

Expresión de interferón gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interleucinas 2, 4 y 6 (IL-2, IL-4, IL-6) en células de neoplasias intraepiteliales de cuello uterino: Reporte preliminar.

Tatiana Pardo-Govea¹, Diana Callejas^{2,3}, José Núñez-Troconis^{4,5}, Mary Araujo², Luciana Costa³, Héctor Pons⁷, Mariela Delgado⁶ y Francisca Monsalve³.

¹Laboratorio de Neurociencias, Instituto de Investigaciones Biológicas, Facultad de Medicina, ²Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, ³Cátedra de Virología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, ⁴Hospital Noriega Trigo, Instituto Venezolano de los Seguros Sociales, ⁵Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, ⁶Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Chiquinquirá, Maracaibo, ⁷Centro de Medicina y Cirugía Experimental, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, Neoplasia Intraepitelial Cervical.

Resumen. El presente estudio fue realizado para determinar la expresión de citocinas tipo Th1: IL-2 y IFN- γ , y Th2: IL-4 e IL-6, así como del TNF- α en pacientes con lesiones premalignas del cuello uterino (CU) y su relación con la infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH). Se estudiaron 30 pacientes con lesiones pre-malignas del CU; NIC 1: 70%, NIC 2: 16,7% y NIC 3: 13,3%) y 9 controles con CU sanos. A cada paciente se le realizó una historia clínica, evaluación ginecológica que incluyó la toma de la citología cervico-vaginal (CCV) y biopsia de CU para estudio histológico e inmunológico. Se empleó la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para el estudio del VPH. La expresión del IFN- γ se encontró aumentada en pacientes con respecto al grupo control ($5,06 \pm 4,7$ vs 0 media $\pm$ DS; $p < 0,05$). El TNF- α se expresó discretamente elevado en los diferentes tipos de lesiones con respecto al grupo control ($5,23 \pm 3,63$ vs $1,55 \pm 2,65$; $p < 0,05$). La IL-2 se encontró más elevada en los casos patológicos que en los controles ($8,73 \pm 5,23$ vs $0,33 \pm 1$, $p < 0,05$). La IL-4 se expresó de manera no significativa en tejidos patológicos al compararlo con los controles ($6,53 \pm 5,23$ vs $5,77 \pm 7,32$). La expresión de la IL-6 fue más elevada en las pacientes que en los controles ($4,63 \pm 3,34$ vs $0,77 \pm 2,33$; $p < 0,05$). Al comparar pacientes VPH positivos con los controles, solo el IFN- γ ($p < 0,05$) y la IL-2 ($p < 0,05$) fueron significantes. Sólo

el IFN- γ fue significativo al comparar pacientes con o sin VPH ($11,5 \pm 5$ vs $4,07 \pm 3,8$ $p < 0,007$). La respuesta inmunitaria tipo Th1 predomina en las lesiones premalignas, esté presente o no el VPH.

Gamma Interferon (IFN- γ), Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) and interleukins 2, 4 and 6 (IL-2, IL-4, IL-6) in cervical-uterine cells of intraepithelial neoplasia: A preliminary report.

Invest Clín 2005; 46(1): 5 - 13

Key words: IFN- γ TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, Cervical Uterine Intraepithelial Neoplasia.

Abstract. The purpose of this work was to determine the expression of type Th1 cytokines: IL-2 and IFN γ , and Th2: IL-4 and IL-6, as well as TNF- α in patients with precancerous lesions of the uterine cervix and their relationship with the human papiloma virus (HPV). 30 patients with precancerous lesions (NIC 1: 70%, NIC 2: 16,7% and NIC 3: 1.3%) and 9 normal controls were studied. A clinical history, gynecological evaluation, cytology and an uterine biopsy were carried out in each patient and control. PCR was used for the diagnosis of HPV. IFN- γ expression (positive cells/field) was increased in patients with NIC (5.06 ± 4.7 vs 0 in the control group; $p < 0.05$). TNF α was a little higher in pathological tissues than in the controls (5.23 ± 3.63 vs 1.55 ± 2.65 ; $p < 0.05$). IL-2 was higher in pathological cases than in the controls (8.73 ± 5.23 vs 0.33 ± 1 , $p < 0.05$). IL-4 were expressed in both, patients and controls (6.53 ± 5.23 vs 5.77 ± 7.32). IL-6 was also higher in patients (4.63 ± 3.34 vs 0.77 ± 2.33 ; $p < 0.05$). When the HPV status was considered, only IFN- γ ($p < 0.05$) and IL-2 ($p < 0.05$) were significantly higher in HPV positive patients ($n=4$) compared to controls. When HPV+ patients were compared with HPV- patients, only IFN γ was significant (11.5 ± 5 vs 4.07 ± 3.8 ; $p < 0.05$). In conclusion, Type Th1 immune response prevails in patients with precancerous lesions, whether they are HPV positive or not.

Recibido: 10-03-2004. Aceptado: 01-07-2004.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de cuello uterino (CU) sigue siendo un problema de salud a nivel mundial a pesar de la introducción de la citología cervico-vaginal por Papanicolaou hace más de 50 años. Se estima que hay más de 400.000 casos al año en todo el mundo y al menos $\frac{3}{4}$ de ellos en países en vía de desarrollo (1).

El carcinoma de CU es precedido por lesiones pre-malignas, pre-invasivas y pre-

clínicas cuya evolución es prolongada en años, eso conlleva a que el número de lesiones pre-malignas y carcinoma *in situ* sea mayor que el número de casos de cáncer invasivo (2).

Las lesiones precancerosas y el cáncer de CU se ha asociado con algunos factores de riesgo tales como edad temprana de la primera relación sexual, múltiples compañeros sexuales, edad temprana del primer embarazo, compañeros sexuales promis-

cuos, bajo estado socioeconómico, infecciones vaginales y cervicales, infección por el virus del papiloma humano (VPH), herpes genital (VHS), virus de inmunodeficiencia humana (VIH), prostitución, hábito tabáquico, anticonceptivos orales (ACO), enfermedades de transmisión sexual (ETS), entre otros (3, 4).

La presencia de lesiones malignas o premalignas a nivel tisular puede originar la infiltración de células del sistema inmunitario y junto con las células propias del tejido iniciarse una respuesta al proceso. Estos tipos celulares pueden estar representados por linfocitos y monocitos/macrófagos (5). La respuesta inmunitaria a nivel local puede ser del tipo Th1 que incluye: Interleucina-2 (IL-2), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interferón gamma (IFN- γ) del tipo Th2 con IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13) o ambas (6). El VPH es considerado como un factor importante en el origen y evolución de las lesiones pre-malignas de CU, sin embargo, la exposición al virus es necesaria pero no suficiente para originar o causar una neoplasia intraepitelial cervical (NIC) (7). Scott y col. (8) encontraron que el patrón de respuesta inmunitaria tipo Th1, a través de las expresiones de IFN- γ e IL-2, está asociado con la presencia del VPH en tejido cervical. Al-Saleh y col. (9) demostraron que la progresión a cáncer de las NICs estuvo asociada a una respuesta inmunoregulatoria tipo Th2 (IL-4, IL-6). Wu y cols. (10) en estudios *in vitro*, demostraron que el TNF- α , además del IFN- γ y la IL-2 tienen un papel crítico en la regulación de la susceptibilidad de los queratinocitos cervicales a la infección por el VPH en pacientes con NIC 2 y 3.

El objetivo de esta investigación consistió en determinar el patrón de citocinas tipo Th1 y Th2 a nivel celular en tejidos procedentes de lesiones premalignas de CU, así como establecer la relación de los hallazgos tisulares con la infección por VPH.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se estudiaron 30 mujeres (n=30) con lesiones pre-malignas de cervix y 9 controles (n=9) voluntarias con cuello uterino sanos que acudieron a la Consulta de Patología del Cuello Uterino del Hospital Manuel Noriega Trigo y del Ambulatorio La Victoria en Maracaibo Estado Zulia, Venezuela.

A cada paciente se le realizó una historia clínica previo consentimiento informado para participar en el proyecto, y con énfasis en la historia gineco-obstétrica, un examen ginecológico, el cual consistió en toma de la citología cervico-vaginal (CCV), un hisopo para el diagnóstico molecular del VPH y la exploración colposcópica del exocervix con la toma dirigida de la biopsia de CU. El Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, aprobó el presente protocolo propuesto. Se excluyeron aquellas pacientes que tuviesen algún tratamiento ablativo del cuello uterino como antecedente.

La muestra del hisopo se tomó sobre la atipia colposcópica y de la unión escamo-columnar del CU. Con la biopsia dirigida se tomaron dos fragmentos de la atipia colposcópica, uno para el estudio histológico, el cual fue colocado en formalina al 10%, incluida en parafina para la realización de cortes de 6 μ y teñidos con hematoxilina-eosina. El otro se incluyó en el componente OCT (Tissue Tek, Miles Inc Diagnostic, Kankakee, IL, USA), el cual fue congelado en hielo seco y acetona y se almacenó a -70° C para el estudio de las citocinas a nivel celular. La determinación de las citocinas se llevó a cabo mediante inmunofluorescencia (11) siguiendo la siguiente técnica: se realizaron cortes de 4 μ de grosor de las biopsias de CU congeladas, tanto de las pacientes con lesión de cuello uterino como de los sujetos controles. Los cortes de tejido se fijaron con acetona fría durante 15 minutos, luego de un lavado de 10

minutos con buffer fosfato pH 7,2 (PBS), se incubaron durante una hora con los respectivos anticuerpos monoclonales, previa dilución de los mismos 1:100, (IgG2a de rata anti IL-2 humana, IgG1 de rata anti IL-4 humana, IgG1 de rata anti IL-6, TNF- α e FN- γ) (Pharmingen-Becton Dickinson Co, USA). Después de lavar los tejidos durante 10 minutos en PBS se incubaron, previa dilución 1:80, con un anticuerpo secundario de ratón anti IgG de rata-F (ab) $_2$ conjugado con isotiocianato de fluoresceína (Accurate Chemical and Scientific Corporation, NY, USA). A todas las secciones de tejido después de lavadas con PBS durante 10 minutos, se les agregó una solución de paraformaldehído en PBS y glicerol para evitar la rápida disminución de la fluorescencia al ser observada en un microscopio de epifluorescencia (Olympus; Bx-Max 50, NY, USA) con objetivo de 40X. Se contaron células positivas fluorescentes por campo de 400X en aproximadamente 3-4 campos de biopsias de cuello uterino. Las células positivas se contaron en el epitelio y se obtuvo la media de células observadas por campo.

Se empleó la técnica de la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), utilizándose el kit HPVFast (Pharmingen, España), para la detección del VPH en los hisopados cérvico vaginales.

Análisis estadístico

Se empleó el programa SPSS versión 10. Los resultados se presentan como la media $\pm$ Desviación Standard (DS). El análisis estadístico se realizó comparando el promedio de células positivas para las diferentes citocinas entre los grupos de estudio (casos vs controles) y comparando la presencia del VPH con las diferentes citocinas. Para la variable IFN- γ y la presencia de VPH se utilizó un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis y la comparación de medias por medio de la prueba de U de Mann Whitney puesto que la distribución no fue normal. Para las

restantes variables se utilizó el análisis de varianza de una vía y la t de student para comparaciones de medias. Se empleó el χ^2 para relacionar grupo de pacientes diagnosticados por citología para VPH y diferentes grupos de lesiones estudiadas. Se consideran significativos los valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se estudiaron 39 mujeres, dentro de las cuales 30 presentaron algún tipo de lesión premaligna de cuello uterino: 21 (70%) con NIC 1, 5 (16,7%) con NIC 2 y 4 (13,3%) con NIC 3, y 9 mujeres sanas seleccionadas como controles para el estudio.

Se diagnosticó la presencia del VPH mediante citología cervico vaginal (CCV) en 14(36%) casos de los 39 estudiados de los cuales 9 (64,3%) fueron NIC 1, 2 (11,3%) NIC 2 y 3(21,4%) fueron NIC 3, mientras que el estudio molecular por PCR determinó la presencia del virus solamente en 4 casos (10,3%), coincidiendo sólo 2 casos con los detectados por CCV (5,1%). Las 4 pacientes VPH/PCR positivas presentaron diagnóstico de NIC. Al comparar los resultados del PCR con los de la CCV no se encontró correlación estadísticamente significativa.

La expresión del IFN- γ en los tejidos del CU de las pacientes con patología premaligna tanto en el epitelio como en el estroma, se encontró aumentada con respecto al grupo control [$5,06 \pm 4,7$ (rango 0-18) y 0, respectivamente ($p < 0,0001$). La expresión del IFN- γ en los diferentes grados de la lesión cervical fue significativamente mayor que en los controles, cuando se compararon los grados de NICs entre sí, no se encontró diferencia significativa entre los NIC 1 y 2 y NIC 2 y 3. Mientras que entre NIC 1 y 3, se observaron diferencias significativas $p < 0,0001$ (Tabla I). Así mismo, se puede observar que entre más severa la lesión, mayor es la expresión de IFN- γ .

El TNF- α se expresó de forma incrementada en las muestras de tejidos patológicos al compararlas con los controles [$5,23 \pm 3,63$ (rango: 0-13) vs $1,55 \pm 2,65$ (rango: 0-7)], siendo estadísticamente significativa la diferencia ($p < 0,008$). La expresión de TNF- α se mantuvo homogénea en los diferentes grados de NIC. Al compararlas con los controles, se encontró que NIC 1 y 3 fueron significativos (Tabla I).

La IL-2 se encontró más elevada en los casos patológicos que en los controles [$8,73 \pm 5,23$ (rango: 0-19) vs $0,33 \pm 1$ (rango: 0-3) $p < 0,0001$]. Los niveles son más elevados en las lesiones de menor grado, pero en todos los grados la expresión de esta citocina fue significativamente más alta que los controles (Tabla II). No se encontraron diferencias en la expresión de la IL-2 entre las diferentes NICs.

La IL-4 se expresó en presencia o no de algún tipo de lesión premaligna de CU, [$6,53 \pm 5,23$ (rango: 0-19) vs $5,77 \pm 7,32$

(rango: 0-17)]. No se encontró significancia estadística al comparar los NICs entre sí y con el grupo control (Tabla II).

La expresión de la IL-6 se incrementó significativamente en las pacientes con patología premaligna del CU al compararla con los controles [$4,63 \pm 3,34$ (rango: 0-15) vs $0,77 \pm 2,33$ (rango: 0-7); $p < 0,003$]. La IL-6 estuvo elevada en todos los NICs cuando se comparó con el grupo control (Tabla II). Al comparar la expresión de la IL-6 entre los NICs, no se encontraron diferencias.

Al comparar la expresión de las diferentes citocinas estudiadas, el IFN- γ y la IL-2 se encontraron elevadas en las 4 pacientes con algún grado de NIC que presentaron VPH, diagnosticado por PCR, con respecto al grupo control (Tabla III). Así mismo se observó la expresión significativa del IFN- γ en el grupo de sujetos VPH+ ($p < 0,05$) al compararlo con el grupo de sujetos VPH- (Tabla IV).

TABLA I
EXPRESIÓN DE CÉLULAS POSITIVAS PARA IFN- γ O TNF- α EN DIFERENTES GRADOS DE LESIÓN PREMALIGNA DE CUELLO UTERINO

	IFN- γ	TNF- α
NIC 1	$3,76 \pm 3,92^{*}$	$5,23 \pm 3,87^{*}$
NIC 2	$5,4 \pm 3,84^{*}$	$4,8 \pm 3,11$
NIC 3	$11,54 \pm 4,93^{*}$	$5,75 \pm 3,77^{*}$
Control	0	$1,55 \pm 2,65$

NIC= Neoplasia Intraepitelial Cervical. $^{*} p < 0,05$ respecto al control. $^{*} p < 0,008$ respecto a NIC3.

TABLA II
EXPRESIÓN DE CÉLULAS POSITIVAS PARA IL-2, IL-4 O IL-6 EN DIFERENTES GRADOS DE LESIÓN PREMALIGNA DE CUELLO UTERINO

	IL-2	IL-4	IL-6
NIC 1	$9,33 \pm 5,61^{*}$	$6,09 \pm 5,41$	$4,04 \pm 3,69^{*}$
NIC 2	$7,8 \pm 4,68^{*}$	$6,2 \pm 5,02$	$6,4 \pm 1,51^{*}$
NIC 3	$6,75 \pm 3,77^{*}$	$9,25 \pm 4,99$	$5,5 \pm 2,38^{*}$
Control	$0,33 \pm 1$	$5,77 \pm 7,32$	$0,77 \pm 2,33$

NIC: Neoplasia Intraepitelial Cervical. $^{*} p < 0.05$ respecto al control.

TABLA III
EXPRESIÓN CELULAR DE DIFERENTES CITOCINAS EN TEJIDOS PROCEDENTES DEL CUELLO UTERINO DE PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL VPH POSITIVOS Y CONTROLES

	VPH+	Control
INF- γ	11,5 $\pm$ 5*	0
TNF- α	3,75 $\pm$ 2,87	1,55 $\pm$ 2,65
IL-2	8,5 $\pm$ 5,68*	0,33 $\pm$ 1
IL-4	7,25 $\pm$ 6,7	5,77 $\pm$ 7,32
IL-6	3,5 $\pm$ 2,88	0,77 $\pm$ 2,33

VPH: virus del papiloma humano. * p < 0.05 respecto al control.

TABLA IV
EXPRESIÓN CELULAR DE DIFERENTES CITOCINAS EN TEJIDOS PROCEDENTES DEL CUELLO UTERINO DE PACIENTES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL VPH POSITIVOS Y NEGATIVOS

	VPH+	VPH-
INF- γ	11,5 $\pm$ 5*	4,07 $\pm$ 3,87
TNF- α	3,75 $\pm$ 2,87	5,46 $\pm$ 3,73
IL-2	8,5 $\pm$ 5,68	8,76 $\pm$ 5,28
IL-4	7,25 $\pm$ 6,7	6,42 $\pm$ 5,13
IL-6	3,5 $\pm$ 2,88	4,8 $\pm$ 3,42

NIC: neoplasia intraepitelial cervical. VPH: virus del papiloma humano. * INF- γ : VPH+ vs VPH-: p < 0.05

DISCUSIÓN

El VPH es considerado una de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) más comunes y es un factor importante en el origen y evolución de las lesiones pre-malignas y malignas del CU, sin embargo, se requiere de mayor número de estudios y observaciones para poder entender la fisiopatología de la infección por este virus (7).

La inmunidad celular juega un papel crítico en la infección por VPH y el riesgo de cáncer del tracto genital inferior. Los primeros efectores de la respuesta inmune al VPH son las células de Langerhans, los queratinocitos y los linfocitos intraepiteliales presente en el epitelio cervical. El sistema inmunológico requiere de una secreción

adecuada de citocinas por los queratinocitos infectados y de las células de Langerhans, estas proteínas son mediadoras en la reacción inmune e inflamatoria en la infección viral (12). Como consecuencia de una infección por un VPH de alto riesgo, los queratinocitos no producen niveles adecuados de citocinas igualmente las células de Langerhans están disminuidas en número y su función es deficiente, la función de los MHC tipo I y II está suprimida, siendo el resultado un sistema inmune deficiente con persistencia de la infección viral y un crecimiento celular no controlado. Esto se puede observar clínicamente en pacientes inmunosuprimidos (pacientes con SIDA, uso de corticoesteroides u otras drogas inmunosupresoras, transplantados renales, fumado-

ras y desnutrición) en quienes la expresión del VPH está aumentada. Es posible que en otras ETS se pueda suprimir el sistema inmunológico y por lo tanto facilitar la expresión del VPH (7).

Durante el presente estudio se observó que la expresión de las citocinas Th1 como el IFN- γ y la IL-2, se encontraban elevada en las pacientes con algún grado de lesión en forma significativa sobre los controles, lo que sugiere que el patrón Th1 sería el tipo de respuesta de las células cervicales anormales, en relación con la presencia del VPH, corroborando lo reportado por Scott y col. (8). La IL-2 al igual que el IFN- γ , son citocinas que pueden ser producidas por las células tumorales de algunas líneas cancerosas (14). En esta investigación se encontró que el IFN- γ se incrementa con la severidad de la NIC al contrario de la IL-2; sin embargo, la IL-2 pudiera tener un efecto estimulante en la producción del IFN- γ (12, 13). Pao y col. (15) reportaron que el IFN- γ puede jugar un papel en la patogénesis de cáncer del CU puesto que la reducción de su expresión puede influir en el proceso inflamatorio e inmunitario del cáncer. El presente estudio demuestra lo contrario, la expresión del IFN- γ es más acentuada a medida que aumenta el grado de la lesión; esto pudiera interpretarse como una respuesta de las células ante la severidad de la misma.

La expresión del TNF- α en el tejido patológico de las pacientes con NICs se encontró más elevada que en los controles, sin embargo, no se modificó según la severidad de la patología. Estudios anteriores reportaron que el TNF- α se expresa en los queratinocitos basales de cuellos uterinos normales, y se sobre expresa en muestras de NIC de bajo y alto grado, en ausencia de VPH (16, 17).

La expresión de las células IL-4 positivas en los pacientes comparadas con los controles no presento diferencias significativas. La IL-4 forma parte del patrón Th2 y

la expresión de esta citocina a nivel de la patología maligna del CU es controversial. Al Saleh y col. (9) encontraron esta citocina elevada en pacientes con NIC 3. Scott y col. (8) mencionan que la IL-4, además de la IL-1, IL-6, TNF- α , entre otras, se producen en circunstancias normales por los queratinocitos cervicales, lo que pudiera explicar la presencia de dichas citocinas en ausencia de procesos patológicos del cuello uterino. Fernández y col (18) hallaron niveles elevados de IL-4 en pacientes con lesiones premalignas del CU, los cuales aumentaban su expresión de acuerdo al grado de la lesión y a la presencia del VPH.

De forma similar la IL-6 se encontró elevada con respecto al grupo control, igualmente, cuando se compararon cada grado de NIC con el control, también se encontró significancia estadística, no obstante, cuando se compararon entre sí los diferentes grados NICs, los niveles de IL-6 entre las neoplasias fueron similares. Al Saleh y col. (9) encontraron resultados similares en pacientes con lesiones premalignas de alto grado y en ausencia viral. Tjiong y col. (17) demostraron la presencia de IL-6, en lesiones de cuello uterino en del VPH y cuyos niveles aumentaron conforme evolucionaba la lesión hacia la malignidad, fenómeno no observado en este estudio. Moela y col. (19) encontraron niveles elevados de IL-6 en pacientes VPH+ que aumentaban de acuerdo a la severidad de la lesión.

El diagnóstico del VPH en CCV demostró que no es el método más adecuado para el diagnóstico viral, solo dos casos de CCV positivo al virus fueron confirmados por la técnica de PCR. Un alto porcentaje del diagnóstico del VPH en CCV viene dado por la presencia de células coilocíticas como si fuese una característica casi patognomónica de la infección viral. Koss y col. (20) han sugerido que las células coilocíticas se pueden encontrar en otros procesos inflamatorios vaginales y cervicales tales como infec-

ciones por tricomonas, candidas, *Chlamydia trachomatis*, entre otros. Igualmente el estudio sólo determinó la presencia del virus en 4 casos de 39 (10,3%), probablemente la baja incidencia se deba al número de pacientes estudiados.

En conclusión, este reporte preliminar determinó que la respuesta inmunitaria tipo Th1 es la predominante en las lesiones premalignas, en presencia o no del VPH, encontrándose la expresión de IFN- γ relacionada con la severidad de la lesión premaligna. Los niveles de IL-6 que es un patrón de respuesta inmunitaria Th2 y el TNF- α (comparte actividad biológica con IL-6) se encuentran elevadas en pacientes con NICs pero sus niveles se mantienen estables independientemente de la severidad de las lesiones del CU. Estos resultados corroboran los hallados por otros autores pero se requiere un mayor número de pacientes con lesiones premalignas de CU en presencia del VPH para la obtención de resultados de mayor significancia.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación fue financiada por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia. Agradecemos al personal del Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, Sección de Neuroquímica; Dr. Humberto Martínez, Lic. José Luis Arcaya, y al Dr. Jesús Mosquera de la Sección de Inmunología, del Instituto de Investigaciones Clínicas.

REFERENCIAS

1. **Patnick J.** Cervical cancer screening programs: update and optimization. In Monsonego J: Eurogin 2000(4th International Multidisciplinary Congress). Monduzzi Editore S.p.a. Bologna, Italy. 2000 p. 71-4.
2. **Miller A.** The natural history of cancer of the cervix-Implications for screening and management. In Monsonego J: Eurogin 2000 (4th International Multidisciplinary Congress). Monduzzi Editore S.p.a. Bologna, Italy. 2000 p. 47-53.
3. **Noller K.** Incident and demographic trends in cervical neoplasia. Am J Obstet Gynecol 1996; 175(2):1088-1090.
4. **Núñez-Troconis J.** Neoplasia intraepitelial cervical: Chlamydia trachomatis y otros co-factores. Invest Clin 1995; 36 (3): 101-116.
5. **Longworth MS, Laimins LA.** Pathogenesis of Human Papillomaviruses in Differentiating Epithelia. Microbiol Mol Biol Rev 2004; 68(2):362-372.
6. **Guimaraes Goncalves MA, Donald EA.** Immune Cellular Response to HPV: Current Concepts. Braz J Infect Dis. 2004; 118 (1):1-9.
7. **Sedlacek T.** Advances in the diagnosis and treatment of human papillomavirus infections. Clin Obstet Gynecol 1999; 42 (2):206-220.
8. **Scott M, Stites D, Moscicki, A.** Th1 cytokine patterns in cervical human papillomavirus. Clin Diagn Lab Immunol 1999; 6 (5):751-755.
9. **Al-Saleh W, Giannini SL, Jacobs N, Moutschew M, Doyen J, Boniver J, Delvenne P.** Correlation of the T-Helper secretory differentiation and types of antigen-presenting cells in squamous intraepithelial lesion of the uterine cervix. J Pathol 1998; 184(3):283-290.
10. **Wu R, Coleman N, Stanley M.** Different susceptibility of cervical keratinocytes containing human papillomavirus to cell-mediated cytotoxicity. Chin Med J 1996; 109 (11):854-858.
11. **Sander B, Odien I, Andersson U, Moller E, Abrams JS.** Similar frequencies and kinetics of cytokines producing cells in murine peripheral blood and spleen. Cytokines detection by immunoassay and intracellular immunostaining. J Immunol Methods 1993; 166(2):201-204
12. **Abbas A, Lichtman A, Pober J.** Inmunología celular molecular. New York Interamericana Mc Graw Hill. 3era edición. 1999 p. 379-402.
13. **Schreiber H.** Tumor immunology. En: Paul W. Fundamental immunology. New York.

- Lippincott, Williams & Wilkins. 4th Edition. 2000 (CD Room).
14. **Scott M, Nakagawa M, Moscicki AB.** Cell-mediated immune response to human papillomavirus Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8(2):209-220.
 15. **Pao CC, Lin CY, Yao DS, Tseng CJ.** Differential expression of cytokines in cervical cancer tissues. Biochem Biophys Res Commun 1995; 214(3):1146-1151.
 16. **Mota F, Rayment S, Chong A, Singer A, Chain B.** The antigen-presenting environment in normal and human papillomavirus-related premalignant cervical epithelium. Clin Exp Immunol 1999; 116:33-40.
 17. **Tjiong MY, Van der Vange N, Ten Kate FJ, Tjiong AH, Schegget J, Burger MP.** Increased IL-6 and IL-8 levels in cervicovaginal secretions of patients with cervical cancer Gynecol Oncol 1999; 73: 285-291.
 18. **Fernández-Tilapa G, Zamudio-López N, Cruz-Valdez A, Antonio-Vejar V, Lladés-Aguilar B.** RNAm de la IL-4 en lesiones premalignas y cáncer cervical asociados a infección por VPH. Revista FASPYN-Especial Genética. 15-21 de Octubre. Monterrey, Nuevo León, México. 2000 Edición Especial N° 2.
 19. **Moela-Barrientos E, Fernández-Tilapa G, Domínguez-Arrevillaga S, Lladés-Aguilar B, Madrid MV.** Mensaje de IL-6 en lesiones precursoras y cáncer del cerviz uterino infectado con virus del papiloma humano. Revista FASPYN-Especial Genética. 15-21 de Octubre. Monterrey, Nuevo León, México. 2000 Edición Especial. N° 2.
 20. **Koss LG.** Evolution in cervical pathology and cytology: a historical perspective Eur J Gynaecol Oncol 2000; 21(6):550-554.