

**Tecnología del siglo XXI en el  
diagnostico y tratamiento de  
lesiones precancerosas:  
¿ en donde estamos y hacia donde  
vamos?**

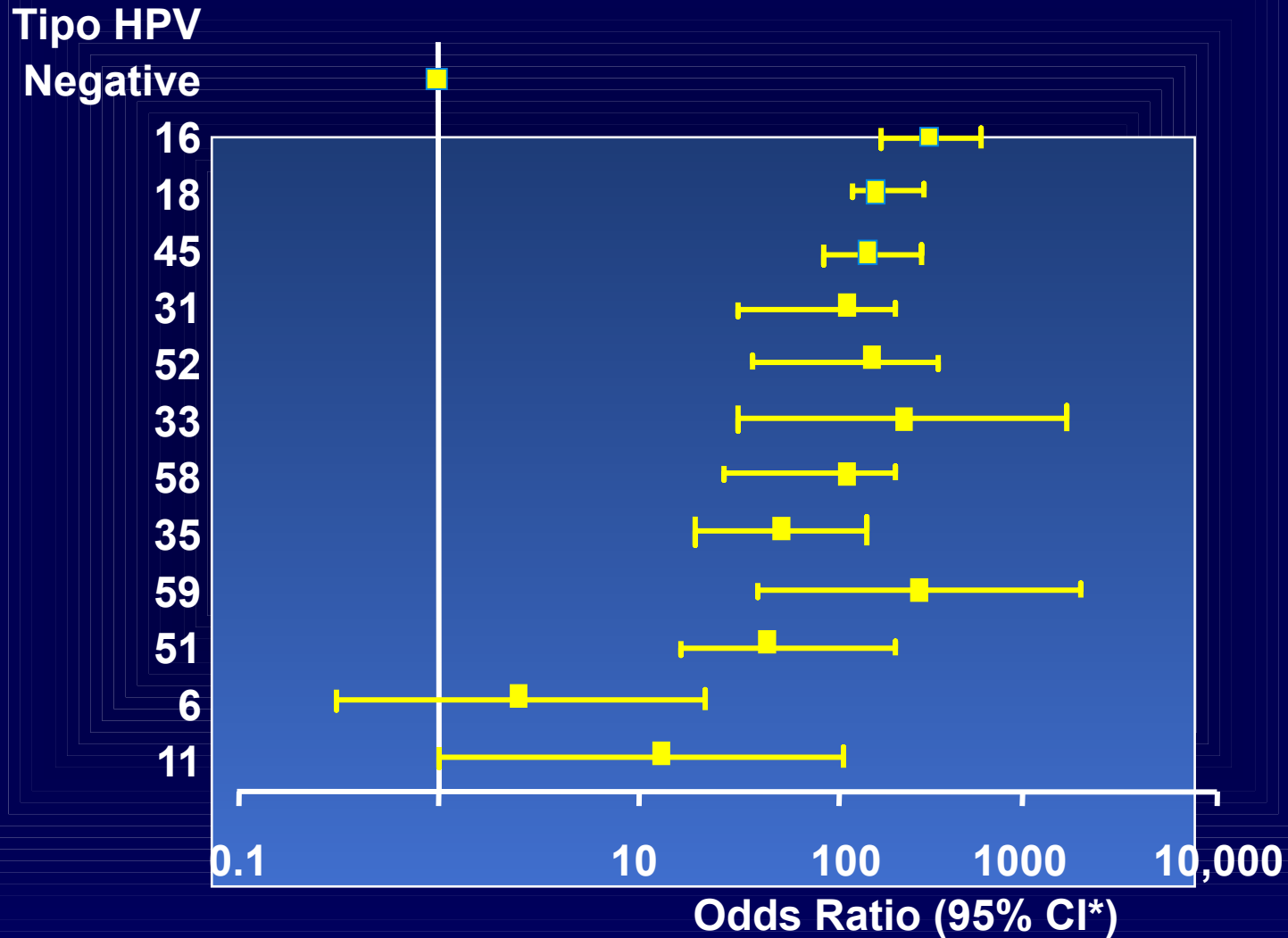
Prof. Dr. Silvio Tatti

Presidente Federación Internacional  
de Colposcopia (IFCPC)

The background of the slide is a solid dark blue color. Overlaid on this background is a series of numerous concentric squares, each slightly offset from the previous one, creating a tunnel-like or depth effect. The squares are drawn with thin, light blue lines.

# **Nuevos Desafíos Diagnósticos para el Siglo XXI**

# Riesgo de Cáncer invasor del Cervix por tipo viral específico<sup>1</sup>



\*CI = confidence interval

# Factores que predicen el Sil de alto grado

- **Sobre expresion de E6/E7**
- **Impacto celular:**
- Se da en células que proliferan y no van a la apoptosis
- Producen inestabilidad genómica
- El resultado es una alteración estructural de los cromosomas
- Las lesiones se transforman en aneuploides
- Strip de E 6

# Factores que predicen el Sil de alto grado

## Potenciales biomarcadores:

- Sobre expresión de la p16
- Actividad de la telomerasa en los tejidos
- Marcadores cromosómicos como el TSLC1
- Niveles de E6/ E7 en las células

# Analysis of human kallikrein 7 expression as a potential biomarker in cervical neoplasia

- La sobreexpresión de kallikrein 7, una enzima proteolítica importante para la descamación celular, podría estar involucrada en la carcinogénesis, particularmente en la metástasis tumoral y en la invasión
- En este estudio se evaluaron los niveles de la proteína hK7 (human kallikrein 7) por inmunohistoquímica en 367 biopsias cervicales:
  - cervicitis (sobre 35 casos)
  - H-SIL (sobre 51 casos)
  - SCC (sobre 197 casos)
  - adenocarcinomas (sobre 53 casos)

**“Las diferencias en la expresión de hK7 podrían potencialmente ser usadas como biomarcadores para la caracterización de diferentes estadios de la enfermedad cervical”**

# Analysis of human kallikrein 7 expression as a potential biomarker in cervical neoplasia

**Table 1.** Association of intense hK7 positivity and grade of cervical lesion

Diagnostic classification	hK7 cellular staining		OR (95% CI) <sup>1</sup>
	<50%	>50%	
Cervicitis + L-SIL	84.5% (56)	15.2% (10)	1.0 (ref.)
H-SIL	45.1% (23)	54.9% (28)	6.8 (2.8–16.2)
SCC	32% (63)	68% (134)	11.9 (5.7–24.8)
Adenocarcinoma	7.5% (4)	92.5% (49)	68.6 (20.2–232.6)

<sup>1</sup>*p*-value < 0.001 (Fisher exact test). Numbers in parenthesis correspond to samples contained in each category.

# Immunocytochemical Expression of p16<sup>INK4A</sup> and Ki-67 in Cytologically Negative and Equivocal Pap Smears Positive for Oncogenic Human Papillomavirus

## Resultados:

- Luego de un seguimiento de 36 meses de las pacientes con ASC-US 6 mujeres continuaban con ASC-US en el PAP, de ellas 4/6 eran HPV+ y expresaban p16 y Ki67.
- 2/43 pacientes con ASC-US tuvieron diagnóstico de H-SIL (4.6%), y 1/43 tenía diagnóstico de L-SIL (2.3%). Todas ellas fueron positivas para HPV, p16 y Ki-67.

**“Las pacientes con diagnóstico de ASC-US y HPV de alto riesgo positivo y p16<sup>INK4A</sup> y Ki67 podrían observarse para excluir la presencia de HSIL. La combinación de estos 2 marcadores sería útil en el manejo de las pacientes con citología incierta”**



Immunosuppressive cytokine Interleukin-10 (IL-10) is up-regulated in high-grade CIN but not associated with high-risk human papillomavirus (HPV) at baseline, outcomes of HR-HPV infections or incident CIN in the LAMS cohort

- Se observó expresión de IL-10 up-regulada en el CIN de alto grado y mantuvo su valor como factor independiente de CIN 2+ y CIN 3+ en análisis multivariados

**“La IL-10 podría tener un rol importante en crear un microclima que favorezca la progresión de la enfermedad cervical y la evasión del sistema inmune por el HPV de alto riesgo”**

# Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenosquamous carcinoma

- El bloqueo del receptor de tirosina kinasa (RTKs) es eficaz en el tratamiento de distintos tumores
- El objetivo de este estudio fue investigar la sobre-expresión y activación de mutaciones genéticas de EGFR (epidermal growth factor receptor), PDGFRA (platelet derived growth factor receptor-A) y VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptors 2) RTKs /receptor de tirosin kinasa) en 30 carcinomas adenoescamosos

# Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenosquamous carcinoma

A pesar de la ausencia de las mutaciones del EGFR y la activación de PDGFRA, la presencia de la sobreexpresión de estos tres importantes targets terapéuticos puede ser importante en la predicción de la sensibilidad del carcinoma adenoescamoso a drogas específicas anti-RTK

## Up-Regulation of Plasminogen Activator Inhibitor-2 Is Associated With High-Risk HPV and Grade of Cervical Lesion at Baseline but Does Not Predict Outcomes of High-Risk HPV Infections or Incident CIN

- El inhibidor de la proteasa serpina-B2 (plasminógeno inhibidor del activador-2 [PAI-2]) protege a la pRb de la degradación en células HeLa HPV18+
- El objetivo fue evaluar si esta inhibición es significativa en el desarrollo de la infección por HPV

## Up-Regulation of Plasminogen Activator Inhibitor-2 Is Associated With High-Risk HPV and Grade of Cervical Lesion at Baseline but Does Not Predict Outcomes of High-Risk HPV Infections or Incident CIN

- El PAI-2 tiene mayor expresión en paralelo con el grado de la lesión grado.
- La expresión nuclear de PAI-2 se relacionó significativamente relacionada con la detección de VPH-HR y tenía un lineal con la carga de HPV-HR.
- La expresión de PAI-2 no tuvo valor en la predicción del desarrollo de la infección por HPV-HR; ni de los puntos finales surrogados (CIN 1 +, CIN 2 + incidentes) de progresión de la enfermedad.
- La expresión de PAI-2 está up-regulado en la transición de CIN 2 y CIN 3.
- Los efectos supresores del PAI-2 sobre el HPV-HR no se relacionaron con resultados más favorables de las infecciones por HPV-HR ni con menor riesgo de progresión a la neoplasia intraepitelial cervical.

**Up-Regulation of 14-3-3 $\sigma$  (Stratifin) Is Associated With High-Grade CIN and High-Risk Human Papillomavirus (HPV) at Baseline but Does Not Predict Outcomes of HR-HPV Infections or Incident CIN in the LAMS\* Study**

*14-3-3 $\sigma$  is not inactivated in cervical carcinoma and CIN but is up-regulated on transition from CIN 2 to CIN 3. Its normal functions in controlling G1/S and G2/M checkpoints are being bypassed by HR HPV.*

## Up-regulation of Lipocalin 2 Is Associated With High-Risk Human Papillomavirus and Grade of Cervical Lesion at Baseline but Does Not Predict Outcomes of Infections or Incident Cervical Intraepithelial Neoplasia

- Expression of NGAL/LCN2 increased with lesion grade (odds ratio [OR], 3.86; 95% confidence interval [CI], 1.53-9.71;  $P = .001$ ). Up-regulation was also related to HR-HPV detection (OR, 2.21; 95% CI, 1.15-4.24;  $P = .016$ ) and showed a linear relationship to HR-HPV load ( $P = .002$ ).
- NGAL/LCN2 expression was of no value in predicting the outcomes of HR-HPV infections or the surrogate end points (incident CIN 1+ and CIN 2+) of progressive disease.

# Rol Celular de p16

- p16 es una proteína supresora de tumores
- Inhibe el ciclo celular al interferir con la actividad del complejo ciclina kinasa
- Ausente en un alto porcentaje de casos de cánceres no HPV relacionados como el de colon, mama, vejiga, etc
- Sobreexpresado en respuesta a la infección de HR HPV, debido a la interferencia de HR HPV E7 con la proteína supresora de tumores pRB



# Entusiasmo en Estudios Tempranos con p16

- “specific identification of dysplastic p16<sup>INK4a</sup> .....staining allows the sensitive and cervical cells.....in cervical smears.”  
*(Klaes 2001, Int J Cancer 92:276)*
- “In well-equipped institutions p16<sup>INK4a</sup> offers an alternative to HC.”  
*(Saqi 2002, Diag Cytopathol 27:365)*
- “p16<sup>INK4a</sup> marks dysplastic squamous and glandular cells of the cervix with sensitivity of 99.9% and specificity of 100%.”  
*(Murphy 2003, J Clin Pathol 56:56)*
- “p16<sup>INK4a</sup> .....could be used as a surrogate marker of high-risk HPV.”  
*(Sahebali 2004, Int J Cancer 108:871)*

# P 16

- Colposcopia no es el gold estándar ya que no puede ser tomada en el lugar exacto, una biopsia 50% dos biopsias 80%.
- Histopatología no es el gold estándar por variabilidad inter observador y variación en diferente sectores de la pieza fijada.
- CIN 2 índice Kappa 0,20.
- CIN 3 índice Kappa 0,60.

# P 16

- El CIN 2 en adolescentes y mujeres jóvenes es el homologo del ascus en la citología.
- La eliminación de la variante diagnostica y mejoramiento del índice Kappa puede ser realizado mediante la utilización de Biomarcadores.
- El Prime time de marcadores a la fecha es la P 16.

# P 16 ¿Cuándo ?

- Biopsia CIN 1 + Citología HSIL
- Histopatología de CIN 2
- Histología de CIN 2 – 3 Vs. Metaplasia inmadura
- No concordancia entre patólogos en el diagnóstico de CIN 2-3
- No se debe utilizar en el diagnóstico histopatológico de CIN 1 solamente.

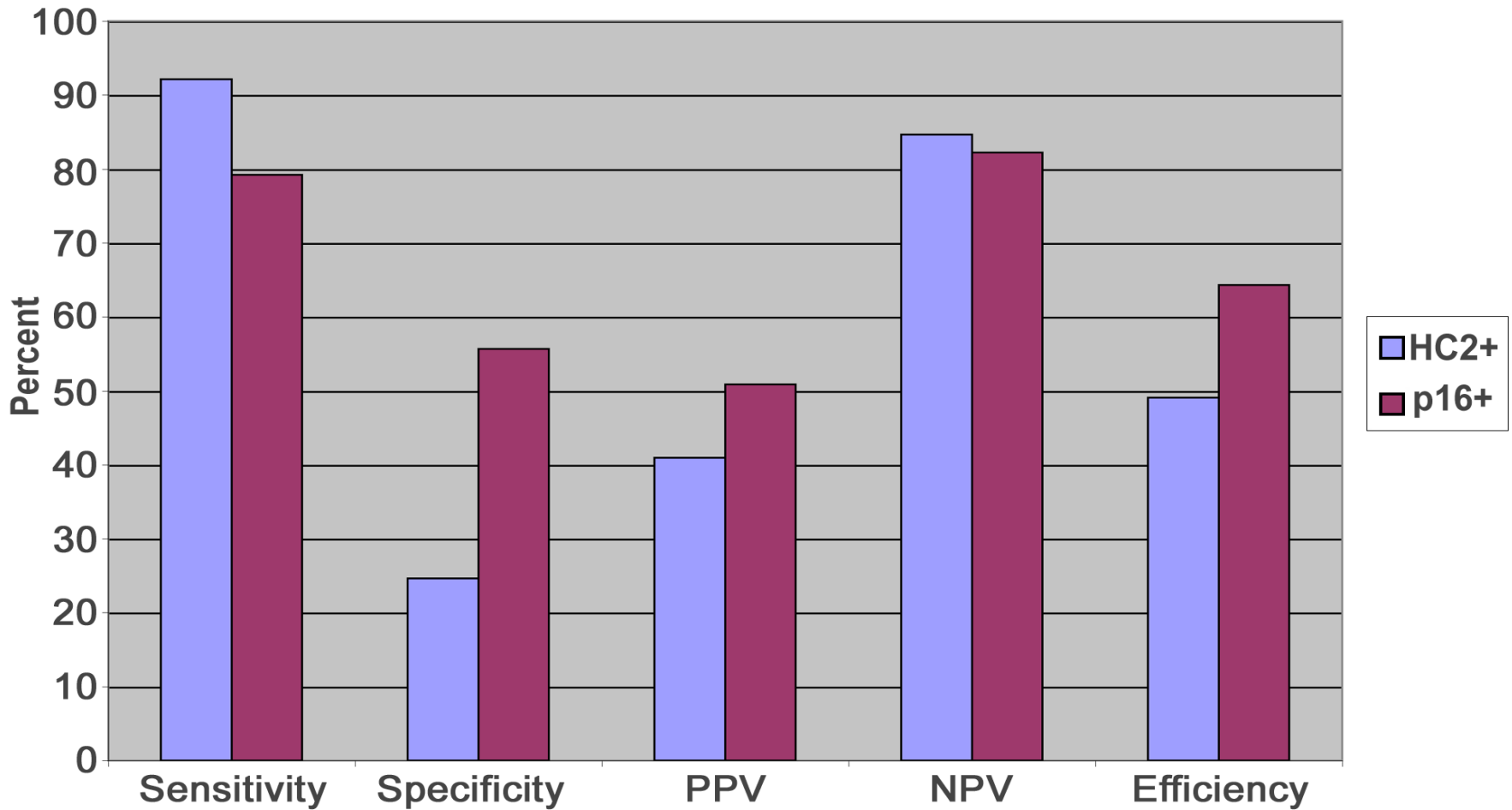
# P 16 ¿Qué define?

- Solamente cuando es ampliamente positivo en el bloque de parafina.
- Si el CIN 2 es una enfermedad preneoplásica o solo una infección transitoria
- Por lo tanto la paciente debe ser tratada
- Aclara el diagnóstico entre CIN 2 -3 cuando hay variación inter observador
- Aclara el diagnóstico en situaciones poco claras como atrofia, metaplasia inmadura ,etc.

# P 16 ASCCP- CAP LAST Project

- Es un consenso que define a P 16 como el Biomarcador a utilizar en los algoritmos de la ASCCP y en las situaciones que antes hemos descripto. Marzo 2012

# Clinical Performance of HC2 vs p16



# CONCLUSIONES: UPDATE

- Ante una prueba de autotoma positiva a la misma se le podran efectuar marcadores moleculares (CAD M1 y MAL ) que tienen un VPP del 99%
- Asi sólo se citarán a aquellas mujeres que padezcan la enfermedad evitando consultas y traslados innecesarios



The background of the slide consists of numerous concentric squares, each slightly offset from the center, creating a tunnel-like or depth effect. The squares are light blue and set against a dark blue background.

# **Nuevos Desafíos Terapéuticos para el Siglo XXI**

# NOMENCLATURA IFCPC 2011

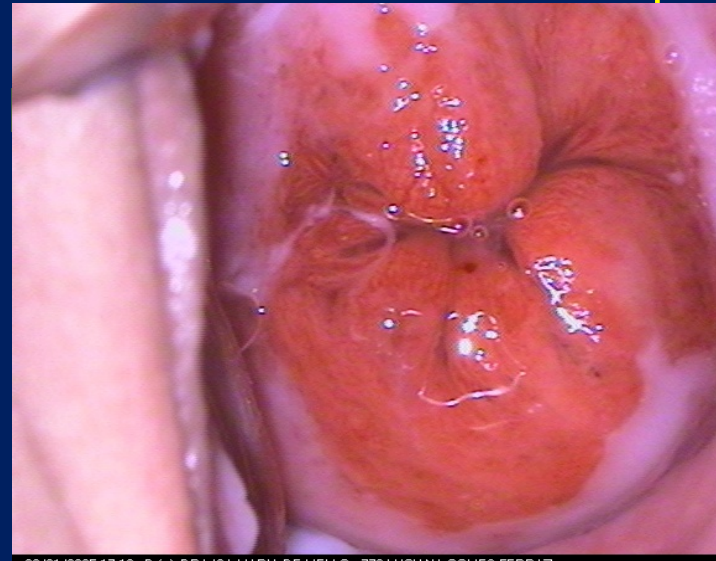
Aceptada en el Congreso Mundial de Río, 5 de Julio de 2011

Terminología colposcópica del <b>cuello uterino – apéndice</b> de IFCPC 2011 <sup>1</sup>	
Tipos de tratamiento de escisión	Tipo de escisión 1,2,3
Medidas de la muestra de escisión	<b>Largo</b> – distancia del margen distal/externo al margen proximal/interno <b>Grosor</b> – distancia del margen estromal a la superficie de la muestra extirpada <b>Circunferencia</b> (Opcional)- el perímetro de la muestra extirpada.

# NOMENCLATURA IFCPC 2011

Aceptada en el Congreso Mundial de Río, 5 de Julio de 2011

Zona de Transformación Tipo 1



26/01/2005 17:18 - Dr(a). DRA ISA MARIA DE MELLO - 770 LUCIANA GOMES FERRAZ

Zona de Transformación Tipo 2



12/04/2002 12:31 - Dr(a). - 438 CAROLINE F

camocolumnar:

no visible.

Zona de Transformación Tipo 3



# NOMENCLATURA IFCPC 2011

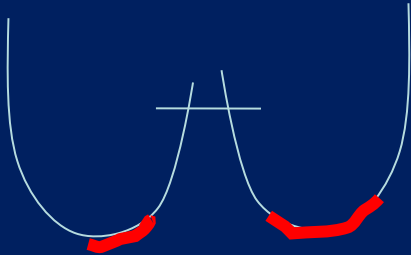
Aceptada en el Congreso Mundial de Río, 5 de Julio de 2011

Terminología colposcópica del <b>cuello uterino – apéndice</b> de IFCPC 2011 <sup>1</sup>	
Tipos de tratamiento de escisión	Tipo de escisión 1,2,3
Medidas de la muestra de escisión	<b>Largo</b> – distancia del margen distal/externo al margen proximal/interno <b>Grosor</b> – distancia del margen estromal a la superficie de la muestra extirpada <b>Circunferencia</b> (Opcional)- el perímetro de la muestra extirpada.

# TRATAMIENTO DEL HSIL

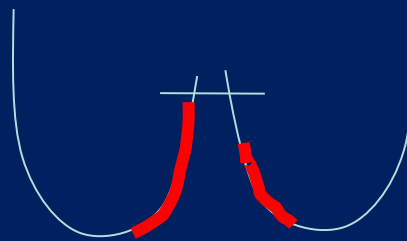
## Debe adecuarse al Tipo de Zona de Transformación

ZT Tipo I



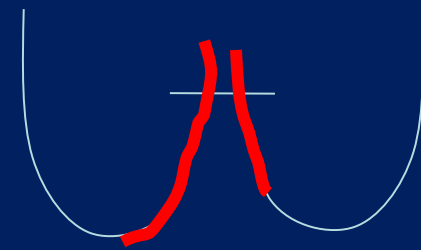
- completamente ectocervical
- totalmente visible
- puede ser grande o pequeña

ZT Tipo II



- tiene algún componente endocervical
- totalmente visible
- el componente endocervical puede ser pequeño o grande

ZT Tipo III



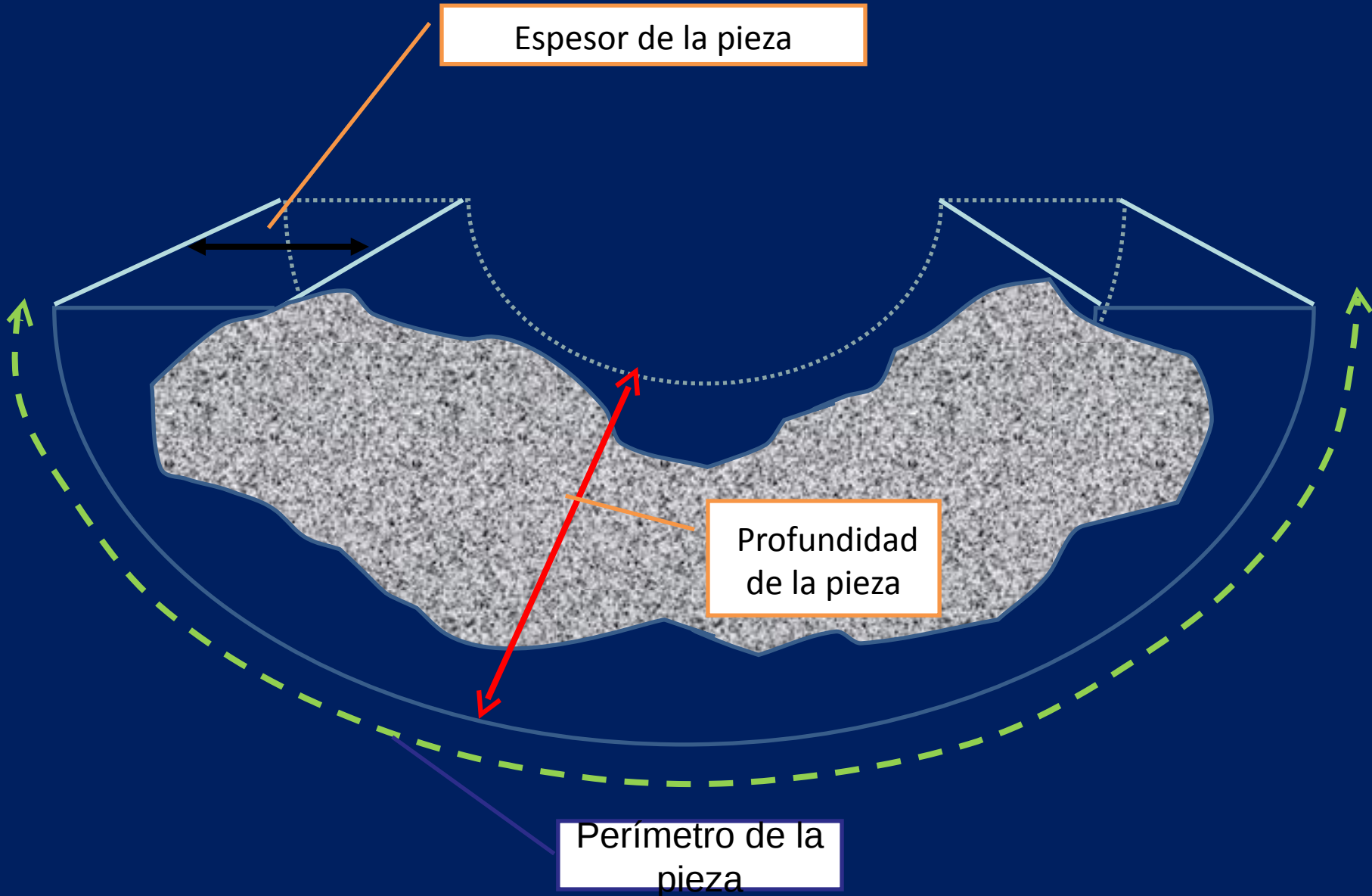
- tiene componente endocervical
- no es totalmente visible
- el componente ectocervical puede ser pequeño o grande

# Dimensiones de la pieza escisionada de la ZT

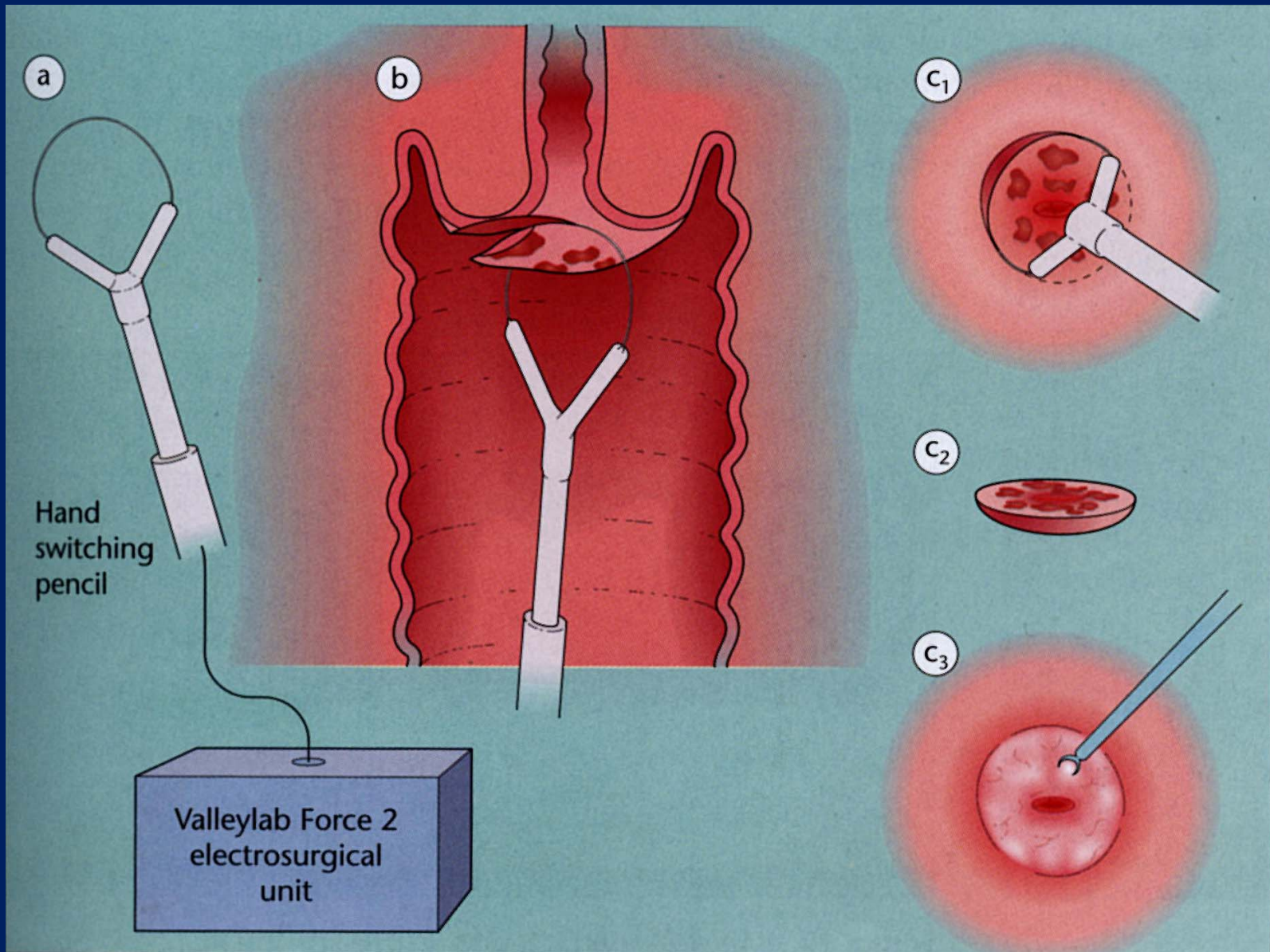
Espesor de la pieza

Profundidad de la pieza

Perímetro de la pieza

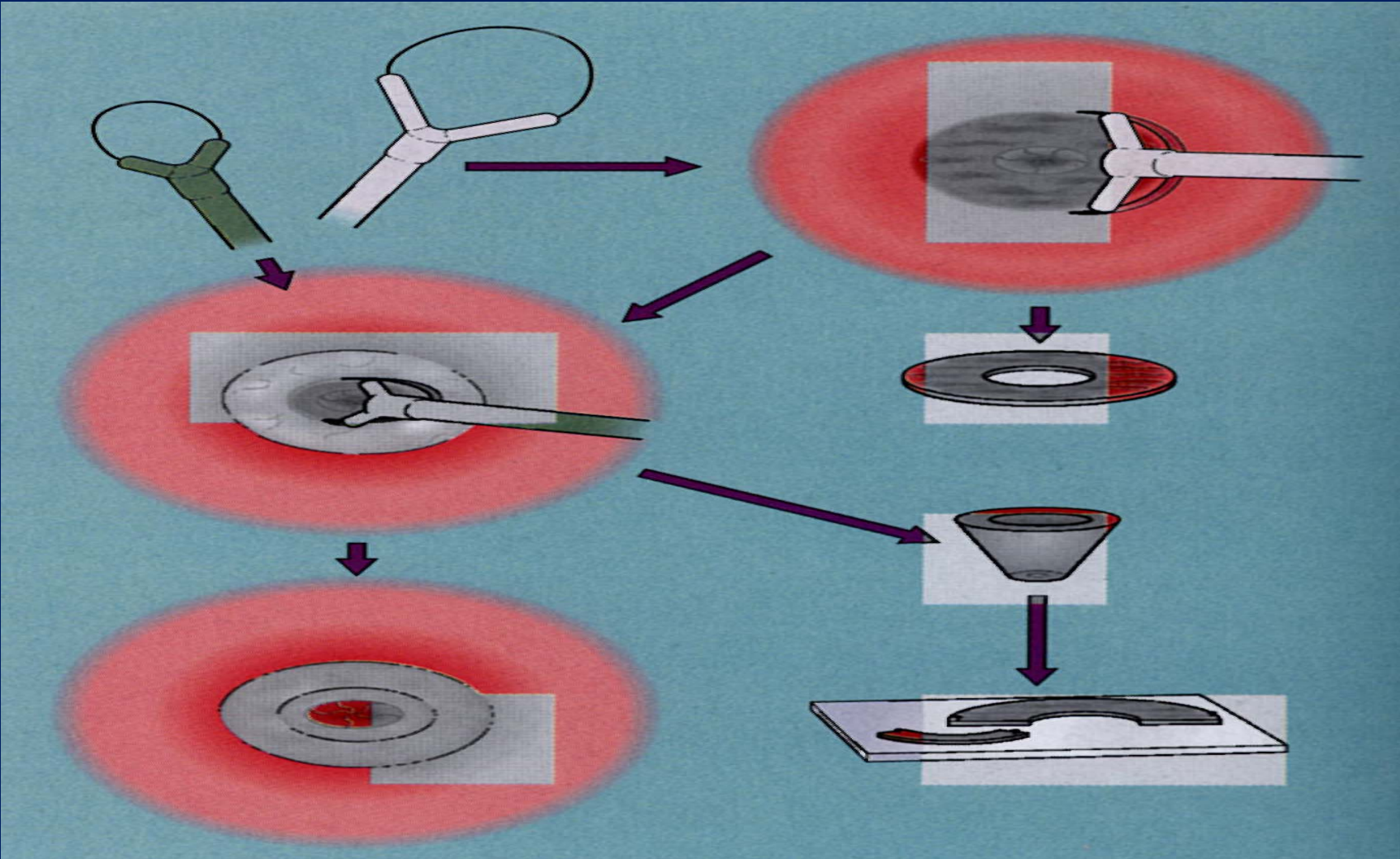






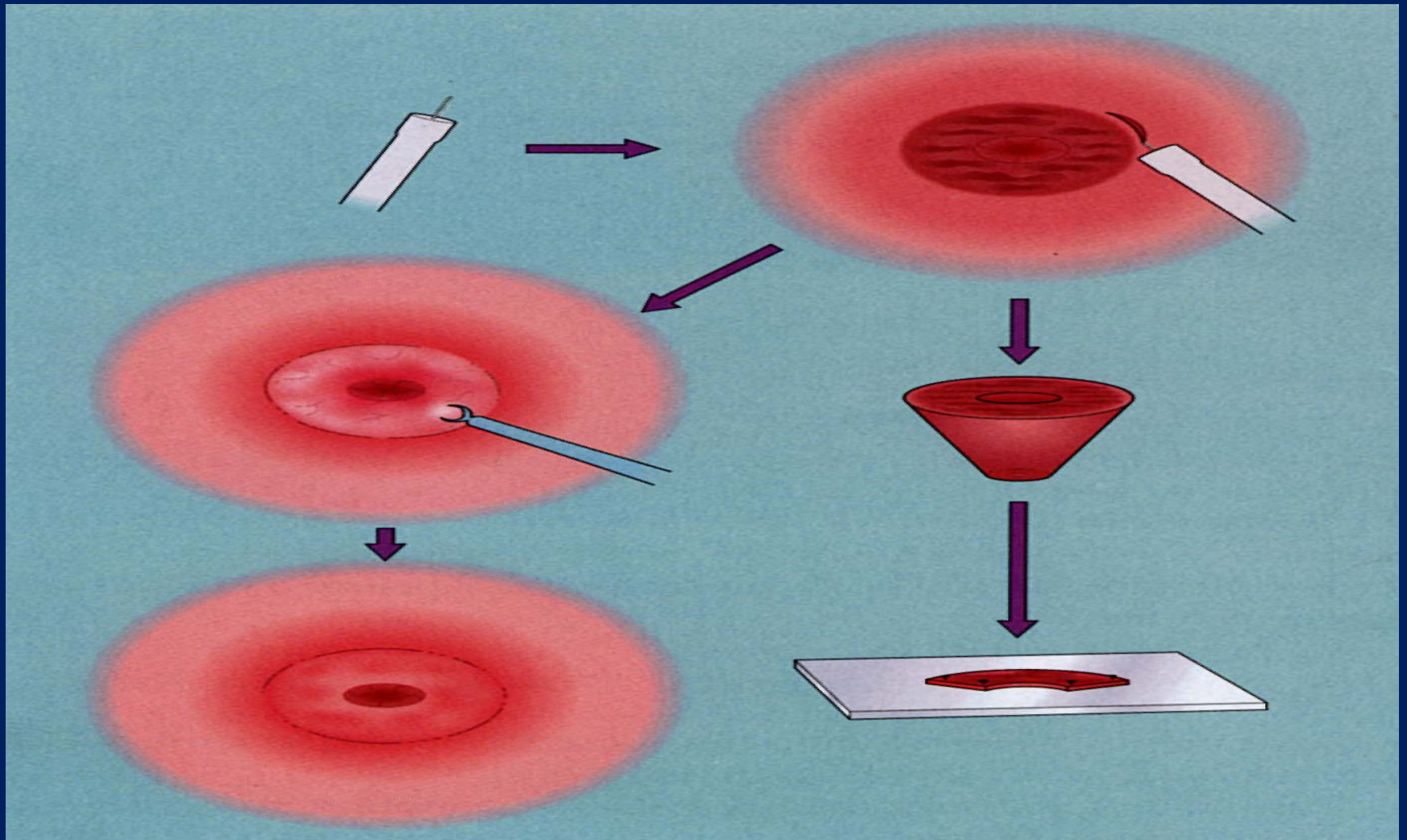
## COLPOSCOPY Management Options

# Escisión Tipo 2

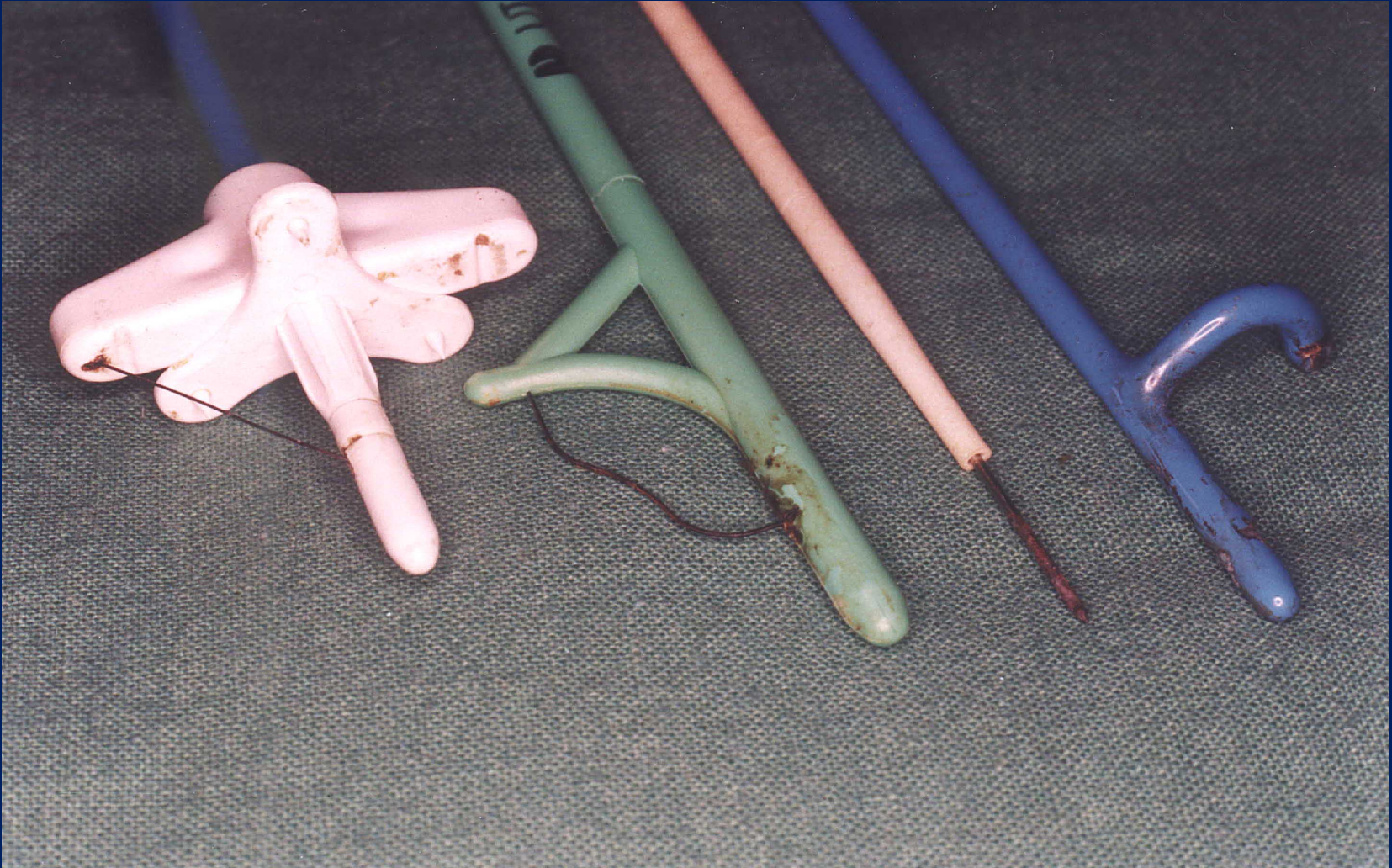




# Escisión Tipo 3







## COLPOSCOPY Management Options

W PRENDIVILLE ■ J RITTER ■ S TATTI ■ L TWIGGS

# Propuesta de clasificación del tratamiento escisional

- Escisión Tipo 1 (grande o pequeña)
  - Escisión de una ZT expocervical
- Escisión Tipo 2 (grande o pequeña)
  - Escisión de una ZT tipo 2
- Escisión Tipo 3 (grande o pequeña)
  - Escisión de una ZT tipo 3
  - Escisión de sospecha de CGIN o micro o para una escisión previa incompleta

# Vacunas terapéuticas

28 protocolos (fase I/II), n=790

La mayoría E7 de VPH 16 en diferentes formulaciones

- Sin mayores efectos adversos
- Inmunogénicos: anticuerpos, CTL, citoquinas
- Prometedoras en pacientes con lesiones precursoras (CIN, VIN, AIN)
- Pobre correlación entre respuesta clínica e inmunológica
- Diferentes antígenos (E6, E2, L2)
- Activación del sistema inmune (adyuvantes)

# Estrategias para el desarrollo de nuevas drogas antitumorales

**PARADIGMA  
“EMPIRICO”**

Las observaciones comienzan con los efectos de compuestos naturales (o sintéticos)



**PARADIGMA  
“MOLECULAR”**

Focalizados en moléculas diana que sostienen el comportamiento aberrante de células cancerosas

Las nuevas estrategias complementan tratamientos convencionales (cirugía, quimioterapia, radioterapia)

# Desarrollo de Nuevos Compuestos Antitumorales

## 1) Elegir la molécula diana correcta

Apropiada (“Biología del Tumor”)  
“Drogable”

## 2) Elegir la molécula diana correcta

In silico  
In vitro  
In vivo

3) Seleccionar una estructura química o compuesto similar capaz de interactuar con la molécula diana elegida

4) Seleccionar inhibidores, activos para bloquear el objetivo, tanto in vivo como in vitro

Citostático/citotóxico (efecto clásico)

Proapoptótico

Antimigratorio o antiinvasivo

Antiangiogénico

Efecto inmunológico

5) Seleccionar un inumarcador que refleje el efecto de inhibidores contra la molécula objetivo

“downstream” Perfil Genético del objetivo  
“Firma Genética”

6) Seleccionar un compuesto líder para comenzar el desarrollo clínico



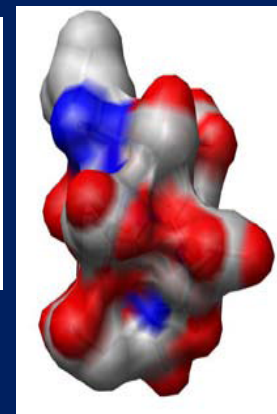
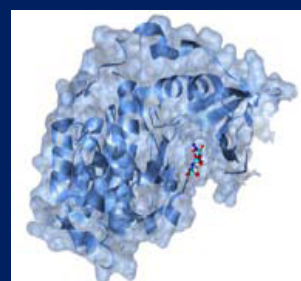
# R&D de un Anti-CK2 Compuesto Peptídico

## CIGB-300

### P15-Tat

Desarrollado por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología,  
La Habana (Cuba)

CK 2



Péptido cíclico orientado al sustrato de  
dominio de fosforilación ácida (CIGB-300)

CIGB 300

Sustrato CK2  
Ej.: E7 HPV



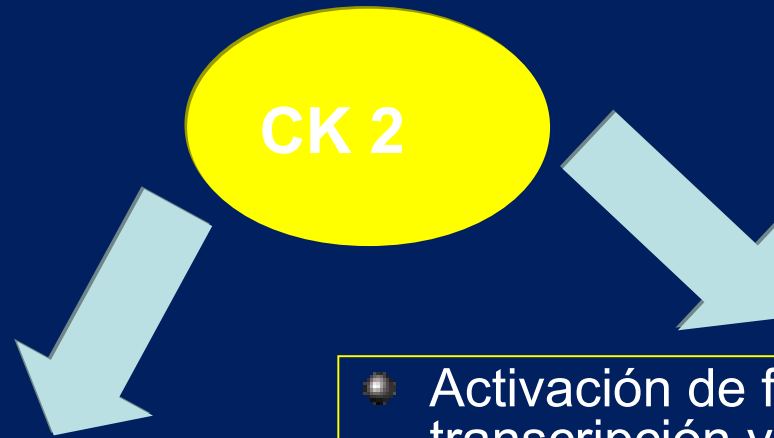
**CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA**

Ave. 31 e/ 158 y 190, Cubanacán, P.O.Box 6162, La Habana 10600, CUBA.  
Telef.:(53-7) 21 6013, 21 8008, 21 8464, Fax (53-7) 21 8070, 33 6008

# Rol de la casein kinasa 2 C(K 2 ) en el cáncer

Sobreexpresada en Cáncer de:

Pulmón, Mama, Colon, Prostata, Cerebro



- Resistencia a la apoptosis

- Activación de factores de transcripción y de oncogenes virales (E7 de HPV)
- Activación de proteínas involucradas en la patogénesis del HIV y del HCV

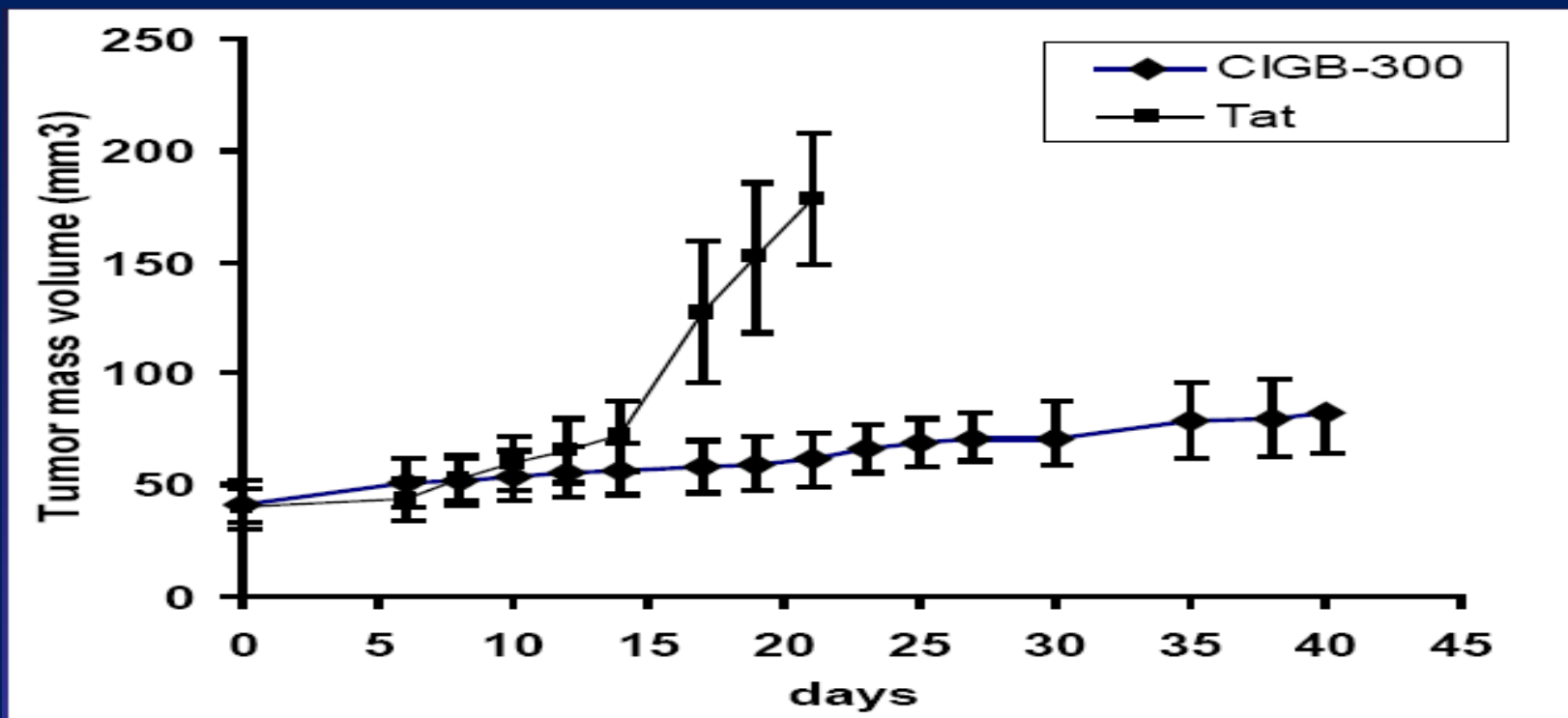




## Nueva molécula: CIGB 300

Este proyecto se ha incluido en el Programa R&D de CONSORTIUM de Instituciones Públicas y Compañías en Argentina:

- Lab de Oncología Molecular, Univ Nac de Quilmes
- Escuela de Farmacia y Bioquímica, Univ Buenos Aires
- Academia Nacional de Medicina
- Hospital de Clínicas, Lanais-Cito CONICET
- Hospital de Pediatría Garrahan
- Instituto de Oncología Roffo
  
- Laboratorio ELEA
- GRUPO ROMIKIN / CHEMO



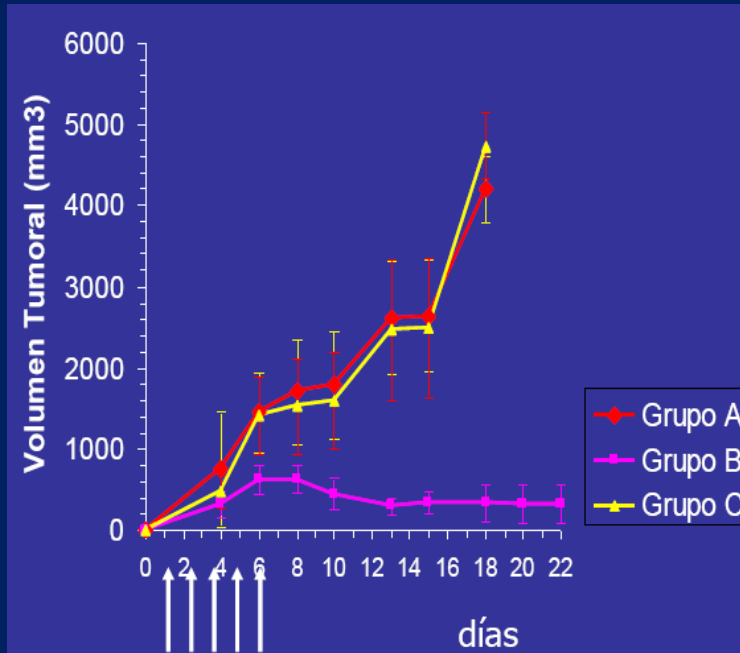
**Figure 4:Antitumor effect of CIGB300 on human tumors xenografted in nude**

**mice.** Twomillionhumancervicalcancer cells(SiHa)weresubcutaneouslyinoculatedatthedorsalregionandafterseveraldays,tumor-bearing mice received daily intratumor injections for five consecutive days with 200µg of CIGB-300 or Tat peptide as negative control.Tumors were measured with a caliper and the respective volumes were calculated.

# Efecto antitumoral del CIGB-300

## Modelo: Tumor TC-1/C57BL6 (HPV-16)

CIGB-300 en angiogénesis



Tratamiento  
CIGB-300

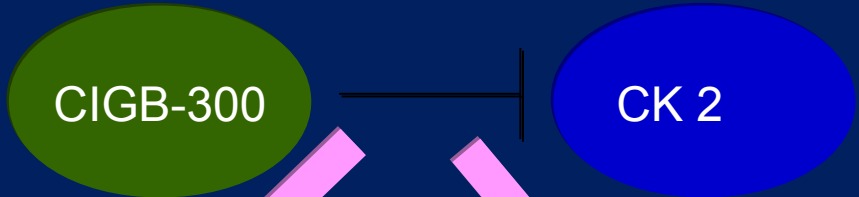
A: Placebo  
B: CIGB-300  
C: F20-2

¿Efecto antiangiogénico?

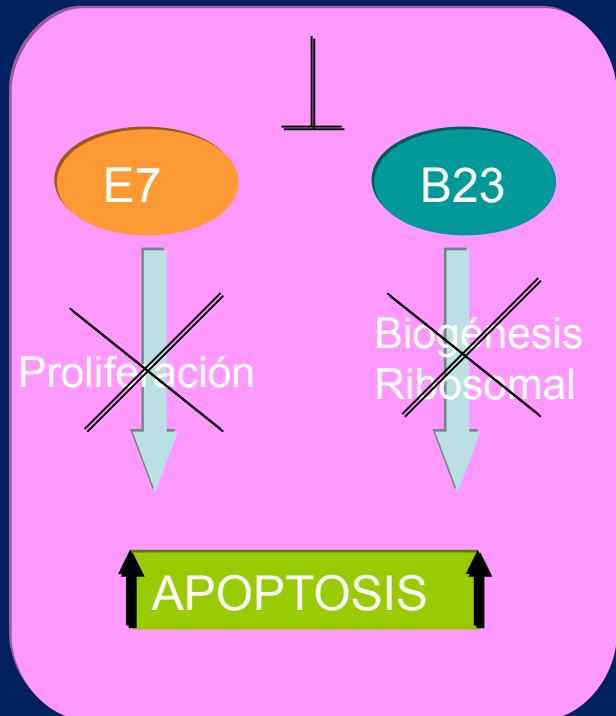


Placebo  
F20-2

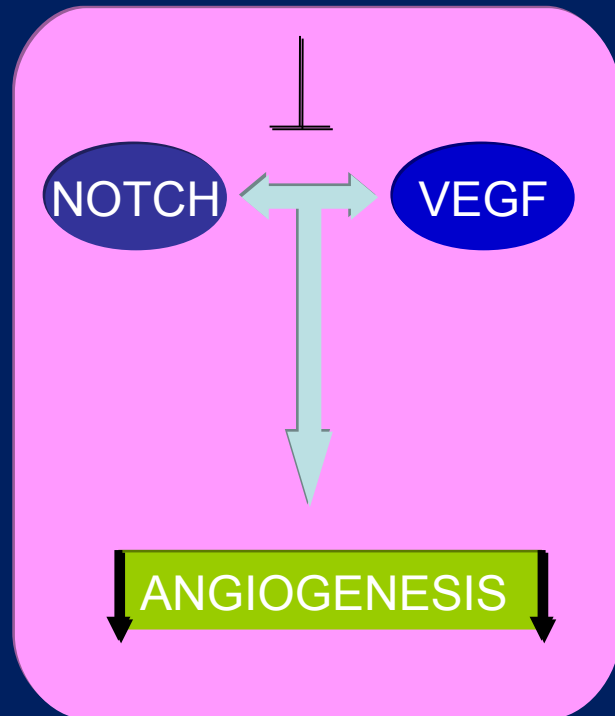
CIGB-300



### TUMOR



### ENDOTELIO



# El compuesto CIGB 300 (Resumen)

Compuesto	Objetivo	Mecanismo Antitumoral	Indicaciones Potenciales
CIGB-300 (Péptido P15-Tat)	CK2 /E7-HPV (antagonista)	Proapoptótico Citostático	Cáncer de Cuello Condiloma

# **Ensayo clínico aleatorizado, a ciegas y controlado con placebo, de la aplicación perilesional del CIGB-300 en dos niveles de dosis en la condilomatosis genital recidivante y no recidivante**

Objetivos:

valuar la seguridad de la aplicación perilesional del CIGB-300 para el tratamiento de lesiones condilomatosas.

valuar el efecto directo y locorregional en la resolución de lesiones condilomatosas:

- Reducción del número de lesiones y área total de lesiones

valuar el efecto en la ocurrencia o no de episodios de recurrencia.

A black and white photograph of a city skyline. In the foreground, a large, classical-style building with several tall, fluted columns is visible. The building has a dark facade and a light-colored pediment. To the left, a church with a tall, pointed spire is partially visible. In the background, a dense urban landscape with various skyscrapers and buildings stretches towards the horizon under a clear sky.

**MUCHAS GRACIAS  
POR SU ATENCION**

[siltatti@fibertel.com.ar](mailto:siltatti@fibertel.com.ar)