

11227

20  
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO  
SECRETARIA DE SALUD

LEVAMISOL COMO INMUNOMODULADOR

TESINA DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

P R E S E N T A :

DRA. ALEJANDRA VERONICA HERNANDEZ GOMEZ



MEXICO. D.F.

0271246

1999

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



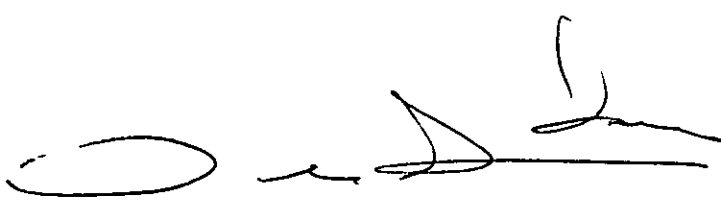
**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta 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.

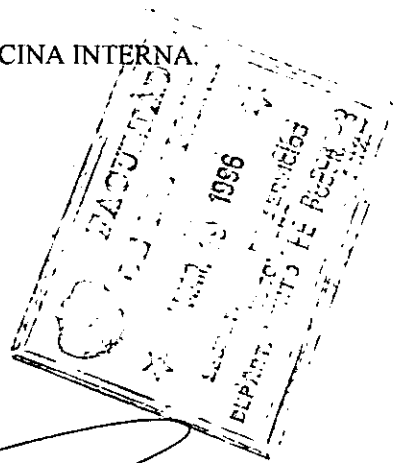
PASINACION  
DISCONTINUA.



DR. JORGE LOZANO FLORES

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE

ESPECIALIZACION EN MEDICINA INTERNA.



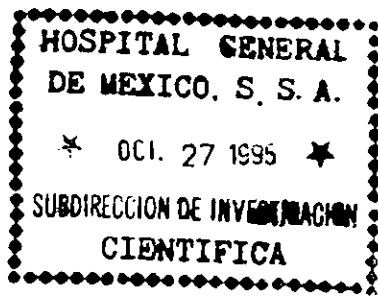
TUTOR:



DR. CÉSAR RIVERA BENITEZ

PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO DE

ESPECIALIZACION EN MEDICINA INTERNA.



A mis padres: por darme  
la vida y la oportunidad  
de hacer mis sueños realidad.  
Gracias por su amor y apoyo.

A mis hermanos: amigos  
incondicionales con todo mi amor.

A Luis: por darle el mayor  
sentido a mi vida. Gracias por  
todos esos momentos.  
TE AMO.

A Daniela: fruto de nuestro  
amor, un motivo más para  
seguir adelante.

A mis profesores: por su  
dedicación y ejemplo.  
Nunca los olvidaré.

A mis compañeros: por  
esos gratos momentos que  
recordaré siempre.

CONTENIDO	Pág
I .-INTRODUCCION.	1
II .-ANTECEDENTES HISTORICOS	3
III .-FARMACOLOGIA GENERAL	
-Farmacodinamia	5
-Farmacocinética	6
-Propiedades antihelmínticas	
-Contraindicaciones	7
-Efectos colaterales	8
IV .-MECANISMO DE ACCION	
-Inductores de los nucleótidos cíclicos	10
-Imidazol	12
-Tioles	
-Hormonas tímicas	14
V .-PROPIEDADES INMUNOLOGICAS	
-Espectro de actividad Inmunológica	15
-Restauración de células efectoras	
-Maduración de las células T y granulocitos	18
-Inducción del factor sérico	
VI .- POTENCIAL INMUNOTERAPEUTICO	
-Inmunodeficiencia primaria	21
-Infecciones crónicas o recurrentes	
-Enfermedades crónico-inflamatorias	22
-Cáncer en animales y humanos	
-Levamisol y 5-Fluoracilo	23
VII .-CONCLUSIONES.	24
VIII.-ANEXOS	27
IX .- BIBLIOGRAFIA	28

## INTRODUCCION.

Los inmunomoduladores son medicamentos que modifican directamente la función inmunitaria específica, tienen un efecto neto positivo o negativo en la actividad del sistema inmunitario. Los usos potenciales de los inmunomoduladores en medicina clínica son la reconstitución de la deficiencia inmunitaria (p.e. tratamiento del síndrome de inmunodeficiencia adquirida), y la supresión de la función inmunitaria normal o excesiva (p.e. tratamiento de rechazo de injerto o enfermedad autoinmunitaria).

Los avances recientes en biología molecular han proporcionado una visión interior de la compleja red de interacciones que se presenta en el sistema inmunitario. Antes de la disponibilidad de compuestos altamente purificados producidos con tecnología del DNA recombinante, se utilizaron varios inmunomoduladores no específicos para incrementar la respuesta inmune del huésped en ciertas situaciones clínicas. De acuerdo a su origen estos se pueden dividir en tres clases: a) productos de origen microbiano, b) productos de origen mamífero y c) productos de origen sintético.

El levamisol compuesto sintético con propiedades antihelmínticas es capaz de inhibir la actividad de células T supresoras. El levamisol administrado a los pacientes con cáncer se ha relacionado con incremento en la hipersensibilidad tipo retardado e incrementando la proliferación in vitro de los linfocitos y la respuesta a mitógenos.

Los estudios preliminares del tratamiento adyuvante del cáncer colorectal, muestran eficacia clínica promisorias, según se mide por la sobrevida libre de enfermedad. En este contexto, "adyuvante" se refiere a la terapia utilizada después de un tratamiento local óptimo para un tumor, con intento curativo. Sin embargo, aún no se han informado estudios confirmatorios que extiendan estas observaciones y demuestren un beneficio en la sobrevida a largo plazo.

El estado actual de todas las formas de inmunomodulación no específica para el tratamiento de enfermedades en el que pudiera beneficiarse al modificar la respuesta inmune, deberá considerarse en estudios in vivo e in vitro.

Gracias a todas sus propiedades así como a su bajo costo, el levamisol resulta ser una de las mejores opciones para la práctica médica, además de favorecer la calidad de vida de nuestros pacientes.



## ANTECEDENTES HISTORICOS:

El tetramisol y su levoisómero: levamisol fueron originalmente descubiertos como antihelmínticos en la medicina veterinaria y alopática en 1966 (1,2). Renoux y Renoux en 1971 dirigieron su atención a el efecto de la droga en el sistema inmune y los mecanismos de defensa (3).

El diseño de la molécula de tetramisol data desde 1960 cuando se hicieron los ensayos en los laboratorios Janssen para descubrir un nuevo antihelmíntico, finalmente después de haber sintetizado alrededor de 2700 compuestos heterocíclicos inactivos fué encontrado un nuevo antihelmíntico; de cualquier modo muy pronto aparentó ser que este derivado del aminotiazol era en realidad una prodroga metabólicamente convertida a un metabolito activo dl-2-acetilimino-3-(hidroxi-2-(2-tianil)-etil) tiazolidin ( fig. 1,I) en pollos y ovejas, pero no así en ratas o ratones, lo que explica su falta de actividad en estos (1,2,3)

Debido a su limitada estabilidad en solución acuosa y los elevados costos de producción, el tianilimidazoltiazol (fig 1,II) no convino a una gran escala de producción y por lo tanto fué sujeto a una modificación molecular. Finalmente la reducción del anillo de tiazol y el reemplazo de la molécula de tiofeno por benceno resultó en la síntesis de tetramisol o 2,3,5,6 tetrahidro-6-fenilimidazol (2,1-b) tiazol (fig. I,III) El antihelmíntico descubierto posteriormente con propiedades inmunomoduladoras del tetramisol, son debidas en su mayoría a su enantiómero levamisol (Fig. I, IV), el cual es más potente que el que corresponde al enantiómero dextrorrotatorio dexamisol (fig 1,V) (4).

La actividad del levamisol y tetramisol ha sido ampliamente estudiada; en Junio de 1978 sus aplicaciones como antihelmíntico fueron descritas en 106 y 996

publicaciones respectivamente, mientras que como inmunomodulador el levamisol solo se reportó en 480 publicaciones incluyendo animales y humanos.

El hidrocloreto del levamisol es un sólido blanco, cristalino estable con peso molecular de 240.75D. Un miligramo de este corresponde a 0.848 mgs. de la base. El hidrocloreto del levamisol es muy soluble en agua, muy estable en solución ácida pero se hidroliza en solución alcalina. Cuando el anillo de tiazol se abre queda en forma insoluble al agua u OMPI (Metabolite Phenyl Imidazole) (fig. 1, VI ), metabolito del levamisol que posee un grupo sulfhidrilo libre que lo hace más potente que el levamisol. La estructura cristalográfica del levamisol esta determinada por difracción de rayos X (fig.2).

## FARMACOLOGIA GENERAL.

### Farmacodinamia:

El levamisol a una concentración relativamente elevada in vitro estimula los ganglios simpáticos intramurales, produce efecto espasmogénico reversible en tejido intestinal de mamífero y ocasiona una inhibición neuromuscular en preparaciones de nervio muscular del pollo y nervio diafragmático de rata. Se parece al efecto de la nicotina, agente neuromuscular el cual actúa despolarizando la placa motora, esto induce una relajación reversible por el cloruro de potasio en el ileo del cobayo, posiblemente por reducción temporal de la permeabilidad a los iones de calcio de la membrana celular (2,4,5).

Tiene un efecto inotrópico positivo en el músculo papilar del gato y prolonga el periodo refractario. Aumenta las contracciones provocadas por la epinefrina sobre los vasos sanguíneos de la rata, posiblemente debido a estimulación simpática.

Una interesante propiedad bioquímica del levamisol la cual puede estar relacionada en varias de sus acciones sobre las células mamíferos, es su habilidad para inhibir la fosfatasa alcalina de varias células a bajas concentraciones, quizá las isoenzimas de la placenta e intestino no son inhibidas (4). La inhibición es de tipo no competitivo gracias a su elevada especificidad y también estereoespecificidad; el dexamisol es completamente inactivo.

### Farmacocinética:

El levamisol es rápidamente absorbido por vía oral y parenteral. Los niveles plasmáticos máximos de 0.7 mg. por ml. son alcanzados en una a dos horas después de la ingesta de 150 mgs. en sujetos adultos (5,6,7).

En el humano la droga tiene una vida media plasmática de aproximadamente cuatro horas, es metabolizada principalmente en el hígado mediante parahidroxilación (5,6) y eliminada del organismo por completo en dos días (5,6,7). El OMPI es uno de los metabolitos del levamisol el cual, tiene un grupo sulfidriilo que lo hace más potente que el levamisol, posiblemente esto indique que el levamisol es una pro-droga de la cual sus efectos estén mediados por el OMPI. Sus metabolitos son recuperados por orina; aproximadamente el 3% de la ingesta oral es recuperada en forma de levamisol. El porcentaje de recuperación esta directamente relacionado con el pH urinario. Aproximadamente el 5% se excreta por heces (7,8).

### Propiedades antihelmínticas:

El levamisol es altamente tóxico para los nemátodos causando parálisis y eliminación pasiva de los gusanos. Dependiendo del gusano y de las especies, la dosis terapéutica varía desde 2 a 40 mgs. por kg. de peso. La mayoría de los nemátodos son eliminados después de una dosis única .

El levamisol es ingerido por vía oral por los gusanos y también penetra su cutícula; los nemátodos adultos o inmaduros que son sumergidos en solución de levamisol muestran contracciones espásticas seguidas por parálisis tónica. Esto es reversible o irreversible dependiendo de la especie de gusano y de la concentración empleada, y es

probablemente el resultado de la despolarización de los músculos del gusano (9).

Ciertamente a concentraciones terapéuticas el levamisol estimula estructuras que son parecidas a ganglios causando contracción muscular en los gusanos del tipo de ascaris, seguidas por inhibición de la despolarización neuromuscular. Estos datos están confirmados en músculos aislados de ascaris los cuales al tener contacto con el levamisol tienen un descanso potencialmente disminuido y contracción, probablemente debidos a la despolarización. La respuesta a la acetilcolina esta inhibida durante esta contracción mientras que la acetilcolinesterasa no esta afectada (9).

El levamisol también interfiere con el aporte de la energía metabólica en el gusano. Inhibe el sistema de fumarato reductasa en varios nemátodos adultos o jóvenes incluyendo a *Hemoncus conturtus*, y *fasciola hepática* resistentes a el tiabendazol. Esto sugiere que las moléculas de el levamisol solubles en agua penetran en el nemátodo por su cutícula y alcanzan el sitio apropiado de acción y son hidrolizadas a formas de metabolitos insolubles en agua (OMPI), el cual puede después inactivar la reductasa de fumarato por interacción con uno o más grupos sulfidrilo en el centro activo de la enzima formando cadenas disulfuro estables (8,9,10).

#### Contraindicaciones:

Solo en pacientes que esté demostrada la hipersensibilidad a la droga (8,9,10).

## Efectos Colaterales:

### Hematológicos.

#### -Agranulocitosis:

Es el efecto colateral más severo asociado a la terapia con levamisol (11), han sido reportados desde 0.4% hasta en el 8% de los pacientes tratados. La neutropenia severa ocurre después de varios días durante varios meses de tratamiento con levamisol únicamente, esta puede ser reversible al suspender la ingesta.(12). Drew y colaboradores lo describen por efecto de los anticuerpos autoinmunes y anticuerpos granulocitotóxicos dependientes de complemento (12,13).

Esta complicación aparece más frecuentemente en pacientes con Artritis Reumatoide y en pacientes con HLA B27. Halberg y colaboradores lo reportan en el 20% de los pacientes tratados (14).

#### -Leucopenia:

Particularmente la leucopenia se ha observado en pacientes con cáncer y Artritis Reumatoide que reciben terapia con levamisol por periodos prolongados, la mayoría de las veces no es severa y es reversible. Moertel y cols. reportan una gran serie de pacientes con cáncer de colon que reciben levamisol únicamente, la incidencia de leucopenia (2000-4000/mcL) fué del 8%. La leucopenia menor a 2000/mcL fué en el 1%. Cuando el levamisol se combinó con 5 fluoracilo la leucopenia (2000-4000/mcL) se observó en el 38% (15).

### -Trombocitopenia:

Esta complicación ocurre menos frecuentemente que la leucopenia y se ha reportado en el 2-3% de los pacientes que reciben levamisol como terapia adyuvante en el cáncer de colon. En los pacientes que reciben terapia combinada de levamisol más 5-fluoracilo la trombocitopenia (50,000-130,000/mcL) ocurre hasta en el 24% de la población. La trombocitopenia severa (menor 50,000/mcL) se observa hasta en el 4% (15).

### Cardiovasculares.

#### -Vasculitis:

La vasculitis leucoclastica cutánea se ha descrito solo en un paciente del sexo femenino de 65 años de edad posterior a la ingesta de 150mg/día de levamisol para el tratamiento de artritis reumatoide. La vasculitis desapareció al suspender la ingesta del medicamento. No se observó la presencia de complejos inmunes circulantes en las pruebas serológicas. Este es el único caso reportado en la bibliografía (16,17).

### Sistema Nervioso Central.

-Dentro de los efectos a nivel de sistema nervioso central en pacientes con cáncer de colon y artritis reumatoide son: Excitación, insomnio, fatiga, cefalea, vértigo, ansiedad, irritabilidad, confusión, depresión y convulsiones, los reportes son inferiores al 3% (15,16,17).

## Digestivo.

Diferentes estudios reportan alteraciones a nivel gastrointestinal con una incidencia menor al 2%: náusea, vómito, diarrea, dispepsia, anorexia, dolor abdominal (15,16,17).

## Otros:

Alteraciones del gusto, proteinuria, estomatitis, incremento de transaminasas y bilirrubinas, visión borrosa, conjuntivitis, alopecia y dermatitis son complicaciones raras reportadas en menos del 1% (15,16,17).

## MECANISMO DE ACCION.

El levamisol parece regular la función inmune mediada por células de dos maneras: Restaura las funciones efectoras de los linfocitos T periféricos y fagocitos, y estimula a los linfocitos T precursores para que se diferencien hacia células T maduras. Comparte estos efectos con un gran número de inmunomoduladores.

### A) Inductores de los nucleótidos cíclicos.

Durante los últimos años se han acumulado evidencias de que los nucleótidos cíclicos o fosfato de adenosina y guanosina median al menos en parte la acción de diversas hormonas y sustancias (similares a hormonas) que actúan en la superficie celular. Estos nucleótidos parecen participar en la regulación de las células involucrándose en la respuesta inmune e inflamatoria (18).



## Digestivo.

Diferentes estudios reportan alteraciones a nivel gastrointestinal con una incidencia menor al 2%: náusea, vómito, diarrea, dispepsia, anorexia, dolor abdominal (15,16,17).

## Otros:

Alteraciones del gusto, proteinuria, estomatitis, incremento de transaminasas y bilirrubinas, visión borrosa, conjuntivitis, alopecia y dermatitis son complicaciones raras reportadas en menos del 1% (15,16,17).

## MECANISMO DE ACCION.

El levamisol parece regular la función inmune mediada por células de dos maneras: Restaura las funciones efectoras de los linfocitos T periféricos y fagocitos, y estimula a los linfocitos T precursores para que se diferencien hacia células T maduras. Comparte estos efectos con un gran número de inmunomoduladores.

### A) Inductores de los nucleótidos cíclicos.

Durante los últimos años se han acumulado evidencias de que los nucleótidos cíclicos o fosfato de adenosina y guanósina median al menos en parte la acción de diversas hormonas y sustancias (similares a hormonas) que actúan en la superficie celular. Estos nucleótidos parecen participar en la regulación de las células involucrándose en la respuesta inmune e inflamatoria (18).

Los agentes que causan una elevación de GMP cíclico en linfocitos y fagocitos (agentes colinérgicos) promueven las funciones proliferativas y secretoras de estas células posiblemente a través de la sustentación de la organización microtubular. Las sustancias que inducen un aumento en los niveles intracelulares de AMP cíclico (agentes beta adrenérgicos), reducen dichas funciones de los leucocitos (tab.1) (18,19).

El levamisol posee propiedades colinérgicas e imita los efectos de los agentes inductores GMP cíclico sobre los leucocitos efectores. Incrementa el GMP cíclico o disminuye los niveles de AMP cíclico en linfocitos T de ratones y en linfocitos y células polimorfonucleares de humanos (18,19).

También muestra inhibición de la formación de rosetas E por inductores de AMP cíclico como las histaminas, aminofilina, adenosina y AMP cíclico, sugiriendo que esta fomenta la reactividad de receptores en los linfocitos T, lo cual parece estar mediado a través de cambios en los nucleótidos intracelulares (18,19).

En contraste con su efecto sobre las células periféricas, cuya función disminuyen, los agentes inductores del AMP cíclico tienen la habilidad para inducir la diferenciación de linfocitos precursores en linfocitos maduros T o B. No es bien conocido si el levamisol actúa en las células inmaduras por un incremento al AMP cíclico (18,20).

Para los lipopolisacáridos ha sido sugerido un doble mecanismo de acción los cuales inducen la diferenciación de precursores de células B mediados por la vía del AMP cíclico y la proliferación de células B maduras por vía del GMP cíclico. Un doble mecanismo semejante ha sido

propuesto para la timopoyetina en relación a los linfocitos T (18,20,21).

#### B) Imidazol:

El levamisol contiene un anillo imidazol y ha sido sugerido que esta particularidad induce la regulación inmune por elevación de GMP cíclico y/o disminución en los niveles del AMP cíclico en los linfocitos.

El levamisol y el imidazol aumentan las funciones de los linfocitos T periféricos y macrófagos in vitro

Quizá el imidazol no incremente la sensibilidad retardada a los eritrocitos de carnero (SRBC) en ratones, no induzca la diferenciación de células T in vitro e in vivo y no induzca el factor sérico que aparece después del tratamiento con levamisol (18,21).

#### C) Tioles:

La integridad funcional y estructural de las células aeróbicas es continuamente puesta en juego por el oxígeno y sus productos inestables de reducción, radicales como peróxidos, cuya formación es marcadamente elevada en las células funcionalmente estimuladas como los fagocitos. Las moléculas blanco más susceptibles incluyen los lípidos de la membrana y los sulfhidrilos de las proteínas (18,20,21).

La integridad celular esta preservada por un sistema "acarreador" de los cuales el sistema glutathion parece ser el de más importancia. Verdaderamente el glutathion, el principal tiol no proteico en las células eucarióticas y las enzimas asociadas a la peroxidasa de glutathion o reductasa de glutathion, constituye el mayor factor homeostático en la protección de las células contra óxidos endógenos y/o daño mediado por radicales (18,21).

Un número de tioles y otros antioxidantes pueden imitar aparentemente la función de "acarreadores" del sistema glutámico y preservar la integridad microtubular y así la función celular.

Ciertamente los tioles incrementan marcadamente la viabilidad, replicación y función de las células linfoides en cultivo y estimulan la respuesta inmune humoral y mediada por células en ratones. El sulfidrilo libre que contiene el dietilditiocarbamato sódico estimula la formación de placas de anticuerpos in vivo después de su administración pero no así in vitro y comparte con el levamisol la propiedad de inducir el factor sérico en ratones y origina in vivo la diferenciación de los timocitos de las células esplénicas en ratones desnudos.

El levamisol presenta un anillo que contiene sulfuro, el cual es fácilmente anclado dentro del tior OMPI in vitro y posiblemente también in vivo. En los sistemas de prueba en los cuales ha sido evaluado el OMPI muestra efectos similares a los del levamisol pero a menor dosis (21). El OMPI es más potente que el levamisol incrementando la depuración renal de carbón en ratones.

A concentraciones terapéuticas ( $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$  M), el OMPI es aún más efectivo en la protección de las células depletadas de glutatión por la necrosis autoxidativa, además incrementa la tasa de polimerización de tubulina.

Estos efectos se considera son secundarios al barrido de radicales libres, y/o a la interacción con los sulfhidrilos de tubulina.

Es posible que el levamisol incremente las funciones de los leucocitos mediante los OMPI a través del barrido de los radicales oxidativos deteriorados y por aumento de la integridad y función de los microtúbulos en los leucocitos.

Esto implica que en los leucocitos con un defecto espontáneo en el mecanismo homeostático, el mecanismo glutation podría ser particularmente susceptible a el efecto antioxidante de la droga (18,20,21).

#### D) Hormonas Tímicas:

Un gran número de factores han sido aislados del timo de mamíferos, los cuales son capaces de influenciar la estructura celular del sistema inmune. Estos factores llamados hormonas tímicas son inductores potentes de células T y de la diferenciación de granulocitos, también aumentan el AMP cíclico en los precursores de linfocitos.

La timopoyetina, hormona tímica purificada, también estimula las funciones de efector de los linfocitos y granulocitos y eleva el GMP cíclico. Existe un gran paralelismo entre el efecto in vivo de las hormonas tímicas y los del levamisol en pruebas diseñadas para el estudio de la maduración de leucocitos o funciones de efector del linfocito T, polimorfonucleares, neutrófilos, macrófagos y en los estudios diseñados para reconstruir las funciones inmunológicas en huéspedes comprometidos (tabla 2). In vivo el levamisol se comporta como agente timomimético; se ha propuesto que interactúa con el receptor de timopoyetina en los linfocitos receptores, células polimorfonucleares y macrófagos y que influye en el metabolismo celular por alteración de la proporción de nucleótido cíclico en la célula. No hay evidencia directa de sitios comunes de receptor, quizá las propiedades colinérgicas en ambos compuestos y su similitud estructural entre el levamisol y el sitio activo de la timopoyetina apoyen esta propuesta (1,18,22).

En contraste con la hormona tímica el levamisol no induce la diferenciación in vitro de células T. El factor sérico que se produce en los ratones tal vez imite los efectos de la hormona tímica de células inmaduras in vitro

(tabla 2). Este factor sérico no es un factor tímico ya que puede ser producido en un ratón desnudo. El levamisol en estas condiciones parece actuar en las células inmaduras a través de un factor el cual aumenta y que tiene propiedades de hormona tímica. Este efecto indirecto podría explicar los efectos retardados del levamisol aumentando in vivo la maduración de células T en comparación con los efectos rápidos in vitro de las células efectoras (1,18,22).

## PROPIEDADES INMUNOLOGICAS.

### Espectro de la actividad inmunológica.

Los efectos del levamisol en el sistema inmunológico han sido estudiados extensamente en células aisladas, animales, voluntarios sanos y en pacientes. Fué probado indiscriminadamente en dosis terapéuticas y subterapéuticas en las funciones celulares y humorales del sistema inmune en sujetos sanos y enfermos.

Analizando la literatura con estas variables en mente se encontró que el levamisol tiene un amplio pero bien definido espectro de actividad que afecta fagocitos tanto maduros como inmaduros así como linfocitos (10,18,23).

### A) Restauración de las funciones de las células efectoras.

El levamisol in vivo e in vitro es capaz de restaurar a la normalidad la mayoría de las reacciones de las células efectoras involucradas en la respuesta inmune mediada por células. Los efectos son más pronunciados y constantes en huéspedes comprometidos en los que las funciones de los linfocitos T o fagocitos están por debajo

(tabla 2). Este factor sérico no es un factor tímico ya que puede ser producido en un ratón desnudo. El levamisol en estas condiciones parece actuar en las células inmaduras a través de un factor el cual aumenta y que tiene propiedades de hormona tímica. Este efecto indirecto podría explicar los efectos retardados del levamisol aumentando in vivo la maduración de células T en comparación con los efectos rápidos in vitro de las células efectoras (1,18,22).

## PROPIEDADES INMUNOLOGICAS.

### Espectro de la actividad inmunológica.

Los efectos del levamisol en el sistema inmunológico han sido estudiados extensamente en células aisladas, animales, voluntarios sanos y en pacientes. Fué probado indiscriminadamente en dosis terapéuticas y subterapéuticas en las funciones celulares y humorales del sistema inmune en sujetos sanos y enfermos.

Analizando la literatura con estas variables en mente se encontró que el levamisol tiene un amplio pero bien definido espectro de actividad que afecta fagocitos tanto maduros como inmaduros así como linfocitos (10,18,23).

### A) Restauración de las funciones de las células efectoras.

El levamisol in vivo e in vitro es capaz de restaurar a la normalidad la mayoría de las reacciones de las células efectoras involucradas en la respuesta inmune mediada por células. Los efectos son más pronunciados y constantes en huéspedes comprometidos en los que las funciones de los linfocitos T o fagocitos están por debajo

de lo normal. El levamisol generalmente no aumenta pero adecúa la respuesta inmune excepto a dosis prolongadas que excedan las terapéuticas o dosis subóptimas en sistemas in vitro (18,19).

Las funciones fagocíticas que pueden ser restauradas incluyen la migración fortuita, quimiotaxis y actividad de receptor de complemento, adherencia, fagocitosis, reducción de nitroazul de tetrazolio (NBT), actividad peroxidasa y muerte intracelular por células polimorfonucleares, monocitos y macrófagos (18,22).

Las funciones linfocíticas que pueden ser restauradas en los efectos son la inducción antiorgánica o espontánea de células T, proliferación activa y total formación de rosetas E, producción de linfoquinas, actividad supresoras y formación de placas de anticuerpos celulares (18,22).

El levamisol no estimula directamente las células B. No incrementa su respuesta proliferativa a mitógenos y no tiene efecto directo en la producción de anticuerpos. De cualquier forma si la actividad de las células B se encuentra patológicamente incrementada puede ser reducida a niveles normales reflejándose en una disminución del número de acarreadores de inmunoglobulinas o formando rosetas de componente amboreceptor del eritrocito (EAC) y por la normalización de los niveles de anticuerpos. El número excesivo de células ineficaces también es reducido (10,18,22).

A dosis terapéuticas (2.5 mg por Kg.) el levamisol es capaz de restaurar la hipersensibilidad retardada en la piel de pacientes anérgicos y de restaurar la respuesta inmune mediada por células en ancianos o ratas viejas y en pacientes con alguna deficiencia inmunológica (3,10).



La reacción en células esplénicas de ratón, la depuración de partículas coloidales en animales y humanos y la migración de macrófagos en las heridas de la piel (modelos en los cuales la respuesta depende de las células T o de la función de macrófagos) puede ser incrementada a niveles normales de respuesta, pero no más allá de este nivel (10,18,22).

El levamisol es inactivo a niveles terapéuticos en modelos diseñados para medir la estimulación de la inmunidad, tal como el tiempo de rechazo a un injerto de piel o la inducción de encefalomiелitis alérgica en modelos experimentales. La estimulación se ha observado a niveles altos (20mg/Kg).

El levamisol no presenta actividad antiinflamatoria en modelos animales convencionales. Puede actuar como hápteno para inducir hipersensibilidad retardada en cobayos.

Se debe de mantener en mente que las respuestas al levamisol no son predecibles aún si este es usado en condiciones apropiadas; por ejemplo: hay los que responden y no responden en cada especie animal, modelo experimental o enfermedad investigada. Las respuestas de los ratones al levamisol parecen estar relacionadas con la habilidad de producir un factor sérico. Inclusive existen variables como la repulsión inmune por patógenos o bloqueadores de factores humorales que pueden inhibir la respuesta a la droga. Los defectos celulares intrínsecos difícilmente son corregidos por el levamisol. Estas variables podrían por lo tanto ocasionar variaciones en la respuesta a la droga (5,10,18).

## B) Maduración de las células T y granulocitos.

Hay evidencia de que el levamisol es capaz *in vivo* pero no *in vitro* de inducir las células precursoras en maduras dentro de la línea de linfocitos T.

Induce antígenos tímicos en células esplénicas de ratas timectomizadas o ratones desnudos, inhibe la formación de rosetas autólogas en ratones desnudos y además estimula la proliferación linfocítica. El levamisol restaura la función inmune mediada por células en niños con deficiencias inmunológicas primarias y en ratones negros de Nueva Zelanda (NZB) y la modera en modelos experimentales con ratones NZB/NZW (ratón blanco de Nueva Zelanda), encontrando que proporciona más evidencia indirecta para efectos de regulación de células T.

El levamisol también aumenta la liberación del factor estimulante de colonias resultando así un incremento en la granulopoyesis (10,23).

## C) Inducción del factor sérico.

El suero de los ratones o conejos tratados con levamisol contiene por lo menos un factor dializable el cual cuando es inyectado en animales no tratados imita el efecto del levamisol en las funciones inmunes. El suero del factor purificado, incrementa la depuración de partículas de carbón, incrementa la producción de células formadoras de placa (PFC), disminuye la carga tumoral, estabiliza la remisión tumoral y restaura la sensibilidad a la azatioprina de las células del bazo formadoras de rosetas en ratones esplenectomizados. El factor dializable también se encuentra en suero de ratones desnudos tratados con

levamisol. Tanto el levamisol como el factor inducen in vivo la maduración de células T en estos animales. A diferencia del levamisol el factor induce la maduración in vitro de células esplénicas de ratones desnudos o células de médula ósea, propiedad que comparte con hormonas tímicas (18,21,23).

El sulfidrilo que contiene el dietilditrocarbamato de sodio también induce la producción de este factor sérico en ratones desnudos. Otros inmunoestimuladores como los lipopolisacáridos o estrógenos fracasan en ratones normales y desnudos.

El factor sérico no parece ser ningún factor de complemento ni un metabolito de levamisol. No se ha encontrado en animales con respuesta fallida al levamisol o en animales no tratados. Los animales en los que falla la respuesta al levamisol responden al factor sérico. Estos hallazgos sugieren que el efecto in vivo del levamisol en ratones es originado por la liberación de un factor que imita a las hormonas tímicas. Esto también aumenta las posibilidades de fracaso en la respuesta a el levamisol que esta dada por una falla al producir o liberar este factor (18,21,23).

El factor sérico contribuye a elevar la estimulación linfocítica in vitro, lo cual también ha sido bien demostrado en el suero humano después del tratamiento con levamisol.

## POTENCIAL INMUNOTERAPEUTICO.

Las actividades del levamisol postuladas experimentalmente proveen las razones para su empleo terapéutico tanto en enfermedades humanas como animales. Se puede deducir una hipótesis en el modo de acción de la droga que en principio está indicada en cualquier hipofunción de las células T, polimorfonucleares o macrófagos que estén implicados en las inmunopatologías (fig. 3) (21,23).

Una función mayor del sistema inmune, la eliminación y degradación de antígenos extraños esta acompañada por un gran proceso inmune en cascada que incluye el reconocimiento del material extraño, la producción de mediadores de la inflamación y la acumulación y activación de efectores inmunes al sitio de la reacción inmunológica. La disfunción de cualquier componente de esta red puede dar origen a enfermedades relacionadas con antígenos persistentes como se observa en infecciones crónicas o recurrentes y el cáncer, o puede conducir hacia el desarrollo de condiciones crónico-inflamatorias o, hiperinmunes. Las últimas se caracterizan comúnmente por disminución de células T y mayor actividad de células B y frecuentemente por la formación de complejos inmunes (22, 23,24).

El levamisol es generalmente bien tolerado, y ha sido probado en un gran número de enfermedades en que se sospechaba un desbalance inmune, pronto fué aparente que algunas de estas condiciones respondían bien si eran tratadas, otras no respondían o solo lo hacían parcialmente. Hasta la fecha las respuestas a el levamisol han sido registradas principalmente en enfermedades crónicas o recurrentes, predominando en algunas la infección y en otras la infiltración linfoide. Algunas de ellas se enlistan en la tabla 3 (22,23,24).

### A. Inmunodeficiencia primaria:

Pacientes con alteraciones de inmunodeficiencia primaria por ejemplo con deficiencia de células T o B o fagocitos son altamente susceptibles a infecciones por bacterias, hongos, virus y protozoarios incluyendo microorganismos de baja virulencia. Estos pacientes frecuentemente presentan enfermedades crónicas o recurrentes de la piel, pulmón, tracto respiratorio superior y otros órganos desde temprana edad.

El levamisol reduce la frecuencia y severidad de los períodos infecciosos y restaura las funciones inmunológicas en un considerable número de pacientes. El levamisol no sustituye al antibiótico o al tratamiento con gamaglobulinas pero si disminuye la necesidad de dichos tratamientos probablemente por la estimulación de los mecanismos de defensa del huésped (21).

### B. Infecciones crónicas ó recurrentes:

El tratamiento con levamisol disminuye la frecuencia, severidad y duración de los episodios de herpes genital o labial, especialmente en aquellos pacientes severamente afectados que tienen frecuentes recaídas. Similarmente el levamisol disminuye la frecuencia de los episodios febriles en niños con infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior. Las infecciones piógenas crónicas de la piel y otro tipo de infecciones como la lepra y la brucelosis (26), se pueden beneficiar con la administración de levamisol a largo plazo. El levamisol parece además acortar el período anérgico que sigue a ciertas infecciones virales como la hepatitis aguda y la influenza, así como incrementar su recuperación. Parece además inducir la remisión en casos crónicos de hepatitis por antígeno relacionado a hepatitis (HAB) (25).

### C. Enfermedades crónico-inflamatorias:

Extensos estudios en mas de 1000 pacientes con Artritis Reumatoide incluyendo estudios multicéntricos doble ciego, revelaron que la mayoría de los pacientes mejoran durante el tratamiento con levamisol y muestran disminución progresiva de la actividad de la enfermedad y así mismo la restauración de varias alteraciones inmunológicas durante el tratamiento con dicho medicamento. La acción del levamisol es comparable con aquellos agentes antireumáticos de acción lenta tal como las sales de oro y D-penicilamina en los cuales el efecto benéfico aparece entre las 6 y 8 semanas de administración del medicamento (27). Estudios preliminares muestran que el levamisol puede producir un efecto favorable en otras enfermedades reumáticas tales como: Síndrome de Reiter y Lupus Eritematoso Sistémico (28), pero aún se necesitan mas estudios controlados que respalden dichos hallazgos. Se han obtenido resultados no concluyentes en algunos estudios del levamisol y alteraciones inmunológicas tal como Esclerosis Múltiple en la cual, el levamisol posiblemente puede jugar un papel estabilizador en la progresión de la enfermedad (29). De acuerdo con algunos estudios preliminares, la enfermedad de Crohn puede ser tratada favorablemente con levamisol, comprobado con parámetros clínico-bioquímicos e inmunológicos (30).

### D. Cáncer en animales y humanos:

Estudios controlados con animales y pacientes con varios tipos de cáncer han demostrado que el levamisol ha prolongado la duración de la remisión y sobrevida seguida de un tratamiento citoreductivo exitoso. El levamisol es un adyuvante para dicho tratamiento y no un sustituto. El

encuentra relacionado directamente con la eficacia con que la masa tumoral fué manejada con el tratamiento citoreductorio así como el tiempo cuando fué administrado el levamisol y la dosis empleada (fig. 4) (17,30).

#### E. Levamisol y 5-fluoracilo:

El levamisol es utilizado como terapia adyuvante en combinación con el 5-fluoracilo después de la resección quirúrgica en pacientes con cáncer de colon en estadio C de Dukes (31). La terapia combinada ha resultado en significativas reducciones en la recurrencia del cáncer así como en la tasa de mortalidad en estos pacientes (15,30). Un beneficio menos pronunciado ha sido observado en pacientes con cáncer de colon estadio B2 de Dukes (invasión a la serosa y grasa pericolónica) (15,30); por lo que se necesitan mayores estudios para establecer los beneficios de la terapia combinada en este estadio. La terapia adyuvante en el cáncer de colon únicamente con levamisol no ha producido beneficios clínicos o un aumento en la sobrevida en la mayoría de los estudios (23). Chlebowski y colaboradores reportan que los pacientes tratados con levamisol tuvieron menor sobrevida que aquéllos tratados con placebo (32). De cualquier manera la terapia combinada de levamisol más 5-fluoracilo ha producido significativas reducciones en la recurrencia de el cáncer y aumento en la sobrevida en pacientes con carcinoma de colon resecado con metástasis en ganglios linfáticos regionales (estadio C de Dukes) (31). Existen otras publicaciones que no apoyan la eficacia de la terapia combinada en pacientes con carcinoma rectal (15). La recurrencia local es un gran problema en este tipo de cáncer, y la terapia multimodal que incluye radiación puede ser más efectiva y racional en estos pacientes (15).

## CONCLUSIONES.

El levamisol es un compuesto sintético simple que inicialmente fué introducido como un antihelmintico de amplio espectro, y que además presenta propiedades inmunoterapéuticas y antianérgicas. La droga es uno de los primeros miembros de una nueva clase de compuestos con actividad inmunológica que pueden actuar a través de un efecto timomimético. La evidencia acumulada de estudios realizados en animales, voluntarios sanos y pacientes con diferentes enfermedades, muestra que el levamisol reestablece las funciones de los fagocitos y linfocitos T en huéspedes inmunocomprometidos, e induce la diferenciación de células T. Dosis terapéuticas de levamisol no incrementan la respuesta inmunológica por encima de lo normal, y los linfocitos B no son directamente influidos por este medicamento. El levamisol se comporta como un agente timomimético que actúa predominantemente en el brazo celular del sistema inmune, específicamente en la regulación de las funciones efectoras.

El mecanismo de acción bioquímico es incierto. El levamisol tiene propiedades colinérgicas y altera la relación GMP/AMP cíclicos en la célula. Por otra parte parece "barrer" los radicales libres a través del OMPI. Ambos mecanismos podrían tener un efecto aditivo que resulta en un incremento en la actividad funcional de los microtúbulos celulares. De hecho se cree que la integridad microtubular es regulada al menos en parte por los nucleótidos cíclicos, lo cual es esencial para la motilidad y funciones secretoras de la célula. La posibilidad de que el levamisol influya en las funciones de los linfocitos y fagocitos a través del sistema microtubular aún requiere de mayor investigación.



Todavía no es posible proponer un mecanismo de acción uniforme que explique cada uno de los fenómenos observados por el levamisol. En primer lugar, muchas observaciones son preliminares y por lo tanto necesitan ser confirmadas. En segundo término, se necesita más información sobre un número de mecanismos inmunoreguladores que tengan la naturaleza y el funcionamiento de las hormonas tímicas y el papel de los nucleótidos cíclicos en la convergencia microtubular. Obviamente el conocimiento acerca de la acción del levamisol aumentará a la par del conocimiento sobre los mecanismos de regulación inmune.

El levamisol suele ser una herramienta muy útil para cooperar con los mecanismos citados.

Clínicamente el levamisol ha sido probado en muchas enfermedades humanas las cuales son consideradas que presentan un desbalance homeostático de la inmunidad, como en las infecciones crónicas y recurrentes de la piel y órganos internos en estados de deficiencia inmune tanto primaria como secundaria, alérgias, enfermedades reumáticas, enfermedades neurológicas, gastrointestinales y otras, así como enfermedades neoplásicas. En definitiva los efectos benéficos fueron observados en artritis reumatoide, ulceración aftosa recurrente, infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior en niños y en el cáncer.

Los efectos favorables fueron vistos durante estudios piloto en muchas otras enfermedades, pero estudios controlados son necesarios para validar estas observaciones.

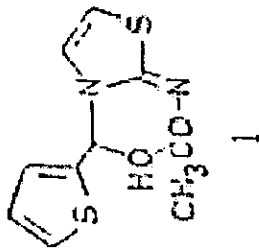
A pesar de que un agente con capacidad inmunomoduladora muestra un efecto benéfico en enfermedades con alteraciones inmunológicas, aún no es claro si este efecto está del todo en relación con la

actividad inmunológica del medicamento; ya que la naturaleza, extensión e importancia de la alteración en los mecanismos inmunes en la mayor parte de estos padecimientos son pobremente comprendidos. Frecuentemente, no existe correlación entre la mejoría clínica y la restauración de las funciones inmunológicas con los parámetros de laboratorio conocidos.

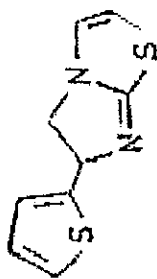
La utilización y la respuesta al levamisol puede en ocasiones dar importantes e interesantes claves hacia la patogénesis de varias entidades patológicas poco documentadas que responden al tratamiento inmunoregulador con levamisol.

**ANEXOS**

Figura 1: Estructuras químicas de los compuestos relacionados a el levamisol.



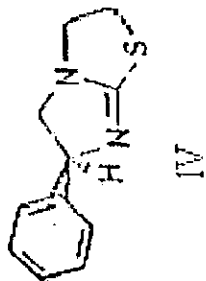
ACETILMIMINO HIDROXITIAZOL  
TIAZOLIDIN



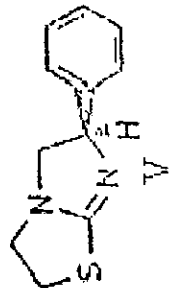
TIANILIMIDAZOLTIAZOL



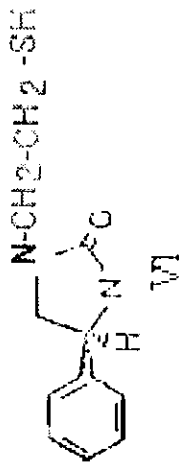
TETRAMISOL



S-(-) LEVAMISOL



R-(+) DEXAMISOL



OMPI

Figura 2:

Representación tridimensional — del levamisol basada en cristalografía de rayos X.

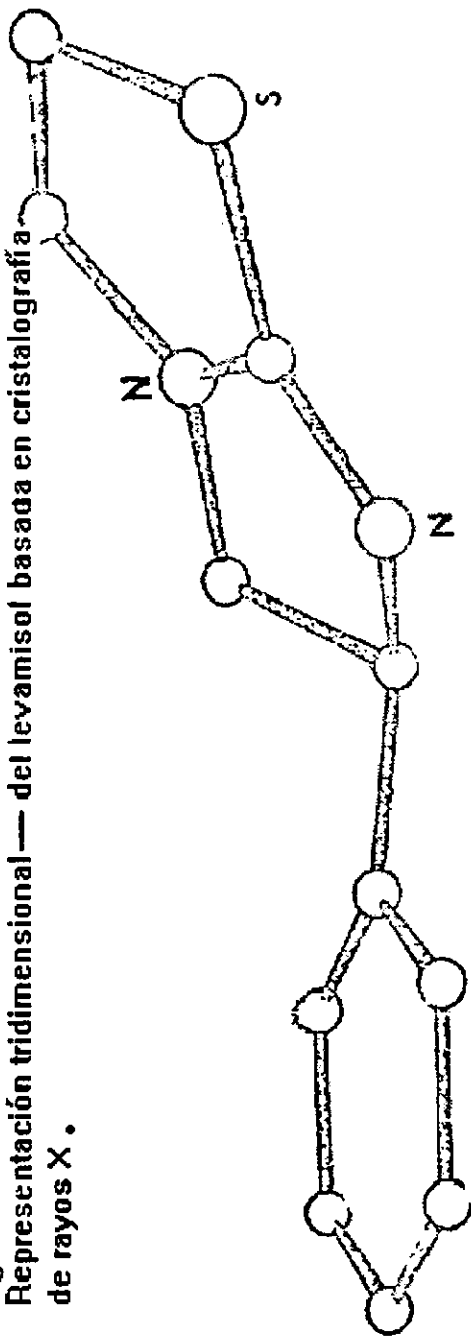


Figura 3:  
Mecanismo hipotético de inmunopatología.

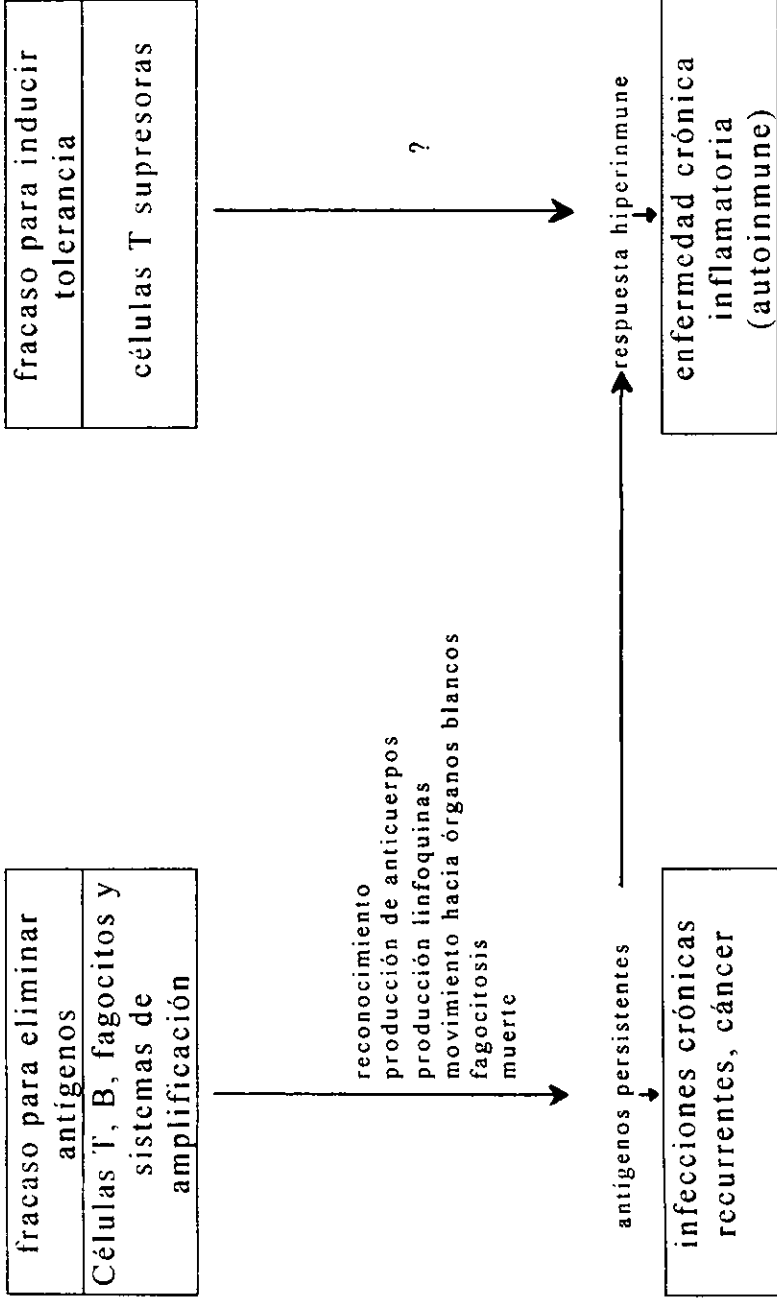


Figura 4. Concepto del efecto del levamisol en la estabilización de tumores

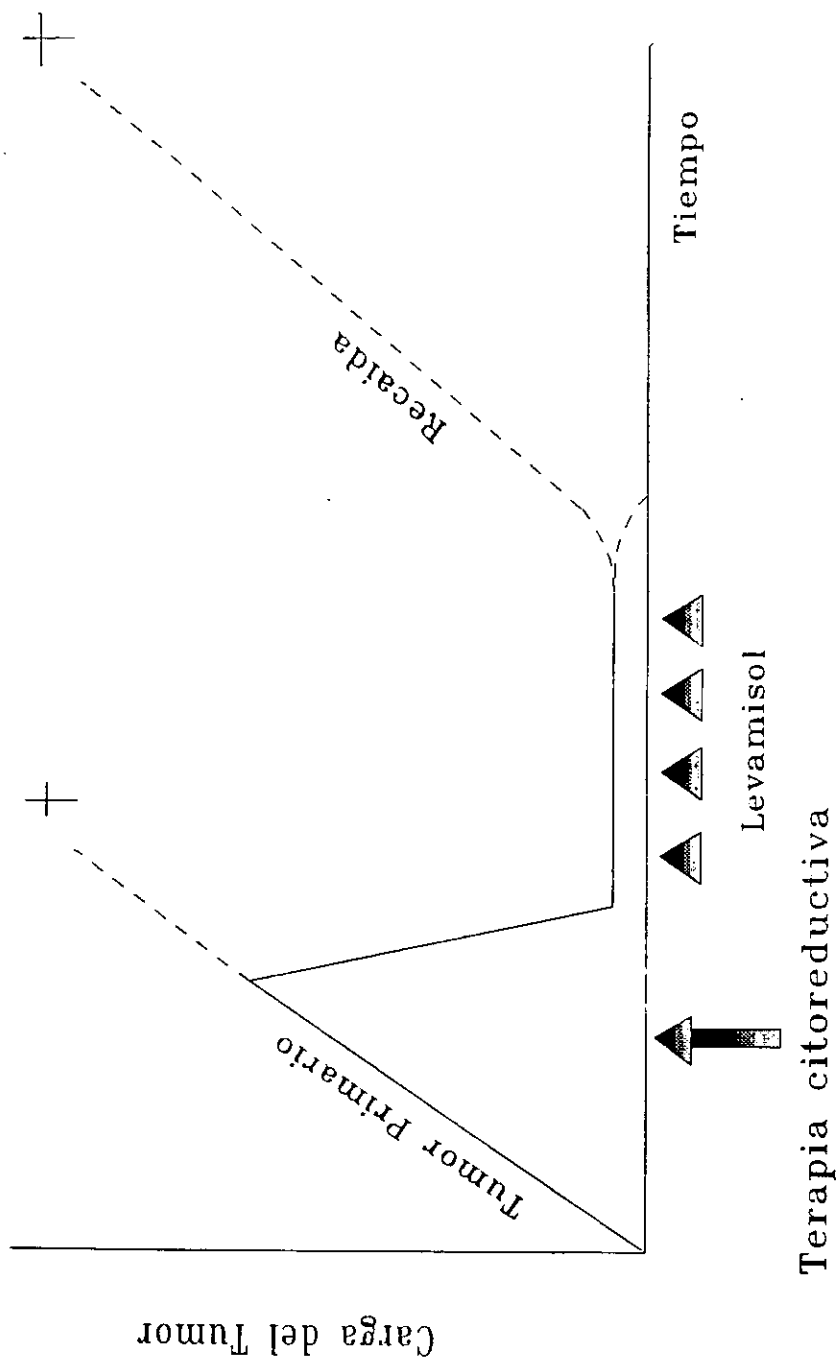


Tabla 1: Influencia de los inductores cíclicos nucleótidos y el levamisol en las funciones leucocíticas.

Funciones Efectoras	Inductores GMPc *	Inductores AMPc **	Levamisol
Formación de rosetas EAC	disminuye	aumenta	disminuye
Formación de rosetas E	aumenta	disminuye	aumenta
Proliferación linfocítica	aumenta	disminuye	aumenta
Proliferación de Granulocitos-Macrófagos	aumenta	disminuye	aumenta
Formación de la placa celular de anticuerpos	aumenta	disminuye	aumenta
Citotoxicidad mediada por células	aumenta	disminuye	aumenta
Motilidad espontánea	aumenta	disminuye	aumenta
Quimiotaxis	aumenta	disminuye	aumenta
Inhibición de migración	aumenta	disminuye	aumenta
Adhesividad de granulocitos	aumenta	disminuye	aumenta
Fagocitosis	aumenta	disminuye	aumenta
Liberación de enzimas lisosómicas	aumenta	disminuye	aumenta
Muerte intracelular	aumenta	disminuye	aumenta

\* Agentes colinérgicos, Imidazol y Levamisol.

\*\* Agentes adrenérgicos, Teofilina, Histamina.

EAC: Componente amboceptor del eritrocito.



Tabla 2: Actividad biológica del levamisol y de la hormona tímica.

	L E V A M I S O L		HORMONA TÍMICA **	
	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro
<b>EFFECTOS SOBRE CÉLULAS INMADURAS</b>				
Diferenciación de células T	+	-	+	+
Diferenciación de granulocitos	+		+	+
Rosetas autólogas	+	-	+	+
Sensibilidad a la azatioprina	+	-	+	+
Formación de placas de anticuerpos				
<b>EFFECTOS SOBRE CÉLULAS MADURAS</b>				
Linfocitos T:				
Proliferación	+	+		+
Formación de placas de anticuerpos	+	+		+
Formación de rosetas-E	+	+		+
Fagocitos:				
Fagocitosis	+	+		+
<b>RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA</b>				
Enfermedad autoinmune de ratones NZB***	+		+	+
Ratones viejos	+		+	+
Niños inmunodeficientes	+		+	+

\*\* Extracto purificado de Timo.

\*\*\*NZB: Ratones negros de Nueva Zelanda.

Tabla 3: Condiciones en que el levamisol resulta benéfico.

<p><b>A. <u>Enfermedades de inmunodeficiencia primaria:</u></b> (Wiskott-Aldrich, hiperinmunoglobulemia E,...) Reduce la frecuencia y duración de las infecciones.</p>
<p><b>B. <u>Infecciones crónicas recurrentes:</u></b> (Herpes labial, infecciones en el tracto respiratorio superior en niños, infecciones de la piel, brucelosis crónica,...) Reduce la frecuencia y duración de las infecciones retomadas.</p>
<p><b>C. <u>Enfermedades inflamatorias crónicas recurrentes:</u></b> (Ulceración recurrente, artritis reumatoide, enfermedad de Reiter y Crohn,...) Disminuye la progresión y actividad de la enfermedad.</p>
<p><b>D. <u>Cáncer:</u></b> Aunado a la terapia citoreductiva prolonga la sobrevida y asegura el éxito del tratamiento.</p>

## BIBLIOGRAFIA:

- 1.-Thienpont D, Vanparijs OJF, Raeymaekers AHM, et al. Tetramisole (R 8299), a new potent broad spectrum antihelminthic. *Nature* 1966; 209:1084-6.
- 2.- Schnieden H. Levamisole -a general pharmacological perspective. *Int J Immunopharmacol* 1981; 3:9-13.
- 3.-Renoux G, Renoux M. Effet Immunostimulant d'un imidothiazole dans l'immunisation des souris contre l'infection par *Brucella abortus*. *C R Acad Sci* 1971; 272:349-50.
- 4.- Janssen PA. The levamisole story. *Prog Drug Res* 1976; 20:347-83.
- 5.-Kouassi E, Caille G, Lery L, et al. Novel assay and pharmacokinetics of levamisole and p-hydroxylevamisole in human plasma and urine. *Biopharm Drug Disp* 1986; 7:71
- 6.-Reynolds JEF. *The Extra Pharmacopoeia*. Micromedex Inc Denver CO 1990.
- 7.- Harris B G. Levamisole: mode of action. *Biochem Soc Trans* 1987; 15:61.
- 8.- Graziani G, De Martin GL. Pharmacokinetic studies on levamisole. *Drugs Expl Clin Res* 1977; 2:235-40.
- 9.- Miller MJ. Use of levamisole in parasitic infection. *Drugs* 1980; 20:122-30.
- 10.- Renoux G. The general immunopharmacology of levamisole. *Drugs* 1980; 19:89-99.

11.- Hodinka L, Geher P, Meretey K, et al. Levamisole induced neutropenia and agranulocytosis: association with HLA B27 leucocyte agglutination and lymphocytotoxic antibodies. *Int Archs Allergy Appl Immunol* 1981; 65:460-4.

12.- Heyns ADP, Retief FP, Vorster BJ. Agranulocytosis in arthritic patient treated with levamisole. A case report. *S Afr Med J* 1979; 55:177-9.

13.- Gundersen S, Fossa SD. Side effects of levamisole in adjuvant chemoimmunotherapy of operable breast cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1980; 7:271-2.

14.- Halberg P, Bentzon MW, Crohn O, et al. Double blind trial of levamisole, penicillamine and azathioprine in rheumatoid arthritis. *Dan Med Bull* 1984; 31:403-9.

15.- Moertel CG, Fleming TR, MacDonald JS, et al. Levamisole and fluoracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. *N Engl J Med* 1990; 322:252-8.

16.- MacFarlane DG, Bacon PA. Levamisole induced vasculitis due to circulating immune complexes. *Br Med J* 1987; 1:407-8.

17.- Colliza S, Bagolan P, Di Paola M. Side effects of levamisole given to neoplastic patients as adjuvant to surgery. *J Surg Oncol* 1981; 16:259-64.

18.- Symoens J, Rosenthal M. Immunoregulation with levamisole. *Semm Immunopathol* 1978; 3:30-8.

19.- Chicault M, Luu-Duc C, Boucherle A. Drug protein interaction. Comparative studies of levamisole and structural analogs or agents with immunomodulatory effects on the mechanism of protein aggregation (abstract). *Arzneimittelforschung* 1990; 40(suppl 1):55-7.

20.- Symoens J, Rosenthal M. Levamisole in the modulation of the immune response: the current experimental and clinical state. *J Reticuloendoth Soc* 1977; 21:175-221.

21.- Taki HN, Schwartz SA. Levamisole as immunopotentiator for T cell deficiency. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1994; 16(suppl 2):129-37

22.- Schiller JH, Lindstrom M, Witt PL, et al. Immunological effects of levamisole in vitro. *J Immunother* 1991; 10(suppl 5):297-306.

23.-Amery WK, Gough DA. Levamisole and immunotherapy: Some theoretic and practical considerations and their relevance to human disease. *Oncology* 1981; 38:168-81.

24.-Chicault M, Luu-Duc C, Boucherle A. Drug protein interaction (abstract). *Arzneimittelforschung* 1988; 38:1387-9

25.- Stein AN, Diez RA, Sen L, et al. Chemotactic function of polymorphonuclear leucocytes from patients with recurrent infections. *Allergol Immunopathol Madr* 1985; 13(suppl 2):127-34.

26.- Birdi TJ, Mistry NF, Mahadeuan PR, et al. In vitro studies on the effect of levamisole in lepromatous leprosy. *J Clin Lab Immunol* 1984; 13(suppl 2):93-6.

27.- Quagliata F, Beckordite-Quagliata S, Larson DL. Inhibitory effect of sera from rheumatoid arthritis patients and enhancing effect of levamisole on total E-rosette levels of lymphoid cells from normal and RA subjects. *Int J Tissue React* 1984; 6(suppl 6):445-52.

28.- Hadidi T, Decker JL, El-Nagdy L, et al. Ineffectiveness of levamisole in systemic lupus erythematosus: a controlled trial. *Arthritis Rheum* 1981; 24:60-3.

29.- U.S. Army Medical Research Institute of Infections Disease. Immunomodulators: current and future development and application (abstract). *Thymus* 1992; 1(suppl 1):57-60.

30.- Arnaud JP, Buyse M, Nordlinger B, et al. Adjuvant therapy of poor prognosis colon cancer with levamisole results of an EORTC double blind randomized clinical trial. *Br J Surg* 1989; 76:284-9.

31.- Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, et al. Surgical adjuvant therapy of large bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluoracil. *J Clin Oncol* 1989; 7:1447-56.

32.- Chlebowski RT, Nystrom S, Reynolds R, et al. Long term survival following levamisole or placebo adjuvant treatment of colorectal cancer: a Western Cancer Study. *Group Trial Oncology* 1988 45:141-3.