

LA INMUNIDAD CELULAR Y LA RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES AFECTOS DE CANCER DE PULMON METASTASICO

E. Simó-Camps*, J. M.^a Vich, y F. Manresa**

Introducción

La valoración de la capacidad inmunitaria a nivel celular se ha realizado habitualmente *in vivo* mediante el estudio del rechazo de trasplantes de piel¹ y de la reacción a los antígenos cutáneos^{2,5} e *in vitro* con la medición de la tasa de transformación blástica de los linfocitos en presencia de la fitohemaglutinina⁶⁻¹⁵.

Mediante el empleo de estos métodos se han observado anomalías en la respuesta inmune, tanto en pacientes afectados de enfermedades linforreticulares^{1, 13, 16-23} como en aquellos otros afectados de tumores sólidos no linfoides^{2, 8, 9, 24-31}.

La alteración de la inmunidad celular en pacientes afectados de cáncer de pulmón, estudiada mediante métodos *in vivo*^{3, 26, 32} e *in vitro*^{3, 8, 33-43} ha sido objeto, en estos últimos años, de importantes publicaciones.

La mayoría de trabajos revisados apuntan a la existencia de una relación entre el estado inmunitario, especialmente celular, y diversos aspectos clínicos del cáncer de pulmón.

* Jefe del Servicio de Medicina Interna. Residencia Virgen de la Cinta. Tortosa. Tarragona.

** Jefe clínico del Instituto de Neumología Clínica Ntra. Sra. de la Merced. Barcelona.

Entre octubre de 1973 y diciembre de 1976 hemos estudiado la inmunidad celular mediante el test *in vivo* e *in vitro* en 138 pacientes afectados de cáncer de pulmón. El propósito de nuestro trabajo fue observar la existencia de relación entre la respuesta inmunológica y el resultado de la quimioterapia.

Material

Entre octubre de 1973 y diciembre de 1976 hemos estudiado la inmunidad celular mediante tests *in vivo* e *in vitro* en 138 pacientes afectados de cáncer de pulmón.

El diagnóstico de carcinoma primitivo de pulmón fue realizado mediante procedimientos:

a) Clínicos: anamnesis, exploración física, radiográficas y humoral, examen seriado de esputos, broncoscopia y/o fibroscopia.

b) Quirúrgicos: toracotomía y biopsia. La tabla I muestra la distribución de los pacientes según su edad, sexo y tipo histológico.

En el momento de ser realizada la exploración inmunológica, ninguno de nuestros pacientes se hallaba sometido a tratamiento con corticoides citostáticos o había sido irradiado previamente.

Métodos

1) Sensibilización cuantitativa al dinitroclorobenceno (D.N.C.B.)

Para la sensibilización cuantitativa al dinitroclorobenceno (D.N.C.B.) hemos seguido la técnica descrita por Catalana⁴⁴. Nuestros enfer-

mos han sido sensibilizados con dosis de 2000 y 50 microgramos por 3 cm² en el brazo.

Los lugares expuestos al contacto con DNCB han sido examinados a las 24 y 48 horas para observar la existencia de reacción irritativa y a los 7 y 14 días para comprobar la presencia de eritema e induración. En ausencia de respuesta (eritema e induración) a los 14 días, una dosis de recuerdo de 50 microgramos ha sido aplicada en el antebrazo y su lectura realizada a las 24 y 48 horas.

La respuesta al dinitroclorobenceno se mide en grados:

a) Grado 4: Es cuando la existencia de eritema e induración se producen a la dosis de 2000 y 50 microgramos, a los 14 días o antes.

b) Grado 3: Cuando el eritema e induración son observados solamente a la dosis de 2000 microgramos, dentro de los 14 días.

c) Grado 2: Cuando la respuesta (eritema e induración) tiene lugar en la dosis de recuerdo de 50 microgramos en el antebrazo.

d) Grado 1: Es cuando se observa reacción inflamatoria en los lugares expuestos al contacto con el dinitroclorobenceno, pero la biopsia cutánea pone de manifiesto infiltración linfomonocitaria. En ninguno de nuestros casos hemos practicado biopsia.

e) Grado 0: Se produce ante la falta de reacción cutánea e histológica frente al estímulo antigénico del dinitroclorobenceno.

2) Reacción Cutánea a la Candidina

En nuestro estudio, hemos utilizado la candidina procedente del Instituto Pasteur a la concentración de 1/1000.

La solución fue administrada por vía intradérmica y la cantidad inyectada 0,10 ml de la solución. El lugar de inyección, la piel del antebrazo.

Lectura: Fue realizada a las 48 y 72 horas.



Valoración: La respuesta fue valorada como positiva si la reacción inflamatoria cutánea (eritema e induración) era mayor de 5 mm de diámetro.

3) *Determinación del número absoluto de linfocitos por mm³ en sangre periférica*

Extracción de 10 ml de sangre con heparina sódica al 5 % (2 gotas por cada 10 ml). Se mezcla la sangre con 20 ml de PBS, y se coloca suavemente la mezcla sobre 15 ml de Ficoll-Pielograf en tubos Falcon 2070 (50 ml).

Centrifugar 20-30 m a 1000 rpm. Separar los linfocitos y lavarlos 2 veces con PBS más ác. sódico al 0,2 %, pH 7,3-7,4. Cada lavado debe durar 7-10 m a 2000 rpm.

Resuspender los linfocitos en 1 ml. de PBS. más ác. sódico al 0,2 %, y se cuentan en cámara Neubauer.

4) *Test de transformación blástica de los linfocitos «in vitro» en presencia de fitohemaglutina (PHA)*

Para su realización hemos utilizado la técnica descrita por Moragas⁴⁵. Para ello se extrajeron 10 ml. de sangre periférica de manera estéril a los que se añadió heparina sódica al 5 %. Posteriormente se mezcló la sangre con 20 ml. de PBS y se depositó sobre 15 ml. de una solución de Ficoll-Pielograf. Tapados los tubos se centrifugaron durante 25 min a 1800 rpm. Se separaron los linfocitos de la interfase mediante una pipeta Pasteur y se colocaron en otros tubos estériles. Fueron lavados dos veces con PBS estéril y al final contados y ajustados a 10⁶ por 0,1 ml.

Los test se realizaron de la siguiente manera: *Tubo control.* 0,5 ml de suero AB estéril, 1 ml de Medio 199 y 10⁶ linfocitos.

Tubo problema. 0,5 ml de suero AB estéril, 1 ml de Medio 199. 0,025 ml de fitohemaglutinina-M. y 10⁶ linfocitos.

Se incubaron a 37° C durante 96 horas los controles y durante 72 horas los problemas. Pasado el tiempo de incubación se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 min decantando el sobrenadante y añadiendo 1,5 ml de Carnoy. Se incubaron durante 30 min a 4 °C. Vueltos a centrifugar se decantó el sobrenadante, efectuando extensiones con el sedimento celular, siendo teñidas las preparaciones una vez secas mediante el método de verde-metil-pironina.

5) *Test de transformación blástica de los linfocitos más suero autólogo*

La técnica utilizada ha sido la misma que para el test descrito en el apartado 4, con la salvedad de que en el tubo problema en lugar de suero AB se añade suero del paciente canceroso, quedando los tubos completados de la manera siguiente:

Tubo problema: 0,5 ml de suero del paciente, 1 ml de Medio 199, 0,025 ml de fitohemaglutinina-M. y 10⁶ linfocitos.

Tubo problema: 0,5 ml de suero del paciente, 1 ml de Medio 199, 0,025 ml de fitohemaglutinina-M. y 10⁶ linfocitos.

6) *Formación espontánea de rosetas con hematias de carnero (SRBC-TE.)*

En su preparación hemos seguido la técnica descrita por Wybran^{46,47}. Se extraen 10 ml. de sangre a los que se añade heparina sódica al 5 %.

La sangre se mezcla con 10 ml. de PBS y colocada encima de una solución de Ficoll-Pielograf centrifugándolo a continuación a 1800 r.p.m. durante 25 minutos. Los linfocitos se separan y se lavan dos veces con PBS más

TABLA I

Distribución de los pacientes según edad, sexo y tipo histológico.

Tipo histológico	Edad y sexo								Total
	40-49		50-59		60-69		≥ 70		
	V	H	V	H	V	H	V	H	
C. Epidermoide	10	1	16	1	45	1	15	-	88
Adenocarcinoma	2	-	1	-	5	3	1	-	12
C. Indiferenciado									
a) C. pequeñas	4	-	6	-	2	1	1	-	14
b) C. grandes	1	-	8	-	10	2	3	-	24
Total	17	1	31	1	62	7	20	-	138

ácido dódico al 0,2 %. Se cuentan en un hematocitometro y se ajustan a 5 × 10⁵.

Preparación de los hematias de carnero. Sangre extraída en 10 % de ACD fue utilizada para este apartado. 10 ml. de sangre se lavaron tres veces en suero fisiológico. Del producto lavado se separó 1 ml del sedimento de hematias (solución A).

El resto de hematias se resuspendieron hasta una concentración final del 2 % (solución B).

Inactivación y absorción del suero de ternera. Un ml de suero fetal de ternera se inactivó por calentamiento a 56 °C durante 30 min. Posteriormente se le añadió 1 ml. de hematias de carnero (solución A) y se incubó durante 15 min. a 37 °C. Transcurrido el periodo de incubación se centrifugó a 2000 r.p.m. a fin de recoger el sobrenadante (suero inactivado y absorbido).

Técnica de rosetas. En un tubo de hemolisis se colocaron: 0,05 ml. de la suspensión de linfocitos, 0,05 ml. de suero fetal inactivado y absorbido y 0,1 ml. de hematias de carnero (solución B).

Se centrifuga a 1250 r.p.m. durante 5 min., y se deja en reposo a temperatura ambiente durante una hora. Para su lectura se resuspende suavemente y se cuenta en un hematocitometro, hallándose la relación % rosetas % linfocitos sueltos.

7) *Valoración de la respuesta*

Los criterios para valorar el grado de respuesta a la terapeutica citostática fueron:

Remisión completa: Desaparición de todos los signos y síntomas de la enfermedad.

Remisión parcial: Disminución en un 50 % o más del tamaño del tumor, expresado en el largo de sus diámetros perpendiculares, durante uno o más meses.

Resultados

El 84,3 % / 27/32 de los pacientes que alcanzaron la remisión clínica, presentaban, antes de la administración de la quimioterapia, positividad al dinitroclorobenceno, en tanto que solamente en el 12,7 % (6/47) de los enfermos que no mostraron remisión, el dinitroclorobenceno fue positivo. Estas diferencias son estadísticamente significativas (X², p < 0,001).

El 83,3 % (25/10) de los pacientes que mostraron remisión a la quimioterapia y solamente el 19,5 % (8/41) de los enfermos en los que no se consiguió tal remisión, presentaban posi-

tividad a la candidina, previamente a la administración de citostáticos. Estas cifras, valoradas estadísticamente, mostraron ser significativas (X², p < 0,001).

En el 85,1 % (23/27) de los pacientes que alcanzaron la remisión clínica con quimioterapia y solo el 11,9 % (5/42) de los enfermos en los que no se consiguió la remisión, el número de linfocitos periféricos analizados antes de iniciar la terapéutica citostática, se hallaban por encima de 1500 elementos por mm³. Estas diferencias estadísticamente calculadas mostraron ser significativas (X², p < 0,001).

El 93,75 % (60/64) de los pacientes que alcanzaron la remisión clínica con quimioterapia y sólo en el 14,8 % (11/74) de los enfermos en los que no se consiguió tal remisión, los porcentajes de transformación blástica de los linfocitos «in vitro» en presencia de fitohemaglutinina, analizados antes de administrar la terapéutica citostática, fueron iguales o superiores a 50 %. La diferencia es significativa (X², p < 0,001).

En el 96,6 % (29/30) de los pacientes que lograron la remisión clínica con quimioterapia y solo en el 11,1 % (4/36) de los pacientes en los que no se consiguió tal remisión, el test de transformación blástica de los linfocitos más suero del paciente canceroso, practicando antes de la administración de citostáticos, presentaba porcentajes iguales o mayores de 50 %.

Estos datos también fueron significativos (X², p < 0,001).

El 94,5 % (35/37) de los pacientes que alcanzaron la remisión clínica de su neoplasia con quimioterapia y únicamente el 15,6 % (5/32) de los pacientes en los que no se consiguió tal remisión presentaban previamente a la administración de quimioterapia porcentajes de formación de rosetas iguales o mayores de 40 %. Estas diferencias fueron significativas (X², p < 0,001).

Comentario

Parece ser que una respuesta inmune positiva, puede asociarse, en la mayoría de los casos, con una excelente respuesta a la quimioterapia. En este sentido, nuestros hallazgos, obtenidos utilizando la sensibilización al antígeno químico dinitroclobenceno, concuerdan con los publicados por Brugarolas^{33,34}.

Aún en la actualidad, la valoración del diámetro de una reacción cutánea a la inyección de un antígeno microbiano o fúngico, tiene valor pronóstico frente a una quimioterapia que debe ser emprendida. Los resultados publicados por Brugarolas^{33,34}, Anthony⁴⁶, Israel³⁶, Micksche³⁸ y Hersh³⁷ son superponibles a los obtenidos en nuestro estudio.

Los resultados obtenidos por Krand³ en 1968, son semejantes a los obtenidos en nuestro trabajo, en cuanto al número de linfocitos por mm³ hallados en periferia y la respuesta a la quimioterapia.

Un porcentaje normal o elevado de linfocitos transformados por la fi-

tohemaglutinina, se asocia según Brugarolas^{33,34} y Micksche³⁸ con una buena respuesta a la quimioterapia. Nuestros hallazgos se superponen con los obtenidos por estos autores.

La explotación de la inmunidad celular, en pacientes afectados de cáncer de pulmón que posteriormente han de ser sometidos a una terapéutica citostática, mediante la prueba de la formación espontánea de rosetas con hematías de carnero, publicados por Brugarolas^{33,34}; Israel y Dellon⁴⁹ concuerdan con nuestros propios hallazgos, al encontrar una relación entre porcentajes elevados de linfocitos T y remisión clínica de la masa tumoral.

Resumen

Se estudian 138 pacientes afectados de carcinoma pulmonar metastásico en su aspecto inmunológico.

Los estudios *in vitro* e *in vivo* de la inmunidad celular ponen de manifiesto que existe correlación entre una buena respuesta a la quimioterapia y la existencia de una respuesta

inmune positiva frente a los parámetros estudiados en este grupo de enfermos. El 84,3 % de enfermos que mejoraron clínicamente tenían respuestas inmunes positivas, mientras que únicamente 12,7 % con respuestas inmunológicas favorables remitieron clínicamente.

Summary

CELLULAR IMMUNITY AND RESPONSE TO CHEMOTHERAPY OF PATIENTS AFFECTED WITH METASTATIC LUNG CANCER

The authors study the cases of 138 patients affected with metastatic lung cancer in their immunological aspects.

Studies *in vitro* and *in vivo* of the cellular immunity show that a correlation exists between a good response to chemotherapy and the existence of a positive immune response to the parameters studied in this group of patients. Of the patients that improved clinically, 84.3 % had positive immune responses, while only 12.7 % with favorable immunological responses showed clinical remission.

BIBLIOGRAFIA

1. SOUTHAM, C.M.; MOORE, A.E., Y RHOADS, C.P.: Homotransplantation of human cells. *Science*, 125: 158, 1957.
2. EILBER, F.R., Y MORTON, D.L.: Impaired immunologic reactivity and recurrence following cancer surgery. *Cancer*, 2: 362, 1970.
3. KRAND, M.J.; MANSKOFF, G., BRAN-DRUP, C., Y MORTON, A.M.: Immunologic alterations in bronchogenic cancer. *Cancer*, 4: 623, 1968.
4. LEVIN, A.C.; McDONOUGH, E.F.; MILLER, D.G., Y SOUTHAM, C.M.: Delayed hypersensitivity response to DNFB in sick and healthy persons. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 120: 400, 1964.
5. LAMB, D., PILNEY, F., KELLEY, W.D., Y GOOD, R.A.: A comparative study of the incidence of energy in patients with carcinoma leukemia, Hodgkin's disease, and other lymphomas. *J. Immunol.*, 89: 555, 1962.
6. CUADRADO, D.S.P.: Blastogénesis y cáncer humano: Depresión del índice blastogénico en los enfermos cancerosos. *Rev. Clin. Esp.*, 103: 13, 1966.
7. CATALONA, W.J., SAMPLE, W.F. Y CHRETIEN, P.B.: Lymphocyte reactivity in cancer patients. Correlation with tumor histology and clinical stage. *Cancer*, 31: 65, 1973.
8. DUCOS, J., MIGUERAS, J., COLOMBIES, P., KESSOUS, A. Y POUJOULET, N.: Lymphocyte response to PHA in patients with lung cancer. *Lancet*, 1: 1111, 1970.
9. GARRIOCH, P.B., GOOD, R.A., Y GATTI, A.A.: Lymphocyte response to PHA in patients with nonlymphoid tumors. *Lancet*, 1: 618, 1970.
10. HERSH, E.M., Y OPPENHEIM, J.J.: Impaired *in vitro* lymphocyte transformation

in Hodgkin's disease. *New. Engl. J. Med.*, 273: 1003, 1965.

11. SUTHERLAND, R.M., INCH, W.R., Y McC EDIE, T.H.: Phytohemagglutinin (PHA)-induced transformation of lymphocytes from patients with cancer. *Cancer*, 27: 574, 1971.

12. SHARMA, O.P., JAMES, D.G., Y FOX, R.A.: A correlation of *in vivo* delayed type hypersensitivity with *in vitro* lymphocyte transformation in sarcoidosis. *Chest*, 60: 35, 1971.

13. TRUBOWITS, S., MASEK, B., Y DEL ROSARIO, A.: Lymphocyte response to phytohemagglutinin in Hodgkin's disease, lymphatic leukemia and lymphosarcoma. *Cancer*, 19: 2019, 1965.

14. TWOMEY, P., CATALONA, W.J., Y CHRETIEN, P.B.: Cellular immunity in cured cancer patients. *Cancer*, 33: 435, 1974.

15. WITTAKER, M.G., REES, K., Y CLARK, C. G.: Reduced lymphocyte transformation in breast cancer. *Lancet*, 1: 892, 1977.

16. AISENBERG, A.C.: Studies on delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease. *J. Clin. Invest.*, 41: 1964, 1971.

17. AISENBERG, A.C.: Lymphocytopenia in Hodgkin's disease. *Blood*, 25: 1037, 1965.

18. BERG, J.W.: The incidence of multiple primary cancer. Development of further cancers in patients with lymphomas and myelomas. *J. Nat. Cancer Inst.*, 38: 741, 1967.

19. BROWN, R.S., HAYNES, H.A., FOLEY, H.T., GODWIN, H.A., BERNARD, C.W., Y CARBONE, P.B. Hodgkin's disease immunologic, clinical and histologic features of 50 untreated patients. *Ann. Inter. Med.*, 67: 291, 1967.

20. HYMAN, G.A.: Increased incidence of neoplasia, in association with chronic lymphocytic leukemia. *Scand. J. Haemat.*, 6: 99, 1969.

21. LAMB, D., PILNEY, F., KELLEY, W.D., Y GOOD, R.A.: A comparative study of the incidence of energy in patients with carcinoma, leukemia, Hodgkin's disease, and other lymphomas. *J. Immunol.*, 89: 555, 1962.

22. MOERTEL, C.G., HAGERDORN, R.H., AISRL, I.: Leukemia and lymphoma, and primary coexistent malignant lesions. Review of literature and study of 120 ca. *Blood*, 12: 788, 1957.

23. RUBIN, A.D., HAVEMAN, K., Y DAMESHEK, W.: Studies in chronic lymphocytic. Further Studies of the proliferative abnormality of the blood lymphocyte. *Blood*, 33: 313, 1969.

24. CATALONA, W.J., Y CHRETIEN, P.B.: Abnormalities of quantitative dinitro chlorobenzene sensitization in cancer patients: Correlation with tumor stage and histology. *Cancer*, 31: 353, 1973.

25. CATALONA, W.J., SAMPLE, W.F., Y CHRETIEN, P.B.: Lymphocyte reactivity in cancer patients. Correlation with tumor histology and clinical stage. *Cancer*, 31: 65, 1973.

26. CHAKRAVORTY, R.C., CURUCHET, H.P., COPOLLA, F.S., PARK, Ch., BLAYLOCK, W.K., Y LAWRENCE, W. Jr.: The delayed hypersensitivity reaction in the cancer patients: Observations on sensitization by DNCB. *Surgery*, 73: 730, 1973.

27. MORTON, D.L., HOLMES, E.C., EILBER, R.F., Y WOOD, W.C.: Immunological aspects of neoplasia: A rational basis for immunotherapy. *Ann. Int. Med.*, 74: 589, 1971.

28. NELSON, H.S.: Delayed hypersensitivity in cancer patients. Cutaneous and *in vitro* lymphocyte response to specific antigens. *J. Nat. Cancer Inst.*, 42: 765, 1969.

29. SERROU, B., SOLASOL, L., MEIS, S., PUJOL, H., Y ROMIEU, Cl.: Aspects actuels de l'immunologie et de l'immunotherapie des



cancer chez l'homme. *J. Méd. Montp.*, 4: 171, 1972.

30. SOLOWEY, A.C., y RAPAPORT, F.T.: Immunologic response in cancer patients. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 121: 756, 1965.

31. TWOMEY, P.L., CATALONA, W.J., y CHRETIEN, P.B.: Cellular immunity in cured cancer patients. *Cancer*, 33: 435, 1974.

32. ANTHONY, A.M., TEMPLEMAN, G.H., MADSEN, K.E., y MASON, M.K.: The pronostic significance of DHS skin tests in patients with carcinoma of bronchus. *Cancer*, 34: 1091, 1974.

33. BRUGAROLAS, A., y TAKITA, H.: Immunologic status in lung cancer. *Chest*, 64: 427, 1973.

34. BRUGAROLAS, A., HAN, TAKITA, H., y MINOWADA, J.: Immunologic assays in lung cancer. *N.Y. State J. Med.*, 73: 747, 1973.

35. SILK, M.: Effect of plasma from patients with carcinoma on in vitro lymphocyte transformation. *Cancer*, 27: 2088, 1967.

36. ISRAEL, K., BOUVRAIN, A., CROSS-DECAM, J., y MUJICA, M.: Contribution à l'étude des phenomenes d'immunité cellulaire chez les cancéreux pulmonaires avant traitement paliatif o chirurgical. *Poum. Cœur*, 3: 339, 1968.

37. HERSH, E.M., LURIS, P.M., TAKITA,

H., RITIS, R. y ZELEN, M.: Immunocompetence and prognosis in lung cancer. *Amer. Ass. Cancer Res.*, 67: 230, 1976.

38. MICKSCHE, M.K.: In vivo and in vitro hipersensitivity reactions in patients with bronchogenic carcinoma. *Abstracts. International Cancer Congress*, XI, 2, pp. 108, 1974.

39. REES, J.C., ROSSIO, J.L., WILSON, H.E., MILTON, J.P., y MATTHEW, C.D.: Cellular immunity in neoplasia. Antigen and mitogen responses in patients with bronchogenic carcinoma. *Cancer*, 36: 2010, 1975.

40. GROSS, R.L., LATTY, A., WILLIAMS, E.A., y NEWBERNE, P.M.: Abnormal spontaneous rosette formation and rosette inhibition in lung carcinoma. *New Engl. J. Med.*, 292: 439, 1975.

41. HANT, T., y TAKITA, H.: Immunologic impairment in bronchogenic carcinoma: A study of lymphocyte response to Phytomaggglutinin. *Cancer*, 30: 616, 1972.

42. RITTS, R.E. Jr., y CARR, D.T.: Cellular immune competence in stage III bronchogenic carcinoma. *Abstracts, XI International Cancer Congress*, 2, pp. 110, 1974.

43. WELLS, S.A., BURDICK, J.F., JOSEPH, W.L., CHRISTIANSENS, C.L., WOLF, W.G., ADKINS, P.C.: Delayed cutaneous hypersensitivity reactions to tumor cell antigens and to

non specific antigens. Pronostic significance in patients with lung cancer. *Thor. Card. Surg.*, 66: 557, 1973.

44. CATALONA, W.J., TAYLOR, P.T., RABOSON, A.S., y CHRETIEN, P.B.: A method for D.N.C.B. contact sensibilization. A clinicopathology study. *New England J. Med.*, 286: 399, 1972.

45. MORAGAS, J.M., y ANGUERA, A.: Indice de transformación blástica de los linfocitos en las farmacodermias. *Rev. Clin. Esp.*, 124: 3, 1972.

46. WYBRAN, J., FUDENBERG, H.H.: Rosette formation, a test for cellular immunity. *Trans. Ass. Amer. Phys.*, 84: 239, 1971.

47. WYBRAN, J., y FUNDENBERG, H.H.: Thymus-derived rosette-forming cells. *New Engl. J. Med.* 288: 710, 1973.

48. ANTHONY, A.M., TEMPLEMAN, G.H., MADSEN, K.E., y MASON, M.K.: The pronostic significance of DHS skin tests in patients with carcinoma of bronchus. *Cancer*, 34: 1091, 1974.

49. DELLON, L.A., POTYIN, Cl. y CHRETIEN, P.B.: Thymus-dependent lymphocyte levels in bronchogenic carcinoma: Correlation with histology, clinical stage and clinical case after surgical treatment. *Cancer*, 35: 387, 1975.