

DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE CITOCINAS TH1 Y TH2 POR RT-PCR EN LINFOCITOS DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA.

María del Carmen Arango Prado, Juan Manuel Alcocer Gonzalez, Reyes Tamez, Leticia Llanes Fernández, Vicente Madrid-Marina, Luis Moreno de Miguel, Manuel Araña, Cristina Rodríguez-Padilla.
Facultad de Ciencias Biológicas, Lab. de Inmunología y Virología. Edificio "C" Tercer piso. Pedro de Alba S/N, San Nicolás de los Garza, N.L. Cd. Universitaria C.P. 66450. Fax. 83524212 E-mail: crrodrig@ccr.dsi.uanl.mx

Palabras claves: *Cáncer de mama, citocinas, inmunidad TH1/TH2.*

Introducción. La inmunidad celular es activada por citocinas TH1, mientras que las citocinas TH2 ejercen una acción supresora sobre ella, existe un mecanismo regulatorio complejo entre las ambas poblaciones celulares y el predominio de una deriva la respuesta a mecanismos inmunes celulares o humorales, en dependencia de los patrones de citocinas que predominen (1). Se hace necesario buscar alternativas que puedan modificar los perfiles de citocinas en el microambiente del tumor y a nivel sistémico (2).

En este trabajo, nos propusimos conocer el patrón de citocinas presente en los linfocitos de las pacientes afectadas con esta neoplasia y experimentalmente regularlo utilizando IL 2, para derivar la respuesta a la expresión de mediadores que favorezcan mecanismos antitumorales eficaces.

Metodología. Se estudiaron 10 pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer de mama. Los linfocitos obtenidos de sangre periférica se estimularon 5 días en condiciones de cultivo, con IL2 recombinante. Se estudiaron los marcadores de superficie CD3, CD4 y CD8 por citometría de flujo. Se realizó la extracción de RNA de los linfocitos con Trizol y se determinó la expresión del RNAm de las citocinas IL2, INF γ , IL4 e IL10 a través de la Reverso Transcripción- Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR) en su versión cualitativa, utilizando iniciadores específicos (3). Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio.

Resultados y Discusión. Los marcadores de superficie se comportaron dentro de los niveles normales, excepto 2 pacientes de estadio avanzado en las que se invirtió la relación CD4:CD8. Los linfocitos sin estimulación mostraron expresión de IL2 en 1/10 pacientes y el INF γ solo se expresó en 4/10, mientras que la IL10 fue detectada en 8/10 y la IL4 en 6/10 pacientes estudiadas. Por tanto se evidenció un predominio TH2 en los linfocitos periféricos de las pacientes, que podría ser el responsable de efectos supresores sobre la respuesta inmune antitumoral. Los

linfocitos estimulados mostraron cambios en la expresión de citocinas: un incremento en la expresión de IL2 y el 50% de las pacientes dejó de expresar IL4 e IL10. La estimulación con IL2 provoca una tendencia a dejar de expresar citocinas TH2 y promover la aparición de genes TH1. Estos resultados preliminares pudieran fundamentar el uso de citocinas para revertir la respuesta de TH2 a TH1 favoreciendo los mecanismos celulares de respuesta inmune en los tumores.

Conclusiones. Nuestros resultados sugieren que las citocinas supresoras pueden ser las responsables de la pérdida de la inmunovigilancia y la afectación de los mecanismos inmunológicos celulares, lo cual podría ser una condicionante para la progresión tumoral.

El tratamiento con IL2 in vitro condicionó un cambio en la expresión de citocinas, lo que pudiera sugerir que existe la posibilidad de regular experimentalmente la expresión de Interleucinas utilizando inmunomoduladores. Dirigir la respuesta a la producción controlada de mediadores que favorezcan mecanismos antitumorales eficaces, puede ser la base de una inmunoterapia contra el tumor (4).

Bibliografía.

1. Mosmann T.R. and Sad S. (1996). The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol. Today*. 17:138-146.
2. IBC's 4th International Conference on Immunotherapy for Cancer Coronado, CA, USA, 17-17 August 1999. (2000). The immune system versus cancer: can the immune system win?. *Mol. Med. Today*. 6:7-9.
3. Favre N, Bordmann G, Rudin W. (1997). Comparison of cytokine measurements using ELISA, ELISPOT and semi-quantitative RT-PCR. *J.Immunol.Methods*.. 204:57-66.
4. Gillis S, Williams D.E. (1998). Cytokine therapy: lessons learned and future challenges. *Current Opinion in Immunology* 10:501-503.