

**"Effectiveness of Glycyrrhizinic Acid
as a new inactivation therapy
for human papillomavirus in cervical lesions
by means of DNA tests"**

Dr. Luís Antonio Almánzar Carrón.

“ Efectividad del Acido Glicirricínico como nueva terapia de inactivación del virus del Papiloma humano en las lesiones del cuello uterino mediante pruebas de ADN ”.

* *Dr. Luís Antonio Almánzar Carrón.*

Resumen

El virus del Papiloma humano (VPH) es la infección de transmisión sexual más común en el mundo. Tiene una asociación directa como factor etiopatogénico del Cáncer del cuello uterino. Con los avances de la biología molecular, su diagnóstico y tipificación han modificado su tratamiento.

Consiste en un estudio longitudinal, prospectivo de 27 pacientes seleccionadas con pruebas de ADN-VPH positivas en lesiones del cuello uterino, para evaluar la efectividad del ácido glicirricínico activado (Epigen) de uso local y oral combinado con ácido málico, glucosamina, aminoácidos, vitaminas y minerales (Viusid) para negativizar la acción del VPH.

De 518 pacientes que asistieron a nuestra consulta ginecológica en el Edificio Profesional Dr. Reynaldo Almánzar del Centro Médico Siglo XXI en la ciudad de San Fco. de Macorís, Rep. Dom., con el fin de tomarse prueba de citología en base líquida o Thin Prep (desde Marzo 2009 hasta Marzo 2010), 164 resultaron con anomalías celulares por el VPH para una prevalencia de 31.6%. De estas se seleccionaron 27 que aceptaron concluir el estudio (26 con ADN- VPH Positivas de Alto Riesgo y 1 Positiva de Bajo Riesgo).

De las 27 pacientes seleccionadas, en 24 de ellas se logró negativizar las pruebas del ADN-VPH con un mes de tratamiento para un 88.8%. Las 3 restantes (11.1%) con 2 meses de terapia.

La edad de las pacientes estudiadas fue de un rango de 21 a 72 años.

Summary

The human Papillomavirus (HPV) infection is the most common sexually transmitted disease around the world. It a direct association as pathogenetic factor of cervical cancer. With advances in molecular biology, diagnosis and typification of HPV its treatment has changed.

Consist of a prospective longitudinal study of 27 patients selected with DNA-HPV test positive cervical lesions, to assess the effectiveness of active topically applied glycyrrhizinic acid (Epigen) and oral use combined with malic acid, glucosamine, aminoacids, vitamins and minerals (Viusid) to be negative to the action of HPV.

Of a total of 518 patients who attended our gynecologic consult in the Dr. Reynaldo Almánzar Professional building of the Medical Center Siglo XXI, San Francisco de Macorís, Dominican Republic, with the purpose of undergoing the liquid cytology test or Thin prep pap test (Since march 2009 -march 2010) 164 resulted in cell abnormalities by HPV for a prevalence of 31.6%; From these we selected 27 that agreed to complete the study (26 with DNA-HPV high risk and 1 low risk).

Of the 27 patients selected 24 of them proved to be HPV – DNA negative within 1 month of treatment to 88.8%. The remaining 3 (11.1%) 2 months of therapy.

The age of the patients studied had a range of 21 to 72 years.

**Médico Gineco-obstetra-Ecografista, adscrito al Servicio de Gineco-obstetricia del Centro Médico Siglo XXI, S. F. M., Rep. Dom.
Jefe del Dpto.de Sonografía, Hospital Dr. Federico Lavandier del IDSS, S.F.M., Rep. Dom.
Ex - Catedrático de la práctica de ginecología, Facultad de Medicina, Universidad Católica Nordestana (UCNE), S. F. M., Rep. Dom.*

El virus del papiloma humano (VPH ó HPV) son un grupo de virus de ADN perteneciente a la familia de los Papillomaviridae.

Como todos los virus de esta familia, los VPH sólo establecen infecciones productivas en el epitelio estratificado de la piel y mucosas de seres humanos, así como una variedad de animales. Se han identificado alrededor de 200 tipos diferentes de VPH, la mayoría de los cuales no causan ningún síntoma en la mayor parte de la gente.¹

Los VPH son virus de pequeño tamaño, que están formados por una cápside que rodea al genoma. La cápside, de naturaleza proteica, tiene forma de icosaedro y contiene una serie de capsómeros que, a modo de antígenos, dotan de especificidad al virus.²

El genoma está compuesto por dos cadenas de ADN, que contienen alrededor de 8,000 pares de bases. En el genoma se distinguen tres regiones:

- a) Región precoz, que contiene los genes E1, E2, E4, E5, E6 y E7, se expresa al inicio del ciclo vital y codifica las proteínas necesarias para la replicación y mantenimiento del virus.
- b) Región tardía, que contiene, los genes L1 y L2, se expresa al final del ciclo vital y codifica las proteínas que componen la cápside.
- e) Región reguladora no codificante, que rige la replicación y transcripción del virus.²

La transcripción del ADN se efectúa en una sola dirección siguiendo el sentido de las agujas del reloj. Los genes residen exclusivamente en una de las dos cadenas del ADN o secuencias de lectura abierta.

El ciclo vital del papilomavirus se produce de forma coordinada con la diferenciación y división celular del epitelio escamoso.³

Se ha evidenciado que durante la actividad sexual el microtrauma del epitelio genital, en particular en la zona de transformación del epitelio cervical, permite la exposición de las células basales en activa proliferación, a los diferentes tipos de VPH, permitiendo la unión entre el receptor de la célula basal con la proteína de la cápside viral L1, a nivel de su extremo carboxi terminal 4. Dicho receptor ha sido asociado estructuralmente con heparán sulfato para los tipos virales 16-33 y con alfa -6- integrina para VPH 6.^{5,6}

Una vez unido el virus a la superficie celular, se produce su internalización al citoplasma de la célula huésped; Proceso que ha sido identificado como endocitosis.⁶ Dos sistemas han sido reconocidos; El primero involucra un complejo proteico llamado Clatrina,⁷ utilizado por los tipos 16 y 18; El segundo, utiliza un grupo de proteínas principalmente Caveolina, denominado Endocitosis por Caveolas, en el que participa el VPH 31.⁸ Posterior a la endocitosis existe evidencia en modelos de infección por partículas virales

tipo 11 y 16 que la cápside viral de 55 Nm de diámetro experimenta degradación en el citoplasma celular, a través de un proceso de reducción química que daña los puentes de

disulfido que estabilizan la cápside, originando capsómeros y monómeros , los cuales son transportados al núcleo junto a pequeños fragmentos del ADN viral, pudiendo atravesar los poros nucleares de un diámetro aproximado de 39 Nm, con ello el genoma viral y las proteínas de la cápside participarían en los procesos de transcripción génica, replicación del ADN y maduración de Viriones.^{9,10}

Hay población viral no productiva, localizado en el estrato basal, en la cual se mantiene la replicación del ADN viral en un número de copias bajo (30-50 copias por célula infectada), en forma extracromosómica llamados Episomas que se estructuran a base de histonas y material genético.^{11,12} Se postula que durante esta etapa se aseguraría que el ADN viral se distribuya difusamente por las células basales proliferantes y que al mantener un número reducido de copias se impediría la activación de la respuesta inmune.¹³ Las células basales proliferantes migran a los estratos parabasal y espinoso, amplificándose la expresión de genes virales tempranos a través de la región no codificante, los cuales permiten producir ADN a cientos de copias por célula.¹⁴ Ésta etapa en el ciclo viral es conocida como la fase Vegetante, Proliferante o Productiva.¹⁵ En este proceso de replicación del ADN es que participan un grupo de proteínas.

Existen aprox. 40 tipos diferentes del VPH que pueden infectar el epitelio escamoso del tracto genital, de los cuales 15 son clasificados como de alto riesgo ú oncogénicos(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 y 73). De estos el 16 y 18 son los más comúnmente encontrados en el tejido canceroso cervical, ¹⁶ y son los responsables del 70% de los casos de cáncer cervical en todo el mundo. ¹⁷

Los tipos 6 y 11 pueden ocasionar papilomas hiperqueratósicos que se manifiestan clínicamente como condilomas. ¹⁸

Se estima que el VPH es la infección por transmisión sexual más frecuente en EUA.¹⁹ Y que hasta un 80% de las mujeres adquirirán una infección por el VPH durante su vida. ²⁰

Las mujeres jóvenes con edades entre 16 y 25 años están en mayor riesgo de infección por VPH oncogénico, pero éstas infecciones son prevalentes a lo largo del tiempo, es decir, durante toda la vida de una mujer. ²¹

Aunque la mayoría de las mujeres adultas se recuperan completamente de una infección por VPH, cerca del 5-10% no eliminarán el virus y desarrollaran infección persistente. La infección persistente por un tipo oncogénico de VPH es un evento precursor temprano importante en la progresión a lesiones cervicales pre-cancerosas y a cáncer cervical. ^{22,23}

La progresión desde una infección con VPH oncogénico hasta el desarrollo del cáncer del cuello uterino puede tomar de 10 a 20 años, aunque existen reportes de casos de evolución de 1 a 2 años. ²⁴

Los órganos más susceptibles de infección con potencial de iniciar una transformación neoplásica son el cuello uterino (zona de transformación) y la línea pectínea del canal

anal. Las infecciones del VPH son frecuentemente en sábanas, en cuyos casos el ADN viral puede recuperarse del cuello, vagina y del canal anal.

La mayoría de las infecciones del cuello uterino por VPH son asintomáticas, reportándose tasas de eliminación de aprox. 30% a los 6 meses y de aprox. 50% a los 12 meses.²⁵ Sólo el 50-60% de las mujeres desarrollan anticuerpos séricos contra el VPH tras la infección natural.²⁶

La respuesta inmune natural de nuestro organismo a la infección por VPH se caracteriza por la generación de anticuerpos séricos neutralizantes, la presencia de anticuerpos en el sitio de la infección y por la inmunidad celular que está asociada con la regresión de la lesión.²⁷

EL VPH es un virus evasor del sistema inmune porque puede conducir a una escasa activación local del sistema inmune ya que se replica exclusivamente en el epitelio y no en la sangre y no causa la muerte de la célula huésped.²⁸

EL VPH no causa viremia o infección sistémica. Tiene un tropismo específico por el epitelio escamoso de la piel o mucosas. La transmisión, principalmente por contacto sexual, aunque se sugieren otras como la autoinoculación, iatrogénica, fómites y a través del canal del parto donde ocasiona Papilomatosis Respiratoria Recurrente.^{29,30} Luego de la transmisión por contacto sexual el VPH permanece localizado en las células epiteliales de la mucosa. El ciclo infeccioso natural del VPH se adapta al programa de diferenciación de las células que infecta. El periodo desde la infección hasta la liberación viral es de aprox. 3 semanas.³¹

A diferencia de la infección por virus del herpes simple (HSV) la infección por VPH evoluciona en forma evidentemente crónica durante meses o años según el estado inmunitario del organismo. La infección por VPH no ocasiona ninguna reacción celular inflamatoria en la citología, pero es posible que exista una reacción simultánea de este tipo por otras razones.¹⁸

La infección por VPH puede no ser evidente (Fase Latente), puede dar lugar a formación de condilomas o puede conducir a una neoplasia.¹⁸

Uno de los primeros signos histológicos de la infección por VPH es la presencia de Coilocitosis (Células epiteliales con vacuolas grandes y claras distintivas alrededor del núcleo), signo Patognomónico de infección por VPH.³⁴

Existen varias lesiones celulares, denominadas Anormalidades Indirectas por VPH, que son menos características. Estas anomalías provocan alteraciones en la tinción en particular Anfofilia, o bien modificaciones estructurales con Fisuras (Cracked Plasma o Citoplasma quebrado), células con Lunares o Fenestradas y células Paraqueratósicas o Disqueratósicas cuyos núcleos se han degenerado.¹⁸

Los estudios epidemiológicos han demostrado que los factores de riesgo, que interaccionan con VPH como cofactores en la etiología de las lesiones pre-malignas y malignas del cuello uterino son los siguientes.

1. Tabaco
2. Contraceptivos hormonales orales (por periodo superior a 5 años).
3. Infecciones del cuello uterino (diversas cervicitis como las producidas por clamydias trachomatis, gonococo, virus herpes simple o tricomonas vaginalis pueden incrementar el riesgo de padecer una infección por VPH).
4. Inmunosupresión (las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia adquirida o SIDA, la inmunosupresión terapéutica inducida en casos de trasplantes renales y en general).
5. Paridad (se supone que las hormonas, particularmente los estrógenos producidos en la gestación pueden incrementar la replicación de VPH).
6. Conducta sexual (inicio de las relaciones sexuales y Promiscuidad sexual).²

Virtualmente todos los casos de cáncer del cuello del útero están asociados con una infección por VPH oncogénico.³²

El cáncer cervical presenta una elevada mortalidad, ya que a nivel mundial se producen unos 490,000 casos y 270,000 fallecimientos cada año, la mayoría de los países en desarrollo.¹⁷

Los VPH pueden desempeñar un papel en los cánceres del ano, vulva, vagina y pene. Algunos estudios han encontrado también que la infección por VPH representa un factor importante de riesgo para el cáncer de orofaringe.³³

Los métodos diagnósticos del VPH se clasifican en tres grupos:

- 1) De diagnóstico morfológico que se realiza mediante la identificación morfológica de las alteraciones citopáticas producidas por dichos virus en las células escamosas que pueden observarse mediante el examen citológico (Papanicolau y citología en base líquida) e histológico.^{35,36}
- 2) Detección de proteínas del VPH que se efectúa mediante la detección inmunohistoquímica de la cápside del virus. Este método presenta grandes limitaciones y aporta escasos datos sobre la morfología.³⁷
- 3) Detección de secuencias genómicas del VPH. Técnicas de biología molecular que consisten en análisis cualitativo de ADN como son :
 - a) Hibridación in Situ: Consiste en aplicar sondas complementarias marcadas con sustancias radioactivas o colorantes que permiten su posterior visualización sobre un corte del tejido problema o sobre una extensión citológica. El gran inconveniente de esta técnica es su baja sensibilidad.³⁸

- b) Hibridación in Situ en filtro, Fue el 1er. Test para estudios epidemiológicos, pero se utiliza raramente, dada su gran variabilidad entre los laboratorios.
- c) Hibridación de tipo Southern blot. Efectúa el análisis del ADN tras su extracción hibridándolo con sondas específicas. Es muy laboriosa y presenta gran variabilidad inter laboratorios.
- d) PCR (Reacción de Cadena de Polimerasa). Que consiste en aplicar un proceso que multiplica el número de copias de un segmento de ADN si está presente en la muestra. Este proceso de amplificación se produce mediante la reacción de cadena de polimerasa. Son técnicas rápidas y relativamente poco laboriosas y muy sensibles capaces de detectar SIL de alto grado no detectados por la citología. Pero no permiten cuantificar adecuadamente el ADN viral presente en la muestra. Otro inconveniente es la elevada probabilidad de contaminaciones y falsos positivos.³⁹
- e) La Captura Híbrida que utilizan sondas ARN capaces de detectar varios tipos de VPH y de separarlos en una segunda reacción en virus de alto y bajo riesgo o utilizar esta segunda reacción para detectar tipos específicos. Permite detectar 13 tipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68) y 5 virus de bajo riesgo (6, 11, 42, 43 y 44) involucrados en el 99.8% de carcinomas de cérvix.³⁹
- f) Cervista (HPV-HR): Prueba de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa del ADN de 14 tipos de virus del Papiloma Humano (VPH) de Alto Riesgo (16,18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en muestras cervicouterinas. Aprobado por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) el 12 de marzo del 2009. Único con control interno para validar la presencia de suficiente ADN en la prueba. No hay reacción cruzada con los tipos comunes de VPH de bajo riesgo.

La única forma segura de prevenir la infección, aparte de la abstinencia de contacto sexual, es no tener relaciones con personas infectadas, pero no todos conocen su condición.

El uso del condón no evita el contagio con seguridad, pero se ha observado, una cierta correlación con una tasa reducida de cáncer cervical, como Planned Parenthood (paternidad planeada), recomienda el uso del condón con el fin de prevenir el riesgo de contagio de VPH.⁴⁰

El 8 de junio del 2006, la FDA aprobó Gardasil una vacuna cuadrivalente recombinante profiláctica contra el VPH comercializada por Merck & Co. Inc.

Los ensayos clínicos de las vacunas realizados entre mujeres adultas con una media de edad de 23, mostraron protección contra la infección inicial por los serotipos 16 y 18, que en conjunto causan aprox. 70% de los cánceres del cérvix. Estos serotipos de VPH también causan tumores ano-rectales tanto en mujeres como en hombres.

La vacuna también protege contra los serotipos 6 y 11, causantes del 90% de las verrugas genitales.⁴¹

En la actualidad además de Gardasil, Glaxo SmithKline (GSK) ha comercializado la vacuna Cervarix , vacuna recombinante que contiene antígenos purificados en forma de partículas pseudovirales (VLP), los cuales son altamente inmunogénicos, y un sistema adyuvante innovador conocido como ASO4 que está compuesto del inmunoestimulante 3-desacetilmonofosforil lípido A (MPL) combinado con un portador del antígeno el hidróxido de aluminio o AL (OH)₃ , que proporciona una respuesta fuerte y sostenida contra los VPH oncogénicos 16 y 18, lo que es esencial para una protección contra el cáncer del cuello del útero. ⁴²

Debido a su estrecha relación filogenética los anticuerpos dirigidos contra los epítopes específicos de los antígenos del VPH- 16 en la vacuna cervarix protegen de manera cruzada contra infecciones con el VPH-31, mientras que los anticuerpos dirigidos contra los epítopes específicos del antígeno del VPH-18 protegen de manera cruzada contra infecciones con VPH-45. ⁴¹

El tratamiento de las infecciones de VPH se basa si las lesiones se encuentran en la piel se utilizan agentes destructivos como el ácido tricloroacético al 85%, la podofilina al 10-25% (teratogénica, mielotóxica y neurotóxica) el 5 fluoracilo (teratogénico), etc. que en caso de fallar estos tratamientos tópicos se utiliza la extirpación de las lesiones mediante láser, electrocirugía (asa de Leep) y la cirugía convencional (bisturí).

En las lesiones de la mucosa vaginal y cérvix suelen aplicarse la crioterapia, electrocirugía, láser, bisturí y ácido tricloroacético (en ocasiones).

En el caso de las lesiones precancerosas de alto riesgo producidas por VPH el tratamiento más adecuado es la eliminación de las zonas afectadas mediante electrocirugía (asa de Leep), láser o bisturí. En gran parte, este tratamiento es eficaz porque el VPH produce lesiones superficiales bien localizadas, y los VPH no producen infecciones sistémicas. ⁴³

Estando el Virus del Papiloma Humano (VPH) actualmente ligado en todos los casos de cáncer del cuello uterino a nivel mundial y de su lugar pionero como enfermedad de transmisión sexual nos ha motivado a utilizar un medicamento propuesto como antiviral, como es el ácido Glicirricínico (AG) que se define ser un glicosano triterpenoide activado a nivel de los grupos carboxilos en las posiciones 5,10 y 20, y es uno de los componentes del extracto acuoso de la raíz del Glycyrrhiza Glabra L. El ácido Glicirricínico actúa sobre diversos virus in vitro e in vivo, impidiendo la replicación de los virus de ADN como de ARN y además impide la salida del virión de su cápside y con esto su penetración a la célula. ⁴⁴

El objetivo principal de nuestra investigación es evaluar la efectividad del ácido glicirricínico activado (Epigen en spray) de uso local y por vía oral combinado con ácido málico, glucosamina, aminoácidos, vitaminas y minerales (Viusid en sobres) para negativizar la acción del VPH en las lesiones del cuello uterino.

Material y Métodos

Se realizó un estudio longitudinal y prospectivo en 27 pacientes del sexo femenino con pruebas de ADN-VPH Positivas (+) seleccionadas de una población de 518 pacientes que asistieron a nuestra consulta ginecológica del edif. Profesional Dr. Reynaldo Almánzar del Centro Médico Siglo XXI de San Francisco de Macorís, R.D. en el período de marzo del 2009 hasta marzo 2010 con el fin de realizarse la prueba de citología en base líquida (Thin Prep Pap Test).

Del total de 518 pacientes con estudio citológico de base líquida en 164 se encontraron atipia coliocítica vs. anomalías de las células epiteliales por VPH y de estas 32 presentaron resultados positivos (+) en las pruebas ADN-VPH (Captura híbrida 2 vs. Cervista). Solo 27 reunieron las condiciones para el estudio y que aceptaron llevarlo a cabalidad.

Las pacientes no podían estar embarazadas y tenían que suspender las relaciones sexuales hasta obtener los resultados de control del ADN-VPH. Durante el tratamiento no podían utilizar ningún ovulo, crema ni tomar ningún otro medicamento que no fuera autorizado por nosotros (que pudiera alterar los resultados de la terapia empleada).

Se le explicó que deberían someterse a estudio de Colposcopia y/o biopsia dirigida de las áreas sospechosas en caso de necesidad. Se realizarían pruebas ADN-VPH de control luego del tratamiento y de salir negativa dicha prueba se tomarían pruebas de control con la citología en base líquida (Thin Prep Pap Test) aproximadamente a los 6 o más meses para valorar las recidivas.

Luego del historial clínico, examen físico completo con revisión exhaustiva del área genital y previa especuloscopia se procede a tomar la muestra del exocérnix con la espátula de Ayre y del endocérnix con la escobilla (Cytobrush), inmediatamente después de la colecta se introduce la espátula y luego el cepillo en el frasco que contiene la solución conservadora (debiendo hacer enjuague girando el dispositivo unas 10 veces mientras presiona contra las paredes del vial de preservCyt para depositar el material celular). El material colectado se envía al instituto de Patología Molecular (MediPath) a temperatura ambiente (viable 15 días) a la mayor brevedad posible.

En aproximadamente 3 a 7 días de recibir el reporte citológico se les avisa a las pacientes para ordenar las pruebas de ADN-VPH (con duración de varias semanas) y se citan para realizar el estudio colposcópico previa aplicación del Ácido Acético al 5% y realizar en caso necesario biopsia en las áreas acetoblancas o sugestivas de lesiones por el VPH. Una vez tomadas las muestras del exocérnix y del canal endocervical se colocan en un frasco con formol para enviarlas al servicio de patología.

Las pruebas de biología molecular utilizadas en la mayoría de las pacientes fue la Captura Híbrida 2 (Híbrido Capture 2 DNA-HPV) y en algunas pacientes la Cervista (HPV-HR), ya que esta estuvo disponible en nuestro país a finales de octubre del 2010. Estos métodos se aplican directamente sobre las muestras de extendido cervical.

Una vez realizada la colposcopia se le indica como iniciar la Nueva Terapia (ALMANZAR-TERAPIA) que consistió en la aplicación del Ácido Glicirricínico activado (Epigen en Spray de 60 ml de solución, con una concentración de 0,1g/100ml) para aplicar intravaginal 4 pulverizaciones (0.5 ml) 4 veces al día continuamente durante 15 días, y por vía oral el Ácido Glicirricínico en sobres de 4 g combinado (Viusid) a base de: Ácido glicirricínico 33 mg, ácido málico 666 mg, glucosamina 666 mg, sulfato de zinc hidratado 5 mg, arginina 666mg, glicina 333 mg, vitamina C 20mg, pantotenato cálcico 2 mg, vitamina B6 0,6 mg, ácido fólico 66 mcg , vitamina B12 0,3 mcg, miel 833 mg, limón 666 mg, menta 33 mg, neohesperidina 5 mg, metilparabén sódico 3 mg y Goma Guar 68 mg, para tomarse después del desayuno y cena, disuelto o diluido en agua, zumo de fruta o leche durante 30 días continuos.

Luego de finalizar el tratamiento debe asistir a la consulta libre de la menstruación para tomar la muestra de control del ADN-VPH. En caso de resultar negativa la prueba debe percatarse de que su pareja haya finalizado el tratamiento por igual.

Antes de iniciar el tratamiento se le explicó a los conyuges que asistieron al consultorio de que uno podía estar con la infección activa y otro no porque dependía del sistema inmunológico de cada persona (para evitar conflictos de pareja) y se les recomendó el chequeo con el urólogo y toma de muestras ADN-VPH, pero en caso de negarse se le recomendó realizar el tratamiento concomitantemente con su pareja , aplicando el spray del Ácido glicirricínico tanto en el pene como en la región escrotal 4 veces al día por 15 días continuos y el ácido Glicirricínico combinado en sobres de 4 g 2 veces al día por 30 días.

Resultados

De una población de 518 pacientes en las que se les realizó la prueba de citología en base líquida (Thin Prep Pap Test) durante 1 año (desde marzo 2009 hasta marzo 2010), 164 presentaron alteraciones citológicas por infección del VPH para una prevalencia de un 31.6%.

De las 27 pacientes seleccionadas con pruebas positivas (+) de ADN-VPH en las cuales se les aplicó la Nueva Terapia del Ácido Glicirricínico activado de uso local y combinado de uso oral (Almánzar Terapia) en 24 de estas se logró inactivar el virus del Papiloma Humano en las Pruebas de ADN con un ciclo (1 mes) de tratamiento para un 88.8%. En las 3 restantes (11.1%) se negativizó la prueba con el 2do. Ciclo de tratamiento (repetición del mismo esquema por otro mes).

En las 27 pacientes con el ADN-VPH positivas 26 correspondieron a cepas de alto riesgo (*tabla y figura I*) y 1 de bajo riesgo (*tabla y figura II*), lo que confirma que la nueva terapia se puede aplicar en las lesiones del cuello uterino infectadas por cepas de alto y bajo riesgo con la misma efectividad.

La edad de las pacientes en estudio osciló entre 21 y 72 años y el grupo de mayor incidencia del VPH fue de 30 a 39 años con 14 pacientes para un 52%, como se indica en la *tabla I y II*.

Se realizaron biopsias dirigidas a 17 pacientes para un 62.9%. En 11 de estas reportaron NIC I para un 64.7%. En las demás reportaron cambios citopáticos del VPH (3), cervicitis crónica (1) y metaplasia escamosa (2).

Al momento del estudio 24 pacientes tenían pareja sexual activa para un 88.8%. De estos solo 19 aceptaron llevar el tratamiento para un 79%.

Los efectos secundarios fueron mínimos y transitorios en algunas pacientes y consistieron en ardor vaginal, molestias intestinales y leve aumento de peso.

Se presentaron 6 pacientes (22.2%) con anomalías celulares por el VPH en la citología líquida o Thin prep pap test de control varios meses luego de negativizar el virus, de las cuales solo 4 tenían nuevamente las pruebas del ADN-VPH positivas (+) para un 14.8% de recidivas. De las cuales 1 se presentó a los 10 meses, 2 a los 14 meses y 1 a los 15 meses.

De las 4 pacientes que presentaron recidivas hubo 3 en que sus parejas sexuales no se chequearon ni aceptaron utilizar el tratamiento y en el 4to caso su conyuge refirió tener otra pareja sexual la cual no fue evaluada.

Tabla I.

Casos ADN – VPH

Alto Riesgo Positivo

Edad	No. De Casos
20 a 29 años	3
30 a 39	14
40 a 49	5
50 a 59	2
60 a 69	1
70 a 79	1
Total	26

Figura I.-

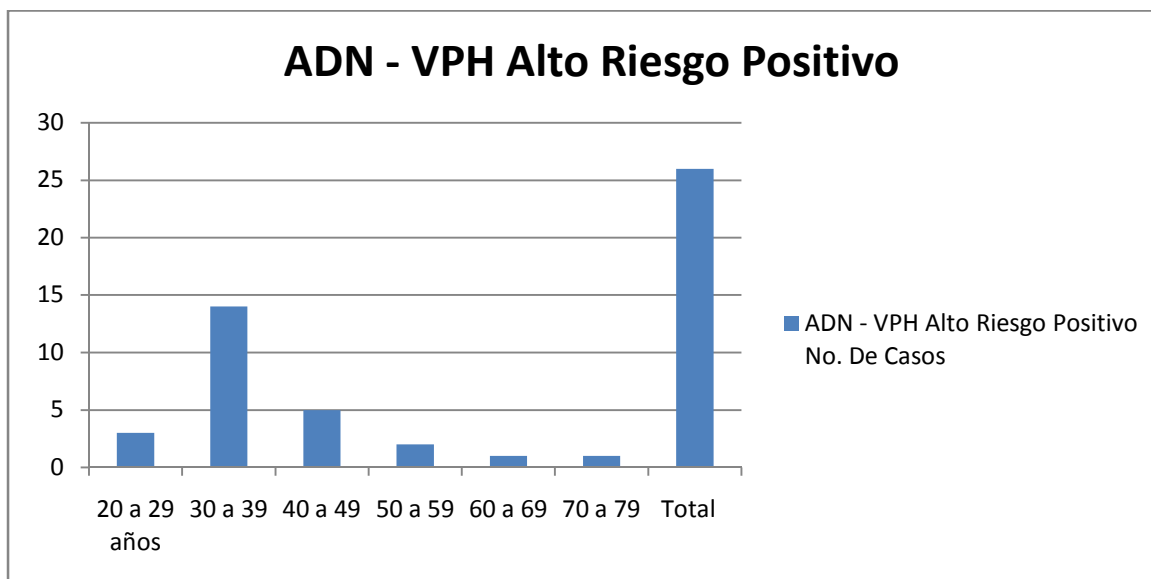
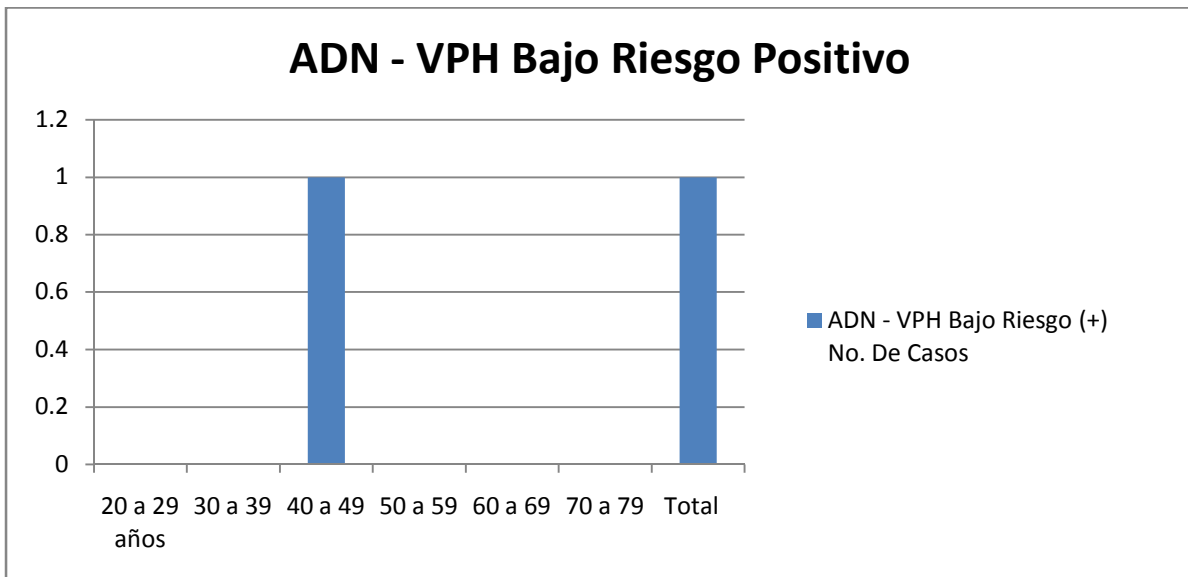


Tabla II.-

Edad	No. De Casos
20 a 29 años	0
30 a 39	0
40 a 49	1
50 a 59	0
60 a 69	0
70 a 79	0
Total	1

Figura II.-



Conclusiones

Con el uso adecuado del ácido glicirricínico de uso local y oral combinado (ALMANZAR - TERAPIA) en las infecciones del Virus del Papiloma humano a nivel del cuello uterino se logra negativizar la acción de dicho virus en la mayoría de los casos en el 1er mes de tratamiento.

El uso continuo de la terapia combinada del ácido glicirricínico y la suspensión de las relaciones sexuales durante la misma son esenciales para el éxito del tratamiento.

El ácido glicirricínico actúa con la misma efectividad contra las cepas de alto y bajo riesgo del VPH, así por igual en las pacientes jóvenes como de edad avanzada.

La presencia de escasos efectos secundarios, leves y transitorios garantiza el uso de dicha terapia con el ácido Glicirricínico en la mayoría de las pacientes afectadas del VPH.

El tratamiento concomitante de la(s) pareja sexual y el evitar los factores de riesgo, principalmente la Promiscuidad Sexual contribuyen significativamente a la disminución de las Recidivas.

La Captura Híbrida 2 y Cervista (ADN-VPH) son excelentes pruebas de biología molecular para valorar la actividad del VPH y dar seguimiento en el tratamiento de las lesiones de cérvix uterino infectadas por dicho virus.

Al inactivar la acción del Virus del Papiloma Humano y en especial las cepas oncogénicas en las infecciones a nivel del cuello uterino estamos contribuyendo a disminuir la aparición de las lesiones precancerosas y de cáncer como causa importante de muerte femenina.

Recomendaciones

Con la aplicación adecuada de la Nueva Terapia del Ácido Glicirricínico simple y combinado (ALMANZAR – TERAPIA) en las infecciones del Virus del Papiloma Humano a nivel del cuello Uterino, junto a un programa permanente de Vacunación contra las cepas oncogénicas y otro preventivo de orientación sexual a jóvenes y adultos con vida sexual activa, tendremos las condiciones primordiales para disminuir la incidencia de Cáncer del cuello del útero y la tasa de mortalidad femenina a nivel mundial.

Referencias

- 1) Infección genital por VPH-CDC (Centers for disease control and prevention) 24 oct. 2008.
- 2) Ginecología J. Gonzalez-Merlo. 8 va. Edición 2003 Masson SA .Cap 22: 413-415.
- 3) Perea E. Etiología de la infección VPH. En infección VPH en el área genital. Ed. Virgilio Palacio. 3M España SA. 2000: 25-33.
- 4) Giroglou T, Florin L, Schäfer F, Streeck RE, Sapp M. Human Papillomavirus Infection Requires Cell Surface Heparan Sulfate. J. Virol 2001. 75(3): 1565-70.
- 5) Evander M, Fraser IH, Payne E, Qi Y M, Hergst K, Mcmillan NA. Identification of the alpha 6 integrin as a candidate receptor for Papillomavirus . J Virol 1997; 71(3): 2449-56.
- 6) Bousarghin L, Touzé A, Sizaret PY, Coursaget P. Human Papillomavirus Types 16,31 and 58 use different endocytosis pathways to enter cells. J Virol 2003; 77: 3846-50
- 7) Kirchhausen T. Clathrin. Annu Rev Biochem 2000; 69:699-727.
- 8) Anderson RGW. Caveolae: Where incoming and outgoing messengers meet. Review. Proc Natl Acad sci USA 1993; 90: 10909 - 13.
- 9) Merle E, Rose RC, Leroux L, Moroianu J. Nuclear Import of HPV 11 L1 capsid protein IS mediated by Karyopherin-2-1 Heterodimers. J Cell Biochem 1999; 74:628-37.
- 10) Nelson LM, Rose Rc, Moroianu J. Nuclear import strategies of high Risk HPV 16 L1 Mayor capsid protein . J Cell Biol chem 2002; 277(6): 23958-64.
- 11) Ruesch MN, Stubenrauch and Génome amplification upon differentiation in semi solid medium IS coincident with expression of involucrim and transglutaminase but not Keratin-10 . J virol 1998; 72(6): 5016-24.
- 12) Holmgreen SC, Patterson NA, Ozbun MA, Lambert PF. The minor capsid protein L2 contributes to two steps in the Human Papillomavirus Type 31 life cycle. J Virol 2005; 79(7): 3938-48.
- 13) Ling Peh W, Middleton K, Christensen N, Nicholls P, Egawa K, Sotlar K, et al. Life cycle Keterogeneity in animals models of Human Papilomavirus-Associated Disease. J virol 2002; 76(20): 10401-16.
- 14) Frattini MG; Laimins LM. Binding of the Human Papillomavirus E, Origen-Recognition protein is regulated through complex formation with the E2 enhancer-binding protein. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 12398-02.
- 15) Doobar J, Eslton Rc, Napthine S, Raj K, Medcalf E, Jackson D, et al. The E1-E4 Protein of Human Papillomavirus type 16 associates with a putative RNA Helicase through Sequences in ITS c terminus. J Virol 2000; 74(21): 10081-95.

- 16) Muñoz N, Bosh FX, de San José S, Herrero R, Castell Sagué X, Shah K V et al. Epidemiologic classification of Human Papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 518-27.
- 17) Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006; 24 (Suppl 3); S 11-25.
- 18) Citodiagnostico ginecológico. Hans Friedrich Nauth, editorial medica Panamericana (2005) 2: 102-105.
- 19) Dunne EF, Unger, Sternberg M, et al (2007). Prevalencia de la infección a VPH entre mujeres de EE.UU. *JAMA* 297; 813-9.
- 20) Baseman JG, Koutsky LA . The epidemiology of human Papillomavirus infections. *J clin Virol* 2005;32 (Suppl 1): S16-24.
- 21) Schiffman M & Kjaer SK. Chapter 2: Natural history of anogenital human Papillomavirus infection and neoplasia. *J Natl cancer inst. Monogr* 2003: 14-19.
- 22) Kjaer SK, Vandern Brule AJC, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, et al: Type specific persistence of high risk human Papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women. Population based of prospective follow up study – *Br Med J* 2002; 325:572-5.
- 23) Wallin K-L Wiklund F, Ångström T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, et al. Type-specific persistence of human Papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl. J med* 1999-341:1633-8.
- 24) Burd EM. Human Papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16:1-17.
- 25) Hildesheim A, Herrero R, Wacholder S, Rodriguez AC, Salomon D, Bratti MC , Et al. Effect of Human Papillomavirus 16/18 L1 viruslike particle vaccine among young women with preexisting infection : A Randomized trial . *JAMA* 2007; 298: 743-53.
- 26) Carter JJ, Koutsky LA, Hughes JP, Lee SK, Kuypen J, Kivial N, el al. Comparison of human Papillomavirus types 16-18 and 6 capsid antibody responses following incident infection, *J infect Dis* 2000; 181:1911-9.
- 27) Stanley M, Lowy Dr & Frazer I. Chapter 12: Prophylactic HPV Vaccines: Underlying mechanism. *Vaccine* 2006; 24 Suppl. 3: S 106- S 113.
- 28) Stanley M, Inmune responses to human Papillomavirus. *Vaccine* 2006; 24 Suppl 1. S 16 - S 22.

- 29) Hans-B Krebs, Sonia M Khir. Human Papillomavirus infections and genital tract cancers. *Gynecology and Obstetrics* 1994; 4:1040 Edition Jhon J Sciarra, JB Lippincott company.
- 30) Shah K, Kashima H, Pilk BF y col: Rarity of cesaerean delivery in cases of juvenile-onset respiratory Papillomatosis. *Obstet Gynecol* 1986;68: 795-798.
- 31) Stanley MA, Pett MR, Coleman N. HPV: From infection to cancer. *Biochem Soc Trans* 2007;Soc Trans 2007;35(Pt 6):1456-60.
- 32) Bosh Fx, Lorincz A, Muñoz N, et al.The causal relation between human Papillomavirus and cervical cancer. *J clin Pathol* 2002 ; 55- 244-265.
- 33) Parkin DM.The global health burden of infection–associated cancers in the year 2002. *International journal of cancer* 2006; 118: 3030-3044.
- 34) Lehtinen M & paavonen J. Vaccination againt human Papillomaviruses shows great promise. *Lancet* 2004; 364:1731-1732.
- 35) Cuzick J. Szarewshi A. Terry G y Cols. Human Papillomavirus testing in primary cervical screening. *Lancet* 1995; 345-: 1533-1536.
- 36) Sherman ME, Mendoza M, Lee KR y Cols. Performance of liquid based, thin –layer cervical cytology : Correlation with reference diagnoses and human Papillomavirus testing. *Mod Pathol* 1998 ; 11 : 837- 43.
- 37) Galloway DA. Papillomavirus capsids: A new approach to identify serological markers of HPV infection. *J Natl cancer inst* 1994; 86: 474-475.
- 38) Lie AK Skjeldestad F E, Hagen B y cols. Comparison of light microscopy, in situ hybridization and polymerase chain reaction for detection of human Papillomavirus in histological tissue of cervical intraepithelial neoplasia. *APMIS* 1997; 105: 115-20.
- 39) Cavuslu S. Mant C, Starkey WG, Bible J M, Biswas C, Kell B, Rice P, bert JM, Cason J. Analitic sensitivities of hybrid-capture, consensus and type-specefic polymerase chain reactions for the detection of human Papillomavirus type 16 DNA. *J med virol* 1996, 49: 319-24.
- 40) Planned Parenthood-HPV. 17-08-2007.
- 41) Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, et al (2006). Eficacia sustentable de 4,5 años de una particular vacuna bivalente L1 Virus- contra los tipos 16 y 18 del Papilomavirus humano: Seguido de un ensayo de control aleatorio. *Lancet* 2006; 367: 1247-1255.
- 42) Giannini SL, Hanon E, Moris P, et al. Enhanced humoral and memory B celular immunity using HPV 16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/Aluminium salt combination(Aso4) compared to aluminium salt only. *Vaccine* 2006; 24: 5937-5949.

43) Acheson, Nicholas H. Ch 11 Papillomaviruses. Fundamentals of molecular virology (1st edición) John Wiley & Sons Inc. ISBN 0-471-35151-2.

44) Rev hop gral Dr. M Gea Gonzalez. Vol 3, No. 4. Octubre-Diciembre 2000. Pags 141-144.