

ANTICORPOS MONOCLONAIS

Abordagem Geral e Radioimunoterapia

OLGA SOUSA, ÉLIO VIEIRA

Departamento de Radioterapia. Instituto Português de Oncologia. Centro do Porto. Porto.

RESUMO

Os dois maiores obstáculos na terapêutica sistémica de cancro tem sido a falta de especificidade das modalidades terapêuticas e a heterogeneidade inter-doente e intra-doente das células cancerosas. Devido à sua natural especificidade, os anticorpos dirigidos contra antígenos associados aos tumores ou antígenos tumor específicos, constituem uma arma de interesse crescente na área da oncologia. Este trabalho faz uma abordagem geral dos princípios básicos dos anticorpos monoclonais, suas limitações e perspectivas, com incidência particular para os radioimunocjugados. São ainda revistos alguns dos estudos clínicos mais importantes na área da radioimunoterapia.

SUMMARY

Monoclonal Antibodies. General Overview and Immunoradiotherapy

Two major obstacles to systemic cancer therapy are the lack of specificity of therapeutic modalities and the inpatient and outpatient heterogeneity of cancer cells. Because of their natural specificity, antibodies directed against tumor specific or tumor associated antigens have been raising interest in oncology. This article makes an overview of the basic principles of monoclonal antibodies, their limitations and perspectives, with particular attention to Immunoradioconjugates. The most important Immunoradiotherapy clinical studies are also reviewed.

INTRODUÇÃO

Existe uma grande variedade de alvos antigénicos na terapêutica sistémica com anticorpos monoclonais. Estes incluem os antígenos oncofetais, que estão expressos na superfície de vários tipos tumorais mas também presentes, embora em menor grau, nos tecidos normais (ex. antígeno carcioembrionário)¹; os antígenos de diferenciação, expressos durante a ontogenia celular normal, e que constituem marcadores tumorais durante a transformação maligna (ex. antígeno de superfície linfocitária)² e ainda receptores de superfície celular que são produtos de oncogenes celulares e desempenham um papel crucial no crescimento tumoral (ex. receptor do factor de crescimento epidermal)³.

A eficácia de anticorpos monoclonais não conjugados depende da sua capacidade de ligação ao tumor e de estimular os mecanismos imunológicos efectores humanos, citotoxicidade mediada pelo complemento e citotoxicidade celular. Porém estes mecanismos têm uma capacidade limitada na destruição celular^{4,5}.

Os resultados preliminares da terapêutica com anticorpos não conjugados foram decepcionantes, em primeiro lugar por não serem directamente citotóxicos e de necessitarem dos mecanismos efectores do hospedeiro e, em segundo lugar, pela presença de células tumorais antígeno negativas. Uma tentativa de ultrapassar a necessidade dos mecanismos efectores do hospedeiro, levou a que posteriormente fossem utilizados como carreadores de substâncias citotóxicas, formando conjugados com drogas, toxinas e radioisótopos.

Até à data tem sido difícil desenvolver anticorpos monoclonais com especificidade absoluta para as células cancerosas. Contudo é possível identificar anticorpos dirigidos contra antígenos largamente representados nas células cancerosas, comparativamente às células normais. Estas diferenças quantitativas na expressão antigénica entre as células normais e as células malignas são essenciais na aplicação clínica dos anticorpos monoclonais⁶.

CONCEITOS BÁSICOS

As imunoglobulinas constituem um grupo de proteínas que têm várias características em comum. São constituídas por uma ou várias unidades, cada uma das quais possui duas cadeias polipeptídicas leves (L) e duas cadeias polipeptídicas pesadas (H) (Figura 1).

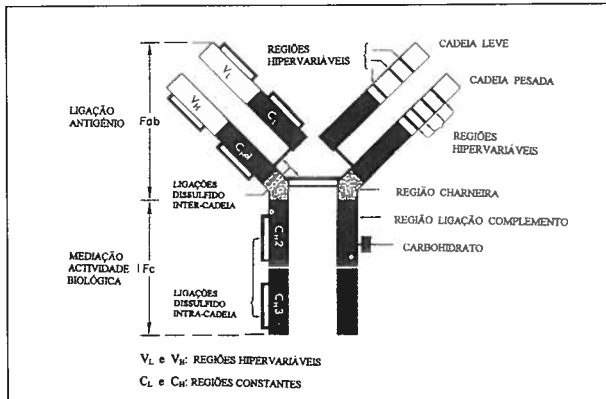


Fig. 1- Estrutura de uma molécula de imunoglobulina. Representação esquemática de uma IgG indicando a estrutura da cadeia e dos domínios e a existência de regiões variáveis e hipervariáveis das cadeias H e L (ref.8)

As cadeias L são de dois tipos principais, k e l, sendo constituídas por dois domínios. O domínio terminal carboxilo é basicamente idêntico entre as cadeias L de um determinado tipo e é denominado região constante. O domínio terminal amino da cadeia L varia de anticorpo para anticorpo e representa o local da cadeia L de ligação ao antígeno e, devido à sua variabilidade, é denominado domínio variável. Esta variabilidade é concentrada de facto em três segmentos, designando as regiões hipervariáveis ou determinantes complementares (CDR). As três regiões CDR são interseptadas por quatro regiões de menor grau de variabilidade, designadas como regiões *framework*⁷.

As cadeias pesadas podem ser de vários tipos, incluindo m, d, g, a e e. As cadeias H contêm um domínio terminal amino único e vários domínios constantes. Em algumas cadeias H, uma região de charneira separa o primeiro e segundo domínios constantes e dá flexibilidade à molécula, permitindo que os dois locais de combinação se movam um em direcção ao outro (figura 1). A região variável das cadeias H, tal como a das cadeias L, consiste em três CDRs, que possuem os locais de combinação do anticorpo. Assim, o local de combinação do antígeno de uma molécula de anticorpo é constituída pela contribuição das regiões variáveis (V) especializadas das cadeias H e L. Uma molécula de imunoglobulina (Ig) consiste em uma ou mais unidades de cadeias idênticas H e L, derivando o seu nome da cadeia H que

possui. Assim, há IgM, IgD, IgG, IgA e IgE.

A região constante (C) de cada classe de cadeia H difere das outras classes e é responsável pelas diferentes funções biológicas de uma determinada classe de anticorpo: a) as IgM activam o complemento; b) as IgA são secretadas para os fluídos; c) a IgE fixam-se a receptores específicos dos mastócitos e basófilos; d) as IgD actuam quase exclusivamente como receptores de membrana; e) a IgG expressa uma variedade de funções incluindo a capacidade de atravessar a placenta. A região Fc da imunoglobulina (Ig) constitui a sua porção mais imunogénica^{9,10}.

Os anticorpos monoclonais de origem murina, produzidos segundo a tecnologia dos hibridomas¹¹, constituem a principal fonte de anticorpos utilizados nos ensaios clínicos. Contudo, têm uma semi-vida plasmática curta, 16 a 48 horas para a IgG de murino *versus* 21 dias para a IgG humana, necessitando de administrações repetidas para manutenção de níveis sanguíneos eficazes⁹. Os estudos randomizados parecem demonstrar que a seguir à administração de uma dose de anticorpos monoclonais, aproximadamente 50% dos doentes desenvolvem anticorpos humanos anti-anticorpos monoclonais (HAMA). Esta percentagem aumenta sensivelmente para 90% após três ou mais administrações^{12,13}. O desenvolvimento dos HAMA resulta numa ligação e *clearance* rápida do anticorpo administrado, com a conseqüente diminuição da sua deposição tumoral.

As abordagens utilizadas para diminuir a imunogenicidade dos anticorpos de murino têm sido várias. Podem ser preparados fragmentos de anticorpos monoclonais por digestão enzimática, a qual cliva a porção Fc e origina fragmentos bivalentes (Fab'₂) ou fragmentos monovalentes (Fab)¹⁴. É ainda possível obter cadeias simples de proteínas de ligação ao antígeno, constituídas pelas regiões das cadeias leves e pesadas unidas por um peptído (Fv) (Figura 2). Em geral, estes fragmentos de anti-

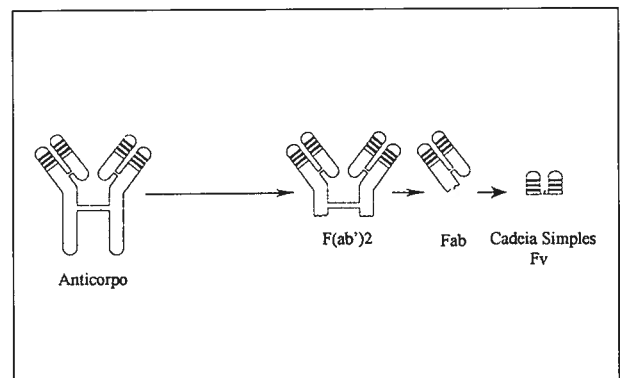


Fig. 2- Representação esquemática de um anticorpo e seus fragmentos derivados (adaptado de Rodwell, ref. 15)

corpos mantêm a especificidade de ligação ao antígeno, tendo uma imunogenicidade significativamente mais reduzida pela ausência do fragmento Fc¹⁶. Devido ao seu pequeno tamanho, estes fragmentos têm a vantagem de atingir um rápido equilíbrio com o espaço extravascular e uma mais fácil distribuição nos tecidos tumorais. Contudo, os fragmentos de anticorpos podem ter menor afinidade antigénica comparativamente aos anticorpos intactos. Isto, combinado com a sua rápida *clearance* e curto período de contacto com as células tumorais, resulta numa menor percentagem de deposição da dose injectada ao nível do tumor, tornando-os menos apropriados para a radioimunoterapia relativamente aos anticorpos intactos¹⁷.

As limitações dos anticorpos de murinos e a dificuldade em desenvolver anticorpos monoclonais humanos conduziu à utilização da engenharia genética para construir um anticorpo semelhante às Igs humanas mas que mantenha as características de ligação do primeiro. Os genes da região variável de murino podem ser combinados com os genes da região constante da imunoglobulina humana, originando uma quimera (*figura 3*). Os anticorpos quiméricos mantêm a especificidade dos anticorpos de murino e as propriedades efectoras do componente Fc humano. Em termos práticos o tempo de circulação destes anticorpos quiméricos aumenta para três a dez dias e concomitantemente diminui a resposta imune¹⁸.

A imunogenicidade do anticorpo pode ainda ser mais reduzida quando se utilizam as regiões determinantes de ligação ao antígeno (CDR) intercaladas com determinantes *framework* da região V humana - anticorpos *humanizados* (*figura 3*). A utilização de anticorpos humanos pode potencialmente ultrapassar a formação dos HAMA, contudo existem uma série de dificuldades técnicas na sua produção²⁰.

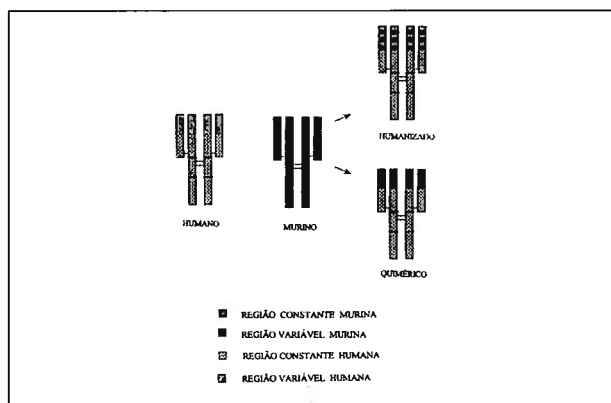


Fig. 3- Representação esquemática dos vários tipos de anticorpo (adaptado de LoBlugio, ref 9)

FACTORES ADICIONAIS A TER EM CONTA NA TERAPÊUTICA COM IMUNOCONJUGADOS

Existem vários parâmetros biológicos a ter em conta na utilização dos anticorpos monoclonais. Estes incluem: características individuais dos antígenos e sua expressão na massa tumoral; tipo de anticorpo utilizado; dose e vias de administração dos anticorpos; processamento, isto é, destino do anticorpo e/ou complexo anticorpo/antígeno.

Há várias propriedades dos antígenos associados aos tumores que podem influir na terapêutica com anticorpos monoclonais, entre as quais se incluem a densidade de antígeno na superfície celular ou nos espaços luminiais adjacentes às células, como sejam os antígenos associados à mucina²¹. Quanto maior for a expressão do antígeno, maior será a ligação do anticorpo.

O destino do complexo antígeno-anticorpo também deve ser levado em conta. Enquanto que a maioria dos complexos associados aos linfócitos são interiorizados, a maioria dos antígenos associados aos tumores sólidos são componentes integrantes da superfície celular, mantendo-se a maioria destes complexos na superfície celular²². Os agentes quimioterápicos e toxinas exercem a sua acção directamente ao nível intracelular. Daí que, uma vez conjugados com anticorpos, só sejam eficazes quando este complexo passa para o espaço intracelular. Ao contrário dos linfócitos, a maioria dos antígenos dos tumores sólidos são componentes estáveis da membrana celular e portanto, uma vez ligados aos imunocombinados formam complexos que não são interiorizados, diminuindo assim a eficácia da imunoterapia com estes agentes.

Os antígenos alvo ideais não deverão sofrer modulação (nesta o antígeno deixa de ser expresso na superfície celular após ligação ao anticorpo), uma vez que o seu desaparecimento da membrana celular limita a eficácia dos mecanismos citotóxicos²³.

As consequências da libertação dos antígenos associados aos tumores para a circulação ainda não está completamente esclarecido. Teoricamente a ligação dos anticorpos a estes antígenos, diminui a sua ligação à massa tumoral e pode, por outro lado, conduzir à sua acumulação em locais do sistema retículo endotelial (fígado, baço, medula óssea). Contudo isto nem sempre é verdade, pois muitas vezes níveis elevados de antígenos circulantes são sinónimo de uma boa ligação do anticorpo ao tumor²⁴.

O tamanho da massa tumoral constituiu um parâmetro importante na distribuição do anticorpo. Uma massa tumoral grande exerce pressão na vasculatura dificultando o acesso do anticorpo²⁵. Outro problema potencial

das grandes massas tumorais é poderem funcionar como grandes absorventes do anticorpo, deixando outras partes do tumor ou outras massas tumorais subdoseadas do ponto de vista terapêutico^{26,50}. Há ainda a considerar a vascularização tumoral heterogénea, com áreas bem e mal vascularizadas e a elevada pressão intersticial que dificultam a difusão do anticorpo²⁷.

As vias de administração também devem ser consideradas. A grande maioria dos estudos até à data utilizam a via endovenosa. A utilização da via intralinfática para atingir os gânglios não provou ser muito vantajosa, talvez devido à primeira passagem muito rápida. A via de administração intraperitoneal tem sido útil nas massas peritoneais^{28,29}. Serão necessários mais estudos tendo em consideração o tamanho e localização das massas tumorais para definir a via de administração óptima nas diferentes situações.

Outros parâmetros importantes incluem: a capacidade de ligação do anticorpo ao conjugado e ao antigénio; a sua actividade específica, isto é, número de moléculas de droga, toxina, ou radionuclídeo que deverão ser conjugadas com a molécula de imunoglobulina para um máximo potencial letal sem redução da capacidade de ligação. Um factor adicional a ter em conta envolve o metabolismo e catabolismo das imunoglobulinas e a toxicidade inerente em órgãos como o fígado e rins ou, pelo contrário, a sua rápida eliminação sem o mínimo de toxicidade.

RADIOIMUNOCONJUGADOS

Os imunocombinados de drogas e toxinas exercem exclusivamente o seu efeito oncolítico em células que expressem alvos antigénicos, necessitando ainda para este evento da internalização do agente citotóxico na sua forma activa, uma situação nem sempre fácil de ocorrer *in vivo*. Contrariamente os anticorpos radiomarcados não necessitam de ser interiorizados para terem um efeito citolítico e são potencialmente efectivos contra células antigénio positivas e negativas. Este efeito resulta da radiação emitida actuar sobre a célula à qual o imunocombinado está ligado e também sobre as células antigénio negativas da vizinhança³⁰. Adicionalmente, a utilização de radioimunoconjugados em baixas doses para fins de diagnóstico, permite a obtenção de um índice terapêutico para um doente particular e consequentemente individualizar a dose a empregar.

Para a terapêutica com radioimunoconjugados ser eficaz, a ligação entre o anticorpo e o radionuclídeo deve ser estável *in vivo*, a marcação não deve alterar a biodistribuição e características de ligação do anticorpo e a sua

taxa de distribuição tumor *versus* tecidos normais deve ser elevada³¹. A heterogeneidade tumoral é mais facilmente ultrapassada pela utilização de radioimunoconjugados, se este tiver uma distribuição tumoral razoável e emitir radiação numa distância apropriada. Assim, a selecção apropriada do radionuclídeo é crucial e deve ser tomada em conta a sua semi-vida física, tipo de emissão e espectro de energia, distância de emissão de radiação e disponibilidade do composto radioactivo³².

Os radioisótopos sofrem decaimento radioactivo devido à instabilidade inerente do seu núcleo. Durante o decaimento há libertação de energia sob a forma de emissões gama, beta (positrão e negatrão), alfa e captura de electrões. Cada decaimento tem um padrão de deposição de energia característico que deverá ser levado em conta quando se utiliza um determinado radioisótopo para radioimunoterapia.

O decaimento beta minus é caracterizado pela emissão de partículas β do núcleo que consistem com efeito em electrões. Estas partículas exercem o seu efeito a uma distância relativamente curta, alguns milímetros a centímetros do seu ponto de decaimento. Estas partículas têm uma gama grande de energias e, por esta razão, percorrem uma distância variável nos tecidos. Adicionalmente emitem radiação gama, que é uma radiação electromagnética muito energética que penetra bem nos tecidos e deposita a sua energia a mais de 10 cm.

Os radionuclídeos emissores de positrões têm um modo de decaimento muito semelhante ao dos emissores β minus excepto que, neste caso, o positrão é uma partícula com a mesma massa do electrão mas com carga positiva. Após percorrer alguma distância nos tecidos, determinada pela energia cinética de emissão do núcleo, o positrão pára e combina-se com um electrão, sendo a massa resultante das duas partículas convertida em radiação electromagnética sob a forma de dois fotões gama.

As partículas alfa são partículas muito grandes relativamente às β , e consistem em 4 protões constituindo basicamente um núcleo de hélio. Estas partículas libertam grande quantidade de energia a uma distância menor que as partículas β (40-80 mm).

No modo de decaimento por captura de electrões, o núcleo relativamente rico em protões tem uma probabilidade finita de capturar electrões da sua própria órbita. Neste processo são libertados vários electrões de baixa energia, na ordem dos kilovolttes, fazendo uma deposição muito intensa de energia numa curta distância.

A lesão provocada pela radiação resulta de um rasto de

ionização criado ao longo dos tecidos, que destrói biomoléculas críticas. A lesão e morte celular estão intimamente relacionadas com o dano do material nuclear, sendo o núcleo, ou mais concretamente o DNA, o alvo principal da radiação. Um único *hit* de uma partícula a ou de decaimento por captura de electrões é geralmente suficiente para causar morte celular. Estes modos de decaimento são altamente ionizantes e a sua radiação é denominada de alta transferência de energia³³.

Algumas desvantagens associadas ao uso dos radioimuno-conjugados relacionam-se com dificuldades de preparação, armazenamento, manuseamento, protecção do pessoal médico e, em alguns casos, a necessidade de quartos especiais. Outra desvantagem advém do facto dos complexos circulantes, isto é, os que não se encontram ligados ao tumor, causarem toxicidade medular.

OPTIMIZAÇÃO DA RADIOIMUNOTERAPIA

A optimização da terapêutica com anticorpos monoclonais deverá ser dirigida no sentido de: aumentar a captação do anticorpo pelo tumor e diminuir a nos tecidos normais; melhoria da eficácia terapêutica dos anticorpos radiomarcados; redução da imunogenicidade.

A marcação tumoral pode ser aumentada através do aumento da permeabilidade vascular. Esta por sua vez pode ser manipulada com doses baixas de radiação externa antes da radioimunoterapia (RIT). Num estudo efectuado em doentes com hepatoma, onde foi realizada radiação externa prévia, houve um aumento da deposição de anticorpos de uma a seis vezes no tumor sem aumento apreciável de deposição no fígado normal³⁴. A administração local, por exemplo intraperitoneal, pode ser acompanhada de aumento da concentração tumoral do anticorpo e da eficácia terapêutica. Devido à especificidade limitada do anticorpo e à heterogeneidade antigénica inerente à maioria dos tumores, a combinação ou *cocktails* de anticorpos contra múltiplos antigénios específicos pode também aumentar a deposição de imunocombinados. Os agentes biológicos, como o interferon, interleuquina 2, factor de necrose tumoral, podem aumentar a expressão de antigénios nas células tumorais bem como aumentar a percentagem de células com expressão do antigénio³⁵. Os antigénios tumorais libertados para a circulação, podem formar complexos imunes com os radioimunoconjugados, resultando na sua rápida *clearance* plasmática e, conseqüentemente diminuição da sua deposição tumoral^{36,37}. Este obstáculo pode ser ultrapassado utilizando plasmáfereze ou pela pré-infusão de um excesso de anticorpo *frio* antes da administração do anticorpo radiomarcado³⁷. No primeiro caso, os antigénios

circulantes são removidos directamente da circulação e, no segundo caso a administração prévia de um anticorpo promove a formação de complexos imunes circulantes que são rapidamente eliminados.

Têm sido feitos vários ensaios no sentido de reduzir a concentração dos anticorpos nos tecidos normais. A administração prévia do anticorpo não marcado, um a vários dias antes de um hapteno quelado, permite que o anticorpo continue ligado ao tumor, sendo o anticorpo livre eliminado dos tecidos normais. Alternativamente pode ser utilizado um segundo anticorpo dirigido contra o anticorpo primário no sentido de aumentar a *clearance* deste último no sangue e tecidos normais.

A taxa de dose tem uma influência capital na morte celular. Na radiobiologia clássica, uma taxa de dose na ordem dos 23 cGy/hora inibe a divisão celular, enquanto taxas de dose menores que 10 cGy/hora provoca dano celular não significativo. Numa perspectiva radiobiológica, os tumores que poderão responder melhor à RIT são os que têm menor capacidade de reparação, os tumores susceptíveis de serem bloqueados nas fases mais radiosensíveis do ciclo celular, tumores com reoxigenações rápidas e os que apresentam uma expressão antigénica homogénea³⁸. Nesta base, os tumores que melhor podem ser tratados por RIT são os que apresentam ombros pequenos, com pouca capacidade de reparação do dano subletal, como o carcinoma de pequenas células do pulmão e os linfomas³⁹. Os tumores que apresentam ombros grandes como o adenocarcinoma do pulmão, melanoma e carcinoma hepatocelular, requerem adição de sensibilizadores (radioterapia externa e/ou agentes quimioterápicos) para aumentar a eficácia da baixa taxa de dose de radiação. O efeito tumoricida dos anticorpos radiomarcados pode ainda ser amplificado pela associação com imunotoxinas (radioimunotoxinas) ou agentes quimioterápicos (radioimunoquimioterápicos).

Como acima referido, os HAMA desenvolvem-se na maioria dos doentes imunocompetentes após uma administração de anticorpo de murino. Estão a decorrer vários estudos no sentido de ultrapassar esta limitação que passam por: utilização de anticorpos humanos e anticorpos quiméricos; modificações bioquímicas para prevenir o reconhecimento imune; irradiação nodal total antes de administração do anticorpo; utilização de agentes imunossuppressivos como a ciclosporina e ciclofosfamida; radioimunoterapia cíclica. Nesta última utilizam-se sequencialmente anticorpos com origem em várias espécies animais com o objectivo de permitir o tratamento sem resposta imune.

RESUMO DOS ESTUDOS CLÍNICOS

OVÁRIO

Durante a última década, a tecnologia monoclonal permitiu o desenvolvimento de novos reagentes para a detecção, localização e tratamento do cancro do ovário. Os anticorpos monoclonais que definem os antígenos associados aos tumores epiteliais do ovário também se ligam a adenocarcinomas de outras localizações e vice-versa. Em geral, cada um destes anticorpos reage ainda com um ou mais tecidos normais.

A maioria das doentes com cancro do ovário têm doença intraperitoneal disseminada na altura do diagnóstico. É possível que a heterogeneidade da expressão antigénica do tumor primário conduza ao desenvolvimento de metástases com diferentes fenótipos, daí a necessidade de na maioria dos ensaios clínicos se utilizarem terapêuticas com anticorpos policlonais.

O primeiro relato de utilização de anticorpos monoclonais no tratamento do cancro do ovário foi feito por Epenetos⁴⁰, com injeção intraperitoneal (IP) de 20 mCi de ¹³¹I conjugado com o anticorpo HMFG2 numa doente com cancro do ovário residual após cirurgia citorrredutora e 6 ciclos de QT. Os cálculos de dosimetria indicaram que foram dados 4700cGy ao tumor e sómente 2.4cGy aos órgãos vizinhos. Num estudo posterior do grupo do Hamersmith envolvendo 36 doentes com doença residual ou recorrente após terapêutica convencional, foi administrado intraperitonealmente imunocombinados de ¹³¹I, incluindo o HMFG1, HMFG2, AUA1 e H17E2. Nas 8 doentes com doença residual > 2cm de diâmetro, não houve resposta; nas 15 doentes com nódulos < 2cm, houve resposta parcial; nas 6 doentes com doença microscópica 3 tiveram resposta completa. Este estudo demonstrou que o volume tumoral na altura da RIT é um factor decisivo no sucesso terapêutico. A dose administrada também mostrou ser importante. As doentes em que foram administradas doses superiores a 140 mCi responderam melhor do que aquelas a que foram administradas doses inferiores a esta. A dose média recebida pelo peritoneu foi de 374 cGy⁴¹. Estimou-se que são necessárias doses superiores a 5000-6000 cGy para irradiar lesões com 1 a 2 cm⁴².

Num estudo efectuado por Allan et al, em 17 doentes com evidência histológica de persistência ou recorrência de carcinoma do ovário após terapêutica convencional, foi-lhes administrado, via IP, WR-LU-10 marcado com ¹⁸⁶Re, em dose única, escalonada entre 25mCi/m² e 150 mCi/m². Neste estudo, pelo menos 50% das células tinham de mostrar positividade para o referido anticorpo.

Houve resposta parcial em quatro doentes e doença progressiva em 13. Todas as respostas parciais tinham doença residual mínima (≤ 5 cm) e níveis de CA112 ≤ 35 U/ml. Após laparoscopia, uma doente não tinha doença residual, tendo recorrido após 6 meses, e as outras 3 possuíam doença residual. Estas 4 doentes foram submetidas a QT de salvamento e estão sem manifestação clínica de doença decorridos 24 meses.

Num estudo de Epenetos, 24 doentes com persistência de cancro epitelial do ovário após terapêutica convencional, foram tratadas intraperitonealmente com anticorpos monoclonais HMFG1, HMFG2, AUA1 e H17E2, marcados com ¹³¹I. Foram administradas doses escalonadas entre 20 e 205 mCi. Não houve resposta nas oito doentes com doença >2cm; nas doentes com doença <2 cm, sete não responderam e nove responderam (quatro das quais sem doença num período entre 6 meses e 3 anos após terapêutica). As doentes tratadas com doses superiores a 140 mCi tiveram respostas mais favoráveis. Os cálculos dosimétricos em doentes com doença < 2 cm, indicaram que 150 mCi poderiam dar uma dose de cerca de 8000cGy às células tumorais⁴⁴.

O papel adjuvante da RIT foi avaliado pelo grupo do Hamersmith num estudo envolvendo 52 doentes com cancro epitelial. As doentes foram submetidas a cirurgia citorrredutora e quimioterapia, seguida da administração IP de HMFG1 marcado com ⁹⁰Ytrium. A seguir à cirurgia e quimioterapia, 21 das 52 doentes não tinham evidência de doença residual, tendo sido submetidas a terapêutica adjuvante com radioimunoterapia. Após um período de *follow-up* médio de 35 meses (3 a 62 meses), todas as doentes excepto 2 estavam vivas. A figura 4 compara as 15 doentes com estadio inicial igual ou superior a IIb, com o grupo de 70 doentes nas mesmas condições que não efectuou tratamento complementar (North Thomas Ovarian Group). Embora este resultado não seja de um estudo randomizado e o número de doentes seja pequeno, estes dois estudos apresentam diferenças significativas⁴⁵.

O papel dos radioimunocombinados no tratamento do cancro do ovário permanece indefinido. Parece que a sua eficácia deve ser avaliada nas seguintes situações: após remoção cirúrgica completa em doentes com estadio Ic e IIc; após terapêutica convencional em estadios III com doença residual microscópica ou mínima, após terapêutica citorrredutora com cirurgia e adjuvante com quimioterapia (QT); como parte de uma abordagem integrada em doentes com estadio III⁴⁴. Uma vez que as células neoplásicas podem possuir diferentes fenótipos, as terapêuticas deverão ser efectuadas com combinação de anticor-

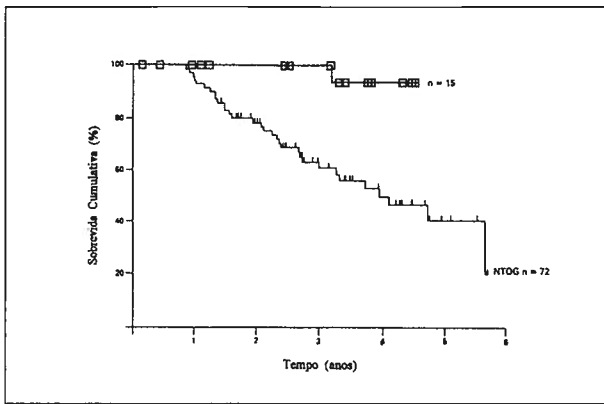


Fig. 4- Sobrevivência actuarial das doentes tratadas com terapêutica adjuvante com anticorpos monoclonais. Neste gráfico é feita a comparação entre 15 doentes (estádio IIb ou superior) que realizaram tratamento adjuvante com anticorpo e um grupo de 70 doentes do Grupo North Thames Ovarian que apresentavam, no mínimo, um estágio IIb e que não tinham evidência de doença na laparoscopia de second look, sendo randomizados para receber quimioterapia ou radioterapia abdominal total (ref. 45)

pos que mostrem positividade para as células de um doente particular.

TUMORES HEPÁTICOS

Os anticorpos monoclonais e policlonais têm sido utilizados no tratamento de doentes com hepatoma e colangiocarcinoma intrahepático. A identificação da ferritina como um antígeno oncofetal associada aos hepatomas conduziu a uma série de estudos utilizando o anticorpo antiferritina marcado com ¹³¹I.

Num estudo de Order, 105 doentes com hepatoma não ressecável foram tratados com anticorpo antiferritina marcado com ¹³¹I (estudos fase I/II). Houve 48% de respostas objectivas (redução de 30% ou mais do valor tumoral). Num estudo dirigido no Liver Cancer Institute⁴⁷, foram tratados 23 doentes com carcinoma hepatocelular irresssecável com administração intrahepática de anticorpo antiHCC marcado com ¹³¹I. Houve diminuição dos níveis de a fetoproteína e da massa tumoral em respectivamente 75% e 78% dos doentes. Foi possível fazer ressecção, após RIT, em 11 doentes (48%). Os espécimens cirúrgicos revelaram necrose maciça, havendo contudo células neoplásicas residuais na sua periferia.

Um estudo do Johns Hopkins Hospital, 37 doentes com colangiocarcinoma intrahepático não ressecável (57% com tratamento prévio e/ou metástases) foram submetidos a RT externa, QT e anticorpo antiCEA marcado com ¹³¹I. Foi feita radioterapia externa a todo o fígado, 1200 cGy (300 cGy x 4 fracções), em esquema alternado com a QT (adriamicina + 5FU). Um mês após a RT externa foi administrado o ¹³¹I antiCEA. A RIT foi efec-

tuada em ciclos com dois meses de intervalo utilizando anticorpos de várias espécies animais (RIT cíclica). A avaliação por TAC, mostrou 26.6% de remissões parciais. A sobrevivência média foi de 15.2 meses. Um doente está vivo, em resposta parcial há mais de 4 anos⁴⁸.

DOENÇAS HEMATOLÓGICAS

As leucemias e linfomas são entidades nosológicas particularmente atractivas no campo da RIT, pela particular sensibilidade das suas células, pelo bom conhecimento dos seus antígenos de superfície, pela multiplicidade de anticorpos dirigidos contra estes antígenos e pela relativa infreqüência de formação dos HAMA comparativamente aos tumores sólidos⁴⁹. Esta última característica deve-se ao facto destes doentes terem uma imunossupressão secundária à sua doença e às terapêuticas prévias instituídas.

Os estudos do grupo de Seattle sugerem que em doentes com linfoma, para além da dose de anticorpo, da presença de antígenos circulantes e da taxa de modulação antigénica, o tamanho da massa tumoral desempenha um papel importante na biodistribuição do anticorpo radiomarcado e na eficácia da RIT. Enquanto que massas tumorais menores que 500 g exibem uma biodistribuição favorável do anticorpo, o mesmo já não acontece para massas maiores ou esplenomegalia⁵⁰.

Tem sido debatido a potencial vantagem da administração de múltiplas doses fraccionadas de radioimunoconjugados/doses únicas maciças, seguidas de transplante de medula óssea (TMO). Os cálculos dosimétricos em linfomas indicam que pelos métodos habituais são libertados aproximadamente 9.3 cGy/mCi de ¹³¹I aos locais tumorais. As doses potencialmente curativas são de aproximadamente 3500 cGy, requerendo a administração de doses ablativas de radionúclídeos (doses superiores a 375 mCi)⁴⁹. A curva dose/resposta observada para as doenças hematológicas tratadas com radioterapia externa no contexto do TMO, levam-nos a pensar que uma dose maciça de RIT poderá ser mais eficaz que a mesma dose cumulativa administrada em múltiplas doses fraccionadas. O grupo de Seattle conduziu um estudo de fase I neste sentido, tendo sido feita uma administração prévia com anticorpo marcado com ¹³¹I, seguida da administração de doses terapêuticas escalonadas deste radioimunoconjugado aos doentes que tinham distribuição favorável. Até à data foram incluídos 17 doentes, sendo administradas doses de 615 a 2750 cGy aos órgãos normais e doses superiores a 9150 cGy aos locais tumorais. Foi feito TMO autólogo em 13 doentes que desenvolveram aplasia medular severa. Houve

resposta objectiva em 16 dos 17 doentes tratados, incluindo 14 respostas completas, algumas delas com duração superior a 42 meses⁵⁰.

Num trabalho de Vriesendorp, seis doentes com doença de Hodgkin resistente à QT foram tratados com doses mieloablativas de antiferritina marcada com ⁹⁰Y. O número de administrações variou entre 1 e 3 ciclos e a dose total administrada entre 20 e 40 mCi, havendo 3 respostas completas, 1 resposta parcial e duas doenças progressivas. Dos doentes que obtiveram resposta completa só um deles faleceu com evidência de doença.

Resultados menos animadores foram obtidos por DeNardo em 18 doentes com LNH em estadio IV, tratados com doses fraccionadas de Lym-1 marcado com ¹³¹I. Foram administrados ciclos de 30 a 60 mCy, com intervalos de 2 a 6 semanas, até ser obtida uma dose de 300 mCy ou o desenvolvimento dos HAMA tornasse o tratamento inviável. Todos os 18 doentes tiveram uma resposta objectiva, 2 deles com resposta completa.

O tratamento das leucemias refractárias à QT ou recaídas após TMO, e leucemias agudas não linfóides secundárias à QT, tem-se revelado desanimador. Os resultados são igualmente pobres para a leucemia mielogénica aguda e síndromes mielodisplásticas em fase blástica. Os anticorpos monoclonais têm sido empregues com sucesso variável.

Num estudo piloto do Memorial Sloan Cancer Center, que incluía dez doentes com leucemia aguda não linfóide, foi utilizado o anticorpo monoclonal M195 não conjugado. Este anticorpo liga-se a uma glicoproteína de superfície (CD33), presente nas células progenitoras eritroides e mieloides. Apesar de ter havido uma boa marcação da medula óssea, não houve qualquer tipo de resposta. Este anticorpo é internalizado pelas células blásticas, no entanto não activa suficientemente os mecanismos efectores da citotoxicidade celular⁵³. Este estudo deu continuidade a um outro, mas com anticorpo radiomarcado. Num estudo escalonado de doses em doentes com leucemias refractárias ou recaídas, foi utilizado o anticorpo monoclonal M195 marcado com ¹³¹I. Foram incluídos 24 doentes, 7 dos quais em recaída após TMO. Foram administradas doses fraccionadas e crescentes de 50 mCi/m² a 210 mCi/m². Houve diminuição das contagens de blastos periféricos e medulares em 96% e 83% dos doentes respectivamente. Em 8 doentes houve suficiente citorredução medular para proceder a transplante medular. Nos restantes doentes embora não tenha havido resposta completa houve melhora dos parâmetros clínicos⁵⁴.

O TMO é um tratamento efectivo largamente utilizado

no tratamento da leucemia. Contudo, a percentagem de recaídas varia aproximadamente de 25% em transplantes por leucemia aguda até mais de 80% em doentes transplantados por leucemia refractária. Doses mais elevadas de irradiação corporal total estão associadas a menor taxa de recorrência, no entanto a toxicidade aumenta. A irradiação selectiva da medula óssea, mostra-se assim um método atractivo para aumentar a dose de radiação sem o inerente aumento de toxicidade. Nesta perspectiva foi utilizado o anticorpo anti-CD3 marcado com ¹³¹I, em doses escalonadas, como parte integrante da preparação para o transplante de medula óssea. Foram efectuadas doses terapêuticas de RIT em 4 dos 9 doentes que mostraram uma biodistribuição favorável com doses entre os 110 e 330 mCi seguido do regime de transplante standard de ciclofosfamida e irradiação corporal total numa dose de 1200cGy. O contributo de dose de radiação da RIT para a medula óssea variou entre os 179 e 313 cGy, que se adicionou à dose recebida pela radiação externa. O tratamento foi bem tolerado, encontrando-se 3/4 doentes em remissão 195 a 477 dias após o transplante⁵⁵.

TUMORES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Apesar dos avanços da quimio e radioterapia a meningite maligna continua a ter um prognóstico reservado. A sobrevida média de doentes com metástases leptomenígeas de tumores extracranianos é cerca de 2 a 3 meses e de 12 a 13 meses para os tumores primários do sistema nervoso. Embora a maioria dos tumores que metastisam para as leptomeninges sejam radiosensíveis, a administração de doses efectivas de radioterapia pode ser limitada pela sua toxicidade neurológica.

Num estudo piloto, em doentes com recaídas ou persistência de tumores leptomenígeos após terapêutica convencional, foi realizada terapêutica intratecal com anticorpos monoclonais, seleccionados segundo a imunoreactividade tumoral, e marcados com ¹³¹I. Foram incluídos na terapêutica com RIT cinco doentes com neoplasias primárias várias (pineoblastoma, linfoma, teratoma, tumor neuroectodérmico primitivo do cerebello, melanoma). A dose administrada variou entre os 11 e 45 mCi e todos os doentes apresentaram melhora clínica. Dois doentes tiveram uma recaída extracraniana decorridos 7 e 12 meses, um doente teve recaída clínica passados 22 meses, um doente faleceu aos 12 meses por doença progressiva e finalmente um doente faleceu no final do primeiro mês por doença não controlada⁵⁶.

Num outro estudo foi efectuada terapêutica intracavitária com anticorpo monoclonal ERIC-1 marcado com

^{131}I , em gliomas císticos ou em cavidades resultantes da ressecção cirúrgica de gliomas recorrentes. A dose média estimada para as cavidades foi de 51,2 Gy. No entanto estima-se que a difusão do anticorpo para além do local da infusão não ultrapasse 1cm. Ambos os doentes com lesões císticas tiveram uma redução marcada da necessidade de aspiração dos cistos. Cinco doentes estiveram assintomáticos durante 5 meses, dois doentes faleceram passados 1 e 2 meses⁵⁷.

Um estudo semelhante foi efectuado por Riva, em nove doentes com glioblastoma multiforme com recidiva após cirurgia, radioterapia ou quimioterapia. Estes doentes foram submetidas a terapêutica intralesional directa com BC-2 marcado com ^{131}I , um anticorpo que marca a tenascina, um antigénio expresso nas células dos gliomas mas não no tecido cerebral normal. Foram feitas múltiplas administrações, atingindo doses cumulativas entre os 70 e 410 Gy, com toxicidade sistémica e local negligenciável. Quatro doentes não tiveram qualquer resposta, três doentes estabilizaram, dois tiveram resposta parcial e um teve uma resposta completa.

PATOLOGIAS DIVERSAS

Os derrames pleurais e pericárdicos são um problema frequente em doentes com neoplasias malignas avançadas, particularmente pulmão, mama e ovário^{59,60}. A maioria dos derrames malignos secundários a tumores de origem epitelial, contém células neoplásicas que expressam antigénios associados aos tumores⁶¹. A terapêutica intracavitária com anticorpos monoclonais radiomarcados tem sido utilizada com alguns resultados promissores.

No Hammersmith Hospital foram tratados 11 doentes com derrames pericárdicos e pleurais, previamente tratados com radioterapia e/ou quimioterapia (quatro doentes com neoplasia pulmonar, dois doentes com carcinoma da mama, um doente com carcinoma prostático e um doente com carcinoma pancreático). Foram administrados, intracavitariamente, anticorpos monoclonais HMFG1, HMFG2 e AUA1 marcados com ^{131}I . Dos 13 derrames tratados, 10 (3 pericárdicos e 7 pleurais) responderam completamente sem posterior reacumulação num período entre 13 e 18 meses. Decorridos 2 anos um doente, com derrame pericárdico e pleural simultâneos, permanecia vivo²⁹.

O primeiro tratamento sistémico com RIT para carcinoma da mama metastático foi realizado por DeNardo. Uma doente terminal com doença localmente avançada da mama, sem resposta à QT e RT, foi tratada com injeção endovenosa de anticorpo quimérico L6 marca-

do com ^{131}I (2 tratamentos com 3 semanas de intervalo) tendo sido obtida uma resposta parcial onde a resposta com terapêutica convencional tinha sido nula⁶².

CONCLUSÃO

Os avanços na aplicação clínica dos anticorpos monoclonais têm sido muito lentos. No entanto, são já conhecidos muitos obstáculos que deverão ser contornados para obtenção de uma resposta efectiva. Com os conhecimentos actuais é pouco provável que seja obtido um tratamento eficaz para grandes massas tumorais. Assim, os estudos clínicos deverão ser orientados no sentido do tratamento de doença residual mínima após cirurgia, quimioterapia ou radioterapia. Com pequenos volumes tumorais a concentração do anticorpo ou radioimunoconjugado será maior, aumentando o seu efeito oncolítico e obviando a necessidade de administrações múltiplas e portanto o desenvolvimento de HAMA. Estão em curso numerosos estudos que visam uma melhoria da resposta tumoral e diminuição da sua toxicidade. Estes estudos incluem entre outros: produção de anticorpos por engenharia genética, que permitam uma maior afinidade antigénica tumoral e simultaneamente uma menor resposta imunológica; utilização de conjugados mais eficazes; desenvolvimento de vacinas anti-idiotípicas.

BIBLIOGRAFIA

- MURARO R, WUNDERLICH D, THOR A et al. : Definition by Monoclonal Antibodies of repertoire of Epitopes on Carcinoembryogenic Antigen Differentially Expressed in Human Colon Carcinoma versus Normal Adult Tissues. *Cancer Res* 1985; 45, 5769-5780
- FREEDMAN A, NADLER L : Cell surface markers in hematologic malignancies. *Semin. Oncol.* 1987; 14, 193-212
- DREBIN JA, LINK VC, WEINBERG RA et al : Inhibition of tumor growth by monoclonal antibody reactive with an oncogene encoded tumor antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986; 83: 9129-9133
- BADGER CC, BERNSTEIN ID. Monoclonal antibody therapy of murine leukemia. *J Exp Med* 1983;157: 828-842
- RITZ J, SCHOSSMAN SF. Utilization of monoclonal antibodies in the treatment of leukemia and lymphoma. *Blood* 1982; 59: 1-11
- ALAN N HOUGHTON, DAVID A SCHEINBERG: Monoclonal antibodies : potencial application to the treatment of cancer. *Seminars in oncology* 1986; 13 (2) : 165-167
- WILLIAM E PAUL: *Fundamental Immunology* 1984; Chapter 1 : 1-22
- WASSERMAN RL, CAPRA JD: Immunoglobulins. In: *The Glycoconjugates*, edited by M.I. Horowitz and W. Pigman: 323-348. Academic Press, New York
- LOBLUGIO AF, MANSOOR N SALEH: Advances in monoclonal therapy of cancer. *Am J Med Scien* 1992; 304 (3): 214-224
- KEENAN AM, HARBET JC, LARSON SM: Monoclonal antibodies in nuclear medicine. *J Nucl Med* 1985; 26: 531-537
- KOHLER G, MILSTEIN C: Continuous culture of fused cells secreting antibody of proven defined specificity. *Nature* 1975; 256: 495-497
- REYNOLDS JC, DELVECHIO S, SAKAHARA H et al : Anti-murine response to mouse monoclonal antibodies : Clinical findings

- and implications. *Nucl Med Biol* 1989; 16: 121-125
13. SECCAMANI E, TATTANELLI M, MARIANI M et al : A simple qualitative determination of human antibodies to murine immunoglobulins (HAMA) in serum samples. *Nucl Med Biol* 1989;16: 167-170
 14. ROBERT D : Monoclonal antibodies for treating cancer. *Annals of Internal Medicine* 1989; 111:592-603
 15. RODWELL JD: Engineering monoclonal antibodies. A perspective of future. *Nature* 1989; 342: 99-100
 16. BIRD RE, HARDMAN KD, JACOBSON JW et al. :Single chain antigen binding proteins. *Science* 1988; 242, 423-426
 17. HOLTON OD, BLACK CDV, PARKER RJ: Biodistribution of monoclonal IgG1, F(ab')₂, and Fab' in mice after intravenous injection : A comparison between anti-B cell (anti-LyB8,2) and irrelevant (MOPC-21) antibodies. *J Immunol* 1987; 139: 3041
 18. LOBLUGIO AF, WHEELER RH, TRANG J et al : Mouse/human chimeric monoclonal antibody in man : Kinetics and immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86 : 4220-4224
 19. JONES PT, DEAR PH, FOOTS J et al.: Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature* 1986; 321:522-525
 20. CAMICK JW, BOURLA JM: Prospects for the therapeutic use of monoclonal antibodies. *J Biol Response Modifiers* 1986; 5: 495-497
 21. THOR A, OHUCHI N, SZPAK CA et al: The distribution of oncofetal antigen TAG-72 defined by monoclonal antibody B72.3. *Cancer Res* 1986; 46: 3118-3124
 22. KUFÉ DW, NADLER L, SARGENT L et al : Biological behavior of human breast carcinoma associated antigens. *Cancer Res* 1983; 43:851-857
 23. RITZ J, PESANDO JM, SALLEM SE et al: Serotherapy of acute lymphoblastic leukemia with monoclonal antibody. *Blood* 1981; 58: 141
 24. COLCHER D, MILENIC D, FENONI P et al: In vivo fate of monoclonal antibody B72.3 in patients with colorectal cancer. *J Nucl Med* 1990; 31: 1133-1142
 25. JAIN RK : Transport of molecules in tumor interstitium: A review. *Cancer Res* 1987; 47:3039-3051
 26. JEFFREY SCHLOM: Antibodies in cancer therapy: Basic principles of monoclonal antibodies. In Vincent D, Samuel H, Stevan R: *Biologic Therapy of Cancer*. Philadelphia: Lippincott Company 1991; 464-612
 27. JAIN RK: Physiological barriers to delivery of monoclonal antibodies and other macromolecules in tumors. *Cancer Res (Suppl)* 1990; 50, 814-819
 28. COLCHER D, ESTEBAN J, CARRASQUILHO JA et al: Complementation of intracavitary and intravenous administration of a monoclonal antibody (B72.3) in patients with carcinoma. *Cancer Res* 1987; 47: 4218-4224
 29. PECTASIDES D, STEWART S, COURTENAY-LUCK N et al: Antibody-guided irradiation of malignant pleural and pericardial effusions. *Br J Cancer* 1986; 53, 727-732
 30. BADGER CC, IRWIN D, BERNSTEIN : Prospects for monoclonal antibody therapy of leukemia and lymphoma. *Cancer* 1986; 58: 584-589
 31. GOLDENBERG DM: Future role of radiolabeled monoclonal antibodies in oncological diagnosis and therapy. *Semin Nucl Med* 1989; 19:3392-3396
 32. DIMAGGIO JJ, SCHEINBERG DA, HOUGHTON AN: Monoclonal antibody therapy of cancer. In Pinedo HM, Chabner BA, Longo DL: *Cancer Chemotherapy and Biological Responses Modifiers*. New York, Elsevier Science Publishers 1990; 177-203
 33. RAO DV, MARS VR, HOWELL RW et al: In vivo radiotoxicity of DNA-incorporated 125I compared with that of densely ionizing alpha particles. *Lancet* 1989; 2: 650-653
 34. MISIRIKALE JS, KLEIN JL, SCHOEDER J et al. Radiation enhancement of radiolabel antibody deposition in tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1987; 13:1839-1844
 35. ROBERT D: Monoclonal antibodies for treating cancer. *Ann Intern Medicine* 1989; 111:592-603
 36. BADGER CC, KRHON KA, PETERSON AV et al : Experimental radiotherapy of murine lymphoma with 131I labeled anti-Thy 1.1 monoclonal antibody. *Cancer Res* 1985; 45:1536
 37. PARKER BA, VASSOS AB, HALPEM SE et al: Radioimmunotherapy of human B-cell lymphoma with ⁹⁰Y- conjugated antiidiotype monoclonal antibody. *Cancer Res* 1990; 50: 1022 (suppl)
 38. LANGMUIR VK, FOWLER JF, KNOX SJ et al. Radiobiology of radiolabeled antibody therapy as applied to tumor dosimetry. *Medical Phys* 1993; 20(2),Pt2: 602-610
 39. STEEL GG, DEACON JM, DUCHENESE GM et al: The dose rate effect in human tumor cells. *Radiother Oncol* 1987; 9:299-310
 40. Hammersmith Oncology Therapy Group and Imperial Cancer Research Fund: Antibody guided irradiation of malignant lesions: Three cases illustrating a new method of treatment. *Lancet* 1984; 1: 1441
 41. STEWART JSW, HIRD V, SNOOK D et al: Intraperitoneal radioimmunotherapy for ovarian cancer: pharmacokinetics, toxicity, and efficacy of 131I labeled monoclonal antibodies. *Int J Oncol Biol Phys* 1988; 16 : 405-413
 42. FLETCHER GH: Clinical dose response of human malignant epithelial tumors. *Br J Radiol* 1973; 46: 1
 43. JACOBS AJ, FER M, SU FM et al : A phase I trial of a rhenium 186 labeled monoclonal antibody administered intraperitoneally in ovarian carcinoma: toxicity and clinical response. *Obstetrics and Gynecology* 1993; 82 (4), Part 1 :586-593
 44. EPENETOS AA , MUNRO AJ, STEWART et al : Antibody guided irradiation of advanced ovarian cancer with intraperitoneally administered radiolabeled monoclonal antibodies. *J Clin Oncol* 1987; 5 (12) : 1890-1899
 45. HIRD V, MARAVEYAS A, SNOOK D et al : Adjuvant therapy of ovarian cancer with radioactive monoclonal antibody. *Br J Cancer* 1993; 68: 403-406
 46. ORDER SE, STILLWAGON GB, KLEIN JL et al: Iodine 131 anti-ferrin, a new treatment modality in hepatoma: A Radiation Therapy Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1985; 3:1573-1582
 47. ZENG ZC, TANG ZY, LIN KD : Radioimmunotherapy for unresectable hepatocellular carcinoma using 131I Hepama 1 mAb : Preliminary Results. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993; 119 (5) : 257-259
 48. STILLWAGON GB, ORDER SE, KLEIN JR et al: Multi-modality treatment of primary nonresectable intrahepatic cholangiocarcinoma with 131I anti-CEA-A Radiation Therapy Oncology Group Study. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1987; 13: 687-695
 49. GROSSBARD ML, PRESS OW, APPELBAUM FR et al: Monoclonal antibody based therapies of leukemia and lymphoma. *Blood* 1992; 80(4): 863-878
 50. PRESS OW, EARY JF, BADGER CC et al: Treatment of Refractor Non-Hodgkin Lymphoma With Radiolabel MB-1 (Anti- CD3) Antibody. *J. Clin Oncol* 1989; 7 (8): 1027-1039
 51. VRIESENDORP HM, HERPST JM, LEICHTNER PK et al: Polyclonal ⁹⁰Ytium labeled antiferritin for refractory Hodgkin disease. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1989; 17:815-821
 52. DENARDO GL, DENARDO SJ, O'GRADY LF et al: Fractionated Radioimmunotherapy of B Cell Malignancies With 131I Lym1. *Cancer Resarch (Suppl.)* 1990; 50: 1014 - 1016
 53. SCHEINBERG DA, LOVETT D, DIVGI CR et al: A phase I trial of monoclonal antibody M195 in acute myelogenous leukemia: specific bone marrow targeting and internalization of radionuclide. *J. Clin Oncol* 1991; 9 (3) : 478-490
 54. SCHWARTZ MA, LOVETT DR, REDNER A et al : Dose-escalation trial of M195 labeled with Iodine-131 for cytoreduction and marrow ablation in relapsed or refractory myeloid leukemias. *J. Clin Oncol* 1993; 11 (2) : 294-303
 55. APPELBAUM FR, MATTHEWS DC, EARY JF et al : The use of radiolabeled anti-CD33 antibody to augment marrow irradiation prior to marrow transplantation for acute myelogenous leukemia. *Transplantation* 1992; 54 (5) : 829-833
 56. LASHFORD LS, MRCP, DAVIES AG, FRCS, RICHARDSON RB, MSc et al : A pilot study of 131I monoclonal antibodies in the therapy of leptomeningeal tumors. *Cancer* 1988; 61 : 857-868

57. PAPANASTASSIOU V, PIZER BL, COAHKAM HB et al: Treatment of the recurrent and cystic malignant gliomas by single intracavity injection of ¹³¹I monoclonal antibody : feasibility, pharmacokinetics and dosimetry. *Br J Cancer* 1993;67 : 144-151
58. RIVA P, ARISTA A, STURIALE C et al : Treatment of intracranial human glioblastoma by direct administration of ¹³¹I antitenascin monoclonal antibody BC-2. *Int J Cancer* 1992; 51 (1) : 7-13
59. ANDERSON C, PHILPOTT G, FERGUSON: The treatment of malignant pleural effusions. *Cancer* 1974; 33: 916
60. PALADINE W, CUNNINGHAM T, SPONZO R et al: Intracavitary bleomycin in the management of malignant effusions. *Cancer* 1974; 38: 1903
61. EPENETOS AA, CANTI G, TAYLOR-PAPADIMITRIOU et al: Use of two epithelium-specific monoclonal antibodies for diagnosis and malignancy in serous effusions. *Lancet* II 1982; 1004
62. DENARDO SJ, WARHOE KA, O'GRADY LF et al . Radioimmunotherapy for breast cancer: treatment of a patient with ¹³¹I L6 chimeric monoclonal antibody. *Int J Biol Markers* 1991; 6 (4): 221-230