

UNIVERSITAT AUTONOMA DE BARCELONA
FACULTAT DE MEDICINA

TRATAMIENTO CON INTERLEUKINA 2 EN PACIENTES CON
NEOPLASIA LINFOIDE EN REMISION COMPLETA CON ALTO
RIESGO DE RECAIDA

Memoria presentada por Eva González Barca para optar al grado de Doctor en
Medicina

Barcelona, Mayo de 1997



Institut Català
d'Oncologia

Av. Gran Via s/n, km 2,7
08907 L'Hospitalet. Barcelona
Telèfon (93) 335 76 52
Telefax (93) 263 35 56

El Dr. Alberto Grañena Batista, Doctor en Medicina, Profesor titular del Departamento de Medicina de la Universidad Central de Barcelona,

CERTIFICA: Que la tesis titulada "Tratamiento con interleukina 2 en pacientes con neoplasia linfóide en remisión completa con alto riesgo de recaída", que presenta la Licenciada en Medicina Dña. Eva González Barca, ha sido realizada bajo mi dirección y se halla en condiciones de ser defendida ante el tribunal calificador que se designe.

Barcelona, 29 de Abril de 1997.

Dr. Alberto Grañena Batista



FUNDACIÓ DE GESTIÓ SANITÀRIA DE L'HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU
HOSPITAL UNIVERSITARI DE LA UAB

El Doctor Miguel LLuis Rutllán Bañeres, Doctor en Medicina, Profesor titular del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona,

CERTIFICA: Que la tesis doctoral titulada "Tratamiento con interleukina 2 en pacientes con neoplasia linfoide en remisión completa con alto riesgo de recaída", presentada por Eva González Barca para optar al grado de Doctor en Medicina, tiene el nivel adecuado para una tesis doctoral y reúne las condiciones necesarias para poder ser presentada y defendida.

Barcelona, 8 de Mayo de 1997.

El tutor

Dr. Miguel LLuis Rutllán Bañeres

INDICE

INTRODUCCION	1
I. DESCUBRIMIENTO Y PAPEL FISIOLÓGICO DE LA IL2	2
A. RESPUESTA INMUNE	2
B. CELULAS NK Y LAK	3
II. ESTRUCTURA	4
A. IL2	4
B. RECEPTOR DE IL2	4
III. MECANISMO DE ACCION	7
A. UNION DE LA IL2 CON SU RECEPTOR	7
B. CONTROL DE LA EXPRESION	8
IV. ENSAYOS IN VITRO	10
A. ACTIVIDAD LAK	10
B. MODULACION DE LA ACTIVACION LAK	11
V. ENSAYOS IN VIVO EN MODELOS ANIMALES	13
A. TERAPIA CON IL2 COMO AGENTE UNICO	13
B. CELULAS LAK	13
C. TERAPIA CON IL2 COMBINADA CON OTROS TRATAMIENTOS	14
D. IL2 EN EL TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMOPOYETICOS	15
E. MECANISMOS DE ESCAPE TUMORAL	17
VI. ENSAYOS IN VIVO EN HUMANOS	18
A. RESULTADOS CLINICOS INICIALES	18
B. EFECTOS INMUNOMODULADORES	19
B1. LIBERACION DE OTRAS CITOQUINAS	19
B2. CAMBIOS CUANTITATIVOS EN LOS LINFOCITOS	19

B3. <i>CAMBIOS CUALITATIVOS EN LOS LINFOCITOS</i>	20
B4. <i>CAMBIOS EN LA FUNCION LINFOCITARIA</i>	23
B5. <i>ANTICUERPOS ANTI IL2</i>	24
C. TRATAMIENTO DE NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS	25
C1. <i>LINFOMAS NO HODGKIN</i>	26
C2. <i>LINFOMAS DE HODGKIN</i>	27
C3. <i>LEUCEMIA AGUDA</i>	27
D. LINEAS DE INVESTIGACION ACTUAL	28
D1. <i>ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL</i>	28
D2. <i>DISMINUCION DE LA TOXICIDAD</i>	31
E. PROYECTO ACTUAL	36
OBJETIVOS	37
PACIENTES Y METODOS	39
I. PACIENTES	40
A. CRITERIOS DE INCLUSION	40
B. CRITERIOS DE EXCLUSION	41
C. BREVE DESCRIPCION DE CADA PACIENTE	41
II. TRATAMIENTO CON IL2	46
III. ESTUDIOS ANALITICOS	48
IV. FENOTIPO Y ACTIVIDAD CITOTOXICA	48
A. OBTENCION DE CELULAS MONONUCLEADAS	48
B. ANALISIS FENOTIPICO	49
C. ACTIVIDAD CITOTOXICA	50
V. NIVELES DE SRIL2 Y DE DISTINTAS CITOQUINAS	53

VI.	ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL	54
VII.	ANALISIS ESTADISTICO	56
	RESULTADOS	59
I.	TOLERANCIA Y SEGURIDAD DEL REGIMEN DE TRATAMIENTO EMPLEADO	60
	A. CARACTERISTICAS DE LA POBLACION	60
	B. TOXICIDAD	61
II.	EFFECTOS BIOLOGICOS	64
	A. CAMBIOS EN EL RECUENTO LEUCOCITARIO	64
	A1. <i>LINFOCITOS</i>	64
	A2. <i>EOSINOFILOS</i>	65
	B. CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD CITOTOXICA	67
	B1. <i>ACTIVIDAD NK</i>	67
	B2. <i>ACTIVIDAD LAKe</i>	68
	B3. <i>ACTIVIDAD LAKp</i>	70
	C. CAMBIOS EN EL FENOTIPO LINFOCITARIO	72
	C1. <i>LINFOCITOS ACTIVADOS</i>	72
	C2. <i>LINFOCITOS T HELPER</i>	73
	C3. <i>LINFOCITOS T CITOTOXICOS</i>	75
	C4. <i>LINFOCITOS B</i>	77
	C5. <i>CELULAS NK</i>	79
	C6. <i>EXPRESION DEL RECEPTOR DE LA IL2</i>	86
	D. CAMBIOS EN LOS NIVELES DE SRIL2	89
	E. CAMBIOS EN LOS NIVELES DE DISTINTAS CITOQUINAS	90
	F. CORRELACION CITOTOXICIDAD-FENOTIPO	91
	G. CORRELACION CITOTOXICIDAD-SRIL2	92

III.	FACTORES PREDICTIVOS DE MAYOR ACTIVIDAD CITOTOXICA	93
IV.	ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL	95
V.	SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD	96
	A. RELACION ENTRE PARAMETROS BIOLOGICOS Y LA RECAIDA	96
	B. ESTUDIO CASO-CONTROL DE SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD	97
	DISCUSION	101
I.	TOLERANCIA Y SEGURIDAD DEL REGIMEN DE TRATAMIENTO EMPLEADO	102
II.	EFFECTOS BIOLOGICOS	104
	A. HEMATOLOGICOS	104
	B. INMUNOLOGICOS	105
	B1. <i>LINFOCITOS Y SUS SUBPOBLACIONES</i>	105
	B2. <i>ACTIVIDAD CITOTOXICA</i>	108
	B3. <i>RELACION ENTRE CELULAS NK Y CITOTOXICIDAD</i>	109
	B4. <i>SRIL2</i>	109
	B5. <i>CITOQUINAS</i>	110
III.	FACTORES PREDICTIVOS DE MAYOR ACTIVIDAD CITOTOXICA	112
IV.	ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL	114
V.	SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD	115
VI.	PERSPECTIVAS	117
	CONCLUSIONES	118

BIBLIOGRAFIA 122

APENDICE. CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS 155

ABREVIATURAS PRINCIPALES

IL	Interleukina
NK	Natural killer (célula asesina natural)
LAK	Lymphokine-activated killer (célula asesina activada por linfoquina)
TNF	Factor de necrosis tumoral
IFN	Interferon
TGF-β	Factor de transformación del crecimiento
GM-CSF	Factor de crecimiento de colonias gránulo-monocíticas
TMO	Trasplante de médula ósea
TPHP	Trasplante de precursores hemopoyéticos periféricos
ICT	Injerto contra tumor
EICH	Enfermedad de injerto contra huésped
LNH	Linfoma no Hodgkin
LH	Linfoma de Hodgkin
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LMA	Leucemia mieloblástica aguda
CMN	Células mononucleadas
OMS	Organización Mundial de la Salud
SRIL2	Receptor soluble de la interleukina-2
EMR	Enfermedad mínima residual
PCR	Polimerase chain reaction (reacción en cadena de la polimerasa)
PBS	Tampón salino con fosfato
LDH	Lactato deshidrogenasa

INTRODUCCION

I. DESCUBRIMIENTO y PAPEL FISIOLÓGICO DE LA INTERLEUKINA-2

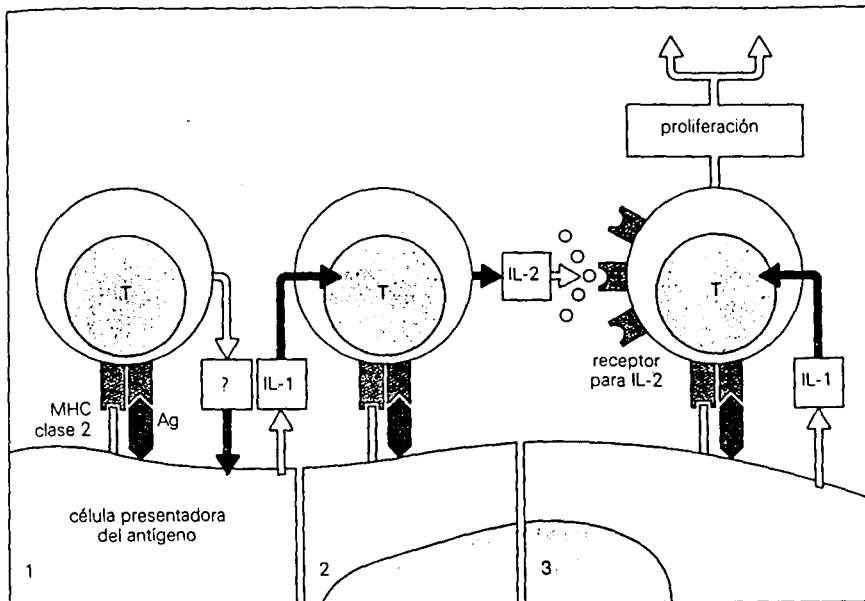
La cirugía, la radioterapia y la quimioterapia solo consiguen la curación del 50% de los pacientes oncológicos, lo que ha hecho imprescindible plantear nuevos enfoques terapéuticos del cáncer. La interleukina-2 (IL2) es una proteína que fue descubierta en 1976 en los laboratorios del National Cancer Institute (Morgan 1976), que es fundamental en la respuesta inmune normal del individuo. Su gen fue clonado en 1984, lo que ha permitido obtener grandes cantidades de IL2 recombinante. A partir de entonces se han desarrollado múltiples ensayos clínicos que han demostrado el efecto antitumoral de la IL2. En Mayo de 1992, la Food and Drug Administration (FDA) aprobó su utilización para el tratamiento del adenocarcinoma renal metastásico, siendo el primer agente biológico aprobado para el tratamiento del cáncer.

A. RESPUESTA INMUNE

La respuesta inmune comienza con la presentación de un antígeno a los linfocitos T helper mediante las "células presentadoras de antígeno", en cuya superficie se forma un complejo constituido por el propio antígeno y por el sistema mayor de histocompatibilidad. Este complejo es reconocido por los linfocitos T, que a su vez liberan un factor que estimula la proliferación clonal controlada de otros linfocitos específicos contra el antígeno.

En 1976, Morgan et al descubrieron un factor de crecimiento de linfocitos T que era capaz de mantener in vitro el crecimiento de los linfocitos T de la médula ósea, y lo denominaron "T cell growth factor" (TCGF) (Morgan 1976). Posteriormente se demostró que este factor era el responsable de la proliferación clonal de linfocitos tras la estimulación antigénica (Smith 1988). A este factor se le conoce hoy día como IL2.

Figura 1. Esquema de la respuesta inmune



B. CELULAS "NATURAL KILLER" Y "LYMPHOKINE-ACTIVATED KILLER CELLS"

En la década de los setenta se observó que algunos linfocitos presentaban una actividad lítica espontánea contra células tumorales y se les denominó "natural killer" (NK) o asesinos naturales (Pross 1977). Posteriormente se ha definido a las células NK como linfocitos grandes granulados capaces de lisar líneas tumorales de forma independiente del sistema mayor de histocompatibilidad (Caliguri 1990).

En cultivos de células mononucleadas (CMN) de sangre periférica incubadas con IL2, se detectaron células que poseían una actividad antitumoral inducida por la IL2. Estas células se denominaron "lymphokine-activated killer cells" (LAK) o células asesinas activadas por linfoquinas. La actividad LAK se dirigía contra las células tumorales tanto autólogas como alogénicas (Grimm 1982a, Grimm 1982b). El mecanismo por el que las células LAK reconocían y eliminaban las células tumorales era independiente del sistema mayor de histocompatibilidad. A partir de este hallazgo surgió la idea de la utilización de la IL2 para el tratamiento de neoplasias.

II. ESTRUCTURA

A. IL2

La IL2 es un polipéptido de 15 kD que es producido por linfocitos T helper activados. Esta formada por 153 aminoácidos, los 20 primeros constituyen el péptido señal de inicio de la traducción y se eliminan cuando se secreta la proteína madura (Taniguchi 1983). Un vez secretada la proteína es glicosilada. No se conoce la función de esta glicosilación, ya que no es necesaria para su actividad biológica (Rosenberg 1984). La proteína forma un puente disulfuro entre los residuos de cisteína 58 y 105 que contribuye a estabilizar su estructura. La IL2 humana ha sido cristalizada y su estructura tridimensional revela que es una molécula esférica que contiene 6 segmentos de α -hélice que forman el 60% de la molécula (Brandhuber 1987).

El gen de la IL2 está situado en el cromosoma 4 y contiene 4 exones y tres intrones (Seigel 1984). El exón 1 codifica el péptido señal y el comienzo de la proteína madura. Los exones 2, 3 y 4 codifican el resto de la secuencia de la proteína.

B. RECEPTOR DE IL2

La actividad biológica de la IL2 tiene lugar mediante la unión a un receptor celular que está compuesto de tres cadenas proteicas: α (p55 o CD25), β (p75 o CD122) y γ . Estas cadenas se unen de forma no covalente para formar un heterodímero.

B1. SUBUNIDAD α

La subunidad α fue la primera caracterizada molecularmente e inicialmente se pensó que era la única proteína que formaba el receptor. Es una proteína transmembrana formada por un péptido señal de 21 aminoácidos unido a la proteína madura de 251 aminoácidos.

Doscientos diecinueve aminoácidos forman una gran región extracelular cuya única función conocida es unirse a la IL2. El resto de la molécula contiene una región transmembrana hidrófoba y una cola intracitoplasmática muy corta de 13 aminoácidos, cuya función es desconocida, pero se sabe que la delección de esta región no produce alteraciones en la unión ni en la internalización de la IL2 (Leonard 1984, Nikaido 1984). Esta subunidad tiene un peso molecular de 55 kD. Una vez traducida sufre una glicosilación variable cuya función es desconocida, ya que no es necesaria para la unión con la IL2.

El gen de la cadena α se encuentra en el cromosoma 10, y consta de 8 exones y 7 intrones (Leonard 1985). El exon 1 da lugar a la mayor parte del péptido señal. La región extracelular, la transmembrana y la intracitoplasmática son codificadas por los exones 2 al 6, 7 y 8 respectivamente.

B2. SUBUNIDADES β y γ

El hecho de que la porción intracitoplasmática de la cadena α fuese demasiado pequeña para explicar la unión con segundos mensajeros, hizo pensar que el receptor de la IL2 estaba compuesto por más de una cadena. En 1989 se clonó una segunda proteína a la que se denominó subunidad β (Hatakeyama 1989a), con un peso molecular de 75 kD, que estaba formada por un péptido señal de 26 aminoácidos, un dominio extracelular de 214 aminoácidos, una región transmembrana de 25 aminoácidos y un dominio intracitoplasmático de 286 aminoácidos. Esta subunidad también se glicosila de forma variable en la zona extracelular. Si se elimina la región intracitoplasmática, el receptor es incapaz de transmitir a la célula la señal de crecimiento (Hatakeyama 1989b).

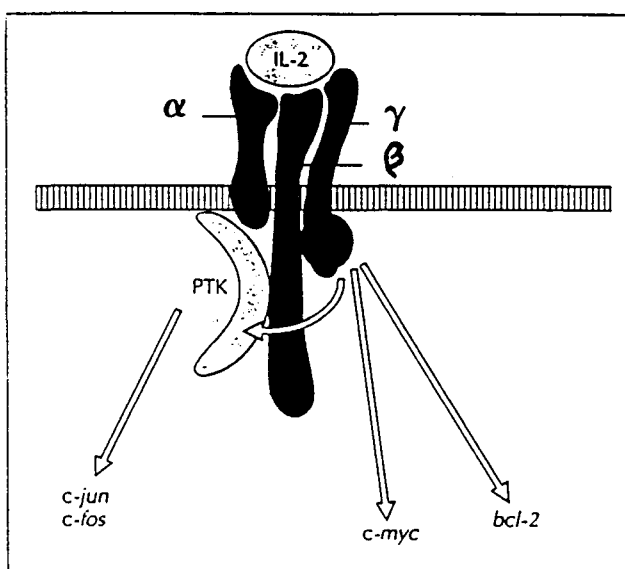
El gen de la cadena β se encuentra en el cromosoma 22 y contiene 10 exones (Shibuya 1990). El exón 1 transcribe una región que no se traduce, el exón 2 transcribe el péptido

señal, los exones 3-7 las regiones extracitoplasmáticas, el exón 8 la región transmembrana y los exones 9 y 10 la región intracitoplasmática.

La cadena γ ha sido la última subunidad descubierta (Takeshita 1992). Tiene un peso molecular de 64 kD y consta de un dominio extracelular de 232 aminoácidos, una región transmembrana de 29 aminoácidos y un dominio intracitoplasmático de 86 aminoácidos. El gen que la codifica se encuentra en el cromosoma X.

El dímero β/γ pertenece a una superfamilia de receptores de citoquinas caracterizada por presentar 4 residuos de cisteína en la región extracelular y una serie de aminoácidos aromáticos espaciados de una manera característica (Minami 1995). A esta familia pertenecen también otros receptores hormonales como el de la interleukina-3 (IL3), interleukina-4 (IL4), interleukina-6 (IL6), interleukina-7 (IL7), factor estimulante de colonias gránulomonocíticas (GM-CSF), eritropoyetina, hormona del crecimiento, y prolactina. Se ha sugerido que todos ellos tienen un gen ancestral común que contenía un rasgo estructural importante para unirse a ligandos helicoidales (Bazan 1990).

Figura 2. IL2 y su receptor



PTK: proteína tirosina kinasa

III. MECANISMO DE ACCION

A. UNION DE LA IL2 CON SU RECEPTOR

La combinación de la expresión de las tres cadenas produce varias formas del receptor: de afinidad baja, cuando sólo se expresa la cadena α (Kd de 10^{-8} M), de afinidad intermedia cuando se expresan las cadenas β y γ (Kd de 10^{-9} M) y de afinidad alta cuando se expresan α , β y γ (Kd de 10^{-11} M) (Robb 1984, Wang 1987, Takeshita 1992). La cadena α se une/desune a la IL2 de forma rápida ($t_{1/2} = 5-10$ segundos) mientras que el dímero β/γ lo hace lentamente ($t_{1/2} = 20-50$ minutos). El receptor completo combina las características de las tres subunidades. De momento no se conocen las bases moleculares de unión entre la IL2 y su receptor.

Tabla 1. Unión de la IL2 con su receptor

Subunidades	Unión IL2 (Kd)	Transducción de señal
α	10^{-8} M	-
β	10^{-7} M	-
γ	No detectable	-
$\alpha\beta$	10^{-10} M	-
$\alpha\gamma$	10^{-8} M	-
$\beta\gamma$	10^{-9} M	+
$\alpha\beta\gamma$	10^{-11} M	+

Tras la interacción con el receptor, la IL2 pasa al interior de la célula en un tiempo que oscila entre 20 y 30 minutos, y posteriormente es degradada en los lisosomas (Weissman 1986). La internalización se acompaña de un descenso del número de receptores, que posiblemente son degradados también.

A continuación se producen una serie de cambios bioquímicos intracelulares que dan lugar a la división celular. Las porciones intracitoplasmáticas de la subunidad β y γ son fundamentales (Nakamura 1994, Nelson 1994), pues se asocian a distintas proteínas con actividad tirosin-kinasa y fosfatidilinositol-kinasa (Minami 1993, Russel 1994, Miyazaki 1994), responsables de la fosforilación de otras proteínas que a su vez activan varios protooncogenes y genes reguladores del ciclo celular: c-fos, c-jun, c-myc y bcl-2 (Shibubya 1992, Minami 1993, Taniguchi 93, Deng 1993, Otani 1993). La expresión de estos genes promueve el paso del estado G^1 a S del ciclo celular, y por tanto, la división celular.

B. CONTROL DE LA EXPRESION

B1. *IL2*

La IL2 es producida por los linfocitos T helper CD4 positivos. La señal biológica para que se produzca IL2 es el estímulo antigénico. Tras la estimulación se detecta IL2 en 4-8 horas, alcanzando niveles óptimos en 24-48 horas (Ullman 1990). La secreción máxima produce una respuesta proliferativa de los linfocitos óptima, en ese momento los niveles de IL2 disminuyen por consumo y por inhibición de su producción. Parece que el punto de control para regular la producción de IL2 se encuentra a nivel de la transcripción (Ullman 1990).

B2. *RECEPTOR*

Los linfocitos T y B en reposo no expresan el receptor de la IL2, y únicamente cuando están activados tras la estimulación antigénica expresan el receptor de alta afinidad (Takeshita 1992). Su activación produce proliferación linfocitaria, aumento de la citotoxicidad y secreción de inmunoglobulinas.

Las células NK expresan el receptor de afinidad intermedia en reposo (Voss 1992). Sólo el 10% de las células NK (las que se caracterizan por una alta densidad de expresión de la molécula de superficie CD56: CD56^{bright}) expresan el receptor de alta afinidad en reposo (Caliguri 1990, Nagler 1990). La unión de la IL2 con las células NK da lugar a su proliferación y a un aumento de su capacidad citotóxica.

La mayoría de los monocitos en reposo expresan el receptor de afinidad intermedia (Espinoza-Delgado 1990). Su activación da lugar a un aumento de producción de otras citoquinas como la interleukina-1 (IL1) y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α). Los neutrófilos expresan el receptor de afinidad intermedia. Su estimulación da lugar a la producción de TNF- α .

Tabla 2. Expresión y función del receptor de la IL2

Tipo celular	Expresión de IL-2R	Consecuencia funcional
Linfocito T		
Reposo	α	No funcionante
Activada	$\alpha\beta\gamma$	Proliferación, citotoxicidad, producción de citoquinas.
Linfocito B		
Reposo	—	
Activada	$\alpha\beta\gamma$	Proliferación, secreción de inmunoglobulinas.
Célula NK (reposo)		
CD56 ^{bright}	$\alpha\beta\gamma$ y $\beta\gamma$	Proliferación, citotoxicidad.
CD56 ^{dim}	$\beta\gamma$	Citotoxicidad, producción de citoquinas.
Monocitos (reposo)	$\beta\gamma$	Citotoxicidad, producción de citoquinas.
Neutrófilos (reposo)	$\beta\gamma$	Producción de citoquinas.

IV. ENSAYOS IN VITRO

Desde la introducción de la IL2 para tratamiento del cáncer se han documentado efectos biológicos e inmunomoduladores reproducibles, sin embargo, ningún parámetro inmunológico se ha podido correlacionar con respuesta clínica, lo que da una idea de la complejidad de los efectos producidos y de su naturaleza multifactorial.

A. ACTIVIDAD LAK

Los efectos fundamentales y mejor caracterizados de la IL2 son los que produce sobre las células NK y sobre los linfocitos T citotóxicos. Estas poblaciones, tras incubarse in vitro con IL2, en ausencia de antígenos o mitógenos, se hacen citotóxicas contra células tumorales resistentes a células NK, lo que se define como actividad LAK (Grimm 1982a, Grimm 1982b).

La actividad LAK es un fenómeno único que se diferencia claramente de otras actividades citotóxicas linfocitarias. Las células NK son las que responden más precozmente, pero si existe suficiente IL2 pueden responder los linfocitos T e incluso otro tipo de células como los monocitos, neutrófilos o los linfocitos B (Damle 1986). La destrucción de células neoplásicas o anormales por las células LAK forma parte del sistema de inmunidad natural independiente del antígeno.

Tabla 3. Sistemas citotóxicos linfocitarios

	NK	LAK	Linfocitos T citotóxicos
Actividad	En reposo	Inducida	Inducida
Dianas	Líneas NK-sensibles seleccionadas	Todos los tumores, incluidos los NK-resistentes	HLA-restringido
Efectora	CD56+CD3-	CD56-/+CD3-/+	CD56-CD3+

B. MODULACION DE LA ACTIVACION LAK

B1. SINERGISMO CON OTRAS CITOQUINAS

Aunque la IL2 in vitro es suficiente para producir actividad LAK, parece que el proceso implica a numerosas citoquinas secundarias. Se ha demostrado una clara sinergia entre la IL2 y el interferón-gamma (IFN- γ) (Papamichail 1992), dependiente de la presencia de monocitos en el cultivo (Itoh 1985). Esta sinergia del IFN- γ parecía deberse a la producción de una segunda sustancia en los monocitos. El primer producto conocido generado por los monocitos en respuesta al IFN- γ fue el TNF- α (Owen-Schaub 1988, Owen-Schaub 1989). Aunque el TNF- α no induce actividad LAK por si solo, si lo hace en presencia de dosis bajas de IL2.

Se ha demostrado también sinergia de la IL2 con la IL1 (Crump 1989). La IL1 produce un aumento de liberación de TNF- α y TNF- β que parece mediar su acción sinérgica (Lazenby 1992). Otra citoquina con la que se ha demostrado sinergia in vitro es con la IL3 (Okuno 1992).

B2. SUPRESION DE LA ACTIVIDAD LAK

B 3 1. Fármacos inmunosupresores.

Los corticoides producen supresión de la actividad de los linfocitos T citotóxicos y de la actividad LAK. La ciclosporina solamente suprime la actividad de los linfocitos T citotóxicos y no la LAK (Grimm 1985).

B 2 2. Factor de transformación del crecimiento-beta (TGF- β).

Los tumores pueden inhibir la respuesta inmune mediante la producción de factores como el TGF- β , que directamente suprime la activación de los linfocitos T. Este factor es también un potente inhibidor de la actividad LAK (Grimm 1991).

V. ENSAYOS IN VIVO EN MODELOS ANIMALES

Se generaron células LAK en el laboratorio incubando CMN con IL2 in vitro. Estas células proliferaban in vivo cuando se infundían en animales de experimentación, si estos animales eran tratados con IL2 (Ettinghausen 1985).

Posteriormente se observó que si a los animales se les trataba solo con IL2, se inducía una proliferación linfocitaria in vivo con actividad LAK antitumoral in vitro, es decir, la IL2 estimulaba la producción de células LAK endógenas (Ettinghausen 1986).

A. TERAPIA CON IL2 COMO AGENTE UNICO

Una vez que se demostró que la administración de IL2 producía células LAK endógenas, se diseñaron ensayos usando IL2 como agente único para tratar distintos tumores en animales. Se comprobó que la inmunoterapia con IL2 producía una disminución significativa de las metástasis pulmonares de sarcoma (Rosenberg 1985a) y que curaba un 50% de los ratones con leucemia (Thompson 1986). Si el tratamiento se retrasaba y la masa tumoral crecía, la respuesta era menor. Las respuestas se relacionaron directamente con las dosis de IL2 utilizadas, sin embargo, las dosis altas se asociaron con una toxicidad importante que aumentaba la morbilidad.

B. CELULAS LAK

Con la intención de conseguir un mayor efecto antitumoral, se desarrollaron estudios en los que no sólo se trataba a los animales con IL2, sino que también se infundían células LAK generadas previamente in vitro. La única condición para que las células LAK proliferaran in vivo era el aporte continuado de IL2. A mayor duración de la administración de IL2 (6 días versus 3 días en ratones) mayor proliferación de las células LAK.

Numerosos estudios con ratones demostraron que la terapia combinada con IL2 y LAK era superior a la de cualquiera de ellos por separado, por ejemplo, en ratones con metástasis hepáticas de sarcoma, la administración de células LAK solas no reducía las metástasis, la IL2 las reducía sólo de forma dosis dependiente, y sin embargo, la combinación de IL2 y células LAK aumentaba de forma significativa la respuesta antitumoral (Mazumder 1984, Lafreniere 1985, Mule 1986, Papa 1986).

C. TERAPIA CON IL2 COMBINADA CON OTROS TRATAMIENTOS

C1. OTRAS CITOQUINAS

Debido a la importante toxicidad que se observaba en los experimentos realizados utilizando IL2, se abrió una nueva línea de investigación tratando de buscar combinaciones de la IL2 con otras citoquinas, con el objetivo de conseguir un efecto sinérgico antitumoral que permitiese reducir las dosis de IL2. La combinación de IL2 y TNF- α se demostró más efectiva en el control de la diseminación tumoral que la IL2 sola en ratones (Agah 1988a, Owen-Schaub 1994). El IFN- α aumentaba la actividad NK y tenía un efecto sinérgico con la IL2 en la generación de células LAK (Cameron 1988). La combinación del IFN- γ , el TNF- α y la IL2 mostró mayor efectividad en la reducción de las metástasis de sarcoma en el ratón (Agah 1988b).

C2. QUIMIOTERAPIA

La IL2 ha demostrado actividad antitumoral frente a neoplasias resistentes a la quimioterapia convencional. Por tanto podría darse la situación de un posible sinergismo en la combinación entre la IL2 y la quimioterapia en los tumores quimiosensibles.

Inicialmente se pensó que las drogas antitumorales, al destruir las células con capacidad precursora de actividad LAK, interferirían en el efecto antitumoral de la IL2 (LoRusso

1990). Sin embargo existen ciertas drogas, como la ciclofosfamida o la mitomicina-C, que utilizadas a dosis bajas tienen efectos inmunomoduladores que potencian los efectos de la IL2 (Mitchell 1992, Arinaga 1994).

D. IL2 EN EL TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMOPOYETICOS

D1. AUTOLOGO O SINGENICO

El papel de la IL2 en el trasplante de médula ósea (TMO) se basa en dos consideraciones: 1) la IL2 raramente consigue erradicar completamente neoplasias avanzadas y 2) las neoplasias hematológicas tienen un alto riesgo de recaída incluso tras TMO. Basándose en el hecho de que la masa tumoral es mínima tras el TMO, se pensó que la IL2 podría ser útil en la erradicación de la enfermedad mínima residual.

Inicialmente se evaluó el efecto que podría producir la incubación de la médula ósea que iba a ser infundida con IL2, sobre todo para evaluar si se provocaban alteraciones en la capacidad de injertar adecuadamente. Se demostró que la incubación de médula ósea de ratón con IL2 daba lugar a la generación de células LAK, que alcanzaban un pico el día 4 de incubación. Pero si la incubación de la médula con IL2 duraba más de 24 horas se retrasaba o se inhibía el injerto, posiblemente por alteración de la adhesión celular (Charak 1990, Charak 1992a).

En ensayos con ratones se observó que la inmunoterapia con IL2 post trasplante autólogo de precursores hemopoyéticos provocaba un efecto "injerto contra tumor" (ICT) (Ackerstein 1991). Solo se necesitaban dosis bajas de IL2 post TMO para mantener la generación de células LAK in vivo (Agah 1989, Charak 1992b). Si se comenzaba la IL2 inmediatamente después de la infusión el efecto antitumoral era mayor que si se retrasaba (Charak 1991). La inmunoterapia no causó en ningún modelo animal enfermedad de injerto contra huésped (EICH) (Charak 1992b).

D2. ALOGENICO

Los problemas fundamentales que se plantean tras un TMO alogénico son el fallo del injerto y la enfermedad de injerto contra huesped (EICH).

D 2 1. Fallo de injerto.

Existen unas células llamadas "veto" en la médula ósea que inhiben el proceso de rechazo. Su origen es oscuro, pero se sabe que tienen un efecto supresor sobre los linfocitos T citotóxicos del receptor (Miller 1980, Muraoka 1984). Se realizaron experimentos con ratones a los que se les trasplantó médula ósea alogénica con depuración de linfocitos T (que aumenta el riesgo de fallo de injerto), y posteriormente se trataron con IL2 por vía sistémica. De esta forma se consiguieron injertos duraderos (Azuma 1988). Por tanto, parecía que la IL2 mejoraba la capacidad de implante, posiblemente por estimulación de las células "veto" (Charak 1992b).

D 2 2. Enfermedad de injerto contra huesped.

La EICH está causada por linfocitos T (Martin 1985), ya que cuando se depura la médula de linfocitos T este efecto se previene, pero aumenta el riesgo de recaída de la enfermedad de base (Martin 1988). Un estudio demostró que si se trasplantaban ratones con médula singénica más alogénica y posteriormente seguían tratamiento con IL2 no se producía EICH, pero se observaba un importante efecto ICT, lo que sugería que la IL2 podía aumentar el efecto ICT sin aumentar la EICH (Slavin 1990, Sykes 1990, Weiss 1994).

E. MECANISMOS DE ESCAPE TUMORAL

Varios ensayos intentaron demostrar la existencia de distintos factores que produjeran resistencia tumoral a la actividad LAK, pero no se consiguieron identificar. Se han dado distintas explicaciones para los casos en los que la IL2 o las células LAK son ineficaces en la erradicación tumoral (Mule 1986):

- Alteraciones en la distribución LAK que les impidan llegar a las células tumorales.
- Secuestro de focos metastásicos en regiones anatómicas no accesibles a las LAK.
- Inhibición de la IL2 por factores séricos.
- Regímenes subóptimos de tratamiento con IL2 y/o LAK.

Por otra parte, poco se sabe del mecanismo por el que las células LAK lisan las células tumorales, por lo que es posible que la susceptibilidad tumoral in vitro a las células LAK no se correlacione con la susceptibilidad in vivo (Bean 1990).

VI. ENSAYOS IN VIVO EN HUMANOS

Basándose en los resultados de los modelos animales, la IL2 se comenzó a utilizar en ensayos clínicos en humanos.

A. RESULTADOS CLINICOS INICIALES

Rosenberg y su equipo en el National Cancer Institute, llevaron a cabo estudios fase I utilizando altas dosis de IL2 y/o infusión de células LAK. Los resultados iniciales fueron publicados entre 1985 y 1989 (Rosenberg 1985b, Rosenberg 1987, Rosenberg 1989a).

Inicialmente demostraron que un gran número de células LAK (hasta 2×10^{11}), podían ser administradas de forma segura con mínima toxicidad, sin embargo no observaron actividad antitumoral. En otros ensayos se administró solamente IL2 utilizando dosis y pautas variables. En estos estudios no se observaron beneficios terapéuticos pero sirvieron para definir el tipo y la severidad de los efectos secundarios asociados a la IL2. Finalmente este grupo observó que la combinación de IL2 con células LAK producía respuestas tumorales objetivas, incluyendo algunas respuestas completas, en pacientes con neoplasia metastásica. Las respuestas fueron más frecuentes en los pacientes con melanoma y con carcinoma renal metastásicos. La mayoría de estas respuestas duraron más de un año, y algunos de aquellos pacientes siguen vivos y libres de enfermedad en la actualidad.

Estos resultados iniciales fueron confirmados por el "Extramural Working Group", un grupo de seis instituciones fundado por el National Cancer Institute para llevar a cabo estudios clínicos fase II con IL2 y células LAK. Se describieron respuestas objetivas en cáncer de colón, linfomas no-Hodgkin (LNH), linfoma de Hodgkin (LH), además de en el melanoma y en el carcinoma renal (Lotze 1986, West 1987, Fisher 1988, Rosenberg 1989a).

El problema fundamental de estos primeros ensayos fue la alta toxicidad del régimen terapéutico, que exigió mantener ingresados a los pacientes en unidades de vigilancia intensiva debido al riesgo de desarrollar el síndrome de aumento de permeabilidad capilar con hipotensión y shock. La mortalidad atribuible a la toxicidad por IL2 fue del 4% (Rosenberg 1989a, Fyfe 1995).

B. EFECTOS INMUNOMODULADORES

La IL2 produjo unos cambios inmunológicos importantes en los pacientes tratados, aunque no se demostró correlación con sus efectos antitumorales (Favrot 1990). Los efectos que se explican en el siguiente apartado se han descrito con la utilización de dosis altas de IL2.

B1. LIBERACION DE OTRAS CITOQUINAS

La IL2 provoca la liberación de otras citoquinas: IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL1, IL5, IL6, y algunos factores de crecimiento hematopoyético como el GM-CSF (Ettinghausen 1987, Heslop 1989, Macdonald 1990). Algunas de estas citoquinas producen adhesión de los leucocitos al endotelio vascular influyendo en los patrones de distribución leucocitaria (Cavender 1987). Se ha descrito que son las responsables de la mayoría de los efectos tóxicos asociados a la administración de IL2: síndrome de permeabilidad capilar (Cotran 1988), mielosupresión (Clerigue 1990), eosinofilia (Macdonald 1990), etc. Por otra parte, algunas de ellas podrían ser las responsables de la regresión tumoral en algunos pacientes (Blay 1990).

B2. CAMBIOS CUANTITATIVOS EN LOS LINFOCITOS

Tras la infusión de IL2 se produce una linfopenia transitoria, que se sigue de una linfocitosis de rebote en pocas horas (Boldt 1988). En tratamientos en bolus la

linfocitosis dura de 4 a 5 días, en los tratamientos en perfusión continua se mantiene mientras dura el tratamiento (Thompson 1988, Thompson 1989, Clark 1990). La linfopenia inicial se produce por un aumento de la adherencia de los linfocitos al endotelio vascular, y la linfocitosis posterior se debe a una disminución de la adherencia y a una proliferación de linfocitos T (Lotze 1985, Urba 1990) y de la población NK (Phillips 1987, Ellis 1988, Urba 1990).

B3. CAMBIOS CUALITATIVOS EN LOS LINFOCITOS

De los modificadores de la respuesta biológica estudiados hasta ahora en humanos, ninguno ha demostrado un efecto tan importante en la composición fenotípica de los linfocitos circulantes como la IL2. Existe una considerable variabilidad en los cambios inducidos en distintos individuos que han recibido idéntico tratamiento con IL2 (Ellis 1988, Favrot 1990). Las alteraciones fenotípicas producidas por la IL2 aumentan con la intensidad de la dosis (Ellis 1988, Goldstein 1989), pero dosis bajas de IL2 dadas de forma repetitiva pueden producir efectos inmunomoduladores mayores que una única administración a dosis altas. La duración de las alteraciones fenotípicas puede ser de días a semanas tras la última administración de IL2, dependiendo de la dosis administrada (Goldstein 1989, Favrot 1990). La IL2 modula la función y la proliferación de una variedad de células, incluyendo células NK, linfocitos T, linfocitos B y monocitos

B 3 1. Efecto sobre las células NK.

La mayoría de las células NK expresan CD56 (CD56+) y son CD3 negativas (CD3-) (Lanier 1986, Lanier 1987). El efecto modulador más importante de la IL2 tiene lugar sobre estas células CD56+ CD3- (Ellis 1988, Urba 1990), que aumentan y llegan a constituir hasta el 70% de todas las células mononucleadas circulantes (Phillips 1987, Ellis 1988, Goldstein 1989, Urba 1990, Favrot 1990).

Como se ha dicho previamente, un 10% de las células NK se caracterizan por una alta densidad de expresión de la molécula de superficie CD56: CD56^{bright}, y el resto presentan una baja densidad de expresión del CD56: CD56^{dim} (Lanier 1986, Lanier 1987). En individuos normales las células CD56^{bright+} son morfológicamente linfocitos grandes agranulares y tienen una actividad NK débil, y las CD56^{dim+} son células efectoras con actividad NK alta. Durante el tratamiento con IL2 la población CD56^{bright+} es la que prolifera fundamentalmente, y funcionalmente tiene una actividad LAK mayor que la población CD56^{dim+} (Ellis 1989, Urba 1990).

El CD16 se expresa en la mayoría de las células CD56+. Las CD56^{bright+} son CD16^{dim+} o CD16- mientras que las CD56^{dim+} expresan un CD16^{bright+} (Ellis 1989, Nagler 1989). Durante el tratamiento con IL2 aumenta el número de células CD16+, aunque estos cambios son menos intensos que los que ocurren en la población CD56+ (Ellis 1989, Weil-Hillman 1989, Urba 1990, Foa 1991a).

El antígeno T de superficie CD2 se expresa aproximadamente en el 80% de las células NK CD56+, y su intensidad de expresión se correlaciona con la intensidad de la expresión del CD56, la fracción CD56^{bright+} es CD2^{bright+} y la CD56^{dim+} es CD2^{dim+} o CD2- (Ellis 1988, Urba 1990). Durante el tratamiento con IL2 aumentan los niveles de CD2 fundamentalmente por la expansión de las células CD56^{bright+}.

Una subpoblación de células NK CD56+ CD3- expresan normalmente niveles bajos de CD8 (CD8^{dim+}). En algunos pacientes tratados con IL2 el número de células CD8^{dim+} aumenta, aunque el porcentaje de CD56+ que coexpresan CD8 no se altera (Phillips 1987, Ellis 1988).

Solo un bajo porcentaje de células CD56+ expresan CD25 (p55 o cadena α del receptor) (Caliguri 1990, Nagler 1990), sin embargo la mayoría expresan CD122 (p75 o cadena β del receptor), y su expresión aumenta durante el tratamiento con IL2 (Voss 1990).

B 3 2. Efecto sobre los linfocitos T.

El número absoluto de linfocitos T CD3+ aumenta tras tratamiento con IL2, pero el porcentaje suele disminuir debido a la mayor proliferación de células CD56+ (Phillips 1987, Ellis 1988, Favrot 1990). La proporción CD4/CD8 se mantiene estable (Kolitz 1987). Existe una pequeña población CD3+ que también expresa CD56 (exclusivamente CD56^{dim+}) que funcionalmente exhiben una citotoxicidad similar a la NK. La mayoría de las células que proliferan durante tratamiento con IL2 son CD3-, y las células CD3+ CD56+ que proliferan lo hacen en el rango de la linfocitosis global producida por la IL2 (Ellis 1988).

La administración de IL2 induce la expresión de HLA-DR en los linfocitos CD3+, lo que indica una activación linfocitaria (Favrot 1990).

En algunos pacientes, se produce un aumento de la expresión de CD25 en las células CD3+, mientras que no ocurre lo mismo con el CD122 (Goldstein 1989, Urba 1990, Favrot 1990).

B 3 3. Efecto sobre otras células.

Existe menos información sobre los efectos del tratamiento con IL2 en otras células circulantes. Aunque el número relativo de monocitos CD14+ no cambia o disminuye durante el tratamiento con IL2, el número absoluto de células CD14+ aumenta (Kolitz 1987, Favrot 1990), y además aumenta la expresión de HLA-DR y de CD25 (Lotze 1987).

En los granulocitos disminuye la expresión de CD16 y se altera la respuesta quimiotáctica, lo que podría explicar la mayor susceptibilidad a las infecciones descrita en los pacientes tratados con IL2 (Jablons 1990).

El número de linfocitos B y sus fenotipos no se alteran (Favrot 1990), el número de eosinófilos aumenta y el número de plaquetas disminuye (Ettinghausen 1987).

B4. CAMBIOS EN LA FUNCION LINFOCITARIA

B 4 1. Citotoxicidad.

B 4 1 1. Actividad LAK.

Durante el tratamiento con IL2 se produce una actividad LAK que no se detecta antes de su administración (Thompson 1988, McMannis 1988, Hank 1988, Ellis 1989, Weil-Hillman 1989, Urba 1990, Foa 1991a). Esta actividad es producida por los linfocitos CD56+ (Weil-Hillman 1989), sobre todo por la población CD56^{bright+} CD16- (Ellis 1989). La generación de actividad LAK depende de la dosis y la forma de administración de la IL2 (Thompson 1988).

B 4 1 2. Actividad NK:

Se ha descrito también que la IL2 produce un aumento de la actividad NK in vivo (Thompson 1988, Rosenthal 1988, Weil-Hillman 1988, Hank 1988, Urba 1990).

B 4 1 3. Otras citotoxicidades:

La citotoxicidad mediada por linfocitos T ha sido poco estudiada. Durante el tratamiento con IL2 se produce una activación de los linfocitos T, sin embargo no se produce ninguna modificación importante en la citotoxicidad mediada por linfocitos T aloespecífica (Rosenthal 1988).

B.4 2. Proliferación.

No se han observado cambios en la respuesta de proliferación linfocitaria a mitógenos inespecíficos como la concavalina A o la fitohemaglutinina tras tratamiento con IL2 (Urba 1990).

La respuesta a células linfoides alogénicas en un cultivo mixto linfocitario no se altera o descende (Rosenthal 1988, Urba 1990, Wiebke 1988).

La respuesta proliferativa contra una batería de antígenos como la tuberculina, el tétanos o la difteria disminuye (Wiebke 1988).

B 4 3. Otros cambios.

Algunos autores han encontrado anergia cutánea a una batería de antígenos durante tratamiento con IL2 (Wiebke 1988), mientras que otros no encuentran dicha alteración (Rosenthal 1988).

No se han descrito cambios significativos en la función de los linfocitos B tras la administración de IL2 (Rosenthal 1988).

Algunos autores han encontrado niveles altos de C3a y C4a en pacientes tratados con IL2 en bolus a dosis altas. Este fenómeno podría explicarse por la activación de la vía clásica del complemento, que podría ser la responsable del desarrollo del síndrome de permeabilidad capilar (Thijs 1990).

B5. ANTICUERPOS ANTI IL2

Se han detectado anticuerpos anti IL2 en pacientes tratados con IL2. Este fenómeno se ha descrito más frecuentemente en pacientes tratados durante más de un mes. Muchos de estos anticuerpos no son neutralizantes y no alteran la actividad biológica de la IL2

(Allegretta 1986, Scharenberg 1994). En general los títulos se normalizan tras la suspensión de la IL2.

C. IL2 EN EL TRATAMIENTO DE NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS

El papel de la IL2 en el tratamiento de enfermedades hematológicas se basa en diversas observaciones:

-En modelos animales la IL2 con o sin células LAK ha erradicado enfermedades hematológicas avanzadas (Thompson 1986).

-Las células de los pacientes con leucemia aguda mieloblástica, leucemia aguda linfoblástica, linfoma, leucemia mieloide crónica y mieloma múltiple son sensibles a la lisis por células humanas LAK in vitro (Beran 1983, Oshimi 1986, Dawson 1986, Lotzova 1987, Shimazaki 1988, Caldera 1992). Dicha sensibilidad no tiene resistencia cruzada con la radioterapia o la quimioterapia.

-Las neoplasias hematológicas se encuentran entre las más sensibles a la quimioterapia y a la radioterapia, por lo que se puede inducir un estado de enfermedad mínima residual con relativa facilidad, estado en el cual la inmunoterapia tiene más posibilidades de ser efectiva.

Se han realizado múltiples ensayos con una gran variedad de esquemas terapéuticos de IL2 y con grupos de pacientes muy heterogéneos que habían recibido previamente muchos tratamientos.

C1. ENSAYOS CLINICOS CON IL2 EN LNH.

El tipo de pacientes tratados y los regímenes utilizados han sido muy heterogéneos. No se han hecho estudios comparativos para evaluar si la dosis de IL2, la forma de administración o el uso concomitante de células LAK contribuye a la eficacia terapéutica. Ciento nueve pacientes con LNH fueron tratados con IL2 sola (70 pacientes) o con IL2 + LAK (39 pacientes) (West 1987, Schoof 1988, Allison 1989, Bernstein 1991, Margolin 1991, Tourani 1991, Gisselbrecht 1992, Weber 1992). Todos los pacientes habían recibido previamente múltiples tratamientos con quimioterapia o radioterapia (algunos habían recaído post TMO autólogo), y la IL2 fue administrada a dosis altas endovenosas estando ingresados en el hospital, sólo 7 pacientes fueron tratados con bajas dosis en bolus endovenosos de forma ambulatoria. Siete pacientes obtuvieron remisión completa de 2 a 23+ meses de duración, y 15 remisión parcial de 1 a 36+ meses de duración, lo que constituye una respuesta global de un 20%. La histología del linfoma sólo se especificaba en 79 casos. De 40 pacientes con linfomas difusos, 3 obtuvieron remisión completa y 4 obtuvieron remisión parcial (respuesta global del 18%), y de los 39 pacientes con linfomas foliculares, 3 obtuvieron remisión completa y 9 obtuvieron remisión parcial (respuesta global del 30%).

Posteriormente uno de los grupos anteriores ampliaron su serie: utilizando dosis altas de IL2 durante 12 días en perfusión continua en 47 pacientes con linfoma en recaída o refractarios a la quimioterapia consiguieron un 27% de respuestas globales con un seguimiento de 3 a 29+ meses. 23 pacientes tenían linfoma difuso de célula grande, de ellos 3 obtuvieron remisión completa y 2 remisión parcial (respuesta global del 21%). 24 tenían linfoma folicular, 1 obtuvo remisión completa y 7 remisión parcial (respuesta global del 33%) (Gisselbrech 1994).

Teóricamente la IL2 podría actuar como un factor de crecimiento in vivo para neoplasias que expresen el receptor de la IL2, como las neoplasias originadas en los linfocitos T. Existen pocos pacientes con linfoma de células T en la literatura que se hayan tratado

con IL2. Algunos de los pacientes tratados han obtenido una respuesta favorable: 4 pacientes con micosis fungoide y 2 pacientes con linfoma T respondieron a la IL2 en una serie global de 18 pacientes con LNH (Gisselbrech 1992). De 7 pacientes con linfoma T cutáneo en recaída o progresión tras dos líneas de tratamiento que recibieron IL2, 3 consiguieron remisión completa y 2 remisión parcial de 6 a 33+ meses de duración (Marolleau 1995). Estos casos, aunque escasos, muestran que la IL2 puede provocar regresión de los linfomas T.

C2. ENSAYOS CLINICOS CON IL2 EN LH.

De un total de 28 pacientes con LH que previamente habían recibido múltiples tratamientos (8 de ellos recaídos tras TMO autólogo), se consiguieron 4 remisiones parciales (12%) de 3 a 11 meses de duración (Paciucci 1989, Margolin 1991, Bernstein 1991, Tourani 1991, Gisselbrech 1992). Gisselbrech y colaboradores no consiguieron ninguna respuesta en 7 pacientes con LH (Gisselbrech 1994).

C3. ENSAYOS CLINICOS CON IL2 EN LEUCEMIA AGUDA.

En pacientes con leucemia aguda se han llevado a cabo ensayos fase I/II. En todos los casos se administró IL2 a dosis altas a pacientes en recaída tras tratamientos de rescate o tras TMO. Los pacientes con enfermedad limitada (<15% de blastos en médula ósea) obtuvieron respuestas completas duraderas cuando se mantenía el tratamiento con dosis bajas durante 5 días al mes (Foa 1990a, Foa 1990b, Foa 1991b, Maraninchi 1991, Lim 1991, Foa 1993, Klingemann 1996).

C4. ENSAYOS CLINICOS CON IL2 EN OTRAS NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS

La IL2 se ha utilizado en el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple en estadio avanzado o en progresión. En una serie de 17 pacientes, en 2 se observó reducción de la masa tumoral y en 4 estabilización de la enfermedad. Las respuestas fueron de corta duración (Peest 1995).

Los hallazgos in vitro descritos sugieren que la respuesta a la IL2 de los pacientes con síndrome mielodisplásico es heterogénea (Ogata 1995). En un paciente con anemia refractaria con exceso de blastos se eliminaron los blastos (de 7% a 0%), desaparecieron los sideroblastos en anillo (de 15% a 0%) y los rasgos displásicos (Toze 1993).

D. LINEAS DE INVESTIGACION ACTUAL

Una vez demostrados los efectos inmunomoduladores y antitumorales de la IL2 in vivo en humanos, se han diseñado estudios para valorar su eficacia en la enfermedad mínima residual (EMR), y la disminución de su toxicidad.

D1. ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL

Las respuestas más favorables obtenidas utilizando IL2 se habían observado en pacientes con escasa masa tumoral. Uno de los modelos clínicos de EMR es el que se consigue tras el TMO.

D 1 1. TMO autólogo

El índice de recaídas es mucho menor en pacientes sometidos a TMO alogénico que a TMO autólogo por el desarrollo del fenómeno ICT (Weisdorf 1987). Las células del donante responsables de este efecto son las células NK. La IL2 estimula la actividad NK

y podría remedar el efecto ICT en pacientes sometidos a TMO autólogo (Oshimi 1986, Lotzova 1987, Hercend 1986).

El tratamiento con IL2 post TMO sería conveniente comenzar lo antes posible, ya que los pacientes con neoplasia hematológica avanzada que recaen post TMO lo hacen precozmente, en los primeros 4 meses. Además, la actividad LAK precursora comienza a detectarse en sangre periférica a las 2 semanas post TMO, y la actividad LAK efectora entre la tercera y la sexta semana (Higuchi 1989, Reittie 1989). Por otra parte hay que tener en cuenta que las dosis altas de quimioterapia o radioterapia utilizadas en el TMO son tóxicas y la IL2 puede aumentar esta toxicidad. Se han descrito efectos tóxicos graves con dosis altas de IL2 administradas de 24 a 48 horas tras el TMO (Gottlieb 1989, Weisdorf 1993), y efectos tóxicos manejables si se comenzaba de 10 a 14 semanas post TMO (Blaise 1990). Las dosis bajas en infusión continua se toleraban entre 6 y 14 semanas post TMO (Soiffer 1992). La dosis máxima tolerada post TMO fue de 3×10^6 U Roche/m²/d (42 UI/m²/d) La toxicidad limitante fué la hipotensión y la trombocitopenia (Higuchi 1991), pero en ningún caso se produjo la pérdida del injerto medular (Gottlieb 1989, Macdonald 1990, Blaise 1990, Blaise 1991, Heslop 1991, Higuchi 1991, Bosly 1992). En cuanto al trasplante de células precursoras periféricas (TPHP), se sabe que existe actividad LAK efectora a las 2 semanas del trasplante y que esta actividad es mayor que tras el TMO autólogo o alogénico (Fegan 1995). El porcentaje de células CD56+ aumenta precozmente, lo que significa que las células precursoras capaces de adquirir actividad LAK inducida por IL2 se recuperan rápidamente (Neubauer 1994).

Los conocimientos que tenemos sobre la utilidad clínica de la IL2 post TMO proceden de estudios no controlados ni aleatorizados, por lo que su utilidad clínica está aún por definir. Todos los niños (7/7) con leucemia aguda linfoblástica (LLA) en segunda o posterior remisión completa, tratados con IL2 post TMO, recayeron en una media de 5 meses (Meloni 1992). En otros trabajos se ha utilizado IL2 post TMO en LLA con respuestas en general poco esperanzadoras, si bien todos los casos tenían un alto riesgo de recaída, ya que se encontraban en segunda remisión o fases posteriores de la

enfermedad (Weisdorf 1993). El grupo de Seattle ha publicado resultados clínicos comparándolos con grupos históricos. Pacientes con LNH, LH, o leucemia mieloide aguda (LMA) en primera o posteriores recaídas que habían sido sometidos a TMO se trataron con altas dosis de IL2, y en algunos casos se añadieron células LAK. En pacientes con linfoma, la probabilidad de recaída fue del 50% a los 4 años, frente al 60-90% del grupo histórico control. En leucemia mieloide aguda la supervivencia libre de enfermedad fue del 70% frente al 30% del grupo control (Fefer 1993, Benyunes 1995), lo que sería atribuible al efecto contra la EMR. Este mismo grupo ha comenzado a desarrollar ensayos prospectivos aleatorizados.

B 1 2. TMO alogénico

La IL2 se ha utilizado post TMO alogénico con depuración de linfocitos T. Los linfocitos T se depuran con la intención de disminuir el efecto EICH, lo que se consigue, pero a costa de un aumento en el fallo del injerto y de un aumento de las recaídas por pérdida del efecto ICT. La IL2 activa a las células NK que son las responsables del efecto ICT y además activa a las células "veto" que permiten que se mantenga el injerto. La actividad NK se recupera de 2 a 3 semanas post TMO alogénico con depuración de linfocitos T, y la LAK efectora a las 4-6 semanas (Rooney 1986, Leger 1987, Reittie 1989).

El Dana Farber Cancer Institute publicó una serie en que se trataron 38 pacientes (de los cuales 21 estaban afectados de leucemia mieloide crónica, 10 de leucemia mieloide aguda, y el resto de otras neoplasias) mediante TMO alogénico con depuración de linfocitos T, seguido IL2 en perfusión continua endovenosa a dosis bajas durante 90 días. Solamente un paciente desarrolló EICH. En el análisis comparando este grupo de pacientes con el grupo histórico, el tratamiento con IL2 se asoció con un aumento de la supervivencia libre de enfermedad (Soiffer 1992, Soiffer 1994).

También se ha utilizado IL2 en perfusión continua endovenosa a dosis bajas después de TMO alogénico no modificado. Diecisiete niños con leucemia aguda en primera recaída o fase posterior de la enfermedad recibieron un TMO alogénico emparentado. Una vez retirados los inmunosupresores y si no había evidencia de EICH, se administró IL2. Sólo 2 pacientes desarrollaron EICH grado II. 10 pacientes (59%) están en remisión completa tras 5 a 67+ meses de seguimiento (Robinson 1996).

D2. DISMINUCION DE LA TOXICIDAD

D 2 1. Papel de las células LAK reinfundidas

Se han obtenido datos comparables en cuanto a respuesta antitumoral utilizando dosis altas de IL2 con o sin células LAK (aproximadamente un 10% de remisiones parciales y un 5% de remisiones completas en pacientes con carcinoma renal metastásico:) (Rosenberg 1989a, Negrier 1989, Abrams 1990, Weiss 1992, Law 1995). Además, las células LAK se han asociado con un aumento de toxicidad por un lado, y de costes por otro, lo que ha dado lugar a que se dejen de incluir en el diseño de nuevos ensayos.

D 2 2. Tratamiento con dosis bajas de IL2

La IL2 a dosis altas se asocia a una morbilidad muy importante y un porcentaje no despreciable de mortalidad, por lo que en ensayos posteriores se ha intentado aumentar su actividad antitumoral disminuyendo su toxicidad.

Regímenes con dosis más bajas han permitido tratar a más enfermos y realizar pautas más prolongadas, tanto en infusión endovenosa como en inyección subcutánea. Estas pautas se han asociado con menor toxicidad y ha permitido que el tratamiento pueda hacerse en régimen ambulatorio.

D 2 2 1. Fundamento biológico de la utilización de dosis bajas.

En los ensayos in vitro se demuestra que las dosis bajas de IL2 producen un aumento de la actividad NK y LAK (Palmer 1994). De hecho, con dosis menores de 3×10^6 UI/m² se alcanzan niveles séricos suficientes para unirse al receptor de alta afinidad de las células NK CD56^{bright}, y se produce la proliferación de las células NK CD56+ que pueden llegar a ser del 60 al 80% de los linfocitos circulantes, es decir, el mismo efecto que se conseguía con dosis más altas (Goldstein 1989). No se ha observado cambio alguno en el número de linfocitos T, de linfocitos B ni en el de monocitos circulantes (Caliguri 1991, Schomburg 1992, Vlasveld 1993, Caliguri 1993).

D 2 2 2. Aplicaciones clínicas de la IL2 a dosis bajas.

1. Inmunodeficiencias:

Se han utilizado dosis bajas de IL2 en los casos en que ésta no se produce de forma adecuada, como son los pacientes con deficiencias congénitas de su producción (Pahwa 1989), pacientes con lepra lepromatosa en los que existe un defecto de reactividad de los linfocitos T contra el micobacterium leprae (Kaplan 1991), y en pacientes infectados por el virus VIH en los que existe un déficit y una disfunción de los linfocitos T helper (CD4+), que son los que en condiciones normales producen IL2 (Tepler 1993, Bernstein 1995).

2. Pacientes con neoplasias:

-IL2 a dosis bajas en neoplasias avanzadas (carcinoma renal o melanoma)

En un estudio randomizado desarrollado en el National Cancer Institute con 125 pacientes diagnosticados de carcinoma renal, las dosis bajas de IL2 administradas en bolus endovenosos eran igual de efectivas que las dosis altas (15% de respuestas versus

20% respectivamente) (Yang 1994). Sin embargo, algunos autores que han utilizado IL2 en infusión continua endovenosa a dosis bajas no han objetivado respuestas clínicas (Richards 1988, Perez 1991), mientras que en otras series se han encontrado resultados comparables a los conseguidos con dosis altas de IL2. El problema fundamental de la infusión continua endovenosa ha sido la alta incidencia de infecciones del catéter (entre el 20% y el 50% de los pacientes) (Schoof 1988, Vlasveld 1992, Soiffer 1994).

Cuando se administra la IL2 por vía subcutánea los efectos secundarios han sido menores que los descritos con la infusión endovenosa. Las respuestas clínicas también han sido variables en los distintos grupos, mientras que unos no han observado respuestas (Whitehead 1990, Angevin 1995), otros han descrito respuestas similares a las obtenidas con dosis altas (Atzpodien 1990, Stein 1991, Sleijfer 1992, Atzpodien 1993, Lindemann 1993). Recientemente, algunos grupos han comenzado a utilizar IL2 por vía subcutánea en pacientes con neoplasias sólidas con EMR tras haber sido tratados con quimioterapia o radioterapia. Guida et al publicaron una serie de 16 pacientes con EMR que recibieron tratamiento con dosis bajas de IL2 durante 6 meses, solo 2 recayeron con una media de seguimiento de superior a 8 meses (Guida 1995).

-IL2 a dosis bajas en el trasplante de médula ósea

Se han publicado diversos estudios utilizando dosis bajas de IL2, administrada por vía endovenosa en infusión continua, en pacientes que habían sido sometidos previamente a TMO autólogo (Soiffer 1992), a TMO alogénico con depuración de linfocitos T (Soiffer 1992, Soiffer 1994), o a TMO alogénico no depurado que no desarrollaran EICH. Los tratamientos se han hecho en todos los casos en régimen ambulatorio, y la toxicidad descrita ha sido mínima. De 25 pacientes tratados con enfermedad hematológica, 6 recayeron, con una media de seguimiento de 21 meses. En un estudio caso-control se describió que la IL2 disminuía el riesgo de recaída (riesgo relativo 0,34, con un intervalo de confianza de 0,14 a 0,82) (Soiffer 1994).

Durante los últimos 2 años se ha comenzado a utilizar IL2 subcutánea durante periodos más largos de tiempo (de 1 a 6 meses) en pacientes post TMO o con EMR. La IL2 subcutánea post TMO produce efectos inmunomoduladores, aumenta la actividad NK y la actividad LAK (Raspadori 1995, Farace 1995), y algunos autores observan una activación de los linfocitos T (Zambello 1994). En el momento actual carecemos aún de información sobre respuestas clínicas en estos pacientes.

D 2 3. Combinación de la IL2 con otros tratamientos

D 2 3 1. Otras citoquinas.

La sinergia observada en ratones con el IFN- α utilizando dosis altas de IL2 no se demostró posteriormente en los ensayos clínicos en humanos (Rosenberg 1989b, Whitehead 1993). Sin embargo la combinación de dosis bajas de IL2 con dosis bajas de INF- α ha producido efectos inmunomoduladores (Maxwell 1993, Schneekloth 1993, Prigione 1993), y resultados clínicos similares a los obtenidos con dosis altas de IL2 en pacientes con carcinoma renal o melanoma, pero con una toxicidad muchísimo menor, pudiéndose completar los tratamientos de forma ambulatoria (Vogelzang 1993, Keilholz 1994, Atzpodien 1995). En un estudio randomizado de 425 pacientes con carcinoma renal, utilizando IL2 en infusión continua a dosis bajas versus IL2 subcutánea más IFN- α subcutáneo, las respuestas fueron similares (15% versus 20% respectivamente), pero la toxicidad fue mucho menor en el grupo en que se había utilizado la vía subcutánea (Palmer 1993). La combinación IL2 e IFN- α también se ha comenzado a utilizar en pacientes con enfermedades hematológicas en situación de EMR, incluso post TMO. La tolerancia ha sido buena y se ha producido inmunomodulación, aunque aún no se han evaluado respuestas clínicas (Morecki 1992).

La combinación de la IL2 con IFN- γ no ha dado resultados clínicos satisfactorios (Yoneda 1992, Baumgarten 1994, Lummen 1996). El uso de IL2 más IL1 potencia in

vivo la actividad citotóxica y es bien tolerado pero no se han estudiado las respuestas clínicas (Triozi 1995).

La combinación con GM-CSF potencia la actividad LAK, al parecer mediante la estimulación de los precursores linfocitarios T en vez de las células NK (Stewart-Akers 1993). En la actualidad se están desarrollando ensayos clínicos utilizando esta combinación, pero aún carecemos de resultados publicados sobre la eficacia de esta combinación.

D 2 3 2. Quimioterapia.

Algunos autores destacan el aumento de la capacidad de generar células LAK in vitro si se añade mitomicina C a la IL2 (Arinaga 1994). Dosis bajas de ciclofosfamida parece que aumentan la capacidad citolítica in vivo de la IL2 (Wersall 1993). En pacientes con carcinoma avanzado no se ha demostrado un aumento de respuestas (Verdi 1992, Quan 1994), excepto algún grupo que ha descrito buenas respuestas en melanoma (Mitchell 1992).

D 2 3 3. Neurohormonas.

La melatonina parece potenciar los efectos inmunomoduladores de la IL2 (Lissoni 1995a, Lissoni 1995b), y se objetivan algunas respuestas en pacientes con neoplasia sólida avanzada excluyendo carcinoma renal y melanoma (Lissoni 1994).

D 2 3 4. Otros tratamientos.

La IL2 también se ha utilizado en combinación otras sustancias que han demostrado potenciar su acción inmunomoduladora: histamina (Brune 1996), ranitidina (Nielsen 1995), L-Arginina (Lieberman 1992), mientras que otras combinaciones no han

demostrado aumento de su eficacia: anticuerpos anti TGF- β (Mao 1994), anticuerpos anti CD3 (Sosman 1995).

D 2 4. Administración local

Otra línea de investigación que se ha seguido para intentar disminuir toxicidad en tumores sólidos es la administración de IL2 localizada en la zona del tumor, en vez de utilizarla de forma sistémica. Se han tratado neoplasias del sistema nervioso central a través de un reservorio de Omayá (Nakagawa 1995), neoplasias intrabdominales mediante inyecciones intraperitoneales (Freedman 1994, Goey 1995), carcinoma renal inyectando la IL2 a través de la arteria renal (Hayakawa 1994), e incluso IL2 inhalada en pacientes con neoplasia de pulmón (Huland 1994). En todos los casos la toxicidad ha sido muy escasa y en algunas ocasiones los resultados clínicos han sido prometedores.

E. PROYECTO ACTUAL.

Partiendo de los antecedentes expuestos previamente, se ha realizado un estudio prospectivo de tratamiento con IL2 en pacientes con alto riesgo de recidiva y en situación de "EMR". Se ha elegido una pauta de tratamiento subcutáneo con dosis intermedias de IL2, efectiva y bien tolerada según estudios previos: $4,5 \times 10^6$ UI/d, 5 días por semana, durante un periodo de 90 días. Se han seleccionado pacientes con neoplasia de origen linfoide B, de los que un subgrupo como el linfoma folicular presentan un marcador molecular de EMR (el reordenamiento del gen bcl-2), que puede ser detectado mediante técnicas moleculares.

OBJETIVOS

1. Evaluar la tolerancia y seguridad del régimen de tratamiento con IL2 a dosis de $4,5 \times 10^6$ UI/día, 5 días por semana durante 12 semanas consecutivas, administrada por vía subcutánea, en pacientes con neoplasia linfoide en remisión pero con un alto riesgo de recaída:

2. Evaluar los cambios inmunológicos que produce el tratamiento con IL2 a dosis de $4,5 \times 10^6$ UI/día, 5 días por semana durante 12 semanas consecutivas, administrada por vía subcutánea, en pacientes con neoplasia linfoide en remisión pero con un alto riesgo de recaída:

3. Evaluar la eficacia de la inmunoterapia con IL2 a dosis de $4,5 \times 10^6$ UI/día, 5 días por semana, administrada por vía subcutánea, respecto a la supervivencia libre de enfermedad, en pacientes con neoplasia linfoide en remisión completa pero con alto riesgo de recaída.

PACIENTES Y METODOS

I. PACIENTES

El ensayo se ha llevado a cabo en el Hospital Duran i Reynals (Ciutat Sanitaria y Universitaria de Bellvitge), en el servicio de Hematología Clínica, donde se tratan pacientes adultos. Desde Enero de 1995 a Diciembre de 1996 se incluyeron en el estudio 15 pacientes consecutivos con neoplasia linfoide en remisión completa tras tratamiento convencional o trasplante de precursores hematopoyéticos, pero con alto riesgo de recaída.

A. CRITERIOS DE INCLUSION

-Leucemia aguda linfoblástica (LLA): todos ellos se consideraron pacientes con alto riesgo de recaída.

-Linfoma no Hodgkin (LNH) de bajo grado: pacientes en remisión completa pero con evidencia de enfermedad mínima residual detectada por métodos moleculares.

-Linfoma no Hodgkin de grado intermedio: en 2ª remisión completa o fase posterior de la enfermedad. También se consideraron pacientes de alto riesgo de recaída aquellos en 1ª remisión completa con al menos 2 factores de mal pronóstico en el momento del diagnóstico (LDH sérica elevada, afectación extraganglionar, enfermedad voluminosa de más de 10 cm).

-Linfoma no Hodgkin de alto grado: todos ellos se consideraron pacientes con alto riesgo de recaída.

-Linfoma de Hodgkin (LH): pacientes en estadios avanzados (III-IV) en 2^a remisión completa o fase posterior de la enfermedad. También se consideraron pacientes de alto riesgo de recaída aquellos con estadios avanzados en 1^a remisión completa con al menos 2 factores de mal pronóstico en el momento del diagnóstico (síntomas B, afectación extraganglionar, masa voluminosa de más de 10 cm)

B. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Pacientes con evidencia clínica, radiográfica o histológica de progresión de la enfermedad de base.
- Pacientes con leucemias o linfomas de origen linfocitario T por el posible riesgo de estimular la clona tumoral.
- Pacientes que habían recibido previamente tratamiento con IL2.
- Pacientes con enfermedad hepática, renal o cardíaca severa según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ().
- Pacientes con un índice de Karnofski < 70% (Karnofski 1948).
- Pacientes HIV positivos.
- Mujeres embarazadas.

C. BREVE DESCRIPCION DE CADA PACIENTE

Paciente nº1.

Varón de 44 años diagnosticado de LNH de bajo grado folicular estadio IV-A en Abril de 1993. Tras 8 ciclos de quimioterapia tipo CHOP (ciclofosfamida, adriamicina, vincristina y prednisona) y radioterapia sobre masa paravertebral, consigue remisión completa. Recae en noviembre de 1993, recibe quimioterapia tipo C-MOPP (ciclofosfamida, vincristina, procarbina y prednisona), consiguiendo una segunda

remisión completa, momento en que se practica TMO autólogo usando como acondicionamiento ciclofosfamida e irradiación corporal total.

Paciente n°2.

Mujer de 45 años diagnosticada de LLA común en Junio de 1991. Recibe quimioterapia tipo PETHEMA (ciclofosfamida, vincristina, daunorrubicina, asparraginas, prednisona, metotrexate), y radioterapia holocraneal consiguiendo remisión completa. Recae en Diciembre de 1995, recibe quimioterapia de rescate tipo MECA (mitoxantrone, etopósido, carboplatino y arabinósido de citosina), y consigue una segunda remisión.

Paciente n°3.

Varón de 15 años diagnosticado en 1987 de LLA en otro hospital. Recibe varios regímenes de quimioterapia consiguiendo diversas remisiones hasta Septiembre de 1994 en que consigue una 3ª remisión completa y es remitido a nuestro centro para TMO alogénico. Recibe acondicionamiento con ciclofosfamida e irradiación corporal total. Tras un mes de aplasia el paciente se recupera con celularidad autóloga en remisión completa.

Paciente n°4.

Mujer de 26 años diagnosticada de LH estadio III-A en Abril de 1992 en otro centro. Recibe 9 ciclos de quimioterapia tipo C-MOPP consiguiendo remisión completa. Recae en Junio de 1994, recibe tratamiento con 6 ciclos de quimioterapia tipo alternante C-MOPP/ABVD (ciclofosfamida, vincristina, procarbacin, prednisona, adriamicina, bleomicina, vinblastina y dacarbacin) con buena respuesta, pero con persistencia de enfermedad retroperitoneal. La paciente se somete a TMO autólogo recibiendo acondicionamiento con ciclofosfamida e irradiación corporal total, consiguiendo remisión completa tras el trasplante.

Paciente nº5.

Mujer de 48 años diagnosticada de LNH folicular estadio III-A en Junio de 1989. Recibe 8 ciclos de quimioterapia tipo CHOP consiguiendo remisión completa. Recae en Diciembre de 1994 en estadio IV, recibe 6 ciclos de quimioterapia tipo C-MOPP y consigue una segunda remisión completa.

Paciente nº6.

Varón de 39 años diagnosticado de LH IV-B en Octubre de 1991 en otro hospital. Recibe varios regímenes de quimioterapia y radioterapia consiguiendo diversas remisiones hasta Junio de 1995 en que consigue una 3ª remisión parcial y es remitido a nuestro centro para TMO autólogo. Recibe acondicionamiento con CBV (ciclofosfamida, BCNU y etopósido). El paciente consigue remisión completa tras el trasplante.

Paciente nº7.

Varón de 34 años diagnosticado en Agosto de 1994 de LH estadio IV-B con afectación pulmonar. Se realizó una neumonectomía derecha al diagnóstico por la sospecha de carcinoma pulmonar. Recibió tratamiento con 6 ciclos de quimioterapia tipo Híbrido (ciclofosfamida, vincristina, procarbacin, prednisona, adriamicina, bleomicina, vimblastina), consiguiendo remisión completa. La neumonectomía le excluyó como candidato a TMO por afectación de las pruebas funcionales respiratorias.

Paciente nº8.

Varón de 38 años diagnosticado en Agosto de 1995 de LNH de célula grande estadio IV-B con lesiones óseas líticas. Recibe 6 ciclos de quimioterapia tipo CHOP consiguiendo remisión parcial, persistiendo lesiones tumorales esplénicas y lesiones líticas en esqueleto axial. Se practica TPHP tras acondicionamiento con BEAM (BCNU, etopósido, arabinósido de citosina y melfalan). Tras el trasplante solo persistían las lesiones líticas residuales.

Paciente nº9.

Varón de 31 años diagnosticado en Marzo de 1989 de LH estadio III-A. Tras 6 ciclos de quimioterapia tipo C-MOPP consigue remisión completa. Recae a los 3 años, recibe tratamiento con quimioterapia tipo ABVD y radioterapia local sobre enfermedad voluminosa en cabeza de páncreas, y tras una segunda recaída se somete a un TMO autólogo acondicionándose con busulfan, melfalan y thiotepa. Recae de nuevo al año del trasplante, tras 4 ciclos de quimioterapia tipo CEP (CCNU, etopósido y prednisona) vuelve a conseguir remisión completa.

Paciente nº10.

Mujer de 63 años diagnosticada en Septiembre de 1994 de LNH folicular estadio IV-A. Recibe 6 ciclos de quimioterapia tipo C-MOPP consiguiendo remisión completa pero con mínima infiltración medular detectada por métodos moleculares.

Paciente nº11.

Mujer de 19 años diagnosticada de LLA en Agosto de 1995. Tras fracasar a la primera línea de tratamiento con quimioterapia tipo PETHEMA, consigue remisión completa con una quimioterapia de segunda línea tipo MECA. Es sometida entonces a TMO autólogo, recibiendo acondicionamiento con ciclofosfamida e irradiación corporal total.

Paciente nº12.

Varón de 52 años diagnosticado en Junio de 1992 de LNH de célula grande estadio III-B. Consigue una primera remisión completa con 8 ciclos de CHOP, pero recae en diversas ocasiones, siempre manteniendo la médula ósea sana, hasta que tras una 4º remisión se somete a un TPHP autólogo acondicionándose con ciclofosfamida e irradiación corporal total.

Paciente nº13.

Varón de 56 años diagnosticado en Septiembre de 1994 de LNH de célula grande estadio IV-A. Tras una segunda remisión completa después de recibir tratamiento con quimioterapia tipo CHOP y tipo MEP (mitoxantrone, etopósido y prednisona), se somete a TPHP autólogo. A los 6 meses post trasplante vuelve a recaer y consigue una 3ª remisión tras quimioterapia tipo Standford (ciclofosfamida, VP-16, procarbacin y prednisona).

Paciente nº14.

Varón de 57 años diagnosticado en Julio de 1991 de LNH de célula grande estadio III-A. Tras 6 ciclos de quimioterapia tipo CHOP consigue remisión completa. Recae 3 años después, y con tratamiento con quimioterapia de segunda línea tipo Standford consigue una segunda remisión.

Paciente nº15.

Varón de 32 años diagnosticado en Julio de 1995 de LH estadio IV-B. Tras recibir tratamiento con 6 ciclos de quimioterapia tipo Híbrido consigue remisión parcial. Se somete a TPHP autólogo tras acondicionamiento con ciclofosfamida e irradiación corporal total, tras lo cual consigue remisión completa.

II. TRATAMIENTO CON IL2

El protocolo de tratamiento con IL2 fue aprobado por el Comité Etico de la Ciutat Sanitaria y Universitaria de Bellvitge y por el Ministerio de Sanidad. De todos los pacientes se obtuvo consentimiento informado. Se elaboró un cuaderno de recogida de datos (ver apéndice).

El tratamiento con IL2 se comenzó lo más precozmente posible tras el tratamiento con quimioterapia o el TMO, tan pronto como los pacientes cumplían las siguientes condiciones:

- Tener más de $1 \times 10^9/l$ granulocitos y más de $30 \times 10^9/l$ plaquetas sin soporte trasfusional
- Encontrarse afebril sin estar recibiendo antibióticos o tratamiento antifúngico, con excepción del tratamiento profiláctico.
- Presentar toxicidad cardíaca, pulmonar, neurológica, renal, hepática o gastrointestinal secundaria a la quimioterapia y la radioterapia inferior al grado II según criterios de la OMS().
- No recibir esteroides, pentoxifilina o factores de crecimiento desde al menos 10 días antes al comienzo del tratamiento con IL2.

Se utilizó IL2 recombinante humana (Proleukin , EuroCetus Corporation, Amsterdam, The Netherlands). La actividad de la IL2 se expresa en unidades internacionales: 1,1 mg de IL2 contiene 18×10^6 UI de actividad.

El régimen de tratamiento consistió en administrar dosis de $4,5 \times 10^6$ UI al día, de lunes a viernes, durante 12 semanas consecutivas, por vía subcutánea, en régimen ambulatorio.

Las dosis de IL2 se modificaron según la toxicidad que presentaran los pacientes. Si aparecía toxicidad grado III (o toxicidad grado II cardíaca o neurológica) se debía

reducir la dosis al 50%, si no se volvía a una situación basal o a una toxicidad grado I se debía suspender la IL2 hasta alcanzar la situación basal o la toxicidad grado I. Entonces la IL2 era administrada de nuevo al 50% de la dosis inicial. Si volvía a aparecer toxicidad grado III se suspendía la IL2 y el paciente era retirado del estudio. En pacientes con toxicidad grado IV o toxicidad grado III neurológica o cardíaca se tenía que suspender el tratamiento con IL2 y retirarlos del estudio.

Se realizaron controles clínicos completos previamente al inicio de la IL2, y, durante el periodo de tratamiento semanalmente o cada 15 días, según las necesidades de cada caso. En dichas visitas se evaluaban los síntomas, se hacía una exploración física completa del paciente, y se realizaba un hemograma completo con recuento leucocitario y plaquetar, así como un estudio bioquímico los iones séricos, de la función renal, y de la función hepática. Tras la supresión de la IL2, se hicieron seguimientos mensuales o trimestrales según las necesidades en cada caso.

III. ESTUDIOS ANALITICOS

El hemograma completo se realizó automáticamente mediante un analizador Cobas Argos (Roche). Se realizaron extensiones de sangre periférica teñidas con May-Grünwald-Giemsa, que eran revisadas manualmente por un hematólogo.

Las pruebas bioquímicas consistieron en la determinación de: urea, creatinina, transaminasas, gamma-glutamilttransferasa, fosfatasa alcalina, proteínas totales, albúmina, sodio, potasio, calcio, uratos, glucemia, y LDH, mediante un analizador automático 747 de Hitachi, utilizando los reactivos de Boehringer Manhein.

IV. FENOTIPO Y ACTIVIDAD CITOTOXICA

A. OBTENCION DE CELULAS MONONUCLEADAS (CMN)

Se recogieron 15 ml de sangre heparinizada de todos los pacientes incluidos en el protocolo antes de comenzar el tratamiento con IL2, y, posteriormente cada 2 semanas hasta completar el tratamiento.

Paralelamente se obtuvieron muestras de sangre heparinizada de donantes sanos procedentes del Banco de Sangre de la Ciudad Sanitaria y Universitaria de Bellvitge. Se estudiaron un total de 43 donantes sanos. Los resultados obtenidos en cada prueba se utilizaron para compararlos con los resultados obtenidos por los pacientes.

Para obtener CMN se centrifugó la sangre completa 5 minutos a 1500 rpm y se extrajo el plasma que quedaba como sobrenadante. El concentrado celular se diluyó en PBS en proporción 1:4 (v:v). La obtención de CMN se basó en las diferencias de densidad que presentan los diferentes tipos de células sanguíneas: los eritrocitos de aproximadamente 1,090 gr/ml, los granulocitos 1,080 gr/ml y las CMN 1,070 gr/ml (Boyum 1968). Para

la purificación de estas últimas se utilizó la centrifugación en un gradiente de densidad de 1,077 gr/ml (Ficoll-Paque, Pharmacia LKB, Piscataway, NJ, USA), y se recogió la banda de células que quedaba inmediatamente por encima del gradiente. La viabilidad celular se determinó por la tinción vital de azul de trypan, y fue superior al 98%.

B. ANALISIS FENOTIPICO

Para determinar el fenotipo de las poblaciones de CMN se analizó la presencia de antígenos de membrana específicos utilizando fluorescencia directa. Para cada determinación se lavaron 5×10^5 CMN con una solución de PBA-azida: PBS + 1% p/v de albúmina de suero bovino (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) + 0,1% p/v de azida sódica (Merck, Darmstadt, Germany). Una vez lavadas, las células se incubaron con anticuerpos monoclonales de las diferentes moléculas de superficie conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE) o proteína clorofil-perinidina (PerCP), en PBA-azida, durante 20 minutos, a 25°C en la oscuridad. Posteriormente las muestras se lavaron dos veces con PBA-azida. Para lisis los eritrocitos que pudieran quedar, se incubó la muestra de CMN con una solución de lisis (Optilyse, Immunotech, Marseille, France) durante 5 minutos.

Las IgG₁-FITC, IgG_{2a}-PE, e IgG₁-PerCP se utilizaron como control de la fluorescencia inespecífica (Simultest Control, Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA). Las células (al menos 10^4) se analizaron eligiendo la ventana de los linfocitos mediante citometría de flujo (EPICS ELITE, Izasa-Coulter) con láser de Argón de 488 nm. El análisis de los datos se realizó mediante el *software* del citómetro EPICS ELITE.

Se utilizaron los siguientes anticuerpos monoclonales conjugados con PE o FITC: anti LFA-3 o CD2-FITC (Izasa-Coulter, Madrid, Spain), CD8-PE (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), anti receptor Fc-IgG o CD16-FITC (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), anti N-CAM o CD56-PE (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), CD69-

PE (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), CD71-FITC (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), HLA-DR-PE (Immunotech, Marseille, France), cadena α del receptor de la IL2 o CD25-PE (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), CD11a-FITC (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), cadena β del receptor de la IL2, p75 o CD122 (Endogen).

Se utilizaron los siguientes dobles conjugados PE/FITC: CD14-PE /CD45-FITC (Izasa-Coulter, Madrid, Spain), anti linfocito T helper o CD4-PE/ anti linfocito T citotóxico o CD8-FITC (Izasa-Coulter, Madrid, Spain), CD19-PE/CD2-FITC (Immunotech, Marseille, France).

Finalmente para realizar análisis multidimensionales con triple marcaje se utilizó el anticuerpo monoclonal CD3-PerCP (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA).

C. ACTIVIDAD CITOTOXICA CELULAR

C1. ACTIVIDAD NK

Se ha valorado mediante el método de liberación de ^{51}Cr radiactivo (Cr^*) en 4 horas. Se sembraron triplicados de CMN efectoras con las siguientes cantidades de células: 4×10^5 , 2×10^5 , 1×10^5 , 5×10^4 , $2,5 \times 10^4$, $1,25 \times 10^4$, diluidas en 100 μl de medio de cultivo: RPMI 1640 (Biological Industries, Kibbutz Beth Haemek, Israel) + L-Glutamina 2mM (Flow) + Piruvato sódico 1mM (Flow) + Penicilina 100 UI (Eurobio) + Sulfato de Estreptomicina 10 $\mu\text{g/ml}$ (Eurobio) + Suero Bovino Fetal 10% (Biological Industries). Se utilizó una placa de 96 pocillos de base redonda (Costar). Como célula diana se utilizó la línea celular K562 sensible a la actividad NK. Se incubaron 4×10^6 células K562 con 200 μCi de $^{51}\text{Cr}^*$ (200 μCi de $\text{Na}_2^{51}\text{Cr}^*\text{O}_4$, con una actividad específica de 11342 MBq/mg, Megdenix Diagnostic, Fleurus, Belgium), durante 1 hora a 37°C en una atmósfera de humedad saturante y con presión de CO_2 constante al 5%.

Posteriormente se lavaron con PBS y se dejaron liberando $^{51}\text{Cr}^*$ durante 45 minutos, para después volver a lavar con PBS y por último resuspendirse en medio de cultivo. Estas células diana marcadas se sembraron junto con las células efectoras a una concentración de $2 \times 10^4 / 100 \mu\text{l} / \text{pocillo}$, dando lugar a diferentes cocientes de células efectoras (CMN)/células diana (K562) que iban desde 20:1 a 0,62:1. La placa se incubó durante 4 horas a 37°C en un ambiente con CO_2 al 5%. La liberación espontánea de $^{51}\text{Cr}^*$ (Ls) se determinó incubando las células diana con $100 \mu\text{l}$ de medio de cultivo, y la liberación máxima (Lm) se determinó añadiendo $100 \mu\text{l}$ de SDS al 0,1% a las células diana para romperlas. Tras la incubación se centrifugó la placa durante 5 minutos a 1500 rpm y se extrajeron $100 \mu\text{l}$ del sobrenadante de cada pocillo. La cantidad de $^{51}\text{Cr}^*$ liberado en cada alícuota o liberación del test (Lt) se valoró en un contador gamma (1261 Multigamma, LKB-Wallac). La liberación específica (Le) expresada en porcentaje se calculó como la media de los triplicados, según la siguiente fórmula:

$$\text{Liberación específica (Le) (\%)} = \frac{\text{Liberación del test (Lt)} - \text{Liberación espontánea (Le)}}{\text{Liberación máxima (Lm)} - \text{Liberación espontánea (Le)}}$$

La actividad NK se expresó en unidades líticas (UL)/ 10^9 células efectoras (CMN), a partir de la fórmula descrita por Davidson (Davidson 1977), que define una UL como la capaz de causar la lisis específica de una célula diana durante 4 horas de incubación.

La UL se calcularon a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{UL}/10^9\text{CMN} = -\ln(1-\text{Le}) \times \frac{\text{número de células diana}}{\text{numero de células efectoras}}$$

Los resultados son expresados en UL/ml de sangre en vez de en UL/10⁹ CMN para expresar mejor el nivel de citotoxicidad sistémica.

C2. ACTIVIDAD LAK

La metodología utilizada fue la misma que la ya referida para determinar actividad NK, con las siguientes diferencias:

-Las células diana utilizadas fueron de la línea celular Raji, resistente a la actividad NK. 10⁷ células Raji diana se marcaron con ⁵¹Cr* en las condiciones descritas con anterioridad.

-Para determinar la actividad LAK efectora (LAKe, aquella propia de las CMN de cada paciente en un momento dado), se sembraron 100 µl de células efectoras (CMN) en las concentraciones descritas previamente por triplicado, 50 µl de 2x10⁴ células Raji y 50 µl de medio de cultivo para mantener el volumen final de 200 µl.

-Para determinar la actividad LAK precursora (LAKp, actividad LAK que desarrollan las CMN de los pacientes tras su estimulación con IL2 in vitro), se sembraron 100 µl de células efectoras (CMN) en las concentraciones descritas previamente por triplicado, y 50 µl de IL2 a una concentración de 300 U/ml. Las placas se incubaron durante 72 horas a 37°C y 5% de CO₂, después de lo cual se añadió a cada pocillo 50 µl de 2x10⁴ células diana Raji.

La actividad LAKe y LAKp se calcularon mediante las fórmulas descritas previamente.

V. NIVELES DEL RECEPTOR SOLUBLE DE LA IL2 Y DE DISTINTAS CITOQUINAS

Se recogieron 10 ml de sangre coagulada, que fueron centrifugados a 2000 rpm durante 5 minutos. Se recogió el suero del sobrenadante y se guardaron alícuotas congeladas a -70°C .

Los niveles séricos del receptor soluble de la IL2 (SRIL2), IL4, IL6, IFN- γ , TNF- α y TGF- β se cuantificaron mediante enzimoimmunoensayo (E.L.I.S.A.) específico (Biotrak, Amersham, Little Chalfont Buckinghamshire, England), según las instrucciones del fabricante. Se estudiaron dos diluciones de cada muestra.

El dintel de sensibilidad de detección del SRIL2 fue de 200 pg/ml. La sensibilidad de detección de las distintas citoquinas fue: para la IL4 de 2 pg/ml, para la IL6 de 1 pg/ml, para el IFN- γ de 2 pg/ml, para el TNF- α de 5 pg/ml y para el TGF- β de 4 pg/ml.

VI. ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL

La mayoría de los pacientes con linfoma folicular tienen un marcador molecular de enfermedad mínima residual (EMR). Para su detección se utilizaron células de médula ósea de los pacientes, y se aplicó la técnica de la PCR para amplificar la región de la translocación entre el gen bcl-2 y la cadena pesada de las inmunoglobulinas (JH) .

Para esta amplificación, se utilizaron dos juegos distintos de oligonucleótidos cebadores suministrados con el equipo comercial "TransPrimersTM" (Calbiochem, Oncogene Resesarch Products). El primero de ellos (MBR1/JH1) es capaz de amplificar el 90% de las translocaciones que tienen lugar en la región MBR (región de rotura mayor o "major breakpoint region") del gen bcl-2. El segundo juego de primers (MCR1/JH1) amplifica las translocaciones en las que el punto de ruptura del gen bcl-2 se sitúa en una región denominada MCR (región de rotura menor o "minor cluster region"), donde se localiza una menor proporción de rupturas. El cebador utilizado para la amplificación que reconoce la zona JH es común en ambos casos, dado que las rupturas en el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas suele tener lugar en la misma zona.

Como controles de la reacción de PCR se analizaron paralelamente DNA procedente de muestras de sangre periférica de donantes sanos como controles negativos, y DNA procedente de líneas celulares como controles positivos para las translocaciones en la zona MCR y MBR. Finalmente, en cada reacción se procesaba un tubo en el que no se introducía DNA, como control negativo de la reacción, para asegurar la ausencia de contaminaciones durante todo el procedimiento.

La reacción de PCR se realizó siguiendo las indicaciones que acompañan al equipo comercial de oligonucleótidos. Una vez amplificadas las muestras se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 0.8% y posteriormente se transfirieron a una membrana de nylon para ser hibridadas con oligonucleótidos específicos de las zonas

MBR (sonda MBR2) y MCR (sonda MCR2) marcados radioactivamente, que eran suministrados en el equipo comercial.

El límite de detección de esta técnica, evaluado mediante diluciones de la línea celular Karpas en CMN de donante sano, es de una célula portadora de la translocación entre 10^6 de células normales.

VII. ANALISIS ESTADISTICO

El análisis descriptivo de los datos se ha expresado como medias, medianas e intervalos de confianza del 95% para las variables de naturaleza cuantitativa, y como porcentajes para cada categoría de las variables cualitativas.

En todo el trabajo se han considerado estadísticamente significativos los valores de p inferiores a 0,05.

Para determinar si los cambios que se producían en ciertas variables durante el tratamiento con IL2 eran estadísticamente significativos y si seguían una tendencia determinada, se ha utilizado el análisis de la varianza para múltiples medidas repetidas (MANOVA). Cuando en alguna ocasión no se pudo determinar la actividad citotóxica en algún paciente en un momento del tratamiento por contaminación de las células diana, para poder realizar el test estadístico se interpoló el valor obtenido de la media entre el valor anterior y el posterior. Dada la dispersión y la asimetría en la distribución de las variables, el test se ha aplicado utilizando sus valores logarítmicos, excepto en la variable LAKe debido a la existencia de valores iguales a cero.

En aquellos casos en que las variables no seguían ninguna tendencia en función del tiempo, se han comparado los valores medios previos al tratamiento con los valores medios durante el tratamiento, mediante el test no paramétrico bivariado para muestras dependientes de Wilcoxon.

La comparación de las variables de los pacientes antes de comenzar el tratamiento con los controles normales se realizó mediante el test no paramétrico para muestras independientes U de Mann-Whitney.

Para estudiar las correlaciones entre las distintas variables se ha hecho la media de las diferentes mediciones de cada variable para cada paciente y se ha analizado mediante el coeficiente de correlación de Pearson para variables continuas. Las representaciones gráficas se han realizado estandarizando los valores de las variables, restando a cada valor la media y dividiéndola entre la desviación estándar.

Con la intención de conocer si en algún grupo de pacientes la IL2 producía una mayor inmunomodulación que en otros, se ha estudiado la actividad LAKe en función de determinadas características de los pacientes. Se creó una variable consistente en la diferencia entre la actividad LAKe a la 8 semana de tratamiento (momento en que ya se había alcanzado un “plateau” en sus niveles) menos la actividad LAKe previa al tratamiento, y se buscó si existía alguna diferencia entre la magnitud del incremento de actividad LAKe según el sexo, la edad, la enfermedad de base, el número de remisión, haber sido sometido a TMO y la precocidad del inicio del tratamiento. El análisis estadístico se realizó mediante el test no paramétrico para muestras independientes U de Mann-Whitney.

Aunque la toxicidad no es un factor predictivo de respuesta inmunomoduladora, se analizó si la severidad de la toxicidad se asociaba con una mayor actividad citotóxica. Se utilizó un sistema de puntuación para tratar de cuantificar la toxicidad, adjudicando a cada efecto tóxico una puntuación del 1 al 4 según los grados de toxicidad de la OMS, y sumando todos los que iban apareciendo en cada paciente. Por ejemplo, si un paciente tenía una toxicidad hepática grado 2, se le adjudicaba un 2, y si además tenía una astenia grado 1 se le adjudicaba un 1, se sumaban ambas toxicidades, y se consideraba que la puntuación de toxicidad de este paciente era de 3. El análisis estadístico se realizó mediante el test no paramétrico para muestras independientes U de Mann-Whitney.

El efecto del tratamiento con IL2 sobre la supervivencia libre de enfermedad se evaluó en los 14 pacientes que completaron el tratamiento. La comparación se ha hecho con un

grupo de pacientes controles, caracterizados por tener la misma enfermedad de base y estar en remisión completa con alto riesgo de recaída, pero que no habían recibido IL2. El tiempo de recaída se consideró desde la fecha de la última quimioterapia recibida, por lo tanto, sólo se seleccionaron controles que no hubieran recaído en los tres primeros meses tras la última quimioterapia, para que hubieran podido recibir tratamiento con IL2. El grupo control histórico que cumplía las características antes citadas fue de 22 pacientes. Teniendo en cuenta que en este grupo control el seguimiento era más prolongado que en los pacientes tratados con IL2, se realizaron las comparaciones limitando el tiempo de seguimiento a 2 años, dado que este ha sido el tiempo máximo de seguimiento de los casos. Para evaluar si las dos poblaciones eran comparables, se utilizaron tablas de contingencia y se compararon mediante el test de chi-cuadrado (estadístico de Pearson). Las curvas de supervivencia libre de enfermedad se construyeron mediante el método de Kaplan-Meier. Para el análisis estadístico de la diferencia de supervivencia se utilizaron las pruebas de contraste: log-rank, Breslow y Tarone-Ware.

RESULTADOS

I. TOLERANCIA Y SEGURIDAD DEL REGIMEN DE TRATAMIENTO EMPLEADO

A. CARACTERISTICAS DE LA POBLACION.

Durante un periodo de 2 años fueron incluidos en el presente estudio 15 enfermos con neoplasia linfoide en remisión pero con alto riesgo de recaída (Tabla 1).

Tabla 1. Características de la población.

Caso	Edad	Sexo	Enfermedad de base	TMO
1	44	V	LNH - 2ªRC	SI
2	45	M	LLA - 2ªRC	NO
3	15	V	LLA - 3ªRC	SI
4	26	M	LH - 2ªRC	SI
5	48	M	LNH - 2ªRC	NO
6	39	V	LH - 3ªRC	SI
7	34	V	LH - 1ªRC	NO
8	38	V	LNH - 1ªRC	SI
9	31	V	LH - 4ªRC	NO
10	63	M	LNH - 1ªRC	NO
11	19	M	LLA - 1ªRC	SI
12	52	V	LNH - 4ªRC	SI
13	56	V	LNH - 3ªRC	NO
14	57	V	LNH - 2ªRC	NO
15	32	V	LH - 1ªRC	SI

RC: remisión completa

La edad media de la población fue de 39 años (rango: 15-63), 10 eran hombres y 5 mujeres. Siete de ellos estaban diagnosticados de LNH (47%), 5 de LH (33%) y 3 de LLA-B (20%). Siete enfermos (47%) se habían sometido a TMO o a TPHP. Once enfermos (73%) estaban en segunda o posteriores remisiones. El tiempo medio entre el final de la quimioterapia (o del acondicionamiento en los pacientes sometidos a TMO o a TPHP) y el comienzo de la IL2 fue de 89 días (rango: 22-210).

B. TOXICIDAD

Ningún enfermo precisó ingreso durante el periodo de tratamiento. Todos los pacientes completaron el régimen terapéutico excepto el paciente n°13, en el que hubo de suspenderse durante la cuarta semana debido a que se objetivó progresión de la enfermedad. Las dosis se tuvieron que reducir al 50% en 4 enfermos (26%) por toxicidad grado III, en el paciente n°6 por toxicidad hematológica (trombopenia) y hepática (colostasis), y en los enfermos n°10, n°11 y n°15 por astenia intensa y disminución del índice de Karnofski hasta el 70%.

Todos los pacientes presentaron reacción cutánea local en el lugar de la inyección. Esta reacción local consistió en una tumefacción con un área media de 4,5 cm de diámetro (2-10 cm) con signos inflamatorios: calor, rubor y dolor, de 3 a 4 días de duración. En algunos pacientes persistió un nódulo subcutáneo no doloroso que desapareció lentamente en los meses siguientes.

En 2 pacientes (n°9 y n°11) apareció una pequeña banda monoclonal IgG durante el tratamiento que desapareció al concluirlo.

El paciente n°8 desarrolló una artritis bilateral en ambas muñecas, con radiografías normales, que se resolvió con tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos.

Ningún paciente desarrolló toxicidad grado IV de ningún tipo. Tampoco desarrollaron toxicidad cardíaca ni neurológica (Tabla 2).

Tres pacientes (n°7, n°11 y n°15) desarrollaron una infección respiratoria (bronquitis aguda) durante el tratamiento, que fue tratada con antibióticos orales, experimentando buena evolución sin precisar ingreso hospitalario. De estos 3 pacientes, 2 habían sido sometidos a TMO y tenían un alto riesgo de infecciones ya que se encontraban en los 100 primeros días tras el trasplante, y el tercero había sido sometido a una neumonectomía derecha antes de

comenzar el tratamiento con IL2, y ya tenía historia previa de infecciones respiratorias de repetición.

Tabla 2. Pacientes que presentaron efectos tóxicos clínicos.

	n (%)	Grado de la OMS			
		I	II	III	IV
Astenia	14 (93)	9	2	3	-
Fiebre	11 (73)	3	8	-	-
Náuseas/Vómitos	5 (33)	5	-	-	-
Diarreas	2 (13)	2	-	-	-
Rash	4 (27)	4	-	-	-
Dolor articular	4 (27)	4	-	-	-
Infección	3 (20)	-	3	-	-
Hemorragia	0 (0)	-	-	-	-
Disnea	0 (0)	-	-	-	-
Cambios peso	0 (0)	-	-	-	-
Arritmia	0 (0)	-	-	-	-
Insuf. cardiaca	0 (0)	-	-	-	-
Hipotensión	0 (0)	-	-	-	-
Convulsiones	0 (0)	-	-	-	-

Las complicaciones analíticas se muestran en la tabla 3. Como puede observarse, ningún paciente desarrolló toxicidad renal.

Tabla 3. Pacientes que presentaron trastornos analíticos.

	n (%)	Grado de la OMS			
		I	II	III	IV
Plaquetopenia	8 (53)	2	5	1	-
Leucopenia	3 (20)	1	2	-	-
Anemia	3 (20)	3	-	-	-
Transaminasas elevadas	8 (53)	6	2	-	-
GGT* elevada	8 (53)	4	4	-	-
Fosf. alcalina elevada	5 (33)	4	-	1	-
Bilirrubina elevada	1 (7)	1	-	-	-
Creatinina elevada	0 (0)	-	-	-	-
Urea elevada	0 (0)	-	-	-	-

*GGT: gamma-glutamyltransferasa

El máximo descenso en el índice de Karnofski de los pacientes atribuible a la IL2 se detalla en la Tabla 4.

Tabla 4. Índice de Karnofski

Karnofski	n (%)
70%	3 (20)
80%	2 (13)
90%	9 (60)
100%	1 (7)

II. EFECTOS BIOLÓGICOS

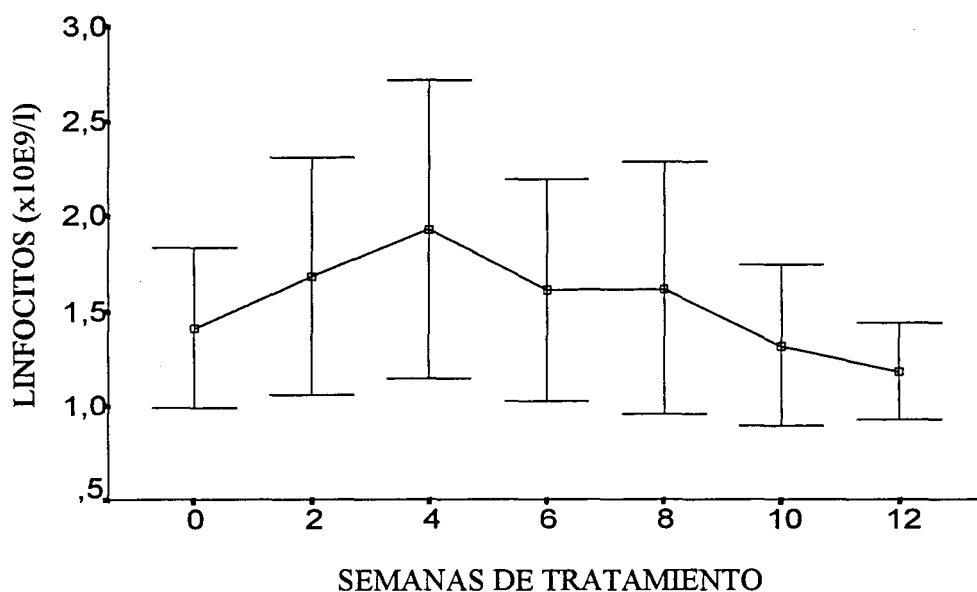
A. CAMBIOS EN EL RECUENTO LEUCOCITARIO

Durante el tratamiento se producen una serie de cambios en las poblaciones leucocitarias.

A1. LINFOCITOS

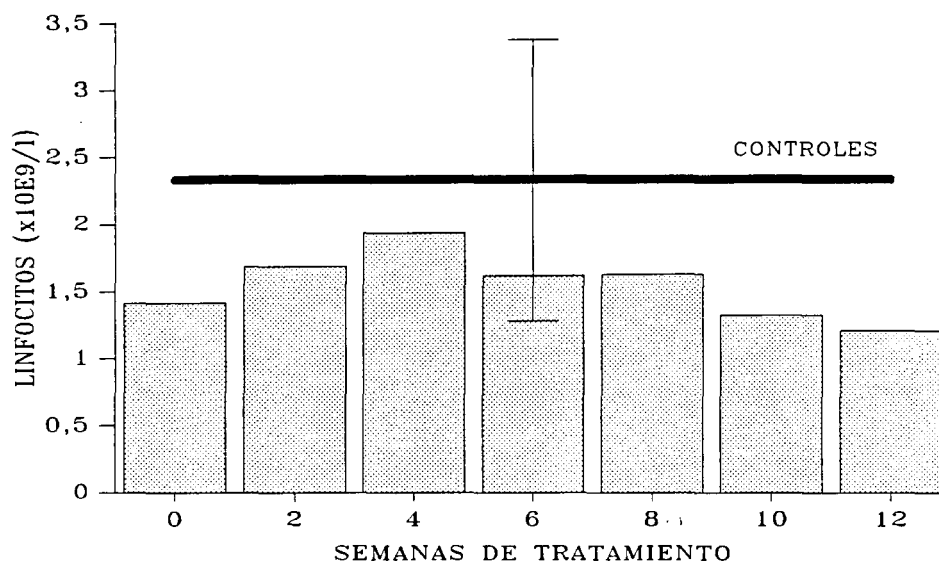
Los cambios en el número de linfocitos se pueden observar en la Figura 1. El número de linfocitos aumenta ligeramente durante el primer mes de tratamiento, pasando de $1,4 \times 10^9/l$ a $1,9 \times 10^9/l$, y después va disminuyendo hasta llegar a cifras de $1,2 \times 10^9/l$, que son ligeramente inferiores a las previas al inicio del tratamiento. Estos cambios que se producen a lo largo del tratamiento no son estadísticamente significativos ($p=0,6$).

Figura 1. Evolución en el número de linfocitos durante el tratamiento con IL2. Los resultados son los valores medios de los pacientes con un intervalo de confianza del 95%.



En la Figura 2 se observa que el número de linfocitos de los pacientes antes de comenzar el tratamiento es menor que la cifra de linfocitos de los controles normales, pero se encuentra dentro del intervalo de la normalidad ($1,2 \times 10^9/l$ a $3,4 \times 10^9/l$).

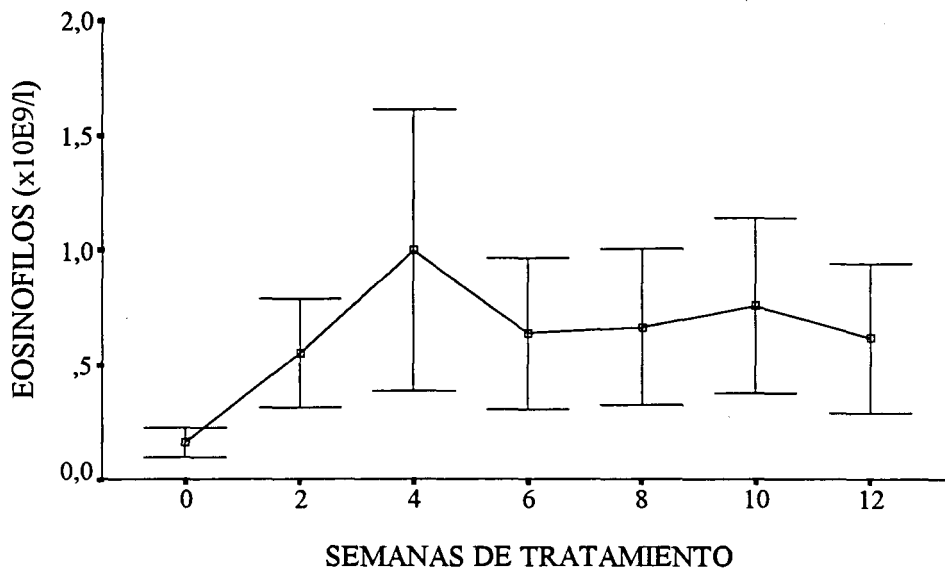
Figura 2. Comparación de la cifra de linfocitos entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y con la de los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



A2. EOSINOFILOS

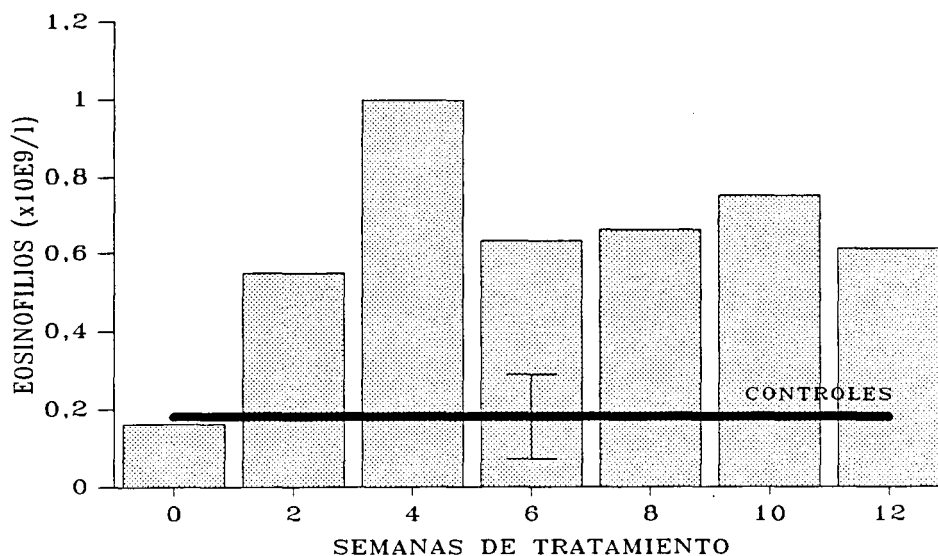
La cifra de eosinófilos aumentó en 13 de los 15 enfermos (este fenómeno no fue observado en los pacientes n°5 y n°6). En la Figura 3 se observa como el número de eosinófilos se incrementa durante el primer mes de tratamiento, pasando de $0,16 \times 10^9/l$ a $1 \times 10^9/l$, y a lo largo del tratamiento se mantiene por encima de las valores iniciales, alrededor de $0,6 \times 10^9/l$. Los cambios de la cifra de eosinófilos durante el periodo de tratamiento son estadísticamente significativos ($p=0,009$), y siguen una tendencia cuadrática ($p=0,001$), es decir aumentan durante el primer mes y alcanzan un “plateau” durante el tratamiento.

Figura 3. Evolución del número de eosinófilos durante el tratamiento con IL2. Los resultados se expresan como la media del recuento de eosinófilos de los pacientes, con un intervalo de confianza del 95%.



Las cifras de eosinófilos de los pacientes previas al tratamiento están en el rango de la normalidad (Figura 4).

Figura 4. Comparación de la cifra de eosinófilos entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



B. CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD CITOTOXICA

B1. ACTIVIDAD NK

La actividad citotóxica NK aumentó durante el tratamiento con IL2 en 12 de los 15 enfermos (el aumento no se observó en los pacientes n°5, n°6, y n°8). El valor medio previo al tratamiento es de 37 UL/ml, y va aumentando hasta llegar a valores de 130 UL/ml a partir del primer mes y medio (Figura 5). Los cambios en la actividad NK analizados globalmente no son significativos ($p=0,09$), sin embargo la media de los valores durante el tratamiento son estadísticamente significativos respecto a los de antes de comenzarlo ($p=0,003$).

Los controles no tratados tienen una actividad NK basal de 79 UL/ml, significativamente mayor que la de los pacientes antes de comenzar el tratamiento ($p=0,008$) (Figura 6).

Figura 5. Evolución de la actividad citotóxica NK durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media de actividad NK de los pacientes con un intervalo de confianza del 95%.

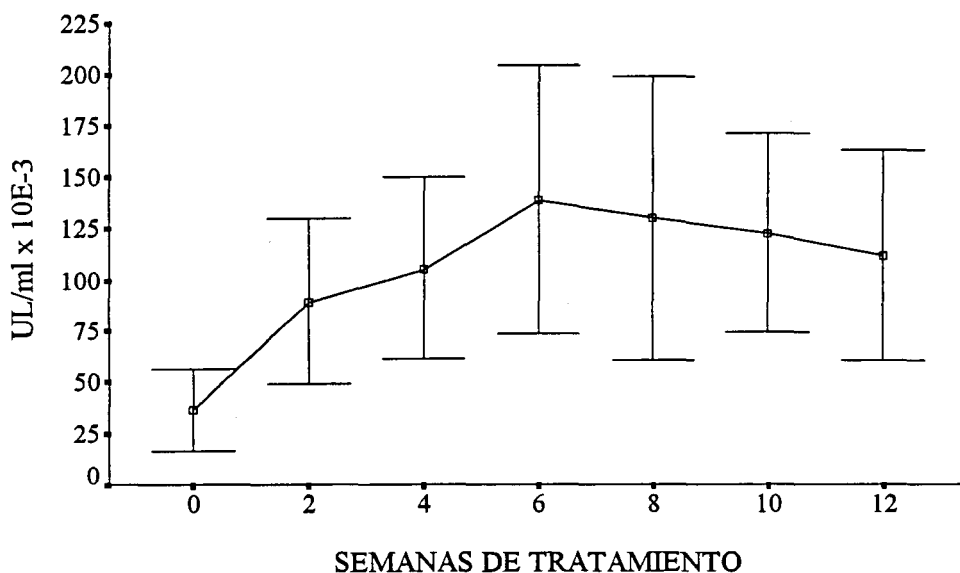
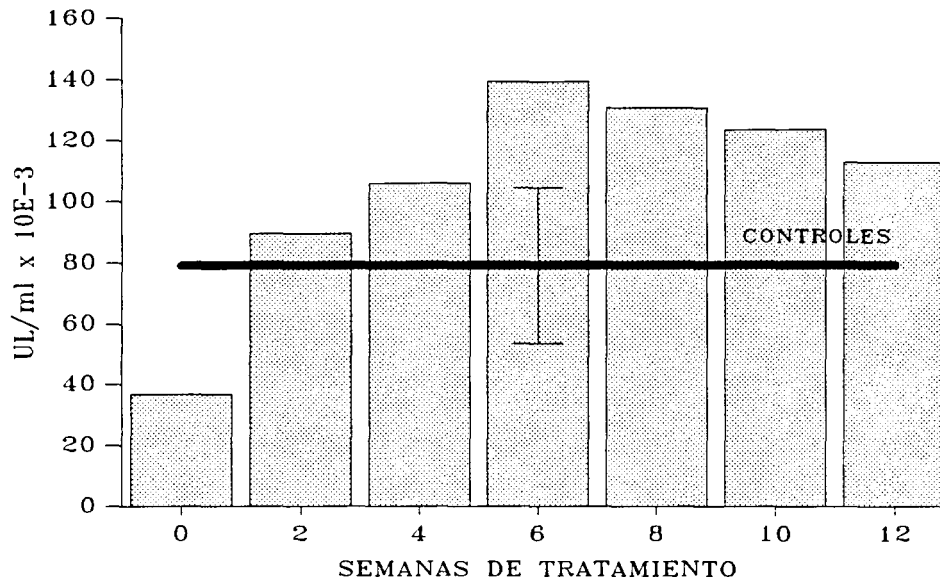


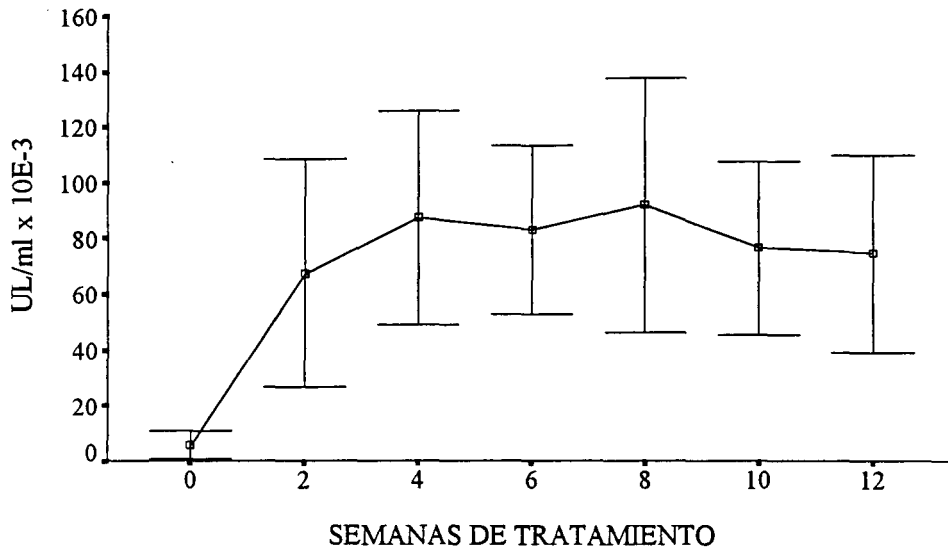
Figura 6. Comparación de la actividad citotóxica NK entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



B2. ACTIVIDAD LAKe

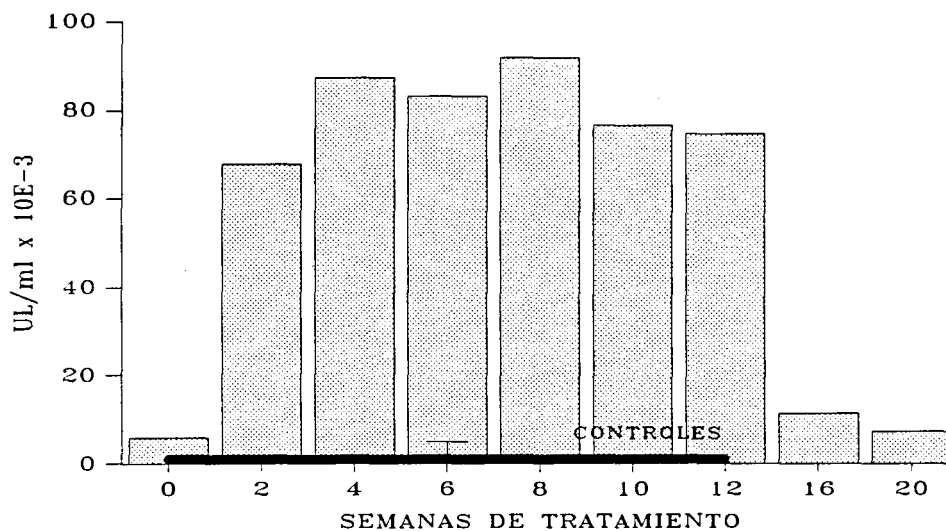
La actividad LAKe se genera en todos los pacientes. Esta actividad citotóxica es la que cada paciente desarrolla tras la estimulación con la IL2, es la actividad citotóxica "efectiva". La actividad LAKe previa a comenzar el tratamiento es prácticamente inexistente (6 UL/ml), va subiendo durante el tratamiento hasta alcanzar unos valores estables de alrededor de 80 UL/ml, a partir del primer mes (Figura 7). La actividad LAKe aumenta durante el primer mes y después alcanza un "plateau" mientras dura el tratamiento. Estos cambios son significativos ($p=0,016$), y siguen de forma estadísticamente significativa un modelo de tendencia cuadrática ($p=0,007$).

Figura 7. Evolución de la actividad citotóxica LAKe durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media de actividad LAKe de los pacientes con un intervalo de confianza del 95%.



La actividad LAKe prácticamente desaparece al cabo de un mes tras la supresión del tratamiento con IL2 (12 UL/ml) (Figura 8). No hay diferencias significativas entre la actividad LAKe de los pacientes antes de iniciar el tratamiento y la de los controles no tratados (3 UL/ml) ($p=0,08$), como se observa en la Figura 8.

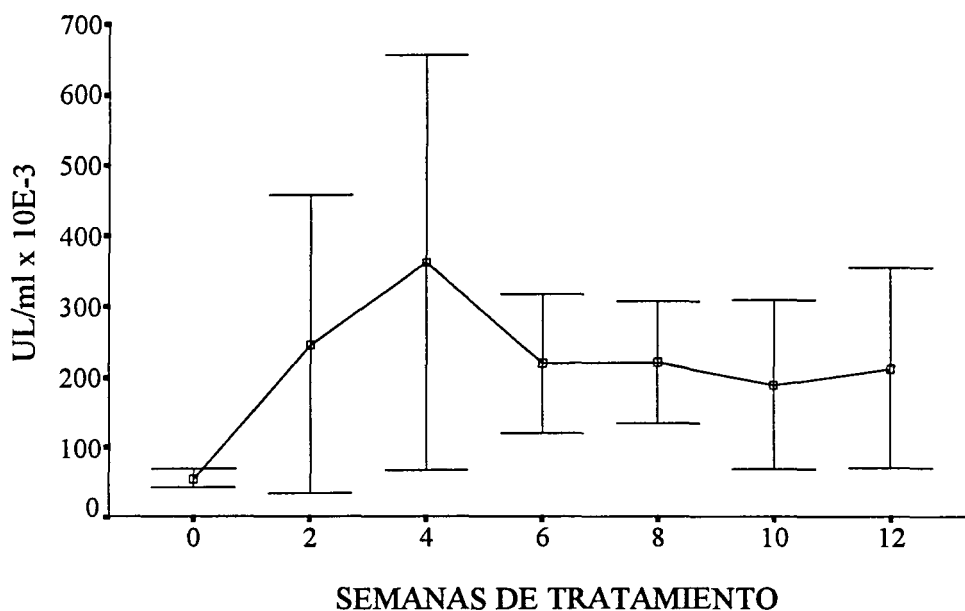
Figura 8. Comparación de la actividad citotóxica LAKe entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



B3. ACTIVIDAD LAKp

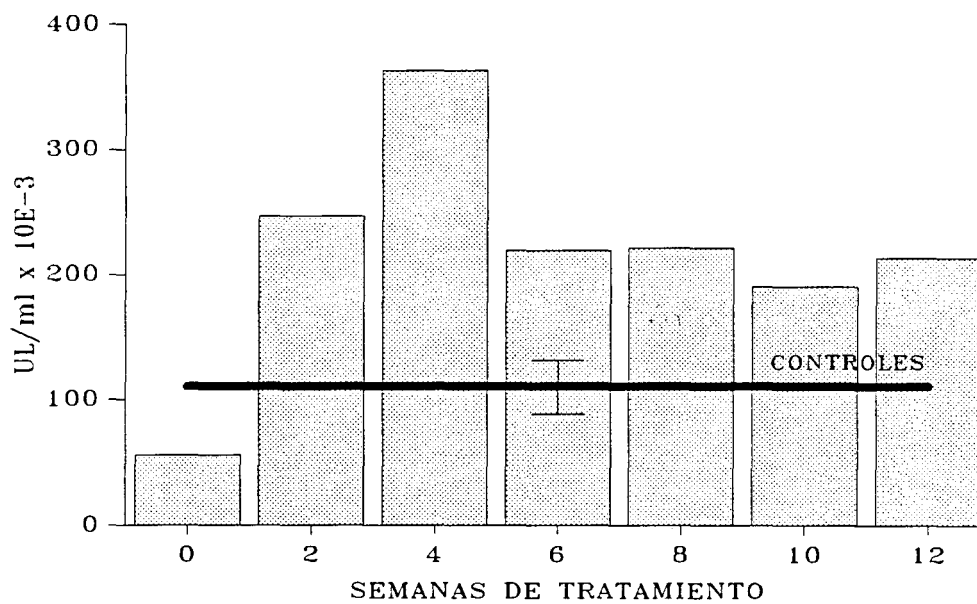
La actividad LAKp es aquella actividad citotóxica que aún se puede estimular con IL2 in vitro. Es decir, aunque en los pacientes se estimula actividad LAK in vivo, sus células todavía son capaces de ser estimuladas in vitro. La actividad LAKp aumenta en 13 de los 14 enfermos evaluables durante el tratamiento con IL2 (no lo hace en el paciente nº6). La actividad LAKp pasa de 56 UL/ml previa al tratamiento, a 363 UL/ml durante el primer mes, aunque estos valores tienen una gran dispersión. En el segundo y tercer mes se estabiliza en cifras de alrededor de 220 UL/ml (Figura 9). Los cambios a lo largo del tratamiento son significativos ($p=0,02$), y se ajustan a un modelo de tendencia cuadrática ($p=0,004$).

Figura 9. Evolución de la actividad citotóxica LAKp durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media de actividad LAKp de los pacientes con un intervalo de confianza del 95%.



La actividad LAKp en los controles normales no tratados (110 UL/ml) es mayor que en los pacientes antes de comenzar el tratamiento ($p=0,001$) (Figura 10).

Figura 10. Comparación de la actividad citotóxica LAKp entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



C. CAMBIOS EN EL FENOTIPO LINFOCITARIO

C1. LINFOCITOS ACTIVADOS

El número de linfocitos T CD3+ que además expresen HLA-DR (linfocitos T activados) no se modifica con el tratamiento de manera significativa ($p=0,18$), se mantiene alrededor de $0,02 \times 10^9/l$ como se muestra en la Figura 11. La cifra no muestra diferencias significativas con las de los controles no tratados ($p=0,8$) (Figura 12).

Figura 11. Número de linfocitos que expresan CD3+/HLA-DR+ durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media de los pacientes con un intervalo de confianza del 95%.

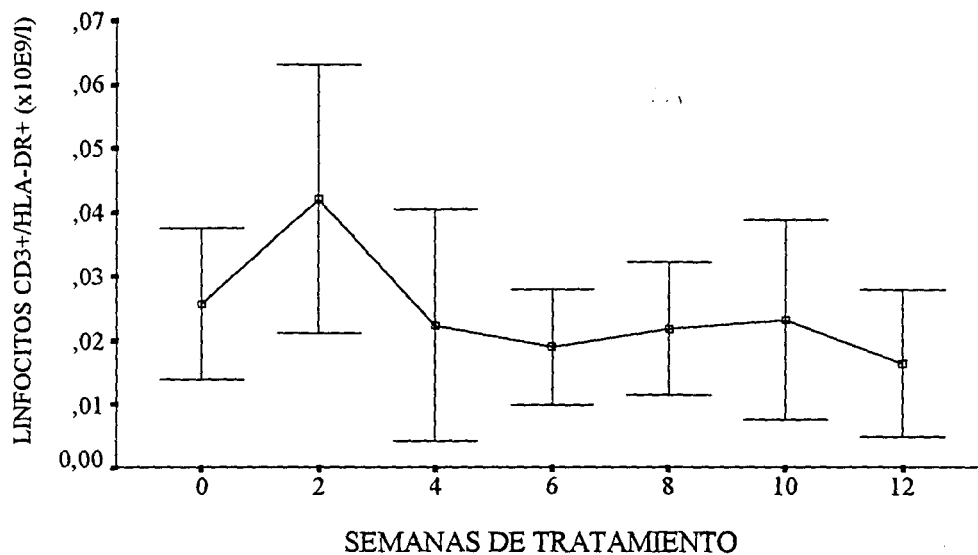
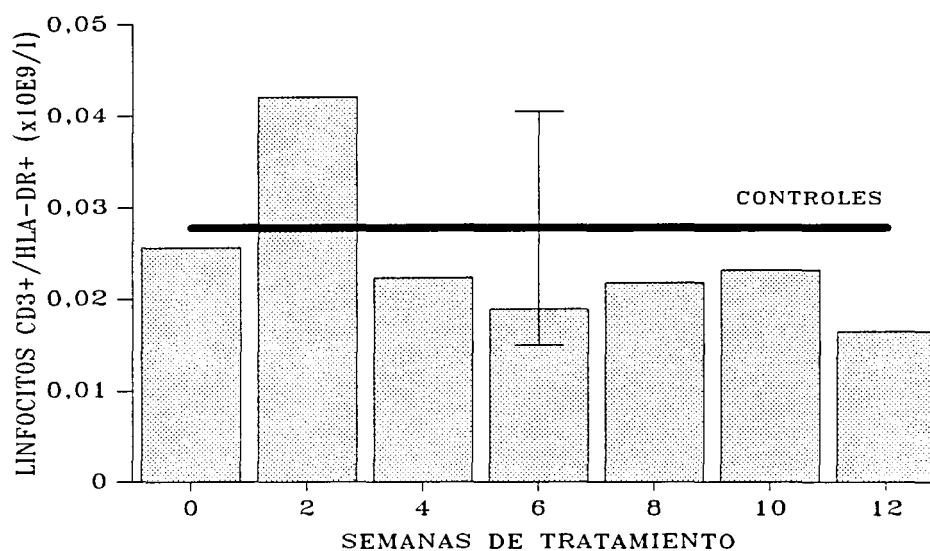


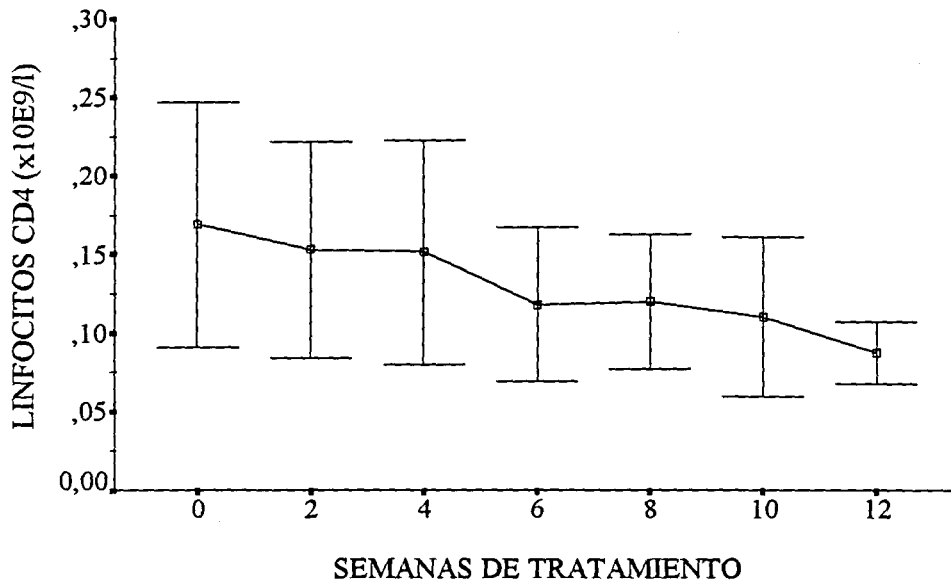
Figura 12. Comparación del número de linfocitos que expresan CD3+/HLA-DR+ entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



C2. LINFOCITOS T HELPER

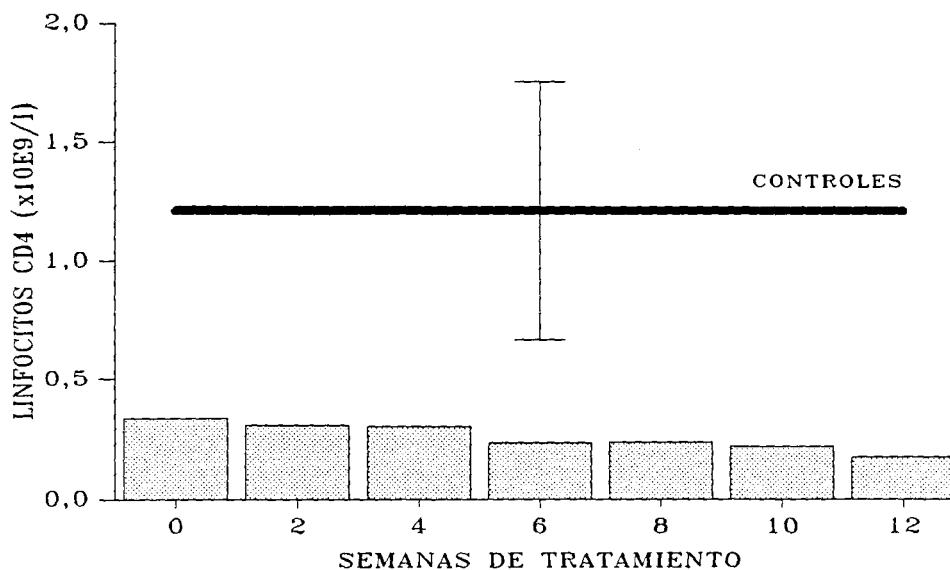
Los linfocitos que expresan CD4 (linfocitos T helper) disminuyen ligeramente durante el tratamiento con IL2, pasan de $0,34 \times 10^9/l$ a $0,17 \times 10^9/l$. Este cambio durante el tratamiento no es estadísticamente significativo ($p=0,5$) (Figura 13).

Figura 13. Número de linfocitos que expresan CD4 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



El número de linfocitos CD4 es significativamente menor en los pacientes antes de comenzar el tratamiento que en los controles no tratados ($p=0,0000$) (Figura 14).

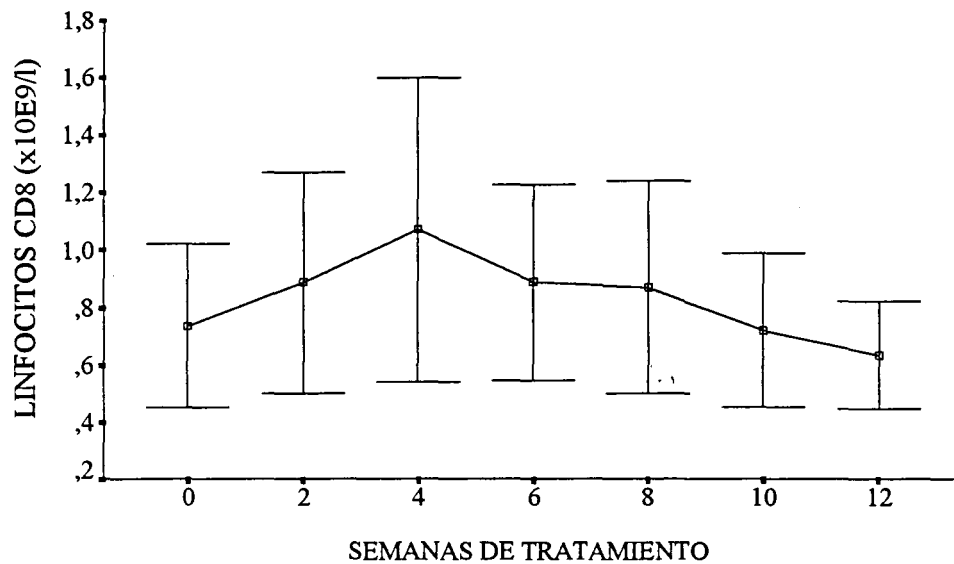
Figura 14. Comparación del número de linfocitos que expresan CD4 entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



C3. LINFOCITOS T CITOTOXICOS

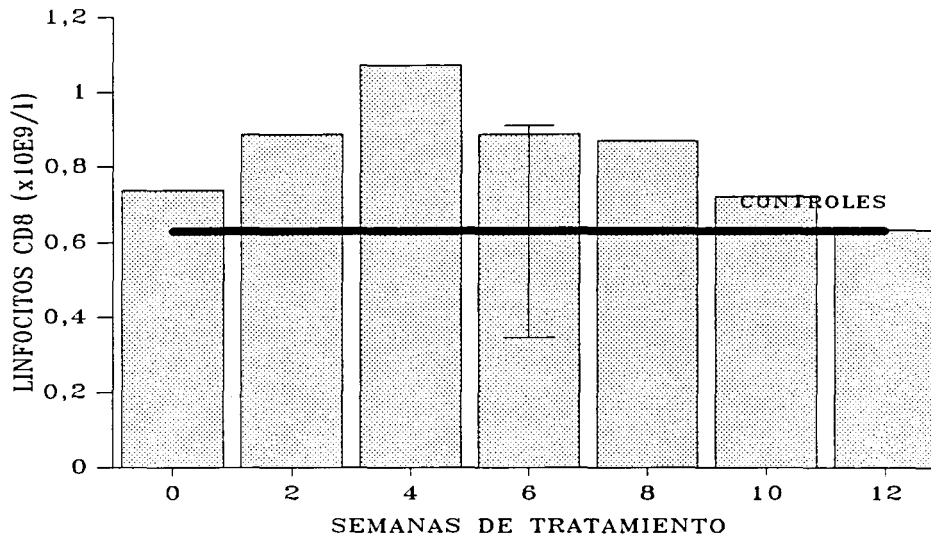
Los linfocitos que expresan CD8 (linfocitos T citotóxicos) no cambian de forma significativa durante el tratamiento (alrededor de $0,8 \times 10^9/l$) ($p=0,5$) (Figura 15).

Figura 15. Número de linfocitos que expresan CD8 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



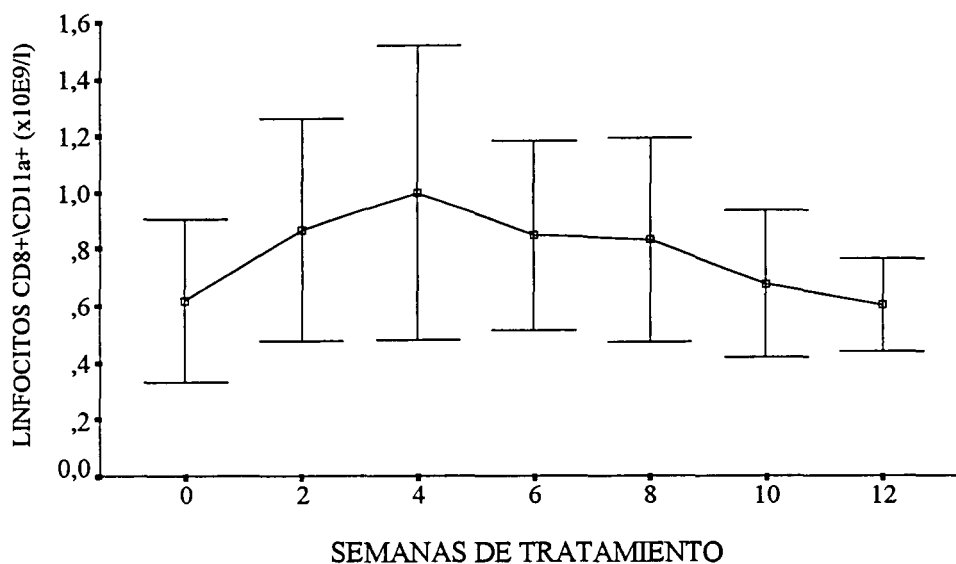
En números absolutos los linfocitos CD8 de los pacientes no difieren de los de los controles no tratados ($p=0,25$) (Figura 16), pero sí en porcentaje, que es significativamente mayor en los pacientes que en los controles: 50% versus 27% respectivamente ($p=0,0000$).

Figura 16. Comparación del número de linfocitos que expresan CD8 entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles normales no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



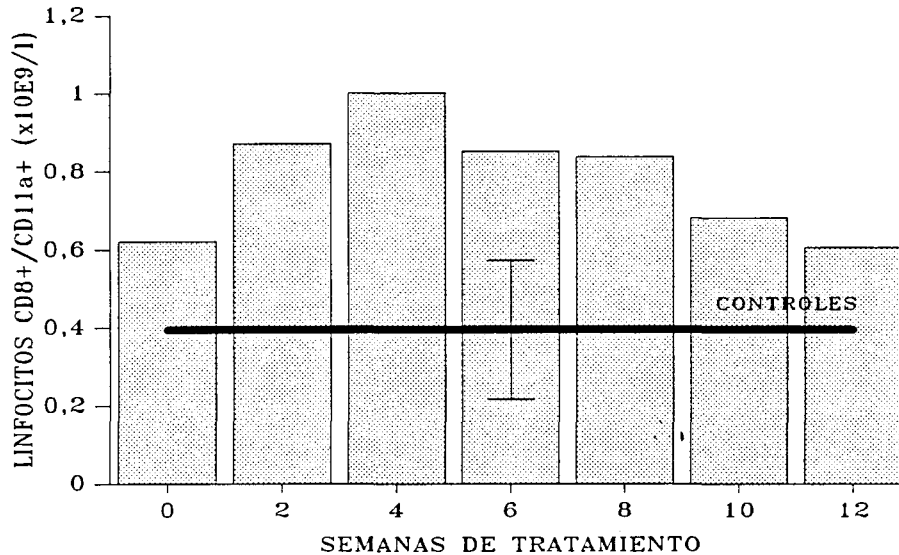
El número de linfocitos que además de expresar CD8 expresan CD11a (LFA) como marcador de activación aumenta de $0,6 \times 10^9/l$ a $0,85 \times 10^9/l$, y durante el último mes de tratamiento vuelve a los valores iniciales (Figura 17). Estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p=0,17$).

Figura 17. Número de linfocitos que expresan CD8+/CD11a+ durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



El número de linfocitos CD8+/CD11a+ es significativamente mayor en los pacientes antes del tratamiento: $0,6 \times 10^9/l$, que en los controles: $0,39 \times 10^9/l$ ($p=0,05$) (Figura 18).

Figura 18. Comparación del número de linfocitos que expresan CD8+/CD11a+ entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



C4. LINFOCITOS B

El número de linfocitos que expresan CD19 (linfocitos B) disminuye ligeramente a lo largo del tratamiento pero de forma no significativa ($p=0,9$), se mantiene alrededor de $0,15 \times 10^9/l$ (Figura 19), cifra significativamente menor que en los controles, que es de $0,24 \times 10^9/l$ ($p=0,007$) (Figura 20).

Figura 19. Número de linfocitos que expresan CD19 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.

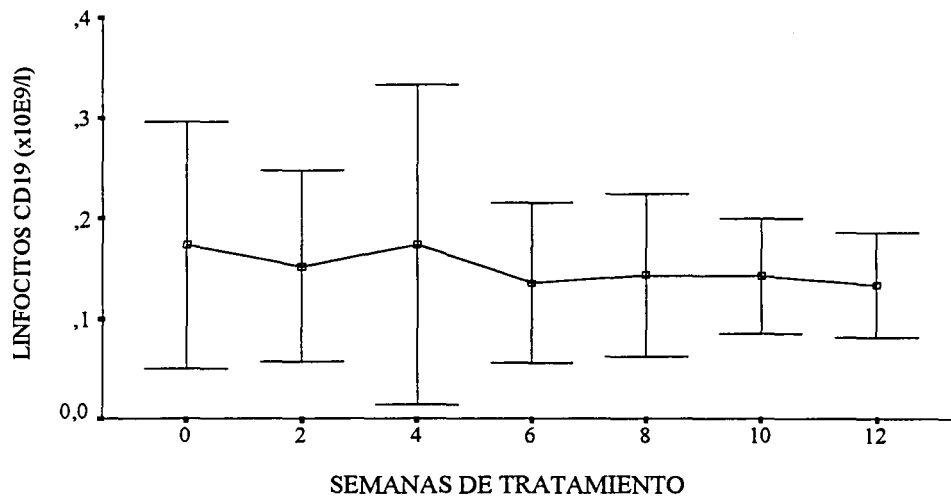
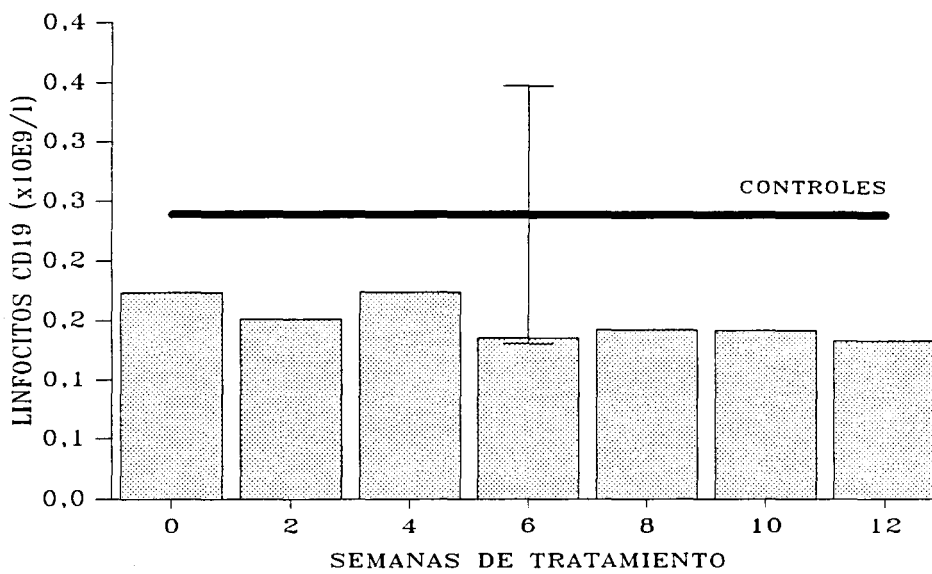


Figura 20. Comparación del número de linfocitos que expresan CD19 entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



C5. CELULAS NK

Durante el tratamiento con IL2 aumentan de forma significativa los linfocitos que expresan CD16 ($p=0,05$) (Figura 21), CD56 ($p=0,003$) (Figura 22) ajustándose a un patrón de tendencia cuadrática ($p=0,003$ y $p=0,008$ respectivamente), y sobre todo los CD3-/CD16+/CD56+ que pasan de $0,16 \times 10^9/l$ a alrededor de $0,5 \times 10^9/l$ ($p=0,006$), ajustándose también a un patrón de tendencia cuadrática ($p=0,0005$) (Figura 23).

Figura 21. Número de linfocitos que expresan CD16 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.

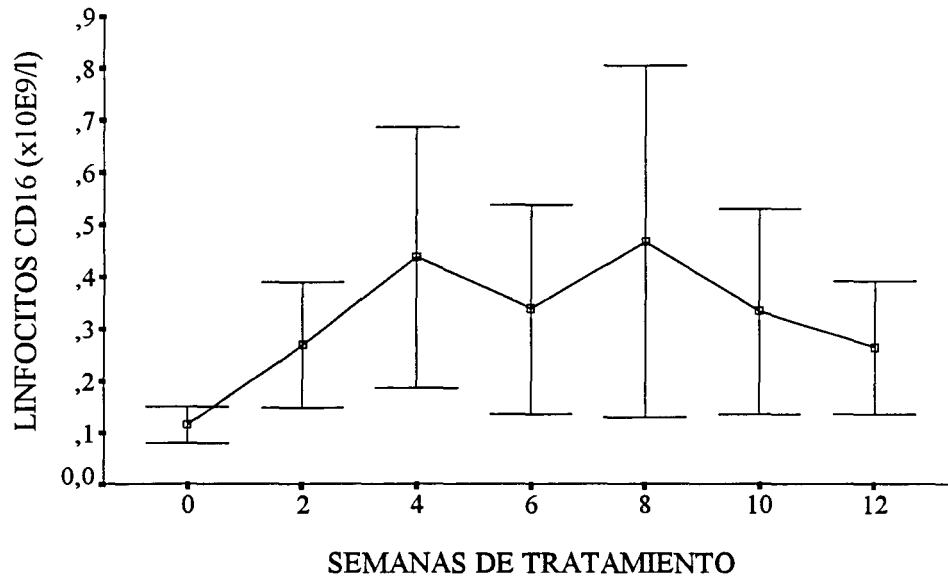


Figura 22. Número de linfocitos que expresan CD56 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.

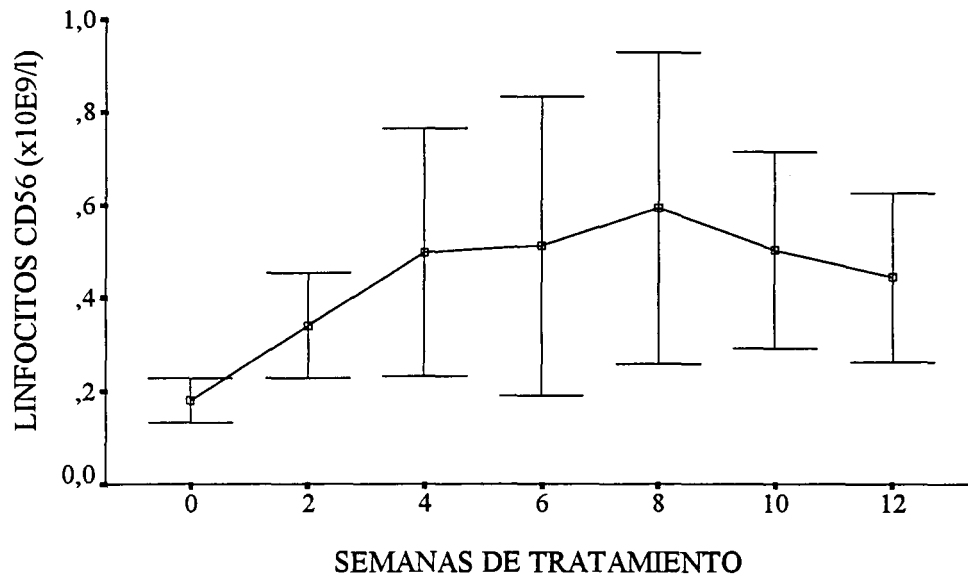
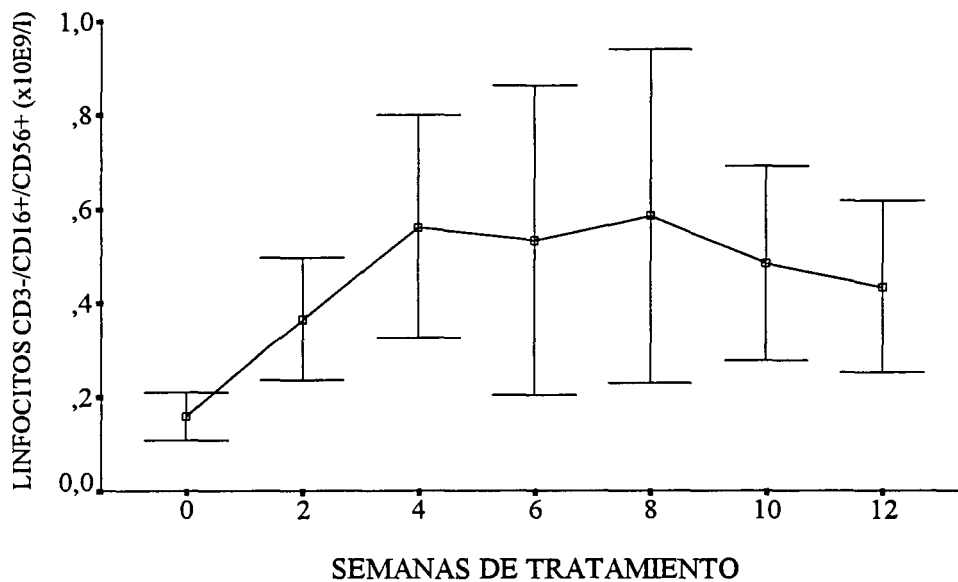


Figura 23. Número de linfocitos que expresan CD3-/CD16+/CD56+ durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



No hay diferencias significativas entre los valores de CD3-/CD16+/CD56+ previos al tratamiento y los de los controles no tratados ($p=0,2$) (Figuras 24, 25, 26).

Figura 24. Comparación del numero de linfocitos que expresan CD16 entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).

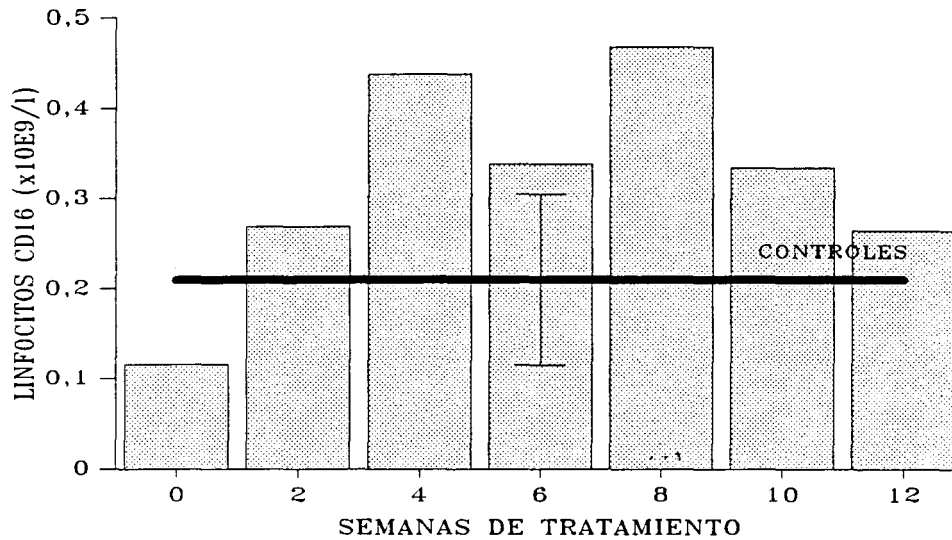


Figura 25. Comparación del numero de linfocitos que expresan CD56 entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).

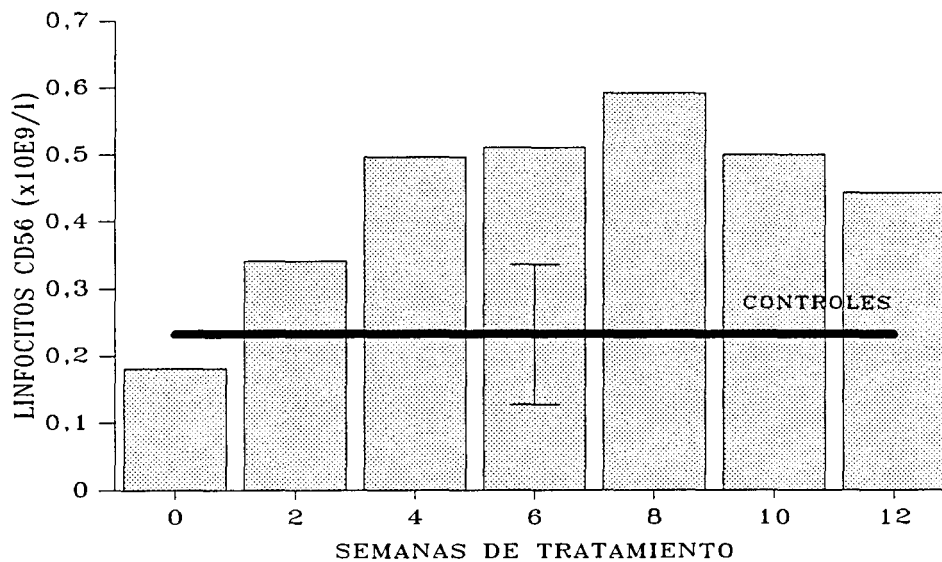
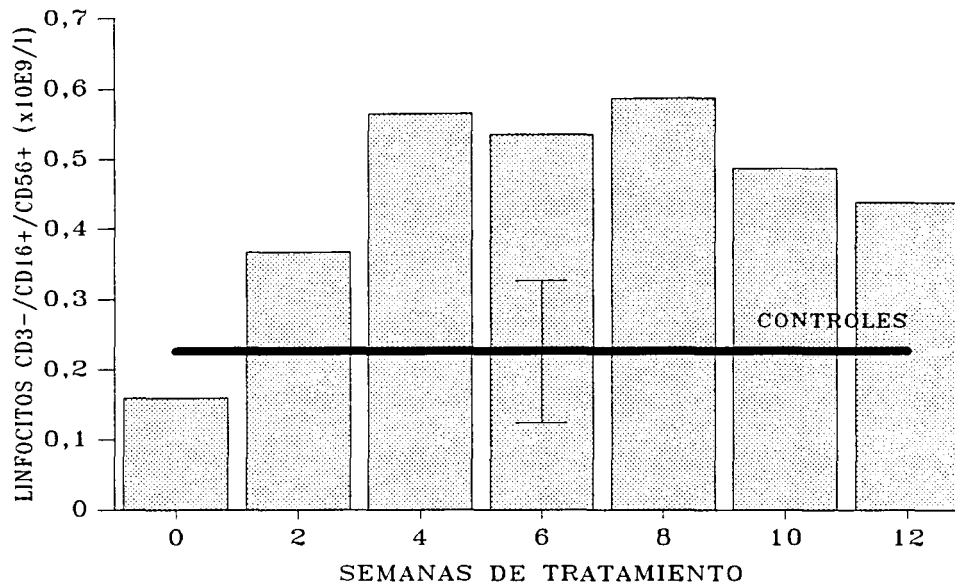


Figura 26. Comparación del número de linfocitos que expresan CD3-/CD16+/CD56+ entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



El número absoluto de linfocitos que expresan CD56^{bright} pasan de una media de $0,06 \times 10^9/l$ a una media de $0,27 \times 10^9/l$ (Figura 27). El tratamiento no afecta de forma significativa su número absoluto ($p=0,18$), sin embargo el porcentaje de CD56^{bright} sí aumenta de forma significativa, pasando de expresarse en un 4% de linfocitos a un 20% (Figura 28) ($p=0,026$), ajustándose a un patrón de tendencia cuadrática ($p=0,0004$).

Figura 27. Número de linfocitos que expresan CD56^{bright} durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.

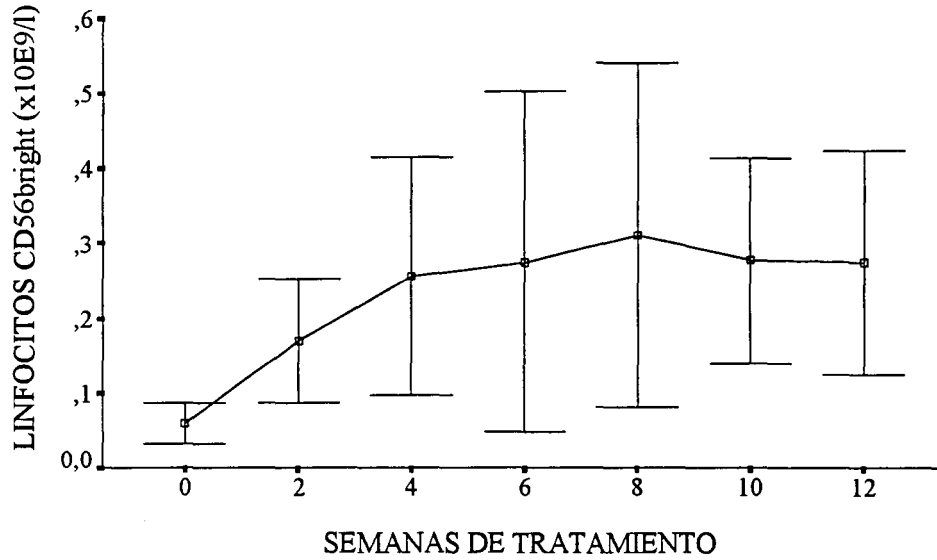
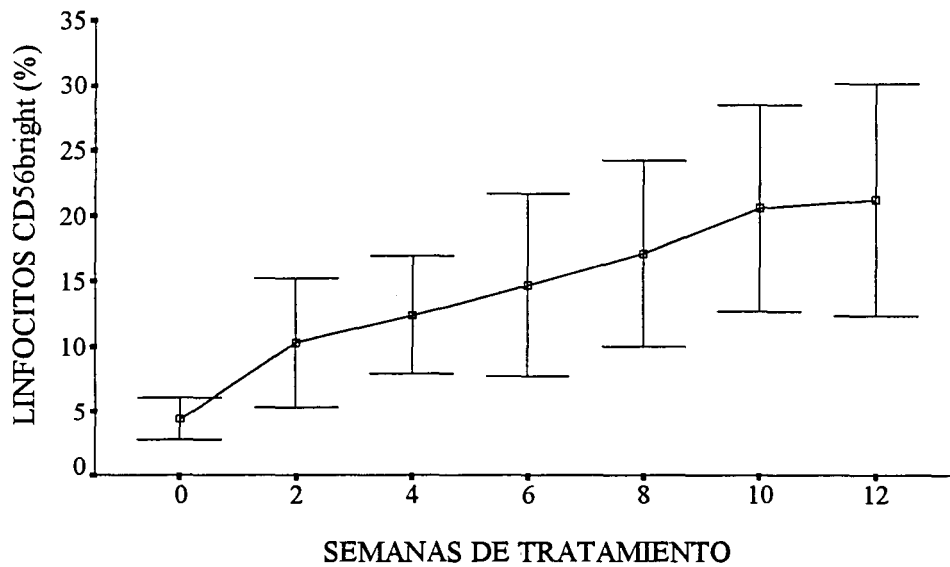
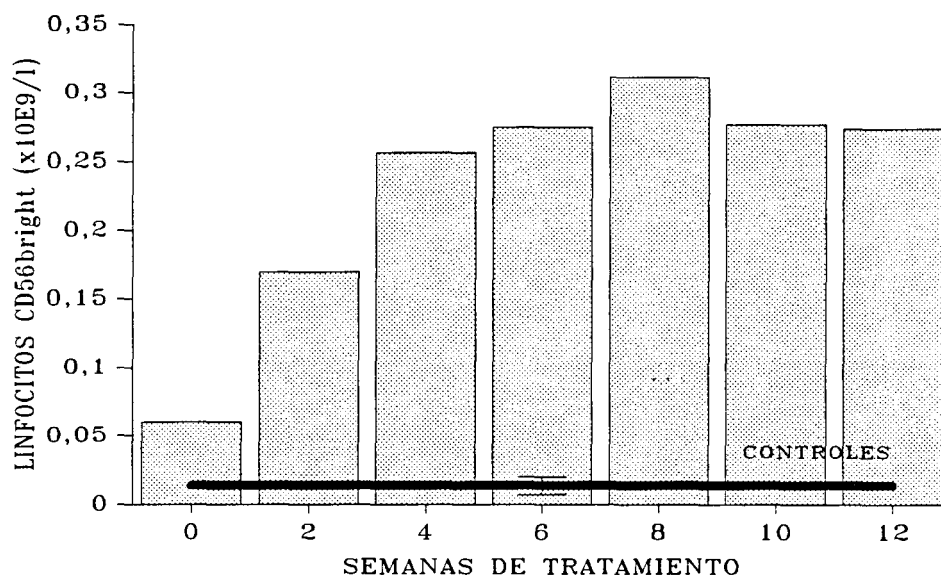


Figura 28. Porcentaje de linfocitos que expresan CD56^{bright} durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



El número de linfocitos que expresan CD56^{bright} es significativamente mayor en los pacientes antes de comenzar el tratamiento que en los controles ($0,06 \times 10^9/l$ versus $0,01 \times 10^9/l$; $p=0,0000$) (Figura 29).

Figura 29. Comparación del número de linfocitos que expresan CD56^{bright} entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



Los linfocitos que expresan CD8^{dim} aumentan de $0,13 \times 10^9/l$ a $0,38 \times 10^9/l$ (Figura 30). Los cambios en números absolutos no son significativos ($p=0,2$), sin embargo el porcentaje de linfocitos que expresan CD8^{dim} sí aumenta de un 8% a un 24% (Figura 31) de forma significativa ($p=0,023$), ajustándose a un patrón cuadrático ($p=0,0017$).

Figura 30. Número de linfocitos que expresan CD8^{dim} durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.

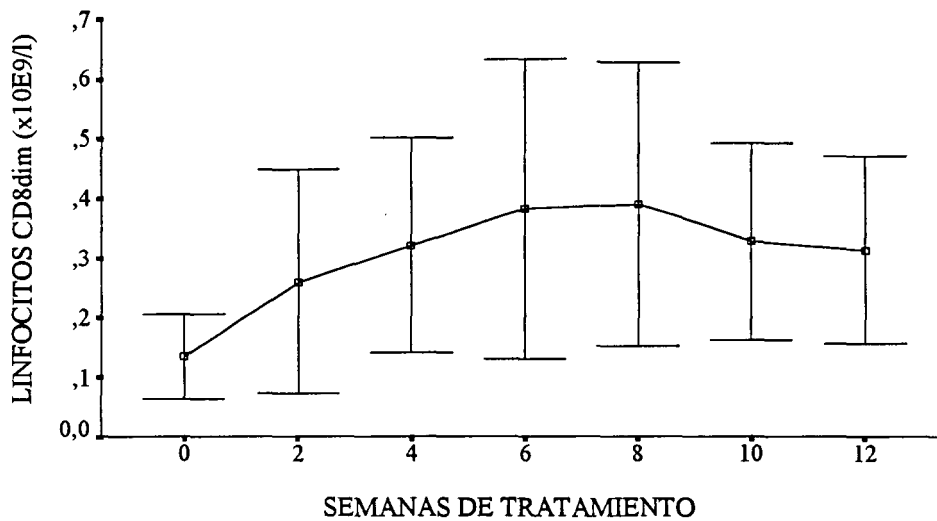
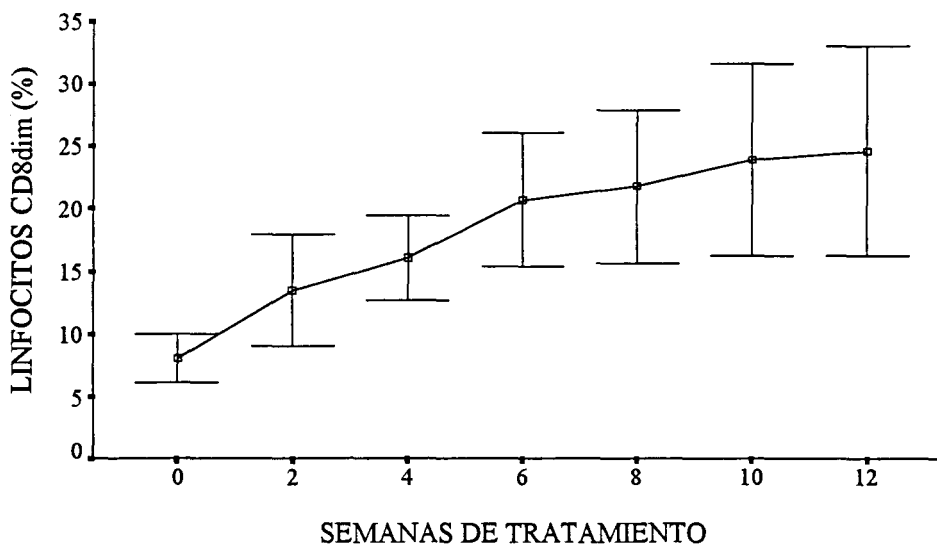
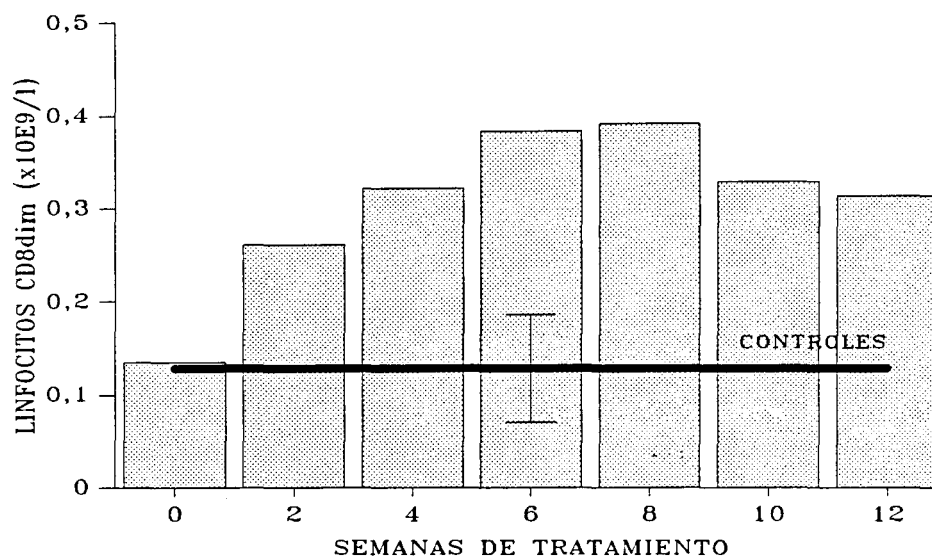


Figura 31. Porcentaje de linfocitos que expresan CD8^{dim} durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



El número de linfocitos $CD8^{dim+}$ es igual en los pacientes antes del tratamiento que en los controles ($p=0,25$) (Figura 32).

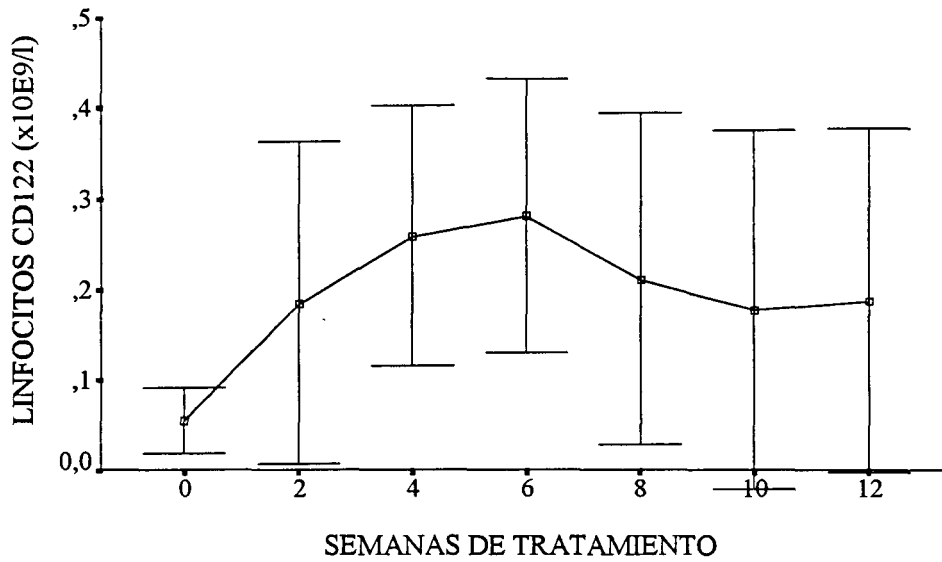
Figura 32. Comparación del número de linfocitos que expresan $CD8^{dim}$ entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



C6. EXPRESION DEL RECEPTOR DE LA IL2

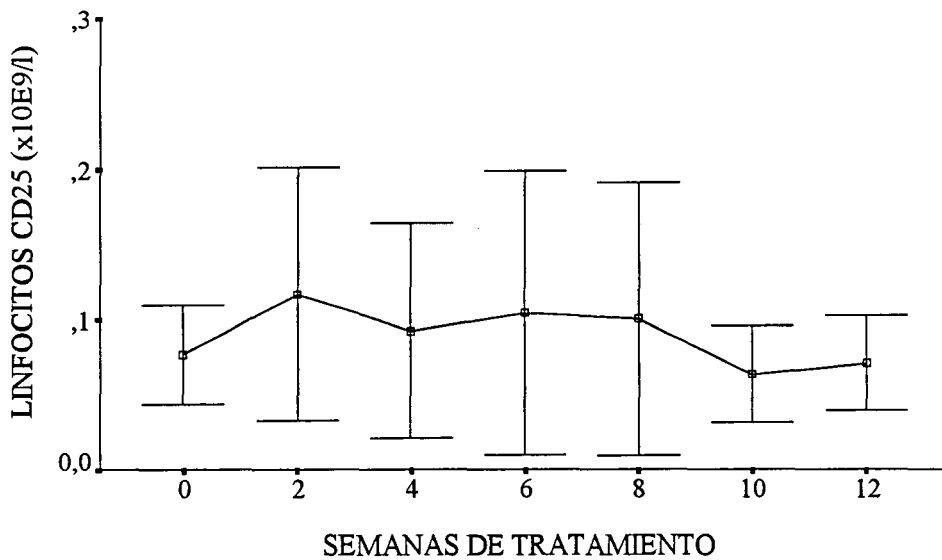
El número de linfocitos que expresan la cadena β del receptor de la IL2 (CD122) aumenta en 10 de los 14 pacientes evaluables (no aumenta en los pacientes n°1, n°2, n°6 y n°8). En conjunto pasa de expresarse en $0,05 \times 10^9/l$ a una media de $0,25 \times 10^9/l$ linfocitos (de un 3% a un 16%) (Figura 33). Los cambios en los números absolutos se acercan a la significación estadística ($p=0,06$).

Figura 33. Número de linfocitos que expresan CD122 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



El número de linfocitos que expresan la cadena α del receptor de la IL2 no cambia y se mantiene alrededor de $0,09 \times 10^9/l$ ($p=0,8$) (Figura 34).

Figura 34. Número de linfocitos que expresan CD25 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



El número de linfocitos que previamente al tratamiento expresan la cadena α y/o la cadena β es igual al de los controles no tratados ($p=0,4$ en ambos) (Figura 35 y Figura 36).

Figura 35. Comparación del número de linfocitos que expresan CD122 entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).

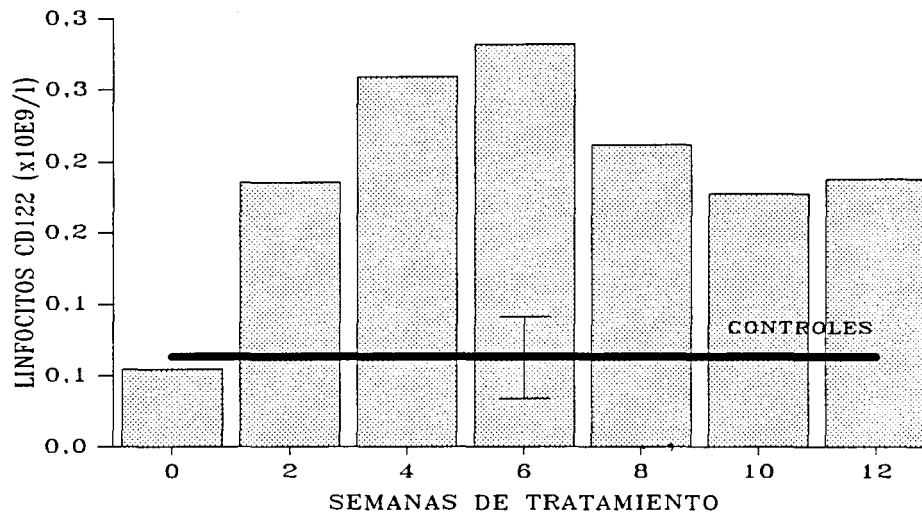
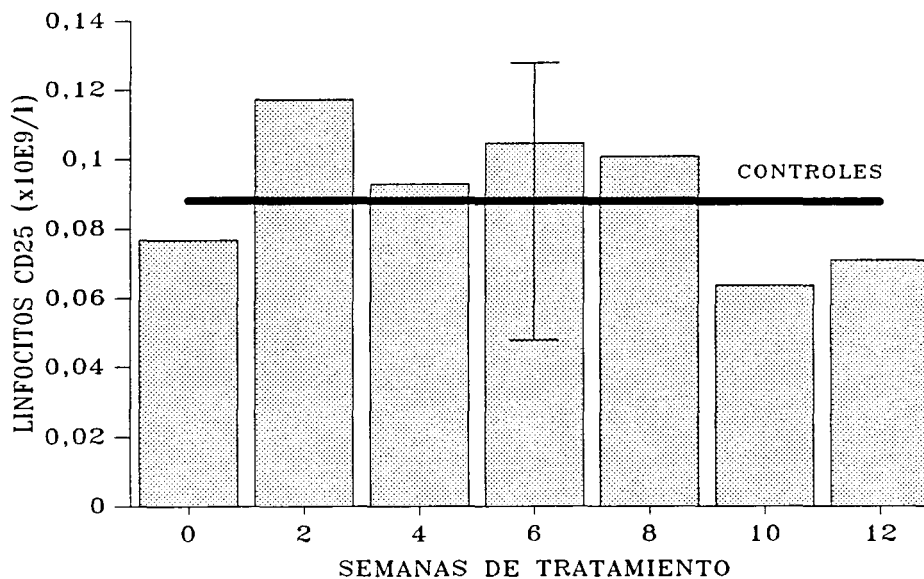


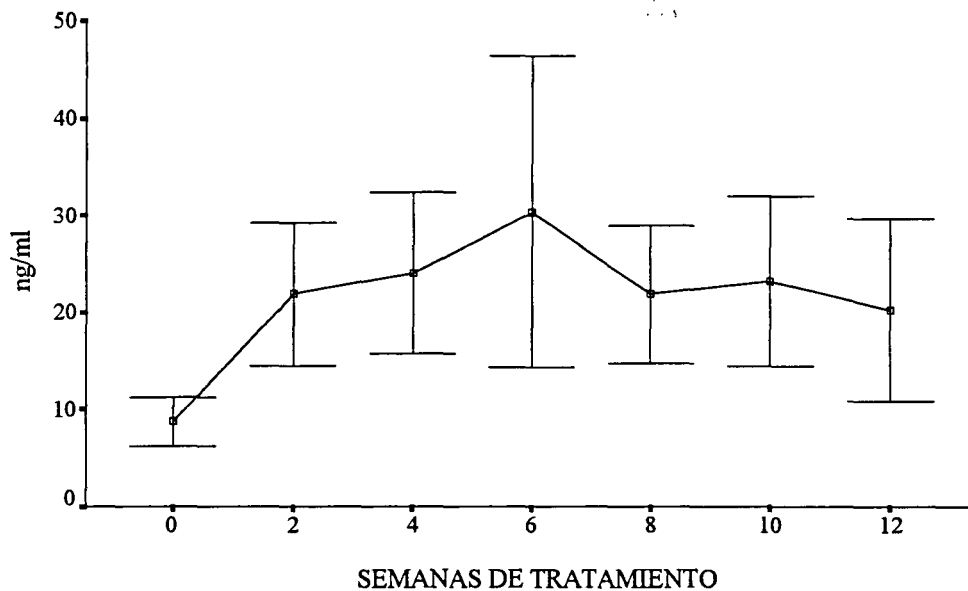
Figura 36. Comparación del número de linfocitos que expresan CD25 entre los pacientes que recibieron tratamiento con IL2 y los controles no tratados (el valor de los controles normales se expresa como la media con un intervalo de confianza del 95%).



D. CAMBIOS EN LOS NIVELES DE RECEPTOR SOLUBLE DE LA IL2 (SRIL2)

Los niveles de SRIL2 aumentan rápidamente tras comenzar tratamiento con IL2, pasan de 8,8 ng/ml a 25 ng/ml (Figura 37). Esta subida es significativa ($p=0,002$), y se ajusta a un patrón de tendencia cuadrática ($p=0,00008$) (Tabla 14).

Figura 37. Niveles de SRIL2 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.



Los niveles basales de SRIL2 previos al tratamiento con IL2 están dentro del rango de los valores normales (1,3 ng/ml a 9 ng/ml).

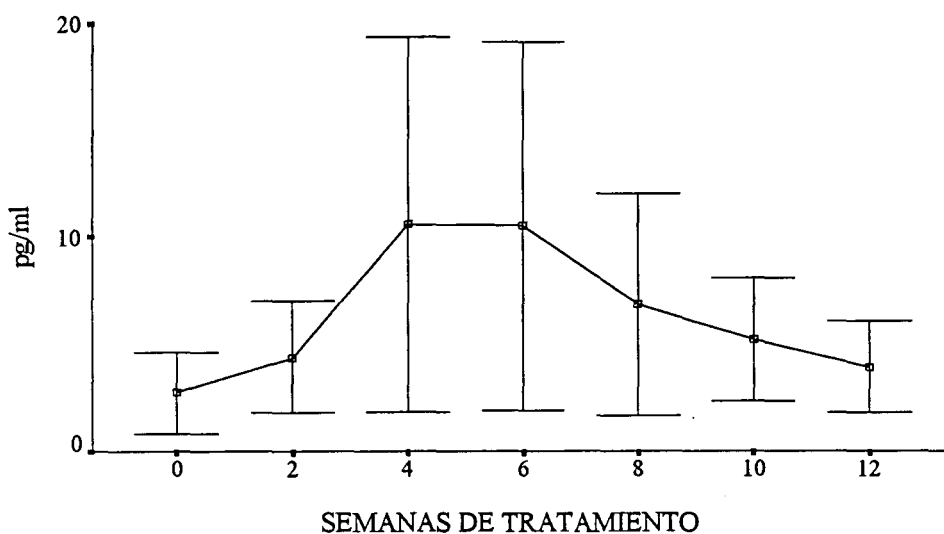
E. CAMBIOS EN LOS NIVELES SERICOS DE DISTINTAS CITOQUINAS

Durante el periodo de tratamiento con IL2 se determinaron en el suero de los pacientes los niveles de distintas citoquinas.

No se detectaron niveles de IL4 ni de TNF- α en ningún paciente a lo largo del tratamiento. Los niveles de IFN- γ y de TGF- β no se modificaron durante el tratamiento ($p=0,7$ y $p=0,4$ respectivamente). El IFN- γ se mantuvo en unos niveles alrededor de 45 pg/ml, muy por encima del rango de la normalidad (de 0 a 1,5 pg/ml), y el TGF- β a alrededor de 10 pg/ml, niveles inferiores al rango de los controles normales (de 42 pg/ml a 58 pg/ml).

Se detectó un incremento en los niveles séricos de IL6 en 6 de los 14 pacientes evaluables. Globalmente pasó de 2,7 pg/ml a 10,6 pg/ml durante el primer mes de tratamiento, se mantuvo elevada durante el siguiente mes y durante el tercero bajó lentamente hasta llegar a niveles de 4 pg/ml (Figura 38). El incremento de los niveles entre periodo previo al tratamiento y durante el tratamiento se aproxima a la significación estadística ($p=0,07$). Los niveles de IL6 previos al comienzo del tratamiento están dentro del rango de los niveles de controles normales (de 0 a 14,9 pg/ml).

Figura 38. Niveles séricos de IL6 durante el tratamiento con IL2. Los resultados expresan la media con un intervalo de confianza del 95%.

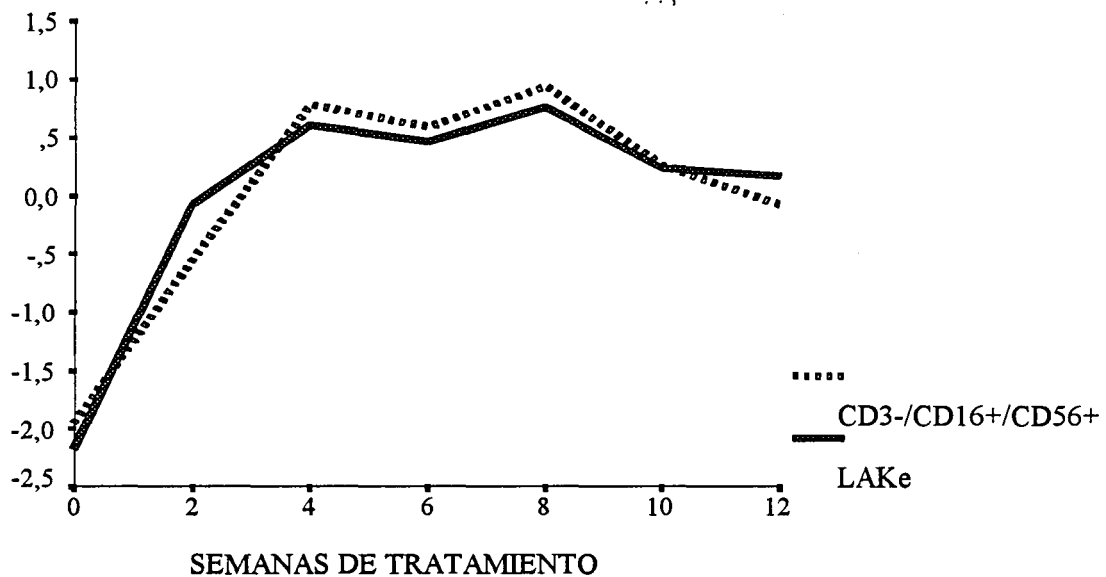


F. CORRELACION ENTRE LA CITOTOXICIDAD Y EL FENOTIPO LINFOCITARIO

Los cambios en la actividad citotóxica se correlacionan con los cambios en el número de linfocitos con determinados inmunofenotipos.

La correlación más significativa se establece entre la actividad LAKe y los linfocitos que expresan CD3-/CD16+/CD56+ ($p=0,0000$) (Figura 39). También existe una correlación significativa entre la actividad LAKe y la expresión de CD56^{bright} ($p=0,002$).

Figura 39. Correlación entre la actividad LAKe y el número de linfocitos que expresan CD3-/CD16+/CD56+ durante el tratamiento con IL2. La representación gráfica muestra los valores estandarizados correspondientes a cada una de las variables.



Otras correlaciones significativas de la actividad LAKe se establecen con el número de linfocitos que expresan CD8^{dim} ($p=0,001$), y con el número de linfocitos que expresan la cadena β del receptor de la IL2, CD122, ($p=0,007$) (Tabla 5).

G. CORRELACION ENTRE LA CITOTOXICIDAD Y LOS NIVELES SERICOS DEL RECEPTOR SOLUBLE DE LA IL2

La actividad LAKe se correlaciona de manera significativa con los niveles de SRIL2 durante el tratamiento con IL2 ($p=0,01$).

Tabla 5. Correlación entre la actividad LAKe y los niveles séricos de SRIL2, y el número de linfocitos que expresan distintos fenotipos durante el tratamiento con IL2.

	Actividad LAKe	
	Coefficiente de Correlación	Valor de p
CD3-/CD16+/CD56+	0,96	0,0000
CD56 ^{bright}	0,93	0,002
CD8 ^{dim}	0,94	0,001
CD122	0,89	0,007
SRIL2	0,87	0,01

III. FACTORES PREDICTIVOS DE MAYOR ACTIVIDAD CITOTOXICA

Con la intención conocer si existía un grupo de pacientes en los que la IL2 produjera un efecto citotóxico de mayor intensidad se realizó un estudio de factores pronósticos. Los resultados del análisis univariante se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Factores pronósticos de mayor actividad citotóxica generada por la IL2

	Actividad LAKe (UL/ml)	N	Valor de p
Sexo			
Varón	76	9	
Mujer	106	5	NS
Edad			
< 30 años	179	3	
> 30 años	61	11	0,03
TMO			
No	100	8	
Si	69	6	NS
Nº Remisión			
Primera	56	4	
Posteriores	99	10	NS
Tiempo QTP-IL2*			
< 90 días	90	10	
> 90 días	77	4	NS
Enfermedad de base			
LNH	67	6	
LH	93	5	
LLA	116	3	NS
Toxicidad**			
< 10	70	7	
> 10	110	7	NS

*tiempo entre el final de la quimioterapia o el acondicionamiento y el inicio de la IL2.

**según el sistema de puntuación descrito en el apartado "Pacientes y Métodos".

Se pudo observar que las mismas dosis de IL2 producen una actividad citotóxica in vivo 3 veces mayor en los pacientes más jóvenes. No se detectó influencia en la intensidad de actividad citotóxica en función del sexo, el número de remisiones completas, el haberse sometido a TMO, el tiempo entre la finalización de la última quimioterapia y el comienzo de la IL2, ni en función de la enfermedad de base.

La toxicidad no es en realidad un verdadero factor predictivo, pero se analizó para determinar si aquellos pacientes que desarrollaban mayor toxicidad tenían también una mayor actividad citotóxica. Tal como puede observarse en la Tabla 6, los pacientes que desarrollaron toxicidad más severa no mostraron una mayor actividad citotóxica.

IV. ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL

Tres de los 15 pacientes tratados (nº1, nº5 y nº10) estaban afectados de LNH folicular con reordenamiento del gen bcl-2 en células de la médula ósea, detectado mediante PCR. La detección de esta alteración es un método de seguimiento de la enfermedad mínima residual (EMR) una vez conseguida la remisión clínica.

Unicamente en el paciente nº1 se pudo realizar el seguimiento molecular de la EMR mediante PCR durante el tratamiento con IL2, ya que en los otros dos casos las muestras obtenidas se deterioraron y no fueron valorables.

El paciente nº1 presentaba el reordenamiento del gen bcl-2 en médula ósea antes de comenzar la IL2. Al mes y medio de haber comenzado el tratamiento, la PCR seguía siendo positiva, y se mantuvo positiva una vez finalizado el tratamiento. El paciente recayó un mes después de haber finalizado el tratamiento con IL2.

V. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

A. RELACION ENTRE PARAMETROS BIOLOGICOS Y RECAIDA

De los 14 pacientes evaluables 6 recayeron de su enfermedad de base tras un seguimiento medio de 11,5 meses (rango de 7 a 24 meses)

Para saber si existe relación entre una mayor actividad citotóxica y una mejor evolución de la enfermedad de base hemos tratado de encontrar correlaciones entre la media de actividad LAKe durante el tratamiento con IL2 con la posibilidad de recaída, y con la supervivencia libre de enfermedad. No se demostró correlación entre el desarrollo de una mayor actividad LAKe con un menor índice de recaídas ($p=0,6$), ni tampoco con una mayor supervivencia libre de enfermedad ($p=0,6$).

Se analizó si la cifra media de eosinófilos durante el tratamiento o la cifra de linfocitos CD56 previa al tratamiento, se correlacionaban con un menor número de recaídas, como había sido descrito en otros ensayos. Ninguna de las dos variables se correlacionaron con un menor índice de recaídas ($p=0,7$ y $p=0,9$ respectivamente).

Tabla 7. Correlación entre parámetros biológicos y el índice de recaídas

	Valor de p
Actividad LAKe	0,6
Eosinofilia	0,7
Linfocitos CD56 pre-IL2	0,9

También se analizó si el momento del inicio del tratamiento con IL2 tenía influencia en el número de recaídas, y se observó que aquellos pacientes tratados más precozmente (antes de 3 meses después de la última quimioterapia), recaían en igual proporción que aquellos que habían recibido tratamiento más tardíamente ($p=0,2$).

B. ESTUDIO CASO-CONTROL DE LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

Para evaluar el impacto de la IL2 en la supervivencia del grupo de pacientes con neoplasia linfóide en remisión completa pero con alto riesgo de recaída, se ha realizado un estudio de casos y controles. Para el estudio se consideraron como casos a los 14 pacientes que habían completado el tratamiento con IL2, y se eligieron 22 controles históricos con las mismas características que los controles excepto que no habían recibido IL2.

Ambas poblaciones (casos y controles) fueron comparadas con respecto al sexo, la edad, la enfermedad de base, los ciclos previos de quimioterapia, el número de remisiones, o el haber sido sometido a un TMO, y como puede observarse en la Tabla 8 no se detectaron diferencias significativas.

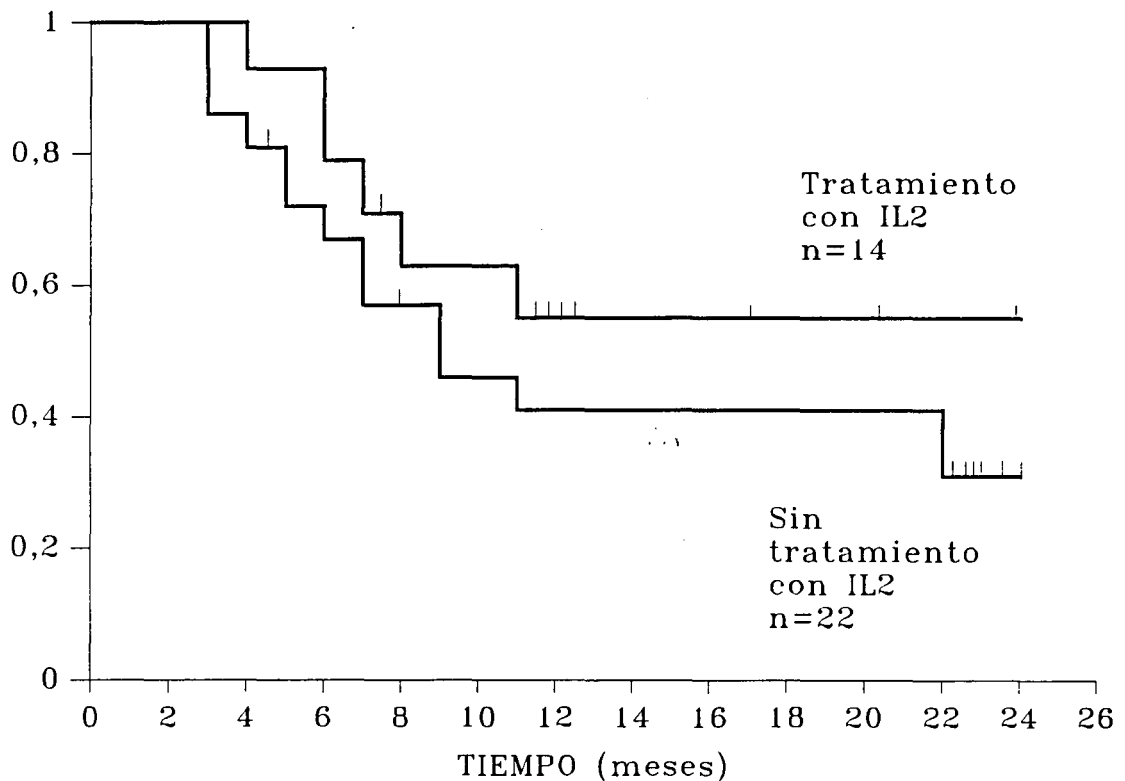
Tabla 8. Comparación de las características de los casos y de los controles.

	Casos n=14 n (%)	Controles n=22 n (%)	Valor de p
Sexo			
Varón	9 (64)	11 (50)	0,4
Mujer	5 (36)	11 (50)	
Edad			
< 40 a	8 (57)	12 (55)	0,8
> 40 a	6 (43)	10 (45)	
Enf. Base			
LNH folicular	3 (21)	6 (27)	0,9
LNH cel. grande	3 (21)	4 (18)	
LH	5 (36)	7 (32)	
LLA	3 (21)	5 (23)	
QTP* previa			
1 ciclo	3 (21)	11 (50)	0,3
2 ciclos	5 (36)	6 (27)	
> =3 ciclos	6 (43)	5 (23)	
Situación final			
1ª Remisión completa	5 (36)	11 (50)	0,5
2ª Remisión completa	5 (36)	8 (36)	
> 2ª Remisión	4 (28)	3 (14)	
TMO			
No	6 (43)	8 (36)	0,7
Si	8 (57)	14 (64)	

*QTP: quimioterapia

Se ha analizado la supervivencia libre de enfermedad desde la fecha del último tratamiento con quimioterapia (o de acondicionamiento en el caso de los pacientes sometidos a TMO) (Figura 40).

Figura 40. Supervivencia libre de recaída. Estudio caso-control.



De los 14 casos, 6 recaen (43%) durante un tiempo medio de seguimiento de 11,5 meses (con un tiempo de seguimiento mínimo de 7 meses y un tiempo de seguimiento máximo de 24 meses). La mediana de supervivencia libre de enfermedad aún no se ha alcanzado en estos meses. Los pacientes que recaen lo hacen en una mediana de tiempo de 7 meses (con un rango de 4 a 11 meses).

De los 22 controles, 14 recaen (64%) en dos años. La mediana de supervivencia libre de enfermedad en los controles es de 9 meses.

La diferencia de la supervivencia libre de enfermedad entre el grupo de los casos y el de los controles no alcanza la significación estadística (Tabla 9).

Tabla 9. Pruebas de contraste en el análisis de la supervivencia.

	Valor de p
Log Rank	0,3088
Breslow	0,2785
Tarone-Ware	0,2932

DISCUSSION

I. TOLERANCIA Y SEGURIDAD DEL REGIMEN DE TRATAMIENTO EMPLEADO

Históricamente, la IL2 se había utilizado a las dosis máximas toleradas en bolus endovenosos y en breves periodos de tiempo (de 5 a 10 días) , como si se tratase de un agente quimioterápico (Rosenberg 1987, West 1987). En estos estudios se observó una alta toxicidad. El efecto tóxico que resultó limitante para el empleo de dosis altas fue la hipotensión debida al síndrome de aumento de permeabilidad capilar. La mortalidad en estos ensayos directamente atribuible a la IL2 fue de un 4% (Rosenberg 1989a).

Posteriormente se utilizaron dosis más bajas de IL2 en bolus endovenosos y también durante cortos periodos de tiempo. En estos estudios se objetivaron remisiones tumorales similares a las conseguidas utilizando dosis altas, pero la toxicidad observada era significativamente menor (Stein 1991, Lindemann 1993, Atzpodien 1993). En un estudio randomizado en pacientes con adenocarcinoma renal metastásico 65 pacientes recibieron IL2 a dosis altas (720.000 UI/Kg/8h endovenoso durante 5 días) mientras que 60 pacientes recibieron dosis bajas (72.000 UI/Kg/8h endovenoso durante 5 días). En el segundo grupo la toxicidad fue mucho menor y la eficacia antitumoral fue la misma (respuestas del 20% y del 15% respectivamente) (Yang 1994).

Nosotros hemos tratado 15 pacientes con neoplasia linfoide en remisión completa pero con alto riesgo de recaída con 4,5 millones UI de IL2 administrada por vía subcutánea (1,2 mg = 18×10^6 UI. 3 U Roche = 6 U Cetus = 42 UI), dosis que otros autores ya habían utilizado en neoplasias avanzadas obteniendo respuestas favorables (Whitehead 1990, Atzpodien 1993). Esta dosis bajas de IL2 ya habían sido utilizadas en perfusión continua endovenosa de forma ambulatoria con escasa toxicidad, pero con el inconveniente de que la alta incidencia de infecciones originadas en el catéter y de trombosis de los vasos donde se colocaba el catéter (Caliguri 1991). En nuestro estudio elegimos la administración por vía subcutánea basándonos en las escasas experiencias previas descritas en la literatura que sugerían una mejor tolerabilidad.

Todos nuestros pacientes recibieron el tratamiento en régimen ambulatorio, y ninguno precisó ingreso hospitalario. Ningún enfermo desarrolló efectos secundarios graves respiratorios, cardíacos o renales. Ningún paciente presentó síndrome de aumento de permeabilidad capilar, ni hipotensión, ni cambios en el peso.

El aumento en el número de infecciones bacterianas ha sido un efecto secundario ampliamente descrito cuando se utilizan dosis altas de IL2, debido a los defectos que la IL2 produce en la quimiotaxis de los granulocitos (Stoppa 1991, Blaise 1992). Sin embargo, en nuestro estudio no observamos infecciones frecuentes ni graves, y en los casos en que aparecieron no se pudieron relacionar con la administración de la IL2.

Los efectos secundarios más frecuentes fueron la astenia y la fiebre. 14 de los 15 pacientes tratados (93%), refirieron aumento de astenia que relacionaron con la administración de la IL2, pero sólo en 3 de estos pacientes el Karnofski descendió al 70%. La fiebre fue el segundo efecto secundario más frecuente, y apareció en 11 de los 15 enfermos (73%), en ningún caso fue severa, y cedió siempre con antitérmicos de uso habitual (paracetamol o indometacina). La plaquetopenia (8/15: 53% de pacientes) y la colostasis, con aumento de las cifras de fosfatasa alcalina y gamma-glutamilttransferasa (8/15: 53% de pacientes) fueron los efectos secundarios que siguieron en frecuencia. En ningún caso fueron graves, excepto en un paciente en que se tuvo que reducir la dosis de IL2 descenso en la cifra de plaquetas y colostasis grado III. Todos los enfermos presentaron reacción local en el lugar de la inyección que referían como poco molesta y que desapareció en poco tiempo. El hecho de que no se desarrollen efectos secundarios graves utilizando dosis bajas de IL2 está de acuerdo con lo descrito con anterioridad en la literatura (Whitehead 1990, Caliguri 1991, Angevin 1995).

Por tanto, con la pauta de tratamiento utilizada en nuestros pacientes hemos administrado una dosis acumulada de 270 millones de UI de IL2 sin que se produzca ningún efecto secundario grave, y de forma ambulatoria, con lo que esto supone de disminución de los costes hospitalarios

II. EFECTOS BIOLÓGICOS

Hemos estudiado los efectos hematológicos e inmunomoduladores en los pacientes tratados con IL2.

A. HEMATOLOGICOS

En nuestro estudio no se han observado variaciones en los recuentos de leucocitos totales, ni el de granulocitos, monocitos ni linfocitos a lo largo del tratamiento. En otros estudios realizados con dosis bajas de IL2 administrada por vía endovenosa en perfusión continua se había descrito leucocitosis y linfocitosis (Caliguri 1993). Sin embargo, en otros estudios realizados con las mismas dosis por vía subcutánea, no se detectó este efecto (Angevin 1995).

Los eosinófilos aumentan unas 6 veces con respecto a su valor previo al tratamiento, alcanzando un "plateau" a partir del primer mes. El aumento de la cifra de eosinófilos se ha descrito utilizando IL2 a dosis altas endovenosas de forma tardía. Utilizando dosis bajas tanto endovenosas como subcutáneas el aumento en la cifra de eosinófilos es precoz y mantenido mientras dura el tratamiento (Caliguri 1991), tal como ocurre en nuestro estudio. La eosinofilia se debe a la liberación de citoquinas secundarias tras la estimulación con la IL2, como la liberación de IL5 (Macdonald 1990, Smith 1993). Algunos autores han correlacionado el aumento en la cifra de eosinófilos con una mayor supervivencia en pacientes con carcinoma renal metastásico (Rodgers 1994). En nuestro estudio la cifra de eosinófilos no se correlaciona con una menor tasa de recaída.

B. INMUNOLOGICOS

Los cambios inmunomoduladores que se han estudiado han sido básicamente tres: el cambio en los linfocitos y en sus subpoblaciones, la estimulación de actividad citotóxica, y el cambio de distintas citoquinas.

B1. LINFOCITOS Y SUS SUBPOBLACIONES

Como se ha dicho previamente, los cambios en el número de linfocitos son muy discretos y no son significativos, es decir, la IL2 a estas dosis no produce proliferación en el número global de linfocitos que se mantiene alrededor de $1,4 \times 10^9/l$. Con dosis más altas endovenosas los linfocitos descienden durante unas horas por aumento en la adherencia al endotelio vascular (Boldt 1988) y posteriormente proliferan y suben de forma significativa (Lotze 1985, Urba 1990). La utilización de dosis altas de IL2 aumenta el número de linfocitos globales sobre todo a expensas de aquellos que expresan CD8 y también de los linfocitos activados que expresan HLA-DR (Gottlieb 1989, Blaise 1990, Higuchi 1991). En nuestro estudio, realizado con dosis bajas, los linfocitos con marcadores de activación (HLA-DR) no se modifican. Sin embargo las subpoblaciones linfocitarias cambian de manera significativa.

B 1 1. Linfocitos T

Los linfocitos T helper son los que liberan IL2 de forma fisiológica cuando son activados por un antígeno. En situación de reposo los linfocitos T no expresan el receptor de la IL2, y solamente lo al ser activados (Caliguri 1993).

Los linfocitos T helper (CD4) están más bajos en los pacientes antes de comenzar el tratamiento que los controles, y disminuyen de forma no significativa a lo largo del tratamiento, posiblemente por desplazamiento debido al aumento de otras subpoblaciones linfocitarias.

El número absoluto de linfocitos T citotóxicos (CD8) es similar en los pacientes antes de iniciar el tratamiento que en los controles normales (alrededor de $0,8 \times 10^6/l$), pero como el número global de linfocitos es menor en los pacientes que en los controles, el porcentaje de linfocitos T citotóxicos en los pacientes es muy alto (alrededor del 50%). El número de éstos linfocitos no se modifica de forma significativa durante el tratamiento.

Los linfocitos T citotóxicos activados que expresan CD11a tampoco se modifican a lo largo del tratamiento.

En resumen podemos decir que con las dosis usadas no se activan los linfocitos T, lo que concuerda con otros estudios publicados en los que se han utilizado dosis bajas de IL2 administrada bien por vía endovenosa en perfusión (Caliguri 1991, Caliguri 1993, Soiffer 1992) o por vía subcutánea (Vlasveld 1992, Raspadori 1995).

B 1 2. Linfocitos B

En situación de reposo los linfocitos B no expresan el receptor de la IL2, y solamente lo hacen cuando son activados por un antígeno (Caliguri 1993). El número absoluto de linfocitos B (CD19) tampoco se modifican a lo largo del tratamiento. Sin embargo, en 3 de los 15 pacientes tratados, aparece un banda monoclonal que desaparece al concluir la IL2, lo que hace suponer que los linfocitos B sufren una cierta modulación aunque no proliferen. El que en algunos pacientes se altere la producción de inmunoglobulinas tras el tratamiento sistémico con IL2 podría deberse a una estimulación inespecífica. En las neoplasias, el sistema inmune falla en el reconocimiento de las células malignas, y si las reconoce, la respuesta inmune está disminuída (Fearon 1990). El solo hecho de que aumenten los niveles de IL2 en las zonas peritumorales aumenta la respuesta inmune, como si en ese momento los antígenos tumorales fueran capaces de lograr una mayor estimulación del sistema inmune (Smith 1993).

B 1 3. Células NK

Las células NK son unos linfocitos grandes granulados CD3 negativos (CD3-/CD16+/CD56+), capaces de lisar algunas líneas tumorales de forma independiente del sistema HLA (Caliguri 1990), que en condiciones normales constituyen aproximadamente el 10% de los linfocitos de un individuo. Las células NK son las únicas que en reposo expresan el receptor de la IL2 de afinidad intermedia ($\beta\gamma$). Un 2% de estas células NK expresan el receptor de alta afinidad ($\alpha\beta\gamma$) y un exceso de receptor de afinidad intermedia, y además se caracterizan por la expresión del antígeno CD56^{bright}.

Dosis bajas de IL2 administradas en perfusión continua endovenosa (5×10^5 UI) durante un periodo de 3 meses, dan lugar a la activación del receptor de alta afinidad de las células NK CD56^{bright}, observándose una proliferación de esta subpoblación (Caliguri 1991, Caliguri 1993). Dosis endovenosas algo más elevadas de IL2 ($2,5-3 \times 10^6$ UI ev) provocan la saturación del receptor de alta afinidad y la activación del receptor de afinidad intermedia que da lugar a un mayor aumento de la actividad citotóxica (Caliguri 1990, Voss 1992).

En nuestro estudio, el número de células CD56^{bright} es más alto en los pacientes antes de comenzar el tratamiento (4%) que en los controles sanos (alrededor del 1%), probablemente porque estas células son las que más precozmente se recuperan tras la quimioterapia. Algunos autores han encontrado correlación entre un mayor número de células CD56 previas al tratamiento con IL2 con una mayor respuesta antitumoral (Duensing 1992), que en nuestro estudio no se confirma. Durante el tratamiento, las células NK CD56^{bright} pasan de un 4% a un 20%. El conjunto de células NK CD3-/CD16+/CD56+ proliferan y pasan de ser un 12% a un 36% del total de los linfocitos (es decir, las células CD56^{dim} pasan de un 8% a un 16%). Existe además una subpoblación de células NK que expresan CD8^{dim} y que tienen una alta efectividad citotóxica (Phillips 1987, Ellis 1988). Esta subpoblación aumenta de forma significativa, pasando del 8% al 24% del total de los linfocitos, este aumento también ha sido observado en otros estudios (Vlasveld 1993).

El número de linfocitos que expresan de la cadena β del receptor de la IL2, CD122, aumenta también de un 3% a un 16%, incremento que se acerca a la significación estadística,. Sin embargo la expresión de la cadena α , CD25,(receptor de alta afinidad) no se modifica.

En resumen, nuestro régimen de tratamiento con IL2 provoca la proliferación de las células NK, sobre todo de las CD56^{bright}, que expresan el receptor de alta afinidad, pero también, aunque en menor proporción, de aquellas que expresan CD56^{dim} y el receptor de afinidad intermedia. La expresión del receptor de alta afinidad en la membrana celular no se modifica, ya que la cadena α no cambia, pero aumenta la expresión de membrana del receptor de afinidad intermedia, ya que la cadena β aumenta.

B2. ACTIVIDAD CITOTOXICA

Las actividades citotóxicas (NK, LAKe y LAKp) están expresadas en unidades líticas (UL) por mililitro de sangre del paciente en vez de por número de CMN, para dar una mejor idea de la actividad real en cada individuo. Los pacientes tienen una menor actividad NK y menor actividad LAKp antes de comenzar el tratamiento que los controles. Esto se debe probablemente a que tienen un menor número de linfocitos totales, y por lo tanto un número de células con capacidad de desarrollar actividad NK y LAKp también menor (Reittie 1989).

Durante el tratamiento se produce un incremento en la actividad NK, que se multiplica por 3 respecto a los valores previos al tratamiento. La actividad LAKe, que es prácticamente nula antes de comenzar el tratamiento, como sucede también en los controles normales, se multiplica unas 15 veces y se mantiene así durante todo el tratamiento, alcanzando un "plateau" a partir del primer mes (tendencia cuadrática). Comparar esta actividad con la descrita en la literatura es difícil, ya que en los distintos estudios se han utilizado distintas unidades de medida. La actividad LAKe desaparece con bastante rapidez una vez suspendido el tratamiento, y al cabo de un mes es aproximadamente igual a los valores previos al tratamiento, es decir, la inmunomodulación se mantiene sólo mientras se mantiene el

tratamiento (Gottlieb 1989, Higuchi 1991). En nuestros pacientes la actividad LAKp todavía existe durante el tratamiento, lo que significa que las células efectoras aún pueden estimularse más in vivo.

B3. RELACION ENTRE CELULAS NK Y CITOTOXICIDAD

Como hemos comentado, la actividad LAKe durante el periodo de tratamiento con IL2 sigue un incremento de tendencia cuadrática. El aumento de linfocitos CD3-/CD16+/CD56+, CD56^{bright}, CD8^{dim}, CD122 siguen unos patrones similares y se correlaciona de manera muy intensa con la actividad LAKe, por lo que podemos deducir que estas células son las que generan la actividad LAK.

En los pacientes con EMR es importante la participación del sistema inmune para evitar la recurrencia (Slavin 1990), y la mayoría de estudios in vitro muestran que en pacientes con enfermedad mínima residual sometidos a trasplante alogénico, las clonas del donante que provocan el efecto "injerto contra tumor" son células NK (Oshimi 1986, Hercend 1986, Lotzova 1987). Por lo tanto, son estas células NK que hemos estimulado las que producen la actividad citotóxica y las que hipotéticamente eliminarían la enfermedad residual en nuestros enfermos.

B4. SRIL2

La existencia de formas solubles de los receptores de distintas citoquinas es un fenómeno generalizado. La mayoría mantienen la habilidad de unirse a su ligando con igual o menor afinidad que el receptor de membrana. La función específica del SRIL2 aún no está bien determinada (Gooding 1995):

-El hecho de que se desprenda de la membrana hace que la célula sea menos sensible a la acción de la IL2, ya que competiría con su unión y actuaría de mecanismo de control negativo.

-Podría actuar como proteína transportadora y aumentar la vida media de la IL2.

Durante la administración prolongada de IL2 el SRIL2 aumenta lentamente alcanzando un pico a las 2 semanas (Lissoni 1991). En nuestro estudio, los niveles de SRIL2 aumentan de forma significativa alcanzando un "plateau" tras el primer mes de tratamiento, y se correlacionan con la actividad LAKe. El aumento de los niveles de SRIL2 durante el tratamiento con IL2 es una medida indirecta de la activación del sistema inmune, ya que la liberación de esta molécula es proporcional a su expresión en la membrana celular (Rubin 1990, Barak 1992).

B5. CITOQUINAS

Se ha descrito que cuando se activan las células NK, éstas secretan otras citoquinas como son el IFN- γ y el TNF- α , que a su vez activan a los monocitos para que produzcan más citoquinas: mayor cantidad de IFN- γ y TNF- α , y también de IL4 e IL6 (Heslop 1989, Robertson 1990, Meffert 1995), de hecho algunos autores han relacionado la liberación de estas citoquinas secundarias con el efecto antitumoral atribuido a la IL2 (Blay 1990), y también con su toxicidad (Cotran 1988). En nuestro estudio no se detectaron niveles séricos de IL4 ni de TNF- α a lo largo del tratamiento con la IL2. El IFN- γ se mantuvo a niveles más altos de lo normal y el TGF- β a niveles más bajos, pero ni uno ni otro se modificaron con el tratamiento. La IL6 aumentó aproximadamente en la mitad de los pacientes tratados, pero de forma no significativa.

Con las dosis de IL2 utilizadas en nuestro estudio hemos sido capaces de provocar una proliferación de células NK que da lugar a la estimulación de actividad citotóxica in vivo,

pero no se estimulan suficientemente los receptores de afinidad intermedia como para que las células NK liberen citoquinas. Además, se ha descrito en estudios in vitro que utilizando pulsos de dosis altas de IL2 seguidos de dosis bajas de mantenimiento, estas citoquinas aumentan durante las primeras 72 horas y posteriormente se normalizan, y que con el mantenimiento a dosis bajas no aumentan de nuevo y se mantienen en los niveles basales (Palmer 1994).

III. FACTORES PREDICTIVOS DE MAYOR ACTIVIDAD CITOTOXICA

A pesar de que el número de pacientes no es elevado, hemos analizado si había alguna característica que permitiese prever el desarrollo de una mayor actividad citotóxica utilizando las mismas dosis de IL2.

Observamos que los pacientes más jóvenes (menores de 30 años) eran capaces de desarrollar una mayor actividad LAKe. Las razones de esta mayor capacidad de estimulación podían residir en el hecho de que el sistema inmunológico más joven es más fácilmente modulable (Roper 1992, Valteau-Couanet 1995).

Los pacientes sometidos a TMO o TPHP recuperan las células NK durante las 2 ó 3 primeras semanas después del trasplante, cuando aún no ha aumentado el número de linfocitos T ni B (Higuchi 1989, Reittie 1989, Neubauer 1994). El número de células capaces de desarrollar actividad LAKe es mayor después del trasplante que tras la quimioterapia convencional (Reittie 1989). Con estos datos podría parecer que el sistema inmunológico tras un trasplante es más fácilmente estimulable. Sin embargo, en nuestro estudio no existieron diferencias entre la actividad citotóxica previa al tratamiento entre los pacientes que habían sido trasplantados y aquellos sometidos a quimioterapia convencional, ni tampoco en la actividad citotóxica que se generó durante el tratamiento.

El tipo de enfermedad de base (LLA, LNH o LH), no predispuso al desarrollo de una mayor actividad citotóxica como respuesta al tratamiento con IL2. Los pacientes que se trataron en primera remisión no tuvieron una mayor capacidad de generar actividad LAKe que los pacientes en fases posteriores de su enfermedad que habían recibido más tratamientos. Es decir, un mayor número de ciclos de quimioterapia no inhibe ni destruye a las células capaces de generar esta actividad citotóxica.

Se ha comentado que el tiempo medio desde la última quimioterapia hasta el inicio de la IL2 fue de unos 3 meses. Sin embargo 4 pacientes comenzaron el tratamiento más tarde. La actividad LAKe de estos pacientes no fue significativamente distinta de la de los que comenzaron antes. Sin embargo, parece que es importante comenzar la IL2 lo antes posible para que la enfermedad esté en el momento de menor carga tumoral y sea más fácilmente erradicable (Thompson 1986, Benyunes 1995).

Se ha observado que aquellos pacientes que desarrollaron mayor toxicidad atribuible a la IL2 no presentaron mayor actividad citotóxica de forma asociada, lo que hace pensar que posiblemente la estimulación de actividad citotóxica y la inducción de toxicidad por la IL2 son mediadas por mecanismos biológicos distintos.

IV. ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL

La evolución de la EMR solo ha podido ser evaluada en un paciente, por lo que no se puede llegar a ninguna conclusión, pero creemos adecuado hacer un breve comentario por lo novedoso e interesante del tema. En la mayoría de los pacientes con linfoma folicular el gen bcl-2 se reordena, y este reordenamiento puede ser detectado mediante PCR. Cuando se somete a estos pacientes a TMO autólogo con depuración de la médula ósea, la negativización de la detección del reordenamiento del gen bcl-2 en médula ósea se asocia con un aumento de la supervivencia libre de recaída (Gribben 1991) y, por el contrario, su detección aumenta 48 veces el riesgo de recaída (Gribben 1993). Existe por tanto una intensa correlación entre la detección de EMR y la recaída.

En el paciente evaluado no se consiguió negativizar el marcador de EMR con el tratamiento con IL2, y el paciente finalmente recayó al mes de haber terminado el tratamiento con IL2. En este único caso la proliferación de células NK y el desarrollo de actividad citotóxica inducida por la IL2 no pudieron erradicar la EMR. La causa del fracaso fue probablemente que la masa tumoral era mayor de lo que la estimulación inmunológica era capaz de erradicar (Mule 1986, Thompson 1986).

V. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

Finalmente es importante evaluar si todos estos cambios inmunológicos tienen una repercusión en la enfermedad neoplásica de los pacientes y en su supervivencia.

Los pacientes que desarrollaron más actividad citotóxica no tuvieron un menor índice de recaídas. El desarrollo de una mayor actividad LAKe tampoco se correlacionó con una supervivencia libre de enfermedad más larga. Por tanto en nuestro estudio no podemos decir que el desarrollo de una inmunomodulación más intensa conlleve una mejor evolución de la enfermedad de base. La mayoría de los grupos no encuentran correlación entre la intensidad de la inmunomodulación y la respuesta tumoral, aunque algún grupo describe una correlación positiva entre el aumento de células NK durante el tratamiento con IL2 y la respuesta clínica en pacientes con neoplasias avanzadas (Duensing 1992, Atzpodien 1993).

Para evaluar el impacto de la IL2 en la supervivencia del grupo de pacientes con neoplasia linfóide en remisión completa pero con alto riesgo de recaída, se ha realizado un estudio caso-control. Los controles se eligieron de manera muy estricta ajustándose lo máximo a las características de la población tratada con IL2 (ver Pacientes y Métodos). La mediana de tiempo libre de recaída ha aumentado de 9 meses en los controles a más de 24 meses en los casos. Sin embargo con el número de pacientes presentados y el seguimiento actual, las dos curvas de supervivencia libre de enfermedad no muestran diferencias significativas. Distintos grupos han publicado resultados de tratamiento con IL2 en pacientes con neoplasia linfóide B en remisión completa con alto riesgo de recaída, habitualmente post TMO, pero ninguno de ellos ha realizado estudios prospectivos randomizados. El grupo de Seattle trata con IL2 a 22 pacientes con linfoma con alto riesgo de recaída post TMO autólogo, y encuentran una probabilidad actuarial de recaída en 4 años de 54% versus 60-90% del grupo control (Benyunes 1995). Otro grupo trata 13 pacientes con LLA en situación de enfermedad mínima residual con alto riesgo de recaída y un 64% de pacientes tratados recaen frente a un 80% del grupo control tras un seguimiento medio de 5 meses (Weisdorf 1993). Veinticinco pacientes con distintas neoplasias hematológicas en situación de enfermedad mínima residual sometidos

a TMO alogénico con depuración de linfocitos T que no desarrolla EICH y tratados posteriormente con IL2 tienen una supervivencia libre de enfermedad significativamente mayor que el grupo control que no la habían recibido (Soiffer 1994).

El grupo de pacientes tratados en nuestro estudio es pequeño, y el ensayo no es randomizado, por lo que no permite obtener conclusiones definitivas sobre la efectividad de el régimen de IL2 empleado para evitar recaídas en pacientes con neoplasia linfoide en situación de enfermedad mínima residual.

VI. PERSPECTIVAS

Desde el descubrimiento de la IL2 hasta el momento actual se ha avanzado mucho sobre el conocimiento de sus mecanismos de acción y toxicidad, pero seguimos sin estudios randomizados y con seguimiento prolongado que permitan demostrar si realmente produce un aumento en la supervivencia de pacientes con neoplasia en situación de enfermedad mínima residual

En los últimos años se están abriendo nuevas perspectivas para el uso de la inmunoterapia contra el cáncer. Uno de los campos de estudio es la transferencia génica mediante vectores retrovirales: la inserción del gen de la IL2 en células de leucemia humana inhibe su capacidad de crecimiento tumoral, como si se hicieran más susceptibles a la lisis. Además, estas tecnologías abren la posibilidad de protocolos de vacunación basados en la infusión de células tumorales modificadas genéticamente capaces de una estimulación específica del sistema inmune del paciente.

CONCLUSIONES

RESPECTO A LA TOLERANCIA DEL REGIMEN DE IL2 EMPLEADO

1. El tratamiento con IL2 a dosis de $4,5 \times 10^6$ UI al día, 5 días por semana durante 12 semanas consecutivas, por vía subcutánea, es bien tolerado por los pacientes, incluso por los que se han sometido a TMO o TPHP autólogo, y se puede realizar en régimen ambulatorio.

RESPECTO A LOS EFECTOS INMUNOLOGICOS DEL REGIMEN DE IL2 EMPLEADO

2. La IL2 administrada a dosis de $4,5 \times 10^6$ UI al día, 5 días por semana durante 12 semanas consecutivas, por vía subcutánea, produce cambios inmunológicos importantes: se produce una proliferación de las células NK CD3-/CD16+/CD56+, sobre todo las CD56^{bright}, que generan actividad LAK endógena que prácticamente no existía antes de comenzar el tratamiento. Los niveles séricos del receptor soluble de la IL2 también aumentan de forma significativa. Estos cambios alcanzan su máximo nivel tras las cuatro primeras semanas de tratamiento y se mantienen estables durante el resto del tratamiento.
3. La IL2 administrada por vía subcutánea a las dosis descritas previamente no produce modificaciones en la cifra de leucocitos totales, linfocitos totales, linfocitos activados, linfocitos T ni linfocitos B. sin embargo, se produce un aumento significativo en la cifra de eosinófilos. En nuestro estudio, la IL2 no estimula la liberación de otras citoquinas como el IFN- γ , el TNF- α , la IL4, la IL6 ni el TGF- β .
4. Los pacientes más jóvenes son capaces de generar más actividad citotóxica endógena habiendo recibido las mismas dosis de IL2 que los pacientes de mayor edad. No hemos encontrado ninguna otra característica de los pacientes que predisponga a la generación de una mayor actividad citotóxica endógena.

RESPECTO A LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD DE LOS PACIENTES CON NEOPLASIA LINFOIDE EN REMISION COMPLETA CON ALTO RIESGO DE RECAIDA TRATADOS CON IL2

5. En nuestros pacientes, la generación de una mayor actividad citotóxica in vivo no se correlaciona con una disminución en el índice de recaídas ni con un aumento en la supervivencia libre de enfermedad.

6. La IL2 en el régimen descrito previamente no aumenta de forma estadísticamente significativa la supervivencia libre de enfermedad en los pacientes con neoplasia linfoide en remisión completa con alto riesgo de recaída.

BIBLIOGRAFIA

Abrams JS, Rayner AA, Wiernik PH, et al. High-dose recombinant interleukin-2 alone: a regimen with limited activity in the treatment of advanced renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:1202-6.

Ackerstein A, Kedar E, Slavin S. Use of recombinant human interleukin-2 in conjunction with syngeneic bone marrow transplantation in mice as a model for control minimal residual disease in malignant hematologic disorders. *Blood* 1991; 78:1212-5.

Agah R, Malloy B, Sherrod A, Bean P, Girgis E, Mazumber A. Therapy of disseminated NK-resistant tumors by the synergistic effects of recombinant interleukin-2 and tumor necrosis factor. *J Biol Regul Modif* 1988a; 7:140-51.

Agah R, Malloy B, Sherrod A, Mazumber A. Successful therapy of natural killer resistant pulmonary metastases by the synergism of γ -interferon with tumor necrosis factor and interleukin-2 in mice. *Cancer Res* 1988b; 48:2245-8.

Agah R, Malloy B, Kerner M, et al. Potent graft antitumor effect in natural killer resistant disseminated tumors by transplantation of interleukin-2-activated syngeneic bone marrow in mice. *Cancer Res* 1989; 49:5959-63.

Allegretta M, Arkins MB, Dempsey RA, et al. The development of anti-interleukin-2 antibodies in patients treated with recombinant human interleukin-2 (IL-2). *J Clin Immunol* 1986; 6:481-90.

Allison AK, Jones SE, McGuffey P. Phase II trial of outpatient interleukin-2 in malignant lymphoma, chronic lymphocytic leukemia and selected solid tumors. *J Clin Oncol* 1989; 7:75-80.

Angevin E, Valteau-Couanet D, Farace F, et al. Phase I study of prolonged low-dose subcutaneous recombinant interelukin-2 (IL-2) in patients with advanced cancer. *J Immunother* 1995; 18:188-95.

Arinaga S, Karimine N, Takamuku K, et al. Laboratory correlates of chemoimmunotherapy with low-dose recombinant interleukin-2 and mitomycin C in patients with advanced carcinoma. *Cancer Invest* 1994; 12:588-96.

Atzpodien J, Körfer A, Evers P, et al. Low-dose subcutaneous recombinant interleukin-2 in advanced human malignancies: A phase II outpatient study. *Mol Biother* 1990; 2: 18-26.

Atzpodien J, Kirchner H, Körfer A, et al. Expansion of peripheral blood natural killer cells correlates with clinical outcome in cancer patients receiving recombinant subcutaneous interleukin-2 and interferon- α -2. *Tumor Biol* 1993; 14:354-9.

Atzpodien J, Lopez-Hanninen E, Kirchner H, et al. Multiinstitutional home-therapy trial of recombinant human interleukin-2 and interferon alfa-2 in progressive metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 497-501.

Azuma E, Kaplan J. Role of lymphokine-activated killer cells as mediators of veto and natural suppression. *J Immunol* 1988; 141:2601-6.

Barak V, Ginzburg M, Kalickman I, Polliack A. Serum soluble interleukin-2 receptor levels are associated with clinical disease status and histopathological grade in non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1992; 7:431-8.

Baumgarten E, Schmid H, Pohl U, et al. Low-dose natural interleukin-2 and recombinant interferon-gamma following autologous bone marrow grafts in pediatric patients with high-risk acute leukemia. *Leukemia* 1994; 8:850-5.

Bazan JF. Haemopoietic receptors and helical cytokines. *Immunol Today* 1990; 11:350-4.

Bean P, Agah R, Mazumder A. Heterogeneity of cell surface structures involved in cytotoxicity mediated by lymphokine activated killer cells. *J Biol Regul Modif* 1990; 9:92-7.

Benyunes M, Higuchi C, York A, et al. Immunotherapy with interleukin-2 with or without lymphokine-activated killer cells after autologous bone marrow transplantation for malignant lymphoma: a feasibility trial. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16:283-8.

Beran M, Hansson M, Kiessling R. Human natural killer cells can inhibit clonogenic growth of fresh leukemic cells. *Blood* 1983; 61:596-99.

Bernstein ZP, Vaickus L, Friedman N, et al: IL-2 LAK therapy of non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease. *J Immunother* 1991; 10:141-6.

Bernstein ZP, Porter MM, Gould M, et al. Prolonged administration of low-dose interleukin-2 in human immunodeficiency virus-associated malignancy results in selective expansion of innate immune effectors without significant clinical toxicity. *Blood* 1995; 86:3287-94.

Blaise D, Olive D, Stoppa AM, et al. Hematologic and immunologic effects of the systemic administration of recombinant interleukin-2 after autologous bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 76: 1092-7.

Blaise D, Viens P, Olive D, et al. Recombinant interleukin-2 (rIL-2) after autologous bone marrow transplantation (BMT): a pilot study in 19 patients. *Eur Cytokine Net* 1991; 2:121-9.

Blaise D, Stoppa AM, Viens P, et al. Intensive immunotherapy with recombinant IL2 after autologous bone marrow transplantation is associated with a high incidence of bacterial infections. *Bone Marrow Transplant* 1992; 10:193-4.

Blay JY, Favrot MC, Negrier S, et al. Correlation between clinical response to interleukin-2 therapy and sustained production of tumor necrosis factor. *Cancer Res* 1990; 50:2371-4.

Boldt DH, Mills BJ, Gemlo BT, et al. Laboratory correlates of adoptive immunotherapy with recombinant interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells in human. *Cancer Res* 1988; 48:4409-16.

Bosly A, Guillaume T, Brice P, et al. Effects of escalating doses of recombinant human interleukin-2 in correcting functional T-cell defects following autologous bone marrow transplantation for lymphomas and solid tumors. *Exp Hematol* 1992; 20:962-8.

Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest* 1968; 21(S97): 77-89.

Brandhuber BJ, Boone T, Kenney WC, McCay DB. Three-dimensional structure of interleukin-2. *Science* 1987; 238:1707-9.

Brune M, Hellstrand K. Remission maintenance therapy with histamine and interleukin-2 in acute myelogenous leukaemia. *Br J Haematol* 1996; 92:620-6.

Caldera LH, Leon-Ponte M, Aquatella G, Bianco NE, Blanca I. Bone marrow and peripheral blood natural killer cell activity in lymphomas. Its response to IL-2. *Clin Exp Immunol* 1992; 88:143-8.

Caliguri MA, Zmuidzinas A, Manley TJ, Levine H, Smith KA, Ritz J. Functional consequences of interleukin 2 receptor expression on resting human lymphocytes: Identification of a novel natural killer cell subsets with high affinity receptors. *J Exp Med* 1990; 171:1509-26.

Caliguri MA, Murray C, Soiffer RJ, et al: Extended continuous infusion low dose recombinant interleukin-2 in advanced cancer: prolonged immunomodulation without significant toxicity. *J Clin Oncol* 1991; 9:2110-9.

Caliguri MA, Murray C, Robertson MJ, et al. Selective modulation of human natural killer cells in vivo after prolonged infusion of low dose recombinant interleukin 2. *J Clin Invest* 1993; 91:123-32.

Cameron RB, McIntosh JK, Rosenberg SA. Synergistic antitumor effects of combination immunotherapy with recombinant interleukin-2 and a recombinant hybrid γ -interferon in the treatment of established murine hepatic metastases. *Cancer Res* 1988; 48:5810-7.

Cavender D, Saegusa Y, Ziff M. Stimulation of endothelial binding of lymphocytes by tumor necrosis factor. *J Immunol* 1987; 139:1855-60.

Charak BS, Malloy B, Agah R, Mazumder A. A novel approach to purging of leukemia by activation of bone marrow by interleukin-2. *Bone Marrow Transplant* 1990; 6:193-8.

Charak BS, Brynes RK, Katsuda S, Groshen S, Chen S, Mazumder A. Induction of graft versus leukemia effect in bone marrow transplantation: dosage and time schedule of interleukin 2 therapy. *Cancer Res* 1991; 51:2015-20.

Charak BS, Agah R, Brynes RK, et al. Interleukin-2 (IL-2) and IL-2-activated bone marrow in transplantation: evaluation from a clinical perspective. *Bone Marrow Transplant* 1992a; 9:479-86.

Charak BS, Choudhary GD, Tefft M, Mazumder A. Interleukin-2 in bone marrow transplantation: preclinical studies. *Bone Marrow Transplant* 1992b; 10:103-11.

Clark JW, Smith III JW, Steis RG, et al. Interleukin-2 and lymphokine activated killer cell therapy: analysis of a bolus interleukin-2 and a continuous infusion interleukin-2 regimen. *Cancer Res* 1990; 50:7343-50..

Clerigie M, Pisa P, Tsai L, Hanson M. Effects of interleukin-2 and interelukin-2-activated cells on in vitro myelopoiesis. *Clin Exp Immunol* 1990; 81:459-65.

Cotran RS, Pober MA, Gimbrone A, et al. Endothelial activation during interleukin-2 immunotherapy. A possible mechanism for the vascular leak syndrome. *J Immunol* 1988; 140:1883-8.

Crump WL, Owen-Schaub LB, Grimm EA. Synergy of human recombinant interleukin 1 with interleukin 2 in the generation of lymphokine-activated killer cells. *Cancer Res* 1989; 49:149-51.

Damle NK, Doyle LV, Bradley EC. Interleukin 2-activated killer cells are derived from phenotypically heterogeneous precursors. *J Immunol* 1986;137:2814-8.

Davidson WF. Cellular requirements for the induction of cytotoxic cells in vitro. *Immunol Rev* 1977; 35:263-9.

Dawson MM, Johnston D, Taylor GM, Moore M. Lymphokine activated killing of fresh human leukemias. *Leukem Res* 1986; 10:683-8.

Deng G, Podack ER. Suppression of apoptosis in a cytotoxic T-cell line by interleukin 2-mediated gene transcription and deregulated expression of the protooncogen bcl-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:2189-93.

Duensing S, Hadam M, Korfer A, et al. Pretreatment natural killer antigen density correlates to clinical response in tumor patients receiving long term subcutaneous recombinant interleukin-2 and recombinant interferon-alpha. *Mol Biother* 1992; 4:170-3.

Ellis TM, Creekmore SP, McMannis JD, et al. Appearance and phenotypic characterization of circulating Leu 19+ cells in cancer patients receiving recombinant interleukin-2. *Cancer Res* 1988; 48:6597-602.

Ellis TM, Fisher RI. Functional heterogeneity of Leu 19^{bright+} and Leu 19^{dim} lymphokine-activated killer cells. *J immunol* 1989; 142:2949-54..

Espinoza-Delgado I, Ortaldo JR, Winkler-Pickett R, Sugamura K, Varesio L, Longo DL. Expression and role of p75 interleukin 2 receptor on human monocytes. *J Exp Med* 1990; 171: 1821-6.

Ettinghausen SE, Lipford III EH, Mule JJ, Rosenberg SA. Recombinant interleukin-2 stimulates in vivo proliferation of adoptively transferred lymphokine-activated killer (LAK) cells. *J Immunol* 1985; 135:3623-35.

Ettinghausen SE, Rosenberg SA. Immunotherapy of murine sarcomas using lymphokine activated killer cells: optimization of the schedule and route of administration of recombinant interleukin-2. *Cancer Res* 1986; 46:2784-92.

Ettinghausen SE, Moore JG, White DE, Platanius L, Young NS, Rosenberg SA. Hematologic effects of immunotherapy with lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 in cancer patients. *Blood* 1987; 69:1654-60.

Farace F, Angevin E, Dietrich PY, et al. Low-dose interleukin-2 treatment: activation of discrete T and NK cell subpopulations in vivo. *Int J Cancer* 1995; 62:523-8.

Favrot MC, Combaret V, Negrier S, et al. Functional and immunophenotypic modifications induced by interleukin-2 did not predict responses to therapy in patients with renal cell carcinoma. *J Biol Resp Modif* 1990; 9:167-77.

Fearon ER, Pardoll DM, Itaya T, et al. Interleukin-2 production by tumor cells bypasses T helper function in the generation of antitumor response. *Cell* 1990; 60:397-403.

Fefer A, Benyunes M, Higuchi C, et al. Interleukin-2 +/- lymphocytes as consolidative immunotherapy after autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Acta-Haematol* 1993; 89 (Suppl 1): 2-7.

Fegan C, Thomas H, Bailey-Wood R, et al. In vitro LAK (lymphokine-activated killer) activity following autologous peripheral blood stem cell is significantly greater than that following autologous bone marrow and allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16:277-81.

Fisher RI, Coltman CA, Doroshow JH, et al. Metastatic renal cancer treated with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Ann Intern Med* 1988; 108:518-23.

Foa R, Fierro MT, Tosti S, et al. Induction and persistence of complete remission in a resistant acute myeloid leukemia patient after treatment with recombinant interleukin-2. *Leukem Lymphoma* 1990a; 1:113-7.

Foa R, Meloni G, Tosti S, et al. Treatment of residual disease in acute leukemia patients with recombinant interleukin-2 (IL2): Clinical and biological findings. *Bone Marrow Transplant* 1990b; 6:98-102.

Foa R, Guarini A, Gillio A, et al. Peripheral blood and bone marrow immunophenotypic and functional modifications induced in acute leukemia patients treated with interleukin-2: evidence of in vivo lymphokine activated killer cell generation. *Cancer Res* 1991a; 51:964-8.

Foa R, Meloni S, Tosti S, et al: Treatment of acute myeloid leukemia patients with recombinant interleukin-2: a pilot study. *Br J Haematol* 1991b; 77:491-6.

Foa R. Does interleukin-2 have a role in the management of acute leukemia?. *J Clin Oncol* 1993; 11:1817-25.

Freedman RS, Edwards CL, Kavanagh JJ, et al. Intraperitoneal adoptive immunotherapy of ovarian carcinoma with tumor-infiltrating lymphocytes and low-dose recombinant interleukin-2: a pilot trial. *J Immunother Tumor Immunol* 1994; 16:198-210.

Fyfe G, Fisher R, Rosenberg SA, Sznol M, Parkinson DR, Louie AC. Results of treatment of 255 patients with metastatic renal cell carcinoma who received high-dose recombinant interleukin-2 therapy. *J Clin Oncol* 1995; 13:688-96.

Gisselbrecht C, Maraninchi D, Pico J, et al: Interleukin-2 (IL2) in lymphoma: A phase II multicenter study. Abstr 1360. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1992; 33:227.

Gisselbrecht C, Maraninchi D, Pico JL, et al. Interleukin-2 treatment in lymphoma: a phase II multicenter study. *Blood* 1994; 83:2081-5.

Goey SH, Eggermont AM, Punt CJ, et al. Intrapleural administration of interleukin 2 in pleural mesothelioma: a phase I-II study. *Br J Cancer* 1995; 72:1283-8.

Goldstein D, Sosman JA, Hank JA, et al. Repetitive weekly cycles of interleukin-2: effect of outpatient treatment with a lower dose of interleukin-2 on non-major histocompatibility complex-restricted killer activity. *Cancer Res* 1989; 49:6832-9.

González-Barca E, Grañena A. Interleucina 2: un paso adelante en el tratamiento del cancer. *Med Clin (Barc)* 1996; 107:578-80.

Gooding P, Riches P, Dadian G, Moore J, Gore M. Increased soluble interleukin-2 receptor concentration in plasma predicts a decreased cellular response to IL-2. *Br J Cancer* 1995; 72:452-5.

Gottlieb DJ, Prentice HG, Heslop HE, et al. Effects of recombinant interleukin-2 administration on cytotoxic function following high-dose chemo-radiotherapy for hematological malignancy. *Blood* 1989; 74:2335-42.

Gribben JG, Freedman AS, Neuberg D, et al. Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *N Eng J Med* 1991; 325:1525-33.

Gribben JG, Neuberg D, Freedman AS, et al. Detection by polymerase chain reaction of residual cells with the bcl-2 translocation is associated with increased risk of relapse after autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *Blood* 1993; 81:3449-57.

Grimm EA, Mazumber A, Rosenberg SA. In vitro growth of cytotoxic human lymphocytes. Generation of allospecific cytotoxic lymphocytes to nonimmunogenic antigen by supplementation on in vitro sensitization with partially purified T cell growth factor (PP-TCGF). *Cell Immunol* 1982a; 70:248-59.

Grimm EA, Mazumder A, Zhand H, et al: The lymphokine activated killer cell phenomenon: Lysis of NK resistant fresh solid tumors cells by IL-2 activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* 1982b; 155: 1823-41.

Grimm EA, Muul LM, Wilson DJ. Cyclosporine and hydrocortisone exert differential inhibitory effects on the activation of human cytotoxic lymphocytes by recombinant IL-2 versus allospecific CTL. *Transplantation* 1985; 39:537-40.

Grimm EA, Bruner JM, Carinhas J, et al. Characterization of IL-2 initiated versus OKT3-initiated human tumor infiltrating lymphocytes from glioblastoma multiforme: growth characteristics cytolytic activity, and cell phenotype. *Cancer Immunol Immunother* 1991; 32:391-400.

Guida M, Abbate I, Casamassima A, et al. Long-term subcutaneous recombinant interleukin-2 as maintenance therapy: biological effects and clinical implications. *Cancer Biother* 1995; 10:195-203.

Hank JA, Kohler PC, Weil-Hillman G. In vivo induction of the lymphokine-activated killer phenomenon: interleukin-2 dependent human non-major histocompatibility complex-restricted cytotoxicity generated in vivo during administration of human recombinant interleukin-2. *Cancer Res* 1988; 48:1065-71.

Hatakeyama M, Tsudo M, Minamoto S, et al. interleukin-2 receptor β gene: generation of three forms by cloned human α and β chain cDNAs. *Science* 1989a: 244:551-6.

Hatakeyama M, Mori H, Doi T, Taniguchi T. A restricted cytoplasmic region of IL-2 receptor β chain is essential for growth signal transduction but not for ligand binding and internalization. *Cell* 1989b; 59:837-45.

Hayakawa M, Hatano T, Ogawa Y, Gakiya M, Ogura H, Osawa A. Treatment of advanced renal cell carcinoma using regional arterial administration of lymphokine-activated killer cells in combination with low doses of rIL-2. *Urol Int* 1994; 53:117-24.

Hercend T, Takvorian T, Nowill A, et al. Characterization of natural killer cells with antileukemia activity following allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1986; 67:722-8.

Heslop HE, Gottlieb DJ, Reittie JE, et al. Spontaneous and interleukin-2 induced secretion of tumor necrosis factor and gamma interferon following autologous marrow transplantation or chemotherapy. *Br J Haematol* 1989; 72:122-6.

Heslop HE, Duncombe A, Reittie J, et al. Interleukin 2 infusion induces hematopoietic growth factors and modifies marrow regeneration after chemotherapy or autologous marrow transplantation. *Br J Haematol* 1991; 77:237-44.

Higuchi CM, Thompson JA, Cox T, Lindgren CG, Buckner CD, Fefer A. Lymphokine-activated killer function following autologous bone marrow transplantation for refractory hematologic malignancies. *Cancer Res* 1989; 49: 5509-13.

Higuchi CM, Thompson JA, Petersen FB, Buckner D, Fefer A. Toxicity and immunomodulatory effects of interleukin-2 after autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Blood* 1991; 77:2561-8.

Huland E, Heinzer H, Huland H. Inhaled interleukin-2 in combination with low-dose systemic interleukin-2 and interferon alpha in patients with pulmonary metastatic renal-cell carcinoma: effectiveness and toxicity of mainly local treatment. *J Cancer Res Clin Oncol* 1994; 120:221-8.

Itoh K, Shiiba K, Shimizu Y, Suzuki R, Kumagai K. Generation of activated killer (LAK) cells by recombinant interleukin-2 (rIL-2) in collaboration with interferon-gamma (IFN- γ). *J Immunol* 1985; 134:3124.

Jablons J, Bolton E, Mertins S, et al. IL-2-based immunotherapy alters circulating neutrophil Fc receptor expression and chemotaxis. *J Immunol* 1990; 144:3630-6.

Kaplan G, Briton WJ, Hancock GE, et al. The systemic influence of recombinant interleukin-2 on the manifestations of lepromatous leprosy. *J Exp Med* 1991; 173:993-1006.

Keilholz U, Scheibenbogen C, Stoelben E, Saeger HD, Hunstein W. Immunotherapy of metastatic melanoma with interferon-alpha and interleukin-2: pattern of progression in responders and patients with stable disease with or without resection of residual lesions. *Eur J Cancer* 1994; 30:995-8.

Klingemann HG. Role of postinduction immunotherapy in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996; 10:21-2.

Kolitz JE, Welte K, Wong GY, et al. Expansion of activated T-lymphocytes in patients treated with recombinant interleukin-2. *Biol Resp Modif* 1987; 6:412-29.

Lafreniere R, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy of murine hepatic metastases with lymphokine-activated killer (LAK) cells and recombinant interleukin-2 (RIL-2) can mediate the regression of both immunogenic and non-immunogenic sarcomas and adenocarcinoma. *J Immunol* 1985; 135:4273-80.

Lanier LL, Lee AM, Civin CI, et al. The relationship of CD16 (Leu 11) and Leu 19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 1986; 136:4480-6.

Lanier LL, Lee AM, Ding AH, et al. Expression of Leu 19 (NKH-1) antigen on IL-2 dependent cytotoxic and non-cytotoxic T cell lines. *J Immunol* 1987; 138:2019-23.

Law TM, Motzer PJ, Mazumdar M, et al. Phase III randomized trial of interleukin-2 with or without lymphokine-activated killer cells in the treatment of patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer* 1995; 76:824-32.

Lazenby AW, Roth JA, Owen-Schaub LB, Grimm EA. IL-1 synergy with IL-2 in the generation of lymphokine activated killer cells is mediated by TNF-alpha and beta (lymphotoxin). *Cytokine* 1992; 4:479-87.

Leger O, Drexler HG, Reittie JC, Secker-Walker L, Prentice HG, Brenner MK. Interleukin 2 enhances cytotoxic cell function in vitro after T-cell depleted marrow transplantation. *Br J Haematol* 1987; 67:273-9.

Leonard WJ, Depper JM, Grabtree GM, et al. Molecular cloning and expression of cDNAs for the human interleukin-2 receptor. *Nature* 1984; 311:626-31.

Leonard WJ, Depper JM, Kanehisa M, et al. Structure of the human interleukin-2 receptor gen. *Science* 1985; 230:633-9.

Lieberman MD, Nishioka K, Redmond HP, Daly JM. Enhancement of interleukin-2 immunotherapy with L-arginine. *Ann Surg* 1992; 215:157-65.

Lim S, Newland A, Kelsey S, et al. Continuous intravenous infusion of high dose interleukin-2 (rIL-2) for acute myeloid leukemia - a phase II study. *Cancer Immunol Immunother* 1992; 34:337-42.

Lindemann A, Brossart P, Hoffken K, et al. Immunomodulatory effects of ultra-low-dose interleukin-2 in cancer patients: a phase I study. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37:307-15.

Lissoni P, Tisi E, Brivio F, et al. Increase in soluble interleukin-2 receptor and neopterin serum levels during immunotherapy of cancer with interleukin-2. *Eur J Cancer* 1991; 27:1014-6.

Lissoni P, Barni S, Tancini G, et al. A randomized study with subcutaneous low-dose interleukin 2 alone vs interleukin 2 plus the pineal neurohormone melatonin in advanced solid neoplasms other than renal cancer and melanoma. *Br J Cancer* 1994; 69:196-9.

Lissoni P, Barni S, Fossati V, et al. A randomized study of neuroimmunotherapy with low-dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin compared to supportive care alone in patients with untreatable metastatic solid tumor. *Support Care Cancer* 1995a; 3:194-7.

Lissoni P, Brivio F, Brivio O, et al. Immune effects of preoperative immunotherapy with high-dose subcutaneous interleukin-2 versus neuroimmunotherapy with low-dose interleukin-2 plus the neurohormone melatonin in gastrointestinal tract tumor patients. *J Biol Reg Homeos Ag* 1995b; 9:31-3.

LoRusso PM, Ankerman SL, Polin L, et al. Antitumor efficacy of interleukin-2 alone and in combination with adriamycin and dacarbazine in murine solid tumor systems. *Cancer Res* 1990; 50:5876-82.

Lotze MT, Matory SE, Ettinghausen SE, et al. In vivo administration of purified recombinant interleukin-2. II. Half life, immunological effects, and expansion of peripheral lymphoid cells in vivo with recombinant interleukin-2. *J Immunol* 1985; 135:2865-75.

Lotze MT, Chang AE, Seipp CA, Simpson C, Vetto JT, Rosenberg SA. High dose recombinant interleukin-2 in the treatment of patients with disseminated cancer: responses, treatment-related morbidity, and histologic findings. *JAMA* 1986; 256: 3117-24.

Lotze MT, Custer MC, Sharrow SO, et al. In vivo administration of purified human interleukin-2 to patients with cancer: development of interleukin-2 receptors following interleukin-2 administration. *Cancer Res* 1987; 47:2188-95.

Lotzova E, Savary CA, Herberman RB. Induction of NK cell activity against fresh human leukemia in culture with interleukin 2. *J Immunol* 1987; 138:2718-27.

Lummen G, Goepel M, Mollhoff S, Hinke A, Otto T, Rubben H. Phase II study of interferon-gamma versus interleukin-2 and interferon-alpha 2b in metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 1996; 155:455-8.

Macdonald D, Gordon AA, Kajitani H, Enokihara H, Barret A. Interleukin-2 treatment-associated eosinophilia is mediated by interleukin-5 production. *Br J Haematol* 1990; 76:168-73.

Mao XW, Kettering JD, Gridley DS. Immunotherapy with low-dose interleukin-2 and anti-transforming growth factor-beta antibody in a murine tumor model. *Cancer Biother* 1994; 9:317-27.

Maraninchi D, Blaise D, Viens P, et al. High-dose recombinant interleukin-2 and acute myeloid leukemias in relapse. *Blood* 1991; 78:2182-7.

Margolin K, Aronson F, Sznol M, et al. Phase II trial of high-dose interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *J Immunother* 1991; 10:214-20.

Marolleau JP, Baccard M, Flageul B, et al. High-dose recombinant interleukin-2 in advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Arch Dermatol* 1995; 131:574-9.

Martin PJ, Hansen JA, Buckner CD, et al. Effects of in vitro depletion of T cells in HLA-identical allogeneic marrow grafts. *Blood* 1985; 66:664-72.

Martin PJ, Hansen JA, Torok-Storb B, et al. Graft failure in patients receiving T cell-depleted HLA identical allogeneic marrow transplants. *Bone Marrow Transplant* 1988; 3:445-56.

Maxwell W, McDevitt J, Reid I, et al. Changes in immunological parameters during interleukin 2 and interferon 2 alpha treatment of recurrent renal cell carcinoma and malignant melanoma. *Eur J Surg Oncol* 1993; 19:265-72.

Mazumder A, Rosenberg SA. Successful immunotherapy of natural killer-resistant established pulmonary melanoma metastases by the intravenous adoptive transfer of syngeneic lymphocytes activated in vitro by interleukin-2. *J Exp Med* 1984; 159: 495-507.

McMannis JD, Fisher RI, Creekmore SP, et al. In vivo effects of recombinant interleukin-2 I. Isolation of circulating Leu 19+ lymphokine-activated effector killer cells from cancer patients receiving recombinant IL-2. *J Immunol* 1988; 140: 1335-40.

Meffert M, Schomburg A, Hanninen EL, et al. In vivo tumor necrosis factor-alpha as indicator of biologic and clinical response to low-dose SC recombinant interleukin-2. *Anticancer Res* 1995; 15:127-32.

Meloni G, Foa R, Tosti S, et al. Autologous bone marrow transplantation followed by interleukin-2 in children with advanced leukemia: a pilot study. *Leukemia* 1992; 6:780-5.

Miller RG. An immunological suppressor cell inactivating cytotoxic T-lymphocyte precursors cell recognizing it. *Nature* 1980; 287:544-6.

Minami Y, Kono T, Yamada K, Kobayashi N, Kawahara A, Perlmutter RM, Taniguchi T. Association of p56^{lck} with IL-2 receptor β chain is critical for the IL-2-induced activation of p56^{lck}. *EMBO J* 1993; 12: 759-68.

Minami Y, Taniguchi T. IL-2 signaling: recruitment and activation of multiple protein tyrosine kinases by the components of the IL-2 receptor. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 156-62.

Mitchell MS. Chemotherapy in combination with biomodulation: a 5-year experience with cyclophosphamide and interleukin-2. *Semin Oncol* 1992; 19(Suppl 4):80-7.

Miyazaki T, Kawahara A, Fujii H, et al. Functional activation of Jak1 and Jak3 by a selective association with IL-2 receptor subunits. *Science* 1994; 266:1045-7.

Morecki S, Revel-Vilk S, Nabet C, et al. Immunological evaluation of patients with hematological malignancies receiving ambulatory cytokine-mediated immunotherapy with recombinant human interferon-alpha 2a and interleukin-2. *Cancer Immunol Immunother* 1992; 35:401-11.

Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 1976; 193:1007-8.

Mule JJ, Ettinghausen SE, Spiess PJ, Shu S, Rosenberg SA. Antitumor efficacy of lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 in vivo: survival benefit and mechanisms of tumor escape in mice undergoing immunotherapy. *Cancer Res* 1986; 46:676-83.

Muraoka S, Ehman DL, Miller RG. Irreversible inactivation of activated cytotoxic T lymphocytes precursor cells by "anti self" suppressor cell present in murine bone marrow T cell colonies. *Eur J Immunol* 1984; 14:1010-6.

Nagler A, Lanier LL, Cwirla S, Phillips JH. Comparative studies of human FcRIII-positive and negative natural killer cells. *J Immunol* 1989; 143:3183-91.

Nagler A, Lanier LL, Phillips JH. Constitutive expression of high affinity interleukin-2 receptors on human CD16-natural killer cells in vivo. *J Exp Med* 1990; 170:1527-33.

Nakagawa K, Kamezaki T, Shibata Y, Tsunoda T, Meguro K, Nose T. Effect of lymphokine-activated killer cells with or without radiation therapy against malignant brain tumors. *Neurochirurgia* 1995; 35:22-7.

Nakamura Y, Russell SM, Mess SA, et al. Heterodimerization of the IL-2 receptor β and γ -chain cytoplasmic domain is required for signaling. *Nature* 1994; 369:330-3.

Negrier S, Philip T, Stoter G, et al. Interleukin-2 with or without LAK cells in metastatic renal cell carcinoma: a report of a European multicentre study. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; 25 (Suppl 3):21-8.

Nelson BH, Lord JD, Greenberg PD. Cytoplasmic domains of the interleukin-2 receptor β and γ chains mediate the signal for T-cell proliferation. *Nature* 1994; 369:333-6.

Neubauer MA, Benyunes MC, Thompson JA, et al. Lymphokine-activated killer (LAK) precursor cell activity is present in infused peripheral blood stem cells and in the blood after autologous peripheral stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13:311-6.

Nielsen HJ, Moesgaard F, Hammer JH. Effect of ranitidine and low-dose interleukin-2 in vitro on NK-cell activity in peripheral blood from patients with liver metastases from colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol* 1995; 21:526-30.

Nikaido T, Shimizu A, Ishida N, et al. Molecular cloning of cDNA encoding human interleukin-2 receptor. *Nature* 1984; 311:631-5.

Ogata K, Yokose N, Nomura T. Interleukin-2 therapy for myelodysplastic syndrome: does it work?. *Leukem Lymphom* 1995; 17:411-5.

Okuno K, Ohnishi H, Shilayama Y, Hirohata T, Ozaki M, Yasutomi M. Augmentation of human lymphokine-activated killer cell activity in splenic lymphocytes by the combination of low-dose interleukin 2 plus interleukin 3. *Mol Biother* 1992; 4:83-6.

Oshimi K, Oshimi Y, Akutsu M, et al. Cytotoxicity of interleukin-2-activated lymphocytes for leukemia and lymphoma cells. *Blood* 1986; 4:938-48.

Otani H, Erdos M, Leonard WJ. Tyrosine kinase(s) regulate apoptosis and bcl-2 expression in a growth factor-dependent cell line. *J Biol Chem* 1993; 268:22733-6.

Owen-Schaub LB, Gutterman JU, Grimm EA. Synergy of TNF in the activation of human cytotoxic lymphocytes. Tumor necrosis factor alpha is synergistic with interleukin-2 in the generation of human lymphokine-activated killer cell cytotoxicity. *Cancer Res* 1988; 48:788-92.

Owen-Schaub LB, de Mars M, Murphy EC, Grimm EA. IL-2 dose regulates TNF-alpha transcription and protein secretion in human peripheral blood lymphocytes. *Cell Immunol* 1989; 143:2236-41.

Owen-Schaub LB, Santee SM, Winkelhake JL, Zimmerman RJ. Role of tumor necrosis factor species in the sequence-dependent effects of interleukin-2-tumor necrosis factor immunotherapy in mice: implications for preclinical cytokine testing. *J Immunother* 1994; 15:1-10.

Paciucci PA, Holland JF, Glidewell O, Odchimar R. Recombinant interleukin-2 by continuous infusion and adoptive transfer of recombinant interleukin-2-activated cells in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 1989; 7:869-78.

Pahwa R, Chatila T, Pahwa S, et al. Recombinant interleukin-2 therapy in severe combined immunodeficiency disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:5069-73.

Palmer PA, Atzpodien J, Philip T, et al. A comparison of 2 models of administration of recombinant interleukin-2: continuous intravenous infusion alone versus subcutaneous administration plus interferon-alpha in patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer Biother* 1993; 8:123-36.

Palmer PA, Scharenberg JG, Von Blomberg BM, et al. Persistent augmentation of natural killer and T cell mediated cytotoxicity in peripheral blood mononuclear cells pulsed in vitro with high-dose recombinant interleukin-2 prior to culturing with a low maintenance dose. *Cancer Immunol Immunother* 1994; 39:34-40.

Papa MZ, Mule JJ, Rosenberg SA. Antitumor efficacy of lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 in vivo: successful immunotherapy of established pulmonary metastases from weakly immunogenic and non-immunogenic murine tumors of three distinct histological types. *Cancer Res* 1986; 46:4973-8.

Papamichail M, Baxevanis CN. Gamma-interferon enhances the cytotoxic activity of interleukin-2-induced peripheral blood lymphocyte (LAK) cells, tumor infiltrating lymphocytes (TIL), and effusion associated lymphocytes. *J Chemother* 1992; 4:387-93.

Peest D, Leo R, Bloche S, et al. Low-dose recombinant interleukin-2 therapy in advanced multiple myeloma. *Br J Haematol* 1995; 89:328-37.

Perez EA, Scudder SA, Meyers FA, Tanaka MS, Paradise C, Gandara DR. Weekly 24-hour continuous infusion interleukin-2 for metastatic melanoma and renal cell carcinoma: a phase I study. *J Immunother* 1991; 10:57-62.

Phillips JH, Gemlo BT, Myers WW, Rayner AA, Lanier LL. In vivo and in vitro activation of natural killer cells in advanced cancer patients undergoing combined recombinant interleukin-2 and LAK cell therapy. *J Clin Oncol* 1987; 5:1933-41.

Prigione I, Facchetti P, Lanino E, Garaventa A, Pistoia V. Clonal analysis of peripheral blood lymphocytes from three patients with advanced neuroblastoma receiving recombinant interleukin-2 and interferon alpha. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37:40-6.

Pross HF, Baines MG, Jondal M. Spontaneous human lymphocyte mediated cytotoxicity against tumor target cells. Is the complement receptor necessarily present in the killer cells?. *Int J Cancer* 1977; 20:353-8.

Quan WD Jr, Dean GE, Lieskovsky G, Mitchell MS, Kempf RA. Phase II study of low dose cyclophosphamide and intravenous interleukin-2 in metastatic renal cancer. *Invest New Drugs* 1994; 12:35-9.

Raspadori D, Lauria F, Ventura MA, et al. Low doses of rIL2 after autologous bone marrow transplantation induce a prolonged immunostimulation of NK compartment in high-grade non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Hematol* 1995; 71:175-9.

Reittie JE, Gottlieb D, Heslop HE, et al: Endogenously generated activated killer cells circulate after autologous and allogeneic marrow transplantation but not after chemotherapy. *Blood* 1989; 73:1351-8.

Richards JM, Barker E, Latta J, Ramming K, Vogelzang NJ. A phase I study of weekly 24-hour infusions of recombinant human interleukin-2. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80:1325-8.

Robb RJ, Greene WC, Rusk CM. Low and high affinity cellular receptors for interleukin 2. implications for the levels of Tac antigen. *J Exp Med* 1984; 160:1126-46.

Robertson M, Ritz J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. *Blood* 1990; 76:2421-38.

Robinson N, Sanders JE, Benyunes MC, et al. Phase I trial of interleukin-2 after unmodified HLA-matched sibling bone marrow transplantation for children with acute leukemia. *Blood* 1996; 87:1249-54.

Rodgers S, Rees RC, Hancock BW. Changes in the phenotypic characteristics of eosinophils from patients receiving recombinant human interleukin-2 (rhIL-2) therapy. *Br J Haematol* 1994; 86:746-53.

Rooney CM, Wimperis JZ, Brenner MK, Patterson J, Hoffbrand AV, Prentice HG. Natural killer cell activity following T-cell depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1986; 62:413-20.

Roper M, Smith MA, Sondel PM, et al. A phase I study of interleukin-2 in children with cancer. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1992; 14:305-11.

Rosenberg SA, Grimm EA, McGrogan M, et al. Biological activity of recombinant human interleukin-2 produced in *Escherichia Coli*. *Science* 1984; 223:1412-4.

Rosenberg SA, Mule JJ, Spiess PJ, Reichert CM, Schwarz SL. Regression of established pulmonary metastases and subcutaneous tumors mediated by the systemic administration of high-dose recombinant interleukin-2. *J Exp Med* 1985a; 161: 1169-88.

Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al. Observation on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med* 1985b; 313:1485-92.

Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al. A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N Engl J Med* 1987; 316:889-97.

Rosenberg SA, Lotze MT, Yang JC, et al. Experience with the use of high-dose interleukin-2 in the treatment of 652 cancer patients. *Ann Surg* 1989a; 210:474-85.

Rosenberg SA, Lotze MT, Yang JC, et al. Combination therapy with interleukin-2 and alpha-interferon for the treatment of patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 1989b; 7:1863-74.

Rosenthal NS, Hank JA, Kohler PC, et al. The in vitro function of lymphocytes from 25 cancer patients receiving four to seven consecutive days of recombinant interleukin-2. *Biol Resp Modif* 1988; 7:123-39.

Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann Intern Med* 1990; 113:619-27.

Russell SM, Johnson JA, Noguchi M, et al. Interaction of IL-2R β and γ chains with Jak1 and Jak3: implications for XSCID and XCID. *Science* 1994; 266:1042-45.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

Scharenberg JGM, Stam AGM, Von Blomberg BME, et al. The development of anti-interleukin-2 (IL-2) antibodies in cancer patients treated with recombinant IL-2. *Eur J Cancer* 1994; 30:1809-15.

Schneekloth C, Korfer A, Hadam M, et al. Low-dose interleukin-2 in combination with interferon-alpha effectively modulates biological response in vivo. *Acta Haematol* 1993; 89:13-21.

Schomburg A, Menzel T, Korfer A, et al. In vivo and ex vivo antitumor activity in patients receiving low-dose subcutaneous recombinant interleukin-2. *Nat Immun* 1992; 11:133-43.

Schoof DD, Gramolini BA, Davidson DL, Massaro AF, Wilson RE, Eberlein TJ. Adoptive immunotherapy of human cancer using low-dose recombinant interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Cancer Res* 1988; 48:5007-10.

Seigel LJ, Harper ME, Wong-Staal F, Gallo RC, Nash WG, O'Brien SJ. Gene for T-cell growth factor: location on human chromosome 4q and feline chromosome B1. *Science* 1984; 223:175-8.

Shibuya H, Yonewama M, Nakamura Y, et al. The human interleukin-2 receptor β -chain gene: genomic organization, promoter analysis and chromosomal assignment. *Nucl Acids Res* 1990; 18:3697-703.

Shibuya H, Yoneyama M, Ninomiya-Tsuji J, Matsumoto K, Taniguchi T. IL-2 and EGF receptors stimulate the hematopoietic cell cycle via different signaling pathways: demonstration of a novel role for c-myc. *Cell* 1992; 70:57-67.

Shimazaki C, Atzpodien J, Wisniewski D, et al. Cell-mediated toxicity of interleukin-2-activated lymphocytes against autologous and allogeneic human myeloma cells. *Acta Haematol* 1988; 80:203-9.

Slavin S, Ackerstein A, Kaparstek E, et al: The graft-versus leukemia (GVL) phenomenon: Is GVL separable from GVHD?. *Bone Marrow Transplant* 1990; 6:155-61.

Sleijfer DT, Janssen RAJ, Buter J, et al. Phase II study of subcutaneous interleukin-2 in unselected patients with advanced renal cell cancer as an outpatient basis. *J Clin Oncol* 1992; 7:1119-23.

Smith KA. Interleukin-2; inception, impact, and implications. *Science* 1988; 240:1169-76.

Smith KA. Lowest dose interleukin-2 immunotherapy. *Blood* 1993; 81:1414-23.

Soiffer RJ, Murray C, Cochran K, et al. Clinical and immunologic effects of prolonged infusion of low-dose recombinant interleukin-2 after autologous and T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1992; 79: 517-26.

Soiffer RJ, Murray C, Gonin R, Ritz J. Effect of low-dose interleukin-2 on disease relapse after T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1994; 84:964-71.

Sosman JA, Kefer C, Fisher RI, Jacobs CD, Pumfery P, Ellis TM. A phase IA/IB trial of anti-CD3 murine monoclonal antibody plus low-dose continuous-infusion interleukin-2 in advanced cancer patients. *J Immunother Tumor Immunol* 1995; 17:171-80.

Stein RC, Malkowska V, Morgan S, et al. The clinical effects of prolonged treatment of patients with advanced cancer with low-dose subcutaneous interleukin-2. *Br J Cancer* 1991; 63:275-8.

Stewart-Akers AM, Cairns JS, Tweardy DJ, McCarthy SA. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on lymphokine-activated killer cell induction. *Blood* 1993; 81:2671-8.

Stoppa AM, Fossat C, Blaise D, et al. Interleukin-2 induces chemotactic deficiency in patients with onco hematologic malignancies and autologous bone marrow transplantation. *Eur Cytokine Netw* 1991; 2:231-7.

Sykes M, Romick ML, Sachs DH. Interleukin-2 prevents graft-versus-host disease while preserving the graft-versus-leukemia effect on allogeneic T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:5633-7.

Takeshita T, Asao H, Ohtani K, et al. Cloning of the γ chain of the human IL-2 receptor. *Science* 1992; 257:379-82.

Taniguchi T, Matsui H, Fujita T, et al. Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature* 1983; 302:305-10.

Taniguchi T, Minami Y. The IL-2 / IL-2 receptor system: a current overview. *Cell* 1993; 73:5-8.

Teppler H, Kaplan G, Smith K, et al. Efficacy of low-doses of the polyethylene glycol derivate of interleukin-2 in modulating the immune responses of patients with human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Infect Dis* 1993; 167:291-8.

Thijs LG, Hack CE, Strack van Schijndel RJ, et al. Activation of the complement system during immunotherapy with recombinant interleukin-2. Relation to the development of side effects. *J Immunol* 1990; 144:2419-24.

Thompson JA, Peace DJ, Klarnet JP, Kern DE, Greenberg PD, Cheever MA. Eradication of disseminated murine leukemia by treatment with high-dose interleukin-2. *J Immunonol* 1986; 137:3675-80.

Thompson JA, Lee DJ, Lindgren CG, et al. Influence of dose and duration of infusion of interleukin-2 on toxicity and immunomodulation. *J Clin Oncol* 1988; 6:669-78.

Thompson JA, Lee DJ, Lindgren CG, et al. Influence of schedule of interleukin-2 administration in therapy with interleukin-2 and lymphokine activated killer cells. *Cancer Res* 1989; 49:235-40.

Tourani J, Levy V, Briere J, et al: Interleukin-2 therapy for refractory and relapsing lymphomas. *Eur J Cancer* 1991; 27:1676-80.

Toze CI, Barnett MJ, Klingemann HG. Response of therapy-related myelodysplasia to low-dose interleukin-2. *Leukemia* 1993; 7:463-5.

Trionzi PL, Kim JA, Martin EW, Young DC, Benzies T, Villasmil PM. Phase I trial of escalating doses of interleukin-1 beta in combination with a fixed dose of interleukin-2. *J Clin Oncol* 1995; 13:482-9.

Ullman KS, Northrop JP, Verweij CL, Grabtree GR. Transmissions of signals from the T lymphocyte antigen receptor to the genes responsible for cell proliferation and immune function: the missing link. *Annu Rev Immunol* 1990; 8:421-52.

Urba WJ, Steis RG, Longo DL, et al. Immunomodulatory properties and toxicity of interleukin-2 in patients with cancer. *Cancer Res* 1990; 50:185-92.

Valteau-Couanet D, Rubie H, Meresse V, Farace F, Brandely M, Hartmann O. Phase I-II study of interleukin-2 after high dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation in poorly responding neuroblastoma. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16:515-20.

Verdi CJ, Taylor CW, Croghan MK, Dalke P, Meyskens FL, Hersh EM. Phase I study of low-dose cyclophosphamide and recombinant interleukin-2 for the treatment of advanced cancer. *J Immunother* 1992; 11:286-91.

Vlasveld LT, Rankin EM, Hekman A, et al. A phase I study of prolonged continuous infusion of low-dose recombinant interleukin-2 in melanoma and renal cell cancer. Part I: clinical aspects. *Br J Cancer* 1992; 65:774-5.

Vlasveld LT, Hekman A, Vyth-Dreese FA, et al. A phase I study of prolonged continuous infusion of low dose recombinant interleukin-2 in melanoma and renal cell cancer. Part II: immunological aspects. *Br J Cancer* 1993; 68:559-67.

Vogelzang NJ, Lipton A, Figlin RA. Subcutaneous interleukin-2 plus interferon alfa-2a in metastatic renal cancer: an outpatient multicenter trial. *J Clin Oncol* 1993; 11:1809-16.

Voss SD, Robb RJ, Weil-Hillman G, et al. Increased expression of the interleukin-2 (IL-2) receptor β chain on CD56+ natural killer cells after in vivo IL-2 therapy: p70 expression does not alone predict the level of intermediate IL-2 binding. *J Exp Med* 1990; 172:1101-14.

Voss SD, Sondel PM, Robb RJ. Characterization of the interleukin 2 receptors (IL-2R) expressed on human natural killer cells activated in vivo by IL-2: Association of the p64 IL-2R gamma chain with the IL-2R beta chain in functional intermediate-affinity IL-2R. *J Exp Med* 1992; 176:531-41.

Wang HM, Smith KA. The interleukin 2 receptor. Functional consequences of its bimolecular structure. *J Exp Med* 1987; 166:1055-69.

Weber J, Yang J. The use of interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1992; 10:33-40.

Weil-Hillman G, Hank JA, Rosenthal NS, Sondel PM. Transient decrease in IL-2-responsive lymphocytes 24 hours after initiation of continuous IL-2 infusion in cancer patients. *J Biol Resp Modif* 1988; 7:424-37.

Weil-Hillman G, Fisch P, Prieve AF, Sosman JA, Hank JA, Sondel PM. Lymphokine-activated killer activity induced by in vivo interleukin-2 therapy: predominant role for lymphocytes with increased expression of CD2 and Leu 19 antigens but negative expression of CD16 antigens. *Cancer Res* 1989; 49:3680-8.

Weisdorf DJ, Nesbit ME, Ramsay NKC, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia in remission: prolonged survival associated with acute graft-versus-host disease. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1348-55.

Weisdorf DJ, Anderson PM, Blazar BR, Uckun FM, Hersey JH, Ramsay KC. Interleukin-2 immediately after autologous bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia - a phase I study. *Transplantation* 1993; 55:61-6.

Weiss GR, Margolin KA, Aronson FL, et al. A randomized phase II trial of continuous infusion interleukin-2 or bolus injection interleukin-2 plus lymphokine-activated killer cells for advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1992; 10:275-81.

Weiss L, Lubin I, Factorowich I, et al. Effective graft-versus-leukemia effects independent of graft-versus-host disease after T cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation in a murine model of B cell leukemia/lymphoma. Role of cell therapy and recombinant IL-2. *J Immunol* 1994; 153:2562-7.

Weissman AM, Harford JB, Svetlik PB, et al. Only high affinity receptors for interleukin-2 mediate internalization of ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83:1463-6.

Wersall JP, Masucci G, Hjelm AL, et al. Low dose cyclophosphamide, alpha-interferon and continuous infusion of interleukin-2 in advanced renal cell carcinoma. *Medical Oncol* 1993; 10:103-11.

West WH, Tauer KW, Yannelli JR, et al. Constant-infusion recombinant interleukin-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer. *N Engl J Med* 1987; 316:898-905.

Whitehead RP, Ward D, Hemingway L, et al. Subcutaneous recombinant interleukin-2 in a dose escalating regimen in patients with metastatic renal adenocarcinoma. *Cancer Res* 1990; 50:6708-15.

Whitehead RP, Figlin R, Citron ML. A phase II trial of concomitant human interleukin-2 and interferon-alpha-2a in patients with disseminated malignant melanoma. *J Immunother* 1993; 13:117-21.

Wiebke EA, Rosenberg SA, Lotze MT. Acute immunologic effects of interleukin-2 therapy in cancer patients: decreased delayed type hypersensitivity response and decreased proliferative response to soluble antigens. *J Clin Oncol* 1988; 6:1440-9.

Yang JC, Topalian SL, Parkinson D, et al. Randomized comparison of high-dose and low-dose intravenous interleukin-2 for the therapy of metastatic renal cell carcinoma: an interim report. *J Clin Oncol* 1994; 12:1572-6.

Yoneda K, Yamamoto T, Ueta E, Osaki T. Induction of lymphokine-activated killer cells with low-dose interleukin-2 and interferon-gamma in oral cancer patients. *J Clin Immunol* 1992; 12:289-99.

Zambello R, Trentin L, Cerutti A, et al. Independent expression of p55 and p75 interleukin-2 receptors (IL-2R) during intravenous or subcutaneous administration of recombinant interleukin-2 (rIL-2) by T-lymphocytes and natural killer cells. *Cancer* 1994; 74:2562-9.

APENDICE

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

INTERLEUKINA 2.

Servicio de Hematología Clínica
Hospital Duran i Reynals

Fecha de Registro: ____/____/____

 Identificación del paciente:

 Iniciales: _____

 N° de Historia: _____

 N° de Registro: _____

 Datos demográficos:

 Fecha de nacimiento: ____/____/____

 Sexo: _____

INTERLEUKINA - 2

Las preguntas 1 al 6 deben ser contestadas "SI" para comenzar la IL-2.

- | | | |
|--|----|----|
| 1. ¿Tiene el paciente más de 1000 granulocitos/mm ³ y más de 30000 plaquetas/mm ³ sin soporte? | SI | NO |
| 2. ¿Un aspirado medular ha demostrado injerto de las tres series? | SI | NO |
| 3. ¿Está el paciente afebril y no está recibiendo antibióticos o antifúngicos excepto tratamiento profiláctico? | SI | NO |
| 4. ¿Está el paciente en remisión de su enfermedad de base? | SI | NO |
| 5. ¿Tiene el paciente una función renal y hepática adecuada (creatinina, Br, GOT, GPT y F.A.) menor al doble de la normalidad? | SI | NO |
| 6. ¿Tiene el paciente signos de toxicidad menor de grado II cardíaca, respiratoria o neurológica? | SI | NO |

Las preguntas 7 y 8 deben ser contestadas "NO" para comenzar la IL-2.

- | | | |
|---|----|----|
| 7. ¿Ha recibido el paciente IL-2 previamente? | SI | NO |
| 8. ¿Ha recibido el paciente esteroides en los últimos 15 días o pentoxifilina o factores de crecimiento en los últimos tres días? | SI | NO |

DATOS DEL DIAGNOSTICO INICIAL

Fecha del primer diagnóstico: ____/____/____

TIPO DE LINFOMA O LEUCEMIA AL DIAGNOSTICO

- 1. LLA. Tipo:
- 2. LNH. Tipo:
- 3. LH. Tipo:

ESTADIO CLINICO AL DIAGNOSTICO (EN LINFOMAS)

- 1. I
- 2. II
- 3. III
- 4. IV

SINTOMAS SISTEMICOS AL DIAGNOSTICO

- 1. A

- 2. B

INFILTRACION DE LA MEDULA OSEA AL DIAGNOSTICO

- 1. SI
- 2. NO

TRATAMIENTOS PREVIOS

QUIMIOTERAPIA								
Número Regímenes	Nombre Régimen	Número de ciclos	Ultima fecha administración	Tipo de respuesta				
				RC	RP	EE	EP	DESC
			___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

RADIOTERAPIA							
Código	Radiación total (cGy)	Ultima fecha administración	Tipo de respuesta				
			RC	RP	EE	EP	DESC
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
_____	_____	___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

OS: RC: remisión completa
 RP: remisión parcial

EE: enfermedad estable
 EP: enfermedad progresiva

DESC: desconocido

EVALUACION DE LA ENFERMEDAD AL ENTRAR EN EL ESTUDIO

Fecha de la evaluación: ____/____/____

ESTADO DE LA ENFERMEDAD AL ENTRAR EN EL ESTUDIO

Adenopatías SI NO
Tamaño máximo: cm x cm

Localizaciones:

- laterocervicales
- supraclaviculares
- mediastínicas
- celíacas
- mesentéricas
- retroperitoneales
- ilíacas
- inguinales
- otras

Número de localizaciones afectas:

Infiltración de medula ósea SI NO
Tipo:

- paratrabecular
- nodular
- difuso
- otros

Porcentaje de CD19:

Situación actual:

- remisión completa
- remisión parcial

Especificar número actual de remisión:

TMO

O: NO
 SI

REGIMEN DE ACONDICIONAMIENTO

QUIMIOTERAPIA			
Agente	Fecha inicio	Fecha final	Dosis total
_____	___/___/___	___/___/___	_____
_____	___/___/___	___/___/___	_____
_____	___/___/___	___/___/___	_____
_____	___/___/___	___/___/___	_____
_____	___/___/___	___/___/___	_____
_____	___/___/___	___/___/___	_____

RADIOTERAPIA			
Tipo	Fecha inicio	Fecha final	Total cGy
_____	___/___/___	___/___/___	_____
_____	___/___/___	___/___/___	_____
_____	___/___/___	___/___/___	_____

TMO

CARACTERISTICAS DE LA INFUSION

COLECCION DE CELULAS DE MEDULA OSEA O PERIFERICAS

colectarlas al menos 15 días tras la recuperación del último régimen de quimioterapia.

Fecha del harvest o de la última féresis: ____/____/____

Volumen recolectado:

Número total de células nucleadas totales por kilo:

Número de células mononucleadas por kilo:

POS DE LA DEPURACION "EX VIVO"

NO

SI

Número de células mononucleadas por kilo:

Fecha de la infusión: ____/____/____

INCIDENCIAS POST-TRASPLANTE

INCIDENCIAS HEMATOLOGICAS

Recuperación granulocitaria. Fecha: ____/____/____
 Primer día de tres días consecutivos con más de 500 granulocitos.

Recuperación plaquetar. Fecha: ____/____/____
 Primer día de siete días consecutivos con más de 20.000 plaquetas
 sin soporte transfusional.

Número de unidades de plaquetas trasfundidas: _____

Número de concentrados de hematíes trasfundidos: _____

Número de días con factor de crecimiento: _____

INCIDENCIAS INFECCIONES

Infección 1 Origen Tipo Intensidad

Organismos: _____

Infección 2 Origen Tipo Intensidad

Organismos: _____

Infección 3 Origen Tipo Intensidad

Organismos: _____

Días totales de antibioterapia (no incluir días de profilaxis): _____

Días totales de tratamiento antifúngico: _____

DS

Origen de infección	Tipo de infección	Intensidad infección: (máxima)
1. sangre	1. vírica	1. leve
2. tracto urinario	2. bacteriana	2. moderada
3. pulmonar	3. fúngica	3. severa
4. pleural	4. protozoaria	4. vital
5. piel	5. micobacteriana	
6. tracto gastroint.	99. otros (especificar)	
7. abdominal		
8. SNC		
9. orofaringe		
10. herida quirúrgica		
11. articulación		
12. hueso		
13. catéter venoso		
99. otros (especificar)		

EXPLORACION FISICA - SEMANA 1 A LA 12

	PRE IL-2	1ª sem.	2ª sem.	3ª sem.	4ª sem.	5ª sem.	6ª sem.	7ª sem.	8ª sem.	9ª sem.	10ª sem.	11ª sem.	12ª sem.
01 PESO:													
02 T.A.													
03 F.C.													
04 KARNOFSKY													
05 ADENOPATIAS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
06 RESPIRAT.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
07 CARDIOVASC.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
08 HIGADO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
09 BAZO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10 ABDOMEN	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11 NEUROLOGICO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12 OTROS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

1. Normal 2. Anormal 3. No examinado

EFECTOS ADVERSOS

EFECTOS ADVERSOS	S N	FECHA INICIO	FECHA RESOLUCION	MEDIDAS				RELACION CON IL-2				INTENSIDAD			
				1. no requeridas	2. tratamiento	3. suspensión IL-2	4. reducción dosis IL-2	1. no relacionado	2. posibl. relacio.	3. probab. relacio	4. definit. relac	Grado 1-4 (según apéndice)			
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	S N	/ /	/ /	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

atarios:

LAB

RESULTADOS HEMATOLOGICOS

	MES 1	MES 2	MES 3	MES 12	MES 18	MES 24
Fecha	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Leucocitos						
Hematíes						
Hb						
Hto.						
Plaquetas						
Neutrófilos						
Linfocitos						
Monocitos						
Eosinófilos						
Basófilos						
Mielocitos						
Metamielocit.						
Promielocitos						
Blastos						

LAB

RESULTADOS BIOQUIMICOS

	MES 1	MES 2	MES 3	MES 12	MES 18	MES 24
Fecha	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
Sodio						
Potasio						
Cloro						
Urea						
Creatinina						
LDH						
GPT/GOT						
F.A.						
Bilirrubina						
Albúmina						
Glucosa						
β_2 microglob.						

POST IL-2

SEGUIMIENTO POST IL-2

ES 1

Fecha de seguimiento: ___/___/___

Peso: ___ Kg

SEGUIMIENTO

Supervivencia: Vivo Muerto Perdido

Si el paciente fallece indicar fecha: ___/___/___

¿Tuvo enfermedad progresiva? Si No

Si es SI indicar día de exploración : ___/___/___

STUDIOS RADIOGRAFICOS

- Rx. Tórax
- TAC Abdomen
- TAC Tórax
- TAC Craneal
- TAC Pelvis

AMAÑO DEL TUMOR

Fecha	Descripción	Dimensiones (cm)	Método de estudio
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____

SEGUIMIENTO POST IL-2

S 2

Fecha de seguimiento: ___/___/___ Peso: _____ Kg

SEGUIMIENTO

Supervivencia: Vivo Muerto Perdido

Si el paciente fallece indicar fecha: ___/___/___

¿Tuvo enfermedad progresiva? Si No

Si es SI indicar día de exploración : ___/___/___

ESTUDIOS RADIOGRAFICOS

- Rx. Tórax
- TAC Abdomen
- TAC Tórax
- TAC Craneal
- TAC Pelvis

TAMBIÉN DEL TUMOR

Fecha	Descripción	Dimensiones (cm)	Método de estudio
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____

SEGUIMIENTO POST IL-2

S 3

Fecha de seguimiento: ___/___/___

Peso: ___ Kg

SEGUIMIENTO

Supervivencia: Vivo Muerto Perdido

Si el paciente fallece indicar fecha: ___/___/___

¿Tuvo enfermedad progresiva? Si No

Si es SI indicar día de exploración : ___/___/___

ESTUDIOS RADIOGRAFICOS

- Rx. Tórax
- TAC Abdomen
- TAC Tórax
- TAC Craneal
- TAC Pelvis

TAMBIÉN DEL TUMOR

Fecha	Descripción	Dimensiones (cm)	Método de estudio
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____

SEGUIMIENTO POST IL-2

3 12

Fecha de seguimiento: ___/___/___ Peso: _____ Kg

SEGUIMIENTO

Supervivencia: Vivo Muerto Perdido

Si el paciente fallece indicar fecha: ___/___/___

¿Tuvo enfermedad progresiva? Si No

Si es SI indicar día de exploración : ___/___/___

ESTUDIOS RADIOGRAFICOS

- Rx. Tórax
- TAC Abdomen
- TAC Tórax
- TAC Craneal
- TAC Pelvis

MANEJO DEL TUMOR

Fecha	Descripción	Dimensiones (cm)	Método de estudio
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		_____ X _____	TAC RMN Otros: _____

POST IL-2

SEGUIMIENTO POST IL-2

ES 18

Fecha de seguimiento: ___/___/___

Peso: ___ Kg

SEGUIMIENTO

Supervivencia: Vivo Muerto Perdido

Si el paciente fallece indicar fecha: ___/___/___

¿Tuvo enfermedad progresiva? Si No

Si es SI indicar día de exploración : ___/___/___

STUDIOS RADIOGRAFICOS

- Rx. Tórax
- TAC Abdomen
- TAC Tórax
- TAC Craneal
- TAC Pelvis

AMAÑO DEL TUMOR

Fecha	Descripción	Dimensiones (cm)	Método de estudio
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____
___/___/___		___ X ___	TAC RMN Otros: _____

