

Desarrollo de una autovacuna + BCG y su posible uso en el tratamiento del cáncer

Drs. Jacinto Convit*, Marian Ulrich**

El proyecto de investigación científica que un equipo humano, del cual formamos parte, está interesado en desarrollar, se refiere a la reestructuración de una autovacuna como un recurso más de tratamiento del cáncer, que se añadiría a los otros procedimientos actualmente en uso (cirugía, quimioterapia, radioterapia, radiumterapia).

Como introducción mencionaremos la experiencia del equipo, en más de 30 años en una enfermedad, leishmaniasis tegumentaria difusa (LTD), que presentamos al XI Congreso Internacional de Dermatología, Estocolmo, Suecia, 1957 y con el cual ganamos el "Premio Nacional de Investigación Científica", el 23 de enero de 1960. Esta enfermedad la hemos escogido como modelo comparativo con el cáncer (1).

La LTD que en la fecha de su descripción se presentaba como casos aislados, ha venido incrementándose conociéndose en la actualidad más de 60 casos, buena parte de ella en niños, comenzando en los adultos actualmente afectados al inicio de su infancia.

Los estudios realizados en su tratamiento fueron desalentadores por consecuencia de recaídas posteriores a dicho tratamiento. En esos estudios utilizamos antimoniales pentavalentes-anfo B y recientemente miltefosine.

Adicionalmente utilizamos inmunoterapia con la vacuna formada por promastigotes pasteurizados y amastigotes *like*, sin resultado alguno.

Hace algunos años, bajo el efecto de los fracasos producidos al usar los medicamentos para esa oportunidad disponibles, hicimos un pequeño intento

de desarrollar una autovacuna cuyos resultados en tres enfermos adultos con LTD fue un éxito, pero la observación fue muy irregular por ausencia frecuente de los pacientes, lo cual nos impidió determinar el éxito que años después pudimos observar y analizar por su gran importancia.

Durante varios años realizamos un estudio de los posibles mecanismos del desarrollo de la LTD, así como de la influencia de los componentes de la autovacuna antes mencionada, lo cual nos ha sido de gran utilidad en el último año de nuestro trabajo.

Definimos a la LTD como una inmunodeficiencia antígeno específica. Como consecuencia de dichos estudios llegamos a la conclusión de que la afección era ocasionada por un defecto de la célula macrófaga, el cual permite una multiplicación exagerada del parásito leishmánico en su interior. Pero el hecho fundamental en el cual queremos hacer énfasis, originado en el estudio del macrófago del BALB/c -que es similar de la LTD- el problema se centra en el exceso de una enzima, la arginasa, cuya acción sobre la arginina con formación de urea y ornitina, favorece la multiplicación parasitaria.

Este hecho lo estudiamos en la LTD (2), lo que nos permitió determinar que esta afección es ocasionada por un defecto metabólico del macrófago, cuya consecuencia es la multiplicación exagerada del parásito, como hecho secundario a dicho defecto macrófago.

Como consecuencia de estos resultados y basándonos también en la clínica, histopatología, inmunología y evolución de dicha afección, la forma de propagarse en el enfermo, tanto por vía linfática como sanguínea, nos permitimos considerar al macrófago de la LTD como una célula con características tumorales, que se independiza del resto de elementos celulares del organismo,

* Individuo de Número, Director del Instituto de Biomedicina

** Coordinadora de la Sección de Inmunología, Instituto de Biomedicina

posiblemente por influencia de factores genéticos, ambientales y otros.

En relación al desarrollo de la autovacuna compuesta en la LTD principalmente por células macrofágicas y otros elementos titulares de las lesiones provocadas por dicha enfermedad, junto con bacilos de Calmette-Guerin (BCG), reiniciamos su aplicación en casos de LTD (3-5).

Uno de ellos, por la importancia de la respuesta obtenida y con la permanencia hasta el presente de dichos resultados, es el tratamiento de L.R., niño de 11 años de edad, cuya enfermedad no había respondido a la aplicación de ninguno de los medicamentos utilizados hasta el presente. Bajo el consentimiento de sus padres, aplicamos una dosis de autovacuna compuesta por células y material extraído del brazo, con abundantes parásitos, mezclados con BCG, a la cual añadimos una suspensión de amastigotes *like*.

Los resultados del tratamiento de L.R. han sido extraordinarios, manteniéndose hasta la fecha, por más de cuatro meses, por lo que deseamos enfatizar algunos aspectos resaltantes de dicho tratamiento.

Después de 30 días de haber recibido la dosis de autovacuna, observamos que todas las lesiones regresaron completamente, tomando el aspecto de cicatrices, a lo que se agregó la desaparición de los parásitos y un hecho de singular importancia: la positivización de la prueba a la leishmanina (reacción de Montenegro), que siempre había sido negativa.

El uso del BCG como adyuvante y también en la autovacuna, lo hemos hecho basándonos en nuestra experiencia y en la bibliografía consultada.

Existe una literatura muy extensa sobre el uso del BCG en la inmunoterapia de diversos tumores. No se pretende revisarla aquí, pero vale la pena mencionar dos estudios, uno por el gran número de pacientes evaluados y el otro, por su relación con el estudio propuesto actualmente.

Han y Pan (6) han revisado 176 ensayos del uso del BCG en el tratamiento del cáncer superficial de la vejiga, posterior a la resección transuretral, encontrando que es eficaz en la profilaxis de las recaídas. Una combinación de quimioterapia+BCG no fue mejor que BCG solo. Para este meta-análisis se escogieron 25 ensayos con información sobre recurrencia en 4 767 pacientes. Los resultados con tumores sólidos no son tan claros y son menos alentadores. Pero se ha reportado sobrevivencia por más de 10 años del 31% de pacientes con cáncer

inflamatorio del seno, en un grupo pequeño, tratado con quimioterapia, cirugía y vacunación con células tumorales alogénicas+BCG, sin definir con precisión el papel de la vacunoterapia.

Evidentemente, los aspectos éticos relacionados con el uso del BCG han sido tomados en cuenta en estos estudios. A pesar de reportes aislados sobre efectos adversos en casos individuales, un mínimo porcentaje de pacientes ha presentado reacciones adversas relacionadas con la inmunoterapia con BCG y su uso en pacientes con tumores, aparentemente no estaría contraindicado, excepto en casos extremadamente graves de inmunosupresión generalizada. Probablemente la presencia de reactividad a la tuberculina podría ser evidencia suficiente para evaluar la inmunocompetencia.

Nuestra experiencia en una vacuna como inmunoterapia de la leishmaniasis cutánea localizada (LCL), desarrollada en el Instituto de Biomedicina, compuesta de promastigotes pasteurizados +BCG y utilizada durante más de 15 años, nos demostró la ausencia de fenómenos secundarios y resultados favorables de curación en más del 95 % (7-9).

No se debe olvidar que el BCG ha sido utilizado en más de 200 millones de personas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), sin efectos secundarios apreciables.

Hay varios estudios sobre los mecanismos inmunológicos involucrados en la respuesta al BCG, tanto en enfermedades infecciosas como en tumores. Según uno de estos estudios, la fagocitosis del BCG resulta en la liberación de citoquinas pro-inflamatorias (IK-1,6 y 8). Luego se desarrolla una reacción tipo Th1 mediada por linfocitos CD4+, con liberación de IL-2 e IFN_γ. Finalmente se amplifican unas poblaciones de células citotóxicas capaces de matar células tumorales-linfocitos CD8+, macrófagos, *natural killers* (NK), *killer* activado por linfoquinas (LAK) y *killer* activado por BCG (BAK).

También hay una activación macrofágica por las linfoquinas IL-2 e IFN_γ, que probablemente juegue un papel fundamental en la destrucción de parásitos intracelulares, mediante la síntesis de óxido nítrico y otros radicales libres.

Recientemente se ha planteado la posibilidad que la inducción de apoptosis por BCG podría jugar un papel en su actividad anti-tumoral y anti-parasitaria.

Así que el BCG activa mecanismos múltiples,

algunos activos a nivel intracelular (infecciones celulares) y otros con actividad citolítica contra células con antígenos anormales en su superficie (células tumorales y probablemente células infectadas con microorganismos que expresan nuevos antígenos en su superficie).

De esta revisión quizás se puedan sacar algunas conclusiones preliminares:

- La actividad del BCG en enfermedades como la leishmaniasis en sus diferentes manifestaciones, guarda relación con la actividad anti-tumoral del BCG, con una diversidad de mecanismos inmunológicos. Por tanto, parece válido extrapolar las observaciones en el tratamiento de la leishmaniasis, particularmente en su manifestación cutánea difusa, al tratamiento de algunos tumores.
- Por el número tan elevado de estudios ya publicados (10-18) con una frecuencia mínima de reacciones secundarias adversas, parece que los interrogantes éticos asociados con el uso del BCG en pacientes humanos han sido resueltos.

Evidentemente, los estudios serían complementarios a las normas usuales, con quimioterapia, cirugía o irradiación previa, para reducir la carga de células anormales y tratamiento posterior de acuerdo a las normas en uso.

Si se introduce una autovacuna+BCG en el tratamiento del cáncer de la mama, por ejemplo, sería importante determinar en diferentes tipos de pacientes con diversas formas celulares, la etapa que ocuparía la vacuna en la secuencia del uso de las otras formas de tratamiento. Por ejemplo, en el caso de metástasis múltiples ganglionares, el uso de la autovacuna podría seguir a la cirugía.

Un intento de explicar el mecanismo de acción de una autovacuna+BCG, tanto en la LTD como en el cáncer, podría ser de utilidad en el análisis de ambos modelos comparativos.

En la LTD, el hecho de que en 30 días, en el caso referido de L.R., regresaran todas las lesiones, el posible mecanismo de acción sería el siguiente: muerte de las células inmunodeficientes específicas por apoptosis, tomando en consideración la ausencia completa de respuesta de necrosis celular, la cual no hemos observado en la utilización del BCG+*M. leprae*, en la inmunoterapia de la lepra, donde observamos respuestas reaccionales, algunas muy activas.

Esta comparación nos permite determinar que el

mecanismo de muerte celular por apoptosis está desprovisto de fenómenos reaccionales, observándose solamente un aumento muy discreto de la temperatura de dos días de duración.

En la LTD, adicionalmente a la apoptosis, se desarrollaría una respuesta tipo Th1, expresada en el paciente por el viraje a la positividad de la reacción de Montenegro (leishmanina).

El hecho de que se produzca el fenómeno de apoptosis unido a una respuesta Th1 y que la ocurrencia simultánea de los dos fenómenos, no ocasiona efectos secundarios de respuesta en el huésped de carácter macroscópico, muestra que la autovacuna+BCG es un recurso terapéutico inocuo pero profundamente efectivo para corregir el problema de la inmunodeficiencia observado en algunas afecciones.

Refiriéndonos al cáncer, la autovacuna formada con células tumorales del enfermo+BCG, podría desencadenar un mecanismo similar al expuesto para la LTD, es decir, un fenómeno de apoptosis celular tumoral y por tanto sin efectos adversos secundarios, al cual se podría agregar una respuesta de tipo Th1, como la mencionada anteriormente.

La aplicación de la autovacuna+BCG se hizo en pocos casos de cáncer avanzados, sin observar fenómenos reaccionales, a pesar de la aplicación de más de una dosis de autovacuna. Esto se realizó como un intento éticamente aprobado, pero debido a lo avanzado de los casos en los cuales se hizo la prueba, solamente permitió como observación parcial, determinar la ausencia de fenómenos reaccionales.

Proyecto de estudio de autovacuna+BCG en el tratamiento del cáncer.

Se propone realizar un estudio comparativo, ciego por parte del observador, para evaluar la eficacia de autovacuna+BCG en el tratamiento del cáncer.

Para obtener los pacientes se utilizarían los Hospitales "Vargas" y "Razetti" de Caracas.

Para minimizar el tamaño del estudio y facilitar la comparación, se propone que sea pareado por grupos de edades, género, localización y tipo de tumor primario, presencia o no de metástasis detectables y tratamiento antineoplásico aplicado.

Dentro de cada par se hará la distribución por azar de los pacientes a recibir autovacuna o no autovacuna.

Los requisitos de inclusión serán:

- Pacientes con diagnóstico de cáncer, en cualquier estadio, preferiblemente en estadios intermedios o avanzados.
- Pacientes mayores de 20 años y menores de 75.
- Aceptar participar voluntariamente en el estudio y firmar el consentimiento informado. El texto del "consentimiento informado" se omite por razones de espacio. Los lectores interesados pueden solicitarlo por E-mail: jconvit@telcel.net.ve
- Comprometerse a recibir el tratamiento antineoplásico indicado y en la forma indicada

Como factores de exclusión:

- Pacientes con cánceres en los cuales se ha demostrado una etiología viral (Ej. cáncer de cuello uterino)
- Inmunodeficiencia

Tamaño del estudio: el tamaño inicial podría ser de 30 pacientes por cada grupo. De obtener resultados alentadores, aumentar el tamaño de forma que permita analizar por subgrupos (tipo de cáncer, localización, género, edad, etc.) el beneficio obtenido.

Aplicación de la autovacuna

La autovacuna será elaborada de un fragmento del tumor del paciente, del primario o de una metástasis y elaborada según el siguiente procedimiento:

- La toma de la muestra del tumor debe hacerse con la mayor asepsia.
- Se recibe el fragmento tumoral y se comienza en campana de flujo laminar para preservar la esterilidad
- Se lava en suero fisiológico con penicilina estreptomycinina.
 - Se coloca la muestra en un homogenizador con 1 mL de suero fisiológico sin antibiótico.
 - Se homogeniza con 10 pases, se pasa por rejilla y se toma muestra para:

- a) estudio microbiológico
- b) láminas para tinción con hematoxilina-eosina
- c) para mezclar con BCG

Este producto será mezclado con BCG en dosis de acuerdo con el resultado del PPD del paciente, de acuerdo al siguiente esquema:

- PPD de 0 a 9 mm -0,0175

- PPD de 10 a 19 mm -0,095
- PPD de 20 a 29 mm -0,005
- PPD > 30 mm -0,0025

Se aplicarán hasta siete dosis con un intervalo de cuatro a ocho semanas entre dosis.

El grupo de control recibirá suero fisiológico solamente.

Seguimiento de los pacientes

Todos los pacientes deben tener seguimiento continuo con control semanal por al menos dos años desde el inicio del tratamiento.

Se evaluarán los cambios ocurridos en el tumor (remisiones y sobrevida) así como aparición o remisión de lesiones metastásicas

Análisis

Comparar proporciones de cambio de cada uno de los grupos (estudio y control)

Determinar si existen diferencias en sobrevida por análisis de supervivencia.

De ser necesario, analizar controlando variables asociadas.

REFERENCIAS

1. Convit J, Pinardi ME. Cutaneous leishmaniasis. The clinical and immunopathological spectrum in South America. CIBA Foundation Symposium 20 (new series) ASP (Elsevier-Excerpta Medica -North Holland). 1974.p.159-169.
2. Convit J. Leprosy and leishmaniasis. Similar clinical-immunological-pathological models. Ethiopian Medical Journal. 1974;12:187-195.
3. Convit J, Ulrich M, Aranzazu N, Zúñiga M. A model of vaccination with two microorganisms in infectious diseases. Int J Lep. 1983;51(4):670-672.
4. Convit J, Ulrich M, Aranzazu N, Zúñiga M, Castellazzi Z, Aragón ME. A model of vaccination with two microorganisms in leprosy and leishmaniasis. Interciencia. 1984;49(1):44-45.
5. Convit J. Model using two microorganisms and its application in leishmaniasis and Leprosy. Interciencia. 1986;11(5):239-241.
6. Han RF, Pan JG. Can intravesical bacillus Calmette-Guerin reduce recurrence in patients with superficial bladder cancer?. A meta-analysis of randomized trials. Urology. 2006;67:1216-1223.
7. Convit J, Ulrich M, Fernández CT, Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Casté M, et al. The clinical and immuno-

- logical spectrum of America cutaneous leishmaniasis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1993;87:444-448.
8. Convit J, Ulrich M. Antigen-specific immunodeficiency and its relation to the spectrum of American cutaneous leishmaniasis. *Biological Research.* 1993;26(1):159-166.
 9. Convit J, Ulrich M, Aranzazu N, Castellanos PL, Pinardi ME, Reyes O. The development of a vaccination model using two microorganisms and its application in leprosy and leishmaniasis. *Leprosy Review.* 1986;57(2):263-273.
 10. Corraliza IM, Campo ML, Soler G, Modeleli M. Determination of arginase activity in macrophages: A micromethod. *J Immunological Methods.* 1994;74:231-235.
 11. Wiseman CL. Inflammatory breast cancer: 10-year follow-up of a trial of surgery, chemotherapy and allogeneic tumor cell/BCG immunotherapy. *Cancer Invest.* 1995;13:267-271.
 12. Cocito C, Maes H. Immunological relatedness of the protective mechanisms against tuberculosis and cancer. *Eur J Clin Invest* 1998;28:1-12.
 13. Saint F, Patard JJ, Riemeusberger J, Seitzer O, Arnold J, Durek C, et al. Mechanisms of action of BCG: Towards a new individualized therapeutic approach? *Prog Urol.* 2000;10:1118-1126.
 14. Brandau S, Suttman H, Maille P, Soyeux P, Hosnek A, Salomon L, et al. Perforin-mediated lysis of tumor cells by *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin-activated killer cells. *Clin Cancer Res.* 2000;6:3729-3738.
 15. Saint F, Patard JJ, Reiss K, et al. Evaluation of cellular tumor rejection mechanisms in the peritumoral bladder wall after Bacillus Calmette-Guerin treatment. *BJU Int.* 2001;89:602-610.
 16. Suttman H, Jacobsen M, Luo Y, Chen X, Saltzgaver NA, O'Donnell MA, et al. Mechanisms of Bacillus Calmette-Guerin mediated natural killer cell activation. *J Urol.* 2004;172:1490-1495.
 17. Ludwig AT, Moore JM, Chen X, Saltzgaver NA, O'Donnell, Griffiths TS. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand: A novel mechanism for Bacillus Calmette-Guerin-induced anti-tumor activity. *Cancer Res.* 2004;64:3386-3390.
 18. Convit J, Ulrich M, Aranzazu N, Castellanos PL, Pinardi ME, Reyes O. The development of a vaccination model using two microorganisms and its application in leprosy and leishmaniasis, *Leprosy Review.* 1986; 57(2):263-273.

Obituario

Jean Bernard (1907-2006)

El pasado 17 de abril murió en París el Profesor Jean Bernard eminente especialista en las enfermedades de la sangre y gran humanista.

Jean Bernard supo conjugar a lo largo de su fructífera vida el saber científico y la reflexión sobre el ser humano. Estas cualidades han quedado reflejadas en sus publicaciones que incluyen trabajos originales en el campo de la hematología clínica, textos didácticos sobre dicha especialidad y libros conceptuales sobre el hombre y sus enfermedades.

Se interesó particularmente en el problema de la leucemia, afección en la cual fue pionero en los nuevos caminos de la lucha contra esta enfermedad. Fue director del Centro de Investigaciones Experimentales sobre la Leucemia y Enfermedades de la Sangre del Hospital San Luis de París.

Perteneció a la Academia de Medicina, a la Academia de Ciencias y en 1975 fue electo miembro

de la Academia de Francia. Perteneció a diversas instituciones científicas, fue acreedor al Doctorado Honoris Causa de numerosas universidades y puede ser considerado como una de las figuras más brillantes de la medicina del siglo XX.

Tuve la suerte de conocerle personalmente y asistir a sus consultas en los Hospitales de Broussais y Necker-Efants Malades de París. Con su ayuda y el apoyo del Profesor Michel Lamotte pude ampliar mi formación en varios hospitales de París y asistir al Laboratorio de Jean Dausset en el Hospital Saint Antonie.

Estas breves líneas dejan constancia de mi reconocimiento a Jean Bernard, de quien conservo los mejores recuerdos.

Otto Lima Gómez

Presidente de la Academia Nacional de Medicina
Caracas 7 de mayo de 2006