

Coordinador: María G. Campos Lara
José Antonio Palma Aguirre

Lo que los clínicos deben saber acerca de las vacunas contra el virus del papiloma humano

Gloria Sanclemente*

Recepción versión modificada 7 de febrero de 2002; aceptación 12 de julio de 2002

Resumen

Los virus del papiloma humano (VPH) son virus epitelio-trópicos que infectan la capa basal de epitelios queratinizados y mucosos. Su genoma viral se compone de una región de transcripción temprana ("E"), una región tardía compuesta de los genes L1, L2, y una región controladora larga (LCR). A pesar del carácter benigno de la mayoría de las lesiones, se ha comprobado el poder oncogénico viral en el cáncer anogenital y en la epidermodisplasia verruciforme. Cerca del 12% de la incidencia mundial de cáncer se debe a la infección por VPH, siendo el VPH-16 el genotipo más prevalente. Por tal motivo, los esfuerzos en la fabricación de vacunas contra VPH se han encaminado principalmente hacia este genotipo con el fin de disminuir la incidencia mundial de cáncer anogenital.

Las vacunas profilácticas se basan en la prevención de la infección, mediante la inducción de la inmunidad humoral contra las proteínas de la cápside viral L1 y L2. Por otro lado, las vacunas terapéuticas se basan en la inducción de una respuesta inmunológica dirigida hacia las células infectadas que expresan los antígenos virales E6 y E7. En este resumen se describen las bases de los diseños de las vacunas de VPH que están siendo evaluadas en estudios clínicos.

Palabras clave: VPH, vacunas, cáncer de cérvix, vacunas profilácticas, vacunas terapéuticas.

Summary

Human papillomaviruses (HPVs) are epitheliotropic viruses that infect the basal layer of mucosal and keratinizing epithelia. HPV viral genome is made up of an early transcription region (E) and a late region composed of genes L1, L2, and a long control region (LCR). Despite the benign character of most lesions, HPV oncogenicity has been demonstrated in anal cancer, epidermodysplasia verruciformis, and cervical cancer. Nearly 12% of worldwide cancer incidence is due to HPV infection and HPV-16 is the most prevalent genotype found. Therefore, efforts in vaccines against HPVs have been directed mainly toward this genotype to dramatically diminish worldwide anogenital cancer incidence.

Therapeutic vaccines are based on induction of an immunologic response against infected cells that express modified viral antigens E6 and E7. Prophylactic vaccines are based on prevention of infection by means of induction of humoral immunity against capsid viral proteins L1 and L2. This article reviews basics of the design of HPV vaccines and the type of vaccines currently being evaluated in clinical studies.

Key words: HPV, vaccines, cervical cancer, prophylactic vaccines, therapeutic vaccines

*Sección de Dermatología, Departamento de Medicina Interna, Grupo Infección y Cáncer, Escuela de Medicina, Universidad de Antioquia Medellín, Colombia

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Gloria Sanclemente, Calle 20 sur No. 25 B 109, of 113, Sección Dermatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Tel: +574-2323307. Fax: +574-3171313. Email: gsanclemente@epm.net.co

Introducción

Una vacuna es un producto derivado de bacterias y/o virus muertos, o con atenuada virulencia, u obtenido a partir de la utilización de algunos de los componentes biológicos de estos agentes. Esta sustancia debe ser capaz de estimular en el huésped un estado de inmunidad tal, que permita resistir la infección contra la determinada bacteria o virus, y con los menores efectos perjudiciales posibles para el huésped.

El manejo de cualquier infección sea bacteriana o viral consiste esencialmente en 2 estrategias: el tratamiento de la infección o su prevención.

Si bien existe gran cantidad de infecciones virales susceptibles de ser tratadas, en ocasiones el daño celular producido por un virus se presenta mucho antes de que aparezcan los signos clínicos de la infección. Por tal motivo, la prevención se convierte en el pilar fundamental del manejo de las infecciones virales y las vacunas se convierten en la principal estrategia para prevenir una infección viral. Para el diseño de una vacuna en general se deben conocer 2 aspectos muy importantes: Los mecanismos biológicos de la infección viral y la respuesta inmune del hospedero.

A pesar de que se han hecho grandes avances en el conocimiento de los aspectos moleculares de los virus del papiloma humano, aún se desconocen (o se conocen parcialmente) aspectos de su ciclo viral, así como los mecanismos por los cuales algunos virus del papiloma humano (VPH) son capaces de inducir cáncer en los humanos. Adicionalmente, aún se desconocen aspectos importantes de la respuesta inmune del hospedero infectado, así como los mecanismos inmunológicos por los cuales la mayoría de pacientes resuelven la infección por VPH, mientras que otros permiten la latencia del virus y eventualmente la transformación carcinomatosa.

Para entender más fácilmente el diseño de las vacunas contra VPH y sus alcances, se deben tener conocimientos básicos acerca de la biología molecular del virus, su patogénesis y la respuesta inmune. A continuación se explicará brevemente cada uno de estos aspectos para facilitar su entendimiento por parte del clínico.

Biología molecular del VPH

Los virus del papiloma humano consisten en una familia de más de 130 genotipos. Es un virus no envuelto constituido por un ADN de doble cadena, circular y de aproximadamente 8,000 pares de bases.¹

El genoma viral se compone de una región de transcripción temprana que comprende los genes E1, E2, E4, E5, E6 y E7; una región tardía compuesta de los genes L1, L2 y una región de control larga (LCR). La región temprana codifica proteínas reguladoras de la transcripción y la

replicación y 2 proteínas importantes en el proceso de transformación (E6 y E7). Esta región se expresa en los queratinocitos proliferantes y no diferenciados. La región tardía comprende las proteínas de la cápside viral y se expresa en los queratinocitos diferenciados.¹

Patogénesis

Los virus del papiloma humano son virus epiteliotrópicos que infectan la capa basal de epitelios queratinizados y mucosos. Las lesiones pueden observarse clínicamente entre 3 semanas a 8 meses después de la infección y suelen presentarse como proliferaciones epiteliales conocidas como verrugas, que son el resultado de la estimulación viral de la proliferación celular y su interferencia con la diferenciación normal epitelial.² Estas lesiones se localizan en la piel o en áreas anogenitales mucosas donde la forma benigna más usual es el condiloma acuminado.² A pesar de que la mayoría de lesiones producidas por el VPH son benignas, se ha comprobado el poder oncogénico de ciertos genotipos relacionados con el cáncer cervical, cáncer anal y la epidermodisplasia verruciforme. Es así como los diferentes genotipos de VPH que infectan la mucosa anogenital se han clasificado en alto, mediano y bajo riesgo, de acuerdo a su poder oncogénico³ (Cuadro I).

Aproximadamente 35 genotipos de VPH's infectan el área anogenital. Virtualmente todos los pacientes con infección por genotipos de bajo riesgo y la mayoría de

Cuadro I. Clasificación de los genotipos de VPH de acuerdo a su asociación con cáncer o displasia anogenital

Riesgo oncogénico	Genotipo de VPH
Alto	VPH-16, VPH-18, VPH-45, VPH-56
Intermedio	VPH-31, VPH-33, VPH-35, VPH-51, VPH-52, VPH-58
Bajo	VPH-6, VPH-11, VPH-42, VPH-43, VPH-44

Modificado de referencias 2,3

infectados con genotipos de alto riesgo, resuelven la infección. No obstante, se cree que las mujeres que continúan infectadas por genotipos oncogénicos presentan finalmente displasia o cáncer cervical. De hecho, en el cáncer de cérvix se ha encontrado el VPH en el 99.7% de los casos.⁴ Es así como el 11.8% de la incidencia de cáncer en el mundo se debe a la infección por VPH siendo el genotipo VPH-16 el virus más prevalente, seguido por el VPH-18.⁵ Por tal motivo, los esfuerzos en la fabricación de vacunas contra VPH se han encaminado princi-

palmente hacia estos virus con el fin de disminuir dramáticamente la incidencia mundial de cáncer anogenital.

En las lesiones benignas por VPH, el ADN viral permanece en forma episómica; sin embargo, en las lesiones malignas éste se integra en el ADN del huésped entre la región E1 y E2 viral, lo cual ocasiona una

disregulación en la expresión de las proteínas oncogénicas E6 y E7. Éstas por su parte, actúan bloqueando la función de los genes supresores tumorales del gen p53 y del gen del retinoblastoma (pRb), respectivamente, ocasionando la progresión prematura de la fase G1 a la fase S del ciclo celular, y por ende la inmortalización celular.

Las lesiones benignas ocasionadas por el VPH tienen un patrón específico de expresión de las proteínas virales. Así, los genes tardíos (proteínas de la cápside viral) sólo se expresan en las capas diferenciadas y superficiales del epitelio mientras que los genes tempranos inician su expresión en las células infectadas de la membrana basal y persiste su expresión a medida que ocurre la diferenciación del epitelio.⁶ Al formarse las partículas virales infectantes (viriones) en las capas más superficiales del epitelio se asegura la transmisión de la infección (ya sea por contacto directo o indirecto), al producirse descamación de los queratinocitos infectados y/o por la descamación de los viriones mismos. En contraste, cuando ocurre la transformación carcinomatosa, el ADN viral se integra al ADN celular, predominando la expresión continua de los genes tempranos (particularmente de las oncoproteínas E6 y E7) y se aborta la producción de partículas virales o viriones.⁶ Lo anterior ocasiona una proliferación continua y descontrolada de los queratinocitos (Figura 2).

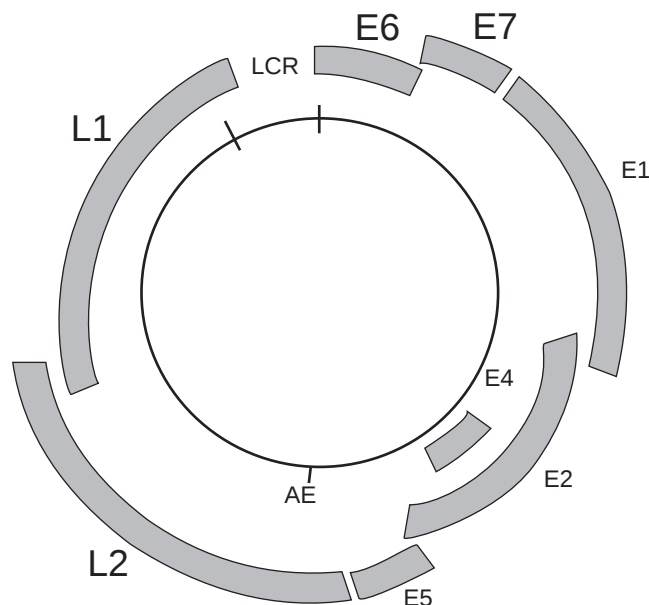


Figura 1. Mapa genómico del genotipo VPH-16. Se destacan en mayor tamaño los genes importantes en la producción de vacunas. (Modificado de referencias 2,25)

Respuesta inmune innata

El principal mecanismo de defensa ante una infección viral requiere la integridad de las superficies epiteliales o

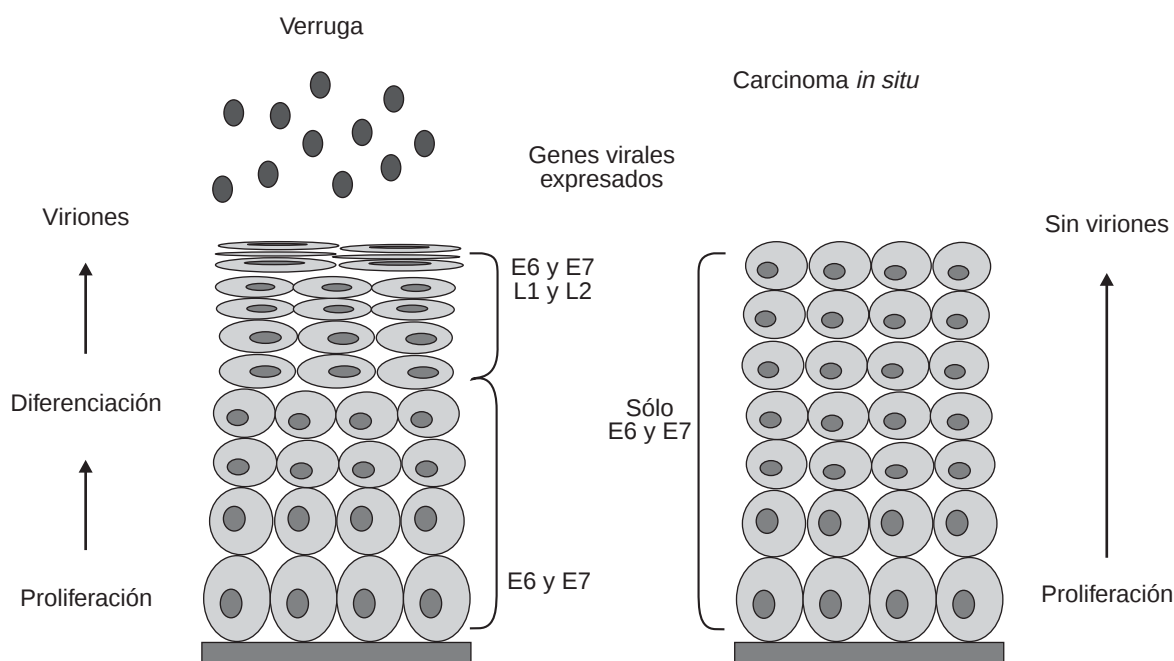


Figura 2. Resumen y caracterización de la expresión de los genes de VPH en lesiones benignas y malignas. (Traducido y reimpresso con autorización de Elsevier Science de Schiller JT. Papillomavirus like particle vaccines for cervical cancer. Mol. Med. Today 1999;5:209-215).

endoteliales. Una vez que se altera el mecanismo de barrera, se dispara una serie de mecanismos inespecíficos o innatos tales como la producción de interferones (IFN's), las células asesinas (NK) y los macrófagos. La infección viral celular induce la producción de IFN-alfa (IFN- α) e IFN-beta (IFN- β), los cuales activan mecanismos antivirales en las células vecinas capaces de resistir la infección. El interferón gamma (IFN- γ), por otra parte, activa la función de las NK y macrófagos e incrementa la eficiencia de la respuesta inmune adaptativa mediante la estimulación de la expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo I y II (MHC-I, MHC-II).^{7,8}

Respuesta inmune adaptativa

A medida que la infección viral avanza, se dispara la inmunidad adaptativa en la cual se activan las células T citotóxicas, las células T ayudadoras y los anticuerpos antivirales.

La respuesta inmune humoral (o la producción de anticuerpos), la mayoría de las veces permite detener la diseminación del virus a otras células. En este tipo de inmunidad adquieren importancia 2 tipos de moléculas: Las inmunoglobulinas (Ig's) y los receptores antigénicos de las células T (TCR).^{7,8} La variedad y heterogenicidad de este tipo de moléculas permite el adecuado reconocimiento de diferentes antígenos.

Las inmunoglobulinas son glicoproteínas presentes tanto en el suero como en los líquidos tisulares. El contacto entre un antígeno y la célula B es el evento inicial más importante para el desarrollo de células formadoras de anticuerpos (células plasmáticas).^{7,8}

Los anticuerpos antivirales pueden ser generados contra cualquier proteína viral; sin embargo, los más importantes son los generados contra proteínas expresadas en la envoltura viral (cápside) o en las membranas celulares de las células infectadas. Estos anticuerpos virales pueden activar el complemento produciendo lisis celular, o ser mediadores de la activación de células efectoras citotóxicas.^{7,8} La inmunidad celular adaptativa ejerce una respuesta específica hacia el agente viral injurioso y va a estar dada por las células efectoras específicas y por las células de memoria que van a repeler un ataque posterior.

Las células T reconocen antígenos asociados a MHC. De esta forma, las MHC-I y II actúan como sistemas guías para las células T. Los antígenos son presentados por el MHC en la superficie celular en forma de péptidos previamente procesados. Las células que procesan el antígeno corresponden ya sea a células presentadoras de antígeno profesionales (APC) o a células infectadas que expresan el antígeno viral.^{7,8}

Las células T citotóxicas (CD8+) son las principales células activadas inicialmente ante una infección viral y

mediante la expresión de MHC-1 identifican y eliminan a las células infectadas por el virus.^{7,8} Virtualmente cualquier proteína viral puede ser procesada en el citoplasma con el fin de generar péptidos que son transportados al retículo endoplásmico rugoso (RER). Estos péptidos son translocados hacia el lumen del RER mediante transportadores denominados TAP-1 y TAP-2. Una vez en el RER, el péptido (o antígeno endógeno) se une a moléculas MHC-I y a la β 2-microglobulina (esta última es esencial y necesaria para la expresión de las MHC-I). Seguidamente, el complejo MHC-I-antígeno- β 2microglobulina es transportado hacia la superficie celular en vesículas derivadas del tránsito de este complejo a través del aparato de Golgi (Figura 3).

Ya que prácticamente todas las células del cuerpo humano son capaces de expresar moléculas MHC-I, cualquier proteína viral expresada tempranamente en el ciclo de replicación viral permitiría su identificación por las CD8+, e induciría la eventual destrucción viral.^{7,8}

Por otra parte, los linfocitos T ayudadores (CD4+) reconocen los antígenos expresados en macrófagos y células B asociadas con MHC-II. Estos antígenos específicos provienen de antígenos exógenos que son internalizados por APC y son degradados por enzimas proteolíticas en compartimentos intracelulares acidificados denominados MHC, donde el péptido obtenido, "espera" la molécula MHC-II correspondiente. Esta molécula proviene del RER donde se asocia con un polipéptido denominado cadena invariante (Ii), formando un complejo denominado CLIP. Una vez en el MHC, el péptido antigénico desplaza el CLIP de la MHC-II, el cual es transportado a la superficie celular (Figura 4). Una vez en la superficie, este complejo es reconocido por el receptor de la célula T (TCR) y esta interacción no sólo es inmuno-específica sino que, para que se produzca una adecuada presentación antigénica, se requiere la acción de moléculas denominadas coestimuladoras. Estas últimas corresponden a la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86) y LFA-3. Sus ligandos en la célula T son el antígeno funcional linfocítico-1 (LFA-1), CD28 y CD2, respectivamente. El CTLA-4 es un ligando alternativo para B7 y de esta forma las células T no reciben una señal de activación adicional (Figura 4). Todas estas moléculas coestimuladoras se expresan tanto en células dendríticas, como en monocitos y células B. Las células T en reposo no responden adecuadamente sin la señal coestimuladora de B7 que en caso de estar ausente se produce un estado de tolerancia inmunológica.^{7,8}

Una vez que las células T son activadas, se liberan citoquinas como el IFN- γ , el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y el ligando CD40 (CD40L) que incrementa la función de presentación antigénica. Cuando las células presentadoras se activan, se expresa mayor cantidad de MHC-I y MHC-II, más receptores Fc y mayor expresión de moléculas coestimuladoras

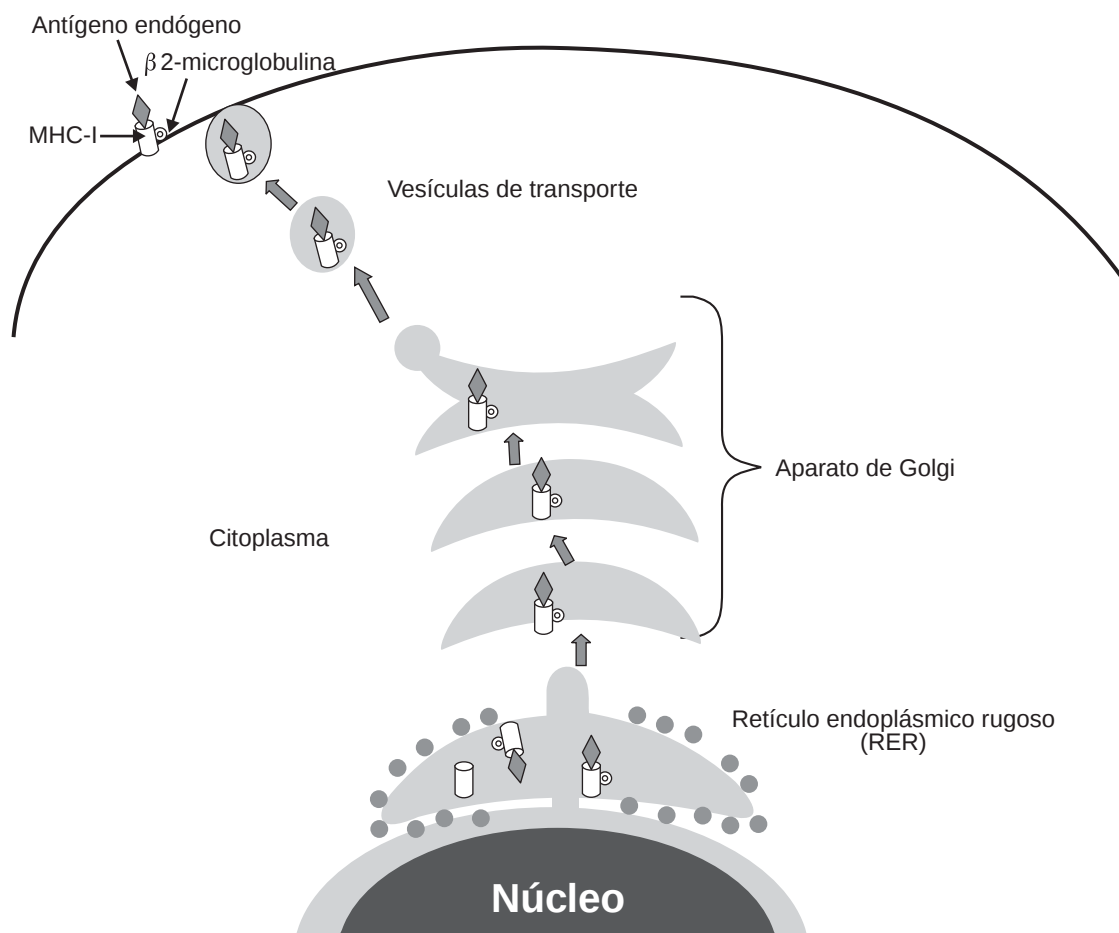


Figura 3. Esquemati-zación del proceso de presentación antigé-nica por las moléculas del MHC-I. Modificado de referencia 8.

que a su vez inducen la producción de otras citoquinas como la interleuquina-1 (IL-1), interleuquina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α).^{7,8} El antígeno también es capturado por linfocitos B que presentan éste al linfocito T al recibir determinadas señales coestimuladoras donde se destaca la activación de CD40, que es la señal activadora principal del linfocito B. Estos linfocitos se dividen y se diferencian en células formadoras de anticuerpo y en células B de memoria.

Respuesta inmune contra el virus del papiloma humano

Hasta el momento se desconocen muchos aspectos de la respuesta inmune contra los VPH's. No obstante, se sabe que la respuesta inmune celular es crucial en la patogénesis de la infección por VPH. Una de las ventajas que posee este virus es que no produce lisis celular, por lo cual los antígenos virales no parecen estar disponibles para ser presentados por las APC's y por lo tanto se limita la inducción de células T citotóxicas específicas. Tal como se mencionó anteriormente, la expresión de las proteínas del VPH está cercanamente ligada al estado de

diferenciación de la célula epitelial infectada. Las proteínas E1 y E2 tienen un bajo nivel de expresión, además de que se localizan en el núcleo donde son difícilmente reconocidas por el sistema inmunológico. Las proteínas E6 y E7 a pesar de estar también localizadas en el núcleo y de presentar un nivel bajo de expresión, éste es suficiente para inducir proliferación y retrasar el fenómeno de diferenciación.⁹

Las proteínas E4, L1 y L2 se localizan tanto en el citoplasma como en el núcleo y se expresan a niveles importantes pero sólo en los queratinocitos bien diferenciados, los cuales son rápidamente descamados del epitelio, impidiendo su adecuado reconocimiento por el sistema inmune.⁹ En las pacientes con infección cervical persistente por VPH-16 se ha encontrado ausencia de respuesta de los CTL a la proteína E6, lo cual sugiere un papel importante de la respuesta de CTL a E6 para la regresión de las lesiones.¹⁰ En general, la gran mayoría de péptidos o antígenos del cáncer son pobremente inmunogénicos. Las células tumorales frecuentemente subregulan la expresión de moléculas MHC-I o inducen mutaciones en el gen de la β 2-microglobulina como estrategia para evadir su reconocimiento por parte del sistema inmunoló-

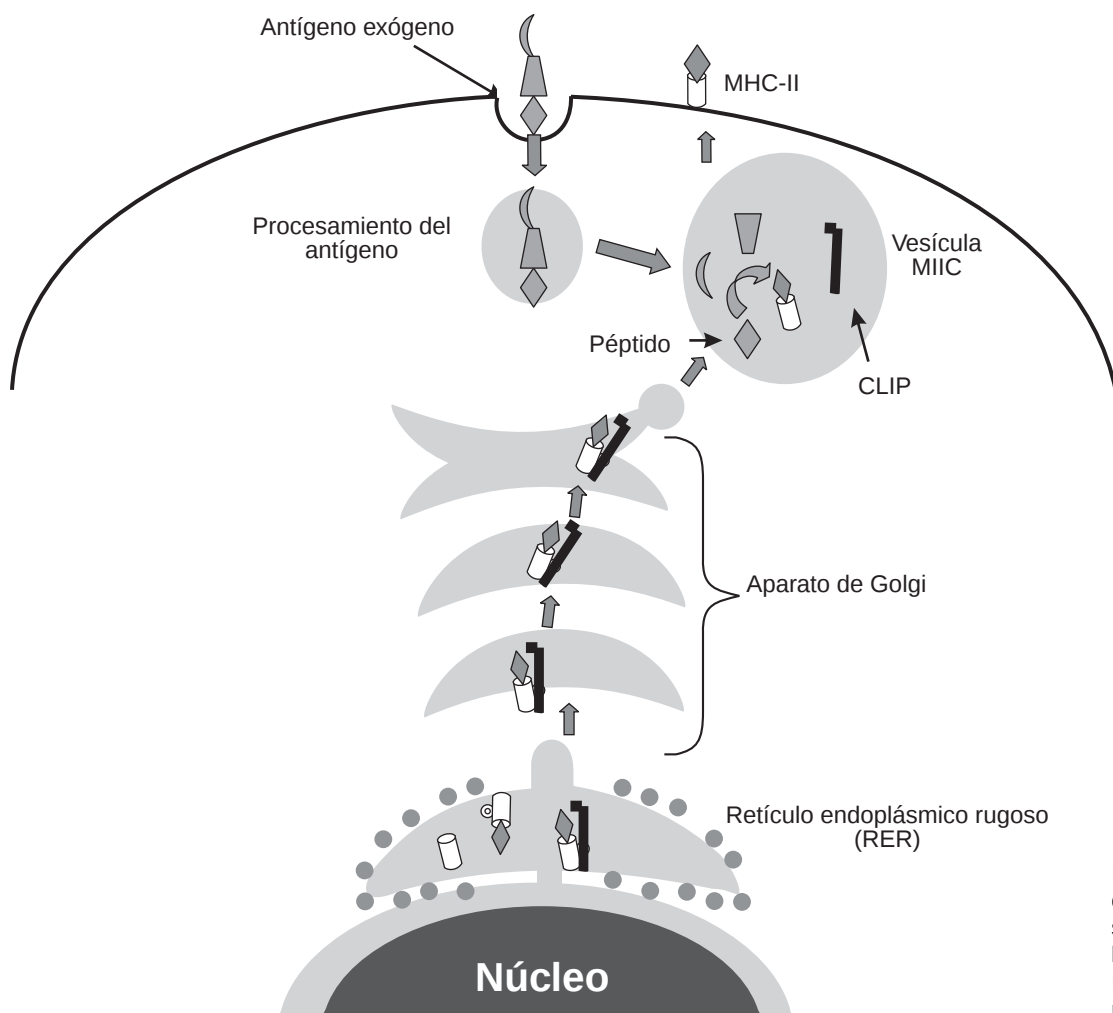


Figura 4. Esquematación del proceso de presentación antigénica por las moléculas del MHC-II. Modificado de referencia 8.

gico.^{11,12} En la papilomatosis laríngea por VPH se ha encontrado niveles disminuidos de la expresión del transportador TAP-1 que induciría una subregulación de las moléculas del MHC1.¹³ Adicionalmente se ha encontrado disminución del mRNA del IFN- γ en biopsias de pacientes con cáncer cervical invasivo.¹⁴ En los condilomas producidos por el VPH-6 y VPH-11, se ha encontrado una disminución dramática de los niveles de TNF- α y TGF- β 1 al compararlo con su expresión en la piel normal.¹⁵ Por otra parte, en la displasia cervical existe una disminución en las moléculas coestimuladoras por el decremento en la expresión de TNF- α y un aumento en la secreción de IL-10.¹⁶ Esto induce la falta de una apropiada activación de los linfocitos T lo cual conduce a la persistencia y la eventual progresión a displasia o cáncer. La IL-10 por su parte, es inmunosupresora y su efecto está mediado por las células presentadoras de antígeno.

También en la displasia cervical existe un aumento en la expresión de HLA-DR y de ICAM-1 con un acúmulo de leucocitos activados localizado debajo de las lesiones epiteliales. Sin embargo, parece no establecerse una

buena respuesta inmunológica por la ausencia de APC maduras, la ausencia de CD50 (ICAM-3) o CD86 (B7-2) en cualquier tipo de célula, al igual que una subregulación de TNF- α .¹⁶ En la displasia cervical se han encontrado APC subepiteliales CD1a+ llamadas células dendríticas, las cuales expresan todas estas moléculas. Sin embargo, estas células aunque capturan el antígeno y lo procesan eficientemente, parecen ser pobres presentadoras del mismo. Por otra parte los queratinocitos expresan HLA-DR e ICAM-1 y sobreexpresan LFA-3 por lo que se sugiere que estas células son las encargadas de presentar el antígeno en esta mucosa en vez de las células Langerhans. Ya que estas células no son células presentadoras de antígeno profesionales, pudieran inducir tolerancia. La ausencia entonces de B7-2 induciría tolerancia más que activación de células T efectoras antígeno-específicas.

Por otro lado se ha encontrado una disminución de la expresión de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-8, IL-6, GM-CSF y TNF- α) en células cervicales inmortalizadas e infectadas con VPH-16 o 18. Lo anterior proveería un ambiente más favorable para la infección por VPH.¹⁷

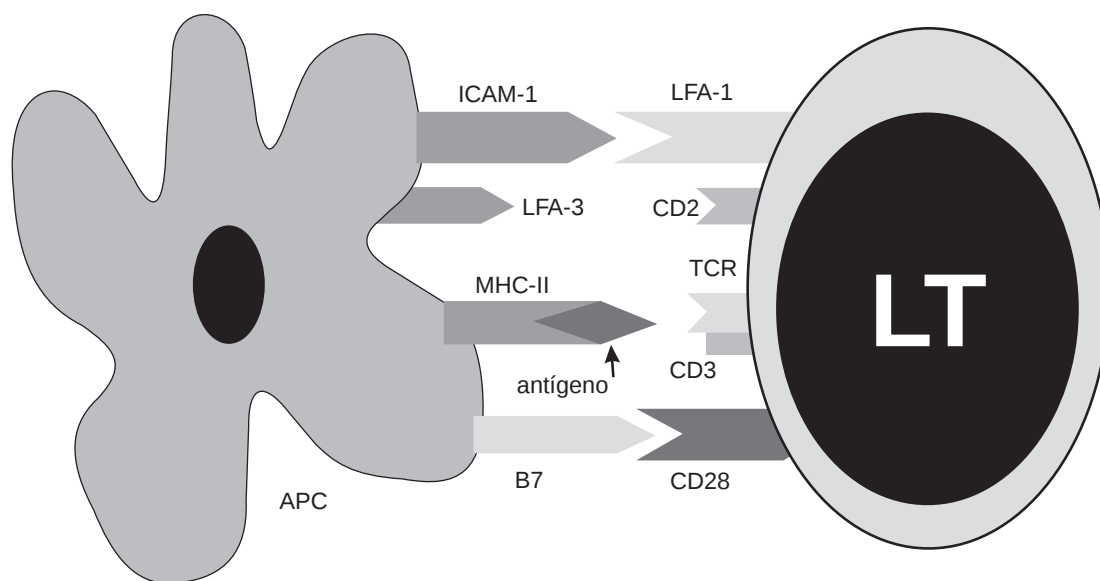


Figura 5. Esquemática de la interacción de las células presentadoras de antígeno (APC) con el linfocito T (LT).

En los tumores inducidos por VPH existe infiltración local tanto de CD4+ como de CD8+. No obstante, existe un mayor porcentaje de células T CD8+.¹⁸ Los mecanismos ya expuestos prevendrían o retardarían el reconocimiento de las proteínas virales por el sistema inmune. Esto se debe a que el VPH utiliza la maquinaria celular del queratinocito para la producción de partículas virales, sin inducir una respuesta inflamatoria local importante. Esta disminución en la expresión de citoquinas pro-inflamatorias pudiera facilitar la replicación viral y el crecimiento y transformación de las lesiones.

En el cuadro II se resumen los mecanismos inmunológicos que ocurren en la infección por VPH.

Vacunas contra VPH

El desarrollo de las vacunas contra la infección por VPH se ha limitado debido a las dificultades para cultivar este virus. A esto se suma la ausencia de un modelo animal adecuado para su estudio y la especificidad de especie de estos virus. Por último, esta limitación también se

debe a la necesidad que tiene el virus de transcribirse y replicarse en queratinocitos diferenciados.¹⁹

El posible diseño de vacunas inactivadas para VPH presenta graves inconvenientes, ya que al disminuir la infectividad del virus se disminuiría la inmunogenicidad de las proteínas L1 y L2. Por otra parte el diseño de vacunas vivas atenuadas estaría proscrito en las vacunas anti-VPH por el gran riesgo que implica la expresión de las proteínas oncogénicas (E6 y E7), y por las limitaciones en la propagación viral en cultivos celulares y en modelos animales. Actualmente se están desarrollando esencialmente 2 tipos de vacunas contra VPH: Vacunas profilácticas y vacunas terapéuticas.

Las vacunas profilácticas se basan en la prevención de la infección por VPH, mediante la inducción de una respuesta inmune humoral por medio de la cual se producen anticuerpos antivirales neutralizantes que son capaces de destruir el virus antes de que penetre a las células. Para este tipo de vacunas se han utilizado las proteínas de la cápside viral L1 y L2 como antígenos.²⁰

Por otra parte, las vacunas terapéuticas se basan en la inducción de componentes celulares del sistema inmunológico que reconocen y atacan las células infectadas por el virus, las cuales expresan los antígenos virales en la superficie. Para este tipo de diseño de vacuna se utilizan las proteínas E6 y E7 ya que éstas son constantemente expresadas en las células cancerígenas.^{20,21}

Cuadro II . Resumen de los efectos inmunológicos de la infección por el virus del papiloma humano

Efectos inmunológicos de la infección por VPH

- Disminución en la expresión de las moléculas del MHC-I
- Aumento de la CTL's incapaces de reconocer las células infectadas
- Disminución de células de Langerhans
- Aumento en la secreción de citoquinas inmunosupresoras
- Disminución en la secreción de citoquinas proinflamatorias

Vacunas profilácticas

Vacunas de partículas semejantes a virus (VLP's)

El diseño de este tipo de vacunas se basa en el importante descubrimiento de la capacidad intrínseca

de las proteínas de la cápside de los VPH (Proteínas L1 y L2) para autoensamblarse en partículas semejantes a virus cuando se expresan a partir de un promotor, y en ausencia de otros productos virales.⁶ Las VLP's como su nombre lo dice, semejan viriones reales desde el punto de vista de su estructura y de su morfología, pero con la ventaja de que no contienen ADN viral, no son infectantes, y no inducen transformación celular.

Estas pseudo partículas tienen la habilidad de inducir anticuerpos neutralizantes, aun sin el uso de adyuvante. Los vectores de expresión utilizados para este tipo de vacunas incluyen células de insectos, levaduras y bacterias.

A pesar de que la expresión de L1 por sí sola es lo suficientemente inmunogénica, se puede hacer co-expresar la proteína L2 con el fin de aumentar la producción *in vitro* de VLP's.⁶

Cuando las VLP's se introducen a las células, las proteínas L1 y L2 son procesadas a través de la vía de las moléculas del MHC-I. De esta forma se induce una respuesta de linfocitos T citotóxicos. Las desventajas de este tipo de vacuna incluyen la restricción por especie (Ej: las VLP's de papilomavirus de conejos no son inmunogénicas para los humanos). Esto limita el uso de modelos animales para su posterior uso en humanos.²¹ La IgA se produce en las superficies mucosas y previene la ocurrencia de la infección. La IgG es la clase de anticuerpo más importante para la neutralización directa de las partículas virales en suero y otros líquidos corporales. Los anticuerpos generados por estas vacunas de VLP's son esencialmente de tipo IgG, y no de IgA. No obstante, la IgG parece llegar en cantidades suficientes a la mucosa por trasudación o exudación desde el torrente sanguíneo.^{6,22} Por otra parte, al administrarse las VLP's en la mucosa nasal parecen adquirirse niveles importantes de anticuerpos contra VLP's en la mucosa genital.²²

Este tipo de vacuna es quizás el más prometedor, y ya que aproximadamente el 50% de los cánceres cervicales contienen el genotipo VPH-16 y el 80% contienen una combinación de VPH-16, VPH-18, VPH-31 y VPH-45, se estudia la posibilidad de utilizar las proteínas L1 y L2 de estos genotipos con el fin de disminuir drásticamente las cifras de cáncer cervical en el mundo. Asimismo, se ha evaluado la posibilidad de adicionar las proteínas L1 y L2 de los genotipos VPH-6 y VPH-11 (causantes de los condilomas) para que la vacuna sea más atractiva para los hombres, ya que en ellos la incidencia de cáncer de pene es muy baja.

Como desarrollo futuro se plantea la posibilidad de adicionar a este tipo de vacunas otras proteínas (E6 y E7) con el fin de obtener una acción profiláctica y terapéutica concomitante.

Las desventajas de este tipo de vacuna incluyen su alto costo de producción y el desconocimiento actual acerca de su poder inmunogénico en el tiempo^{6,21,22} (Cuadro III).

Vacunas terapéuticas

Vacunas basadas en péptidos

En este tipo de vacunas se sintetizan péptidos a partir de determinadas secuencias de proteínas virales. Estos péptidos actúan como antígenos que se unen a las moléculas del MHC y activan los receptores de las células T. Esta vacuna requiere una adecuada configuración del péptido que permita el adecuado transporte intracelular hacia la superficie. Ya que por lo general las células tumorales disminuyen la expresión de MHC-1 o desarrollan mutaciones del gen de la β 2-microglobulina, esto limitaría el uso de estas vacunas. Las proteínas virales que se han utilizado para este diseño de vacuna corresponden básicamente a E6 y E7. Los péptidos derivados de estas proteínas se han ligado a moléculas del MHC clase I y específicamente al alelo HLA-A*0201.21 Se sabe que el HLA-A2 es la molécula clase I más común en humanos. Alrededor del mundo se han encontrado 22 alelos de HLA-A2 cercanamente relacionados con una predominancia de HLA-A*0201 en la población caucásica (> del 95%) y HLAA*0204 en indios sudamericanos.^{23,24} Este hallazgo tendrá implicaciones muy importantes en el diseño de vacunas para nuestra población ya que la inducción de una adecuada respuesta de linfocitos T citotóxicos (CD8+) requiere que el péptido sintetizado se ligue a diferentes alelos de HLA-A2, entre los cuales se debe incluir el específico de acuerdo a la etnia del paciente. Asimismo, el péptido sintetizado debe tener una gran afinidad por la molécula HLA-A2 como prerrequisito para el reconocimiento por las células CD8+ y para la eventual inmunogenicidad requerida.

Aunque este tipo de diseño de vacuna es seguro, fácil de sintetizar a gran escala, e induce respuestas inmunitarias específicas, también presenta inconvenientes o dificultades para su producción. Éstas incluyen: la baja inmunogenicidad del péptido, la restricción de las moléculas de MHC y la necesidad de definir epítopes para los linfocitos T citotóxicos. Se han sugerido soluciones a estas dificultades tales como el aumento del tamaño del péptido, la adición de moléculas coestimuladoras o la utilización de un adyuvante poderoso.

Actualmente se están desarrollando estudios clínicos fase I y fase II con este tipo de diseño^{20,21} (Cuadro III).

Vacunas basadas en proteínas

En este tipo de vacunas se utilizan proteínas completas que incluyan todos los epítopes posibles y potencialmente

inmunogénicos para cada haplotipo de MHC. En este diseño, las células presentadoras de antígeno o los macrófagos capturan el antígeno (la proteína) y lo desdoblan en péptidos que son cargados en las moléculas MHC-1 y MHC-11, a diferencia de las basadas en péptidos en donde éstos son intercambiados en la superficie de APC's con péptidos endógenos. Así este diseño tendría mayores ventajas que las vacunas basadas en péptidos por lo que este tipo de vacuna no tendría restricción por determinado alelo de HLA y, al no utilizar la proteína completa, no requeriría la identificación de péptidos específicos.^{20,21} Esta vacuna de proteínas purificadas induciría tanto la producción de anticuerpos como una respuesta inmune de linfocitos T ayudadores

y de linfocitos T citotóxicos. Ya que las proteínas utilizadas son degradadas rápidamente luego de su inyección, también requieren adyuvante además de múltiples aplicaciones.

Este tipo de vacuna se ha utilizado en estudios clínicos de fase I y fase II pacientes con condilomas y con displasia anal de alto grado.^{20,21} (Cuadro III).

Vacunas de vectores virales (vaccinia/adenovirus)

En general, la inmunización con antígenos solubles no es suficiente para activar una respuesta de linfocitos T citotóxicos, por lo cual se han diseñado vectores virales a los cuales se les introducen genes virales específicos (E6

Cuadro III. Información acerca de las vacunas anti-VPH actualmente en desarrollo

Compañía u Organización	Genotipo HPV/ Antígeno	Tipo vacuna	Etapas de la Investigación
Apollon	En desarrollo	ADN	Preclínicos
Cantab, SmithKline Beecham	VPH-6, L2, E7	Péptido (Proteína de fusión) (TH-GW)	Fase IIb
Cantab (Xenova)	VPH-16/18 L2, E6, E7	Péptido (Proteína de fusión) (TA-CIN)	Fase I
Cantab (Xenova)	VPH-16/18 E6, E7	Virus Vaccinia recombinante (TA-HPV)	Fase IIa
CANSA-University of Cape Town	VPH-16, LI, E7	BCG recombinante	Preclínicos
Chiron	En desarrollo	En desarrollo (Vacuna terapéutica).	Preclínicos
European Commission, Chinese Academy Preventive Medicine	VPH-16 LI, E7	Virus vaccinia recombinante	Preclínicos
European Commission, Chinese Academy Preventive Medicine	VPH-58 E7	Virus vaccinia recombinante	Preclínicos
Johns Hopkins University	VPH-16 E6, E7	Virus vaccinia recombinante con LAMP	Fase I
Medimmune, SmithKline Beecham	VPH-11 LI	VLP (MEDI-501)	Fase II
Medimmune, SmithKline Beecham	VPH-16, 18 L1	VLP (MEDI-503 & 504)	Fase I
MediGene	VPH-16 LI, E7	VLP quimérica	Fase I, II
MediGene, Schering AG	VPH-16 LI, E7	VLP quimérica	Fase I, II
Merck, CSL Limited	VPH-16 LI	VLP	Fase II, III
Merck, Vical Inc.	L1	ADN	Preclínicos
National Cancer Institute	VPH-16 E6, E7	Diversas vacunas peptídicas	Fase I, II
National Cancer Institute, NIAID	VPH-16 L1	VLP	Fase II, III
Norris Cancer Institute, University of South Carolina	VPH-16 E7	Péptido	Fase I, II
StressGen Biotechnologies	VPH-16 E7	Proteína/Péptido (HspE7)	Fase II
Transgene	VPH-16	MVA Virus vaccinia recombinante	Fase I
University of Leiden	VPH-16 E7	Péptido	Fase I, II
University of Queensland	VPH-16 E7	Péptido	Fase I, II
University of Queensland	VPH-16 L1, E7	VLP quimérica	Preclínicos
University of Queensland	VPH-16 L1, E7	BCG recombinante	Preclínicos
Winstar Institute	VPH-16 L1	Adenovirus recombinante	Preclínicos
Winstar Institute		ADN	Preclínicos
Winstar Institute	VPH-16 E6, E7	Adenovirus y vaccinia recombinante	Preclínicos
Wyeth-Lederle, Alpha Vax		Virus encefalitis equina venezolana recombinante	Preclínicos
Wyeth-Lederle		ADN	Preclínicos

Información recopilada de referencias 25, 27, 28

y/o E7). Estos vectores son utilizados como "vehículos" de transporte del antígeno viral hacia el interior de la célula blanco para de esta forma estimular respuestas de CTL's contra antígenos virales específicos. Así, este antígeno es procesado y presentado por moléculas del MHC-1 induciendo tanto la producción de anticuerpos como la proliferación de células T y la activación de CTL's.^{20,21} Para el desarrollo de estas vacunas se ha utilizado el virus de la vaccinia. Las ventajas de este tipo de vacunas es el bajo costo para producirla y su estabilidad. No obstante, su efectividad puede estar influenciada por el antecedente de vacunación previa contra la viruela (antes de 1970). Por tal motivo, se han utilizado otros virus, como los adenovirus, los cuales tienen la ventaja de no producir efectos indeseables por la replicación del vector viral. Este tipo de vacuna no debe emplearse en pacientes inmunosuprimidos y, ya que requieren ser administrados en varias ocasiones (como refuerzo inmunológico), la respuesta inmunológica humoral y celular desencadenada por el reconocimiento de proteínas derivadas de los adenovirus o del virus de la vaccinia limitarían su administración múltiple.

Actualmente se desarrollan estudios clínicos de fase I y II con virus de vaccinia expresando las proteínas E6 y E7 mutadas derivadas de los VPH-16 y VPH-18^{20,21} (Cuadro III).

Vacunas de ADN

Corresponden al uso de ADN desnudo en plásmidos, el cual es inyectado por vía intramuscular, intradérmica o intravenosa, o, mediante el uso de una pistola que introduce genes en la piel, y que permite tanto la captura del antígeno por las APC's como una expresión antigénica sostenida. Lo anterior aumenta la eficiencia de la activación de las células T y promueve el acceso del antígeno hacia la vía de procesamiento de las moléculas MHC-I. Este tipo de vacunas tienen la ventaja de que el ADN utilizado es susceptible de ser modificado y adicionalmente es posible diseñar plásmidos con múltiples genes que permiten ser combinados, lo cual facilitaría la inmunización de individuos con HLA diferentes.^{20,21}

Las ventajas de esta modalidad incluirían su bajo costo, su estabilidad a cualquier temperatura, su inmunogenicidad duradera y su posibilidad de múltiple administración.^{20,21}

Se ha diseñado un tipo de pistola génica ("*gene gun*") cargada con genes quiméricos en los que a la proteína E7 se le ha adicionado un péptido que actúa como señal de translocación en el retículo endoplásmico, lo cual permite su unión a la molécula del MHC-II, lo que mejora su potencia inmunológica.^{20,21}

Actualmente se realizan estudios en animales con vacunas de este tipo utilizando la proteína E7 de VPH's específicos^{20,21} (Cuadro III).

Otras vacunas terapéuticas

Vacunas basadas en células

Brevemente, en este tipo de vacunas, las células presentadoras de antígeno se manipulan de tal forma que son cargadas con proteínas, péptidos o ADN de antígenos tumorales reconocidos (En nuestro caso, la proteína E6/E7 del VPH). Otra estrategia utilizada es la manipulación genética de las células tumorales aisladas del paciente. Dichas células se transfectan con genes de citoquinas inmunoestimuladoras o moléculas co-estimuladoras y posteriormente se reintroducen al paciente, con el fin de inducir una respuesta inmune antitumoral.²¹

Actualmente este tipo de vacunas se encuentra en fase experimental²¹ (Cuadro III).

Posibles inconvenientes para la implementación de una vacuna contra una infección de transmisión sexual (ITS).^{21,25}

1. Al tener la connotación de vacuna contra una ITS se tendrá dificultades en su aceptación por parte de los padres de las adolescentes sexualmente activas. Los padres de aquellas adolescentes difícilmente admitirán la realidad de que sus hijas pueden iniciar (o han iniciado) su vida sexual a edades muy tempranas. Para evitar estos inconvenientes podría administrarse en niños sin vida sexual activa aún, pero igualmente esta vacuna deberá ser segura, efectiva y requerirá proporcionar una inmunidad duradera.
2. Se tendrá una falsa seguridad de protección completa e inmunidad de por vida. De esta forma se pudiera aumentar las actividades sexuales riesgosas. Adicionalmente no se ha logrado determinar aún la duración de la inmunidad obtenida.
3. Es una vacuna de difícil implementación en hombres ya que en ellos el cáncer es muy poco frecuente. En este caso valdría la pena que el diseño de estas vacunas incluyeran los genotipos 6 y 11 relacionados con los condilomas.
4. La vacunación deberá tener alta cobertura, lo cual se hace difícil en países en vías de desarrollo.
5. Existen problemas para evaluar su eficacia, ya que el punto final de evaluación del efecto deberán ser las displasias leves, ya que por ética no se podrá esperar hasta que se desarrollen displasias moderadas a severas para iniciar su tratamiento. Adicionalmente se deberá esperar muchísimos años para determinar el riesgo de recurrencia.
6. El tipo de paciente escogido para las vacunas terapéuticas también influirá en el pronóstico, ya que muy posiblemente las mujeres con carcinoma invasor tendrán peor pronóstico que las con displasia.

7. Pudiera incrementarse el número de cánceres por otros genotipos de VPH que no han sido considerados en los diseños actuales de estas vacunas.
8. Para la implementación de este tipo de vacunas en un área determinada se requieren estudios epidemiológicos y la caracterización de los genotipos de VPH y sus variantes locales.

Referencias

1. **Howley PM.** Papillomaviridae: the viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. editors. Fundamental virology. 3rd ed. Lippincott-Raven; Philadelphia, PA, USA: 1996. p. 947-978.
2. **Sanclemente G.** Aspectos moleculares, inmunológicos y patogénicos de la infección por el virus del papiloma humano. Rev Col Dermatol 2000;8:255-265.
3. **Lorincz AT, Reid R, Jenson AB et al.** Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. Obstet Gynecol 1992;79:328-327.
4. **Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N.** Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999;189(1):12-19.
5. **zur Hausen H.** Yohei Ito Memorial Lecture: Papillomaviruses in human cancers. Leukemia 1999;13:1-5.
6. **Schiller JT.** Papillomavirus-like particle vaccines for cervical cancer. Mol Med Today 1999;5:209-215.
7. **Klein J, Sato A.** The HLA system: first of two parts. N Engl J Med 2000;7,343(10):702-709.
8. **Roitt I, Brostoff J, Male D.** Immunology. 4th ed. Mosby, London; 1998. p. 221-228.
9. **Frazer IH, Thomas R, Zhou J, Leggett GR, Dunn L, McMillan N, Tindie RW, Filgueira L, Manders P, Bamard P, Sharkey M.** Potential strategies utilized by papillomavirus to evade host immunity. Immunol Rev 1999;168:131-142.
10. **Nakagawa M, Stites DP, Patel S, Farhat S, Scott M, Hilis NK, Palefsky JM, Moscicki AB.** Persistence of human papillomavirus type 16 infection is associated with lack of cytotoxic T lymphocyte response to the E6 antigens. J Infect Dis 2000;182:595-598.
11. **Keating PJ, Cromme FV, Duggan-Keen M, Snijders PJ, Walboomers JM, et al.** Frequency of down-regulation of individual HLA-A and -B alleles in cervical carcinomas in relation to TAP-1 expression. Br J Cancer 1995;72:405-411.
12. **Garrido F, Ruiz-Cabello F, Cabrera T, Pérez-Villar JJ, López-Botet M, et al.** Implications for immunosurveillance of altered HLA class I phenotypes in human tumours. Immunol Today 1997;18:89-95.
13. **Vambutas A, Bonagura VR, Steinberg BM.** Altered expression of TAP-1 and major histocompatibility complex class I in laryngeal papillomatosis: correlation of TAP-1 with disease. Clin Diagn Lab Immunol 2000;7:79-85.
14. **Tartour E, Gey A, Sastre-Garau X, Lombard Surin I, Mosseri V, Fridman WH.** Prognostic value of intratumoral interferon gamma messenger RNA expression in invasive cervical carcinomas. J Natl Cancer Inst 1998;90:287-294.
15. **Arany I, Rady P, Tyring SK.** Alterations in cytokine and oncogene expression in skin lesions caused by low risk types of human papillomaviruses. Viral Immunol 1993;6:255-265.
16. **Mota FF, Rayment NB, Kanan JH, Singer A, Chain BM.** Differential regulation of HLA-DQ expression by keratinocytes and Langerhans cells in normal and premalignant cervical epithelium tissue. Antigens 1998;52(3):286-293.
17. **Woodworth CD, Simpson S.** Comparative lymphokine secretion by cultured normal human cervical keratinocytes, papillomavirus-immortalized, and carcinoma cell lines. Am J Pathol 1993;142:1544-1555.
18. **Tay SK, Jenkins D, Maddox P, Singer A.** Lymphocyte phenotypes in cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection. Br J Obstet Gynaecol 1987;94:16-21.
19. **Rowen D, Lacey C.** Toward a papillomavirus vaccine. Dermatol Clin 1998;16:835-838.
20. **Comelison T.** Human papillomavirus genotype 16 vaccines for cervical cancer prophylaxis and treatment. Curr Opin Oncol 2000;12:466-473.
21. **Da Silva DM, Elben GL, Fausch SC, Wakabayashi MT, Rudolf MP, Veiders MP, Kast WM.** Cervical cancer vaccines: emerging concepts and developments. J Cell Physiol 2001;186:169-182.
22. **Nardelli-Haeffliger D, Roden RBS, Benyacoub J, et al.** Human papillomavirus type 16 virus-like particles expressed in attenuated *Salmonella typhimurium* elicit mucosal and systemic neutralizing antibodies in mice. Infect Immun 1997;65:3328-3336.
23. **Resing ME, de Jong JH, Brandt RMP, Ddijhout JW, Benckhuijsen WE, Schreuder GMT, Offringa R, Kast WM, Melief CJM.** Differential binding of viral peptides to HLA-A2 alleles. Implications for human papillomavirus type 16 E7 peptide-based vaccination against cervical carcinoma. Eur J Immunol 1999;29:1292-1303.
24. **Castaño AR, López de Castro JA.** Structure of the HLA-A*0204 antigen found in South American Indians. Spatial clustering of HLA-A2 subtype polymorphism. Immunogenetics 1991;34:281-285.
25. **Kois A, Sherris J.** HPV vaccines: promise and challenges. Pathology 2000. Artículo disponible en internet: <http://www.path.org.com>.
26. **Shah KV, Howley PM.** Papillomaviruses. In: Fields BN, Knipe DM. editors. Field's virology, 2nd ed. New York: Raven Press; 1990. p. 1625-1650.
27. **Hagensee ME.** Human papillomavirus vaccine. Infect Urol 1999;12:11-19.
28. Disponible en: http://medscape.com/content/1999/00/49/69/416990/416990_tab.html.