

VIII INMUNOLOGIA Y CANCER

DR. WILLY F. PIESSENS

DR. JOHN DAVID

Generalidades

La teoría de la vigilancia inmune sostiene que una función primordial del sistema inmune consiste en detectar y eliminar células neoplásicas antes de que produzcan tumores perceptibles. El dogma básico de la teoría de la vigilancia inmune es que las células cancerosas son antigénicamente diferentes de las células normales y, por consiguiente, evocan reacciones inmunes similares a las que produce el rechazo de aloinjertos histocompatibles. Los estudios basados en modelos animales han confirmado que este concepto es correcto y que la mayor parte de las células tumorales portan sobre su superficie antígenos que difieren, cualitativa o cuantitativamente, de los antígenos presentes dentro o en la superficie de las células no neoplásicas. También está demostrado que los pacientes con cáncer pueden desarrollar respuestas inmunes, humorales y mediadas por células contra antígenos que están presentes en sus tumores. Persiste la controversia acerca de si estas reacciones son benéficas para el paciente. Algunos investigadores consideran que las respuestas inmunes contra los tumores desempeñan una función crucial en la protección contra el desarrollo y crecimiento de neoplasias, mientras que otros investigadores consideran lo contrario. El éxito de algunas formas de inmunoterapia indica que la respuesta pudiera encontrarse entre ambos extremos.

Los adelantos en la inmunología básica y en la biología molecular han aumentado de manera notable el número y la variedad de reactivos inmunológicos definidos molecularmente y disponibles para los médicos, y los avances paralelos en la biología molecular han incrementado mucho el conocimiento de los mecanismos fundamentales que regulan la proliferación y diferenciación celulares, así como las metástasis tumorales. Estos procesos reguladores son utilizados cada vez más como blanco de las intervenciones inmunoterapéuticas con anticuerpos monoclonales, citocinas y factores de crecimiento y citotóxicos recombinantes. Muchos de estos reactivos inmunológicos aún tienen que ser evaluados en estudios clínicos, aunque el conocimiento logrado de la investigación inmunológica desempeña una función cada vez más importante en el diagnóstico y el tratamiento del cáncer.

Antígenos tumorales específicos y relacionados

ANTIGENOS TUMORALES ESPECIFICOS

Los antígenos que se detectan en las células tumorales, pero no en las células normales, son denominados antígenos tumorales específicos. Estos antígenos han sido identificados en tumores que aparecen en forma espontánea, inducidos por sustancias químicas y por virus en animales. Cada tumor inducido por un carcinógeno químico transporta su propio antígeno único, llamado antígeno privado. Los mecanismos que producen esta heterogeneidad antigénica se desconocen, pero es posible que los carcinógenos químicos puedan inducir mutaciones únicas o activar oncogenes latentes en diferentes clonas de células tumorales. Son ejemplos de antígenos específicos de tumores codificados por oncogenes las proteínas asociadas a la membrana producidas por la familia de oncogenes *ras*.

Los tumores inducidos por virus ADN o ARN poseen antígenos tumorales específicos que pueden estar presentes sobre la superficie celular, en el núcleo o en el citoplasma. A diferencia de los tumores inducidos químicamente, todos los tumores inducidos por el mismo virus comparten antígenos comunes llamados públicos, incluso cuando los tumores son de diferente tipo histológico o aparecen en especies distintas. Estos antígenos son codificados por el genoma viral; sin embargo, difieren de los antígenos virales en que no están presentes en el virus.¹

La mayoría de los experimentos que serían necesarios para demostrar en forma concluyente la presencia de antígenos tumorales específicos en células tumorales humanas no son éticos. No obstante, la presencia de antígenos tumorales específicos en el hombre se ha constatado por métodos indirectos. Las características de estos antígenos han proporcionado algunos conocimientos acerca del origen del cáncer en los humanos. Si la observación hecha en animales de que los virus, pero no los agentes químicos, inducen antígenos tumorales específicos públicos es cierta también en el hombre, será posible demostrar que algunos tipos de tumores son de origen viral. Se incluyen en este grupo al linfoma de Burkitt y el trastorno linfoproliferativo angiocéntrico, asociados al virus Epstein-Barr, a la leucemia/linfoma de células T del adulto asociada al virus linfotrópico de células T humanas tipo I (HTLV-1) y al carcinoma de cervix asociado al papilomavirus humano. La investigación sistemática mediante sondas de ácidos nucleicos para detectar secuencias virales en tumores humanos, sin duda aclarará la pregunta fundamental sobre qué tumores humanos son causados por virus oncogénicos.

ANTIGENOS RELACIONADOS CON TUMORES

Los antígenos relacionados con tumores se encuentran en las células tumorales y en las células normales; sin embargo, están presentes en cantidades importantes o en forma diferente en las células tumorales. Los antígenos oncofetales, los antígenos de diferenciación y los productos de oncogenes son ejemplos de estos antígenos.

Antígenos oncofetales

Varios antígenos relacionados con tumores en humanos están presentes en los tejidos fetales, pero ausentes en los tejidos correspondientes del adulto. Ejemplos de estos antígenos, denominados antígenos oncofetales o relacionados con el desarrollo oncológico, incluyen la α -fetoproteína encontrada en los

hepatomas, y el antígeno carcinoembrionario (ACE) presente en tumores del aparato digestivo.² Alguna vez se consideró que los antígenos oncofetales eran polipéptidos codificados por genes que eran activos en los tejidos fetales, pero no en los tejidos adultos, y que dichos genes se reactivaban en las células tumorales. Sin embargo, la mayoría de estos antígenos no son polipéptidos cuya síntesis sea controlada por genes, sino determinantes constituidos por carbohidratos, generados por modificación postraducción de las proteínas.³ Al parecer, la glucosilación de las proteínas en las células fetales normales difiere de la de las células adultas normales, pero es similar a la de las células cancerosas. Por ello, las células normales adultas carecen de antígenos oncofetales.

Antígenos de diferenciación

Los antígenos de diferenciación sólo están presentes en ciertas etapas durante la maduración de las células normales. Los antígenos T y Tn, precursores de los antígenos de los grupos sanguíneos, son ejemplos de antígenos de diferenciación relacionados con tumores. En los tejidos normales, los antígenos T y Tn se encuentran ocultos e inaccesibles al sistema inmune; sin embargo, estos antígenos se expresan sobre las células de muchos carcinomas de origen epitelial.⁴ La presencia de antígenos de diferenciación en las células neoplásicas puede indicar que la clona maligna se originó de una célula que se detuvo en la fase de maduración en la que normalmente existe el antígeno de diferenciación. La identificación de varios antígenos de diferenciación en los linfocitos en desarrollo ha tenido un notable impacto en la clasificación y tratamiento de las enfermedades linfoproliferativas (ver adelante).

Productos de oncogenes en la superficie celular

En la actualidad resulta evidente que los oncogenes pueden codificar productos que recuerdan factores de crecimiento o receptores celulares para factores de crecimiento. Estos productos de oncogenes representan algunos de los antígenos relacionados con tumores que se habían ya identificado sobre la superficie de las células neoplásicas por métodos inmunológicos. Por lo tanto, los antígenos tumorales, alguna vez considerados como el blanco de la respuesta inmune del huésped, de hecho desempeñan un papel biológico esencial en el proceso oncogénico. Por ejemplo, un antígeno relacionado con el cáncer de mama ha sido ya identificado como el producto del oncogen HER-2/*neu*, que codifica una glucoproteína transmembrana relacionada con el receptor del factor de crecimiento epidérmico. Este antígeno relacionado con tumores puede usarse como un marcador inmunológico del cáncer de mama,⁵ y al mismo tiempo el producto del oncogen parece ser un receptor funcional de un factor de crecimiento. Sin embargo, un ligando del receptor codificado por *neu* induce diferenciación fenotípica e inhibe el crecimiento de las células de cáncer de mama humano in vitro.⁶ Los diferentes efectos mediados por el receptor codificado por *neu* pueden explicar porqué la expresión exagerada de este antígeno en las células del cáncer de mama no necesariamente indica mal pronóstico.⁵

Respuestas inmunes a los tumores

Se han identificado cuatro tipos diferentes de células que pueden destruir blancos tumorales in vitro e in

vivo: las células asesinas naturales (NK), los linfocitos citolíticos dependientes del timo (LCT), las células asesinas activadas por linfocinas (LAK) y los macrófagos activados. Las células NK pueden destruir células tumorales sin haber sido sensibilizadas antes con antígenos específicos, y su actividad no requiere la presencia de antígenos de clase I codificados por el complejo principal de histocompatibilidad (CPH) sobre las células blanco. Se considera que las células NK participan en el control de tumores incipientes y tal vez de crecimiento tumoral metastásico. En contraste con las células NK, los LCT pueden destruir tumores sólo después de haber sido presensibilizados a los antígenos tumorales y sólo cuando el antígeno blanco está presente en células portadoras también de productos de genes clase I del CPH. Se considera que las células LCT son las células efectoras principales en el rechazo de los tumores causados por virus ADN. Las células LAK son un subgrupo de linfocitos nulos diferentes a las células NK y a los LCT y presentan actividad antitumoral. Por último, los macrófagos activados directamente por diversos estímulos o de manera indirecta por los productos de las células T estimuladas por antígenos, pueden destruir células tumorales sin depender del antígeno y sin estar limitados por el CPH. Los macrófagos activados parecen disminuir la velocidad de crecimiento de los tumores que infiltran.

Las células tumorales pueden ser destruidas in vitro por otros mecanismos citolíticos, como las reacciones citotóxicas mediadas por células dependientes de anticuerpos y la lisis por anticuerpos más complemento. En la actualidad se considera que estos mecanismos inmunes efectores son mucho menos importantes in vivo que la acción tumoricida de las células NK, los LCT y los macrófagos activados.

Evación de los mecanismos inmunes de destrucción por los tumores

En vista de los múltiples mecanismos inmunes tumoricidas, podría preguntarse cómo es posible que los tumores crezcan. Se han propuesto varias explicaciones para esta aparente paradoja.

EVASION DE LA SUPERVISION INMUNE

Una posibilidad es que el tumor no sensibilice al huésped y escape a la detección cuando es pequeño. Por lo tanto, en el momento en que ha crecido lo suficiente para inducir una respuesta inmune, es demasiado grande para ser destruido por el sistema inmune. Aunque esta explicación parece contradecir el concepto de la vigilancia inmune, la mayor parte de los tumores que ocurren espontáneamente se describen como débilmente antigénicos. Es posible que los tumores portadores de los llamados antígenos fuertes sean eliminados en forma regular por los mecanismos de vigilancia inmunológica.

OCULTAMIENTO DEL SISTEMA INMUNE

Se sabe que algunos tumores desprenden sus antígenos de superficie. Los antígenos desprendidos podrían unirse a receptores antigénicos en las células efectoras y evitar la interacción de estas células con la célula tumoral blanco. De manera alternativa, los antígenos desprendidos pueden combinarse con anticuerpos para formar complejos inmunes que evitan la interacción entre las células efectoras y sus objetivos, o suprimir las respuestas inmunes adicionales a antígenos tumorales. El desprendimiento de

antígenos tumorales constituye un obstáculo para el uso de anticuerpos monoclonales en el tratamiento del cáncer. Otra posibilidad es que anticuerpos no citolíticos unidos a antígenos tumorales cubran estos antígenos del sistema inmune del huésped y de esta manera protejan a las células tumorales de los mecanismos efectores mediados por células. La administración pasiva de estos anticuerpos, llamados bloqueadores, en realidad promueve el crecimiento de algunos tumores in vivo, fenómeno conocido como reforzamiento.

MODULACION Y VARIACION ANTIGENICA

Los tumores pueden escapar del ataque inmune al cambiar sus antígenos de superficie, o la respuesta inmune puede dar lugar a la selección de clonas de células tumorales mutantes que carecen del antígeno tumoral original contra el que el huésped ha sido sensibilizado. Estos mecanismos representan otro problema que podría encontrarse durante la inmunoterapia con anticuerpos monoclonales.

INTERFERENCIA CON LAS RESPUESTAS INMUNES DEL HUESPED

Los tumores pueden interferir en las respuestas inmunes del huésped de varias maneras. Algunos tumores se resisten a la lisis mediada por células al inactivar a las moléculas citolíticas efectoras, como los radicales tóxicos de oxígeno o derivados de nitrógeno producidos por los macrófagos activados. Otros tumores causan supresión inmunológica. Este efecto puede lograrse por varios mecanismos, incluyendo la activación de células T supresoras que inhiben las respuestas inmunes a los antígenos tumorales y la secreción de citocinas, como el factor de transformación del crecimiento β -2 (FTC- β 2), que inhibe la actividad de los LCT y de las células NK. La respuesta de los LCT puede anularse ante la presencia de receptores solubles de IL-2 (IL-2). Se ha encontrado que el líquido de ascitis de mujeres con cáncer de ovario contiene concentraciones altas de estos receptores.⁷ En ratones, la presencia de tumores por tiempo prolongado cambia la composición molecular del complejo CD3 en las células T. Esta alteración en las moléculas de transducción de señales disminuye la actividad lítica de los LCT específicos de tumores.⁸

ALTERACIONES EN LA EXPRESION DE LOS ANTIGENOS CODIFICADOS POR EL CPH

La expresión de los productos de los genes de clase I del CPH sobre las superficies celulares es indispensable para el reconocimiento de los antígenos extraños por los LCT. Los antígenos del CPH se expresan de forma anormal en muchos tumores y dicha expresión se asocia con la capacidad de las células malignas para evadir el sistema inmune y producir metástasis. Diferentes modelos demuestran que la mayor o menor expresión de los productos de los genes del CPH puede reforzar la capacidad metastásica de los tumores murinos. Las células que muestran una menor expresión de los productos de los genes clase I del CPH son más resistentes a los LTC, pero particularmente sensibles a las células NK, mientras que las células con aumento en la expresión de productos de los genes clase I del CPH son sensibles a los LCT, pero resistentes a las células NK. Algunas citocinas que están evaluándose como agentes inmunoterapéuticos modulan la expresión de los genes del CPH en las células tumorales

humanas. Es posible que, además de ser tumorícidas directos, estos factores, entre los que se encuentran los interferones, el factor de necrosis tumoral (FNT) y la interleucina-2 (IL-2), provoquen el rechazo tumoral en forma indirecta al reforzar la respuesta inmune específica contra el tumor.

FACTORES GENETICOS Y ADQUIRIDOS DEL HUESPED

Se han identificado varios factores del huésped que promueven la supervivencia del tumor. Los animales recién nacidos infectados con virus oncogénicos se vuelven tolerantes desde el punto de vista inmunológico. Posteriormente, los tumores inducidos por el mismo virus crecerán en los animales adultos tolerantes, pero no en los inmunocompetentes. Algunas cepas de ratones tienen especial susceptibilidad a desarrollar infecciones por virus oncogénicos; esta susceptibilidad puede ser controlada por los genes de la respuesta inmune (Ir), que determinan la intensidad de las respuestas inmunes provocadas por los antígenos tumorales. Sin embargo, los intentos por identificar genes del HLA en los humanos que puedan explicar porqué la respuesta inmunológica contra un tumor maligno es ineficaz, no han dado resultado. Se han encontrado asociaciones estrechas entre la susceptibilidad al cáncer y antígenos HLA sólo para el carcinoma de la glándula tiroides (HLA-DR1) y para el carcinoma epidermoide del cervix (HLA-DQw3).⁹

Las enfermedades caracterizadas por inmunodeficiencia primaria o adquirida, así como el tratamiento prolongado con agentes inmunosupresores, pueden ocasionar respuestas inadecuadas contra antígenos tumorales que promueven la supervivencia tumoral. El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), produce un desequilibrio en la regulación de las respuestas inmunes del huésped al invadir y destruir las células T cooperadoras. Tales aberraciones no suelen observarse en forma evidente en pacientes con tumores que aparecen de modo espontáneo, pero los carcinógenos y virus oncogénicos pueden inducir defectos más sutiles en la respuesta inmune. Es probable que estos defectos permitan a la clona de células malignas ser indetectables durante las etapas tempranas de la carcinogénesis. Los pacientes con tumores diseminados con frecuencia son menos inmunocompetentes que los individuos normales, pero no se ha establecido si la inmunosupresión es causa o efecto de la diseminación tumoral.

Algunos sitios anatómicos como el cerebro, la córnea y la bolsa del carrillo del hamster carecen de drenaje linfático y brindan un ambiente privilegiado en el que los tumores pueden crecer sin sensibilizar al huésped. Resulta evidente que este fenómeno no es un factor importante en la gran mayoría de los tumores comunes en el humano.

Es importante señalar que la capacidad de las células tumorales para escapar de la destrucción por los mecanismos efectores inmunes de ninguna manera es exclusiva. Esta situación ocurre con regularidad en el feto, y en diversas infecciones por parásitos, virus y bacterias, aun cuando todos estos microorganismos son portadores de antígenos que son reconocidos por el sistema inmune del huésped.

Cambios en las células malignas y formación de metástasis

Para que se forme una metástasis, una célula o un grupo de ellas debe separarse del tumor primario, invadir el tejido circundante, entrar en los vasos linfáticos o sanguíneos, y salir de ellos en un tejido distante, proliferando para formar una segunda masa tumoral. Durante este proceso tan complejo, las células violan las reglas que controlan en condiciones normales los límites e interacciones entre los órganos y las células no malignas, resisten a la destrucción inmunológica, y se aprovechan de la angiogénesis. Cada vez es más evidente que la diseminación metastásica requiere de una secuencia de interacciones consecutivas entre las células tumorales y los componentes de la matriz extracelular, además de con otras células normales o malignas. Muchas de estas interacciones dependen de los determinantes que se encuentran en la superficie celular, como las moléculas de adhesividad y los receptores para la matriz extracelular y la lámina basal. En otros pasos participan las enzimas proteolíticas, los factores de crecimiento y los receptores de factores de crecimiento.

La presencia de ciertos antígenos asociados a tumores correlaciona con la capacidad de las células tumorales para formar metástasis. Diversos estudios sugieren que las moléculas de adhesividad celular, que son responsables de la agregación de células homotípicas durante el desarrollo embrionario, participan en la diseminación de las células tumorales. Por ejemplo, la tenascina, una glucoproteína que es importante para la organogénesis de la glándula mamaria, se expresa en forma exagerada y constante en el estroma de los tumores malignos de mama. La tenascina constituye un sustrato relativamente pobre para fijar las células mamarias tumorales, y quizá su mayor expresión permite a éstas ser invasoras. En ratas, la expresión aumentada de otra glucoproteína, una variante de la molécula adhesiva CD44, confiere potencial metastásico a células carcinomatosas que, en otras circunstancias, forman tumores no metastásicos, y la existencia de este antígeno tumoral CD44 modificado se asocia en forma única con las células metastásicas. Otros estudios indican que el ACE funciona como una molécula de adhesividad intercelular.¹⁰ La diseminación de las células de linfoma no-Hodgkin correlaciona con la presencia de los llamados receptores "de hogar", que controlan la circulación de los linfocitos normales.¹¹ Los linfomas de células T que expresan la molécula de adhesión a las células neurales (MACN) muestran una gran tendencia a diseminarse fuera de los ganglios, incluyendo al sistema nervioso.¹²

Otros cambios en la superficie de las células neoplásicas, como un grado de ramificaciones con enlaces β 1-6 en los oligosacáridos complejos, correlacionan con mayor potencial metastásico en los tumores.¹³ Por el contrario, en ratones, las células mutantes que sintetizan en forma deficiente heparán sulfato, un componente de muchos proteoglicanos de la superficie celular, no forman tumores y son eliminadas por las reacciones inmunológicas del huésped.

La producción de varias clases de enzimas que pueden degradar componentes de la matriz extracelular, incluyendo porciones de las membranas basales y el estroma intersticial subyacente, se ha asociado con mayor capacidad de invasión y metástasis de los tumores. Estas enzimas incluyen las heparanasas y las familias de proteinasas dependientes de serina, tiol y metales.¹⁴ Las concentraciones de proteínas que inhiben en forma natural algunas de estas proteasas aumentan durante la respuesta inmunológica a los tumores. Este efecto puede reflejar el intento del huésped por suprimir las metástasis tumorales. Los

inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (ITMP) pueden también inhibir las metástasis. La observación de que los ITMP son secretados por células tumorales con bajo potencial metastásico sugiere que éstos o medicamentos que actúan de la misma manera, pueden ser agentes terapéuticos útiles en la prevención de las metástasis tumorales.¹⁴

Las evidencias sugieren que el crecimiento de un tumor después de cierto límite requiere de angiogénesis, proceso que también permite e incluso facilita las metástasis. Las células neoplásicas pueden inducir angiogénesis a través de diversos factores solubles. Es más, la fase inicial de la angiogénesis, en la que las células endoteliales salen de los vasos sanguíneos principales, incluye la migración celular y la degradación de la matriz extracelular por medio de proteasas semejantes a las relacionadas con la formación de metástasis. Por lo tanto, la angiogénesis por las células endoteliales normales y las metástasis de las células neoplásicas son procesos funcionales semejantes. La comparación detallada de los mecanismos que controlan los dos procesos puede permitir la identificación de blancos tumorales específicos para inmunoterapia. Aunque esta meta aún no se alcanza, algunos estudios han identificado marcadores de predicción de invasividad en carcinomas mamarios [ver adelante, Inmunodiagnóstico].

Citocinas producidas por tumores: Síndromes paraneoplásicos mediados por la inmunidad

Las células del sistema inmune secretan gran cantidad de citocinas, polipéptidos que alteran el fenotipo o función de otras células en forma parácrina o autócrina. Muchas de estas citocinas son también secretadas por otras células que no pertenecen propiamente al sistema inmune. Por lo tanto, no es sorprendente que los efectos farmacológicos que ocurren con la administración de citocinas puedan observarse en algunos pacientes con tumores que secretan cantidades excesivas de estos potentes mediadores biológicos. Los síndromes paraneoplásicos que pueden atribuirse a estos tumores incluyen reacciones leucemoides, eosinofilia, aumento en la concentración sérica de IgE y algunas formas de inmunosupresión.

Los efectos parácrinos de los tumores pueden afectar también la función de la médula ósea en forma profunda. La hematopoyesis normal es un proceso dinámico que responde con facilidad a los cambios en los niveles de muchos factores que regulan la expansión y maduración de las células hematopoyéticas y del estroma. De hecho, esta es la base fisiológica para el tratamiento de apoyo con factores estimuladores de colonias en pacientes con cáncer (ver adelante). Los tumores pueden liberar factores que estimulen la médula ósea, causando reacciones leucemoides, o que inhiban la hematopoyesis, originando, por ejemplo, la anemia crónica que se asocia en forma típica al cáncer. Los estudios indican que la producción excesiva de IL-6 por las células del estroma tiene un papel importante en la patogenia de la insuficiencia de la médula ósea en los estados avanzados de la leucemia linfocítica crónica (LLC) de células B.¹⁵

La caquexia, una condición que incluye depleción del músculo y de los tejidos grasos, es una causa

importante de muerte en los pacientes con cáncer. Debido a que el grado de pérdida de peso correlaciona poco con el tamaño del tumor, se ha dedicado un gran esfuerzo para identificar los factores que median las alteraciones metabólicas que provocan la caquexia del cáncer. Originalmente estas investigaciones implicaron al FNT- α , al que se denominó caquectina. Sin embargo, en la actualidad es evidente que otras citocinas del huésped o del tumor, como los interferones, la interleucina-1 (IL-1) y la interleucina-6 (IL-6), tienen efectos catabólicos semejantes a los del FNT- α y que pueden requerirse interacciones sinérgicas entre varias citocinas para el desarrollo del síndrome. Es más, un estudio sugirió que la IL-6 es el mediador común en muchos modelos experimentales de caquexia.¹⁶ Aún no se determina si esto es válido en los tumores humanos.

Inmunodiagnóstico

TIPIFICACION INMUNOLOGICA DE LOS TUMORES

Aún no se ha identificado un antígeno tumoral que esté presente en todos los tumores y ausente en todos los tejidos normales, y es muy probable que este antígeno no exista. Sin embargo, las pruebas serológicas diseñadas para detectar un antígeno específico para un determinado tipo de tumor pueden ayudar a diagnosticar esa neoplasia. Por ejemplo, la medición del antígeno prostático específico en suero constituye una mejor prueba de escrutinio para el cáncer de próstata que el examen rectal aislado.¹⁷ Además, ciertos anticuerpos contra antígenos relacionados con tumores pueden usarse para el inmunodiagnóstico del cáncer cuando los cambios neoplásicos producen desviaciones significativas de la normalidad. Los anticuerpos contra los antígenos T y Tn pueden utilizarse para establecer el origen epitelial de algunos tumores que no pueden clasificarse basándose en los métodos histológicos convencionales. Además, los anticuerpos monoclonales dirigidos contra proteínas de filamentos intermedios, que alguna vez se consideraron como antígenos relacionados con tumores, pero que se ha demostrado que son específicos de tejido, también pueden usarse para establecer la estirpe celular de algunos tumores indiferenciados.¹⁸ Un método inmunohistoquímico semicuantitativo para detectar la proteína oncogénica *ras* (p21), no sólo puede usarse para diagnosticar el cáncer de próstata, sino que también proporciona información pronóstica.¹⁹ Por lo tanto, el uso de anticuerpos monoclonales para detectar proteínas codificadas por oncogenes u otros tipos de antígenos relacionados con tumores se ha convertido en un método muy utilizado en la identificación de neoplasias.

Los estudios de marcadores celulares han demostrado ser especialmente valiosos en el diagnóstico de los padecimientos linfoproliferativos. Estas enfermedades pueden clasificarse basándose en los antígenos de diferenciación linfocítica presentes en las células malignas. Por ejemplo, la mayor parte de los linfomas cutáneos (v.gr., micosis fungoide y síndrome de Sézary) consisten en células que presentan los atributos fenotípicos y funcionales de las células T inductoras-cooperadoras, y la mayoría de los pacientes con LLC sufren una expansión clonal maligna de células B. Los estudios de marcadores de linfocitos proporcionan en algunas ocasiones conocimientos inesperados sobre el origen de un tumor determinado. Por ejemplo, células de múltiples linajes parecen intervenir en el mieloma múltiple, trastorno considerado en alguna ocasión como un cáncer de células plasmáticas maduras,²⁰ y los trastornos clonales de los linfocitos

granulares grandes pueden derivar de células T o NK.²¹ Los estudios de marcadores de células se utilizan cada vez más no sólo para clasificar las enfermedades del sistema linfático, sino también para seleccionar el esquema quimioterapéutico individual de acuerdo con el pronóstico. Por ejemplo, el análisis fenotípico de las células de la leucemia linfocítica aguda (LLA) ha demostrado la existencia de varios subtipos de esta enfermedad que tienen un cuadro clínico y una respuesta al tratamiento diferentes.²² Además, los mismos anticuerpos monoclonales usados para tipificar los trastornos linfáticos malignos se están administrando con fines terapéuticos.

VIGILANCIA DEL TUMOR POR METODOS INMUNOLOGICOS

En vista de que los antígenos oncofetales y de diferenciación pueden estar presentes en cantidades mínimas en adultos sanos sin tumores, la medición de estos antígenos es menos útil para el diagnóstico de cáncer que para la evaluación de los pacientes con trastornos malignos conocidos. Por ejemplo, se han encontrado concentraciones elevadas de α -fetoproteína en algunos pacientes con hepatitis aguda o crónica y en individuos con neoplasias gastrointestinales con metástasis hepáticas. No obstante, la determinación de las concentraciones de α -fetoproteína resulta valiosa en la detección del hepatoma, ya que la concentración sérica en los pacientes con este tumor es mucho mayor que en adultos normales o en individuos con alteraciones hepáticas por otras causas. La determinación de las concentraciones de ACE también proporciona información diagnóstica limitada en vista de que en algunos pacientes con tumores fuera del tracto digestivo o que padecen síndromes intestinales inflamatorios no neoplásicos, se encuentran concentraciones elevadas de ACE. Sin embargo, el aumento en las concentraciones de ACE en pacientes con trastornos malignos conocidos justifica la búsqueda inmediata de cáncer metastásico o recurrente. Por desgracia, la información proporcionada por los análisis del ACE en raras ocasiones beneficia al paciente, ya que aún no se dispone de quimioterapia para prolongar la vida en esta etapa de la enfermedad.

La medición de otros productos inmunológicos puede también proporcionar información valiosa. La concentración sérica de receptores de IL-2 correlaciona con la actividad de la enfermedad en la leucemia/linfoma de células T en el adulto, el linfoma no-Hodgkin en niños, y la leucemia de células peludas. La medición de receptores de IL-2 puede constituir una guía para el momento de administrar retratamiento.^{23,25} Los niveles séricos de la molécula de adhesión intercelular-1 (MAIC-1) correlaciona con el estadio de la enfermedad en niños con enfermedad de Hodgkin, sarcoma de Ewing y tumor de Wilms.²⁶

Los anticuerpos monoclonales también pueden ser útiles. Los anticuerpos monoclonales contra antígenos asociados a diversos tumores pueden marcarse con radioisótopos, inyectarse in vivo y usarse para vigilar la diseminación del cáncer por medio de imágenes con radionúclidos. La concentración de antígenos asociados a tumores en los tejidos normales es demasiado baja como para detectarse, por lo que no interfiere con la interpretación de los resultados. Los anticuerpos monoclonales específicos o relacionados con tumores pueden usarse también en técnicas de inmunocitología o citometría de flujo para detectar metástasis a la médula ósea de tumores sólidos o enfermedad residual en sangre periférica

o en la médula ósea después de la quimioterapia.^{27,28}

MARCADORES CELULARES PRONOSTICOS

Varias pruebas inmunodiagnósticas pueden proporcionar información pronóstica valiosa. Por ejemplo, la presencia de un antígeno de proliferación nuclear en los linfomas difusos de células grandes implica un mal pronóstico,²⁹ y la expresión de antígenos mieloides es un factor predictivo independiente de mala respuesta a la quimioterapia en la LLA en niños,³⁰ pero no en la leucemia mieloide aguda (LMA) en el mismo grupo de edad.³¹ Las concentraciones séricas de CD8 pueden usarse para predecir la respuesta de los pacientes con leucemia de células peludas al tratamiento con interferón.³² En pacientes con linfoma no-Hodgkin, los niveles detectables de interleucina-10 (IL-10) en suero indican mal pronóstico.³³ La presencia de epítopes de la proteína relacionada a la haptoglobina en el cáncer de mama predice recurrencia de este tumor en las enfermas con cáncer en fases iniciales.³⁴ Los resultados de un estudio sugieren que la expresión del gen que codifica la metaloproteinasa estromelisin-3 se limita a los carcinomas invasores de mama;³⁵ este hallazgo puede explicar en parte la correlación entre la angiogénesis tumoral y las metástasis en el cáncer de mama³⁶ porque la enzima es necesaria en ambos procesos. Por el contrario, la expresión del gen antimetastático *nm23* se asocia con buen pronóstico en las pacientes con cáncer de mama.³⁷ La investigación de marcadores tumorales como los descritos puede ser muy útil para seleccionar a los candidatos a recibir tratamiento inicial agresivo.

Inmunoterapia

VACUNAS TUMORALES

Aún no es posible prevenir los tumores humanos mediante la vacunación. Debido a que los múltiples tipos de cáncer presentan una diversidad enorme de antígenos, la identificación de todos los antígenos tumorales con capacidad protectora es una tarea inmensa que tal vez nunca produzca resultados prácticos. Sin embargo, los intensos esfuerzos aplicados a desarrollar una vacuna contra el SIDA (dirigida contra el VIH-1) pueden facilitar el desarrollo de vacunas contra otros virus sospechosos de causar trastornos malignos en humanos. Un candidato primordial es el retrovirus linfotrópico humano de células T, que se relaciona etiológicamente con el desarrollo de linfoma/leucemia de células T.

INMUNOTERAPIA PARA LOS TUMORES EXISTENTES

Mientras que la vacunación se enfoca a prevenir la formación de tumores, el objetivo de la inmunoterapia es potenciar las respuestas inmunes de los pacientes contra tumores establecidos. Debido a que los antígenos tumorales específicos aún no se han identificado ni aislado en la mayor parte de las neoplasias humanas, casi todos los tipos de inmunoterapia intentan aumentar el estado inmunológico general del paciente con inmunopotenciadores inespecíficos. Sin embargo, la capacidad de la bioingeniería para producir antígenos tumorales polipeptídicos ha revivido los esfuerzos por desarrollar vacunas contra ciertos cánceres. En la actualidad se realizan varios estudios clínicos con vacunas recombinantes contra

el cáncer.³⁸

ADYUVANTES

El uso de adyuvantes con propósitos inmunoterapéuticos se basa en la observación de que la exposición a varios microorganismos, sobre todo al bacilo de Calmette-Guérin (BCG), estimula la respuesta inmune en general y aumenta mucho la resistencia contra los tumores en los animales. Las sustancias adyuvantes derivadas de estos microorganismos producen activación de los macrófagos directamente o a través de citocinas; los macrófagos activados son los supuestos moduladores del efecto tumoricida.

Los datos obtenidos de estudios en animales indicaban que el tratamiento adyuvante no sería eficaz en los pacientes con cáncer avanzado. Los estudios clínicos han confirmado esta predicción; con pocas excepciones, la mayoría de los intentos para estimular las respuestas inmunológicas humanas contra los tumores por medio de adyuvantes inespecíficos ha fracasado, sin producir los beneficios que se esperaban. Aunque la inmunoterapia con BCG o *Corynebacterium parvum* ha sido evaluada en muchos estudios clínicos, su valor en los trastornos neoplásicos hematológicos es aún incierto. Una sola inyección intrapleurales de BCG en el momento de la resección puede disminuir la recurrencia del carcinoma pulmonar, pero sólo en los pacientes en estadio I. Los primeros informes de que la BCG era eficaz en algunos casos de cáncer de colon no se han comprobado en un estudio multicéntrico controlado.³⁹ Sin embargo, parece ser que la BCG es superior a la doxorrubicina intravesical para el tratamiento del carcinoma de células transicionales de la vejiga.⁴⁰

El uso de adyuvantes bacterianos para aumentar las respuestas inmunes sistémicas en forma inespecífica no está libre de riesgos. Los adyuvantes aumentan el crecimiento tumoral en algunas circunstancias, tal vez al estimular la producción de anticuerpos no citolíticos que se unen a los antígenos tumorales e impiden los mecanismos efectores mediados por células para la destrucción del tumor. La inoculación repetida con microorganismos BCG vivos ha producido también infecciones micobacterianas sistémicas en varios individuos. Para evitar esta complicación, han sido probados otros adyuvantes bacterianos, como las preparaciones de *C. parvum* muertos y se ha intentado extraer el componente inmunopotenciador de la BCG. Aunque estas preparaciones son más seguras, no tienen ventajas terapéuticas sobre los microorganismos BCG vivos.

Aunque los resultados de la inmunoterapia adyuvante sistémica en tumores humanos ha sido decepcionante, la inyección directa de BCG en los tumores induce una respuesta inmune local que produce la regresión del tumor. Por desgracia, la inyección intralesional de BCG no produce inmunidad contra lesiones dérmicas o viscerales distantes y esta forma de tratamiento se relaciona con muchos efectos colaterales indeseables, como el desarrollo de fiebre y úlceras persistentes.

DINITROFLUOROBENCENO

El dinitrofluorobenceno (DNFB) es un sensibilizador cutáneo de contacto. Cuando los tumores cutáneos

de individuos ya sensibilizados se pintan con DNFB, las células tumorales son destruidas por una reacción de hipersensibilidad tardía in situ.⁴¹ El DNFB ha resultado eficaz en el tratamiento de tumores cutáneos múltiples que no pueden ser extirpados mediante cirugía; la pequeña cantidad de DNFB necesaria para producir una reacción inflamatoria en el tumor no afecta el tejido normal circundante. Este tratamiento es más seguro que las inyecciones intralesionales del BCG, pero no tiene efecto sobre las metástasis distantes.

INMUNOTERAPIA DE TRANSFERENCIA DE CELULAS (ADOPTIVA)

El valor potencial de la transferencia adoptiva de células inmunes en el tratamiento del cáncer ha sido demostrado en estudios realizados en animales, pero hasta hace poco este método se utilizaba sólo en raras ocasiones en el tratamiento del cáncer en humanos. Las poblaciones de linfocitos con actividad antitumoral que son obtenidas de los pacientes con cáncer pueden ser aumentadas en la actualidad por medio de cultivos in vitro con IL-2. Estas células son denominadas células asesinas(*killer*) activadas por linfocinas y es probable que sean células NK activadas por IL-2. Este adelanto técnico permite que la transferencia de células sea una forma de inmunoterapia factible, aunque laboriosa. En un estudio multicéntrico se confirmó la actividad antitumoral del tratamiento con IL-2-LAK en pacientes con tumores renales irresecables o metastásicos.³⁴ Sin embargo, en general el tratamiento con IL-2-LAK parece ser menos eficaz que lo previsto por los estudios experimentales. Pueden lograrse tasas de respuesta más altas que aquéllas que han sido obtenidas con IL-2 sola o con células LAK por medio de la infusión de linfocitos infiltrantes de tumores (LIT) e IL-2.⁴³ Es demasiado pronto para determinar si el tratamiento con IL-2-LIT puede aumentar la supervivencia. Sin embargo, los estudios realizados en ratones muestran que la infusión de LIT, que son células T específicas de tumores, confiere memoria inmunológica a largo plazo, mientras que la infusión de células LAK no produce este efecto benéfico.

El tratamiento con células asesinas activadas por linfocinas o con linfocitos infiltrantes de tumores puede ser tóxico. Muchos pacientes han presentado insuficiencia hepática, tal vez porque en algunos casos el medio utilizado para el cultivo de las células LAK estaba contaminado por virus de la hepatitis A. Los conocimientos técnicos requeridos para producir células LAK o LIT, la cantidad de material necesario y la gravedad de los efectos colaterales adversos, limitan el uso de estas formas experimentales de inmunoterapia a los centros de tratamiento especializado.

Un avance importante y reciente en este campo es la demostración de que los linfocitos infiltrantes de tumores pueden ser modificados por transducción genética retroviral sin pérdida aparente de la función. Este hallazgo plantea la posibilidad de que los linfocitos infiltrantes de tumores puedan ser producidos por ingeniería genética para aumentar la actividad antitumoral; por ejemplo, por medio de la introducción a las células de un gen que codifique el factor de necrosis tumoral, IL-2 o interferón alfa (IFN- α).

SEROTERAPIA

Los intentos para tratar tumores en humanos mediante la infusión de antisueros homólogos o heterólogos han sido infructuosos. Sin embargo, la seroterapia con anticuerpos monoclonales ha producido resultados prometedores. Los anticuerpos monoclonales pueden usarse directamente para destruir células tumorales, o pueden emplearse como transportadores de inmunotoxinas, fármacos o radioisótopos. Aunque estos agentes citolíticos pueden destruir células tanto normales como malignas, la toxicidad para las células normales se minimiza cuando los agentes se acoplan con anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos tumorales, de tal manera que puedan dirigirse directamente a las células tumorales portadoras de dichos antígenos. Se puede lograr una mayor disminución de la toxicidad en las células normales mediante el uso de compuestos que no son tóxicos por sí solos, pero que pueden ser citotóxicos cuando interactúan de manera sinérgica. Esta interacción puede limitarse a las células malignas uniendo por separado los compuestos a diferentes anticuerpos monoclonales que reaccionan con distintos antígenos en la misma célula maligna. La eficacia de utilizar anticuerpos muy específicos como portadores de fármacos, toxinas o radioisótopos en el tratamiento del cáncer está bien establecida en modelos animales, y los estudios preliminares en humanos son prometedores.⁴⁴

Los anticuerpos monoclonales pueden utilizarse de dos maneras: administrarse in vivo como una forma de inmunoterapia sistemática, o utilizarse in vitro para depletar muestras biológicas de células tumorales y otros tipos celulares indeseables. El método in vitro se usa para eliminar células de la médula ósea autóloga. Se ha llevado a cabo tratamiento in vivo con anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos tumorales específicos (v.gr., idiotipo de células B malignas) y antígenos de diferenciación (v.gr., antígenos de células T maduras presentes en el linfoma de células T), observándose respuestas objetivas, la mayoría de duración relativamente corta.⁴⁴ El desprendimiento y la modulación de los antígenos blanco y el desarrollo de anticuerpos anti-inmunoglobulinas de ratón (que pueden ocurrir porque los anticuerpos monoclonales son de origen murino) pueden ser responsables de la falta de respuesta a esta forma de inmunoterapia.

Varios estudios indican que algunos determinantes idiotípicos pueden ser compartidos por varios linfomas de células B. Por lo tanto, muchos pacientes podrían beneficiarse del tratamiento con anticuerpos monoclonales producidos contra determinantes idiotípicos de tumores de células B de otros pacientes, una posibilidad que no había sido reconocida antes.

Las inmunotoxinas pueden también dirigirse contra las células neoplásicas al acoplar la molécula tóxica con anticuerpos dirigidos contra antígenos o receptores de factores de crecimiento que están presentes en mayor cantidad en las células neoplásicas que en las células normales. Los primeros resultados de los estudios clínicos que han usado toxinas unidas a anticuerpos dirigidos contra varios antígenos CD, el receptor de transferrina o el receptor de IL-2, son alentadores, pero los efectos colaterales tóxicos son frecuentes y severos.⁴⁵⁻⁴⁷ De manera semejante, en pacientes con linfomas de células B, se ha demostrado la eficacia de la radioinmunoterapia en dosis altas con anticuerpos marcados con I^{131} dirigidos contra antígenos CD asociados con linfoma antes de la reinfusión de la médula ósea autóloga.⁴⁸

Los anticuerpos monoclonales contra antígenos tumorales también pueden utilizarse en la destrucción

de células tumorales por LCT que se caracterizan por carecer de receptores para antígenos de células tumorales. Este efecto se logra creando un anticuerpo doble heterobifuncional, que consiste de dos anticuerpos: el llamado anticuerpo de búsqueda, que es específico contra un antígeno tumoral, y el llamado anticuerpo efector, que se une de manera específica a la porción CD3 del complejo receptor-antígeno de las células T. El anticuerpo efector activa los LCT en forma antígeno independiente, y los LCT activados producirán la lisis de cualquier célula tumoral que se adhiera a través del anticuerpo de búsqueda. La necesidad de contar con un anticuerpo tumoral específico limita en forma notable el valor de este método experimental, pero un estudio indica que este problema puede solucionarse sustituyendo el anticuerpo de búsqueda en el complejo con hormonas o factores de crecimiento autócrinos. Debido a que muchos tipos diferentes de tumores poseen receptores para estas moléculas, el mismo complejo de anticuerpos anti CD3 y una hormona o factor de crecimiento determinado pueden utilizarse para unir los LCT activados con una gran variedad de células tumorales, por un mecanismo independiente de la composición antigénica del tumor blanco o de la especificidad antigénica de la célula T destructora. Este enfoque experimental aún no ha sido probado en pacientes con cáncer.

INTERFERONES

Los interferones son glucoproteínas antivirales producidas por diversos tipos de células. El IFN- α , producido por leucocitos, produce numerosos efectos sobre el sistema inmune; su eficacia como inmunopotenciador inespecífico para el tratamiento del cáncer en humanos fue apoyada por estudios experimentales realizados en pacientes con mieloma múltiple, cáncer de mama y linfoma maligno. Desde entonces, el IFN- α producido por técnicas de ADN recombinante ha sido probado en estudios clínicos. Es muy eficaz en el tratamiento de algunos tipos de trastornos malignos del sistema inmune, como la leucemia de células peludas, el linfoma de células T, la LLC en etapas iniciales y el linfoma no Hodgkin de grado intermedio.⁴⁹⁻⁵² Por desgracia, casi la mitad de los pacientes con leucemia de células peludas presentan recurrencias en el primer año después de que termina el tratamiento con IFN- α . El IFN- α también es eficaz contra la leucemia mieloide crónica (LMC).⁵³ Los estudios preliminares sugieren que el IFN- α puede ser eficaz contra otros padecimientos linfoproliferativos crónicos, como la policitemia vera, la metaplasia mieloide y la trombocitosis idiopática.⁵⁴

El IFN- α recombinante tiene eficacia moderada en pacientes con mieloma múltiple que no han recibido tratamiento farmacológico o que se han vuelto resistentes a la quimioterapia. Sin embargo, resulta más importante que el tratamiento de mantenimiento con IFN- α prolonga las remisiones inducidas por fármacos y la supervivencia de los pacientes con mieloma múltiple que responden a la quimioterapia de inducción convencional.⁵⁵ La adición de IFN- α a los esquemas quimioterápicos estándar mejora la tasa global de respuesta en los pacientes con mieloma múltiple que producen IgA o proteína de Bence Jones⁵⁶ y en los pacientes con linfoma no-Hodgkin folicular avanzado.⁵⁷

El compuesto tiene actividad antineoplásica moderada contra el melanoma metastásico y el sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA, y puede ser utilizado para controlar la hemangiomatosis y la crioglobulinemia mixta, pero parece ser menos eficaz en el tratamiento de la mayor parte de los tumores

sólidos diseminados.⁵⁸ El IFN- α sí es muy útil para controlar la papilomatosis respiratoria recurrente,⁵⁹ y los hemangiomas graves de la infancia.⁶⁰

Tanto el IFN- α como el interferón gama (IFN- γ) recombinante, una linfocina producida por linfocitos estimulados con antígenos o mitógenos, tienen actividad antitumoral contra la LMC. El IFN- γ puede ser eficaz en pacientes que son resistentes al IFN- α y viceversa. Estos dos interferones actúan en forma sinérgica para inhibir el crecimiento in vitro de las células precursoras hepatopoyéticas circulantes en pacientes con metaplasia mieloide y LMC. Sin embargo, los resultados iniciales de estudios clínicos no muestran ventajas terapéuticas del tratamiento combinado con interferones en pacientes con LMC.⁵⁴ De la misma manera, el IFN- γ no parece ser eficaz contra el mieloma múltiple in vivo, a pesar de que la molécula inhiba in vitro el crecimiento de las células de mieloma.⁶¹

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL Y LINFOTOXINA

El suero de ratones infectados con BCG, e inyectado por vía intravenosa junto con endotoxinas bacterianas, produce necrosis hemorrágica del tumor. Originalmente esta actividad biológica fue atribuida a un solo factor, denominado factor de necrosis tumoral. Estudios subsecuentes han demostrado que esta actividad antitumoral puede ser modulada cuando menos por dos moléculas diferentes, que han sido denominadas FNT- α y FNT- β . Los genes humanos que codifican estas células han sido producidos por clonación. El FNT- α recombinante es tan eficaz como el factor natural para destruir células tumorales in vitro e in vivo. Este factor tiene un efeto citolítico en la tercera parte de los tumores probados, efectos citostáticos en otra tercera parte y carece de efectos en los restantes. Es evidente que la especificidad de este factor por las células tumorales no se relaciona con la presencia de receptores celulares para él. El FNT- α potencia el efecto del IFN- γ , pero se desconoce su mecanismo de acción molecular.

La caquectina humana fue identificada originalmente como un factor secretado por los macrófagos y fue estudiada por su capacidad para inhibir la lipoproteína lipasa en cultivos de adipocitos. La molécula fue producida por técnicas de ingeniería genética y se observó que era idéntica al FNT- α humano. Se considera que el FNT- α /caquectina produce emaciación en pacientes con cáncer o enfermedades parasitarias; este efecto puede limitar su utilidad como agente inmunoterapéutico (ver antes).

La linfotoxina (LT) humana es un producto de los linfocitos estimulados que también ha sido producida por clonación y en la actualidad se denomina FNT- β . El FNT- α y la LT son moléculas relacionadas con una secuencia homóloga parcial de aminoácidos y actividades biológicas que se traslapan pero no son idénticas, incluso en su capacidad para destruir tumores. Ambas citocinas son tóxicas para las células malignas, pero producen poco o ningún efecto lítico sobre los tejidos normales. Además, la LT y el FNT- α se unen a diferentes receptores de superficies celulares y a menudo tienen efectos sinérgicos o aditivos in vitro. Estas observaciones son la base de los estudios clínicos actuales en los que se administran estas citocinas de manera simultánea o secuencial. Se ha producido una proteína que es un híbrido de IFN- γ y de FNT- α . Esta proteína híbrida parece tener mayor actividad antiproliferativa in vitro que cada uno de

los dos factores aislados, y en la actualidad se realizan estudios preclínicos con ella. Por desgracia, la toxicidad grave observada en los primeros estudios ha disminuido el entusiasmo inicial por el uso del FNT- α en el tratamiento del cáncer humano. Se ha producido por medio de ingeniería genética una forma modificada de FNT humano que conserva algunas de las propiedades anticancerosas del FNT- α pero que es mucho menos tóxica; aún no se realizan pruebas clínicas con esta proteína.⁶²

Además de su efecto tumoricida directo, el FNT- α y la LT estimulan la actividad funcional de muchos tipos de células efectoras inmunes, incluyendo los LCT, las células NK y los macrófagos y, por consiguiente, pueden aumentar la resistencia inmune general contra los tumores. Sin embargo, es difícil evaluar la importancia clínica de estos hallazgos in vitro. Por ejemplo, la actividad de las células NK y la producción de monocitos están disminuidas en pacientes que reciben infusiones sistémicas de FNT- α .

INTERLEUCINA-1

La interleucina-1 (IL-1) es un producto de los macrófagos estimulados que tiene actividades biológicas indistinguibles a las del FNT. Los anticuerpos dirigidos contra la IL-1 suprimen la proliferación de las células blásticas en pacientes con LMA. Puede obtenerse el mismo efecto con la forma soluble del receptor de IL-1 y con el antagonista del receptor de la IL-1, un inhibidor que ocurre en forma natural y que bloquea la unión de la IL-1 a su receptor, pero que no tiene actividad agonista.⁶³

INTERLEUCINA-2

La interleucina-2 es una linfocina producida por las células T inductoras-cooperadoras activadas. La infusión continua de IL-2 producida por ADN recombinante o la administración intermitente de IL-2 en combinación con células LAK autólogas (ver antes) induce remisiones en algunos pacientes con tumores diseminados.^{64,65} El efecto colateral adverso más frecuente de este tratamiento es la sobrecarga de líquidos, que ha sido atribuida al aumento de la permeabilidad vascular causado por dosis farmacológicas de IL-2.

En ratones puede de la IL-2 eliminarse la toxicidad, pero no su efecto tumoricida, empleando pentoxifilina. Este medicamento inhibe la producción de FNT, un mediador importante de la toxicidad por IL-2.

OTRAS INTERLEUCINAS

En la actualidad se cuenta con formas recombinantes de algunas otras interleucinas, que pueden aprovecharse para la experimentación clínica. La interleucina-4 (IL-4) y la IL-6 son citocinas con funciones pleiotrópicas, algunas de las cuales podrían aprovecharse con propósitos inmunoterapéuticos. Por ejemplo, la IL-4 estimula las células leucémicas de pacientes con linfoma/leucemia de células T del adulto y la IL-6 es un factor de crecimiento para las células del mieloma. Estas dos citocinas podrían usarse para estimular la división de las células tumorales inactivas, un efecto que haría a estas células

susceptibles a fármacos quimioterapéuticos cicloespecíficos. La IL-4 recombinante inhibe también el crecimiento de algunas líneas celulares de carcinomas pulmonar y renal. La IL-6 inhibe el crecimiento e induce la diferenciación de varias líneas celulares de leucemia mieloide. Es evidente que los resultados de estos estudios in vitro sugieren que está justificado realizar estudios clínicos con IL-4 e IL-6. Sin embargo, la IL-4 suprime la actividad de las células LAK y el IFN- γ antagoniza los efectos de la IL-4 sobre las células B. Por lo tanto, debe explorarse con precaución la combinación de estas citocinas con otras formas de inmunoterapia.

Los estudios piloto indican que la interleucina-7 (IL-7) tiene efectos antitumorales sobre los xenoinjertos de carcinoma de colon humano y que la interleucina-12 (IL-12) aumenta la actividad citolítica de los linfocitos de sangre periférica contra blancos sensibles y resistentes a células NK. Estos datos sugieren que debe estudiarse la posibilidad de administrar inmunoterapia con estas dos interleucinas en pacientes con cáncer.

FACTORES TRANSFORMADORES DE CRECIMIENTO

Los factores transformadores de crecimiento (FTC) son polipéptidos que actúan mediante mecanismos hormonales para controlar la proliferación de muchos tipos celulares. Mientras que el FTC- α es un estimulador clásico del crecimiento celular, el FTC- β inhibe la división de la mayor parte de los tipos celulares. Algunos estudios indican que el efecto terapéutico de los antiestrógenos sobre los tumores de mama dependientes de hormonas pueden ser causados en parte por la estimulación hormonal de la producción de FTC- β por las células tumorales.⁶⁶ Esta observación indica que el crecimiento no controlado de algunas células malignas es causado por el fracaso de las células para producir o responder a los factores de crecimiento negativos que controlan la proliferación de sus contrapartes no malignas. Además, al parecer existen algunos miembros de la familia de las moléculas de los FTC que no inhiben el crecimiento de las células normales, como los progenitores hematopoyéticos. Se ha demostrado que el FTC- β inhibe la proliferación in vitro de las células blásticas de pacientes con LMA. Estas observaciones preliminares indican que los FTC pueden tener potencial terapéutico.

Algunos otros factores de crecimiento que han sido identificados y producidos por clonación molecular pueden resultar útiles en el tratamiento antitumoral. Estos factores pueden estimular o inhibir la proliferación de un determinado tipo de célula, dependiendo de la mezcla de factores que estén presentes al mismo tiempo. Por desgracia, la mayoría de los factores de crecimiento polipeptídicos, incluyendo los FTC, actúan sobre un grupo más grande de células que las determinadas originalmente. Estas acciones pueden producir efectos colaterales clínicamente inaceptables que podrían limitar la utilidad de los factores de crecimiento en el tratamiento del cáncer. Este aspecto es ilustrado por un estudio que relaciona al FNT- β en la patogenia de la mielofibrosis en la leucemia megacariocítica aguda.⁶⁷

OTRAS FORMAS DE INMUNOTERAPIA

Algunos de los métodos más antiguos de inmunoterapia parecen ser de escaso beneficio en pacientes con

cáncer diseminado y en gran parte se han abandonado. Estos métodos incluyen el factor de transferencia, que es un dializador de leucocitos capaz de transferir hipersensibilidad tardía en humanos, la timosina, extracto tímico que reforza la maduración de las células T, el ARN inmune que puede transformar a los linfocitos normales en específicamente citotóxicos contra las células tumorales a las que el donador de ARN inmune ha sido sensibilizado, el levamisol, un fármaco antihelmíntico que aumenta las reacciones de hipersensibilidad tardía en humanos, y las células tumorales modificadas químicamente o por irradiación que se administran combinadas con adyuvantes. Un estudio aleatorio indica que, a diferencia de lo que se pensaba, la enfermedad de injerto contra huésped no impide la recurrencia de las neoplasias hematológicas después del trasplante de médula ósea.⁶⁸ Los adelantos técnicos que permiten la extracción selectiva de los componentes del plasma han fomentado estudios clínicos para evaluar el efecto de la extracción de los denominados factores bloqueadores del cáncer en humanos. Los resultados iniciales logrados con esta forma de inmunoterapia son alentadores.⁶⁹

EFFECTOS INDESEABLES DE LA INMUNOTERAPIA

Muchos de los efectos colaterales no deseables causados por diversas formas de inmunoterapia son manifestaciones predecibles de las actividades biológicas conocidas del agente usado en el tratamiento. Por ejemplo, no es sorprendente que la aplicación de inyecciones repetidas de BCG vivos pueda ocasionar úlceras dérmicas crónicas e infección diseminada por micobacterias, y que la IL-1 y el FNT puedan producir fiebre y dolores óseos.

Además, estudios cuidadosos de pacientes que reciben dosis farmacológicas de citocinas puras han descubierto que estas moléculas poseen actividades biológicas inesperadas. La IL-2 produce retención de líquidos por su acción sobre la permeabilidad vascular y por alterar la homeostasis hemodinámica, y el FNT- α tiene un efecto procoagulante que conduce a un estado de hipercoagulabilidad. Como puede anticiparse, se presenta enfermedad del suero en algunos pacientes tratados con anticuerpos monoclonales de origen murino. La mayoría de estas complicaciones son reversibles si se suspende el tratamiento; sin embargo, se han comunicado varios casos de muertes relacionadas con el tratamiento con IL-2.

INMUNOTERAPIA DE SOSTEN CON FACTORES ESTIMULADORES HEMATOPOYETICOS

Los factores que estimulan la hematopoyesis, como el factor estimulador de las colonias de granulocitos macrófagos (FEC-GM), no sólo regulan la proliferación celular en condiciones normales y de estrés, sino también aumentan la actividad funcional de las células sobre las que actúan. El FEC-GM aumenta la actividad tumoricida de los macrófagos y estimula la producción de interferón y FNT- α por los monocitos. A su vez, el FNT- α humano estimula la producción de FEC-GM. Las formas recombinantes del FEC-GM, del factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G) y de la interleucina-3 (IL-3), que también se denomina factor estimulador de múltiples colonias (multi-FEC), pueden estimular la hematopoyesis en pacientes con síndromes mielodisplásicos.^{70,71} Por otra parte, el FEC-GM, el FEC-G y la IL-3, son estimuladores potentes de la renovación blástica y producen efectos variables in vitro sobre

la diferenciación de los mieloblastos en pacientes con LMA. La observación de que el FEC-GM estimula el crecimiento de las células blastos y la transición a leucemia aguda en los pacientes con síndromes mielodisplásicos desalentó, en un principio, su uso en pacientes con leucemia mieloide aguda. Desde entonces, se ha encontrado que el FEC-GM recluta a los mieloblastos latentes dentro del ciclo celular, y los vuelve más susceptibles, in vitro, a los fármacos específicos de ciclo celular. Los resultados de un estudio sugieren que este efecto puede existir también in vivo y que el tratamiento simultáneo con FEC-GM y la quimioterapia estándar de inducción no sólo mejora la eficacia de esta última, sino que acorta la duración de la neutropenia inducida por medicamentos.⁷² Por desgracia, este resultado no fue confirmado por otro estudio de pacientes con LMA.⁷³ Sin embargo, sí se observó un efecto benéfico en un estudio de FEC-GM como adyuvante a la quimioterapia de inducción en pacientes con linfoma no-Hodgkin.⁷⁴

Aunque su eficacia como agentes inmunoterapéuticos continúa siendo desconocida, los factores estimuladores de colonias producidos por recombinación han demostrado ser muy útiles en el tratamiento de sostén contra el cáncer, por su capacidad para estimular in vivo a las células progenitoras hematopoyéticas normales. Se ha demostrado que el FEC-G, el FEC-GM y la IL-3 pueden reducir la duración de la neutropenia producida por la quimioterapia citotóxica y acelerar la recuperación de la médula en pacientes que han recibido quimioterapia en dosis altas. También se sabe que el FEC-GM puede corregir la leucopenia en pacientes con SIDA y leucemia de células peludas, y puede acelerar la regeneración de granulocitos en pacientes sometidos a tratamiento ablativo de la médula antes de un trasplante de médula ósea.⁷⁵⁻⁸¹ Por consiguiente, estos factores pueden utilizarse para tratar la pancitopenia, una de las principales complicaciones de la quimioterapia que limita la utilidad de esta modalidad de tratamiento. La administración concomitante de fármacos antineoplásicos y de factores estimuladores hematopoyéticos permitirá el uso de una quimioterapia más eficaz y agresiva para disminuir la morbilidad, la mortalidad y el grado de pancitopenia que suele ocasionarse con los agentes citolíticos. En la actualidad, este efecto parece ser el principal beneficio terapéutico de los factores estimuladores de colonias producidos por recombinación. Debido a su seguridad, el FEC-G se ha empleado también para estimular la granulocitopoyesis en donadores que se preparan para someterse a leucoféresis.

Se han clonado ya otros factores que estimulan las células hematopoyéticas. Los estudios preclínicos indican que la interleucina-11 (IL-11) y el factor de células tronco expanden el número de células hematopoyéticas tronco y facilitan la recuperación de plaquetas y neutrófilos (IL-11) o de células eritroides (factor de células tronco) después del trasplante de médula ósea. Estos factores recién caracterizados pueden complementar a la antigua generación de factores estimuladores de colonias recombinantes. Por último, puede ser posible proteger a las células de la médula ósea de los agentes quimioterápicos al suprimir en forma temporal la proliferación de células progenitoras primitivas con reguladores del crecimiento negativos, como la proteína inflamatoria-1 α , inhibidor de células tronco/macrófagos.⁸²

Futuro de la inmunoterapia

Los resultados iniciales obtenidos con los anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos tumorales son alentadores, sobre todo cuando se aplican a muestras *ex vivo* en preparación para trasplantes autólogos. El éxito de este tipo de tratamiento depende sobre todo de si pueden desarrollarse anticuerpos que reconozcan los antígenos de los tumores. Se ha desarrollado un nuevo método para producir una serie de combinaciones de la variedad de inmunoglobulinas en el fago *I*; esta técnica eventualmente sustituirá a la tecnología del hibridoma actual para producir anticuerpos monoclonales contra antígenos específicos. Estas combinaciones deben contener anticuerpos contra todos los determinantes antigénicos reconocidos por el sistema inmune y permitir la detección rápida por los anticuerpos con la especificidad deseada.⁸³ La inmunoterapia eficaz requiere también la conversión de antígenos específicos de tumores a inmunógenos lo suficientemente fuertes para generar una respuesta antitumoral *in vivo*. Se ha demostrado que la fusión del FEC-GM a un idiotipo derivado del tumor expresado en las células B malignas produce una respuesta inmunógena intensa que origina anticuerpos específicos para el idiotipo en ausencia de proteínas transportadoras o adyuvantes.⁸⁴ Este enfoque puede ser útil para diseñar vacunas contra diversos tumores a partir de antígenos que pueden ser generados por tecnología recombinante.

Es muy probable que el uso de anticuerpos monoclonales para la administración dirigida de fármacos, inmunotoxinas o radiación tenga cada vez más éxito. La administración simultánea de interferones puede aumentar la eficacia de otras formas de inmunoterapia que requieren el reconocimiento de antígenos tumorales específicos mediante anticuerpos monoclonales o LCT. Los interferones pueden reforzar la eficacia de estos agentes al aumentar la expresión de los antígenos de histocompatibilidad de clase I y II, y de ciertos antígenos relacionados con tumores.

Tal vez la mayor esperanza en el futuro de la inmunoterapia reside en los continuos adelantos en el conocimiento de la complejidad de las reacciones inmunes del huésped contra los tumores y de la disponibilidad de moléculas efectoras inmunes puras producidas por técnicas de ADN recombinante, que poseen toxicidad diferencial contra las células neoplásicas y normales, estimulan células efectoras o aumentan la susceptibilidad de las células tumorales blanco a los mecanismos efectores inmunes. Los nuevos métodos de intervención inmune que están siendo estudiados en modelos animales incluyen la eliminación de subpoblaciones específicas de células con anticuerpos monoclonales, la orientación de las células T citotóxicas contra blancos específicos, el uso de anticuerpos anti-idiotipo que llevan la imagen interna de los antígenos tumorales, como vacunas antitumorales, y el uso de anticuerpos dirigidos contra los receptores de los factores que controlan el crecimiento celular.

Otro enfoque promisorio para el tratamiento del cáncer es el tratamiento genético. Ya se han iniciado estudios clínicos que incluyen la introducción de genes recombinantes a células humanas. Se está empleando la manipulación genética de células tumorales blanco para restablecer la expresión normal de los productos del CPH en las células tumorales, introducir otras moléculas de superficie a las células moleculares para que los LTC las reconozcan, introducir genes supresores de tumores, incluir genes que vuelvan a las células tumorales susceptibles a factores citolíticos o creen nuevos blancos para los

medicamentos, o insertar genes que codifiquen moléculas que activen la respuesta inmune contra los tumores, como el FEC-GM, las interleucinas y los interferones. Al parecer es factible emplear la ingeniería genética sobre los LIT para aumentar su actividad antitumoral. Además, comienza a vislumbrarse el tratamiento de las neoplasias humanas con nucleótidos sin sentido que desactiven genes específicos en las células tumorales.⁸⁶

El conocimiento de las causas por las cuales algunas formas de inmunoterapia fracasan in vivo permitiría comprender los aspectos inmunológicos de las interacciones tumor-huésped que podrían utilizarse con objetivos terapéuticos. Algunos estudios de esta naturaleza ya han conducido a un descubrimiento inesperado que postula que la resistencia fenotípica a múltiples fármacos no solamente confiere resistencia a un amplio límite de fármacos interrelacionados estructuralmente, sino que también hace resistentes a las células tumorales a la lisis por las células NK.⁸⁷ Si esto mismo fuese válido para otras formas de inmunoterapia, la prioridad de la quimioterapia sobre la inmunoterapia deberá ser reconsiderada. Por otra parte, puede ser posible eliminar las células tumorales resistentes a la quimioterapia con anticuerpos monoclonales contra la glucoproteína P, que se expresa en forma exagerada en las membranas de muchas células resistentes a múltiples fármacos.⁸⁸

Por último, el mejor conocimiento de los aspectos moleculares de la oncogénesis permitirá identificar nuevos objetivos para la intervención inmune, incluyendo proteínas de anclaje codificadas por oncogenes, factores de crecimiento y sus receptores, y los procesos estimuladores por factores tumorales como la angiogenina (un factor angiogénico humano que recientemente ha sido clonado). Los estudios sobre biología de los tumores ya han logrado identificar nuevas formas para reducir la formación de metástasis. Por ejemplo, los factores de motilidad autócrina tumoral inducen pseudópodos que contienen gran cantidad de receptores para las proteínas de la matriz extracelular, como la laminina y la fibronectina, y refuerzan notablemente la migración celular. Esta unión de las células tumorales a la laminina puede inhibirse mediante la administración de un pentapéptido de laminina sintético que disminuye la formación de metástasis en modelos experimentales. Sin duda, el desarrollo de una inmunoterapia eficaz contra las células que escapan de la respuesta inmune, sean tumores, parásitos o microorganismos, sigue siendo uno de los mayores retos de la inmunología básica y clínica.

Bibliografía

1. Old LJ, Boyse EA: Immunology of experimental tumors. *Annu Rev Med* 15:167, 1964
2. Fletcher RH: Cardioembryonic antigen. *Ann Intern Med* 104:66, 1986

3. Feizi T: Demonstration by monoclonal antibodies that carbohydrate structures of glycoproteins and glycolipids are onco-developmental antigens. *Nature* 314:53,1985
4. Springer GF: T and Tn, general carcinoma antigens. *Science* 224:1198,1984
5. Van de Vijver MJ, Peterse JL, Mooi WJ, et al: *Neu*-protein overexpression in breast cancer: association with comedo-type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. *N Engl J Med* 319:1239,1988
6. Peles E, Bacus SS, Koski RA, et al: Isolation of the neu/HER-2 stimulatory ligand: a 44 kD glycoprotein that induces differentiation of mammary tumor cells. *Cell* 69:205, 1992
7. Barton DPJ, Blanchard DK, Michelini-Norris B, et al: High serum and ascitic soluble interleukin-2 receptor levels in advanced epithelial ovarian cancer. *Blood* 81:424,1993
8. Mizoguchi H, O'Shea JJ, Longo DL, et al: Alterations in signal transduction molecules in T lymphocytes from tumor-bearing mice. *Science* 258:1795,1992
9. Wank R, Thomssen C: High risk of squamous cell carcinoma of the cervix for women with HLA-DQw3. *Nature* 352:723,1991
10. Benichou S, Fuks A, Jothy S, et al: Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule. *Cell* 57:327, 1989
11. Pals ST, Horst E, Ossekoppele GJ, et al: Expression of lymphocyte homing receptor as a mechanism of dissemination in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 73:885,1989
12. Kem WF, Spier CM, Hanneman EH, et al: Neural cell adhesion molecule-positive peripheral T-cell lymphoma: a rare variant with a propensity for unusual sites of involvement. *Blood* 79:2432, 1992

13. Dennis JW , Laferte S, Waghome C, et al: [beta]₁₋₆ Branching of Asnlinked oligosaccharides is directly associated with metastasis. *Science* 236:582, 1987
14. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG: Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 64:327, 1991
15. Lagneaux L, Delforge A, Dorval C, et al: Excessive production of transforming growth factor-[beta] by bone marrow stromal cells in B-cell chronic lymphocytic leukemia inhibits growth of hematopoietic precursors and interleukin-6 production. *Blood* 82:2379, 1993
16. Strassmann G, Fong M, Kenney Js, et al: Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. *J Clin Invest* 89:1681, 1992
17. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al: Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 324:1156, 1991
18. Benz EW: Intermediate filament proteins: a molecular basis for tumor diagnosis. *BioTechniques* 3:412, 1985
19. Viola MV, Fromowitz F, Orayezs, et al: Expression of the oncogene p21 in prostate cancer. *N Engl J Med* 314:133, 1986
20. Epstein J, Xiao HQ, He XY: Markers of multiple hematopoietic-cell lineages in multiple myeloma. *N Engl J Med* 322:664, 1990
21. Loughran TP Jr: Clonal diseases of large granular lymphocytes. *Blood* 82:1, 1993
22. Pui C-H, Behm FG, Crist WM: Clinical and biologic relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 82:343, 1993
23. Marcon L, Rubin LA, Kurman CC, et al: Elevated serum levels of soluble Tac peptide in adult T-cell leukemia: correlation with clinical status during chemotherapy. *Ann Intern Med* 109:274, 1988

24. Pui CH, Ip SH, Kung P, et al: High serum interleukin-2 levels are related to advanced disease and a poor outcome in childhood nonHodgkin's lymphoma. *Blood* 70:624, 1987
25. Steis RG, Marcon L, Clark J, et al: Serum soluble IL-2 receptor as a tumor marker in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 71:1304, 1988
26. Pui C-H, Luo X, Evans W, et al: Serum intercellular adhesion molecule-I in childhood malignancy. *Blood* 82:895, 1993
27. Moss TJ, Reynolds CP, Sather HN, et al: Prognostic value of immunocytologic detection of bone marrow metastases in neuroblastoma. *N Engl J Med* 324:219, 1991
28. Robbins BA, Ellison DJ, Spinosa JC, et al: Diagnostic application of two-color flow cytometry in 161 cases of hairy cell leukemia. *Blood* 82:1277, 1993
29. Grogan TM, Lippman SM, Spier CM, et al: Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67. *Blood* 71:1157, 1988
30. Wiersma SR, Ortega J, Sobel E, et al: Clinical importance of myeloid antigen expression in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *N Engl J Med* 324:800, 1991
31. Smith FO, Lampkin BC, Versteeg C, et al: Expression of lymphoid-associated cell surface antigens by childhood acute myeloid leukemia cells lacks prognostic significance. *Blood* 79:2415, 1992
32. Ho AD, Grossman M, Trumper L, et al: Clinical implications of increased plasma levels of CD8 in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 75:1119, 1990
33. Blay J-Y, Burdin N, Rousset F, et al: Serum interleukin-10 in nonHodgkin's lymphoma: a prognostic factor. *Blood* 82:2169, 1993

34. Kuhajda FP , Piantadosi S, Pastemack GR: Haptoglobin-related protein (Hpr) epitopes in breast cancer as a predictor of recurrence of the disease. *N Engl J Med* 321:636, 1989
35. Basset P, Bellocq JP, Wolf C, et al: A novel metalloproteinase gene specifically expressed in stromal cells of breast carcinomas. *Nature* 348:699,1990
36. Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al: Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 324:1,1991
37. Hennessy C, Henry JA, May FE, et al: Expression of the antimetastatic gene nm23 in human breast cancer: an association with good prognosis. *J Natl Cancer Inst* 83:281, 1991
38. CohenJ: Cancer vaccines get a shot in the arm. *Science* 262:841,1993
39. Gastrointestinal Tumor Study Group: Adjuvant therapy of colon cancer-results of a prospective randomized trial. *N Engl J Med* 310:737,1984
40. Lamm DL, Blumenstein BA, Crawford ED, et al: A randomized trial of intravesical doxorubicin and immunotherapy with bacille Calmette-Guérin for transitional-cell carcinoma of the bladder. *N Engl J Med* 325:1205,1991
41. Williams AC, Klein E: Experiences with local chemotherapy and immunotherapy in premalignant and malignant skin lesions. *Cancer* 25:450,1970
42. Fisher RI, Coltman CA, Doroshow JH, et al: Metastatic renal cancer treated with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Ann Intern Med* 108:518, 1988
43. Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al: Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma: a primary report. *N Engl J Med* 319:1676,1988

44. Grossbard ML, Press OW, Appelbaum FR, et al: Monoclonal antibody-based therapies of leukemia and lymphoma. *Blood* 80:863, 1992

45. Oeltmann TN, Frankel AE: Advances in immunotoxins. *FASEB J* 5:2334,1991

46. Amlot PL, Stone MJ, Cunningham D, et al: A phase I Study of an anti-CD22-deglycosylated ricin A chain immunotoxin in the treatment of B-cell lymphomas resistant to conventional therapy. *Blood* 82:2624, 1993

47. Waldmann TA, White JD, Goldman CK, et al: The interleukin-2 receptor: a target for monoclonal antibody treatment of human T-cell lymphotropic virus I-induced adult T-cell leukemia. *Blood* 82:1701, 1993

48. Press OW, Eary JF, Appelbaum FR, et al: Radiolabeled-antibody therapy of B-cell lymphoma with autologous bone marrow support. *N Engl J Med* 329:1219,1993

49. Berman E, Heller G, Kempin S, et al: Incidence of response and long-term follow-up in patients with hairy cell leukemia treated with recombinant interferon alfa-2a. *Blood* 75:839, 1990

50. Bunn PA Jr, Foon KA, Ihde DC, et al: Recombinant leukocyte A interferon: an active agent in advanced cutaneous T-cell lymphomas. *Ann Intern Med* 101:484, 1984

51. Alimena G, Morra E, Lazzarino M, et al: Interferon alpha-2b as therapy for Ph⁺-positive chronic myelogenous leukemia: a study of 82 patients treated with intermittent or daily administration. *Blood* 72:642, 1988

52. Foon KA, Sherwin SA, Abrams PG, et al: Treatment of advanced non-Hodgkin's lymphoma with recombinant leukocyte A interferon. *N Engl J Med* 311:1148, 1984

53. Kantarjian HM, Deisseroth A, Kurzrock R, et al: Chronic myelogenous leukemia: a concise update. *Blood* 82:691,1993

54. Silver RT: Interferon in the treatment of myeloproliferative diseases. *Semin Hematol* 27(suppl4):6, 1990
55. Mandelli F, Avvisati G, Amadori S, et al: Maintenance treatment with recombinant interferon alfa-2b in patients with multiple myeloma responding to conventional induction chemotherapy. *N Engl J Med* 322:1430, 1990
56. Österborg A, Björkholm M, Björemann M, et al: Natural interferon-[alpha] in combination with melphalan/prednisone versus melphalan/prednisone in the treatment of multiple myeloma stages II and III: a randomized study from the Myeloma Group of Central sweden. *Blood* 81:1428,1993
57. Solal-Celigny P, Lepage E, Brousse N, et al: Recombinantinterferon alfa-2b combined with a regimen containing doxorubicin in patients with advanced follicular lymphoma. *N Engl J Med* 329:1608,1993
58. Kirkwood JM, Emstoft Ms, Davis CA, et al: Comparison of intramuscular and intravenous recombinant alpha-2 interferon in melanoma and other cancers. *Ann Intern Med* 103:32, 1985
59. Leventhal BG, Kashima HK, Mounts P, et al: Long-term response of recurrent respiratory papillomatosis to treatment with lymphoblastoid interferon alfa-n1. *N Engl J Med* 325:613,1991
60. Ezekowitz RAB, Mulliken JB, Folkman J: Interferon alfa-2a therapy for life-threatening hemangiomas of infancy. *N Engl J Med* 326:1456, 1992
61. Portier M, Zhang X-G, Caron E, et al: γ -Interferon in multiple myeloma: inhibition of interleukin-6 (IL-6)-dependent myeloma cell growth and downregulation of IL-6-receptor expression in vitro. *Blood* 81:3076,1993
62. Van Ostade X, Vandenabeele P, Everaerd B, et al: Human TNF mutants with selective activity on the p55 receptor. *Nature* 361:266, 1993
63. Estrov Z, Kurzrock R, Estey E, et al: Inhibition of acute myelogenous leukemia blast proliferation by interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist and soluble IL-1 receptors. *Blood* 79:1938,1992
64. Smith KA: Lowest dose interleukin-2 immunotherapy. *Blood* 81:1414,1993

65. Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al: A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokineactivated killer cells and recombinant interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N Engl J Med* 316:889, 1987
66. Knabbe C, Lippman ME, Wakefield LM, et al: Evidence that transforming growth factor-beta is a hormonally regulated negative growth factor in human breast cancer cells. *Cell* 48:417, 1987
67. Terui T, Niitsu Y, Mahara K, et al: The production of transforming growth factor-beta in acute megakaryoblastic leukemia and its possible implications in myelofibrosis. *Blood* 75:1540, 1990
68. Sullivan KM, Storb R, Buckner CD, et al: Graft-versus-host disease as adoptive immunotherapy in patients with advanced hematologic neoplasms. *N Engl J Med* 320:828, 1989
69. Messerschmidt GL, Henry DH, Snyder HW Jr, et al: Protein A immunotherapy in the treatment of cancer: an update. *Semin Hematol* 26(suppl1):19, 1989
70. Ganser A, Volkers B, Greher J, et al: Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes: a phase 1/11 trial. *Blood* 73:31, 1989
71. Ganser A, Seipelt G, Lindemann A, et al: Effects of recombinant human interleukin-3 in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 76:455, 1990
72. Bettelheim P, Valent P, Andreeff M, et al: Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in combination with standard induction chemotherapy in de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 77:700, 1991
73. Estey E, Thall PF, Kantarjian H, et al: Treatment of newly diagnosed acute myelogenous leukemia with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) before and during continuous-infusion high-dose ara-C + daunorubicin: comparison to patients treated without GM-CSF. *Blood* 79:2246, 1992

74. Gerhartz HH, Engelhard M, Meusers P, et al: Randomized, doubleblind, placebo-controlled, phase III study of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjunct to induction treatment of high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 82:2329,1993
75. Shadduck RK: Introduction: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: present status. *Semin Hematol* 29(suppl3):1, 1992
76. Vadhan-Raj S, Broxmeyer HE, Hittelman WN: Use of granulocytemacrophage colony-stimulating factor in hematopoietic disorders: biology and nature of response. *Semin Hematol* 29(suppl3):4, 1992
77. Armitage JO: The use of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in bone marrow transplantation. *semin Hematol* 29(suppl 3):14,1992
78. Rosenfeld CS, Nemunaitis J: The role of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-stimulated progenitor cells in oncology. *semin Hematol* 29(suppl3):19, 1992
79. Clark DA, Neidhart JA: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor with dose-intensified treatment of cancer. *Semin Hematol* 29(suppl3):27,1992
80. Scadden DT: The clinical applications of colony-stimulating factors in acquired immunodeficiency syndrome. *Semin Hematol* 29(suppl 3):33,1992
81. Shadduck RK: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: present use and future directions. *Semin Hematol* 29(suppl 3):38, 1992
82. Dunlop DJ, Wright EG, Lorimore S, et al: Demonstration of stem cell inhibition and myeloprotective effects of SCI/rhMIP1[alpha] in vivo. *Blood* 79:2221,1992
83. Huse WD, Sastry L, Iverson SA, et al: Generation of a large combinatorial library of the immunoglobulin repertoire in phage lambda. *science* 246:1275,1989

84. Tao M-H, Levy R: Idiotypic/granulocyte-macrophage colony-stimulating factor fusion protein as a vaccine for B-cell lymphoma. *Nature* 362:755, 1993
85. Sachs L, Lotem J: Control of programmed cell death in normal and leukemic cells: new implications for therapy. *Blood* 82:15, 1993
86. Calabretta B: Inhibition of protooncogene expression by antisense oligodeoxynucleotides: biological and therapeutic implications. *Cancer Res* 51:4505, 1991
87. Woods G, Lund LA, Naik M, et al: Resistance of multidrug-resistant lines to natural killer-like cell-mediated cytotoxicity. *FASEB J* 2:2791, 1988
88. Kulkarni S, Wang ZM, Spitzer G, et al: Elimination of drug-resistant myeloma tumor cell lines by monoclonal anti-P-glycoprotein antibody and rabbit complement. *Blood* 74:2244, 1989