

RESPUESTA INMUNE CONTRA LA CÁPSIDE DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO: BASES PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA EL CÁNCER CERVICAL UTERINO

Jorge Hernández Montes¹
Alberto Monroy García^{1,2}
María de Lourdes Mora García¹

RESUMEN

El cáncer cervical uterino es un grave problema de salud pública, sobre todo en los países en desarrollo. Se asocia casi absolutamente con la infección por virus de papiloma humano (VPH) y por tanto, se considera que una respuesta inmune efectiva contra el virus conduciría a la prevención y al tratamiento de esta enfermedad. Evidencias experimentales han demostrado que es posible generar una respuesta específica humoral y celular en contra de proteínas de VPH. En particular, el uso de partículas pseudovirales recombinantes permite obtener información acerca de la respuesta inmune contra el VPH y es la base para el desarrollo de vacunas profilácticas. La mejor comprensión de los mecanismos celulares y moleculares involucrados en esta respuesta permitirá el mejoramiento de las propuestas de vacunación en curso y el establecimiento de nuevas estrategias.

Palabras Claves: Sistema inmunológico, vacunas, virus de papiloma humano, cáncer cervicouterino.

Immune response against human papilloma virus: basis for vaccine development against cervical-uterine cancer

SUMMARY

Cervical cancer is a serious problem of public health, mainly in the developing countries. It is associated with the infection by human papillomavirus, and therefore, is considered that an effective immune response against the virus would conduct to the prevention and processing of this illness. Experimental evidences have shown that it is possible to generate a specific humoral and cellular response against proteins of VPH. Particularly, the use of recombinant virus-like particles would shed information about the immune response against the VPH and would be the basis for the development of prophylactic vaccines. The best comprehension of the cellular and molecular mechanisms involved in this response will permit the improvement of the proposals of vaccination under way and will permit the establishment of new strategies.

Key Words: Immune sistem, vaccines, human papilloma virus, cervical uterine cancer.

ARTÍCULO RECIBIDO EL 04 DE SEPTIEMBRE DEL 2006 Y ACEPTADO EL 28 DE NOVIEMBRE DEL 2006.

INTRODUCCIÓN

Las cifras epidemiológicas asociadas al cáncer cervical-uterino nos dan cuenta de la grave naturaleza de esta enfermedad: más de 400 millones de casos estimados a los que se suman medio millón anualmente, causando 250 000 muertes en el mismo período de tiempo; y como es de esperarse, el 80% de la incidencia se presenta en los países en vías de desarrollo. Además de proporcionarnos estos datos, la Organización Mundial de la Salud nos indica que la principal causa de esta

patología es la infección por el virus de papiloma humano (VPH)¹ pero al mismo tiempo nos informa de los esperanzadores avances en la generación de una vacuna, lo que resulta crucial en los países en vías de desarrollo, donde los programas de detección oportuna no han rendido resultados deseables.

La idea de que la infección por VPH es la causa primordial del cáncer cervical uterino proviene de la combinación de datos epidemiológicos y moleculares: mediante técnicas moleculares, entre ellas la *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR*, por sus siglas en inglés), es posible detectar al material genético viral en casi todas las muestras analizadas^{2,3}. Asimismo,

¹Laboratorio de Inmunobiología, FES Zaragoza, UNAM.

²Unidad de Investigación Médica en Enfermedades oncológicas, CMN Siglo XXI.

experimentalmente han sido determinadas las propiedades oncogénicas de dos proteínas codificadas en el genoma del VPH cuya expresión es necesaria para que se mantenga el estado transformado de la célula⁴.

En consecuencia, un gran número de grupos de investigación trabaja en la hipótesis de que una respuesta inmune efectiva en contra del VPH puede significar la prevención o el tratamiento del cáncer cervical uterino; sin embargo, el verdadero alcance de estas propuestas, así como los mecanismos moleculares que participan en tal respuesta, aun están por definirse. En este artículo se presenta la revisión de algunos aspectos relevantes en el conocimiento generado acerca de la respuesta inmune en contra de la proteína L1, que es la principal constituyente de la cápside del VPH, y que es el blanco de ataque de las propuestas de vacunación con mayor viabilidad actualmente.

POR QUÉ EL VPH PRODUCE CACU

Hasta ahora, han sido descritos alrededor de cien diferentes tipos de virus de papiloma humano⁵. De acuerdo con su asociación a lesiones benignas o malignas son clasificados como virus de bajo o de alto riesgo, respectivamente. De este modo, entre los tipos de alto riesgo, el tipo 16 se halla en el 50% de las lesiones analizadas y el tipo 18 en casi el 20%, mientras que otros tipos de VPH de alto riesgo son el 31, 33, 41, 45, etc⁶.

Los virus del papiloma están fuertemente restringidos a su especie hospedera y a tipos celulares determinados. Miles de años de co-evolución, han dado como resultado que el ciclo replicativo del virus de papiloma humano esté intrincadamente asociado a la biología del tracto genital femenino, lo que en gran medida le permite pasar inadvertido ante el sistema inmune. La infección inicia en las capas basales del epitelio estratificado y aquí la replicación del genoma viral es conducida mediante una somera expresión de proteínas virales llamadas *tempranas* (E, del inglés *early*). Algunas de ellas, como E6 y E7, son capaces de interactuar físicamente con proteínas de las células infectadas encargadas de regular la proliferación celular y esta interacción anula su función normal y permite la replicación viral. Conforme las células basales van moviéndose hacia la luz del útero y se diferencian hacia células escamosas, que eventualmente serán perdidas en un proceso de descamación, son producidas las proteínas virales de expresión tardía L1 y L2 (del inglés *late*) que van a constituir a la cápside o cubierta del virus; previamente a, o durante el proceso de descamación se liberan los viriones maduros capaces de reinfectar al epitelio⁷. Sin embargo, el proceso de liberación de viriones no es lítico y las células escamosas son malas inductoras de una respuesta inmune^{8,9}, por lo que la infección puede volverse crónica, además de que el tracto genital puede sufrir repetidas infecciones por el mismo o por diferentes tipos de VPH, sin que se produzcan efectos marcadamente evidentes¹⁰ (Fig. 1).

En algún momento este ciclo puede ser interrumpido por la integración del genoma viral al genoma de la célula hospedera, mediante un proceso aparentemente aleatorio. La integración

inicia por la ruptura de la estructura genómica del HPV, originalmente circular, de tal forma que se pierde la expresión de las proteínas reguladoras¹¹. La pérdida de la regulación da como resultado una fuerte expresión de las proteínas oncogénicas E6 y E7, y su acción combinada e irrestricta induce una inestabilidad genética de tal magnitud que el crecimiento celular desordenado puede pasar de una simple displasia hacia un tumor con consecuencias mortales^{12,13}. La clasificación de los tipos de HPV en bajo y alto riesgo, finalmente, es un reflejo de la capacidad oncogénica de sus proteínas E6 y E7.

UNA VISIÓN GENERAL DEL SISTEMA INMUNE

El sistema inmune, compuesto por distintos tipos celulares y diversas moléculas, tiene como propósito fundamental el proteger al organismo de una infección por agentes patógenos, pero también es capaz de mantener la integridad funcional del organismo al corregir anomalías derivadas de la transformación celular. Con un propósito descriptivo, el sistema inmune ha sido dividido en dos ramas: una rama innata y una rama adaptativa, aunque en realidad se trata de un sistema integral en donde los componentes interactúan estrecha y coordinadamente.

En la primera rama, la más primitiva, se incluyen las barreras físicas que impiden el paso de los microorganismos, como son la piel, los tipos celulares y las moléculas que inician la defensa ante los microorganismos: por ejemplo los fagocitos y las moléculas del Sistema del Complemento. Estos elementos del sistema inmune reconocen, con una afinidad fija y sin capacidad para “recordar”, a estructuras ampliamente presentes entre los microorganismos patógenos¹⁴. Por otro lado, la rama adaptativa, que es efectuada básicamente por los linfocitos, presenta un vasto potencial de reconocimiento que además en algunos casos puede “afinarse” y tiene como un rasgo importante la capacidad de generar memoria, de tal modo que la respuesta contra un segundo reto de un mismo patógeno es mucho más rápida y específica. Una respuesta de este tipo es la que deseamos cuando se trata de generar una protección inmune mediada por vacunación.

A su vez, los linfocitos se dividen en dos grupos, de acuerdo con su origen y su capacidad para reconocer a los *antígenos*: en linfocitos B y en linfocitos T. Los primeros, tienen en su membrana receptores que reconocen *antígenos* solubles con localización extracelular y como resultado de un reconocimiento óptimo se producen los anticuerpos contra esos mismos antígenos, que constituyen una respuesta inmune humoral adaptativa¹⁵. Por su parte los linfocitos T efectúan una respuesta que requiere del contacto celular y se subdividen en cooperadores (TH, del inglés *helper*) y citotóxicos (TC)¹⁶. A diferencia de los linfocitos B, los linfocitos T reconocen a fragmentos proteínicos únicamente cuando están asociados a las moléculas codificadas en el Complejo Principal de Histocompatibilidad (moléculas HLA, del inglés *Human Leukocyte Antigens*) “presentados” en la superficie de las células blanco. Estos fragmentos proceden de la degradación de proteínas intracelulares cuyos fragmentos son acarreados a la superficie celular por las moléculas HLA¹⁷. Si los

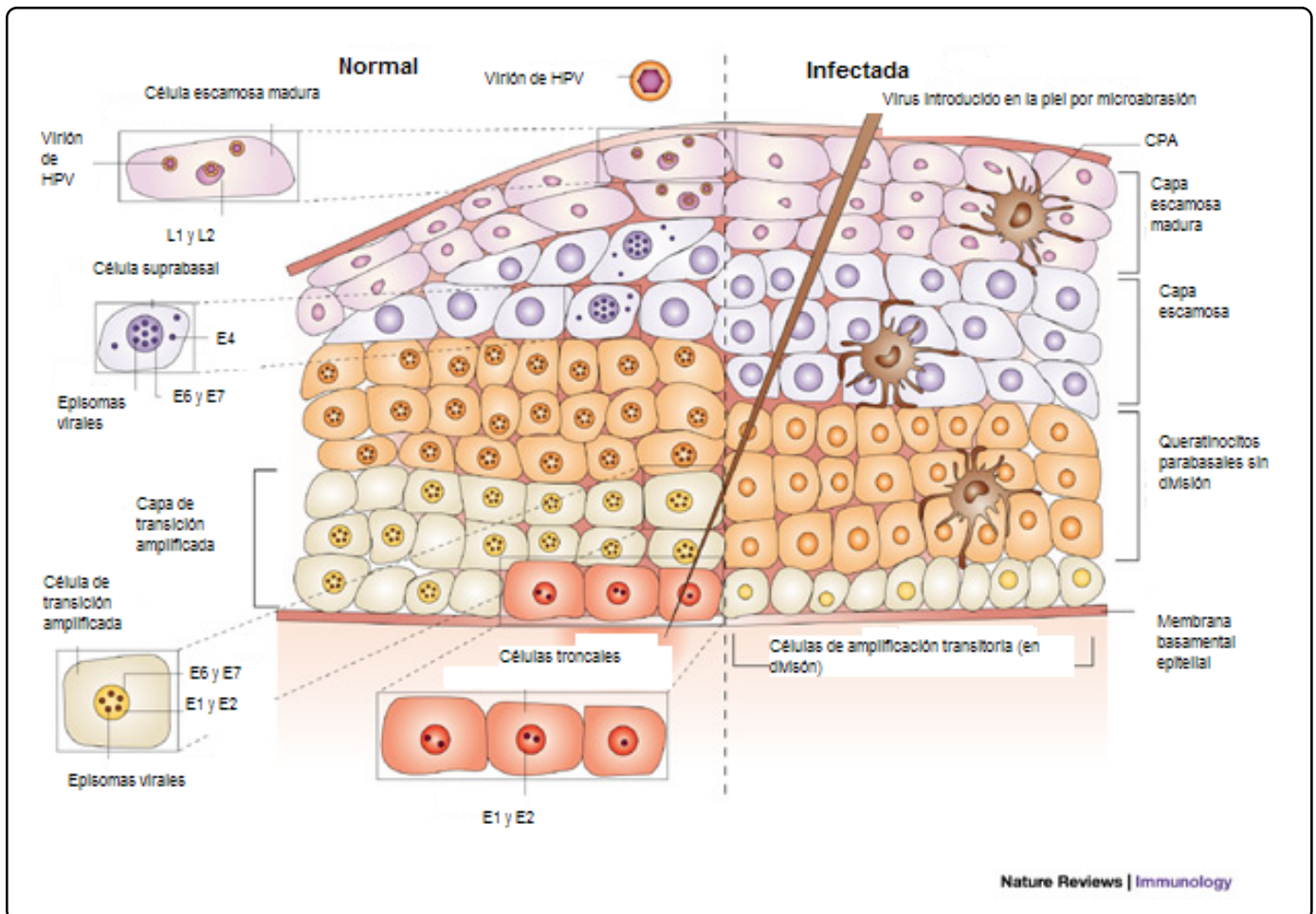


Figura 1. Muestra la arquitectura del epitelio escamoso estratificado y la expresión de virus de papiloma humano después de la infección. Las células hijas de las células epiteliales estaminales se dividen a lo largo de la membrana basal y entonces maduran verticalmente sin ninguna división posterior (lado derecho). Después de la introducción del HPV en las células estaminales en la capa basal del epitelio ocurre la expresión de proteínas virales no estructurales. Bajo la regulación de esas proteínas se expande verticalmente la población de células en división y la diferenciación epitelial es frenada. Las proteínas virales son expresadas secuencialmente, y los viriones maduros son producidos únicamente en las capas epiteliales más superficiales. Las células presentadoras de antígenos intraepiteliales están ausentes del epitelio infectado por HPV. (Tomado con modificaciones de la referencia 60).

péptidos presentados provienen de proteínas derivadas de un agente infeccioso, los linfocitos T cooperadores secretan al medio proteínas (llamadas citocinas) que ayudan a otras células a efectuar sus funciones, por ejemplo, activando o desactivando a los linfocitos citotóxicos, modulando la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B, e incluso influyendo en la activación de células de la respuesta inmune innata, como lo son los macrófagos. Por otro lado, cuando los linfocitos T citotóxicos reconocen a sus antígenos, son capaces de inducir la muerte de las células infectadas o que expresan proteínas mutadas. Es muy probable que esta respuesta inmune celular juegue un papel importante en el control de la proliferación de células transformadas y en consecuencia, represente un mecanismo de resistencia contra el establecimiento de tumores.

LA RESPUESTA INMUNE HACIA EL CACU Y EL USO DE PSEUDOVIRUS

Múltiples evidencias circunstanciales y cada vez más evidencias

experimentales indican que a pesar de la limitada replicación del virus de papiloma humano, el sistema inmune es capaz de revertir la infección. Por ejemplo, en la revisión de datos epidemiológicos se observa una mayor incidencia de la infección en personas inmuno-comprometidas, (embarazadas, receptores de transplantes con regímenes de fármacos inmunosupresores, pacientes infectados por HIV^{18,19} etc.); además, es frecuente la detección de células del sistema inmune infiltradas en el cérvix, posiblemente como una respuesta a la infección²⁰.

Actualmente se consideran dos opciones para intervenir en la respuesta inmune con la finalidad de combatir al cáncer cervicouterino: la prevención (profilaxis) o la erradicación (terapéutica) de la infección por VPH. Tomando en cuenta la biología de la replicación del virus se considera que una vacuna profiláctica estaría dirigida en contra de las proteínas de la cápside (L1 y L2) pues éstas son expresadas de manera importante en las etapas iniciales de la infección y la generación de anticuerpos

neutralizantes impediría la infección de otras células; por otro lado, una respuesta terapéutica buscaría capacitar al sistema inmune para la identificación de antígenos provenientes de las proteínas oncogénicas, básicamente E6 y E7, cuya expresión es necesaria para mantener el estado de transformación celular y por tanto, se asume que deben funcionar como marcadores tumorales; una respuesta inmune efectiva dirigida hacia esas proteínas conduciría a la eliminación de las células transformadas sin afectar al resto del organismo. Sin embargo, aun cuando con diferentes modelos experimentales se ha demostrado la factibilidad de una respuesta inmune de este tipo, en la práctica no se ha logrado un éxito satisfactorio, debido probablemente a un estado inmune incompetente en las pacientes con tumores avanzados. Así, el desarrollo de métodos inmunoterapéuticos satisfactoriamente efectivos permanece como un pendiente, y en la actualidad los resultados más alentadores se han alcanzado en el campo las vacunas profilácticas.

Un avance fundamental para el estudio de la respuesta inmune contra el VPH así como el desarrollo de las propuestas profilácticas, fue el descubrimiento de que la proteína L1 de la cápside del VPH expresada de manera artificial en sistemas recombinantes puede ensamblarse espontáneamente como partículas pseudovirales (VLP del inglés *virus-like particles*)²¹, ya sea individualmente o en conjunto con la proteína L2. Las partículas pseudovirales retienen la capacidad inmunogénica del virus y su disponibilidad ha permitido su uso para el estudio de la inmunidad contra el VPH en modelos animales y como antígenos en ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) para la detección de anticuerpos específicos en el suero de pacientes con infección por VPH²². El uso de VLP como inmunógenos da como resultado la producción de anticuerpos específicos hacia la proteína L1 y su estructura altamente organizada y repetitiva sugiere su uso como adyuvante de la respuesta inmune y potencialmente pueden ser propuestos como acarreadores incluso de proteínas de otros virus o de antígenos tumorales²³.

RESPUESTA HUMORAL CONTRA EL CACU

Aun cuando el ciclo replicativo del HPV constituye por sí mismo un mecanismo de evasión de la respuesta inmune, pueden ser detectados anticuerpos específicos hacia la proteína L1, que es el componente principal de la cápside, en la mayoría aunque no en todos los individuos^{24,25,26} con infección cervical, vulvar o anogenital. Sin embargo, la cinética de su producción es lenta y los títulos suelen ser bajos²⁷. El tiempo de conversión de los anticuerpos iniciales de tipo IgM al tipo más eficiente IgG, puede durar varios meses. Esta seroconversión es más probable en infecciones persistentes, y cuando un tipo de HPV infectante es prevalente, más que cuando concurren diferentes tipos incidentales. Mediante inmunoensayos usando VLP como antígenos ha sido determinado que los anticuerpos son neutralizantes y altamente específicos, presentándose una reactividad cruzada sólo entre los tipos de HPV cercanos, lo que apoya la idea de que reconocen epítopes conformacionales²⁸. Aunque existe una correlación entre el desarrollo de la infección (determinado por la detección de ADN viral) y la presencia de los

anticuerpos, no es absoluta, por lo que no ha sido posible establecer sistemas de diagnóstico basados en la detección de los anticuerpos; sin embargo, en términos generales ha sido propuesto que el pico de concentración de los anticuerpos coincide con la regresión de la lesión. A pesar de la baja concentración de estos anticuerpos, en modelos animales se ha observado que confieren resistencia a un reto posterior²⁹, y que pueden conferir protección en un sujeto diferente por medio de una transferencia pasiva³⁰.

Como se mencionó anteriormente, los VLP conservan en gran medida las propiedades inmunogénicas de los virus de papiloma y la inmunización con estas partículas consistentemente genera una respuesta de anticuerpos, como fue probado en diversos sistemas animales, donde se observó que la inmunización confiere resistencia hacia fuertes cargas virales³¹. Ensayos de la inmunización de humanos con VLP han dado como resultado la generación de anticuerpos de tipo IgG neutralizantes en mayor concentración que la observada durante la infección natural, en comparación de quienes recibieron sólo placebo^{32,33,34,35}. Los anticuerpos así obtenidos son altamente específicos hacia el tipo de VLP usado en la inmunización y la protección cruzada hacia tipos diferentes parece ser un fenómeno limitado. En un estudio inicial que incluyó a³⁵ pacientes por dosis, se encontró que los títulos de anticuerpos dependen de las dosis de VLP inyectadas, que persistieron después de 36 meses y que no causaron efectos colaterales nocivos³⁵. Un inconveniente observado fué la disminución de anticuerpos sistémicos durante la fase de la ovulación de las mujeres inmunizadas; sin embargo, ésta puede ser revertida cuando es usada la inmunización por aerosoles vía nasal pues se induce la expresión de anticuerpos tipo IgA³⁶.

RESPUESTA INMUNE CELULAR HACIA EL CACU

Aunque se ha generado una mayor cantidad de información que describe el importante papel de la respuesta inmune humoral hacia la proteína L1, también debe existir una participación decisiva de la respuesta inmune celular hacia esta proteína, pensando que el fenómeno de regresión es común en las lesiones mediadas por HPV^{37,38}.

La primera línea de evidencias en este sentido provino de estudios histológicos de verrugas producidas por HPV no malignos; en lesiones persistentes fue observada una disminución del número de células inmunocompetentes infiltradas, que además se acumulaban en el estroma más que en el epitelio; en contraste, cuando hubo regresión fue acompañada por un fuerte infiltrado de células mononucleares tanto en el estroma como en el epitelio, que consistía tanto de linfocitos CD4+ como CD8+ y mostraban características propias de la activación hacia una infección viral³⁹. Asimismo, estas observaciones fueron corroboradas en modelos de infección en animales, donde además puede hacerse un seguimiento en el tiempo de esta respuesta. Por otro lado, como evidencia indirecta, la baja incidencia de cáncer cervical en comparación con los porcentajes de infección, que en algunos casos representa hasta

el 80% de algunas poblaciones jóvenes sexualmente activas, sugiere que se presenta una regresión de las lesiones que puede ser atribuida a la respuesta inmune celular⁴⁰. A partir de estas premisas, mediante modelos animales y con ensayos in vitro ha podido ser detectada una respuesta inmune celular hacia proteínas de expresión temprana con la consecuente identificación de un gran número de antígenos, algunos de ellos plenamente caracterizados, y empleados en múltiples ensayos, cuyo propósito final es evaluar su potencial en el desarrollo de estrategias terapéuticas.

La respuesta inmune celular es evaluada in vitro midiendo la proliferación de leucocitos provenientes de sangre periférica como respuesta al estímulo de antígenos determinados. De este modo, aun cuando la mayor parte de la información al presente se ha generado en torno a la respuesta celular hacia proteínas *E*, el uso de VLP ha permitido evaluar también la posible respuesta hacia proteínas de la cápside. Como resultado, ha sido evidenciado que en pacientes con lesiones severas por HPV se presenta una respuesta proliferativa baja de los linfocitos T CD4+ hacia cinco proteínas de HPV, incluyendo a la *L1*, lo cual coincide con los resultados encontrados inicialmente mediante los ensayos histoquímicos en verrugas persistentes⁴¹. En contraste, en otro estudio, fue reportada una deficiente respuesta de linfocitos CD4 tipo I en pacientes con infección por HPV hacia péptidos de proteínas *E*, pero no así para *L1*, además, sin diferencias significativas con respecto a donadores normales⁴². En este mismo reporte encontraron una respuesta significativa en mujeres vírgenes después de la vacunación con las partículas pseudovirales. Asimismo, en pacientes con cáncer vulvar donde fue evaluada la respuesta hacia la proteína E2, el uso de VLP como control claramente mostró una diferencia de respuesta tanto humoral como celular al comparar a los pacientes con un grupo de donadores sanos⁴³.

Además de medir la capacidad de proliferar de los linfocitos T como respuesta a un antígeno, también se evalúa la secreción de linfocinas como una medida de la activación y como una forma de discernir el tipo de respuesta que se está generando. Por ejemplo, en el reporte parcial de un estudio en fase II donde voluntarios sanos recibieron una vacunación consistente de VLP producidas en células de insecto (Novovax) fue observada una diferencia entre quienes recibieron la vacuna y el placebo, medido como un aumento de la capacidad linfoproliferativa in vitro en respuesta a VLP, y un aumento significativo de la producción de citocinas importantes en el desarrollo de la respuesta inmune (IFN-gamma, IL-5, e IL10), además de una robusta respuesta humoral⁴⁴. Mediante el uso de péptidos sintéticos fue detectada una más amplia respuesta hacia péptidos de *L1* en pacientes con neoplasia intracervical; esta respuesta aumentó con la reincidencia de la enfermedad, medida como la respuesta proliferativa de líneas celulares de corto tiempo.

LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS PARTICIPAN EN LA RESPUESTA INMUNE CELULAR CONTRA CACU

La potente capacidad efectora de la respuesta inmune requiere

de mecanismos de regulación que impidan su acción descontrolada. La pérdida de esta regulación está drásticamente ilustrada por los severos casos de las enfermedades autoinmunes. Por ello, para el inicio de una respuesta inmune adaptativa efectiva se requiere de la participación de diferentes estímulos además del obvio reconocimiento de los antígenos por parte de los receptores de los linfocitos, por ejemplo, con moléculas accesorias secretadas o dispuestas en la superficie celular; esta necesidad de regulación conduce al concepto de célula presentadora de antígeno “profesional” (APC, del inglés *antigen presenting cell*). La importancia de estas células es su capacidad para “educar” a los linfocitos potencialmente capaces para responder específicamente a un antígeno determinado. Un ejemplo notable de APC lo son las células dendríticas, que funcionan como centinelas, al ubicarse estratégicamente y tener una importante capacidad para captar del medio antígenos particulados por diferentes vías de endocitosis, para procesarlos y presentarlos asociados a las moléculas HLA. La estimulación de las células dendríticas las conduce a un estado de maduración que aumenta la expresión de moléculas presentadoras de antígenos y de moléculas co-estimuladoras; la interacción en los nódulos linfáticos entre las células dendríticas maduras presentando antígenos y los linfocitos, da como resultado la activación de los linfocitos T específicos y consecuentemente, la respuesta de estas células hacia esos antígenos.

Dada la importancia de las células dendríticas, ha sido evaluada la participación que puedan tener en la activación de una respuesta inmune hacia el VPH. Así, fue determinado que los pseudovirus bovinos y de VPH inducen la activación de células dendríticas de ratón, a diferencia de sus subunidades desensambladas (capsómeros) y de poliovirus⁴⁵; esta observación ha sido consistentemente corroborada^{46,47}. Sin embargo, la composición de la población de las células dendríticas es heterogénea y células dendríticas diferenciadas bajo diferentes estímulos presentan diferentes rutas de incorporación de los pseudovirus⁴⁸. Además, ha sido propuesto que las células de Langerhans, un importante subtipo de células dendríticas presentes en el tracto genital, no son activadas por los VLP^{49,50}.

Asimismo, la importancia de las células dendríticas en la erradicación de la infección con VPH se ha evidenciado indirectamente mediante estudios inmunohistoquímicos que mostraron una disminución de hasta un 50% en la frecuencia por área de células dendríticas en especímenes con infección comparado con muestras no infectadas, empleando distintos marcadores de células dendríticas⁵¹; anteriormente, una disminución semejante también fue observada en especímenes provenientes de pacientes refractarios al *Imiquimod*, un fármaco inmunomodulador empleado en el tratamiento de verrugas inducidas por el virus de papiloma⁵². Estas observaciones ponen de manifiesto la importancia que las células dendríticas tienen en la activación de una respuesta inmune en contra del virus de papiloma humano, y sugieren un potencial terapéutico para la manipulación adecuada de este tipo celular.

VACUNAS PROFILÁCTICAS CONTRA EL CÁNCER CERVICAL UTERINO

Como corolario, podemos afirmar que la intervención en el sistema inmune representa una opción viable para el control de la infección por VPH y por ende, una alternativa atractiva a los tratamientos manejados actualmente; la estrategia más promisoría el día de hoy es inmunización con partículas pseudovirales (VLP), que además de proveer útil información de la respuesta inmune hacia el VPH, se perfila como un procedimiento útil para el desarrollo de vacunas contra el cáncer cervical (Fig. 2).

Aunque en principio el concepto pueda parecer simple, su ejecución fue retrasada por la dificultad de propagar al VPH *in vitro*. Para la obtención exitosa de las VLP han sido ensayados diversos sistemas para expresar la información genética de la proteína L1 individualmente o en conjunto con la L2 en bacterias, células de insecto, levaduras, y recientemente en células de mamífero^{53,54}; Sin embargo, ya consolidada, esta estrategia resulta sumamente elegante debido a las propiedades de los pseudovirus: al carecer del material genético se anula la expresión de las proteínas oncogénicas del virus y por ende su potencial transformante, y la estructura complejamente organizada y repetitiva de la cápside les confiere una alta inmunogenicidad. Tomando en cuenta estas características, actualmente se evalúa también su aplicación como adyuvante en la generación de una respuesta inmune contra proteínas diferentes a L1 y a L2, ya sean propias del HPV o de otros virus. Como ejemplo, puede citarse la evaluación de la respuesta inmune de VLP formadas por proteínas quiméricas donde a la proteína L1 se fusionó la proteína E7⁵⁵, y posteriormente, también la proteína E2⁵⁶.

Es tal el interés generado por el potencial de los VLP, que se han puesto en curso diversos protocolos que tienen la finalidad de evaluar su capacidad inmunogénica, y finalmente de explotarla comercialmente. Motivados por los resultados preliminares obtenidos con la aplicación de una vacuna monovalente contra HPV16, la compañía Merck ha patrocinado el estudio de una vacuna tetravalente (para HPV-6, -11, -16 y -18) con una eficacia probada de 17 meses⁵⁷; los resultados satisfactorios han sido extendidos hasta 3.5 años en ensayos clínicos de fase III y Merck ha obtenido una Licencia para la comercialización de su producto; por su parte, GlaxoSmithKleen recientemente presentó los resultados de la fase III de una vacuna bivalente (HPV-16 y -18) que demuestra una eficacia sostenida hasta por 4.5 años⁵⁸.

Sin embargo, aun cuando los resultados obtenidos son muy promisorios, quedan por resolver algunas cuestiones relacionadas con los mecanismos subyacentes a la protección conferida por la inmunización con los VLP, cuya comprensión puede ser de utilidad en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Una de ellas, es la persistencia de la protección conferida por la vacunación, donde por obvia razón no existen aún observaciones a un plazo mayor al de los determinados en los estudios de fase III referidos anteriormente; otro aspecto que queda pendiente de ser dilucidado es la participación de las ramas inmunes humoral y celular en el control de la lesión: la

magnitud de la generación de anticuerpos específicos es evaluada adecuadamente mediante las técnicas inmunoenzimáticas y de hecho es considerada como un parámetro de la efectividad y la duración de la inmunización con VLP u otros inmunógenos derivados de VPH, y la producción de anticuerpos y su posterior seroconversión implican la función de los linfocitos T cooperadores; sin embargo, no es tan clara la influencia de la participación de los linfocitos T citotóxicos. Asimismo, el sistema inmune es sumamente complejo y su respuesta puede variar dependiendo de la ruta de inoculación del antígeno, y por tanto, sería conveniente evaluar la eficacia de distintas rutas de administración de las vacunas y la comparación de la capacidad de anticuerpos sistémicos en comparación de anticuerpos producto de la inmunidad de mucosas³⁶.

También es relevante la capacidad de cobertura de las vacunas, puesto que aunque la inmunización hacia los tipos de HPV 16

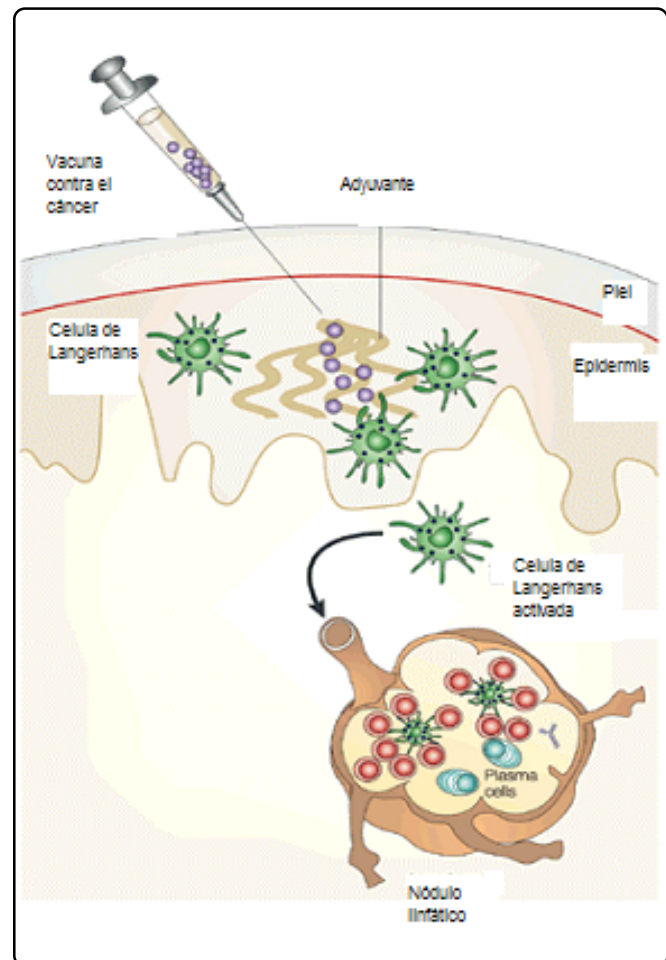


Figura 2. Una vacuna consistente de antígenos definidos, por ejemplo VLP, es administrada en una preparación inmunoestimuladora que es capaz de activar a células dendríticas (o células de Langerhans) que residen en la epidermis. Las células de Langerhans activadas transitan hacia los nódulos linfáticos donde presentan los antígenos a las células T. Las células B también son activadas y el resultado esperado es la expansión de clones de células T específicas hacia la infección viral y la producción de anticuerpos neutralizantes específicos. (Tomado con modificaciones de la referencia 61).

y 18 cubren aproximadamente el 70 por ciento de las lesiones avanzadas, aún queda por determinar si esta respuesta protege contra el resto de las lesiones producidas por los otros tipos, considerando que aparentemente la capacidad de protección cruzada es limitada a tipos de HPV filogenéticamente cercanos. Aunado a ello, habrá que determinar si la presencia de diferencias en las secuencias virales de un mismo tipo entre distintas poblaciones (variantes) pudiera tener relevancia en la respuesta inmune hacia los VLP⁵⁹.

Además de los aspectos técnicos pendientes surgen controversias acerca de aspectos éticos y sociales, como es la inclusión de las vacunas hacia VPH en los cuadros básicos de los sistemas de seguridad social, y en caso de optar por la vacunación, cuál es la edad idónea para ello.

En conclusión, podemos considerar como viable la estrategia de inducir a la respuesta inmune contra el VPH como un mecanismo de control del cáncer cervical; la resolución de las interrogantes actuales ayudará a la consolidación de las propuestas de vacunación en curso, y fomentará el desarrollo de nuevas estrategias, como por ejemplo la manipulación de las células dendríticas para generar respuestas más eficaces y menos nocivas que las empleadas actualmente.

BIBLIOGRAFÍA

1. <http://www.who.int>
2. Bosch FX, Manos MM, Munoz M, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective International Biological study on cervical cancer (IBSCC) study group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796–802
3. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJF, Peto J, Meijer CJLM, Munoz N Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–19
4. zur Hausen H. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1288: F55–78.
5. deVilliers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 17–27
6. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snidjers PJ, Meijer CJ, International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus associated with cervical cancer. *New Eng J Med* 2003; 348: 518–527.
7. Middleton K, Peh W, Southern S, Griffin H, Sotlar K, Nakahara T, et al. Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. *J Virol* 2003; 77: 10186–201.
8. Connor ME, Stern PL. Loss of MHC class-I expression in cervical carcinomas. *Int J Cancer* 1990; 46: 1029–34.
9. Higgins GD, Uzelin DM, Phillips GE, McEvoy P, Marin R, Burrell CJ. Transcription patterns of human papillomavirus type 16 in genital intraepithelial neoplasia: evidence for promoter usage within the E7 open reading frame during epithelial differentiation. *J General Virol* 1992; 73:2047–57.
10. Kupper TS, Fuhlbrigge RC. Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 211–22.
11. Chen CM, Shyu MP, Au LC, Chu HW, Cheng WTK, Choo KB. Analysis of deletion of the integrated human-papillomavirus-16 sequence in cervical cancer: a rapid multiplex polymerase-chain reaction approach. *J Med Virol* 1994; 44: 206–211.
12. SchlechtNF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa LL, Franco EL. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *J Am Med Assoc* 2001; 286: 3106–14.
13. Remmink AJ, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Risse EK, et al. The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. *Int J Cancer* 1995; 61: 306–311.
14. Medzhitov R, Janeway Jr CA. Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 2002; 296: 298–300.
15. McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG. Antigen-specific memory B cell development. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 487–513.
16. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: Function, generation, and Maintenance. *Annu. Rev. Immunol* 2004; 22: 745–63
17. Yewdell JW, Reits E, Neefjes J. Making sense of mass destruction: Quantitating MHC class I antigen presentation. *Nature Reviews (Immunology)* 2003; 3: 952–961.
18. Fennema JSA, van Ameijden EJC, Coutinho RA, van den Hoek AAR. HIV, sexually transmitted diseases and gynaecologic disorders in women: increased risk for genital herpes and warts among HIV-infected prostitutes in A/msterdam. *AIDS* 1995; 9: 1071–1078
19. Fruchter RG, Maiman M, Sedlis A, Bartley L, Camilien L, Arrastia CD. Multiple recurrences of cervical intraepithelial neoplasia in women with the human immunodeficiency virus. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 338–344.
20. Coleman N, Birley HDL, Renton AM, Hanna NF, Ryait BK, Byrne M, Taylor-Robinson D, Stanley MA. Immunological events in regressing genital warts. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 768–774.
21. Xu Y-F, Zhang YQ, Xu XM, Song G-X. Papillomavirus virus-like particles as vehicles for the delivery of epitopes or genes. *Arch Virol* (2006)
22. Christensen ND, Reed CA, Cladel NM, Hall K, Leiserowitz GS. Monoclonal antibodies to HPV-6 L1 virus-like particles identify conformational and linear neutralizing epitopes on HPV-11 in addition to type-specific epitopes on HPV-6. *Virology* 1996; 224: 477–86.
23. Schiller JT, Lowy DR. Papillomavirus-like particle vaccines. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001; 28: 50–54. Review.
24. Carter JJ, Wipf GC, Hagensee ME, McKnight B, Habel LA, Lee SK, et al. Use of human papillomavirus type 6 capsids to detect antibodies in people with genital warts. *J Infect Dis* 1995; 72:11–18.
25. Kirnbauer R, Hubbert NL, Wheeler CM, Becker TM, Lowy DR, Schiller JT. A virus-like particle enzyme-linked immunosorbent assay detects serum antibodies in a majority of women infected with human

- papillomavirus type 16. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86:494–9.
26. Wikström A, van Doornum GJJ, Quint WGV, Schiller JT, Dillner J. Identification of human papillomavirus seroconversions. *J Gen Virol* 1995; 76: 529–39.
27. Villa LL, Costa R, Petta C, Andrade R, Ault K, Giuliano A, Wheeler C, Koutsky L, Malm C, Lehtinen M. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 2005; 6: 271–278.
28. Rose R. C., W. Bonnez, R. C. Reichmann, and R. L. Garcea. Expression of human papillomavirus type 11 L1 protein in insect cells: in vivo and in vitro assembly of virus-like particles. *J. Virol* 1993; 67: 1936–1944.
29. Kreider JW, Bartlett GL. The Shope papilloma-carcinoma complex of rabbits: a model system of neoplastic progression and spontaneous regression. *Adv Cancer Res* 1981; 35: 81–110
30. Suzich JA, Ghim SJ, Palmer-Hill FJ, White WI, Tamura JK, Bell JA, Newsome JA, Jenson AB, Schlegel R. Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11553–11557.
31. Stanley MA. Human papillomavirus vaccines. *Curr Opin Mol Ther* 2002; 4: 15–22.
32. Harro CD, Pang YYS, Roden RBS, Hildesheim A, Wang Z, Reynolds MJ, Mast TC, Robinson R, Murphy BR, Karron RA, Dillner J, Sculler JT, Lowy DR. Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 284–292.
33. Evans TG, Bonnez W, Rose RC, Koenig S, Demeter L, Suzich JA, O'Brien D, Campbell M, White WI, Balsley J, Reichman RC. A phase I study of a recombinant viruslike particle vaccine against human papillomavirus type 11 in healthy adult volunteers. *J Infect Dis* 2001; 183: 1485–93.
34. Ault KA, Giuliano AR, Edwards RP, Tamms G, Kim LL, Smith JF, Jansen KU, Allende M, Taddeo FJ, Skulsky D, Barr E. A phase I study to evaluate a human papillomavirus (HPV) type 18 L1 VLP vaccine. *Vaccine* 2004; 22: 3004–3007.
35. Fife KH, Wheeler CM, Koutsky LA, Barr E, Brown DR, Schiff MA, Kiviat NV, Jansen KU, Barber H, Smith JF, Tadesse A, Giacoletti K, Smith PR, Shur G, Johnson DA. Dose-ranging studies of the safety and immunogenicity of human papillomavirus type 11 and type 16 virus-like particle candidate vaccines in young healthy women. *Vaccine* 2004; 22: 2943–52.
36. Nardelli-Haeffliger D, Wirthner D, Sciller JT, Lowy DR, Hildesheim A, Ponci F, De Grandi P. Specific antibody levels at the cervix during the menstrual cycle of women vaccinated with human papillomavirus 16 virus-like particles. *J Natl cancer Inst* 2003; 95: 1128–1137.
37. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg MD, Alfaro M, Burk RD, Wacholder S, Plummer M, Schiffman M. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 464–474.
38. Sellors JW, Karwalajtys TL, Kaczorowski J, Mahony JB, Lytwyn A, Chong S, Sparrow J, Lorincz A. Incidence, clearance and predictors of human papillomavirus infection in women. *Can Med Assoc J* 2003; 168: 421–425.
39. Fierlbeck G, Schiebel U, Muller C. Immunohistology of genital warts in different stages of regression after therapy with interferon. *Dermatologica* 1989; 178: 191–195.
40. Brown DR, Shew ML, Qadadri B, Neptune N, Vargas M, Tu W, Juliar BE, Breen TE, Fortenberry JD. A longitudinal study of genital human papillomavirus infection in a cohort of closely followed adolescent women. *J Infect Dis* 2005; 191: 182–92.
41. Steele JC, Mann CH, Rookes S, Rollason T, Murphy D, Freeth MG, Gallimore PH, Roberts S. T-cell responses to human papillomavirus type 16 among women with different grades of cervical neoplasia. *Br J Cancer* 2005; 93: 248–259.
42. van Poelgeest MIE, Esther R, Nijhuis ER, Kitty M.C. Kwappenberg KMC, Ineke E. Hamming IE, Drijfhout JW, Fleuren GJ, van der Zee AGJ, Melief CJM, Kenter GG, Nijman HW, Offringa R, Sjoerd H. van der Burg SH. Distinct regulation and impact of type 1 T-cell immunity against HPV16 L1, E2 and E6 antigens during HPV16-induced cervical infection and neoplasia. *Int J Cancer* 2006; 118, 675–683.
43. Davidson EJ, Sehr P, Faulkner RL, Parish JL, Gaston K, Moore RA, Pawlita M, Kitchener HC, Stern PL. Human papillomavirus type 16 E2- and L1-specific serological and T-cell responses in women with vulval intraepithelial neoplasia. *J Gen Virol* 2003; 84: 2089–2097.
44. Pinto LA, Castle PE, Rodend RB, Harro CD, Lowy DR, Schiller JT, Wallace D, Williams M, Kopp W, Frazer IH, Berzofsky JA, Hildesheim A. HPV-16 L1 VLP vaccine elicits a broad-spectrum of cytokine responses in whole blood. *Vaccine* 2005; 23: 3555–3564.
45. Lenz P, Day PM, Pang YY, Frye SA, Jensen PN, Lowy DR, Schiller JT. Papillomavirus-like particles induce acute activation of dendritic cells. *J Immunol* 2001; 166: 5346–5355.
46. Rudolf MP, Fausch SC, Da Silva DM, Kast WM. Human Dendritic Cells Are Activated by Chimeric Human Papillomavirus Type-16 Virus-Like Particles and Induce Epitope-Specific Human T Cell Responses In Vitro. *J Immunol* 2001; 166: 5917–5924.
47. Yan M, Peng J, Jabbar IA, Liu X, Filgueira L, Frazer IH, Thomas R. Activation of dendritic cells by human papillomavirus-like particles through TLR4 and NF-kappaB-mediated signalling, moderated by TGF-beta. *Immunol Cell Biol* 2005; 83:83–91.
48. Yan M, Peng J, Jabbar IA, Liu X, Filgueira L, Frazer IH, Thomas R. Despite differences between dendritic cells and Langerhans cells in the mechanism of papillomavirus-like particle antigen uptake, both cells cross-prime T cells. *Virology* 2004; 324: 297–310.
49. Fausch SC, Da Silva DM, Rudolf MP, Kast WM. Human papillomavirus virus-like particles do not activate Langerhans cells: a possible immune escape mechanism used by human papillomaviruses. *J Immunol* 2002; 169: 3242–3249.
50. Fausch SC, Da Silva DM, Kast WM. Heterologous papillomavirus virus-like particles and human papillomavirus virus-like particle immune complexes activate human Langerhans cells. *Vaccine* 2005; 23: 1720–1729.
51. Jiménez-Flores R, Méndez-Cruz R, Jorge Ojeda-Ortiz J, Muñoz-Molina R, Balderas-Carrillo O, Diaz-Soberanes ML, Lebecque S, Saeland S, Daneri-Navarro A, Garcia-Carranca A, Ullrich SE, Flores-Romo L. High-risk human papilloma virus infection decreases the frequency of dendritic Langerhans' cells in the human female genital

tract. *Immunology* 2006; 117: 220-228.

52. Arrese J, Paquet P, Claessens N, Pierard-Franchimont C, Pierard G. Dermal dendritic cells in anogenital warty lesions unresponsive to an immune-response modifier. *J Cutan Pathol* 2001; 28: 131-134.

53. Zhou J, Sun XY, Stenzel DJ, Frazer IH. Expression of vaccinia recombinant HPV 16 L1 and L2 ORF proteins in epithelial cells is sufficient for assembly of HPV virion-like particles. *Virology* 1991; 185: 251-257.

54. Kimbauer R, Booy F, Cheng N, Lowy DR, Schiller JT. Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 12180-12184.

55. Warrino DE, Olson WC, Scarrow MI, D'Ambrosio-Brennan LJ, Guido RS, Da Silva DM, Kast MW, Storkus WJ. Human papillomavirus L1L2-E7 virus-like particles partially mature human dendritic cells and elicit E7-specific T-helper responses from patients with cervical intraepithelial neoplasia or cervical cancer in vitro. *Human Immunol* 2005; 66:762-772.

56. Qian J, Dong Y, Pang Y-S, Ibrahim R, Berzofsky JA, Schiller JT, Khleif SN. Combined prophylactic and therapeutic cancer vaccine: Enhancing CTL responses to HPV16 E2 using a chimeric VLP in HLA-A2 mice. *Int J Cancer* 2006; 118 3022-3029

57. Villa LL, Ault KA, Giuliano AR, Costa RLR, Petta CA, Andrade RP, Browng DR, Ferenczy A, Harper DM, Koutsky LA, Kurman RJ, Lehtinen M, Malm C, Olsson S-E, Ronnett BM, Skjeldestad FE, Steinwall M, Stoler MH, Wheeler CM, Taddeo FJ, Yu J, Lupinacci L, Raikar R, Marchese R, Esser MT, Bryan J, Jansen KU, Sings HL, Tammsu GM, Saah AJ, Barr E. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18. *Vaccine* 2006; 24(27-28):5571-5583.

58. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM, Jenkins D, Schuind A, Costa Clemens SA, Dubin G, on behalf of the HPV Vaccine Study group. Sustained efficacy up to 4-5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *The Lancet* 2006; 367: 1247-1255.

59. Sichero LL y Villa L. Epidemiological and functional implications of molecular variants of human papillomavirus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2006; 39: 707-717

60. Finn OJ. Cancer vaccines: between the idea and the reality. *Nature rev (Immunology)* 2003; 3:630-641.

61. Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. *Nature rev (Immunol)* 2004; 4:46-54.