

REVISTA DEL
Climaterio
MEDICINA INTEGRAL PARA LA MUJER

Órgano de la Asociación Mexicana para el Estudio del Climaterio, AC y del Colegio Mexicano para el Estudio del Climaterio y la Posmenopausia, AC

47

Volumen 8 julio-agosto, 2005

**Eficacia clínica y endoscópica del ácido glicirricínico activado (Epigen®)
en el tratamiento de la infección por el virus del papiloma humano
en el cuello uterino**

José Ángel Espinoza de los Monteros Cárdenas, Arnulfo Álvarez Álvarez, Mario Castillo Gutiérrez, Luis Antonio Barragán Díaz Infante

Reimpreso

Eficacia clínica y endoscópica del ácido glicirricínico activado (Epigen®) en el tratamiento de la infección por el virus del papiloma humano en el cuello uterino

José Ángel Espinoza de los Monteros Cárdenas,* Arnulfo Álvarez Álvarez,** Mario Castillo Gutiérrez,*** Luis Antonio Barragán Díaz Infante****

RESUMEN

Antecedentes: el ácido glicirricínico se utiliza como tratamiento antiviral debido a que en etapas tempranas disminuye la replicación de los virus, impide la salida del virión de su cápside y con ello su penetración a las células. Estos efectos se han vinculado con la inhibición selectiva y dosis-dependiente de la fosforilación de la cinasa P. El ácido glicirricínico también actúa en otras cinasas responsables de la fosforilación de los polipéptidos de la membrana celular, que son los sitios receptores de los virus que impiden se fije a la membrana celular, lo que resulta en inhibición de la capacidad infectiva del virus.

Objetivo: evaluar la efectividad del ácido glicirricínico activado en la erradicación de la infección por el virus del papiloma humano.

Pacientes y método: se incluyeron 100 mujeres con diagnóstico de infección por el virus del papiloma humano a un estudio clínico prospectivo, lineal, abierto, fase III-IV, a quienes se trató con ácido glicirricínico activado, en presentación en aerosol, cuatro dosis al día, de 3 a 4 pulverizaciones cada una durante 10 días. El diagnóstico de la infección se efectuó luego de la detección por citología vaginal (Papanicolaou), confirmada por endoscopia y reporte histológico. Antes de prescribir el tratamiento se evaluaron todas las pacientes a los 10 (± 2) y 30 (± 5) días. A todas las pacientes se les informó la finalidad del estudio y los posibles riesgos del mismo; 97 pacientes dieron sus consentimiento y sólo tres no lo aceptaron.

Resultados: en la primera visita postratamiento la tasa de efectividad clínica, endoscópica e histológica fue mayor del 90% y del 80% en la segunda visita. Las reacciones adversas fueron de carácter local, de intensidad leve a moderada y no ameritaron la interrupción del tratamiento.

Conclusiones: el ácido glicirricínico activado es una opción de tratamiento no invasor, efectiva en el control y posible erradicación de la infección por el virus del papiloma humano.

Palabras clave: ácido glicirricínico, antivirales, cáncer cervicouterino, virus del papiloma humano (VPH 1).

ABSTRACT

Aims: Glycyrrhizinic acid (GA) has been therapeutically employed in diverse viral entities; it acts diminishing early stage virus replication. In addition, the extrusion of the virion from capsid is prevented by such acid, also the virus cell penetration. These effects have been associated to a dose-dependent selective P kinase phosphorylation inhibition. Further kinase activities are also inhibited as the ones that are responsible for the membrane polypeptides phosphorylation of the cellular membrane, which are signaled as the viral receptor sites, preventing viral link to the cellular membrane, resulting in an inhibition of the viral infective capacity.

Objective: To evaluate the efficacy of the activated glycyrrhizinic acid on the eradication of the infection by HPV.

Patients and methods: By means of the local spray administration q.i.d. (3 to 4 pulverizations) of the activated GA form during 10 days. It was planned to be applied to 100 female patients attending with the infection by VPH clinical and citological (Papanicolaou) detected, and endoscopic and histological confirmed. Patient assessment was carried out at the initial visit, at the 10th (± 2) and the 30th (± 5) post-treatment days. After informed consent, 97 patients accepted to participate in the trial.

Results: The effectiveness rate was > 90% at the 10th assessment day, and 80% at the second assessment visit. Adverse reactions were locally and of low to moderate intensity, without treatment interruption required.

Conclusion: That the activated GA form gives an effective, non invasive, therapeutic option for the control or possible eradication of HPV.

Key words : Glycyrrhizin acid, antiviral, cervical cancer, Human Papilloma Virus (HPV 1).

El ácido glicirricínico es un glicosano triterpenoide que se activa en los grupos carboxilos, en las posiciones 5, 10 y 20. La glicirricina se obtiene de la raíz de *Glycyrrhiza glabra*. El ácido glicirricínico es un antiviral que actúa *in vitro* e *in vivo*, impidiendo la replicación de los ADN y ARN virus (VZV, HIV, influenza A y B, herpes simple (HSV) 1 y 2, virus del papiloma humano (VPH), hepatitis A B y C entre otros),^{1-7,11-13} sin toxicidad *in vitro* en las células, como las de riñón del mono verde africano y HeLa de carcinoma cervicouterino humano,¹⁴ monocitos, linfocitos T CD4, ni a las otras líneas celulares utilizadas en los ensayos.

En la actualidad, la infección por el virus del papiloma humano (VPH) constituye un problema de salud pública en todo el mundo. El VPH es el principal agente desencadenante del cáncer cervicouterino, que es la neoplasia ginecológica que más enfermedad y muerte produce en las mujeres. Los estudios epidemiológicos indican que el cáncer cervicouterino se debe a un agente de transmisión sexual y el primer sospechoso es el virus del papiloma humano. En 85% de los cánceres epidermoides, y en sus presuntos precursores, se encuentran secuencias de ADN de los tipos 16 y 18 de VPH y, con menor frecuencia, de los tipos 31, 33, 35 y 51.

* Coordinador de la Campaña contra el Virus del Papiloma Humano.

** Jefe de la Unidad.

*** Patólogo. Auxiliar adscrito. Unidad de Detección Oportuna de Cáncer Cérvicouterino y de Mama, Universidad de Guadalajara. México.

**** Director médico. Cheminova de México, Calzada del Hueso 39, colonia Ejido de Santa Úrsula Coapa. México 04910, DF.

Correspondencia: Dr. José Ángel Espinoza de los Monteros Cárdenas. Calle Sierra Nevada 950. Escuela Preparatoria núm. 11. Universidad de Guadalajara. México.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

PACIENTES Y MÉTODO

Se efectuó un estudio prospectivo, lineal, abierto, que incluyó 100 pacientes del sexo femenino con infección por el virus del papiloma humano y diagnóstico histopatológico confirmado (reporte histopatológico de infección por virus del papiloma humano o LEL de bajo grado concomitante con VPH), con la finalidad de que recibieran tratamiento tópico con ácido glicirricínico activado en cuatro dosis al día, durante 10 días.

Selección de pacientes y asignación del tratamiento

Este estudio se efectuó junto con un programa de detección epidemiológica de citología exfoliativa cervicovaginal, en una población abierta del sexo femenino del estado de Jalisco, en el que se realizaron 5,033 tomas citológicas (una por persona).

Se propuso la participación de todas las mujeres con características citológicas de probable infección por VPH (positividad en el Papanicolaou al VPH) a quienes se les explicó la finalidad, ventajas y riesgos del protocolo.

En el lapso de 12 meses se convocó a más de 150 pacientes a participar en el estudio con el propósito de incluir a un mínimo de 100.

De las 119 pacientes que aceptaron la exploración colposcópica y la toma de biopsia, se seleccionaron 100 con base en el cumplimiento de los criterios de inclusión y en ausencia de los de exclusión; sin embargo, sólo 97 aceptaron participar en el estudio.

Se incluyeron 97 pacientes del sexo femenino, entre 17 y 61 años de edad con una media de 33.3 años.

Todas las pacientes que aceptaron participar siguieron el mismo tratamiento con ácido glicirricínico activado.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Evaluación de la eficacia e inocuidad y análisis estadístico

Dado que se trata de un estudio abierto y no controlado, su objetivo principal fue investigar la tasa de efectividad del ácido glicirricínico activado (Epigen®) en pacientes con infección por el virus del papiloma humano, misma que se evaluó en dos visitas posteriores al inicio del tratamiento. La primera visita después de los 10 (+2) días y la segunda después de los 30 (+5) días del inicio del tratamiento.

La inocuidad se evaluó de forma espontánea o por interrogatorio dirigido, con base en el registro de las manifestaciones (molestias).

Evaluación de la efectividad

De las 97 pacientes que aceptaron participar en el estudio, 86 se consideraron para tratamiento; de este grupo sólo 60 pacientes concluyeron el estudio. Once pacientes abandonaron el tratamiento en el transcurso de la primera visita y 26 pacientes en la segunda, lo que hace un total de 37 pacientes.

A la primera visita 93.2% (todas incluidas) mostró negativización citológica confirmada por colposcopia y estudio histopatológico, lo que da una tasa de efectividad mayor al 90%.

A la segunda visita sólo acudieron 60 pacientes, de las cuales 80% tuvo resultados de la citología y colposcopia negativos al virus del papiloma humano.

El 27.08% experimentó recidiva histopatológica.

Evaluación de la inocuidad

No hubo reportes de reacciones adversas serias. Las comunicadas fueron de grado leve a moderado. Las pacientes que abandonaron el estudio y que pudieron localizarse argumentaron razones personales de tiempo, falta de apego al tratamiento o simple abandono.

<i>Reacciones que pueden asociarse con el tratamiento</i>	<i>Porcentaje de pacientes</i>
Ardor en la lesión a la administración	87.20%
Molestias o incomodidad con el aplicador	34.90%
Manchado de la prenda íntima	50.00%
Dolor moderado, referido como tipo cólico premenstrual	8.10%
Dispareunia	3.50%

Ninguna de las reacciones requirió algún tipo de tratamiento y no fue causa de abandono del estudio.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En un estudio previo, efectuado en Rusia, participaron 30 pacientes (14 mujeres y 16 hombres, con edad comprendida entre 17 y 47 años) con signos y síntomas de infección por virus del papiloma humano en la vía urogenital, a quienes se administró ácido glicirricínico activado junto con la aplicación de técnicas de criodestrucción, criodispersión y criodispersión conjunta con plasma-coagulación. Se seleccionaron para tratamiento pacientes sin antecedentes de infecciones venéreas concomitantes, en los seis meses anteriores a la fecha de inicio del estudio. Las pacientes tenían lesiones acuminadas y papilares típicas del VPH en los genitales externos, en las paredes vaginales y en el cuello uterino. El diagnóstico también se estableció con el método de reacción a la polimerasa.

El tratamiento indicado fue criodispersión combinada con la aplicación posterior de ácido glicirricínico activado en la zona lesionada. En general, después de 2 a 4 procedimientos se observó recuperación clínica completa. Los pacientes se observaron durante 2 a 4 meses, lapso en el que sólo hubo un reporte de recurrencia de infección por VPH en una paciente. En ese estudio se concluyó que la utilidad óptima del ácido glicirricínico se consigue con la combinación de métodos de criodispersión o criodestrucción. Se recomienda continuar con la aplicación del medicamento hasta que se produzca la total reepitelización.

En España también se comunicaron los resultados de un estudio efectuado en el Centro Ginecológico Salud y Mujer, en 36 mujeres con lesiones condilomatosas en vértice, ubicadas en los labios genitales mayores y menores, el clítoris, introito y las paredes vaginales. Los estudios citológicos confirmaron la infección por virus del papiloma en 21 casos (58.3%). Con el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y ADN-hibridación se confirmó la coexistencia del virus papiloma en las 36 mujeres (100%). Además, se hicieron determinaciones de inmunidad celular que permitieron observar, en la mayoría de las pacientes, disminución del número absoluto y relativo de linfocitos CD4+ sin modificación CD8+, que estaban dentro de los valores normales, con una relación CD4+/CD8+ ligeramente baja. Se distinguieron dos grupos de pacientes con respecto a la forma de manifestación de los condilomas. El primer grupo lo integraron 21 pacientes con pequeños condilomas, que desaparecieron por completo en 7 a 10 días de tratamiento con ácido glicirricínico.

Con base en los resultados del estudio aquí reportado se concluye que el ácido glicirricínico activado tiene alta eficacia antiviral contra el virus del papiloma humano, demostrada en la evaluación a corto plazo. La continuidad de su actividad, luego de 20 días de haber concluido el tratamiento, es una característica relevante; sin embargo, los casos de positividad citológica pueden deberse a reinfección, sobre todo en individuos con vida sexual activa. Puede haber individuos con positividad histopatológica, pero sin manifestaciones citológicas o colposcópicas (lesiones *in situ*).

Hasta ahora no existen antecedentes de reportes de algún otro producto tópico que haya demostrado negativización citológica, endoscópica e histopatológica; por ello, se considera que el ácido glicirricínico activado es una opción de tratamiento de la infección por

el virus del papiloma humano que disminuye la incidencia y prevalencia de cáncer cervicouterino.

Los resultados de este estudio son congruentes con los hasta ahora reportados y efectuados con la misma metodología. La ausencia de reacciones adversas graves confirma la inocuidad del ácido glicirricínico para aplicación tópica. Las fallas terapéuticas pueden adjudicarse a errores en la administración del fármaco.

En la actualidad, con el fin de prevenir el contagio por el virus del papiloma humano, se está desarrollando una vacuna y su tipificación se está integrando a los programas de detección en estudios piloto de algunos países industrializados. En las naciones en vías de desarrollo, los programas de detección convencionales y que cuentan con buen manejo siguen siendo la mejor opción para controlar el cáncer cervicouterino, mientras se dispone de un tratamiento antiviral o una vacuna inocuos y eficaces contra el VPH para la población en general.

Un grupo de microinmunobiólogos de la Universidad Nacional Autónoma de México está realizando investigaciones importantes para desarrollar una vacuna contra el virus del papiloma humano.

Los antivirales como el aciclovir, la ribavirina o el interferón sólo reducen la duración de los episodios de infección viral. Su tolerabilidad es relativa y su costo elevado, y no son una solución adecuada. Su aplicación es invasora, al igual que la criodestrucción y la criodestrucción en combinación con la plasma-coagulación.

Por todo lo anterior se concluye, a partir de la especificación farmacológica del ácido glicirricínico activado, que se trata de un producto eficaz en el tratamiento de la infección por el virus del papiloma humano.

El diagnóstico y tratamiento oportunos de los individuos con mayor riesgo sólo es posible mediante la implantación de un programa epidemiológico de detección temprana. El ácido glicirricínico activado, en aerosol, es el fármaco que ha aportado el mayor número de demostraciones de su potente efectividad en el tratamiento del virus del pailoma humano; por lo tanto, es una opción accesible, inocua y eficaz para combatir este grave problema de salud pública.

Ante el creciente número de casos de cáncer de cuello uterino es necesario fortalecer, como estrategia principal, la coordinación de los sectores públicos y privados para hacer frente al padecimiento con mayor eficiencia y efectividad. Además, deben encontrarse opciones más económicas y menos invasoras para el tratamiento de las lesiones preinvasoras.

REFERENCIAS

- Akamatsu H, Komura J, Aada Y. Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effect on neutrophil functions including reactive oxygen species generation. *Planta Med* 1991;57:119-21.
- Arase Y, Ikeda K, Murashima N, et al. The long term efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitis C patients. *Cancer* 1997;79:1494-500.
- Armanini D, Lewicka S, Pratesi C, et al. Further studies on the mechanism of the mineralocorticoid action of licorice in humans. *J Endocrinol Invest* 1996;19:624-9.
- Bisset NG, Wichtl M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals: a handbook for practice on a scientific basis. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994.
- Blumenthal M. The Complete German Commission. E monographs: therapeutic guide to herbal medicines. Boston: Amer Botanical Council, 1998.
- Bradley PR (ed). British Herbal Compendium. A handbook of scientific information on widely used plant drugs. Dorset: British Herbal Medicine Association, 1992.
- Evans FQ. The rational use of glycyrrhetic acid in dermatology. *Br J Clin Pract* 1958;12(4):269-79.
- Glick L. Deglycyrrhinated liquorice in peptic ulcer. *Lancet* 1982;2:817.
- Kimura Y, Okuda H, Okuda T. Effects of flavonoids isolated from licorice roots (*glycyrrhiza inflata bat*) on arachidonic acid metabolism and aggregation in human platelets. *Phytother Res* 1993;7:341-47.
- Kimura Y, Okuda T, Okuda H. Effects of flavonoids isolated from licorice roots (*glycyrrhiza inflata bat*) on degranulation in human polymorphonuclear neutrophils. *Phytother Res* 1993;7:335-40.
- Latif SA, Conca TJ, Morris DJ. The effects of the licorice derivative, glycyrrhetic acid, on hepatic 3 α and 3 β hydroxysteroid dehydrogenase and 5 α and 5 β -reductase pathways of metabolism of aldosterone in male rats. *Steroids* 1990;55:52-8.
- Matsumoto T, Tanaka M, Yamada H, et al. Effect of licorice roots on carrageenan-induced decrease in immune complexes clearance in mice. *J Ethnopharmacol* 1996;53:1-4.
- Morgan AG, McAdam WAF, Pacsoo C, et al. Comparison between cimetidine and Caved-S in the treatment of gastric ulceration, and subsequent maintenance therapy. *Gut* 1982; 23:545-51.
- Rafi MM, Rosen RT, Vassil A, et al. Modulation of bcl-2 and cytotoxicity by licochalcone-A, a novel estrogenic flavonoid. *Anticancer Res* 2000;20(4):2653-8.
- Raggi MA, Bugamelli F, Nobile L, et al. HPLC determination of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in biological fluids, after licorice extract administration to humans and rats. *Boll Chim Farm* 1994;133(12):704-8.
- Russell RI, Morgan RJ. Studies on the protective effect of deglycyrrhinated liquorice against aspirin (ASA) and ASA plus bile acid-induced gastric mucosal damage, and ASA absorption in rats. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1984;92:97-100.
- Saleh MM, El-Olemy MM, et al. Response of licorice (*glycyrrhiza glabra*) leaves to certain stress factors. *Planta Med* 1990;56:610.
- Shibata S. Antitumor-promoting and anti-inflammatory activities of licorice principles and their modified compounds. In: *Food Phytochemicals II: Teas, Spices, and Herbs*. American Chemical Society, 1994.
- Suzuki H, Ohta Y, et al. Effects of glycyrrhizin on biochemical tests in patients with chronic hepatitis. *Asian Med J* 1983;26:423-38.
- Tawata M, Yoda Y. Anti-platelet action of gu-7, a 3-aryl coumarin derivative, purified from *glycyrrhiza radix*. *Planta Med* 1990;56:259-63.
- Utsunomiya T, Kobayashi M, Pollard RB, et al. Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(3):551-6.
- Van Rossum TGJ, Vulto AG, De Man RA, et al. Review article: glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12:199-205.
- Vaya J, Belinky PA, Aviram M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Rad Biol Med* 1997;23:302-13.
- Wang ZY. Anticarcinogenesis of licorice and its major triterpenoid constituents, in *Food Phytochemicals II: Teas, Spices, and Herbs*. American Chemical Society, 1994; pp: 329-34.
- Werbach MR, Murray MT. Botanical influences on illness: a sourcebook of clinical research. Tarzana: Third Line Press, 1994.
- White PC, Mune T, Agarwal AK, et al. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Endocr Rev* 1997;18(1):135-56.
- Wilson JA. A comparison of carbenoxolone sodium and deglycyrrhinated liquorice in the treatment of gastric ulcer in the ambulant patient. *Br J Clin Pract* 1972;26(12):563-6.
- Yasuda K, Hino K, Fujioka S, et al. Effects of high dose therapy with stronger neo Minophagen C (SNMC) on hepatic

- histography in a non-A, non-B chronic active hepatitis. In: Shikata T, Purcell RH, Uchida T, eds. *Viral hepatitis C, D, and E*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1991;pp:205-9.
29. Abe N, Ebina T, Ishida N. Interferon induction by glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in mice. *Microbiol Immunol* 1982;26:535-9.
 30. Aikawa Y, Yoshiike T. Effect of Glycyrrhizina on pain and HLA-DR antigen expression on CD8-positive cells in peripheral blood of herpes zoster patients in comparison with other antiviral agents viruses. *Skin Pharm* 1990;36:268-71.
 31. Baba M, Shigeta S. Actividad antiviral de la glicirricina contra el virus varicela-Zoster in vitro. *Antiviral Research* 1987;7:16-24.
 32. Badam L. In vitro studies of the effect of glycyrrhizin from Indian *Glycyrrhiza glabra* linn on some RNA and DNA viruses. *Indian J Pharmacology* 1994;9:435-41.
 33. Brochure de investigadores (Cheminova Internacional). Madrid, 1995.
 34. Fujisawa K, Watanabe Y. Therapeutic approach to chronic active hepatitis with glycyrrhizin. *Asian Med J* 1980;23:745-56.
 35. Hirabayashi K. Antiviral activities of glycyrrhizin and its modified compounds against Human Immunodeficiency Virus Type (HIV-1) and Herpes simplex Virus Type 1 (HSV-1) in vitro. Japan: Research Lab Minophagen Pharmac, 1990.
 36. Ohtsuki K, Lahida N. Inhibitory effect of Glycyrrhizina on polypeptide phosphorylation by polypeptide-dependent protein kinase (Kinase p) in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;157(2):16-20.
 37. Pompei R, Flore O, Marccialis MA, Pani A, Loddo B. Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. *Nature* 1979;281:689-90.
 38. Pompei R, Marcialls MA. Effect of glycyrrhizinic acid on herpes simplex virus type 1 glycoprotein synthesis. Cagliari: Universita 'di Cagliari, 1985.
 39. Pompei R. Antiviral activity of glycyrrhizic acid. *Experientia* 1980;36(3).
 40. Shigeta S, Yokota T, Iwabuchi T, et al. Comparative efficacy of antiherpes drug against various strains of varicella-zoster virus. *J Infect Dis* 1983;147:576-84.
 41. Utsonomiya T, Kobayashi M. Glycyrrhizin (20 beta-carboxy-11-oxo-30-norolean-12-en-beta-yl-2-0-beta-D-glucopyranuronosyl-alpha-D-glucopyranosiduronic acid) improves the resistance of thermally injured mice to opportunistic infection of herpes simplex virus type I. *IMLED*, 1995.