

Documento

Prevención de infecciones por HPV

C. Conejero R.¹, B. Urgilés C.¹, K. Wensioe K.¹, J.M. Ojeda²

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de transmisión sexual, constituyen un grupo heterogéneo de patologías transmisibles cuyo único elemento es el compartir la vía sexual como mecanismo de transmisión. Las manifestaciones clínicas comprometen, en la mayoría de los casos, el área genital y las mucosas. El impacto en la salud pública está dado por las complicaciones y secuelas que pueden presentar (1).

En la larga historia de las Infecciones de Transmisión Sexual, hoy debemos destacar al Virus Papiloma Humano como el responsable de una de las frecuentes. La mayor parte de estas presenta una evolución benigna en el tiempo, pero el estudio de la persistencia de algunas de estas lesiones a llevado a establecer y probar por algunos científicos su relación con el Cáncer de Cuello Uterino.

En el mundo, el Cáncer Cérvico-uterino, correspondería a la segunda causa de mortalidad por Cáncer en mujeres. Anualmente se diagnostican más de 450.000 casos, resultando en un total cercano a un cuarto de millón de muertes por esta causa (2).

En Chile, el Cáncer de Cuello Uterino ocupa el cuarto lugar como causa de muerte por tumores malignos en la mujer, a pesar de que tiene las mejores oportunidades de pesquisa y tratamiento adecuado. El 2002 ocurrieron

628 muertes por Cáncer de Cuello Uterino (MINSAL) En las mujeres de 35-65 años representa, junto al Cáncer de Mama, el 40% de las muertes por Cáncer. La mayor tasa de años de vida potenciales perdidos en la mujer la tiene este Cáncer (129/100.000 mujeres, año 1992), lo que refleja su trascendencia social y económica al afectar a mujeres relativamente jóvenes (3).

Esto debe llamarnos la atención, dado que es una patología muy estudiada, con factores de riesgo conocidos, asociada a una infección viral como agente "indispensable" en su génesis, y peor aún con posibilidades de detección, diagnóstico y tratamiento curativo en forma precoz.

Epidemiología

Junto con el inicio de la vida sexual, muchas personas se verán expuestas por primera vez al Virus Papiloma Humano (HPV). Los científicos han encontrado que esta exposición puede tener implicancias significativas en la salud, particularmente en las mujeres, dado que el HPV ingresa al organismo, y algunos genotipos incluyendo el 16 y el 18, pueden con el tiempo desarrollar cáncer cérvico-uterino (4).

Si se estudian las mujeres sexualmente activas, encontraremos una prevalencia aproximada del 50% de infección por HPV en población general. Si nos referimos dirigidamente a la prevalencia en mujeres jóvenes, con edad aproximada de 20 ± 3 años, podemos encontrar de un 20-46% (5), con la poten-

¹ CEMERA. En especialidad derivada Ginecología Pediátrica y de la Adolescente.

² Unidad de Ginecología Preventiva. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

cialidad de progresar a algún tipo de Lesión Maligna (6, 7).

En un estudio realizado en Chile, se detectó una prevalencia del 13% en población general para la presencia de HPV en el tracto genital femenino. Dentro de este porcentaje, se observó cual era su distribución etaria, correspondiendo ésta al 28% en mujeres menores de 20 años, al 31% en mujeres de 20 a 29 años, con una notoria baja entre los 30 y 49 años, para volver a elevarse posteriormente. En conclusión el 59% de la población infectada por HPV tenía menos de 30 años (8).

En la población mundial se describen como genotipos más frecuentes el HPV-16 con 50% de los casos, el HPV-18 con un 14% de los casos y luego en franco descenso el resto. En cambio el panorama para Chile es diferente, el genotipo más frecuente sería el HPV-16 con el 20% de los casos, seguido por HPV-56 con el 12% de los casos, seguido en descenso por los genotipos HPV-33, HPV-58, HPV-45, HPV-59, encontrándose HPV-18 en tan sólo en 4% de los casos.

Infección por HPV e inmunidad

Los virus HPV pertenecen a la familia Papovaviridae, que se caracterizan por ser partículas icosaédricas de aproximadamente 50 nm de diámetro. Poseen DNA en una hebra como material genético con alrededor de 8.000 pares de nucleótidos, lo que supone la existencia de cerca de 10 genes. La cubierta proteica que rodea al DNA viral posee una proteína que antigénicamente común con otros tipos de virus Papiloma Animales. Los estudios realizados con el ADN viral, han permitido establecer, hasta el momento, la existencia de más de 100 genotipos diferentes de HPV, también se ha logrado conocer la secuencia completa de nucleótidos del DNA de alguno de estos virus. El genoma de éstos se divide en genes tempranos (E1 a E7). El gen E2 controla la replicación y expresión genética viral, E6 y E7 codifican las oncoproteínas virales, indispensables para transformación celular y la conservación de dicho estado; los genes tardíos (L1 y L2) son responsables de la naturaleza de las proteínas

de la cubierta viral y permiten el ensamblaje de nuevas partículas virales que repetirán el ciclo (9) (Figura 1).

La integración del DNA viral al genoma celular es de extraordinaria importancia para el desarrollo de células tumorales. Suele haber integración en la región E1/E2 del genoma. La división del gen E2 produce su inactivación. La pérdida de la función de E2 permite el refuerzo de los productos E6 y E7, que lleva a la inactivación de las proteínas celulares p53 y pRB y algunos sucesos posteriores. Sin embargo la integración del DNA viral no siempre es condición previa para la aparición de cáncer cervicouterino. Debido a falla de los mecanismos de control celular producida por la actividad de E6 y E7 no se impide el crecimiento celular ni se repara el daño del DNA (10) (Figura 2).

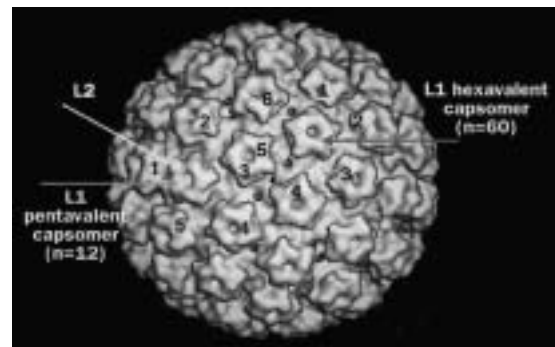


Figura 1. Las inmunizaciones (estudios Fase III) con VLP de L1 de HPV logran inducir anticuerpos protectores que disminuyen la incidencia de lesiones preneoplásicas del cuello uterino. (Koutsky et al. *N Engl J Med* 2002; 347(21): 1645-51).

Tabla 1
RESULTADOS PARA PAPILOMAVIRUS -
PARTÍCULA SEMEJANTE (PPS).
ESTUDIO DE VACUNAS EN ANIMALES

Vacunos	Protección	Referencia
L1/L2 VLPs	Sí	11, 13
L1 VLPs	Sí	11-14
VLPs Sin ayuda	Sí	11, 12, 14
Heterólogos VLPs	No	11, 12, 14
Denatured VLPs	No	11
Suero inmune	Sí	11, 12

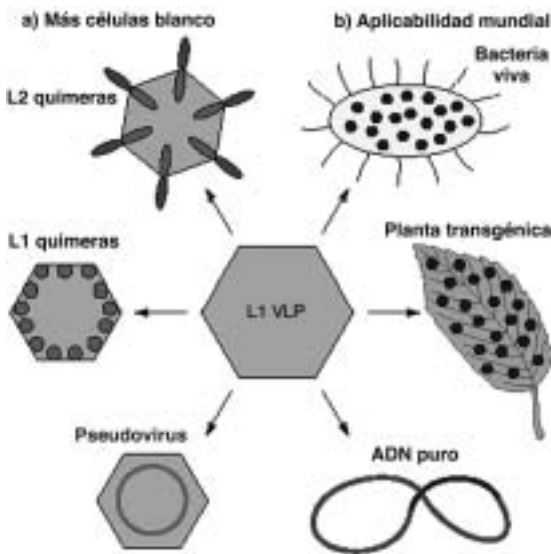


Figura 2.

Patogenia de las infecciones por HPV

HPV genitales infectan específicamente a las células de la mucosa del tracto anogenital e inician el proceso inefectivo en las células basales, que constituyen la población germinal del epitelio, ya que estas células poseen receptores para las proteínas virales de inefectividad. La multiplicación viral en las células de la mucosa depende fundamentalmente de la expresión genética y diferenciación de la célula huésped, donde se manifiestan efectos citopatológicos de los cuales el más característico lo constituye el desarrollo de "coilocitos" o células con halo perinuclear blanquecino.

Después de iniciar la infección en las células basales, el DNA viral se establece a través de los diferentes estratos celulares del epitelio. Los genes virales se expresan en forma secuencial, siendo los primeros en expresarse los genes E y luego los L. Las partículas virales (viriones) completos sólo se detectan en los estratos superiores o de diferenciación terminal del epitelio. El ácido nucleico viral DNA puede encontrarse en las células infectadas en forma episomal (libre en el núcleo celular) o integrado al DNA o genoma celular. Estas formas de estado del DNA viral determinan el tipo y grado de la lesión. Las células transformadas por HPV poseen geno-

mas virales integrados en el DNA celular (10).

La transformación celular producida por la infección de ciertos tipos de HPV, como son los genotipos 16, 18, 31, 33 y 35, se produce por la integración del genoma viral al genoma celular lo que provoca una expresión permanente de los genes de transformación E6 y E7. La integración ocurre por unión del genoma viral al celular a nivel de la región del gen E2, el cual queda interrumpido sin poder regular a los demás genes virales, por lo que no se producen las demás proteínas esenciales para la producción de las partículas virales o viriones. La primera fase de la transformación celular se logra porque la proteína E6 viral se une a la proteína celular p53 y la proteína E7 viral a la p105RB celular. Ambos complejos proteicos permiten la pérdida de los controles que ejercen las proteínas celulares p53 y p105RB de freno a la proliferación celular en el epitelio (10).

VACUNAS HPV

La existencia de una relación etiológica entre HPV y CaCu es tan sólida que la creación de vacunas para HPV se ha convertido en el tema predominante de la investigación actual del virus. Algunos investigadores consideran que las vacunas contra HPV pueden tener una mejor posibilidad de disminuir más el cáncer en todo el mundo que cualquier otro tipo de intervención, con la posible excepción de dejar de fumar (11) las vacunas si tienen éxito, pueden obviar la necesidad de iniciar grandes programas de muestreo y disminuir los enormes gastos relacionados.

Existen numerosos factores que apoyan el desarrollo de éstas, primero, que a pesar de que existen un gran número de genotipos HPV globalmente son similares y el genoma viral es estable, segundo sólo contiene ocho genes lo que limita la complejidad de la respuesta inmune en el huésped, además existen pruebas en diversas especies animales de que éstas vacunas pueden ser eficaces. La prueba más convincente es la experiencia obtenida en el modelo canino, en el cual una vacuna hecha con extractos de verrugas inactivadas

con formalina evitó la transmisión natural del virus (12, 13) Por otro lado debemos destacar que a pesar de lo anterior existen puntos por aclarar tanto en la respuesta inmune al virus como en el mecanismo del huésped en limitar la proliferación del HPV (14).

Hay algunas características específicas de HPV que tienen fuerte influencia en el concepto de la creación de vacunas.

Los HPV no crecen adecuadamente en sistemas de cultivos tisular, por lo que se tiene que usar la tecnología de DNA recombinante para hacerlo. A pesar de cierto grado de reactividad cruzada entre algunos tipos, hay pruebas de que las reacciones inmunitarias son en general, específicas de tipo, lo que sugiere que se requerirá la vacunación contra tipos oncogénicos individuales (15).

El control por vacunas pareciera ser una adecuada medida de protección preventiva; sin embargo, existen dos problemas fundamentales en la obtención y uso de una vacuna de este tipo. Un aspecto es la falta de un claro conocimiento de las funciones de la inmunidad celular y humoral en las infecciones por HPV, del papel protector de los anticuerpos y de los factores que controlan la regresión. Se considera que las IgA secretoras desempeñan una función más efectiva que las IgG circulantes, de lo cual nace la recomendación de investigar sobre metodologías destinadas a obtener vacunas de aplicación local que estimulen la producción de IgA secretoras.

El segundo aspecto es la carencia de un sistema de cultivo *in vitro* para propagar HPV con el fin de obtener vacunas. Sin embargo, este inconveniente ha sido resuelto mediante la obtención de partículas similares a virus o VLP (virus like particles), las que corresponden a partículas virales sin DNA viral, que se logran mediante técnicas de ingeniería genética en las que se reprograman genéticamente células incorporando los genes virales que codifican para las proteínas estructurales de HPV, permitiendo así que estas células se conviertan en productoras de partículas virales, sin DNA o VLPs. Actualmente se están realizando ensayos de inmunización con este tipo de vacunas en poblaciones

humanas, destinados a lograr inmunidad protectora contra las infecciones por HPV y por tanto controlar preventivamente el desarrollo de lesiones preneoplásicas y neoplásicas del tracto genital (16)

En todo el mundo, HPV 16 se relaciona con casi el 50% de los casos de Cáncer de Cuello Uterino y es por esto que las primeras vacunas están basadas en este genotipo (15, 17).

El conocimiento de la respuesta inmune a las infecciones por HPV ha permitido el desarrollo de vacunas para las infecciones genitales por HPV. El control inmunológico basado en la respuesta inmune por anticuerpos constituye la base de las vacunas profilácticas y el control a través de la inmunidad celular el de las vacunas terapéuticas.

1. VACUNAS PROFILÁCTICAS

Diseñadas para evitar el desarrollo de la infección por el virus. Deben ser lo bastante potentes para evadir las restricciones de la inmunogenicidad relacionadas con la infección natural por HPV, lo que puede lograrse mediante la producción de anticuerpos neutralizantes que deben estar presentes en la secreciones vaginales para constituir un barrera inmunitaria en el sitio de ingreso viral. Se están considerando diferentes fuentes de proteínas estructurales del virus L1-L2, la mayor parte de la atención actual se dirige a VLPs constituidas por la proteína L1, o L1-L2 (18, 19). Las VLPs pueden servir como inmunógenos potentes y la inmunidad inducida es específica y prolongada (20, 21).

Otras vacunas potenciales son las de DNA, como plásmidos recombinantes con genes que codifican proteínas estructurales de HPV, una gran ventaja de éstas es la facilidad de la preparación, estabilidad y cuando se comparan con VLPs bajo costo.

De las vacunas actuales en estudio podemos destacar la experiencia de Koutsky (17) quien reclutó a 2392 mujeres, 1533 recibieron tres dosis de 50 µg de VLP -L1 para HPV 16, encontrándose sólo efectos adversos menores (dolor sitio de inyección). Tras una media de seguimiento de 17,4 meses los resultados fue-

ron los siguientes: infección persistente por HPV 16: 41 casos en grupo placebo, ninguno en grupo que utilizó la vacuna; anomalías citológicas asociadas a HPV: 9 en grupo placebo, ninguno en grupo con vacuna.

2. VACUNAS TERAPÉUTICAS

Este tipo de vacunas pretende tratar efectivamente a pacientes con HPV y manifestaciones clínicas.

En las capas distales del epitelio, se necesitan las proteínas E1 o E2 para la replicación del DNA viral. Una vacuna terapéutica que contenga esas dos proteínas debe inducir o promover la inmunidad mediada por células (CMI) contra dichas proteínas lo que limita el crecimiento viral (22).

La estrategia se basa en el hecho de que los tumores inducidos por virus expresan antígenos bien definidos de origen viral. No son extraños y por tanto, más fáciles de reconocer por el sistema inmune que los tumores de origen no viral. Puesto que la proteínas E6 y E7 son las únicas de tipo viral expresadas de manera constitutiva en carcinoma relacionados con HPV, son blanco natural de las reacciones inmunitarias. A diferencia de las vacunas profilácticas, se dispone de modelos animales para vacunas terapéuticas por la posibilidad de transformación de algunos HPV en células de roedores y la mayor parte del conocimiento presente acerca de las vacunas contra HPV capaces de inducir protección para estimular o curar tumores establecidos de hecho, se han obtenido de roedores. Las vacunas terapéuticas deben inducir a los linfocitos citotóxicos que reconocen antígenos relacionados con tumores y destruir células que los portan. Los virus recombinantes que expresan las proteínas E6-E7 pueden ser eficaces vacunas antitumorales (23, 24). En la actualidad, las expectativas más grandes se entran en VLP quiméricas (25, 26).

Como se demuestra en modelos experimentales, también pueden lograrse efectos inmunitarios por péptidos cortos que se unen directamente al complejo de histocompatibilidad mayor de clase I (27), sin embargo, el estudio clínico realizado en pacientes con

Cáncer de Cuello Uterino avanzado, no pudo dar resultados satisfactorios.

También se encuentran en estudio vacunas terapéuticas basadas en la modificación genética de células tumorales (28). Ha habido un interés en el uso de células dendríticas para la creación de vacunas terapéuticas con resultados alentadores (29, 30).

Como sucede con las vacunas profilácticas, incluso las terapéuticas pueden fracasar o ser de valor limitado. Por ejemplo, muchos Cánceres de Cuello Uterino no expresan las moléculas del complejo de histocompatibilidad mayor (31, 32) lo que puede hacer irreconocible a los tumores por los linfocitos citotóxicos.

En el estudio de Van Driel (33) en que se reclutaron 19 pacientes con Cáncer cervicouterino no se encontró evidencia clínica de mejoría.

Para finalizar debemos recalcar que como existe un período latente entre la infección por HPV y la enfermedad, pueden requerirse decenios para la valoración de la eficacia de las vacunas contra el Cáncer de cuello uterino. Sin embargo con los resultados de los más de 17 estudios de vacunas que se llevan a cabo, no nos queda más que estar optimistas que en los próximos 20 años observaremos una reducción del Cáncer cervicouterino.

ABREVIATURAS:

DNA: Ácido Desoxiribonucleico.
 HPV: Virus papiloma humano
 MINSAL: Ministerio de Salud.
 VLP: Virus like particle.
 CaCu: Cáncer cervicouterino.

BIBLIOGRAFÍA

1. Normas de manejo y tratamiento de enfermedades de transmisión sexual. Ministerio de Salud año 2000.
2. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000: the global picture. *Eur J cancer* 2001; 37(Suppl 8): S4-S66.
3. Orientaciones para la pesquisa y control del Cáncer Cérvico Uterino en Chile. Minsal, 1998.
4. Research on Cervical Cancer Vaccines. USA: National Cancer Institute 1999.
5. Burk HD, Ho GYF, Beardsley L, Lempa M, Peters M, Bierman R: Sexual behavior and partner charac-

- teristics are predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis* 1996; 174: 679-89.
6. Ho G, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Buró RD: Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young woman. *N Engl J Med* 1998; 338: 423-28.
 7. VanDriel WJ, Rensing ME, Brandt RM, *et al*: The Current status of therapeutic HPV vaccine. *Ann Med* 1996; 28: 471-77.
 8. Ojeda JM: Novedades en Vacunas Antivirales. Curso "Infecciones de Transmisión Sexual, controversias y Avances en la Adolescencia". Santiago, Chile: SOGIA 2004.
 9. Ojeda FJ, Prado BR, Dabansens OA: Infecciones genitales por virus Papiloma. *Rev Chil Infectol* 1992; 2: 64-70.
 10. Ojeda FJ, Prado BR, Dabansens OA: Infecciones genitales por virus Papiloma. Publicaciones medvwave
 11. Schiller JT, Lowy DR: Papillomavirus- like particles and HPV vaccines development. *Cancer Biol*, 1996, 7: 373-82.
 12. Galloway DA: Is vaccination against HPV a possibility? *Lancet* 1998; 351(Suppl 3): 22-4.
 13. Bell JA, Sundberg JP, Ghim SJ, Newsome J: A formaline inactivated vaccine protects against mucosaal papillomavirus infection: A canine Model. *Pathobiology* 1994; 62: 194-98.
 14. Carter JJ, Galloway DA: Humoral immune response to human papillomavirus infection. *Clin Dermatol* 1997; 15: 249-59.
 15. Hildesheim A: Human Papillomavirus variants: implication for natural history studies and vaccine development efforts. *J Nat Cancer Inst* 1997; 89: 752-53.
 16. Lowy Dr, Frazer IH: Prophylactic human papillomavirus vaccines. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 111-6.
 17. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR: *New Engl J Med* 2002; 347: 1645-51.
 18. The beginning of the end for cervical cancer? *New Engl J Med* 2002; 347: 1703-05.
 19. Kimbauer R, Booy F, Lowy DR: Papillomavirus L1 major capsidprotein self -assembles into virus- like particles that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 1280-84.
 20. Breitburd F, Kimbauer R, Hubbert NL, Lowy DR: Immunization 173: 314-20.
 21. Donnelly JJ, Martinez D, Jansen KU, Ellis RW: Protection against papillomavirus with a polynucleotide vaccine. *J Infect Dis* 1996.
 22. Borysiewicz LK, Fiander A, Nimako M: A recombinant vaccina virus encoding human papilloma virus type 16 and 18 E6 and E7 proteins as immunotherapy for cervical cancer. *Lancet* 1996; 347: 1523-27.
 23. Fred Hutchinson Cancer Research Center. Papillomavirus oncoproteins as vaccine candidates. *Lancet* 1996; 347: 1498-99.
 24. Muller M, Zhou J, Reed TD: Chimeric papillomavirus like particles. *Virology* 1997; 234: 93-111.
 25. Greenstone HL, Nieland JD, de Visser KE: Chimeric papillomavirus like particles elicit antitumor immunity against the E7 oncoprotein in a HPV 16 tumor model. USA: *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 1800-005.
 26. Feltkamp MC, Smits HL, Vierboon MP: Vaccintion with cytotoxic T lymphocyte epitope -containing peptide protects against tumor induced by HPV type 16- transformed cells. *Eur J Immunol* 1993; 23: 2242-49.
 27. Vonka V, Sobotkova E: Induction of antitumor immunity by suicide- gene- modified HPV 16- transformed hamster cells. *Int J Cancer* 1998; 77: 470-75.
 28. De Bruijn MLH, Schuurhuis DH, Vierboom MP. Immunization with papillomavirus type 16 oncoprotein loaded dendritic cells as well as protein in adjuvant induces MHC class I- restricted protection to MHC class I -restricted protein to HPV 16- induced tumor cells. *Cancer Res* 1998; 58: 724-31.
 29. Santin AD, Hermonat PL, Ravaggi A: Induction of Human papillomavirus specific CD4+ and CD8+ lymphocytes by E7 - pulsed autologous dendritic cells in patients with human papillomavirus type 16 and 18 positive cervical cancer. *J Virol* 1999; 73: 5402-10.
 30. Connor ME, Stern PL: Loss of MHC class- I expression in cervical carcinoma. *Int J Cancer* 1990; 46: 1029-34.
 31. Keating PJ, Cromme FV, Duggan-Keen M: Frequency of downregulation of individual HLA. A and B alleles in cervical carcinomas in relationship to TAP-1 expression. *Br J Cancer* 1995; 72: 405-11.
 32. Galloway DA: Papillomavirus vaccines in clinical trials. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 469-75.
 33. Plummer M, Franceschi S: *Virus Research* 2002; 89: 285-93.
-