

## VACUNAS PARA CÁNCER CÉRVICO-UTERINO

Alberto Monroy García

La infección por Virus del Papiloma Humano (HPV) en genitales es una de las enfermedades de transmisión sexual más comunes en la población mundial. Se calcula que el 60-75% de la población sexualmente activa está infectada por algún tipo de HPV<sup>1</sup>. Algunos tipos de HPV, en particular el tipo 16 y 18 (HPV-16, 18) entre otros, conocidos como de alto riesgo han sido encontrados asociados con el 99.7% de tumores cervicales<sup>2</sup>. Anualmente se detectan alrededor de 500,000 nuevos casos de cáncer cervical, el 80% de dichos casos se encuentra en países en vías de desarrollo.

En México el cáncer cervical es el de mayor incidencia en la población femenina. Se ha calculado que 16 mujeres mueren diariamente por este tipo de cáncer. Se piensa que la mayoría de la población sexualmente activa está infectada por algún tipo de HPV, pero al tratarse de un virus latente que se mantiene asintomático por períodos largos de tiempo, y que en la mayoría de personas infectadas se presenta como una infección subclínica, su detección y tratamiento no se dan de forma oportuna y, por lo tanto su contagio se incrementa día con día; por lo que la alta incidencia de cáncer cervical en el mundo, así como su clara asociación con una patología viral, han hecho necesaria la adopción de nuevas estrategias para tratar de controlar este problema.

En los últimos años, el entendimiento de los eventos que ocurren durante la patogénesis molecular de la infección por HPV en la historia natural de la enfermedad, ha permitido diseñar vacunas para prevenir y tratar al cáncer cérvico-uterino, muchas de las cuales actualmente se encuentran en etapas preclínicas como se describirá a continuación.

### PATOGÉNESIS MOLECULAR DEL HPV E HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

Los virus que pertenecen a la familia del Papiloma, tienen una estructura compuesta por una doble cadena de ADN que contiene aproximadamente 8,000 pares de bases. El genoma viral contiene marcos de lectura abierta que pueden dar lugar a ocho diferentes proteínas: 6 proteínas de transcripción temprana (E1, E2, E4, E5, E6 y E7) y 2 de transcripción tardía (L1 y L2). De las proteínas de transcripción temprana, E1 y E2 se encargan de regular la

replicación del ADN y ARN viral; mientras que las proteínas que intervienen en control del ciclo celular así como de la transformación de la célula blanco son E4, E5, E6 y E7<sup>3</sup>. Las proteínas de transcripción tardía conocidas como L1 y L2, se asocian en una proporción de 9:1 para constituir a las partículas virales infecciosas de la cápside, la cual encapsula al ADN circular de doble cadena que se une a las histonas celulares<sup>4,5</sup>. La estructura completa del virión es icosaédrica y contiene 72 pentámeros de la proteína L1; mientras que la proteína L2 es una proteína interna<sup>6</sup>.

Los HPV probablemente infectan las células germinales localizadas en la parte basal del epitelio estratificado del cérvix, esto lo hacen a través de rompimiento o erosión de las capas superiores del epitelio. Aunque aún no se ha esclarecido completamente, la interacción de las proteínas de la cápside (principalmente L1) con un supuesto receptor celular, se postula que este receptor permite el ingreso del genoma viral a la célula blanco. En donde, el genoma del HPV es amplificado de manera episomal (aproximadamente 20-50 copias) principalmente E1 y E2 y probablemente E6 y E7. La expresión de E6 y E7 en las células germinales del epitelio bloquea el estado latente del ciclo celular y la célula prolifera de manera continua, sin interrumpir el proceso de diferenciación celular del epitelio hacia la periferia<sup>7</sup>. En este proceso de diferenciación, los promotores virales conducen a la expresión de E4, E1 y transcripción de los genes de la cápside L1 y L2, para dar lugar al ensamblaje viral. En consecuencia, la progenie viral infecciosa ocurre en la periferia del epitelio y la presencia de los viriones infecciosos se hace más notable en las células destinadas a desprenderse (descamarse)<sup>8,9</sup>.

De acuerdo con datos reportados sobre la historia natural de la enfermedad, después de que se ha dado la infección por HPV a través de la actividad sexual, el DNA viral puede ser detectado en un tiempo relativamente corto (aproximadamente 6 meses) y su persistencia en el tracto genital normalmente ocurre en un lapso de 6-12 meses. Durante este tiempo el virus puede ser eliminado por la respuesta inmune del hospedero, o bien permanecer en un estado latente, o también persistente. La persistencia del DNA viral en el tracto genital es un factor de riesgo para el desarrollo de lesiones<sup>10</sup>. Las lesiones escamosas intraepiteliales a menudo ocurren dentro de los 2-3 años de haberse detectado el DNA viral<sup>11</sup>. Muchas de éstas pueden regresar espontáneamente, sin embargo factores de riesgo tales

---

Laboratorio de Inmunobiología, Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, FES Zaragoza, UNAM.

como varias parejas sexuales, infecciones genitales recurrentes, tabaquismo, etc., pueden condicionar al desarrollo del cáncer cervical.

Desarrollo de vacunas profilácticas contra la infección por HPV  
En respuesta a la infección por HPV, se ha visto que del 55-92% de las mujeres desarrollan anticuerpos (IgG), no obstante ello depende de la persistencia de la infección, por lo que los anticuerpos pueden persistir durante décadas y mantener el control de la infección<sup>12</sup>.

El estudio de la respuesta de anticuerpos contra la infección por HPV en modelos animales, ha permitido identificar epítopes conformacionales de la proteína principal de la cápside (L1), varios de los anticuerpos que reconocen a estos epítopes son capaces de neutralizar la infección por HPV<sup>13</sup>.

La capacidad de la proteína L1 para autoensamblarse en estructuras que semejan a los capsómeros y cápsides ha permitido diseñar partículas similares a los viriones (VLP's), compuestas por 72 capsómeros, cada uno conformado por 5 moléculas de L1 ensambladas<sup>14</sup>. Inicialmente se generaron VLP's de papilomavirus bovino BPV1, HPV tipo 1, 6, 11<sup>15-17</sup> y finalmente de HPV16 al corregir una mutación en el residuo 202 de la proteína L1 para permitir el autoensamblaje<sup>18</sup>. Los VLPs de HPV pueden ser producidos por varios sistemas de expresión que incluyen a virus vaccinia, baculovirus y levaduras.

Varios grupos han empezado a aplicar clínicamente la vacunación con VLPs de HPV tipo 6, 11 y 16. En estos ensayos, la aplicación de VLPs ha sido bien tolerada, encontrándose altos títulos de anticuerpos neutralizantes a razón de 50 veces con respecto a las encontrados naturalmente en pacientes que cursan con la infección. En un estudio reciente se encontró que la vacunación con VLPs de HPV16 indujo protección contra la infección por HPV en un grupo de mujeres jóvenes de 16-23 años de edad. En el grupo vacunado (n=768) se encontró 100% de eficacia de la vacuna después de 17 meses al no observarse presencia de HPV en el tracto genital, mientras que en el grupo placebo (n=765), 41 mujeres presentaron infección persistente con HPV16<sup>19</sup>. Estos datos dan evidencias de que la vacunación con VLPs puede proveer protección tipo-específica contra la infección por HPV y enfermedad, no obstante será necesario un seguimiento clínico para evaluar la efectividad de la vacuna en la prevención de la enfermedad, así como la protección y cobertura contra la infección por otros tipos de HPV asociados al desarrollo de cáncer cervical.

Por otro lado, basándose en la propiedad del autoensamblaje de la proteína L1, se han elaborado estructuras químicas de L1-L2 y L1-E7, con la finalidad de inducir, además de anticuerpos, respuestas mediadas por linfocitos T citotóxicos para eliminar a las células infectadas con virus<sup>20</sup>.

Otros estudios han empleado capsómeros de la proteína L1 para vacunar perros por vía oral, logrando una efectiva protección<sup>21</sup>.

Otra alternativa de vacunación profiláctica es la vacunación con polinucleótidos, debido a su fácil producción y disponibilidad. En ratones vacunados con ADN de L1 se ha logrado inducir una importante respuesta vía anticuerpos neutralizantes<sup>22</sup>.

Todos estos datos apuntan a que el empleo de vacunas basadas en la proteína L1, principalmente en forma de VLPs, puede constituir la base para su aplicación profiláctica en la prevención de la infección por HPV, no obstante debido al alto costo que implica su producción, sería conveniente explorar estrategias que permitan obtener antígenos vacunales a menor costo y accesibilidad para países en vías de desarrollo.

### VACUNAS TERAPÉUTICAS CONTRA CÉLULAS INFECTADAS POR HPV

Una vez que la infección por HPV ha sido establecida, es difícil que los anticuerpos puedan participar en la eliminación de células infectadas, por lo que ha sido necesario diseñar vacunas terapéuticas para erradicar o disminuir a las células infectadas. Puesto que los linfocitos T citotóxicos (LTCs) son los efectores primarios en la eliminación de células infectadas con virus y células tumorales, se han dirigido varias estrategias para la generación de LTCs. Los blancos antigénicos potenciales han sido las proteínas oncogénicas E6 y E7, debido a que en las células tumorales la expresión de estas proteínas es importante para mantener su estado transformado. En consecuencia muchos grupos de investigación han considerado el uso de péptidos derivados de las proteínas E6 y E7, debido a su bajo costo y su tolerancia en pacientes.

Varios esfuerzos se han realizado para identificar epítopes de las proteínas E6 y E7 de HPV16 y 18 restringidos a moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase I (HLA-A, B, C), usualmente HLA-0201, por ser el alelo más frecuente en la población mundial<sup>23</sup>. La vacunación con péptidos ha tenido resultados alentadores en pacientes con lesiones primarias. Por ejemplo en 10/18 pacientes con lesiones escamosas de alto grado, generaron LTCs contra péptidos E7 de HPV16 y 3 de ellas tuvieron una respuesta completa<sup>24</sup>. En pacientes con cáncer avanzado no se ha logrado obtener un beneficio clínico considerable. Sin embargo el uso de péptidos con adyuvantes tales como ácido palmítico o el uso de células dendríticas, ha dado mejores resultados en estas pacientes. Por ejemplo en 12 pacientes con cáncer avanzado vacunadas con adyuvantes y péptidos, 3/12 desarrollaron respuesta de LTCs y 1 de ellas tuvo respuesta completa<sup>25</sup>. Estos datos, sugieren que la vacunación con péptidos puede trabajar mejor en pacientes con enfermedad preinvasiva las cuales no están inmunocomprometidas.

En otros intentos hechos para mejorar la respuesta inmune de pacientes con lesiones avanzadas, se han utilizado otras estrategias. Por ejemplo el uso de células dendríticas cargadas con péptidos inmunogénicos de la proteína E7 de HPV18 ha permitido la remisión de una paciente con metástasis al cabo de 10 meses de tratamiento<sup>26</sup>.

En otros ensayos, el uso de proteínas de fusión, por ejemplo la fusión de la proteína E7 con la proteína de choque térmico (HSP65) de BCG o con la proteína L2, han sido favorables en el tratamiento de lesiones anales de alto riesgo, así como de verrugas. Con el uso de E7/HSP65 se obtuvieron reducciones entre el 70-95% de las lesiones anales y remisión completa en el 44% de los casos; mientras que la fusión E7-L2 permitió completa remisión en 13/27 pacientes con verrugas genitales<sup>27</sup>.

Por otro lado, el uso de VLPs de L1 de HPV16 en pacientes con verrugas genitales, ha permitido la erradicación de verrugas genitales en 25 pacientes a través de la respuesta de linfocitos T<sup>20</sup>.

Otra alternativa de vacunación terapéutica ha sido el de aprovechar la capacidad que tienen algunos vectores virales como el virus de vaccinia para acarrear grandes insertos. El uso de este vector con los genes de E6 y E7 de HPV16 y 18, ha sido probado en pacientes con cáncer avanzado, resultando en la inducción de CTLs en 4/29 pacientes y 8/29 produjeron anticuerpos<sup>28</sup>.

También el uso de DNA que codifica para proteínas oncogénicas ha emergido como una nueva posibilidad terapéutica. La aplicación de un plásmido conteniendo DNA de epítopes de E7 de HPV16 ha incrementado la respuesta de CTLs en 12 pacientes con lesión anal de alto riesgo<sup>29</sup>.

## CONCLUSIONES

El entendimiento de los mecanismos moleculares de las infecciones producidas por HPV y su papel durante la historia natural del cáncer cérvico uterino, así como los avances hechos en descifrar la organización estructural de las proteínas que constituyen la cápside de los viriones, ha permitido diseñar varias estrategias de vacunación contra las infecciones por HPV. La delantera en esta lucha empieza a ser tomada por las vacunas profilácticas con base en las VLPs, no obstante sería conveniente generar estrategias que con base al uso de la proteína L1 como antígeno, su producción sea más económica y accesible para todo mundo. Por otro lado, en el terreno de las vacunas terapéuticas, cuya finalidad es la de generar respuesta antitumoral por parte de linfocitos T al usar las oncoproteínas E6 y E7, se han encontrado fuertes obstáculos como son las bajas respuestas de los pacientes que presentan estadios avanzados de la enfermedad, además de la modulación antigénica y evasión de la respuesta

inmune de los tumores. Por lo tanto el reto será superar estos principales obstáculos.

## REFERENCIAS

1. Riethmuller D., *et al*, 1999. *Diagnostics and Molecular Pathology* 8:157-164.
2. Walboomers JMM, *et al*, 1999. *Journal of Pathology* 189:12-19.
3. Hubert, W.G., *et al*, 2001. *Monogr Virol. Basel, Karger.* 23: 44-63.
4. García-Carrancá A Gariglio, P. 1993. *Rev. Inv. Clin.* 45: 85-92.
5. Kirnbauer, R., *et al*, 1993. *Viol.* 67: 6929-6936.
6. Trus, B.L., *et al*, 1997. *Nat. Struct. Biol.* 4:413-420.
7. Blanton, R.A., *et al*, 1992. *Cell Growth Differ.* 3:791-802.
8. Cheng, S., *et al*, 1995. *Genes Dev.* 9:2335-2349.
9. Stoler, M.H., *et al*, 1990. *J Virol.* 64:3310-18.
10. Schiffman, M.H., *et al*, 1999. *J Natl Cancer Inst.* 87:1345-1347.
11. Koutsky, L.A., *et al*, 1992. *N Engl J Med.* 327:1272-1278.
12. Carter, J.J., *et al*, 1996. *J Inf Dis.* 174:927-936.
13. Suzich, J.A., *et al*, 1995. *Proc Natl Acad Sci.* 92:11553-11557.
14. Baker, T.A., *et al*, 1991. *J Biophys.* 60: 1445-1456.
15. Hagensee, M.E., *et al*, 1993. *J Virol.* 67:315-322.
16. Carter, J.J., *et al*, 1995. *J Infect Dis.* 172:11-18.
17. Rose, R.C., *et al*, 1993. *J Virol.* 67:1936-1944.
18. Kirnbauer, R., *et al*, 1993. *J Virol.* 67-6929-6936.
19. Koutsky, L.A., *et al*, 2002. *N Engl J Med.* 347:1645-1651.
20. Muller, M., *et al*, 1997. *Virology.* 234:93-111.
21. Yuan, H., *et al*, 2001. *J Virol.* 75:7848-7853.
22. Dupuy, C., *et al*, 1999. *J Virol.* 73:9063-9071.
23. Kast W. M., *et al*, 1993. *J Immunother.* 14:115-120.
24. Muderspach, L., *et al*, 2000. *Clin Cancer Res.* 6:3406-34-16.
25. Steller, M.A. *et al*, 2002. *J Soc Gynecol Invest.* 9:254-264.
26. Santin, A.D., *et al*, 2002. *N Engl J Med*, 346:1752-1753.
27. Goldstone, S.E., *et al*, 2002. *Dis Colon Rectum* 45:502-507.
28. Kaufmann, A.M., *et al*, 2002. *Clin Cancer Res.* 8:3676-3685.
29. Klencke, B., *et al*, 2002. *Clin Cancer Res.* 8:1028-1037.