

Experiencia con inmunoterapia en el melanoma maligno

Br. Freddy Borges, Dres. Miguel Mate Agustín D'Auria y Julio C. Priario

16 pacientes portadores de melanoma maligno fueron sometidos a tratamiento con B.C.G.

Aunque la serie es pequeña y las respuestas variables, los enfermos se beneficiaron de esta terapéutica.

La sobrevida fue igual para aquellos tratados con B.C.G. intratumoral que para los que recibieron B.C.G. por otras vías.

Se señala que este procedimiento se encuentra en etapa experimental por lo cual los pacientes deben ser vigilados y controlados en centros especializados.

Existieron complicaciones graves en 3 pacientes de la serie sometidos a este tratamiento.

Palabras clave (Key words, Most clés) MEDLARS: Melanoma / Immunology.

INTRODUCCION

En 1895 Hericourt y Richet (14, 15) intentaron las primeras manipulaciones inmunológicas pasivas, transfundiendo antisueros xenógenos a pacientes con cáncer. En 1902 Leyden y Blumenthal (21) efectuaron la primera inmunización activa mediante la inyección de autoextratos tumorales. Braunstein (4) en 1933 y Blumenthal y col. en 1936 (2) propusieron la estimulación no específica del huésped, usando concentraciones de filtrados bacterianos ricos en polisacáridos, llamados toxinas de Coley (7), basándose en las observaciones de algunos pacientes que luego de haber padecido enfermedades infecciosas, presentaron regresión y aún "cura total" de cánceres (12).

Estas tres modalidades de inmunoterapia (pasiva, activa y no específica) son intensamente investigadas mediante ensayos efectuados en casi todas las neoplasias. Las conclusiones sobre la utilidad del inmunomodulador empleado resultan difíciles, porque los distintos tumores no responden siempre igual a un mismo agente inmunoterapéutico, y un mismo cán-

Clinica Quirúrgica "B" (Prof. J. Pradines). Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela". Montevideo.

cer da frecuentemente respuestas inmunológicas variables.

Son conocidos y aceptados los siguientes aspectos de la inmunología oncológica:

1) Existen enfermos con mayor resistencia a la evolución natural de los tumores.

2) Los individuos inmunoincompetentes o inmunodeficientes presentan un riesgo mayor que los normoinmunes de contraer determinadas enfermedades malignas. Así, en la agammaglobulinemia tipo Bruton, en la cual está alterada la inmunidad humoral, la leucemia es 10.000 veces más frecuente que en el resto de la población (12).

3) Las edades extremas condicionan un debilitamiento natural del estado inmune.

4) El tratamiento intenso con inmunosupresores en pacientes portadores de lupus eritematoso sistémico, psoriasis, excema crónico, reuma, etc., se relaciona con un aumento paralelo en ellos de linfomas, leucemias, cánceres cutáneos, etc. (44).

En el momento actual la inmunoterapia oncológica es un procedimiento terapéutico coadyuvante de los métodos clásicos. Se han propuesto diversos productos, dosis, vías de administración y planes de ensayo, buscando influir sobre el sistema inmunológico para intentar normalizar o incluso exaltar, la respuesta contra una enfermedad que es habitualmente de curso progresivo y mortal.

La inmunoterapia está aún lejos de lograr resultados plenos y de aceptación unánime, esto lo prueba la gran variedad de productos ensayados. Salvo el levamisol, primer compuesto químico sintético usado en inmunología desde 1971 (30, 51), la mayoría de los inmunomoduladores son sistemas biológicos más o menos modificados, destacándose: BCG (6, 52); *Corynebacterium parvum* (40, 41); Neuraminidasa (7, 47); Timosina (8, 10, 16, 50); linfocitos sensibilizados por incubación con células tumorales (32); nuevos estudios del efecto de la hipertermia sobre las células tumorales (31), etc., y últimamente, el rol de las IgE en los cánceres (36) y los oncolisados virales (vacunas de células tumorales previamente infectadas por determinados virus) (43).

Presentado al Forum del XXVIII Congreso Uruguayo de Cirugía. Montevideo, diciembre de 1977.

Ayudante de Investigación de la Seccional de Oncología, Profesor Adjunto de Cirugía, Profesor Adjunto de Cirugía y Profesor Agregado de Cirugía de la Fac. de Med. Montevideo.

Dirección: Hosp. de Clínicas, Piso 10, Clínica Prof. Pradines. Montevideo (Br. F. Borges).

BCG y MELANOMA MALIGNO

Las siguientes observaciones prueban que la evolución del melanoma es influida por factores inmunológicos (26):

1) Existen casos bien documentados con cura espontánea de la enfermedad.

2) Las transfusiones de sangre de individuos con curas espontáneas de melanomas, han inducido regresión del tumor en algunos pacientes (25).

3) El uso de trasplantes cruzados de tumores y leucocitos sensibilizados han influido favorablemente el curso de la enfermedad (25).

4) Morton y Malmgren (26), Roth y col. (38) y Lewis y col. (20) han señalado la presencia de un antígeno (Ag) común de melanoma, con efecto inmunogénico en los sujetos enfermos.

El BCG ha sido el inmunomodulador más ensayado en el melanoma. Se le ha utilizado como suspensión de bacilos vivos, muertos, mezcla de ambos, o bajo la forma denominada MER (Residuo Extraído con Metanol) (49, 50). Las dosis empleadas son tan variables como las vías de administración, aunque dos parecen las más útiles: inyección intratumoral de BCG (según algunos la forma más efectiva para dominar metástasis cutáneas) (25), y el BCG inoculado por la técnica de Tine (micropunción múltiple intradérmica mediante escarificador).

A continuación analizamos nuestra experiencia con el BCG como complemento terapéutico de la cirugía y/o quimioterapia, en pacientes con melanoma maligno. De ellos, varios han sido tratados siguiendo el plan clínico cooperativo que propicia la OMS a través del Centro Internacional de Registro de Melanoma (46).

MATERIAL Y METODO

En un lapso de 5 años fueron tratados 16 pacientes con melanoma: 1 en estadio I, 11 en estadio II y 4 en estadio III. El BCG fue proporcionado por la OMS, de acuerdo al estudio cooperativo ya mencionado (*). En 9 pacientes se administró BCG intratumoral a razón de 0.1 cc semanal y por nódulo tumoral, y en 7 casos el BCG se inoculó de acuerdo a la técnica de Tine y mediante escarificador. El seguimiento fue clínico y mediante 2 tests cutáneos: DNCB (dinitroclorobenceno) y PPD (derivado proteico purificado de BCG). Cuando se estimó necesario por la clínica que manifestaba, se solicitaron exámenes de Rx, sangre, funcional hepático, gammagrafías, etc. Los casos han tenido un seguimiento mínimo de 6 meses y un máximo de 6 años a partir del inicio del tratamiento con BCG. De los 16 pacientes 10 (63 %) fueron hombres y 6 (37 %) mujeres. La edad promedio se situó en los 44 años, entre una mínima de 26 años (3 pacientes) y una máxima de 71 años.

(*) BCG del Instituto Pasteur. París, Francia.

RESULTADOS

De los 16 pacientes con melanoma maligno incluidos en el ensayo inmunoterapéutico con BCG, 11 habían recibido tratamiento previo fuera del Hospital de Clínicas (cuadro 1).

CUADRO 1

PACIENTES TRATADOS PREVIAMENTE FUERA DEL HOSPITAL DE CLINICAS, ANTES DE COMENZAR EL BCG

Sin Tratamiento previo	5 casos
Con Tratamiento previo	11 "
— Cirugía adecuada	2 "
— cirugía no adecuada	6 "
— otros	3 "

CUADRO 2

ESTADIOS EVOLUTIVOS DEL MELANOMA AL COMENZAR EL BCG

BCG	Estadios		
	I	II	III
Intratumoral	—	5	3
Por escarificación	—	6	—
Total	0	11	3

En el cuadro 2 se señalan los enfermos que recibieron BCG intratumoral y BCG por escarificación, así como los estadios evolutivos de la enfermedad en el momento de comenzar la inmunoterapia. Los estadios fueron definidos de la siguiente manera: *Estadio I*: tumor localizado al primario; *Estadio II*: tumor primario más ganglios regionales metastásicos; *Estadio III*: tumor generalizado. Se han excluido 2 casos: uno por deficiencias técnicas en la aplicación del BCG y otro por no llevar aún 6 meses de seguimiento desde el inicio del BCG.

En el cuadro 3 se analizan los resultados obtenidos con ambos métodos de inoculación. En los 6 pacientes que recibieron BCG por escarificación se señalan los 3 que aún viven y permanecen sin signos oncológicos clínicos. Con estadio III hay sólo 3 pacientes que recibieron BCG y todos mediante inyección intratumoral. El caso señalado por un asterisco vive y está libre de enfermedad clínica.

DISCUSION

Resulta difícil y arriesgado formular apreciaciones concluyentes sobre la utilidad del BCG como coadyuvante inmunológico en el tratamiento del melanoma maligno, ya que nuestra experiencia es reducida y las respuestas obtenidas son variables y estadísticamente poco significativas.

CUADRO 3

EVOLUCION DE LOS PACIENTES TRATADOS POR BCG INTRATUMORAL Y POR ESCARIFICACION Y ESTADIO DEL MELANOMA

1. BCG POR ESCARIFICACION: Estadio II						
Evolución	Ex. (*)	Ex. (*)	B	M	Ex. (*)	MB
Sobrevida en meses	14	8	18	8	24	24
Promedio: 16 meses.						
2. BCG INTRAUMORAL: Estadio II						
Respuesta local		B	B	MB	B	Ex.
Sobrevida en meses		14	6	16	10	40
Promedio: 17 meses.						
3. BCG INTRAUMORAL: Estadio III						
Respuesta local				B	M	Ex. (*)
Sobrevida en meses				6	6	48

De 8 pacientes que recibieron BCG intratumoral en 7 se comprobó una reducción entre 50 y 100 % de los nódulos inyectados (cuadro 3); el caso restante no respondió objetivamente al BCG, presentando al comienzo del tratamiento un melanoma en estadio III. Algunos autores han señalado resultados similares (28, 29, 33, 37).

En la serie de BCG intratumoral se comprobó además, que en 2 casos hubo regresión y en otros 2 casos desaparición, de los nódulos metastásicos cutáneos que no habían sido inyectados directamente, pero estaban ubicados en el drenaje linfático de zonas vecinas inoculadas. Otras publicaciones coinciden con éstas observaciones (22, 25, 27, 37).

En aquellos pacientes que además de nódulos malignos cutáneos presentaban metástasis viscerales, el BCG no frenó la evolución progresiva de la enfermedad, pese a observarse en ellos reducción y/o desaparición de los nódulos cutáneos inyectados. Morton y col. (28) y otros (37, 42) han señalado estos mismos hechos.

El grupo de enfermos tratados con BCG por escarificación presentan una sobrevida similar a la de aquellos que recibieron BCG intratumoral; pero, en los 6 pacientes tratados por escarificación 3 permanecen vivos y libres de enfermedad clínica al cerrarse este estudio.

Dado que la presente serie es pequeña y difícil de comparar con las de anteriores comunicaciones (34, 35), no se pueden establecer diferencias significativas entre las sobrevidas de los pacientes que recibieron inmunoterapia y aquellos que fueron sometidos sólo a los tratamientos clásicos. No obstante, diversos trabajos señalan resultados interesantes comparando una y otra conducta terapéutica (13, 18, 25, 33, 37), destacando una mayor sobrevida en los pacientes inmunoestimulados con BCG.

Finalmente, no hemos hallado correlación entre los tests cutáneos con DNCB y PPD y el pronóstico y la evolución de los enfermos con melanoma, pero debe señalarse que varios autores parecen demostrarla en series estadísticas más numerosas (5, 9, 11, 17, 24, 39).

COMPLICACIONES

Con el uso del BCG aparecen frecuentes manifestaciones secundarias indeseadas. El carácter y la gravedad de éstas son variables. En primer término, debe mencionarse que los llamados síntomas menores (cuadro 4), se presentan en prácticamente todos los casos y, comúnmente, dos o más de ellos en forma simultánea. Estos mismos síntomas acompañan frecuentemente la aplicación de la mayoría de las vacunas utilizadas en el ser humano. Son elementos sin trascendencia clínica y que desaparecen en 48 - 72 hrs. con tratamiento sintomático o sin él (1, 45).

Por su parte las complicaciones mayores son siempre graves y deben por ello tenerse presentes. En los 16 pacientes tratados hemos tenido 3 casos así catalogados. Uno presentó necrosis con infección sobreagregada de la piel escarificada, destacamos que la inoculación fue realizada en un miembro inferior con discreta patología venosa previa. Evolucionó satisfactoriamente con antibióticos y analgésicos comunes y al mes recibió nueva dosis de BCG en terreno cutáneo sano, seguido de una evolución normal.

El segundo caso manifestó un "rush" cutáneo que no retrocedió con antialérgicos ni con antiinflamatorios, pero desapareció en 48 hrs. luego de indicársele estreptomycin. Esto lleva a plantear que posiblemente existió en este paciente una diseminación del BCG por lo menos a nivel de la piel.

El tercer enfermo con complicaciones graves, tuvo un bloqueo del sistema inmunológico a los 2 años de iniciado el tratamiento con BCG, con amplia ulceración del nódulo inyectado, la que persistió por más de 6 meses, seguido de una rápida generalización de la enfermedad. Debe pensarse que en este paciente existió facilitación por el BCG para el progreso explosivo del melanoma. Se han mencionado experiencias similares por parte de otros autores (3, 19, 23, 45).

CUADRO 4
SINTOMAS MENORES
Complicaciones comunes y banales

Local	Regional	General
Dolor edema enrojecimiento supuración lesiones costrosas Frecuencia: 100 %	Linfangitis moderada adenitis adema	fiebre de 38-39° dolores musculares decaimiento malestar general síndrome "gripal"
Tratamiento: Sintomático o ninguno		

CONCLUSIONES

Los resultados muchas veces alentadores de la inmunoterapia oncológica obliga a nuevos y más profundos estudios a nivel mundial, buscando dilucidar los mecanismos que son puestos en marcha en la respuesta inmunológica.

Nuestra experiencia es escasa y puede decirse que recién comienza, ya que sólo hemos tratado con BCG 16 pacientes portadores de melanoma.

Si bien los resultados obtenidos hasta el momento son aleatorios y por eso mismo difíciles de interpretar, varios de los pacientes resultaron beneficiados con la inmunoterapia con BCG.

Debe insistirse que la inmunoterapia es por el momento un procedimiento coadyuvante de los métodos clásicos de tratamiento del melanoma y, además, las complicaciones al ser relativamente frecuentes y graves, obligan a ser cuidadoso en el uso del BCG: 1 de cada 6 pacientes está expuesto a iatrogenia cuando es sometido a este tipo de tratamiento.

La experiencia recogida como integrantes del grupo cooperativo de OMS que estudia a nivel mundial el problema del melanoma, nos permite sostener que deben mantenerse los estudios randomizados, con cuidadosa selección de los pacientes que integran cada plan y, además, efectuar rigurosos seguimientos de control en todos los enfermos tratados.

RESUME

Experience avec dans le mélanome malin

On étudie 16 malades avec immunotherapie melanome malin traité complémentirement avec B.C.G.

On souligne, malgré le nombre insuffisant de cas où les réponses sont variables, que de toute façon, les malades ont été bénéficiés de cette thérapeutique.

La survie c'est la même pour ceux qui ont été traités avec B.C.G. intratumoral et pour ceux qui ont reçu B.C.G. par autres voies.

On détache que l'immunotherapie c'est une méthode thérapeutique qui est dans une étape expérimentale, les malades, donc, doivent être soigneusement sélectionnés, suivis et contrôlés dans des centres spécialisés.

Les complications graves dérivées de l'utilisation du BCG dans 3 des cas, ont été discuté. Ce sont des complications que l'on risque lorsqu'on propose ce traitement.

SUMMARY

Experience with immunotherapy in treatment of malign melanoma

16 patients suffering from malign melanoma were subject to complementary treatment by B.C.G. In spite of the fact that the number of cases was insufficient and that response varied, the patients derived benefit from this therapy.

Survival of patients treated by intratumoral B.C.G. and of those who received B.C.G. by other routes, was the same.

Immunotherapy is as yet in an experimental stage and hence patients have to be carefully selected and controlled in specialized centres.

Serious complications may derive from the application of this treatment and in this series they amounted to 3 cases.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AUNGST CW, SOKAL JE, JAGER BV. Complication of BCG vaccination in neoplastic disease. *Ann Inter Med*, 82: 666, 1975.
2. BLUMENTHAL F, JACOBS E, ROSENBERG H. Zur Behandlung der Krebskrankheit; eine multivalente Hormonotherapie. *Schweiz Med Wehnschr*, 66: 640, 1936.
3. BORNSTEIN RS, MASTRANGELO MJ, SULIT H y col. Immunotherapy of melanoma with intralésional BCG. *Natl Cancer Inst. Monogr*, 39: 213, 1973.
4. BRAUNSTEIN A. Über immunobiologische Krebsprophylaxe und Konstitutionelle Krebsdisposition. *Ztschr Krebsforsch*, 39: 321, 1933.
5. BRULEY ROSSET M, FLORENTIN I, MATHE G. In vivo and in vitro macrophage activation by systemic adjuvants. *Agents Actions*, 6: 251, 1976.
6. BUCANA C, HANNA MG. Immunoelectromicroscopic analysis of surface antigens common to *Mycobacterium bovis* (BCG) and tumor cells. *J Natl Cancer Inst*, 53: 1313, 1974.
7. COLEY WB. A report of recent cases of inoperable sarcoma successfully treated with mixed toxins of erysipelas and bacillus prodigiosus. *Surg Gynecol Obstet*, 13: 174, 1911.

8. COSTANZI JJ, GAGLIANO RG, DELANEY F, HARRIS N, THURMAN GB y col. The effect of thymosin on patients with disseminated malignancies: a phase I study. *Cancer*, 40: 14, 1977.
9. EGAN ML, ENGVALL E, ROUSLAHTI EI, TODD ChW. Detection of circulating tumor Ag. *Cancer*, 40: 458, 1977.
10. GOLDSTEIN G. Las hormonas del timo. *Rev Triángulo*, 11: 7, 1972.
11. GOLUB SH, FORSYTHE AB, MORTON DL. Sequential examination of lymphocyte proliferative capacity in patients with malignant melanoma receiving BCG immunotherapy. *Int J Cancer*, 19: 18, 1977.
12. GRAY BN, WATKINS E Jr. Datos inmunológicos sobre terapéutica del cáncer. *Clin Med Norte Am*, 60: 327, 1976.
13. GUTTERMAN JU, MAVLIGIT G, MCBRIDE CM y col. Active immunotherapy with BCG for recurrent malignant melanoma. *Lancet*, 1: 1208, 1973.
- HERICOURT J, RICHET C. De la sérothérapie dans le traitement du cancer. *Compte Rend. Acad Sci*, 121: 567, 1895.
15. HERICOURT J, RICHET C. Traitement d'un cas de sarcome par la sérothérapie. *Compte Rend. Acad Sci*, 120: 948, 1895.
16. KENADY DE, CHRETIE PB, POTVI C, SIMON RM. Thymosin reconstitution of T-cell deficits in vitro in cancer patients. *Cancer*, 39: 575, 1977.
17. KLEIN E, KLEIN G. Antígenos tumorales: Su aplicación potencial en la investigación, el tratamiento y la prevención de las neoplasias. *Rev Triángulo*, 11: 15, 1972.
18. KOPERSZYCH S, REZKALLAH MT, MIKI SS, NASPITZ ChK, MENDES NF. Cell-mediated immunity in patients with carcinoma: Correlation between clinical stage and immunocompetence. *Cancer*, 38: 1149, 1976.
19. LAUCIUS JF, BODURTHA AJ, MASTRANGELO MD y col. Bacillus Calmette-Guérin in the treatment of neoplastic disease. *J Reticuloendothel Soc*, 16: 347, 1974.
20. LEWIS MG, IKONOPISO RS, NAIM RC y col. Tumorspecific antibodies in human malignant melanoma and their relationship to the extent of the disease. *Br Med J*, 1: 547, 1969.
21. LEYDEN E von, BL THAL F. Vorläufige Mitteilungen über einige Ergebnisse der Krebsforschung auf der I. *Medizinischen Klinik*, 28: 637, 1902.
22. MASTRANGELO MJ, S LIT HL, PREHN L, BORTEIN RS, YARBRO JW, PREHN RT. Intralesional BCG in the treatment of metastatic malignant melanoma. *Cancer*, 3: 684, 1976.
23. Mc KHAJ J CP, HENDRICKSO J CG, SPITLER LE y col. Immunotherapy of melanoma with BCG: two fatalities following intralesional injection. *Cancer*, 35: 514, 1975.
24. MAVLIGIT GM, G TTERM N JU, HERSH EM. Effect of BCG (Tice strain) on primary sensitization to D CB and on established delayed hypersensitivity in human malignant melanoma. *J Natl Cancer Inst*, 57: 749, 1976.
25. MORTON DL, EILBER FR, HOLMES EC, SPARKS F, RAMMING K. Immunoterapia con BCG como complemento sistémico de la cirugía en el melanoma maligno. *Clin Med Norte Am*, 60: 431, 1976.
26. MORTON DL, MALMGREN RA, HOLMES EC y col. Demonstration of antibodies against malignant melanoma by immunofluorescence. *Surgery*, 64: 233, 1968.
27. MORTON DL, EILBERT FR, MALMGREN RA y col. Immunological factors which influence response to immunotherapy in malignant melanoma. *Surgery*, 68: 158, 1970.
28. MORTON DL, EILBERT FR, HOLMES EC y col. BCG. Immunotherapy of malignant melanoma: summary of a seven-year experience. *Ann Surg*, 160: 635, 1974.
29. NATHANSON L. Regression of intradermal malignant melanoma after intralesional injection of Mycobacterium bovis strain BCG. *Cancer Chemo Rep*, 56: 659, 1975.
30. OETTGEN HF, PINSKY CM, DELMONTE L. Tratamiento del cáncer con inmunomoduladores. Corynebacterium parvum y levamisol. *Clin Med Norte Am*, 60: 511, 1976.
31. OVERGAARD J. Effect of hypertermia on malignant cells in vivo. *Cancer*, 39: 2637, 1977.
32. PERLMANN P, TROYE M, PAPE GR. Cell-mediated immune reactions to human tumors. *Cancer*, 40: 448, 1977.
33. PINSKY C, HIRSHAUT Y, OETTGEN HF. Treatment of malignant melanoma by intratumoral injection of BCG. *Natl Cancer Inst Monogr*, 39: 225, 1973.
34. PRIARIO JC, BORGES JF, MATE M, D'AURIA A y col. Melanoma maligno. Mesa Redonda. *Cir Uruguay*, 44: 359, 1974.
35. PRIARIO JC, D'AURIA A, BORGES F, FAVAT J y col. Evaluación del tratamiento del melanoma maligno. A propósito de 110 observaciones. *Cir Uruguay*, 43: 124, 1973.
36. ROSEMBAUM JT, DWYER JM. The role of IgE in the immune response to neoplasia: a review. *Cancer*, 39: 11, 1977.
37. ROSENBERG SA, RAPP HJ. Immunoterapia intralesional de melanoma con BCG. *Clin Med Norte Am*, 60: 419, 1976.
38. ROTH JA, HOLMES AC, REISFELD RA y col. Isolation of a soluble tumor-associated antigen from human melanoma. *Cancer*, 37: 104, 1976.
39. SAMAYOA EA, MCDUFFIE FC, NELSON AM y col. Immunoglobulin complexes in sera of patients with malignancy. *Int J Cancer*, 19: 12, 1977.
40. SCOTT MT, WARNER SL. The accumulated effects of repeated systemic or local injections of low doses of C. parvum in mice. *Cancer Res*, 36: 1335, 1976.
41. SCOTT MT, MILAS L. The distribution and persistence in vivo of Corynebacterium parvum in relation to its antitumor activity. *Cancer Res*, 37: 1673, 1977.
42. SEIGLER HF, SHINGLETON WW, METZGAR RS y col. Nonspecific and specific immunotherapy in patients with melanoma. *Surgery*, 72: 162, 1972.
43. SINKOVICS JG, PLAGER C, MC MURTREY MJ, ROMSDAHL MM. Viral oncolysates for the immunotherapy of human tumors. (meeting abstracts). *Proc. Am. Assoc. Cancer Res*, 18: 86, 1977.
44. SCFHOCLES AM, NADLER SH. Immunologic aspects of cancer. *Surg Gynecol Obstet*, 133: 321, 1971.
45. SPARKS FC. Peligros y complicaciones de la inmunoterapia con BCG. *Clin Med Norte Am*, 60: 499, 1976.
46. VERONESI U, CASCINELLI N. Nuevas perspectivas de la investigación sobre el melanoma. *Crónicas OMS*, 27: 367, 1973.
47. WATKINS E Jr, GRAY BN, ANDERSON LL y col. Neuraminidase-mediated augmentation of in vitro immune response of patients with solid tumors. *Int J Cancer*, 14: 799, 1974.
48. WEISS DW. Nonspecific stimulation of the immune response and of states of resistance by the MER fraction of tubercle bacilli. *Natl Cancer Inst Monogr*, 35: 157, 1972.
49. WEISS DW. MER y otras fracciones microbacterianas en la inmunoterapia del cáncer. *Clin Med Norte Am*, 60: 473, 1976.
50. WHITE A, GOLDSTEIN AL. The endocrine role of the thymus, and its hormone thymosin in the regulation of the growth and maturation of host immunological competence. *Adv Metab Disord*, 8: 361, 1975.
51. WILKINS SA Jr, OLKOWKI ZL. Immunocompetence of cancer patients treated with levamisole. *Cancer*, 39: 487, 1977.
52. ZBAR B, TANAKA T. Immunotherapy of cancer: regression of tumors after intralesional injection of living Mycobacterium bovis. *Science*, 172: 271, 1971.