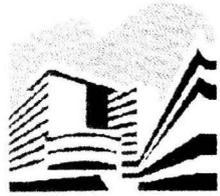


11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO



HGO 4 LCA

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
"LUIS CASTELAZO AYALA"
IMSS

Cambios histológicos y colposcópicos posterior a la terapia génica con la vacuna MVA E2 (Modified Vaccinia Ankara), en pacientes con Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (NIC 2 y 3) asociado al virus del papiloma humano.

TESIS DE POSTGRADO

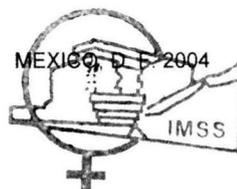
PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A

Dra. María Guadalupe Álvarez Jiménez

Asesor de tesis

Dr. José Luis González Sánchez



DIVISION DE EDUCACION
E INVESTIGACION MEDICA
HGO. "LUIS CASTELAZO AYALA"
IMSS



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA
"LUIS CASTELAZO AYALA"**

Cambios histológicos y colposcópicos posterior a la terapia génica con la vacuna MVA E2 (Modified Vaccinia Ankara), en pacientes con Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (NIC 2 y 3) asociado al virus del papiloma humano.



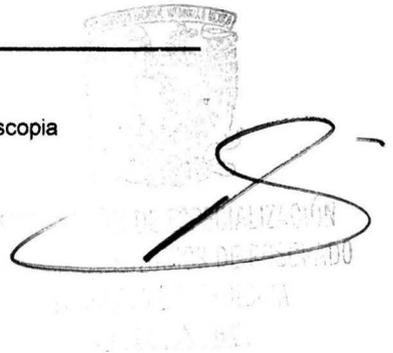
Dr. Juan Carlos Izquierdo Puente
Director Médico General
Hospital de Ginecobstetricia "Luis Castelazo Ayala"



Dr. Gilberto Tena Alavéz
Director de Educación e Investigación en Salud



José Luis González Sánchez
Asesor de Tesis
Medico Adscrito al Servicio de Colposcopia



DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

Antes que todos a Dios y a la Virgen de Guadalupe ¡gracias! por darme los mejores padres del mundo, que me quieren y me apoyan incondicionalmente; a mis hermanos que quiero tanto, especialmente a Rosy, no sé que haría sin ella.

A mi ex que aunque ya no está conmigo me dio felicidad, ayuda y amor.

Quiero agradecer enormemente a los doctores José Luis González Sánchez, Edgardo García Hernández y Ricardo Rosales Ledesma por permitirme realizar este trabajo.

Además a todas las personas que han participado en mi formación: mis pacientes, profesores, amigos, enfermeras, las señoritas de la biblioteca, etc.

Al instituto que me permitió estar en el mejor hospital.

Y por supuesto como olvidar a todos los doctores que han sido mi ejemplo, ayuda y amigos; en Troncoso: Dr. Tinoco, Dr. Díaz, Dr. Rodríguez, Dr. Sánchez, Dr. Ponce, Dr. García, Dra. Torres y Dra. Skaffiny. En HGO 4: Dr. Sánchez Acuña maestro y amigo, Dr. Rosales, gracias por su ayuda sincera, Dr. Villa y Dr. Menéndez por consentirme tanto, Dr. Castañeda por confiar en mi como doctora y cirujana, Dr. Tena por ser más que un jefe de enseñanza, me corrige y ayuda; Dr. Ayala porque en su servicio es uno en los que más aprendí, Dra. Lina nos enseñó medicina y a pensar siempre en el beneficio de las pacientes, Dr. Santoyo que me ayudó con mi tema y me enseñó un poco de lo mucho que sabe, y a todos los doctores que me compartieron de sus conocimientos, Dr. Casado, Dra. Olivia Sánchez, Dr. Moreno Álvarez, Dr. López Arguello y Dr. Calvo.

ÍNDICE

RESUMEN	5
ANTECEDENTES	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
JUSTIFICACIÓN	10
OBJETIVOS	11
HIPÓTESIS	11
MATERIAL Y METODOS	12
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN	16
CONCLUSIONES	19
BIBLIOGRAFIA	20
FIGURAS	23

RESUMEN

Objetivos: Comparar los efectos histológicos y colposcópicos obtenidos en las pacientes con lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG) asociado a infección por virus del Papiloma humano (IVPH) posterior a la vacunación con MVA E2 y determinar si existen cambios relacionados con la terapia génica como pudieran ser la desaparición del VPH, disminución del tamaño de las LIEAG y la progresión de las mismas.

Material y Métodos: Es un estudio fase II, longitudinal, transversal y prospectivo. Se incluyeron 16 pacientes con LIEAG asociado a IVPH que acudieron al servicio de colposcopia del hospital de ginecobstetricia 4, efectuado de agosto del año 2002 a agosto del 2004.

El diagnóstico fue realizado mediante colposcopia con biopsia dirigida, histopatología y captura de híbridos 2. Recibieron una aplicación semanal de 1 ml de virus recombinante MVA E2 a una concentración de 10^7 pfu/ml disuelta en lidocaina, se otorgaron 6 dosis por micropunción cervical. La respuesta al tratamiento se evaluó comparando los resultados de la colposcopia e histopatología (biopsia dirigida y cono) pre y postratamiento, determinando si existió curación, disminución del tamaño, regresión o progresión de las lesiones.

Resultados: Los cambios colposcópicos fueron la eliminación de las lesiones en el 37.5% de los casos, en 31.2% existió una reducción significativa (del 50 al 99% de la extensión original) y en el restante 31.2% la reducción fue no significativa (inferior al 50%). Los hallazgos histopatológicos encontrados con la biopsia al final del tratamiento fueron: curación en el 37.5%, regresión en el 18.7% y con el mismo grado de LIEAG el 43.7%. Y los resultados detectados al procesar las piezas de cono e hysterectomía fueron: sin cambios en el grado de lesión en 31.2%, lesión de mayor grado 25%, curación 18.7%, lesión microscópica 12.5% y con regresión 12.5%.

Conclusiones: Se concluye que la vacunación con MVA E2 causa una eliminación y reducción significativa de las LIEAG por colposcopia en el 68.7% de los casos, por histopatología se demostró un efecto benéfico en el 56.2% de los casos con la utilización de biopsia dirigida y sólo en el 43.7% por cono e hysterectomía, aunque el tamaño de la muestra fue pequeño por ser un estudio inicial, sería importante ampliar el tamaño de la muestra y el intervalo de la toma del cono en un estudio futuro. La vacunación con MVA E2 es una alternativa útil en aquellas pacientes en las que la cirugía está contraindicada o en mujeres con paridad no satisfecha.

Palabras claves: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado, virus del papiloma humano, terapia génica, vacunación, cáncer de cérvix.

ANTECEDENTES

El cáncer cervical es un problema de salud pública en nuestro país y, aunque desde 1975 se han implementado campañas para su detección oportuna, la presentación de casos nuevos tiene una tendencia creciente. En México, en el año de 1992 fallecieron 4,348 mujeres por cáncer cérvicouterino (CaCu). Este tipo de neoplasia se presenta, entre los 30 y los 64 años de edad en el 74% de los casos, siendo las más afectadas aquellas cuyas edades fluctúan entre los 35 y 44 años ^{1,2}.

En la etiología del CaCu, intervienen múltiples factores: nivel socioeconómico bajo, edad, inicio temprano de la vida sexual, presencia de dos o más parejas sexuales, edad temprana del primer embarazo, multiparidad, tabaquismo y de la presencia del virus de papiloma humano (VPH) que se ha asociado hasta en el 90% de los casos. ^{1, 2, 3, 4, 5, 6.}

Los virus HPV 16 y HPV 18 son los principalmente implicados en el origen de lesiones precancerosas hasta en el 70 % de los casos. El subtipo 18 se detecta con mayor frecuencia en América del Sur y África.

Los papilomavirus son virus con una cadena sencilla circular de DNA teniendo aproximadamente 8,000 pares de bases. Estos virus pueden infectar a diversas especies animales, y se han identificado a la fecha más de 90 genotipos de virus de papiloma.

Los virus de papiloma se replican básicamente en células epiteliales, algunos como los tipos 6, 11, 42, 43 y 44 se consideran de bajo riesgo provocando solamente lesiones como los condilomas. Los virus 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 y 56 de alto riesgo frecuentemente se asocian a cáncer. ^{1, 5, 6, 7, 8.}

En la fase temprana de replicación del virus del papiloma, los productos de los genes E1 y E2 están involucrados en la replicación del DNA viral, al igual que en el control de la transcripción de los oncogenes E6 y E7. La proteína E2 se une a la región reguladora (LCR) impidiendo que se transcriban los genes E6 y E7, y por consiguiente no hay formación de estas proteínas. ^{1,7,8}

En cierto momento durante el ciclo de replicación del virus el genoma viral se integra al genoma de la célula lo que ocasiona que se rompa o inactive el gen E2. Lo que trae como consecuencia que se elimine el efecto represor sobre los oncogenes E6 y E7. Las oncoproteínas E6 y E7 cuando se acumulan en gran cantidad dentro de las células ocasionan el efecto transformante en las mismas dando lugar a la formación de tumores. ^{7,8,9,10,11,12}

Las proteínas E6 y E7 se unen a dos anti-oncogenes P53 y Rb ocasionando su degradación e inactivación respectivamente. Estas proteínas celulares están involucradas en el control del ciclo celular, por lo que su inactivación ocasiona que las células se vuelvan cancerígenas. ¹³

El virus de la vaccinia, anteriormente utilizado únicamente como vacuna contra la viruela, actualmente se usa para la fabricación de vacunas contra diversas enfermedades. En especial la cepa de la vaccinia MVA (Modified Vaccinia Ankara) ya que esta autorizada por la Organización Mundial de la Salud para ser usada en humanos. ^{14,15,16}

La cepa MVA es inocua y no produce ningún efecto secundario adverso como se ha demostrado en estudios de vacunación realizados en Alemania. Además este virus estimula eficientemente al sistema inmune provocando que se genere una alta respuesta contra del agente patógeno.

Estudios realizados en varios laboratorios en el mundo han mostrado que virus recombinantes hechos con la cepa MVA son capaces de proteger contra diversos virus, así como ser usados contra la terapia de diferentes tipos de cáncer. ^{17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25.}

En especial estudios realizados en México han mostrado que una cepa recombinante MVA que lleva el gen E2 del virus de papiloma es capaz de detener el crecimiento de tumores humanos generados en ratones atímicos. ²⁵

También el virus MVA E2 fue capaz de erradicar y eliminar completamente tumores asociados a papiloma generados en conejos. Estos animales se mantuvieron libres de tumor 1 año después del tratamiento.

Además se generó una respuesta inmune de memoria en estos animales que impidieron el crecimiento de nuevos tumores posterior a la implantación. Estos resultados sugieren que la cepa recombinante MVA E2 pudieran ser usada como terapia contra el cáncer cervicouterino. Otros estudios fase I como el realizado en el Hospital Juárez de México evaluó la eficacia de MVA E2 sobre el tratamiento de virus de papiloma, oncogénicos presentes en humanos. En este estudio se utilizaron 6 dosis para el tratamiento del virus de papiloma. Este número de dosis se determinó en base a los estudios realizados con animales, en los cuales se logró erradicar completamente al tumor después de 6 dosis de tratamiento.²⁶ Por otro lado la dosis estándar y el número de partículas virales de MVA E2 10^7 pfu/ml son cantidades estándar que se usan para vacunas con el virus de la vaccinia como inmunógeno. Actualmente esta cantidad de partículas virales son utilizadas a nivel mundial por todos los laboratorios que usan al virus de la vaccinia para la fabricación de vacunas. ^{26, 27, 28.}

En un segundo estudio clínico Fase II realizado en el IMSS se trataron lesiones precancerosas: neoplasia intraepitelial cervical (NIC) 1, 2 y 3 producidas por los virus de papiloma oncogénicos. En este estudio se logro observar que el tratamiento con el virus recombinante MVA E2 es capaz de eliminar las lesiones producidas por los virus de papiloma en un 87 % de pacientes a las 3 semanas de haber completado el tratamiento, sin embargo la mayoría de estas pacientes tenían una lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG). ^{27, 28, 29.}

Todos estos resultados nos llevan a concluir que la terapia con MVA E2 es un buen candidato a ser usado en el tratamiento de lesiones del cuello uterino provocados por el virus de papiloma humano.

En términos generales el tratamiento utilizado actualmente para el CaCu in situ es la extirpación o destrucción local (conización cervical con bisturí, con asa diatérmica o láser y la criocirugía), este tratamiento tiene como inconveniente que puede provocar hemorragia posterior al tratamiento, infección local, incompetencia del cuello uterino, causando abortos del segundo trimestre en pacientes embarazadas y finalmente fibrosis del cuello uterino como consecuencia de una mala cicatrización posterior al cono que pueda alterar la fertilidad de la paciente, estas dos últimas complicaciones son poco frecuentes. ^{27, 28, 29.}

La terapia con MVA E2 en términos generales no provoca efectos secundarios y en un 80 % de los pacientes terminado el tratamiento no se detecta la presencia de virus de papiloma. Además de que el tratamiento con MVA E2 genera una repuesta inmunológica de memoria contra las células tumorales. Aún más el tratamiento con MVA E2 se pretende mantener intacto el tejido cervical, eliminar el cáncer in situ y de manera importante la posibilidad de que no vuelvan a presentar el padecimiento. ^{27, 28.}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existen cambios colposcópicos posterior a la utilización de la terapia génica con MVA E2, como disminución del tamaño y progresión de las lesiones de pacientes con LIEAG asociada a IVPH y cuales son los cambios histopatológicos presentados al término de la terapia?

JUSTIFICACIÓN

El CaCu continua siendo un problema de salud publica en nuestro país, a pesar de las medidas tendientes a la detección oportuna, continua siendo el cáncer de mayor incidencia en nuestro medio. En todo el mundo se realizan proyectos para disminuir su impacto, como la creación de vacunas para prevenir o tratar las etapas pre-invasivas, ya que hasta la fecha no se ha conseguido un método efectivo para este propósito. En un estudio publicado en el presente año se utilizó la terapia con MVA E2³⁷ se encontró que al término del tratamiento se obtuvo la desaparición de las lesiones en un 50% de los casos y al cabo de 3 semanas en el 85%. Es importante mencionar que la mayoría de las pacientes cursaron con LIEBG y que estas lesiones pueden remitir espontáneamente. Es importante valorar si la terapia con MVA E2 favorece la remisión de LIEAG ya que éstas se asocian a mayor tasa de progresión a cáncer invasor.

OBJETIVOS

- Determinar si existen cambios relacionados con la terapia MVA E2 como pudieran ser la desaparición del VPH, disminución del tamaño de las LIEAG y la progresión de las mismas.
- Comparar los efectos histológicos y colposcópicos obtenidos en las pacientes con LIEAG asociado a IVPH posterior a la vacunación.

HIPÓTESIS

La terapia génica recombinante con MVA E2 favorece cambios benéficos como remisión de las LIEAG asociadas a IVPH.

Hipótesis nula:

La terapia génica recombinante con MVA E2 no favorece la remisión de LIEAG asociadas a IVPH.

MATERIAL Y METODOS

Es un estudio fase II, longitudinal, transversal y prospectivo que inicio en agosto del año 2002 hasta agosto del 2004, cuyo objetivo fue detectar los cambios colposcopicos e histológicos obtenidos con la utilización de MVA E2 como: la reducción, eliminación o regresión de lesiones precursoras del cáncer uterino asociadas a infección por virus de papiloma humano ante la aplicación de dosis estándar del virus recombinante en pacientes con diagnóstico confirmado histopatológicamente y sin haber recibido tratamientos anteriormente para este estadio del cáncer cervicouterino. Se incluyeron 16 pacientes que acudieron al servicio de colposcopia y que cumplieron con los criterios de inclusión.

Se incluyeron pacientes de 25 a 50 años de edad, no embarazadas, con un método anticonceptivo adecuado, LIEAG confirmada por colposcopia e histología, IVPH, química sanguínea, función medular, hepática y renal normales. No se incluyeron mujeres lactando, con otras neoplasias diferente, infección por virus de inmunodeficiencia humana, fiebre de origen desconocido, infecciones crónicas o agudas, historia de hipersensibilidad a cualquier vacuna o a la lidocaína y lesión histológica que rebase el epitelio basal. Y se excluyeron a las pacientes que no desearon continuar con el estudio o por embarazo.

El diagnóstico de LIEAG se realizó por colposcopia e histopatología mediante biopsia dirigida, la identificación del virus del papiloma humano se confirmó mediante la técnica de captura de híbridos. Éste método utiliza anticuerpos monoclonales específicos contra híbridos de DNA-RNA para cada uno de los genotipos de VPH (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 42, 43, 44, 45, 51, 52 y 56).

Posterior a efectuar la historia clínica completa, examen físico y obtener consentimiento informado de participación recibieron una aplicación semanal de 1 ml de virus recombinante MVA E2 en la región cervical del útero (en los 4 puntos cardinales) por micropunción durante 6 semanas a una concentración de 10^7 pfu/ml disuelta en lidocaína. Se practicaron estudios de laboratorio básicos para descartar alteraciones que contraindiquen la administración del virus recombinante MVA E2.

Se registraron todos los eventos adversos, así como las pruebas de seguridad de laboratorio y gabinete (electrocardiograma, biometría hemática, química sanguínea y pruebas de funcionamiento hepático).

La respuesta al tratamiento se evaluó cada semana con colposcopia (antes de la aplicación de la vacuna), al terminar el tratamiento y 4 semanas después de la última dosis en donde también se realizó una biopsia dirigida. Al final se hizo conización LEEP o histerectomía en forma complementaria con fines diagnóstico-terapéuticos.

Los resultados colposcópicos e histopatológicos pre y postratamiento fueron comparados. La evaluación colposcópica consideró como eliminación a la desaparición de la lesión a la exploración, reducción significativa a la disminución del tamaño $\geq 50\%$ en relación a la presentada originalmente y reducción no significativa cuando disminuyó en un porcentaje inferior al 50%. En histopatología se buscaron lesiones de mayor o igual grado, lesiones microscópicas y se denominó como curación a la erradicación de la lesión y regresión a la disminución en el grado de NIC (como por ejemplo pacientes con NIC 3 inicial y NIC 2 o 1 final).

Los datos obtenidos fueron expresados en porcentajes de la población estudiada.

RESULTADOS

Se estudiaron 16 pacientes 3 entre 20 y 30 años, 9 entre 31 a 40 años y 4 de 41 a 50 años.

El promedio de edad fue de 36 años (figura 1).

El inicio de relaciones sexuales en la población estudiada fue a los 17 años en promedio. Trece pacientes iniciaron relaciones antes de los 20 años y el resto antes de los 25 (figura 2).

En cuanto al número de parejas sexuales, 9 pacientes refirieron haber tenido una pareja sexual, cuatro mujeres 2 parejas, tres refirieron 4 compañeros sexuales y 3 tienen 4 o más (figura 3).

De las 16 pacientes, 4 tuvieron 1 parto, 6 tuvieron 2, cuatro refirieron 3 y una 5 (figura 4).

De el total de pacientes con LIEAG, dos pacientes tuvieron NIC 2 (12.5%) y 14 (87.5%) tuvieron NIC 3 como diagnóstico inicial (figura 6).

Se realizó legrado endocervical previo a la biopsia inicial, fue reportado por el servicio de patología como no valorable en 9 pacientes, 5 normales y 5 con LIEAG (figura 7).

A 4 de las 16 pacientes se identificó el tipo de carga viral, el genotipo 16 se presento en 3 pacientes y el 32 en una paciente (figura 8).

La lesión colposcópica desapareció en 6 (37.5%) mujeres, en 5 (31.2%) se redujo del 50 al 99% y en otras 5 la reducción fue menor al 50% (figura 9).

Por colposcopia, 11 de las pacientes (68.7%) tuvieron una erradicación o disminución significativa de la lesión y 5 (31.2%) tuvieron una disminución no significativa (figura 10).

Comparando el resultado de la biopsia inicial con la final se encontró curación en 6 (37.5%) pacientes. Regresión en 3 (18.7%), 2 de NIC 3 a NIC 2 y una de NIC 3 a NIC 1. Siete (43.7%) tuvieron la misma lesión (figura 11).

Las pacientes beneficiadas con la vacuna según los resultados de las biopsias, fueron 9 (56.2%), es decir las que tuvieron curación o regresión. Las que no tuvieron dicho efecto fueron 7 (43.7%) pacientes (figura 12).

A 13 (81.2%) de las pacientes se les practicó conización como complementación diagnóstico-terapéutica y a las otras 3 (18.7%) histerectomía total abdominal (HTA), 2 por NIC 3 extenso y una por adenocarcinoma in situ (figura 13).

De las 16 cirugías practicadas (conos e histerectomías), se determinó que 5 (31.2%) tuvieron la misma lesión. Cuatro (25%) tuvo lesión de mayor grado (uno o 2 focos de microinvasión, ninguno de ellos se había identificado previamente por biopsia). Se encontró curación en 3 pacientes (18.7%). En 2 (12.5%) lesión con un sólo foco microscópico de LIEAG. Y en 2 (12.5%) pacientes se encontró regresión de la lesión, una de ellas NIC 3 a NIC 2 y la otra de NIC 3 a 1 (figura 14).

Del grupo de pacientes estudiadas sólo 7 (43.7%) mostraron algún efecto benéfico al comparar los reportes de los conos e histerectomías (figura 15).

No se presentaron manifestaciones de toxicidad a la vacuna, 14 pacientes tuvieron síntomas transitorios y leves (cefalea, hipertermia no mayor de 38.5 grados, mialgias y artralgias) dentro de las primeras 24 horas posteriores a la aplicación de la vacuna (figura 16).

DISCUSIÓN

Entre los factores de riesgo para CaCu y la IVPH se encuentran un elevado número de parejas sexuales, el tabaquismo y la multiparidad, en la población estudiada se encontró que el 25% de las pacientes tuvieron 2 parejas sexuales y el 18.7% cuatro o más parejas, las mujeres fumadoras constituyeron un 37.5%; se encontró multiparidad en 5 pacientes únicamente.

Existe una discrepancia entre los distintos resultados obtenidos acorde con el método de evaluación para determinar la eficacia de la terapia génica con MVA E2. Los cambios colposcópicos demuestran un mayor porcentaje de desaparición y disminución de las lesiones (68.7%), sin embargo el estándar de oro son los exámenes histopatológicos.

Al analizar los resultados obtenidos por histopatología de la biopsia cervical se encontró que 6 (37.5%) tuvieron curación, 3 (18.7%) regresión de la lesión y 7 (43.7%) permanecieron con el mismo grado. Por lo que si sumamos las pacientes que tuvieron un beneficio posterior a la vacunación (curación y regresión del grado de lesión) se observa que el número es mayor (9 =56.2%) con respecto a las que no tuvieron mejoría. Sin embargo en este estudio se realizó un CONO como complementación diagnóstico-terapéutica, pues como se demostró en este estudio, la biopsia negativa no asegura que la paciente esta libre de lesión, ya que aunque es dirigida, representa sólo una pequeña proporción de la lesión y por lo tanto la posibilidad de no detectar alteraciones fuera del límite de la biopsia estaba presente, no así con el cono o HT A en donde se estudia todo el tejido afectado, por lo que los resultados histopatológicos obtenidos de las conizaciones o hysterectomias fueron distintos a los detectados por la biopsia final.

Posterior a éstas cirugías se detectaron 4 (25%) pacientes con lesiones de mayor grado, con uno o 2 focos de microinvasión, ninguno de ellos se había identificado previamente por biopsia, por los motivos expuestos anteriormente. No es posible asegurar si éstas lesiones se encontraban presentes desde el inicio del estudio ya que la pinza de biopsia nos proporciona una muestra pequeña y estas lesiones encontradas son microscópicas, por lo que es factible que no hayan sido detectadas anteriormente, otra posibilidad es que la lesión que se desarrolló en el curso de la terapia con MVA E2, sin embargo no se cuenta con los elementos para poder demostrar alguna de las 2 hipótesis. También es importante mencionar que en éstas 2 pacientes la carga viral inicial fue positiva para el VPH 16, que se sabe es de alto riesgo oncogénico e incluso se encontró positiva al terminar el tratamiento, por lo que el genotipo oncogénico podría tener un papel importante en la respuesta inadecuada a la terapia génica.

El número de curaciones disminuyó al detectado por biopsia final, se encontraron 3 (18.7%) pacientes únicamente. Se diagnosticaron 2 (12.5%) pacientes con 1 sólo foco microscópico de NIC 3, en estos 2 casos las biopsias finales fueron negativas por lo que se contabilizaron como curaciones al corte de resultados de biopsia cervical; si para el momento en el que se practicó el cono la vacuna todavía no hubiese terminado su acción, existe la posibilidad de que al ampliar el tiempo entre la última dosis de la vacuna y la práctica del cono, existiera tiempo suficiente para la desaparición de la lesión en su totalidad, ya que se encontró un solo foco microscópico probablemente a punto de desaparecer, no se sabe, por lo que sería importante en un estudio subsiguiente a este, ampliar el intervalo mencionado además de incrementar el tamaño de la muestra.

Con regresión de la lesión se detectaron 2 (12.5%) pacientes y aunque no tuvieron curación estas pacientes, se sabe que las lesiones de menor grado tienen mayor posibilidad de remitir espontáneamente y menor capacidad de progresión, por lo que aunque estas pacientes no se hayan curado, el pronóstico es mejor al inicial.

Considerando como efecto benéfico a la curación, regresión y lesión microscópica se obtienen 7 (43.7%) pacientes, el resto no tuvieron beneficio (56.2%), constituyendo una proporción un poco mayor, contrariamente a lo encontrado con la practica exclusiva de colposcopia o biopsia de cérvix, sin embargo más real.

En este estudio el porcentaje final de pacientes beneficiadas con la vacuna fue menor al reportado en un estudio previo a este, ya que en este trabajo solo se incluyeron pacientes con LIEAG, que sabemos que tiene una mayor progresión a lesiones invasivas y además se utilizó conización cervical e histerectomía, por lo que se estuvo en la posibilidad de detectar lesiones que pasaron inadvertidas con la biopsia cervical final.

Aun no existen vacunas que hayan probado una eficacia real, por lo que esta terapia es un buen intento en la creación de alternativas para reducir la morbi-mortalidad por CaCu, sobre todo si se considera que el índice de progresión de las LIEAG es de hasta el 70%. El presente estudio es uno de los primeros en los que emplea la terapia génica con MVA E2 en humanos con LIEAG y el primero que utiliza la conización cervical para corroborar al 100% los efectos de la vacuna, ya que se descartaron curaciones que se habían diagnosticado erróneamente por colposcopia o biopsia de cérvix.

CONCLUSIONES

Se concluye que la vacunación con MVA E2 causa una eliminación y reducción significativa de las LIEAG por colposcopia en el 68.7% de los casos. Por histopatología se demostró un efecto benéfico en el 56.2% con la utilización de biopsia dirigida y sólo en el 43.7% con el empleo del cono cervical o histerectomía. Si bien los porcentajes encontrados no son tan altos, hay que recordar que la muestra es pequeña, para obtener un mejor análisis de los beneficios de la vacuna se podría incrementar el tamaño de la muestra en un estudio futuro.

La terapia con MVA E2 es una alternativa útil ya que hasta la fecha no existen otros tratamientos conservadores, no quirúrgicos y libres de complicaciones que ofrezcan una eficacia mayor en el tratamiento de las LIEAG. Puede ser una buena opción en aquellas pacientes con alguna contraindicación quirúrgica o mujeres en edad fértil sin paridad satisfecha, en donde la práctica del cono o histerectomía significa riesgo de complicaciones y daño a la fertilidad.

Falta mucho por lograr en el campo de la vacunación, sin embargo el presente estudio es importante en la creación de alternativas para reducir la morbi-mortalidad por CaCu, si bien el factor de riesgo más importante es la IVPH oncogénico, para la progresión de una neoplasia intraepitelial cervical a cáncer invasivo se necesita frecuentemente de la participación de otros factores, como alteraciones en proto-oncogenes (c-myc, ras y erbB2), anti-oncogenes y la respuesta inmune del huésped.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ahued J, Fernández del Castillo C, Bailón R. Ginecología y obstetricia aplicadas. 2a ed. México: Manual moderno, 2003, 755-67.
- 2.- Apgar G, Brotzman S, Spitzer E. Colposcopia, principios y práctica. México: McGraw-Hill, 2003. 1-510.
- 3.- Beaudenon S, Kremdorf D, Obalek S, et al. Plurality of genital human papillomaviruses: characterization of two new types with distinct biological properties. *Virology* 1987; 161: 374-84.
- 4.- Beaudenon S, Kremsdorf D, Croissant O, et al. A novel type of papillomavirus associated with genital neoplasias. *Nature* 1986; 321: 246-249.
- 5.- Muñoz N, Bosch FX. Cervical cancer and human papillomavirus: epidemiological evidence and perspectives for prevention. *Sal Pub Mex* 1997; 39: 274-82.
- 6.- Parkin DM, Lara E, Muir CS. Estimates of the world-wide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int. J. Cancer* 1980; 41: 184-97.
- 7.- Thierry F, Howley PM. Functional analysis of E2-mediated repression of the HPV18 P105 promoter. *New Biology* 1991; 3: 90-100.
- 8.- Guido MC, Zamorano R, Garrido E, et al. Early promoters of genital and cutaneous human papillomaviruses are differentially regulated by the bovine papillomavirus type 1 E2 gene product. *Journal of General Virology* 1992; 73: 1395-1400.
- 9.- Hwang ES, Riese DJ, Settleman J. Inhibition of cervical carcinoma cell line proliferation by the introduction of a bovine papillomavirus regulatory gene. *Journal of Virology* 1993; 67: 3720-9.

- 10.- Dowhanick JJ, McBride AA, Howley PM. Suppression of cellular proliferation by the papillomavirus E2 protein. *J Virol* 1995; 69: 7791-9.
- 11.- Garrido E, Carrillo E, Guido M, et al. Different arrangement of human papillomavirus E2 binding sites distinguishes cutaneous types from those associated with mucosal lesions. *Arch Med Res* 1996; 27: 389-94.
- 12.- Desaintes C, Demeret C, Goyat S, et al. Expression of the papillomavirus E2 protein in HeLa cells leads to apoptosis. *EMBO J* 1997;16: 504-14.
- 13.- Cann AJ. Principles of molecular virology. 2nd Edition. Academic Press. San Diego.1997.
- 14.- Stickl H, Hochstein-Mintzel V, Mayr A, et al. MVA -Stufenimpfung gegen Pocken. *Dtsch Med Wochenschr* 1974; 99: 2386-92.
- 15.- Muñoz N, Bosch FX. The causal link between HPV and cervical cancer and its implications for prevention of cervical cancer. *Bull. Pan Am Health Org*1996; 30: 362-7.
- 16.- Fenner F, Henderson DA, Arita I. Smallpox and its eradication. WHO. Geneva.1988.
- 17.- Sutter G, Moss B. Non replicating vaccinia vector efficiently expresses recombinant genes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992; 89: 1047-85.
- 18.- Sutter G, Ohlmann M, Erfle V. Non-replicating vector efficiently expresses bacteriophage T7 polymerase. *Febs Lett* 1995;371: 9-12.
- 19.-Binns MM, Smith GL. Recombinant Poxvirus. ACR Press. Boca Raton, Florida. 1993.1-15.
- 20.- Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M, et al. A Recombinant vaccinia virus encoding human papilomavirus types 16 and 18, E6 and E7 proteins as Immunotherapy for cervical cancer. *Lancet* 1996; 347: 1523-7.

- 21.- Hirsch VM, Fuerst TR, Sutter G, et al. Patterns of viral replication correlate with outcome in simian immunodeficiency virus (SIV)-infected macaques. Effect of prior immunization with a trivalent SIV vaccine in modified vaccinia virus ankara. *J Virol* 1996;70: 3741-52.
- 22.- Carrol A, Overwijk W, Chamberlain R, et al. Highly attenuated modified vaccinia virus Ankara (MVA) as an effective recombinant vector:a murine tumor model. *Vaccine* 1997;15: 387-97.
- 23.- Gariglio P, García C. Papillomavirus humanos y cáncer cérvico uterino. *Adel Microbiol Enf Infec* 1980; 8: 45-58.
- 24.- Blanchard TJ, Alcamí A, Andrea P, et al. Modified vaccinia virus Ankara undergoes limited replication in human cells and lacks several immunomodulatory proteins: implications for use as a human vaccine. *J Gen Virol* 1998; 79: 1159-67.
- 25.- Valadez G, Sutter G, García-Carranca A, et al. Human tumor growth is inhibited by vaccinia virus carrying the E2 gene of bovine papillomavirus. *Cancer* 2000; 88: 1650.
- 26.- Lathe R, Kieny MP, Gerlinger P, et al. Tumor prevention and rejection with recombinant vaccinia. *NATURE* 1987; 326: 878-80.
- 27.-Corona, Tinoco, Navarro, et al. Therapeutic vaccination with MVA E2 can eliminate precancerous lesions associated with infection by oncogenic human Papillomavirus. *Hum Gen Ther* 2004; 15:421-31.
- 28.- Rosales C, Valadez G, Arrellin R, et al. A recombinant vaccinia virus containing the papilloma E2 protein promotes tumor regression by stimulating macrophage antibody-dependent cytotoxicity. *Cancer Immunology Immunotherapy* 2000; 49: 347-60.
- 29.- Sutter G, Wyatt LS, Foley PL, et al. A recombinant vector derived from the host range-restricted and highly attenuated MVA strain of vaccinia virus stimulates protective immunity in mice to influenza virus. *Vaccine* 1994; 12: 53-9.

FIGURAS

Figura 1

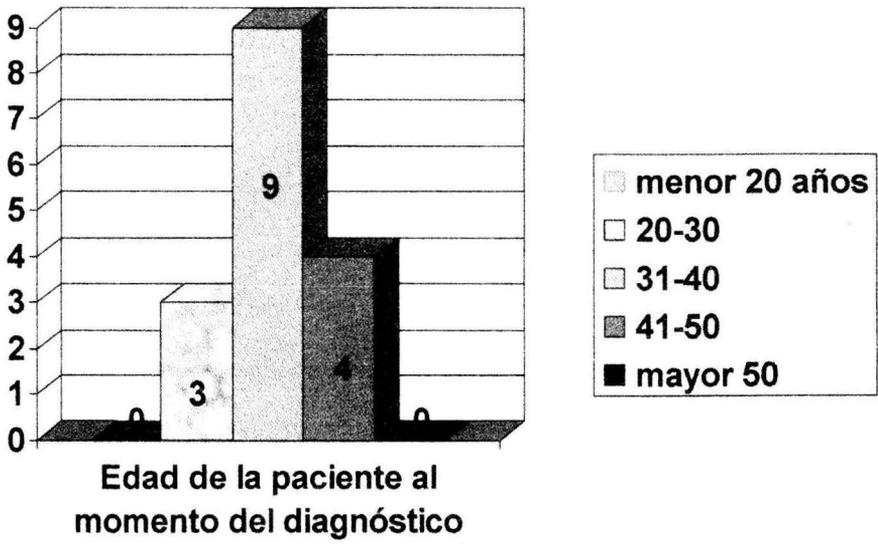


Figura 2

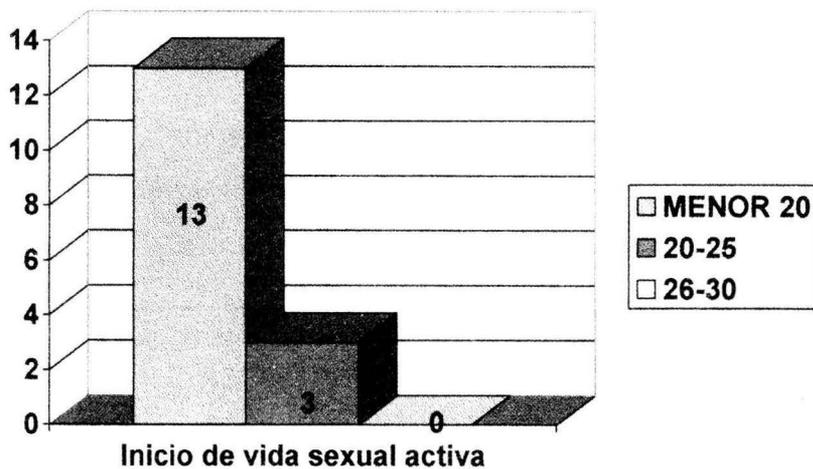


Figura 3

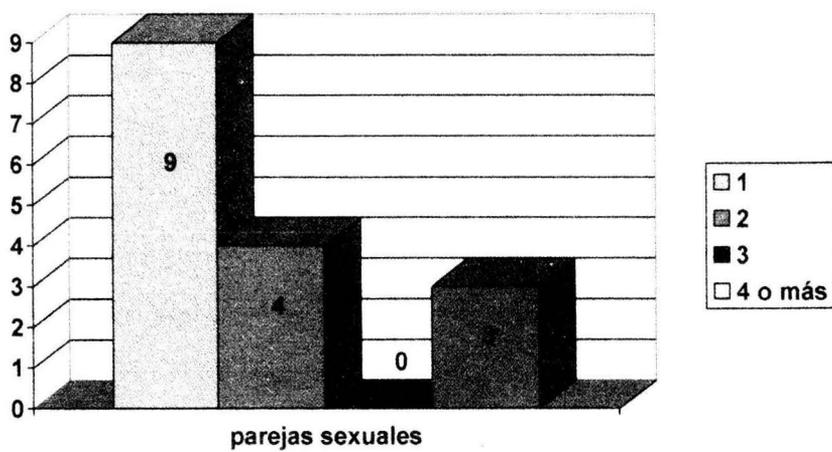


Figura 4

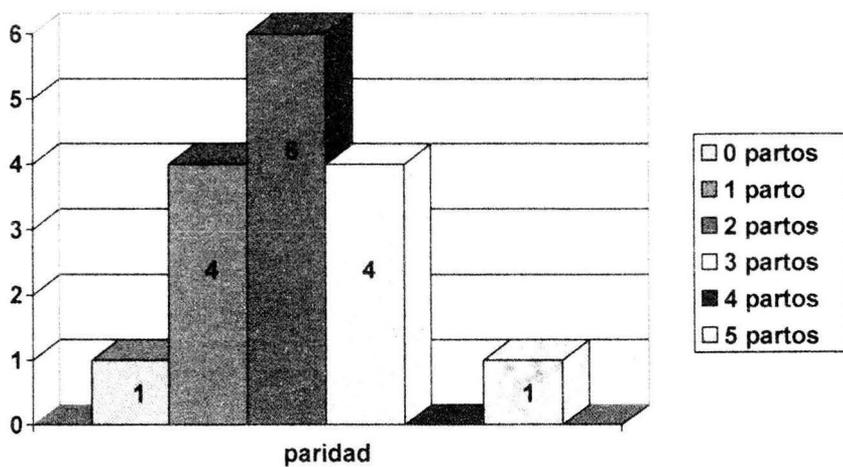


Figura 5

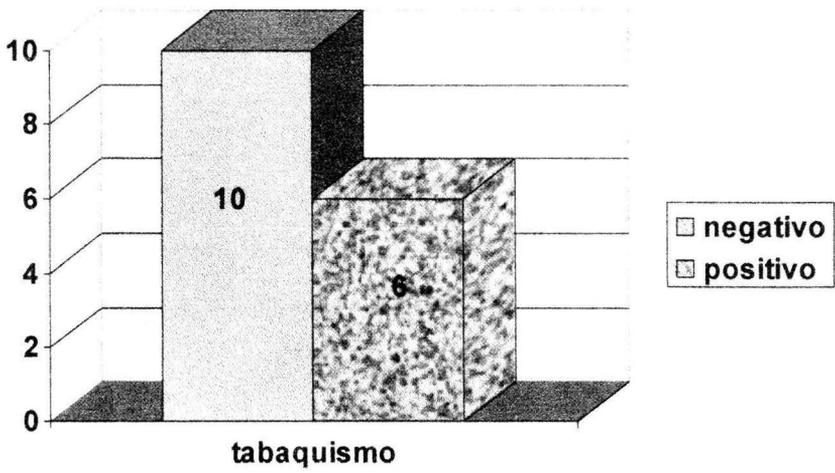


Figura 6

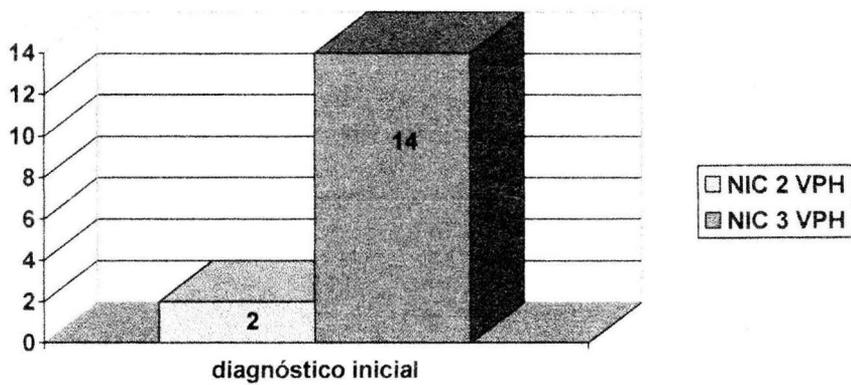
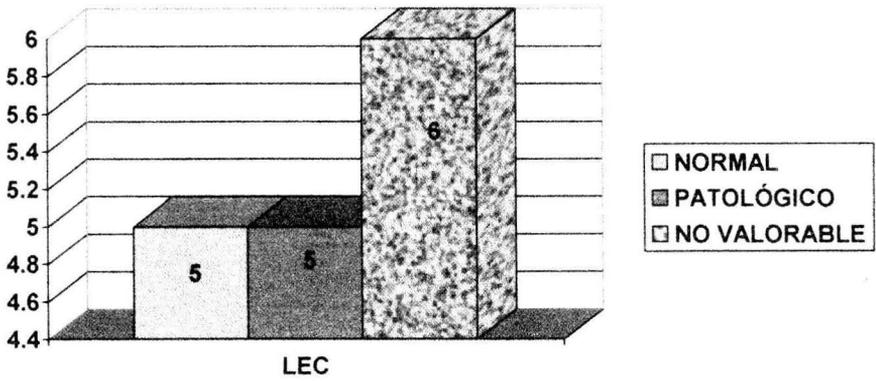


Figura 7



ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Figura 8

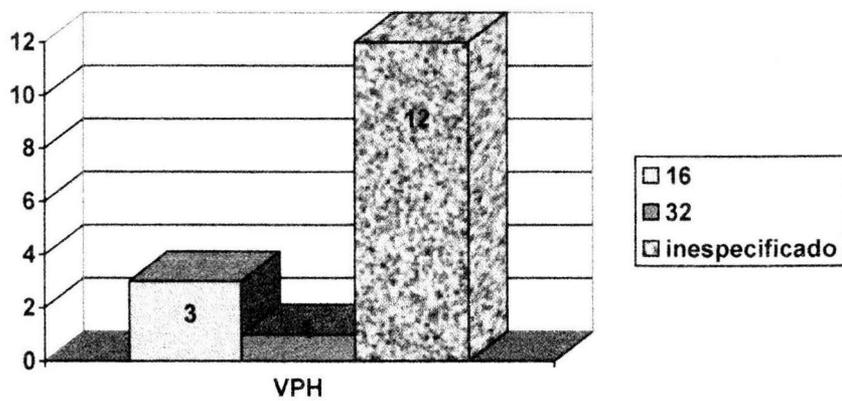


Figura 9

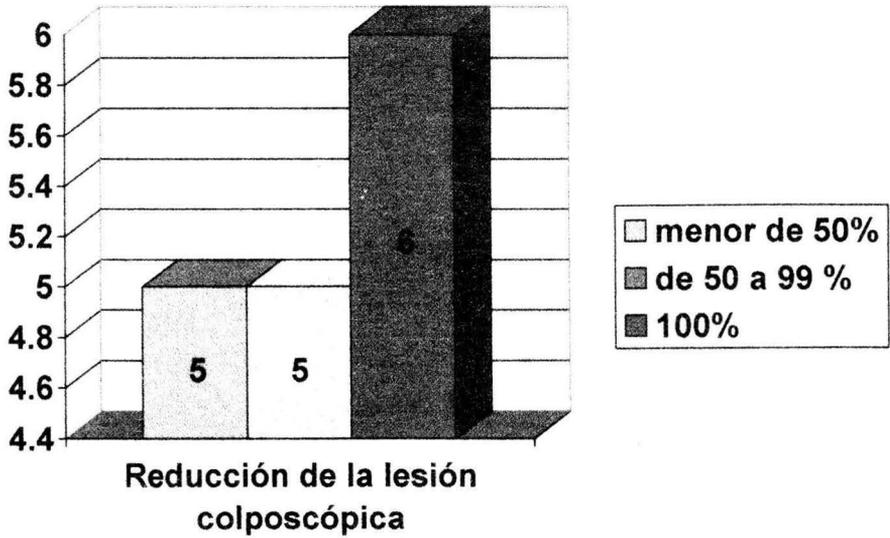


Figura 10.

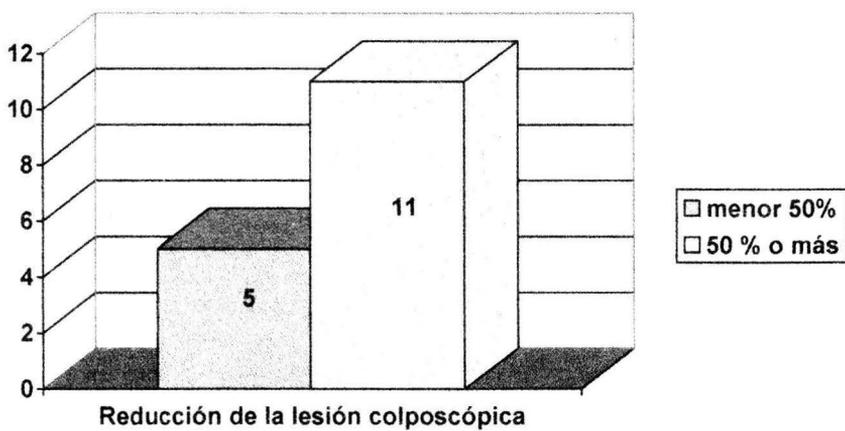


Figura 11

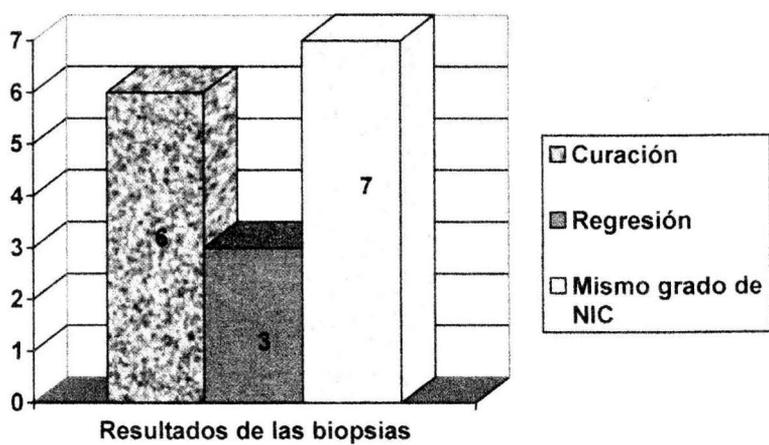


Figura 12

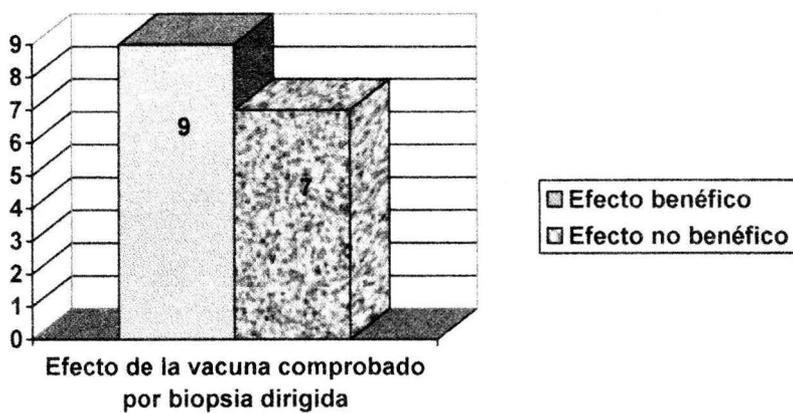


Figura 13

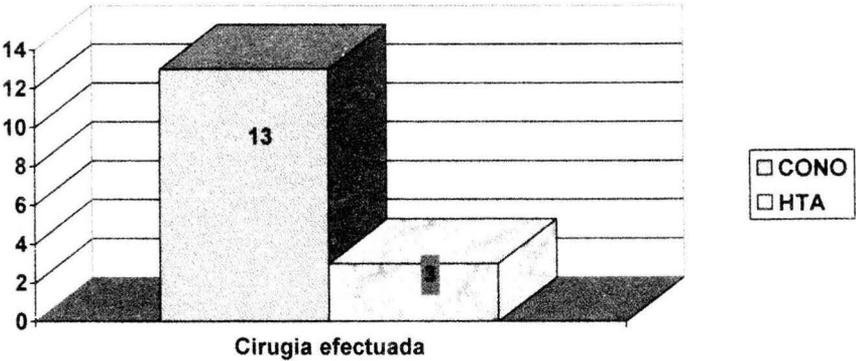


Figura 14

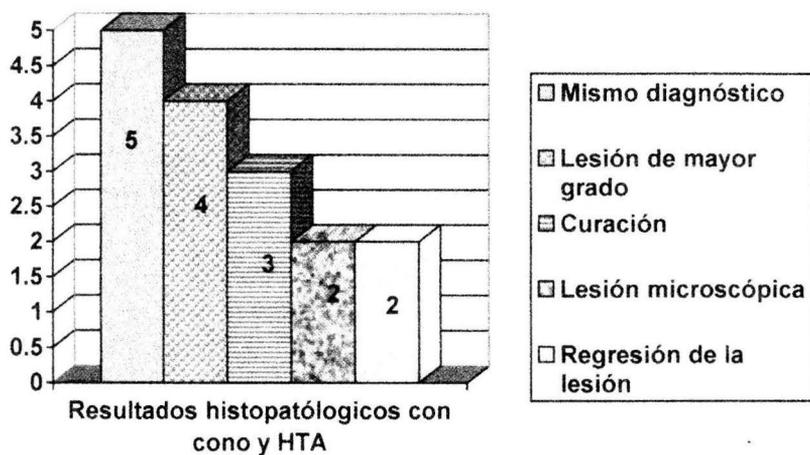
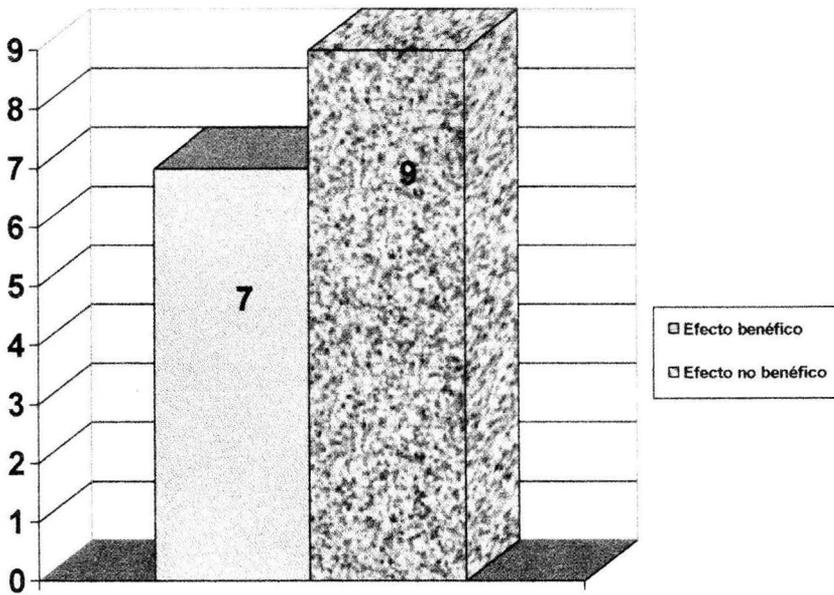


Figura 15



Conclusión posterior a cirugías

Figura 16

