

HACIA UNA VACUNA PREVENTIVA CONTRA EL CANCER CERVICO-UTERINO SOBRE BASES ETIOLÓGICAS

Dr. ROMEO NARVAEZ C.

*Departamento de Citología - Instituto del Cáncer,
Sociedad de Lucha contra el Cáncer, Núcleo de Quito.*

RESUMEN:

La etiología viral del carcinoma cérvico-uterino ha sido sospechada con sobrada razón por muchos autores y desde hace varios años. En el presente trabajo, los virus del papiloma humano (HPV) son los protagonistas de este escenario cuyos actores son múltiples, los daños celulares polimorfos y las displasias (lesiones pre-malignas o potencialmente malignas), que las acompañan, muy frecuentes.

La fisonomía peculiar expresada por las células cervicales lesionadas por el HPV, fue la guía que nos impulsó a agruparlas en tres categorías: I, II, III. La larga y meticulosa observación a través de dos décadas nos hizo conocer que las displasias asociadas a los grupos II y III son proclives a la transformación carcinomatosa.

He aquí el nacimiento de nuestra inquietud en torno a la preparación de una vacuna contra estos dos últimos grupos.

La alta tasa de éxitos terapéuticos (9 o/o) obtenidos en 66 displasias asociadas a esta virosis, nos sugiere una valiosa alternativa en la prevención del carcinoma del cérvix uterino (**Revista F.C.M., 13 (3-4), 67 1988**).

Los virus del papiloma humano son agentes de gran pluralidad y diversidad; se han mencionado decenas de variedades o tipos: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 36, 42, 44, 45, tipos que actualmente llegan a 46 de HPV (1).

En este artículo nos referiremos exclusivamente al HPV que tiene afinidad por la esfera genital, particularmente el cérvix uterino.

Harold Zur Hausen (2) reconoce que los tipos 6 y 11 se asocian a los condilomas acuminados (60o/o); el tipo 16 afecta al cérvix y está asociado a atipias celulares, displasias y carcinoma in situ (CIS) (50o/o); el tipo 18 acompaña a carcinomas cervicouterinos avanzados incluyendo las metástasis (20o/o).

Yunko Saito, Masuo Intsudo y otros (3) descubren que el HPV 16 y 18 ocasionan el CIS en el 48o/o y las displasias en el 53o/o.

Yoshikawa et al. (4), valiéndose de técnicas modernas (hibridación del DNA) descubren que en 56 pacientes portadoras de una infección HPV asociada al carcinoma cervicouterino, 18 casos corresponden al tipo 16 y 2 casos al tipo 18. Además, la incidencia de estos tipos virales varía con la edad, estructura histológica, distribución geográfica, etc.

Todo estos hallazgos nos hacen pensar que estos tipos de virus, 16 y 18 especialmente, están implicados en su acción carcinogénica. Como es de suponer, también existen infeccio-

nes virales simultáneas con relativa frecuencia.

De otra parte los HPV cervicales, por caracteres inherentes a su biología, no son cultivables (5, 6), características que hace más difícil su identificación y más enigmático su comportamiento biológico.

Por el contrario, la literatura de estos años nos revela con asombrosa minuciosidad los rasgos morfológicos histopatológicos causados por el HPV, exponiendo de esta forma valiosos

parámetros para el diagnóstico de esta virosis (7, 8).

Richard Reid et al., (8) estudian las formas subclínicas de presentación del HPV, y con sorpresa para el lector, aseguran que en el 90o/o de las neoplasias cervicales hay evidencia histológica del concurso del HPV.

Las células del epitelio cervical, una vez lesionadas por el HPV, no solamente expresan su daño estructural sino que sus antígenos ope-

Tabla 1.— *Displasia e infección por HPV. Caracteres Citomorfológicos*

Grupo I

Cuadro Citológico Koilocítico

1. Posee como elemento fundamental la "célula koilocítica", con los caracteres conocidos.
2. Muy amplio halo perinuclear, gran transparencia que contrasta con la oscuridad del núcleo displásico.
3. Existe marginación citoplasmática con bordes definidos. El citoplasma puede ser cianófilo, acidófilo o anfófilo.
Núcleos dobles o simples.
4. Cromatina generalmente granular o grumosa.
5. Las células koilocíticas son exclusivas o casi exclusivas en el extendido celular.
6. REGRESAN A LA NORMALIDAD APROXIMADAMENTE EN EL 95 o/o DE LOS CASOS

Grupo II

Cuadro Citológico Condilomatoso

1. Este cuadro citológico displásico es rico en por menores: halo perinuclear estrecho y muy claro.
2. Núcleos de bordes irregulares, a veces retraídos, picnóticos o carioréxicos, bi o multinucleados.
3. Cromatina generalmente granular o grumosa.
4. Placas disqueratóticas y queratocitos.
5. PROGRESAN A LESIONES MAS GRAVES EN APROXIMADAMENTE EL 75 o/o DE LOS CASOS.

Grupo III

Cuadro Citológico Condilomatoide

1. Poseen los caracteres del grupo II pero solo esbozados.
Halos muy estrechos y brillantes, perinucleares.
2. "Recortes citoplasmáticos" alrededor del citoplasma o en interior del mismo; parecen vacuolas, pero la claridad de éstas es impactante.
3. PROGRESAN A LESIONES MAS GRAVES APROXIMADAMENTE EL 75 o/o DE LOS CASOS.

ran ya sea proporcionando una mayor resistencia al huésped, frente al agresor o ya sea induciendo una acción carcinogénica irreversible; justamente, el destino que toma el tejido lesionado, en dos sentidos, regresión o progresión, fue un elemento de juicio inspirador en la planificación de este trabajo.

Nuestra experiencia sobre el HPV se inició en 1967 (en el Instituto del Cáncer de Quito). Las células del epitelio cervical infectadas por el virus, se asociaban a las displasias en el 75o/o de los casos.

Inicialmente solo conocíamos como manifestación viral relevante, la células koilocítica, elemento portador de un muy amplio halo perinuclear, de gran transparencia citoplasmática que contrastaba con la oscuridad del núcleo displásico; se trata de la "displasia koilocítica", lesión que es reversible en forma espontánea en el 95o/o de los casos; los hallazgos han sido publicados por nosotros en varias ocasiones (9, 10, 11, 12, 13, 14). Estas células corresponden al Grupo I de la tabla 1, Fig. 1.

Posteriormente nos percatamos que junto al cuadro citológico anterior, había otro cuadro

displásico caracterizado por presentar células con halo perinuclear muy estrecho y translúcido, placas disqueratóticas, etc, y que progresaban a lesiones más graves y al carcinoma en el 75o/o de los casos. Son las displasias condilomatosas del grupo II de la tabla 1 y Fig. 2.

Finalmente añadimos un tercer cuadro citológico que posee las características del cuadro citológico anterior pero solo esbozadas, destacándose en éste, células que han perdido fragmentos periféricos del citoplasma, o vacíos en el interior del mismo en forma de vacuolas, pero que se distinguen por la gran transparencia y nitidez de sus bordes. A este daño citológico lo llamamos arbitrariamente "recortes citoplasmáticos". Corresponden al grupo III de la tabla 1 y Fig. 3.

Este tercer grupo tiene una evolución similar al anterior, progresión en el 75o/o de los casos y, usualmente pasa desapercibido para el histopatólogo y colposcopista.

Insistimos en que estas agrupaciones citomorfológicas (I, II, III), son concordantes con nuestro criterio muy particular que se ajusta al objetivo de este artículo: preparar una vacuna

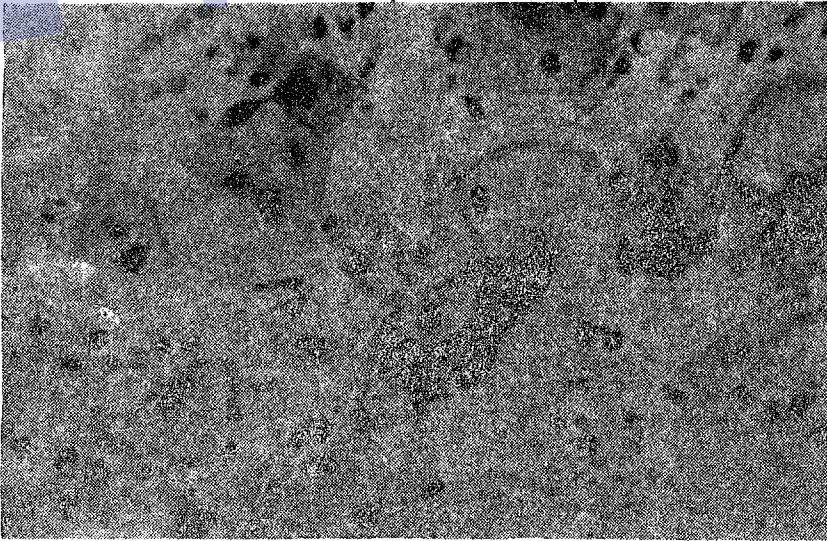


Fig. 1.— Cuadro citológico constituido por células koilocíticas; halos muy amplios y transparentes; la claridad de los citoplasmas contrasta con la oscuridad de los núcleos.

H.E. x 250

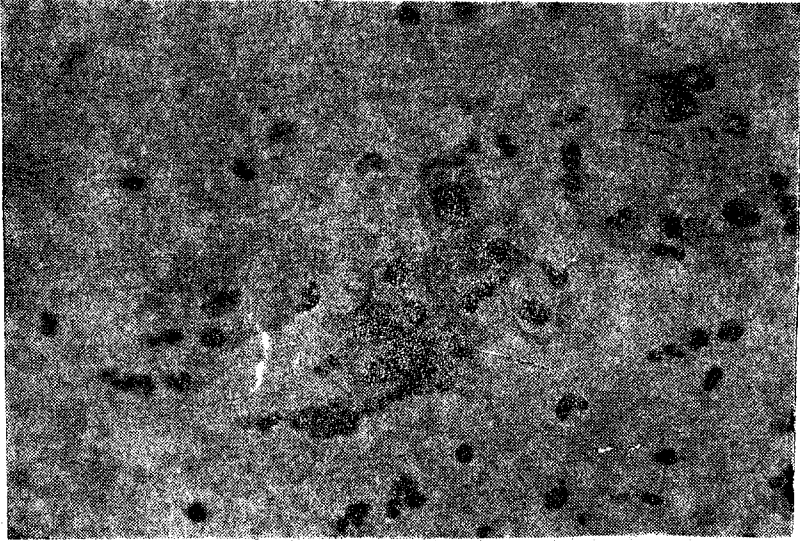


Fig. 2.— Cuadro citológico constituido por células condilomatosas; halos perinucleares estrechos y muy claros que contrastan con la oscuridad de sus núcleos displásicos.

Pertenece al grupo II de nuestra clasificación.

H.E. x 250

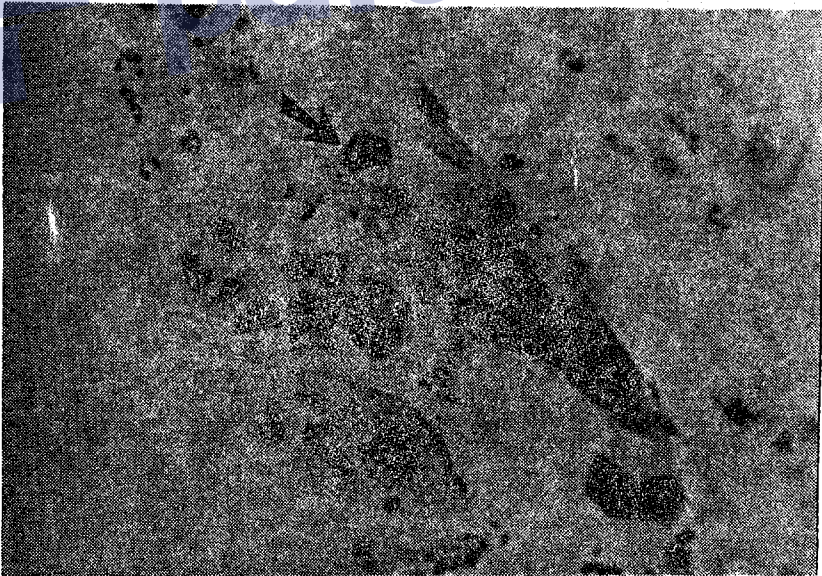


Fig. 3.— Cuadro citológico condilomatoide. Se caracteriza por presentar la morfología del grupo II, pero esbozada; halos perinucleares claros y muy estrechos, "recortes citoplasmáticos" (flecha).

H.E. x 250

con el material tipo II y III para aniquilar inmunológicamente a las displasias que con éste se asocian.

MATERIALES Y METODOS

Aprovechamos el estudio de 120.705 citologías vaginales realizadas desde el mes de enero de 1983 a diciembre de 1986, pertenecientes al Instituto del Cáncer.

Son pacientes que provienen de diferentes Centros de Recolección Citológica, en su mayor parte de 25 a 30 años de edad, de bajos recursos económicos y malas condiciones higiénicas.

Se emplearon técnicas de coloración de Papanicolaou, a veces citoquímicas, fluorescencia con el naranja de acridina, microscopía electrónica; métodos inmunocitoquímicos (peroxidasa-antiperoxidasa) y estudio de subpoblaciones linfocitarias.

De esta casuística se seleccionaron los pacientes para la obtención del material utilizado en la preparación de la vacuna.

Preparación de la vacuna

El material se preparó de tejido displásico del grupo II y III únicamente, e infectado por el HPV en la forma siguiente:

1.— Lavado del cervix afectado, con solución salina al 0.9 o/o. 2.— Si hay lesión visible se practicó la biopsia y se retiró el material celular maduro, queratósico. La toma de las biopsias, debe, en lo posible, ser guiada por el colposcopista. Si no hay lesión visible, se recolectan las células de la unión escamocolumnar por exfoliación. 3.— El material celular se somete a sonicación por 2 a 3 minutos en forma intermitente (Heat Systems ultrasonics INC), con el objeto de desintegrar las membranas celulares y poner al descubierto el contenido celular. Esta operación se hace empleando hielo seco para evitar la desnaturalización proteica. 4.— El material sonificado es filtrado a través de filtros millipore que van de 1 a 0.2 micróme-

tros (Millipore Corporation); para el objeto se emplea una bomba de aspiración al vacío (General Electric). 5.— Liofilización. (Flexy-Dry-FTS Systems, INC). 6.— Empleo de liposomas: a una pequeña alicuota del material liofilizado se añade 10 mg de fosfolípidos (L. alfa Phosphatidylcholine, Sigma) y se disuelve en 10 cc de solución salina al 0.9 o/o; se somete a una nueva "sonificación" en forma superficial y por pocos segundos. 7.— La técnica de estandarización de la vacuna para su utilización humana, es motivo de patente.

Inmunización del paciente

Se administran 3 gotas diarias de la vacuna, depositadas bajo la lengua, en ayunas, por 1 a 6 meses, hasta que desaparezca la lesión displásica cervical.

Los controles citológicos son periódicos. Este tratamiento se inicia inmediatamente después de terminada la preparación, la misma que se mantiene en refrigeración, a -80°C.

RESULTADOS

Los resultados están resumidos a continuación y en la tablas 2 y 3.

En 120.705 citologías vaginales se encontraron 5.432 displasias (4.5 o/o).

De las 5.432 displasias, estaban asociadas al virus papiloma humano, 4.079 (75 o/o).

De las 4.074 displasias asociadas al virus papiloma humano, 2.241 (55 o/o) pertenecían al grupo I y 1.833 (45 o/o) pertenecían a los grupos II y III.

Del grupo I, el 95 o/o se curarían espontáneamente.

De los grupos II y III, el 76 o/o progresarían a displasias más graves y al carcinoma, sin tratamiento.

De las 1.833 pacientes de grupos II y III, se trataron con vacuna 66 pacientes seleccionadas al azar.

De las 66 pacientes, 60 (91 o/o) mostraron regresión total, citológica de sus lesiones, con tratamiento. Hubo progresión en 6 casos (9 o/o).

Tabla 2.— *Regresión de las displasias luego de la vacunación.*

Displasias leves	56 o/o
Displasias moderadas	29 o/o
Displasias severas	15 o/o

Tabla 3.— *Vacunoterapia en displasias cervicouterinas*

No. de Casos de displasias asociadas al HPV y lesiones de tipo II y III	66 casos 100 o/o
Con vacunación: Regresión total	60 casos 91 o/o
Con vacunación: Progresión	6 casos 9 o/o

DISCUSION

En la tabla 1 resaltamos el curso evolutivo de los 3 grupos de displasias asociadas al HPV.

Las células infectadas por el HPV representan una gran población, cargada de antígenos virales múltiples; el destino de las lesiones ocasionadas solo tiene una guía, la estructura citomorfológica.

Revisemos algunos datos que nos hagan conocer con mayor profundidad la biología de estos virus, su expresión morfológica, su mecanismo inmunológico y busquemos razones en favor de nuestro propósito: Junko Saito, Masuo Intsudo y otros (3) valiéndose de un suero antipapiloma virus (Dako Co.) vieron que parte del tejido carcinomatoso del cervix y el tejido condilomatoso que los acompañaba mostraron el antígeno HPV.

En algunos casos hemos observado que en las lesiones displásicas comunes, "no virales", incursionaron las células koilocíticas ocasionando regresión de las displasias en corto plazo.

En otras ocasiones, la displasia condilomatosa o condilomatoide (tipo II y III), hábiles para deteriorar las células y transformarlas al carcinoma, se detuvieron en su evolución ante la presencia de las células koilocíticas. Estos acontecimientos podrían deberse a mutaciones

genéticas que alteran el curso evolutivo de las lesiones en estudio.

William Janet (15) empleó como vacuna, preparaciones crudas del material celular papilomatoso bovino, con éxito parcial; quizás, el gran "coctel de anticuerpos" formado, solo reconoció parcialmente el tejido condilomatoso.

Creemos que nuestro camino es más acertado: seleccionar un material morfológicamente reconocido (tipo II y III), el más proclive en las carcinogénesis, material antigénico que detendría el curso de las lesiones precancerosas.

Vale recalcar que hemos tenido cuidado de que la vacunoterapia no fuera acompañada de ningún otro tratamiento tópico o sistémico.

Igualmente, debemos señalar que, por precaución, no hemos tratado a mujeres embarazadas.

Debemos también mencionar que en la tabla 1 no esta incluido el condiloma atípico, pues éste constituye casi una entidad aparte por su estructura muy especial: cromatina borrosa, en "tinta china", etc. impresionante para los citólogos inexpertos, quienes lo confunden frecuentemente con carcinoma. Según algunos autores (1) en el 40 o/o de los casos está asociado al carcinoma.

En la preparación de la vacuna tampoco se han tomado en cuenta los condilomas en

forma aislada, (acuminado, plano, invertido, etc.) sino la infección por HPV en forma global.

En nuestros extendidos celulares hemos observado estructuras celulares mixtas en las que coexisten la morfología de los 3 grupos (I, II y III). Estos casos son poco frecuentes. En éstos, seguimos su evolución en busca de nuevos datos.

Además advertimos que los corpúsculos virales pueden ser visualizados tanto en las células como en las esferas liposómicas, por métodos inmunológicos e infraestructurales; pero, a veces, no se observan, sin que esto signifique su ausencia; fenómeno vinculado a la estructura de los virus (1).

Por último recordemos que existen formas subclínicas de las infecciones por HPV que se asocian a los carcinomas en el 9 o/o de los casos (8) lo cual nos sugiere que lesiones carcinomatosas avanzadas, podrían también ser beneficiadas por nuestra terapia. Este trabajo ya lo hemos iniciado.

El material viral hemos incluido en liposomas (farmacovectores). La acción inmunopotencializadora de estos fosfolípidos es conocida.

Los liposomas, al ser sometidos a la "sonificación", forman vesículas que se desintegran y reintegran, momento en el cual, el material viral es atrapado en el interior de dichas esferas las cuales llegan al torrente circulatorio para luego ser depositadas en el sistema retículo endotelial. Las enzimas digestivas no parecen afectar las envolturas liposómicas.

Porfal et al. (16) administraron insulina atrapada en liposomas por vía oral a ratones, ocasionando hipoglicemia; y, corrigió la glicemia en ratones diabéticos provocada por la estreptozotocina.

En la sangre periférica se observó una infrecuente y ligera linfocitosis. Los linfocitos B aumentaron en el 33o/o, sin poder demostrar en forma cuantitativa su respuesta anticorporal. Los linfocitos T supresores se deprimieron en el 25o/o de los casos.

En conclusión, hemos desarrollado una vacuna enteramente inocua y que a pesar de la falta de refinamiento, ostenta su utilidad en la

prevención del carcinoma cervicouterino, como lo demuestra especialmente la tabla 3. Y, mientras los progresos científicos de hoy en día no esclarezcan el verdadero rol de HPV en la inmunogénesis, continuaremos ofreciendo a los pacientes nuestro preparado, con miras a detener el desarrollo del carcinoma cervicouterino.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Neisell A.: Comunicación personal de un cursillo dictado en Madrid (España) en mayo de 1988.
2. Harold Zur Hausen. The role of Papilloma viruses in Human Cancer. In: Accomplishments in Cancer Research, Ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia 1985, pp: 220-226.
3. Saito J, Intsudo M, Inove N, et al.: New Human Papillomavirus Sequences in Female Genital Tumors from Japanese Patients, Gann. 78: 1987.
4. Yoshikawa H, Matsukura T, Yamamoto E. et al.: Occurrence of human papilloma type 16 and 18 DNA in cervical carcinomas from Japan: Age of Patients and Histological type of carcinoma. Gann 76: 667, 1985.
5. Aurelian L, Kessler I, Rosenheim N, et al.: Viruses and Gynecologic Cancers. Cancer, 48: 455, 1981.
6. Essex M.: Role of Retrovirus in Immune Suppression that May Result in Cancer. In: Accomplishment in Cancer Research, Ed. J.B. Lippincott Company. Philadelphia 1986, pp: 183-193.
7. Winker, B.: Koilocitic lesions of the cervix. Cancer 53: 1081, 1984.
8. Reid R, Mrcog M, Stanhope R, et al.: Parasitosis del cuello uterino. Tribuna Médica, 49: 32, 1980.
9. Narváez CR.: Parasitosis del cuello uterino. Tribuna Médica, 49: 32, 1980.
10. Narváez C.R.: Evolución de las displasias del cuello uterino. Tribuna Médica, 5: 27, 1983.
11. Narváez C.R.: Displasias: Estudio Citomorfológico. Revista Médica del IESS, 45: 47, 1979.

12. **Narváez C.R.:** Displasias del Cuello Uterino. Células en "halo". *Tribuna Médica*, 20:17, 1981.
13. **Narváez C.R.:** Displasias especiales del cuello uterino: Células en halo. *Tribuna Médica*, 50:17, 1981.
14. **Narváez C.R., Ayre J.E., Leguerrie J.M.:** Evidence of viral activity in cells of carcinoma in situ and dysplasia of the Human Cervix. *Cytology*, XI: 53, 1971.
15. **Willian Janet:** Citado por Saito J. (3) y Harold Zur Hausen (2).
16. **Portal A, Duran F, Aubert P.:** L'avenir Therapeutique des liposomas. *Presse Medicale*, 21: 1749, 1979.

