983.

69. Schellhamer RP y col. BCG for superficial transitional -- cell carcinoma of the bladder. J.Urology. 135(1) 261-64, 1986.
70. Scherinemachers LM y col. Intra-vesical and intradermal BCG applications a phase I study to the toxicity of a ducth BCG preparations in patients with superficial bladder ---- cancer. Eur. Urology. 14(1) 15-21, 1983.
71. Soloway MS. Introduction and overview of intra-vesical ---- therapy for superficial bladder cancer. Urology. 31(3) 5-16 (ref.36), 1988.
72. Spector GW y col. The role of antibody in primary and --- reinfection BCG granulomas of rat skin. J.Pathology. 136 (1) 41-56, 1982.
73. Stuart SH y col. Monocyte cytotoxic factor in promoting - monocyte-mediated lysis of bladder cancer cells by bacillus BCG. J.Urology. 138(1) 866-7, 1987.
74. Torri M y col. Effect of BCG on hepatocarcinogenesis of + the rat induced by 3-methyl-4-(dimethylamino)azobenzene. Gann. 71(1) 24-29, 1980.
75. Todd G y col. In vitro reaction of cancer patients and -- others to bacillus BCG. J.Cancer. 26(1) 285-83, 1980.
76. Torrence RJ y col. Prognostic factors in patients treated with intravesical bacillus BCG for superficial bladder cancer. J.Urology. 139(5) 941-4, 1988.
77. Vaages y col. Mammary tumor growth inhibition in mice by long-term BCG immunotherapy versus enhancement by primary BCG therapy. Cancer Res. 43(12 pt) 5778-82; 1983.
78. Villalobos JP. Gastroenterología. 5a. ed. Ed. Francisco -- Mendez, 578-80, 1982.
79. Vicent T de Vita. Principles and practice of oncology -- cancer. 7a. ed. Ed. Lippincott, 914-62, 1982.
80. Widle PRF and Shaw D. Five year results of a randomized - trial of adjuvant 5-fluorouracil and levamisole in ----- colorectal cancer. Br.J.Surg. 74(1) 569-72, 1987.
81. Winters DW y col. Interferon induction in healthy and -- tumour-bearing dogs by cell walls of strain BCG. Am.J.Vest Res. 43(7) 1232-37, 1982.
82. Wolmeck N y col. Postoperative adjuvant chemotherapy or - BCG for colon cancer: Results from NSABPP protocol. --- Cancer. 2:80(1) 30-6, 1988.
83. Yamashita U y col. The restoration of superficial T cell activities induced by 7-12-dimethylbenz()anthracene ---- with an anti-tumor immunomodulator, BCG-cell skeleton. Gann. 73(1) 783-89, 1982.

84. Yarkoni E y col. Influence of type oil and surfactant - concentration on the efficacy of emulsified BCG-cell walls to induce tumor regression in guinea pigs. Infect - Immunity. 28(3) 981-86, 1980.
85. Yarkoni E y col. Immunotherapy of experimental cancer by intralesional infection of emulsified nonliving Mycobacteria: Comparisson of Mycobacterium bovis (BCG), M. phlei, M. smegmantis. Infect Immunity. 28(3), 887-92, 1980.
86. Zwilling SB y col. Effect of BCG on the developmen of - primary lung cancer in syrian golden hamsters. Cancer Res. 40(1) 3455-8, 1980.