

LA INMUNOLOGIA: VIA DE ACCESO AL TRATAMIENTO DEL CANCER¹

GEORGES MATHE,² J. L. AMIEL,² L. SCHWARZENBERG,² M. SCHNEIDER,²
L. BERUMEN² Y C. JASMIN²

A UN CUANDO la aplicación del efecto citolítico de las reacciones inmunitarias por intermedio humoral o celular en el tratamiento del cáncer, se proyectó hace mucho tiempo, su interés actual se debe al descubrimiento de una vía de acceso inmunológica: los antígenos asociados a los tumores.¹⁻⁴

Limitándome a los ensayos aplicados o aplicables en el hombre, me referiré a la terapéutica, sin intentar resolver los problemas, aún prematuros, concernientes a la inmunología preventiva.

I. Numerosos investigadores clínicos han demostrado la incidencia relativamente frecuente de deficiencias inmunitarias en los cancerosos. Estas se manifiestan selectivamente (Tabla I) en la inmunidad por intermedio celular en el caso de la enfermedad de Hodgkin, en la inmunidad por intermedio humoral en casos de leucemia linfocítica crónica o afectando ambos

intermediarios sin que el fenómeno sea exclusivo de los tejidos hematopoyético o linfoide.^{5, 6} Es conveniente estudiar los factores responsables, algunos de ellos relacionados con la terapéutica empleada y cuya importancia particular reside en que pueden ser evitados. Así, se ha demostrado (Tabla II) que la quimioterapia continua, a pequeñas dosis cotidianas, es frecuentemente más inmuno depresora que las dosis elevadas intermitentes; por ello evitamos, dentro de lo posible, la quimioterapia continua.

Pero, ¿es posible reparar las deficiencias inmunitarias? Esta duda se nos presentó hace más de diez años con respecto a las quimeras hematopoyéticas que sufrían deficiencias inmunitarias graves. Habiendo demostrado que el único medio de estimulación inmunitaria es el injerto del timo,^{8, 9} nuestro equipo estudia actualmente la posibilidad de aplicación del factor tímico linfocito-estimulante en las deficiencias inmunitarias.¹⁰

II. La insuficiencia no es la única eventualidad en la que el estado inmu-

¹ Trabajo presentado en la sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, celebrada el 20 de mayo de 1970.

² Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique. Hôpital Paul-Brousse. Villejuif, Francia.

TABLA I
 MEDIANAS DE RESPUESTAS INMUNITARIAS DE PACIENTES
 CON ENFERMEDAD DE HODGKIN

	<i>Respuestas celulares</i>				<i>Respuestas humorales</i>
	<i>Respuesta positiva al BCG</i>	<i>NTL PHA* (%)</i>	<i>Linfocitos circulantes /mm³</i>	<i>"Inmunoblastos" circulantes/mm³</i>	<i>Gamma-globulinas</i>
Resultados globales	40.4 %	35.44	1237	18.69	11.38
Pacientes en remisión	92.9 %	42.65	1315	11.04	10.2
Pacientes en fase visible	35.83	33.98	1221	20.14	11.46
Estadios I y II	28.57	41	1294	15.10	12.97
Pacientes que recibieron inmunoterapia en el curso los 3 meses precedentes	40.3	36.48	1012	18.59	10.66
Pacientes que recibieron radioterapia supradiaphragmática	39.24	33.17	1158	12.79	11.08
Pacientes que recibieron radioterapia infradiaphragmática	41.93	32.15	1044	18.16	11.34
Testigos	91	72.6	2611	4.2	10.7

* NTL PHA = Nivel de transformación de linfocitos "in vitro", en presencia de fitohemaglutinina.

nitario puede favorecer el crecimiento de un cáncer y debemos preguntarnos si un "immunological enhancement" cuya existencia y efecto han sido demostrados en el animal, se presenta también en el hombre. El estudio realizado con Amiel y Méry¹¹ en enfermas con coriocarcinoma placentario,

sugiere su existencia y su acción nefasta. Hemos demostrado la relación existente entre: la presencia de anticuerpos séricos que aglutinan los leucocitos del marido respectivo, la tolerancia anormalmente prolongada de injertos de piel del esposo y la pobreza del pronóstico (Tabla IV). Aún no

TABLA II
 COMPARACION DE LOS EFECTOS INMUNOSUPRESORES OBTENIDOS
 CON QUIMIOTERAPIA CONTINUA O DISCONTINUA*

	<i>Efecto inmunosupresor no evidenciable</i>	<i>Efecto inmunosupresor evidente</i>
Quimioterapia discontinua	51/57 (89,4 p. 100)	6/57 (10,6 p. 100)
Quimioterapia continua	9/27 (33,3 p. 100)	18/27 (66,6 p. 100)

* Los pacientes cuya respuesta al BCG fue negativa antes y después de la quimioterapia, en los cuales el efecto inmunosupresor del tratamiento no fue concluyente, no aparecen en la tabla.

TABLA III

NUMERO DE CELULAS ESPLENICAS FORMADORAS DE PLACAS DE LISIS Y DOSIFICACION DE HEMAGLUTININAS EN ANIMALES TESTIGO NORMALES, QUIMERAS TRATADAS Y NO TRATADAS

- Grupo 1: Quimeras normales
 Grupo 2: Quimeras no tratadas
 Grupo 3: Quimeras con injerto de médula ósea F1 (DBA₂ × C₅₇B1/6)
 Grupo 4: Quimeras con injerto de timo Balb/c
 Grupo 5: Quimeras con injerto de timo F1 (DBA₂ × C₅₇B1/6)

	Número de placas de Lisis por 1.10 ⁶ células esplénicas		Dosificación de Hema- glutininas		
	35e Día	60e Día	35e Día	60e Día	
	Grupo 1	991 ± 154 (6)*		8,2 ± 0,8 (6)	
Grupo 2	30,3 ± 9,8 (6)	83 ± 17 (3)	2,0 ± 1,0 (6)	1,7 ± 0,5 (4)	
Grupo 3	72 ± 19 (4)	40 ± 15 (3)	1,0 (4)	2,2 ± 0,8 (3)	
Grupo 4	Injerto del timo, evidente	123 ± 7,3 (3)	70 ± 25 (4)	4,0 ± 1,0 (3)	3,3 ± 1,1 (4)
	Injerto del timo no evidente	47,2 ± 36 (6)		1,6 ± 1,0 (6)	
Grupo 5	Injerto del timo, evidente	186 ± 48 (4)	60 ± 18 (4)	5,0 (4)	2,5 ± 1,1 (4)
	Injerto del timo no evidente	57,9 ± 37,5 (7)		1,5 ± 1,2 (7)	

* Número de animales utilizados.

hemos intentado una terapéutica en tales circunstancias, pero puede suponerse que un tratamiento reductor "preferencial" de la inmunidad tumoral sea efectivo.

Las investigaciones que permitirá la prueba de Hellström,¹² responderán a las preguntas sobre la existencia de un *immunological enhancement* en otros cánceres humanos.

III. La tercera parte del abordaje inmunológico del tratamiento del cáncer se refiere a la inmunoterapia pro-

piamente dicha: llamamos inmunoterapia pasiva a la administración de anticuerpos, inmunoterapia adoptiva a la administración de células inmunocompetentes e inmunoterapia activa a la estimulación de reacciones propias al organismo.

1) Dentro del programa de *inmunoterapia pasiva*, los resultados decepcionantes incluyen tanto el empleo de suero o inmunoglobulinas de donadores alogénicos o heteroespecíficos publicados en relación a diversos cánceres

TABLA IV

RELACION ENTRE LA PRESENCIA ANTICUERPOS ANTILEUCOPLAQUETARIOS SÉRICOS, TOLERANCIA AL INJERTO DE PIEL DEL ESPOSO Y EVOLUCION DEL TUMOR, EN PACIENTES CON CORIOCARCINOMA PLACENTARIO

		Tolerancia prolongada del injerto de piel	4	$\frac{F^*}{N^{**}}$	$\frac{3}{0}$
Presencia de anticuerpos séricos	7	Rechazo del injerto de piel en segundo intento	1	$\frac{F}{N}$	$\frac{1}{0}$
		?	2	$\frac{F}{N}$	$\frac{0}{2}$
		Tolerancia prolongada del injerto de piel	2	$\frac{F}{N}$	$\frac{1}{0}$
Ausencia de anticuerpos séricos	11	Rechazo del injerto de piel en segundo intento	5	$\frac{F}{N}$	$\frac{4}{0}$

* Favorable.

** Desfavorable.

res, como las tentativas de tratamiento de leucemias linfocíticas crónicas o mieloblásticas agudas con el suero antilinfocitario.¹³

No obstante, las experiencias de Gorer¹⁴ y otros experimentos recientes, reportan resultados favorables. En nuestro grupo, Motta,¹⁵ dirige sus investigaciones sobre la especificidad de la inmunoterapia pasiva. Para obtener sueros potentes y al mismo tiempo específicos de los antígenos de transplatación leucémica, ha realizado inmunizaciones por medio de una mezcla de células leucémicas de Friend y antisueros anticélulas normales que corresponden a las células leucémicas. La tabla V muestra los resultados obtenidos con ese experimento en diferentes especies animales: ratones, ratas y conejos. En cada caso, pueden compa-

rarse los efectos logrados por medio de una inmunización clásica, con la inmunización basada en el método de "artificio diferencial".

En cada caso se observa que la administración pasiva de antisuero de células normales en el momento de la inmunización, disminuye o anula la actividad contra las células normales. Por el contrario, los sueros obtenidos tienen una actividad anticélulas leucémicas normal o ligeramente disminuida.

En el caso del ratón, puede calcularse que la cantidad de anticuerpos específicos contra los antígenos tumorales séricos de la leucemia de Friend, aumenta cuatro veces después del artificio.

Motta¹⁵ ha tratado células normales o leucémicas de ratones DBA₂ con

TABLA V

AUMENTO EN LA ESPECIFICIDAD DE LA REACCION INMUNOLOGICA CONTRA EL ANTIGENO LEUCEMICO INDUCIDO POR EL VIRUS DE Ch. FRIEND POR MEDIO DE UN ARTIFICIO DIFERENCIAL DE LOS ANTIGENOS DEL RATON NORMAL EN VARIAS ESPECIES*

Especies inmunizadas	Tipo de células inyectadas	Artificio	Poder citotóxico del antisero obtenido	
			Nº de células normales DBA ₂ destruidas con 1 ml de antisero	Nº de células leucémicas Ch. Friend destruidas con 1 ml de antisero
Ratón C ₅₇ B1/6	Bazo leucémico DBA ₂ inducido por el virus de Friend	_____	154 × 10 ⁶	136 × 10 ⁶
		C ₅₇ B1/6 Anti ♂ DBA ₂ normales	4.6 × 10 ⁶	92 × 10 ⁶
Rata C. F.	"	_____	12 × 10 ⁶	18 × 10 ⁶
		De rata C. F. anti ♂ DBA ₂ normales	0	25 × 10 ⁶
Conejo "Fauve de Bourgogne"	"	_____	157 × 10 ⁶	240 × 10 ⁶
		"Fauve de Bourgogne" de conejo anti ♂ DBA ₂ normales	40 × 10 ⁶	210 × 10 ⁶

* R. Motta. Europ. J. Clin. Biol. Res., 15: 161, 1970.

antisero de rata, que ha puesto en contacto con antiglobulina de conejo anti γ globulina de rata. En la tabla VI se observa que la citotoxicidad puede ser 50 veces mayor que la obtenida directamente; este aumento puede producirse también cuando los antígenos celulares implicados son los antígenos de transplatación específica de la leucemia.

Actualmente, quiere saber si esta acción existe *in vivo* y si es posible basarse en el mismo principio para multiplicar la eficacia de la inmunoterapia pasiva. Esperamos poder aplicar sus

resultados a la experimentación clínica, en un futuro próximo.

2) La *inmunoterapia adoptiva* se encuentra más adelantada en sus aplicaciones clínicas.

Se basa en la acción antitumoral de células inmunocompetentes introducidas en el organismo enfermo: como ellas provienen de organismos extraños, alogénicos o heteroespecíficos, pueden reaccionar contra sus antígenos de histocompatibilidad de línea y de especie (reacción que puede destruir las células por inmunoterapia inespecífica) y contra los antígenos asociados

TABLA VI

PRUEBA DE CITOTOXICIDAD INDIRECTA, UTILIZANDO ANTICUERPOS DE RATA Y DE CONEJO ANTI- γ -GLOBULINA DE RATA

Células del sustrato	Antisuero sensibilizante	Prueba de citotoxicidad en presencia de	Nº de células del subtrato destruidas con 1 ml de antisuero sensibilizante	Aumento del poder de citotoxicidad por medio de la antiglobulina
Células de ganglio linfático normal DBA/2	Rata anticélulas esplénicas y ganglionares de DBA/2 normales	—	435 · 10 ⁶	—
		Suero normal de conejo	420 · 10 ⁶	—
		Conejo anti- γ -globulina de rata	22.400 · 10 ⁶	× 53,3
Células de bazo leucémico inducido por el virus de Friend	Rata anti-antígenos de trasplante específicos de la leucemia de Friend	—	6 · 10 ⁶	—
		Suero normal de conejo	5 · 10 ⁶	—
		Conejo anti- γ -globulina de rata	435 · 10 ⁶	× 87,0
Células de ganglio linfático normal DBA/2	Conejo anticélulas esplénicas y ganglionares DBA/2 normales (testigos)	—	11 · 10 ⁶	—
		Suero normal de conejo	8 · 10 ⁶	—
		Conejo anti- γ -globulina de rata	8 · 10 ⁶	× 1,0
Células de ganglio linfático normal DBA/2	C57Bl/6 anticélulas esplénicas y ganglionares DBA/2 normales (testigos)	—	27 · 10 ⁶	—
		Suero normal de conejo	28 · 10 ⁶	—
		Conejo anti- γ -globulina de rata	34 · 10 ⁶	× 1,2

* R. Motta: Europ. J. clin. biol. Res., 1970 en prensa (mai).

al tumor (reacción citodestructora por inmunoterapia *específica*).

La importancia del parámetro de inmunización del donador contra los antígenos asociados al tumor, en el caso de las transfusiones de linfocitos, se demuestra con el experimento siguiente:¹⁶ ratones AkR a los cuales se injertan 10^4 células de la leucemia (AkR) K36 son tratados con 10^4 o 10^6 linfocitos de donadores $C_{57}B1/6$ que, según los grupos, son inmunizados o no contra los antígenos tumorales (por medio de células irradiadas de la leucemia E ♂ G2 inducida en ratones $C_{57}B1/6$ por el virus de Gross). En la

figura 1, se observa que el efecto anti-leucémico es nulo cuando se administran 10^6 de donadores no inmunizados o 10^4 de donadores inmunizados y que el efecto es superior cuando reciben 10^6 de donadores inmunizados. El número de linfocitos transfundidos y la inmunización específica eventual de los donadores, son los parámetros importantes en la inmunoterapia adoptiva por medio de transfusiones de linfocitos.

En el hombre hemos obtenido remisiones en casos de leucemia aguda resistentes a los agentes quimioterápicos disponibles, ya sea por medio de trans-

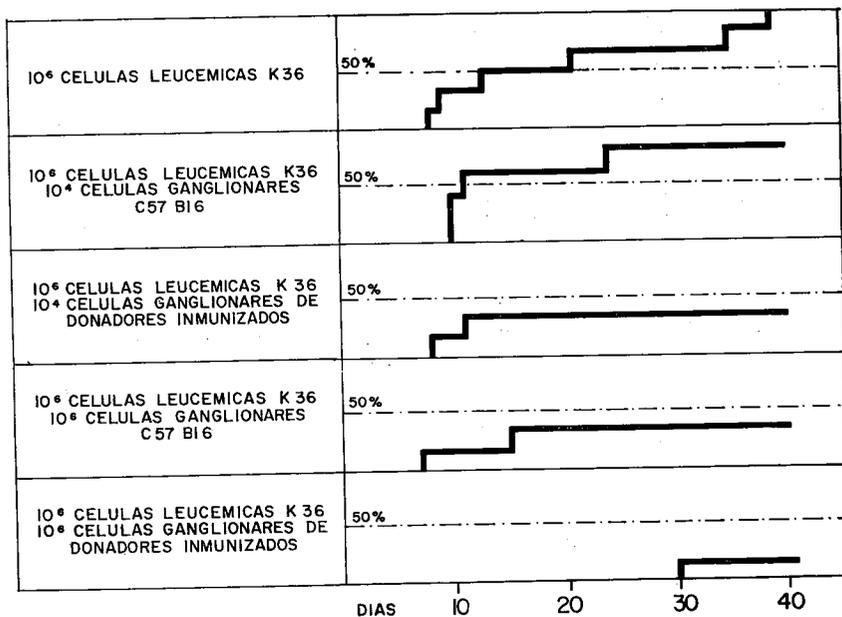


FIG. 1. Sobrevida acumulativa de ratones AkR inoculados con 10^6 células leucémicas K36 (AkR) y tratados con 10^4 ó 10^6 células ganglionares de donadores $C_{57}B1/6$ normales o inmunizados con células leucémicas, la leucemia E ♂ G2 fue provocada por el virus de Gross en ratones $C_{57}B1/6$.

fusiones de leucocitos de donadores con leucemia mielocítica crónica,¹⁷ (Tabla VII) (Fig. 2) o por transfusiones de linfocitos obtenidos de donadores normales por medio del aparato IBM separador de células sanguíneas con débito continuo.¹⁸ Debemos

en el hombre transfusiones de linfocitos alogénicos de donadores inmunizados. Sólo se utilizan linfocitos heteroespecíficos. Las transfusiones de linfocitos de carnero inmunizados contra las células tumorales del receptor han sido mal toleradas en todos nuestros intentos. Por

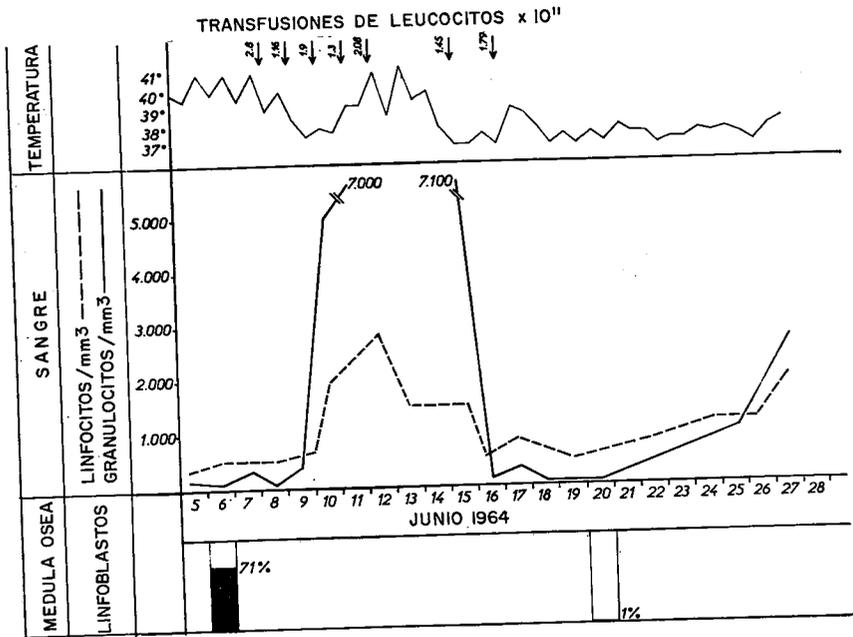


FIG. 2. Inducción de remisión clínica en un enfermo con leucemia aguda linfoblástica, por medio de transfusiones de leucocitos de donadores con leucemia mielocítica crónica.

hacer notar la correlación entre la frecuencia de remisiones obtenidas y la aparición de manifestaciones de enfermedad secundaria, consecuencia de la reacción del injerto contra el huésped (Tabla IX), que nuestra experiencia en el transplante de médula ósea nos permite reconocer.

Actualmente no pueden realizarse

TABLA VIII
PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA EN REMISION CONSECUTIVA A TRANSFUSIONES DE GLOBULOS BLANCOS DE DONADORES SANOS

Número de enfermos	Número de remisiones
9	2

ello hemos limitado nuestras experiencias de inmunoterapia adoptiva específica a inyecciones intrapleurales o intraperitoneales en casos de pleuresías o ascitis neoplásicas. En diez enfermos tratados con linfocitos de carnero inmunizados contra las células tumorales del individuo, hemos obtenido dos remisiones completas.¹⁹

En las leucemias, las remisiones logradas con transfusiones de linfocitos son cortas: varían entre siete días y cuatro meses. La posibilidad de que los injertos de médula ósea alogénica permitieran prolongar la acción por medio de una reacción persistente del injerto contra el huésped, impulsó los estudios experimentales realizados en 1958, 1959, 1960, 1962 y 1964 sobre

las leucemias L1210 injertada, viral de Friend y espontánea AkR,¹⁹⁻²⁵ que comprobaron el interés de nuestra hipótesis.

Los ensayos en el hombre se realizaron al principio como injertos de médula ósea a leucémicos condicionados por una irradiación corporal total (Figura 3): se obtuvieron remisiones de duración variable entre cinco y nueve meses, con hematoquimerismo parcial y transitorio (tres meses); en un caso cuyo quimerismo era total 20 meses después del injerto, la leucemia no había reaparecido cuando falleció víctima de una complicación infecciosa de la enfermedad secundaria.^{26, 27} La pérdida de otros pacientes durante la enfermedad secundaria, aguda o subagu-

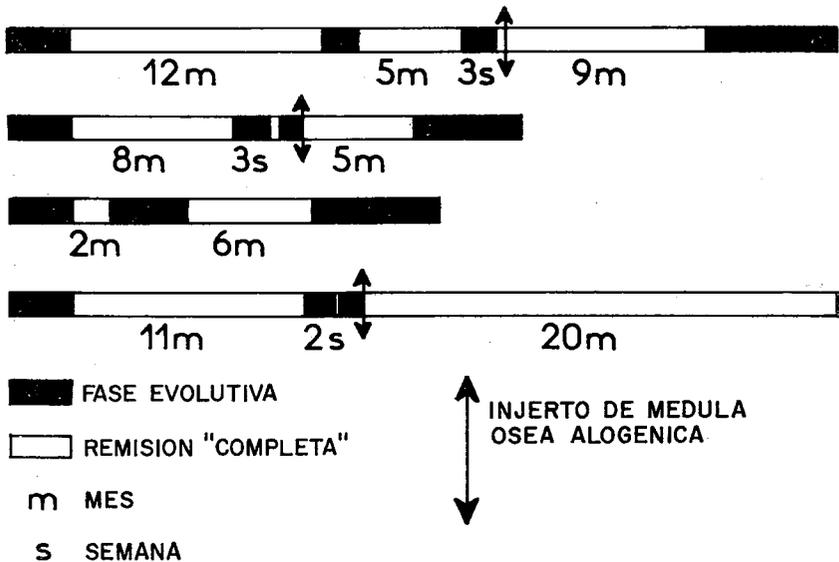


FIG. 3. Fases visibles y remisiones de cuatro enfermos tratados con injerto de médula ósea, no fallecidos en aplasia medular en síndrome secundario.

da, nos ha obligado a renunciar a la irradiación total; éste método de condicionamiento no ocasiona enfermedad secundaria pero sí la favorece. Es posible que este juicio también sea válido en el método que utiliza la ciclofosfamida a las dosis propuestas por Santos *et al.*²⁸

Hemos condicionado receptores con suero antilinfocitario, lo cual nos ha permitido obtener injertos de médula ósea evitando el síndrome secundario pero sin efecto antileucémico.¹⁶ Tal parece que el suero antilinfocitario fa-

vorece el injerto de médula ósea sin propiciar la reacción del injerto contra el huésped.

Actualmente tratamos de asociar el S.A.L. con la ciclofosfamida administrada a dosis menores (45 mg por kg por día, 4 días) que las preconizadas por Santos. El primer intento ha sido favorable, como lo muestra la figura 4: el enfermo presentó un síndrome secundario discreto y entró en remisión completa que se mantiene desde hace un mes.

Estos son los límites y las tenden-

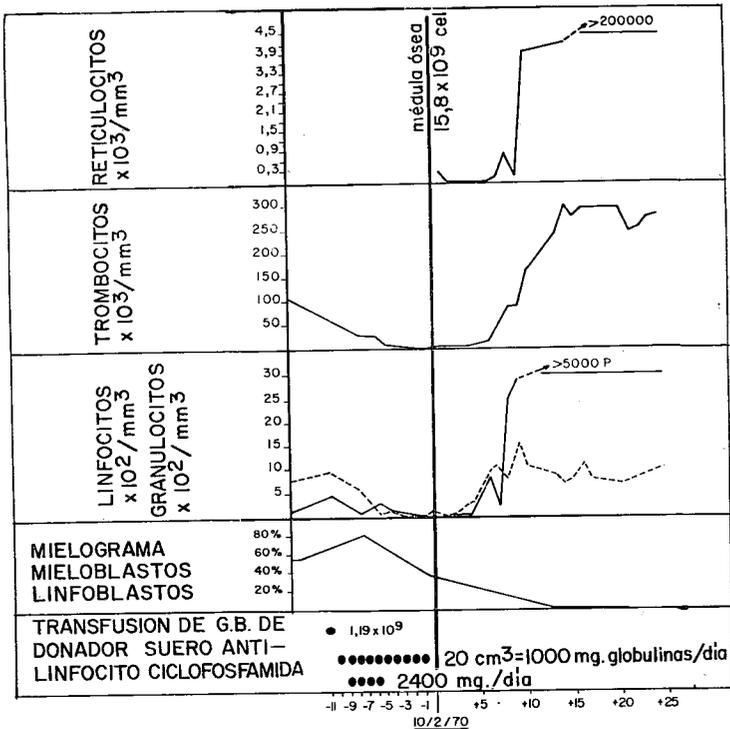


FIG. 4. Remisión completa obtenida por injerto de médula ósea en un paciente condicionado con el suero antilinfocitario y la ciclofosfamida.

TABLA IX

EFFECTO INMUNOTERAPICO DE TRANSFUSIONES DE GLOBULOS
BLANCOS. RELACION ENTRE LA ACCION ANTILEUCEMICA
Y LA PRESENCIA DEL SINDROME SECUNDARIO

	Remisiones completas	Remisiones incompletas	Sin efecto
Presencia del síndrome secundario	4	2	1
Ausencia de signos del síndrome secundario	1	2	11

cias clínicas actuales en la inmunoterapia adoptiva.

3) También la *inmunoterapia activa* da sus primeros pasos.

Existen numerosos trabajos respecto al efecto preventivo de los adyuvantes en el caso de tumores injertados;^{29 a 32} es conveniente recordar los experimentos de Friend³³ quien logró proteger ratones de su virus leucemogénico vacunándolos con virus formolado, y señalar los estudios de Martyré y Halle-Pannenko³⁴ quienes en nuestro laboratorio han inmunizado preventivamente ratones contra la misma leucemia de Friend, vacunándolos con el antígeno específico en forma de lipoproteína soluble.

Discutiremos únicamente los estudios de su acción *curativa* eventual, es decir, aplicada *después* de la inducción de la enfermedad.

Tomando el modelo simple de la leucemia L1210, hemos demostrado:^{32, 35}

a) Que el tratamiento con células leucémicas irradiadas o BCG administrados 24 horas después de la inducción de la leucemia (10^4 células vivas) puede retardar o reducir la mortalidad (Fig. 5);

b) Que el BCG es activo sólo cuando las inyecciones son reiteradas, en cambio la repetición de administraciones de células irradiadas mejora apenas los resultados de la primera inyección;

c) Que el BCG parece ser el adyuvante más eficaz; ciertos adyuvantes precipitan la muerte de algunos animales, no por una acción de facilitación inmunitaria, pues no afectan el volumen tumoral, sino por un fenómeno de toxicidad;

d) Que la eficiencia de la inmunoterapia activa tiene un límite: el BCG o las células irradiadas o su asociación son eficaces sólo cuando el número de células leucémicas vivas inyectadas es igual o inferior a 10^5 : las células leucémicas irradiadas son más activas que el BCG y la asociación de los dos es más eficaz que las células irradiadas solas (Fig. 6). Las células leucémicas irradiadas y más aún la asociación, adquieren mayor valor terapéutico cuando se administran cuatro días después del injerto de la leucemia.

e) En el momento del injerto, el tumor leucémico crece en dos fases,

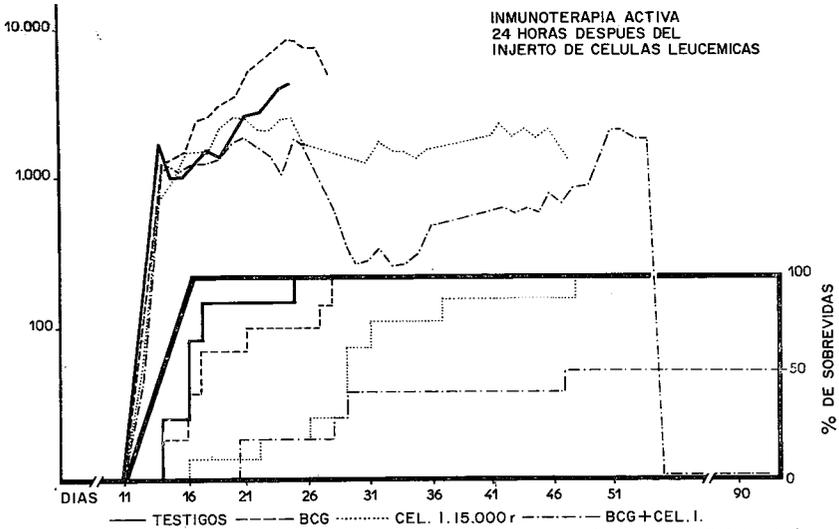


FIG. 5. Sobrevida acumulativa de ratas portadoras de la leucemia L1210 tratadas o no con adyuvantes (una o varias inyecciones) o con células leucémicas irradiadas (una o varias inyecciones).

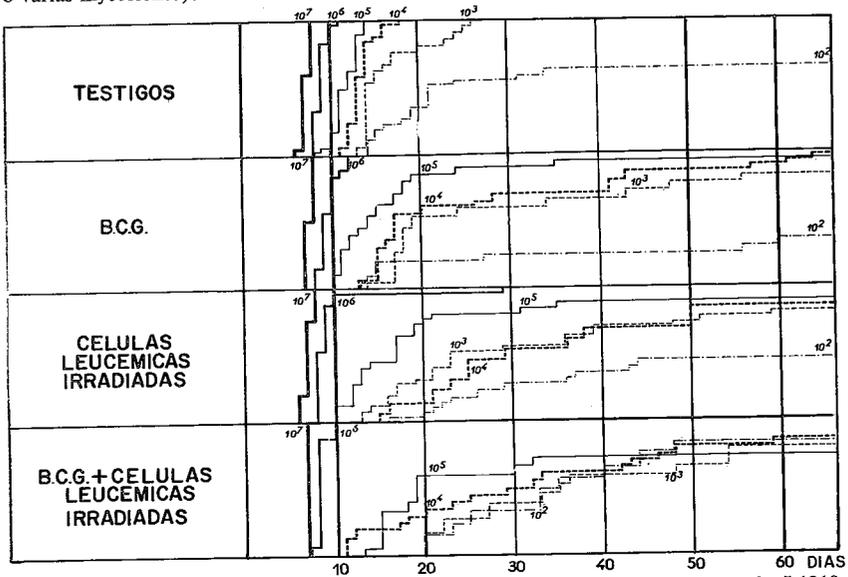


FIG. 6. Volumen tumoral y sobrevida acumulativa de ratones con leucemia L1210 provocada, tratados o no con BCG (primera inyección 24 horas después del injerto y una inyección cada 4 días), o con células leucémicas irradiadas (una inyección 24 horas después del injerto) o asociación de los dos.

una rápida y otra lenta; la inmunoterapia activa actúa solamente sobre la fase lenta y en forma variable: disminuyendo la pendiente, transformándola en meseta, o provocando un descenso de la curva que indica que el animal ha sido curado (Fig. 7). Excepcionalmente hemos constatado recaídas tardías (dos sobre 150) en ratones que considerábamos curados, hecho que podría sugerir que las células pueden ser mantenidas en Go gracias a la inmunoterapia. Los estudios sobre el ciclo celular de Lheritier y Bullens han demostrado lo contrario: todas las células están en el ciclo y por lo tanto una curva en "plateau" evidencia solamente que la destrucción equilibra la producción.

En este experimento las células tu-

morales fueron inyectadas por vía subcutánea; la leucemia utilizada fue transmitida a tantas generaciones, que puede considerarse en términos de histocompatibilidad, lejana de los animales receptores; a ello se agrega que los ratones eran F1 ($DBA_2 \times C_{57}B1/6$) y la leucemia es DBA_2 . Hemos realizado otras dos experiencias tratando ratones a los que se inyectaron por vía intravenosa 10^4 células vivas de leucemias inducidas en fechas más recientes: la leucemia RC 19 provocada por el virus de Rauscher y la leucemia E ♀ K1 inducida en ratones $C_{57}B1/6$ por el virus de Gross. La figura 8 muestra que la inmunoterapia activa no específica o mixta, no específica y específica administrada 24 horas después del injerto isogénico de la

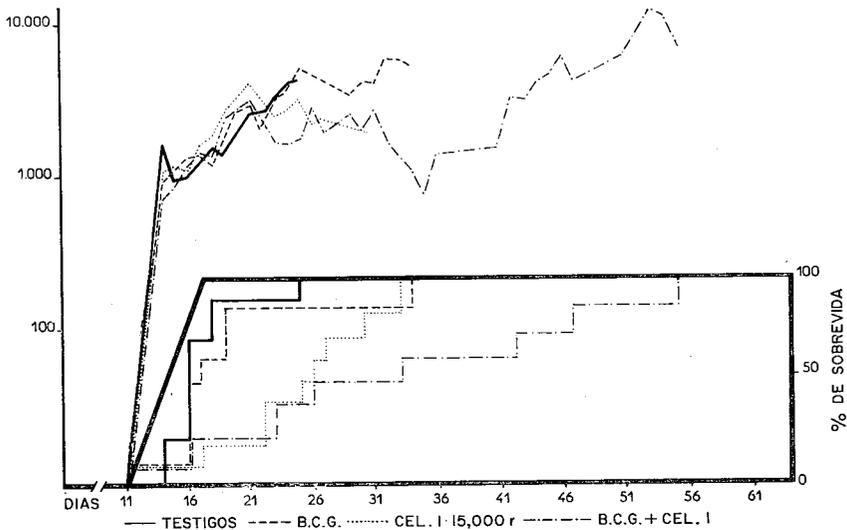


FIG. 7. Volumen tumoral de cada ratón en el grupo portador de la leucemia L1210, tratados 24 horas después del injerto con una asociación de BCG y células leucémicas irradiadas.

Estos resultados confirman la acción antileucémica de la inmunoterapia activa aplicada después del establecimiento de la enfermedad, acción demostrada en la leucemia L1210 en casos de diseminación de las células tumorales.

Basados en estos estudios experimentales, hemos realizado un estudio terapéutico en el hombre, en casos de leucemia aguda linfoblástica. Algunos autores pensaron que esta leucemia fuese un modelo poco propicio para la experimentación de la inmunoterapia activa, debido a una posible tolerancia inmunitaria. Dicha tolerancia es de existencia dudosa pues el modelo experimental de referencia es la leucemia espontánea de ratones AkR tolerantes en virtud de la transmisión vertical del virus de Gross.³⁶

En resumen, la hemos elegido porque: a) la tolerancia mencionada no

ha sido comprobada; b) Doré y col.³⁷ han demostrado en un cierto porcentaje de pacientes, la presencia de anticuerpos séricos contra sus propias células leucémicas (Tabla X); c) puede esperarse que, si la tolerancia existía al principio de la enfermedad, pueda ser destruida por la quimioterapia, ya que Orbach³⁸ (Tabla XI) en nuestro laboratorio, ha logrado romper la tolerancia de glóbulos rojos de carnero en la rata, por medio del methotrexato, la ciclofosfamida y la 6-mercaptopurina; d) dudamos de la existencia de ratones AkR tolerantes de antígenos tumorales de la leucemia provocada por el virus de Gross por razones ya mencionadas, siendo la principal la posible producción de anticuerpos obtenida por medio de la inmunización con células K 36 de células leucémicas AkR.³⁹

Para aplicar la inmunoterapia en

TABLA X
PRUEBAS INMUNOLOGICAS POSITIVAS EN MATERIAL AUTOLOGO
DE ENFERMOS CON LEUCEMIA O LINFOMA

Enfermedad	Número de pruebas positivas			Fija- ción de comple- mento	Inmuno- adhe- rencia	Total
	Número de casos	Citoto- xicidad	Inmuno- fluores- cencia			
L. aguda linfoblástica	44	1	1	1	7	8
L. aguda mieloblástica	25	2	0	1	2	5
L. aguda monoblástica	2	0	1	—	2	2
L. linfocítica crónica	21	0	0	—	3	3
L. mielocítica crónica	21	0	0	—	5	5
Enfermedad de Hodgkin	7	0	0	—	4	4
Reticulosarcoma	3	0	0	—	0	0
Linfoblastosarcoma	15	0	0	—	2	2*
Mieloma	2	0	0	0	—	0
L. foliular gigante (Brill-Symmers)	1	0	0	—	1	1
TOTAL	141	3	2	2	26	30

* Transformados en leucemia aguda.

TABLA XI
RUPTURA DE LA TOLERANCIA INMUNITARIA DE GLOBULOS ROJOS DE CARNERO EN LA RATA

<i>Drogas citostáticas</i>	<i>Forma de administración</i>		<i>Resultados</i>
Methotrexato	2.5mg,	Una dosis, 10 días antes de la inmunización	9/13
6-mercaptopurina	30mg ,	Una dosis, 10 días antes de la inmunización	2/9
Ciclofosfamida	20mg ,	Una dosis, 10 días antes de la inmunización	4/15
Irradiación	700 rads		20/21
Suero antilinfocitario	3 × 2ml I.P. 21 días antes de la inmunización.		13/17

buenas condiciones, comparables a las del experimento descrito, es decir, en un enfermo con un bajo número de células leucémicas, hemos reducido la población de células malignas de 10^{12} a 10^8 por medio de la quimioterapia inductora de la remisión. A continuación hemos utilizado una quimioterapia

secuencial citorreductora, sirviéndonos de todas las drogas disponibles⁴⁰ (Fig. 10).

En el primer protocolo, tratamos 30 enfermos, cuyas edades variaron de 3 a 50 años. Fueron repartidos al azar en cuatro grupos:

Diez pacientes utilizados como tes-

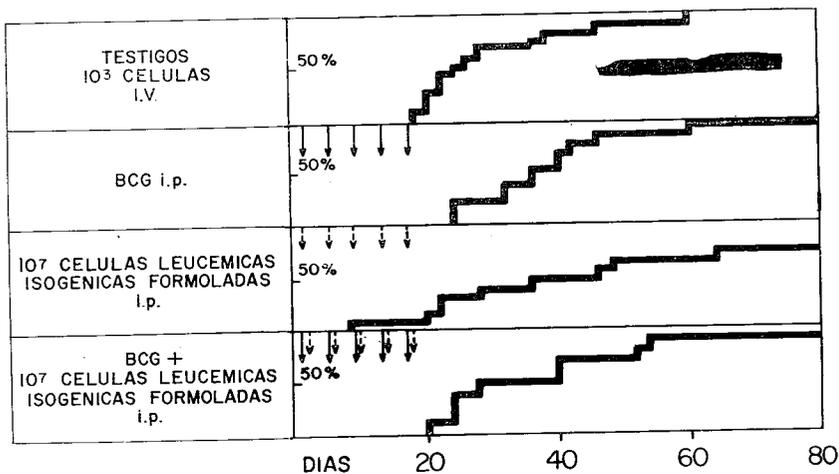


FIG. 10. Protocolo de la quimioterapia inductora de la remisión y citorreductora complementaria número 1.

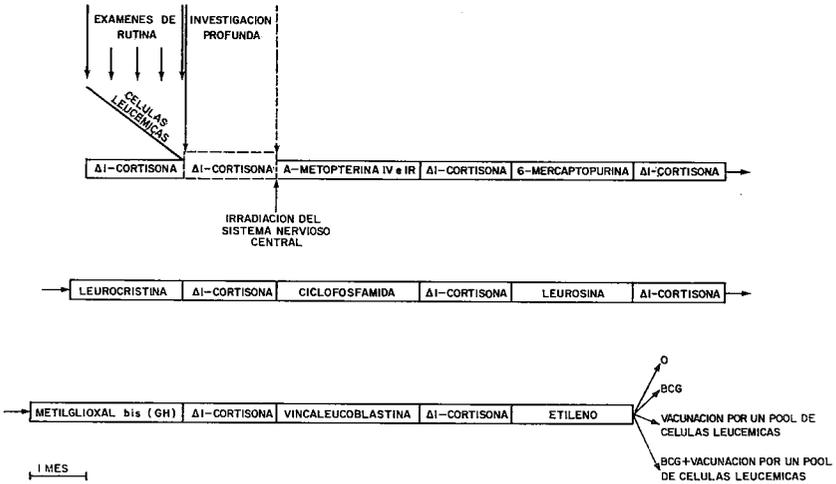


Fig. 11. Curvas actuariales de la duración de las remisiones completas en pacientes que recibieron inmunoterapia al fin de la quimioterapia.

tigos, no recibieron tratamiento complementario al fin de la quimioterapia.

Ocho enfermos fueron tratados con BCG de la manera siguiente: 20 escarificaciones cutáneas de 5 cm cada una, dispuestas en un cuadrado, con 2 cc de una solución de 75 mg de bacilos vivos por cc, cada cuatro días al principio y luego cada ocho días.

El tercer grupo está constituido por

cinco enfermos que recibieron por vía dérmica y subcutánea cada semana, 4.10⁷ células leucémicas provenientes de un "pool" de donadores alógenicos con leucemia aguda linfoblástica, células conservadas a -70°C en dimetilsulfóxido; las células utilizadas en las seis primeras inyecciones fueron tratadas con una solución de formol al 4% para inactivar un virus even-

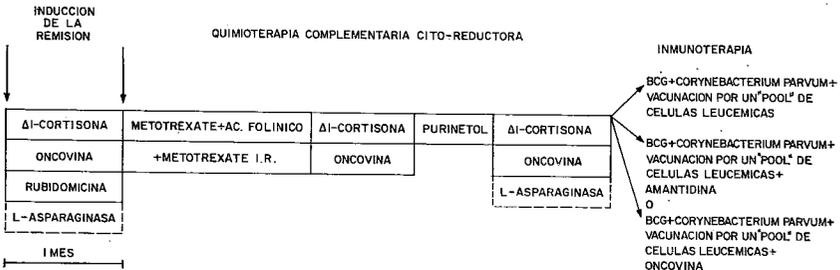


Fig. 12. Protocolo terapéutico número 5 de las leucemias agudas linfoblásticas, quimioterapia inductora de la remisión, quimioterapia citorreductora complementaria, inmunoterapia activa.

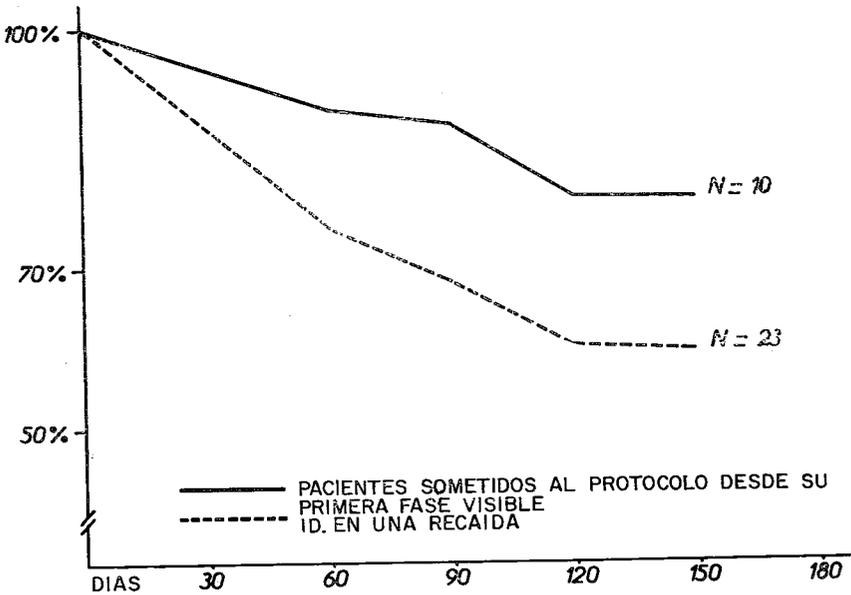


FIG. 13. Duración de las remisiones a partir del fin de la quimioterapia, en pacientes del protocolo número 5 en primera fase visible de la enfermedad o durante una recaída.

tual, las células de las inyecciones sub-siguientes recibieron 4000 rads *in vitro*.

recibieron la asociación de los dos tipos de tratamiento.

Los siete pacientes del cuarto grupo

La totalidad de los enfermos testigos sufrió una recaída, después de una

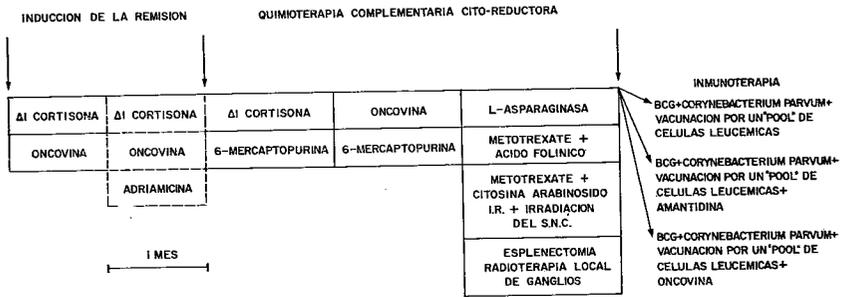


FIG. 14. Protocolo terapéutico número 6 de las leucemias agudas linfoblásticas: quimioterapia inductora de la remisión, quimioterapia citorreductora complementaria, inmunoterapia activa.

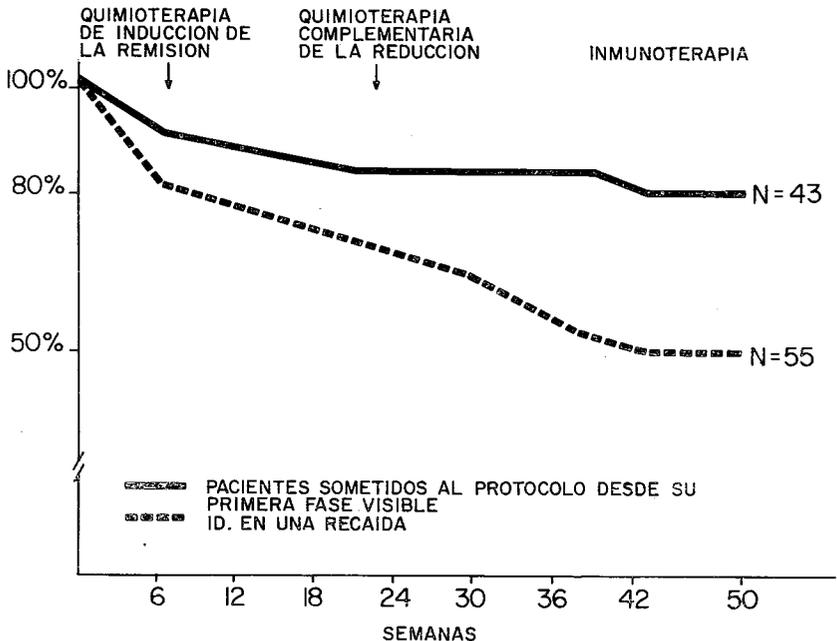


FIG. 15. Duración de las remisiones a partir del fin de la quimioterapia en pacientes del protocolo número 6 en primera fase visible de la enfermedad o durante una recaída.

remisión cuya duración promedio fue de 66 días, la mediana se sitúa entre el 70º y el 77º día, los extremos son de 30 y 130 días.

Ciento treinta días después del fin de la quimioterapia, fecha de la recaída del décimo y último testigo, sólo nueve de los veinte enfermos bajo inmunoterapia habían recaído; la diferencia es altamente significativa ($\chi^2 = 6.18$ $p < 0.02$).

Otros cuatro enfermos recayeron más tarde. El análisis de las recaídas nos proporciona las nociones siguientes:

a) La mayoría de ellas fueron precoces: nueve antes del 100º día,

cinco antes del 30º día, datos comparables a los resultados obtenidos experimentalmente y que sugieren que el número residual de células tumorales al fin de la quimioterapia era superior al número máximo controlable con la inmunoterapia activa.

b) Cuatro recaídas fueron tardías: una ocurrió al 210º día, otra al 324º día y otra al 950º día, semejantes a las excepcionales recaídas tardías de nuestros experimentos en el ratón; la cuarta, evidente el 315º da se presentó en un niño cuyo tratamiento con BCG había sido suspendido 44 días antes pues presentaba una queratoconjuntivitis flictenular severa y recidivante, que

había indicado ya varias veces la suspensión del tratamiento. Este ejemplo, agregado a la posibilidad de recaídas tardías es indicación de tratamientos de duración indefinida.

A partir del fin de la quimioterapia, siete enfermos se encuentran en remisión desde hace más de un año, seis hace dos años, dos hace tres años y uno hace más de cuatro años.

La figura 11 muestra las curvas actuariales y expone las diferencias entre el grupo bajo inmunoterapia y el grupo testigo e indica que, aun cuando la mediana de remisiones del grupo con inmunoterapia es comparable a la de un grupo bajo quimioterapia intensiva, el aspecto de las curvas es muy diferente pues la curva de inmunoterapia tiende a situarse en meseta.

No existe diferencia significativa entre el grupo con BCG (cinco recaídas en ocho enfermos, en uno de los cuales el tratamiento había sido suspendido), el grupo que recibió células leucémicas solas (tres recaídas en cinco pacientes) y el grupo tratado por la asociación (cinco recaídas en siete enfermos).

Estos resultados deben ser juzgados según su efecto terapéutico y sus insuficiencias. Debe observarse que los enfermos del grupo bajo inmunoterapia han sido sometidos a una selección rigurosa: recibieron una quimioterapia muy prolongada que *a posteriori* puede considerarse poco eficaz y es posible que los sobrevivientes correspondan a un grupo particular, predestinado a remisiones espontáneas y duraderas.

Sin embargo, debe hacerse notar que los testigos recayeron rápidamente, lo cual confirma la pobreza de las remisiones obtenidas con la quimioterapia.

Respecto a las insuficiencias del protocolo, la quimioterapia es criticable por la utilización de drogas poco activas sobre la leucemia aguda linfoblástica y administradas aisladamente.

En el protocolo siguiente (Fig. 12), eliminamos la etapa de irradiación del sistema nervioso central y los resultados fueron desalentadores, (Fig. 13) pues las recaídas meníngeas fueron numerosas.

Nuestro protocolo actual incluye un intenso tratamiento de las meninges por irradiación y, en la fase de quimioterapia, administración simultánea de dos drogas en cada etapa (Fig. 14). Al igual que en el protocolo precedente, hemos intentado añadir la acción de la inmunoterapia que en este caso además del BCG, el *Corynebacterium parvum* o las células tumorales irradiadas combinan una quimioterapia complementaria de un agente viral: la amantadina, en el primer grupo y una quimioterapia intermitente con vincristina en el segundo grupo.

Aún no es posible determinar si existe una diferencia significativa entre estos dos grupos. Sin embargo, es ya notorio que los resultados varían según que el enfermo haya sido sometido a este protocolo durante su primer tratamiento o después de otras terapéuticas (Fig. 15). Este dato sostiene el concepto ya expuesto de la acción limitada de la inmunoterapia por me-

dio de células tumorales, y demuestra que la leucemia aguda linfoblástica constituye un caso de urgencia médica.

REFERENCIAS

1. Foley, E. J.: *Antigenic properties of methyl-cholanthrene induced tumors in mice of the strain of origin*. Cancer Res. 13: 835, 1953.
2. Prehn, R. T.: *Tumor specific immunity to non-viral tumors*. Canad. Cancer Conf. 5: 387, 1963.
3. Old, L. J. y Boyse, E. A.: *Immunology of experimental tumors*. Ann. Rev. Med. 15: 167, 1964.
4. Klein, G.: *Recent trends in tumor immunity*. Israel J. Med. Sc. 2: 135, 1966.
5. Soloway, A. C. y Rapaport, F. T.: *Immunologic responses in cancer patients*. Surgery. 121: 756, 1965.
6. Hugues, L. E. y Mackay, W. D.: *Suppression of the tuberculin response in malignant disease*. Brit. Med. J. 2: 1346, 1965.
7. Schneider, M.: *Etude des chimiothérapies antimitotiques sur une réaction d'hypersensibilité retardée (BCG)*. Rev. Franç. Etud. Clin. Biol. 13: 877, 1968.
8. Mathe, G.; Nouza, K.; Hrsak, Y. y Kolar, V.: *Reduction of immune responses in radiation chimeras. Attempts on their restoration*. Antibiotica et Chemotherapia. 15: 182, 1969.
9. Hrsak, Y.; Nouza, K.; Kolar, V. y Mathe, G.: *Essai de restauration de radiochimercs hématopoiétiques allogéniques*. Rev. Franç. Etud. Clin. Biol. 13: 887, 1968.
10. Kiger, N. y col.: no publicado.
11. Amiel, J. L.; Mery, A. M. y Mathe, G.: *Les réponses immunitaires chez les patientes atteintes de choriocarcinome placentaire. Corrélation entre les réponses et l'évolution de la maladie*. En: *Cell bound Immunity*. Liège Université Liège, (Ed.), 1967, vol. 43, p. 197.
12. Hellstron, I.; Hellstron, K. E.; Pierce, E. y Yang, J. P. S.: *Cellular and humoral immunity to different types of human neoplasms*. Nature 220: 1352, 1968.
13. Mathe, G.; Schwarzenberg, L. y Amiel, J. L.: *Approches immunologiques du traitement des leucémies. Premiers résultats chez l'Homme*. Nouv. Rev. Hématol. 7: 721, 1967.
14. Gorer, P. A. y Amos, D. B.: *Passive immunity in mice against C₅₇B1 leukemia EL 4 by means of isoimmune serum*. Cancer Res. 16: 338, 1956.
15. Motta, R.: *The passive immunotherapy of murine leukaemia. I. The production of antisera against leukaemic antigens*. Rev. Europ. Etud. Clin. Biol. 15: 161, 1970.
16. Mathe, G.; Pouillart, P. y Lapeyraque, F.: *Active immunotherapy of mouse RC19 and E o K1 leukaemia applied after the I.V. transplantation of the tumour cells*. Rev. Europ. Etud. Clin. Biol. 15: 1970.
17. Schwarzenberg, L.; Mathe, G.; Amiel, J. L.; Cattani, A.; Schneider, M. y Schlumberger, J. R.: *Adoptive immunotherapy by transfusions of leucocytes*. Lancet 2: 365, 1966.
18. Mathe, G.; Amiel, J.; Schwarzenberg, L.; Schneider, M.; Choay, J.; Trolard, P.; Hayat, M.; Schlumberger, J. R. y Jasmin, C.: *Bone marrow graft in man after conditioning by A. L. S. Brit. Med. J. 1970*.
19. Mathe, G. y Schwarzenberg, L.: *Immunothérapie adoptive de la leucémie L1210 ascitique. Analyse des facteurs de son efficacité*. J. Europ. Cancer. 4: 211, 1968.
20. Mathe, G. y Bernard, J.: *Essai de traitement de la leucémie L1210 par l'irradiation X suivie de transfusion de cellules hématopoiétiques normales (isologues ou homologues, myéloïdes ou lymphoïdes, adultes ou embryonnaires)*. Rev. Franç. Etud. Clin. Biol. 4: 442, 1959.
21. Mathe, G.; Amiel, J. L. y Niemetz, J.: *Greffe de moelle osseuse après irradiation totale chez des souris porteuses de leucémie, suivie de l'administration d'un produit antimitotique pour réduire la fréquence du syndrome secondaire et ajouter à l'effet antileucémique*. C. R. Acad. Sci. 254: 3603, 1962.
22. Mathe, G.; Amiel, J. L. y Friend, C.: *Essai de traitement de la leucémie de Charlotte Friend par la greffe de cellules hématopoiétiques de donneurs vaccinés*. Bull. Cancer. 49: 416, 1962.
23. Mathe, G. y Amiel, J. L.: *Réduction de la concentration plasmatique du virus de Charlotte Friend par immunothérapie adoptive*. C. R. Acad. Sci. 259: 4408, 1964.
24. Mathe, G. y Bernard, J.: *Essai de traitement par l'irradiation X suivie de greffe de cellules myéloïdes homologues de souris atteintes de leucémie spontanée très avancée*. Bull. Cancer. 45: 289, 1958.
25. Mathe, G.; Amiel, J. L. y Bernard, J.:

- Traitement de souris AkR à l'âge de 6 mois par irradiation totale suivie de transfusions de cellules hématopoïétiques homologues. Incidences respectives de la leucémie et du syndrome secondaire. Bull. Cancer 47: 331, 1960.
26. Mathe, G.; Amiel, J. L.; Schwarzenberg, L.; Cattani, A. y Schneider, M.: Hemopoietic chimera in man after allogenic (homologous) bone marrow transplantation. Control of the secondary syndrome. Specific tolerance due to the chimerism. Brit. Med. J. 2: 1633, 1969.
 - 27a. Mathe, G.; Amiel, J. L.; Schwarzenberg, L.; Cattani, A.; Schneider, M.; Vries, M. J.; Tubiana, M.; Lalanne, C.; Binet, J. L.; Papiernik, M.; Seman, G.; Matsukura, M.; Mery, A. M.; Schwarzmann, V. y Flaisler, A.: Successful allogenic bone marrow transplantation in man: chimerism induced specific tolerance and possible antileukaemic effects. Blood 25: 179, 1965.
 - 27b. Mathe, G.; Schwarzenberg, L.; Vries, M. J.; Amiel, J. L.; Cattani, A.; Schneider, M.; Binet, J. L.; Tubiana, M.; Lalanne, C.; Schwarzmann, V. y Nordmann, R.: Les divers aspects du syndrome secondaire compliquant les transfusions allogéniques de moelle osseuse ou de leucocytes chez des sujets atteints d'hémopathies malignes. Europ. J. Cancer. 1: 75, 1965.
 28. Santos, G. W.; Burke, P. J.; Sensenbrenner, L. L. y Owen, A. H.: Rationale for the use of cyclophosphamide as immunosuppression of marrow transplantation in man. En: Internat. Symp. on Pharmacological Treatment in Organ and Tissue Transplantation: Milano, 1970.
 29. Old, L. J.; Clarke, D. A. y Benacerraf, B.: Effect of bacillus Calmette-Guérin injection of transplanted tumors in the mouse. Nature 184: 291, 1959.
 30. Biozzi, G.; Stiffel, C.; Halpern, B. N. y Mouton, D.: Effect of inactivation with Calmette-Guérin bacillus on the development of Ehrlich ascites tumor in the mouse. C. R. Soc. Biol. 153: 987, 1959.
 31. Amiel, J. L.: Immunothérapie active non spécifique par le BCG de la leucémie virale E o G2 chez des receveurs isogéniques. Rev. Franç. Etude. Clin. Biol. 12: 912, 1967.
 - 32a. Mathe, G. y Pouillart, P.: Active immunotherapy of L1210 leukaemia applied after the graft of tumour cells. Brit. J. Cancer 23: 814, 1969.
 - 32b. Mathe, G.; Pouillart, P.; Schwarzenberg, L. y Schneider, M.: Transfusions of lymphocytes from non immunized or immunized donor in mice leukaemia therapy. En: White Blood Cell Transfusions. Paris, C. N. R. S. (Ed.), 1970.
 33. Friend, C.: Immunological relationship of a filterable agent causing leukaemia in adult mice. I. The neutralization of infectivity by specific antiserum. J. Exp. Med. 109: 217, 1959.
 34. Martyre, M. C. y Halle-Pannenko, O.: Extraction et purification de néoantigènes tumoraux obtenus à partir des cellules spléniques et du sérum de souris porteuses de la leucémie de Charlotte Friend. Rev. Franc. Etud. Clin. Biol. 13: 1010, 1968.
 35. Mathe, G.: Immunothérapie active de la leucémie L1210 appliquée après la greffe tumorale. Rev. Franc. Etud. Clin. Biol. 13: 881, 1968.
 36. Levy, J. P.: Donnée generales sur la leucémogenese. En: Actualités Hématologiques. 3a. série. Bernard, J. (Ed.) Paris, Masson, 1969, p. 200.
 37. Dore, J. F.; Morra, R.; Marholev, L.; Hrsak, Y.; Colas de la Noue, H.; Seman, G.; De Vassal, F. y Mathe, G.: Preliminary results of research for new antigens in human leukaemic cells and antibody in the serum of leukaemic patients. Lancet 2: 1396, 1967.
 38. Orbach-Arbouys, S.: Rupture de la tolérance immunitaire par certains cytotostatiques utilisés en chimiothérapie cancéreuse. Rev. Franc. Etud. Clin. Biol. 13: 1014, 1968.
 39. Dore, J. F.; Ajuria, E. y Mathe, G.: Non leukaemic AkR mice are not tolerant to cells of leukaemia induced by Gross virus. Rev. Europ. Etud. Clin. Biol. 15: 81, 1970.
 40. Mathe, G.; Schwarzenberg, L.; Amiel, J. L.; Schneider, M.; Cattani, A. y Schlumberger, J. R.: Essai de traitement de la leucémie myéloïde chronique par 3 nouveaux composés chimiothérapeutiques: le dibromomannitol, l'hydroxyurée et la désacétamidocolchicine. Sem. Hôp. Paris 42: 2960, 1966.

Que la diphteria es una enfermedad específica está fuera de toda duda: ahora bien, las enfermedades específicas son hijas siempre de causas específicas; quiere decir, de causas que constantemente producen los mismos efectos, salvo sólo las diferencias relativas a su intensidad: teniendo pues a la vista uno de esos efectos, está el práctico autorizado para concluir que su causa es específica. Donde resida la causa de la diphteria, cual sea ésta, el tiempo lo dirá. Se sabe por ahora que las concreciones membranosas están formadas en su mayor parte de fibrina, y que entre ésta se ven granulaciones, gran cantidad de materia grasa, elementos epiteliales de la mucosa que las exuda, criptógamas e infusorios. Se sabe, además, que la diphteria es un envenenamiento constitucional. Éste ya es un buen precedente, en mi concepto. Como todo envenenamiento constitucional ha de tener su antídoto, cual le tienen las intermitentes, la sífilis y otras enfermedades, en la quinina, en el iodo, el mercurio, el alcohol, los aceites esenciales, etc., abrigo con Déclat la esperanza de que tarde o temprano se ha de encontrar el que mate al micrófito pelicular, al *Penicillium erustaceum* (?), si en efecto es este el parásito virulento más constante en nuestra especie. (Rodríguez, J. M.: *Garrotillo (Diphtheria)*. GAC. MÉD. MÉX. 6: 353 y 371, 1871).