

380 Aureli Torné^a
 Alfonso Alba^b
 Xavier Castellsagué^c
 Javier Cortés^d

^aSecció de Ginecologia Oncològica. Institut Clínic de Ginecologia, Obstetrícia i Neonatologia. Hospital Clínic. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

^bInstituto de Estudios Celulares y Moleculares. Lugo. España.

^cIDIBELL. Institut Català d'Oncologia. L'Hospitalet de Llobregat. (Barcelona). España.

^dGinecólogo. Palma de Mallorca. España.

Correspondencia:

Dr. A. Torné.
 Institut Clínic de Ginecologia, Obstetrícia i Neonatologia.
 Hospital Clínic.
 Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.
 Correo electrónico: aureli@comb.es

Fecha de recepción: 5/4/06

Aceptado para su publicación: 20/4/06

RESUMEN

La infección persistente por el virus del papiloma humano (VPH) se considera el principal agente causal del cáncer de cuello uterino y de otros cánceres anogenitales. De los más de 30 genotipos capaces de infectar el tracto anogenital se estima que los VPH 16 y 18 causan el 70% de los cánceres de cérvix en todo el mundo, y los VPH 6 y 11 más del 90% de las verrugas genitales. La morbilidad y costes sanitarios asociados con el cáncer de cérvix y sus lesiones precursoras han motivado en los últimos años una intensa investigación para conseguir una prevención primaria de dicha patología mediante vacunas profilácticas.

En estudios realizados en animales se ha demostrado la capacidad inmunógena de partículas semejantes a virus (*virus like particles* [VLP]) constituidas por proteínas L1 autoensambladas. En ensayos clínicos realizados con 2 prototipos de vacunas profilácticas se ha demostrado su eficacia en la prevención de infecciones cervicales incidentes transitorias y persistentes causadas por los VPH 16 y 18, así como para las alteraciones citológicas y las lesiones cervicales asociadas a dichos virus. Ante la inminente comercialización de

Vacunas contra el virus del papiloma humano

Vaccines against the human papillomavirus

vacunas profilácticas para el VPH, se abre la esperanza de una notable reducción de las tasas de cáncer de cuello uterino y de sus lesiones precursoras entre las poblaciones vacunadas en los próximos años. Al mismo tiempo, se inicia un intenso debate sobre las condiciones de vacunación (edad, aplicabilidad, indicación en varones, composición según el área geográfica, necesidad de revacunación, aceptación), coste-eficacia, modificación de las condiciones de cribado del cáncer de cérvix en los países desarrollados y disponibilidad y accesibilidad a ellas en los países más pobres.

PALABRAS CLAVE

Vacuna. Virus del papiloma humano. Cáncer cervical

ABSTRACT

Persistent infection by human papilloma virus (HPV) is considered to be the main cause of cervical cancer and other ano-genital cancers. Of more than 30 genotypes able to infect the ano-genital tract, it is estimated that, worldwide, HPV 16

and 18 cause 70% of cervical cancers and that HPV 6 and 11 cause more than 90% of genital warts. In the last few years, the morbidity and mortality and health costs associated with cervical cancer and its precursor lesions have stimulated intense research activity to achieve primary prevention of this disease through prophylactic vaccines.

Animal tests demonstrated the immunogenic capacity of virus-like particles composed of self-assembled L1 proteins. Clinical trials with 2 prophylactic vaccine prototypes have demonstrated their effectiveness in the prevention of transitory and persistent incident cervical infections caused by HPV 16 and 18, as well as the cytological alterations and cervical lesions associated with these HPV types. With the imminent commercialization of the prophylactic HPV vaccine, there are high hopes for a marked reduction in the rates of cervical cancer and its precursor lesions amongst the vaccinated population within the next few years. At the same time, an intense debate has arisen on the conditions of vaccination (age, applicability, indication in men, composition according to geographic area, need for revaccination, acceptance) and its cost-effectiveness, as well as on the modification of screening conditions for cervical cancer in developed countries and the availability and accessibility of screening in the poorest countries.

KEY WORDS

Vaccine. Human papilloma virus. Cervical cancer.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de cérvix es la manifestación más importante de la infección genital por el virus del papiloma humano (VPH) y es una de las principales causas de mortalidad por cáncer entre las mujeres. Actualmente, es el segundo cáncer más frecuente entre las mujeres en todo el mundo y el primero en los países en vías de desarrollo, con una incidencia global estimada de 470.000 nuevos casos cada año y una mortalidad aproximada de 273.000 muertes anuales^{1,2}. Más del 80% de los casos se producen en los países en vías de desarrollo. En dichos países,

menos del 50% de las mujeres con cáncer de cérvix sobreviven más de 5 años, mientras que la supervivencia a los 5 años en los países desarrollados es aproximadamente del 66%. Dado que dicha neoplasia afecta a mujeres jóvenes, con un pico de edad entre los 45 y 50 años, es la principal causa de «años de vida perdidos» entre mujeres del sur de Asia, Latinoamérica y África subsahariana, lo que comporta una reducción en la esperanza de vida superior a la producida por el sida, la tuberculosis o la patología materna en Latinoamérica y en Europa³.

VPH EN LA ETIOPATOGENIA DEL CÁNCER DE CÉRVIX

Hace más de 100 años ya se establecieron relaciones epidemiológicas entre el cáncer de cérvix y las conductas sexuales de riesgo. Durante varias décadas se intentó relacionar sin éxito la mayoría de los agentes responsables de las enfermedades de transmisión sexual con dicha neoplasia. A principios de los ochenta se descubrió la asociación entre el VPH y el cáncer de cérvix⁴. En los últimos años, múltiples investigaciones clínicas, epidemiológicas, virológicas y de biología molecular han demostrado que el principal agente etiopatogénico de las lesiones precursoras y del cáncer de cuello uterino es el VPH^{5,6}. La naturaleza causal de la asociación entre el VPH y el cáncer de cérvix se basa en: *a)* los resultados de múltiples estudios epidemiológicos realizados en distintas poblaciones y con diferentes diseños, que demuestran de forma coherente que las infecciones por ciertos tipos virales son el principal factor de riesgo para el desarrollo de cáncer cervical; *b)* la detección regular de ADN de VPH de alto riesgo en las células cancerosas (en un 99,7% en una serie internacional de cánceres de cuello uterino con una reacción en cadena de la polimerasa [PCR] de alta sensibilidad y en el 100% de los casos confirmados por una revisión histológica experta⁷) y en las lesiones precursoras (en más del 90%); *c)* la demostración de la expresión de las proteínas oncogénicas virales de los tipos de alto riesgo producidas por los genes *E6* y *E7* del VPH en el tejido neoplásico, pero no en el tejido sano; *d)* la capacidad transformadora de estos oncogenes por bloqueo efectivo de las proteínas reguladoras del ciclo celular (p53, pRb), y *e)* la expresión man-

382 tenida de E6 y E7 como requisito indispensable para mantener el fenotipo maligno de las células cancerosas.

En la actualidad se han catalogado más de 120 genotipos diferentes de VPH, de los cuales aproximadamente 40 pueden infectar el tracto anogenital y otras áreas mucosas del cuerpo⁸. Datos procedentes de 11 estudios de casos y controles, que exploraron la asociación entre la infección por el VPH y el cáncer de cérvix, realizados en diferentes países, han identificado 15 tipos virales como de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82); 3 tipos se han clasificado como de probable alto riesgo (26, 53 y 66), y 12 tipos se han catalogado como de bajo riesgo (VPH-BR) (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108)⁹. En la figura 1 se resume el grado de asociación entre la detección de genotipos de VPH específicos y riesgo de cáncer de cérvix para los 13 tipos de VPH de alto riesgo más importantes, y los tipos de VPH de bajo riesgo 6 y 11.

Los VPH de alto riesgo más comunes son el 16, detectable en aproximadamente el 60% de todos los cánceres y el 18, presente en cerca del 10%⁸⁻¹³, aunque la distribución de frecuencias para tipos diferentes del 16 varía notablemente en función de las

poblaciones analizadas. El exceso de riesgo (*odds ratio*) de cáncer de cérvix asociado con VPH-AR estimado en estudios de casos y controles es superior a 150¹¹. Esto significa que el riesgo de desarrollar cáncer de cuello de útero en una mujer infectada por VPH-AR es 150, superior al de las mujeres no infectadas por VPH-AR.

La infección por el VPH-BR puede causar lesiones subclínicas o clínicas, como los condilomas o verrugas genitales, que pueden afectar a todo el tracto genital (vulva, vagina y cérvix), al área anorrectal, la uretra y el tracto aéreo superior (papilomatosis laringea). Los tipos virales 6 y 11 son responsables del 90% de todas las verrugas anogenitales. Las infecciones clínicas por el VPH-BR causan una considerable morbilidad y unos elevados costes sanitarios derivados de su diagnóstico, seguimiento y tratamiento¹⁴.

La infección cervical por algún tipo de VPH es relativamente común en las mujeres sexualmente activas (se estima que afecta al 80% de las mujeres durante su vida)¹⁵, por lo que constituye la infección de transmisión sexual más frecuente en todo el mundo¹⁶⁻¹⁸. Sin embargo, la mayoría de estas infecciones son subclínicas y transitorias, y en el 70-90% de las mujeres infectadas se produce un aclaramiento espontáneo en los 12-30 meses siguientes^{19,20}.

Están descritos factores de riesgo para la adquisición del VPH de la mujer (edad al primer coito, alto número de compañeros sexuales) y/o los asociados con su pareja sexual (pareja con conducta de alto riesgo, incluido un elevado número de parejas sexuales y frecuentes contactos con mujeres que ejercen la prostitución). La circuncisión y el uso del preservativo pueden reducir el riesgo de transmisión²¹. La mayoría de dichas infecciones se produce por tipos de alto riesgo oncogénico y son asintomáticas y transitorias. La historia natural de la infección por el VPH muestra que la mayoría de las mujeres jóvenes con contagio tras el inicio de las relaciones sexuales experimenta una resolución espontánea, con aclaramiento total del virus en el transcurso de 24 meses. Únicamente los casos con persistencia del VPH pueden iniciar una transformación en el epitelio cervical (etapa preinvasiva, caracterizada por la presencia de lesiones intraepiteliales) que, con el transcurso de los años, puede desembocar en un carcinoma invasivo. Se conocen factores asociados al riesgo de persistencia y/o progresión: utilización

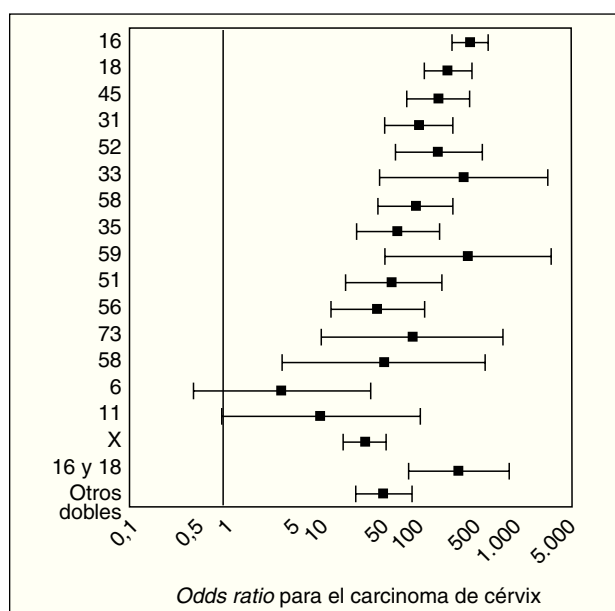


Figura 1. Estimaciones de riesgo para cáncer de cérvix según el genotipo de VPH (Modificado de Muñoz et al⁹.)

de anticonceptivos orales durante varios años, tabaquismo y alta paridad²². La carga viral por célula podría ser también un factor determinante, así como la coexistencia de otras enfermedades de transmisión sexual, como *Chlamydia trachomatis*, herpes simple 2 y, en especial, la coinfección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)²².

En definitiva, puede afirmarse que el cáncer de cuello uterino es una complicación muy poco habitual de una infección viral muy frecuente y no resuelta que se transmite por vía sexual.

BASES MOLECULARES DE LA TRANSFORMACIÓN NEOPLÁSICA INDUCIDA POR EL VPH

Los VPH son virus epiteliotrópicos que infectan las células basales del epitelio y aprovechan su capacidad de proliferación para replicarse. Tras la infección, pueden permanecer en forma episomal, en estado latente, o bien replicarse expresando sus genes de forma secuencial; en primer lugar, los genes tempranos (*E1-E8*) en las capas basales y, posteriormente, en capas superficiales del epitelio diferenciado, expresan sus proteínas tardías (L1 y L2), que formarán la cápside y permitirán el ensamblaje de las nuevas partículas virales²³. En determinadas circunstancias y tras un período de persistencia de la infección, generalmente largo, el ADN viral que se encuentra en forma episomal se integra en el genoma celular e interfiere con las proteínas que regulan el ciclo celular (p53 y Rb), lo que provoca alteraciones en el crecimiento normal y la diferenciación del epitelio que, asociadas a errores genéticos (clastogénesis), pueden conducir a la transformación tumoral^{24,25}.

Las células epiteliales infectadas activan mecanismos de defensa celular, uno de los cuales consiste en la revisión de la secuencia de ADN antes de su división. Cuando la célula localiza el ADN viral, intenta reparar el error y, dado que este ADN es excesivamente grande como para ser eliminado, p53 y Rb dirigen a la célula infectada a una «muerte celular programada» o apoptosis, evitando así que ésta sirva de propagadora de la infección. Los tipos de VPH oncogénicos se protegen de este mecanismo celular y son capaces de sintetizar unas proteínas (E6 y E7) que bloquean a p53 y Rb, con lo que evitan la muerte celular por apoptosis y permiten la re-

plicación viral. Por ello, los genes *E6* y *E7* se consideran oncogenes virales.

INFECCIÓN POR EL VPH E INMUNIDAD

Cualquier infección viral requiere la presencia de un receptor celular que permita la internalización de las partículas virales. Esta circunstancia supone la principal barrera de entrada y explica la naturaleza especie-específica, e incluso órgano-específica, de las infecciones virales. Algunos virus utilizan los complejos mayores de histocompatibilidad (MHC I y II) como receptor para su internalización, y otros utilizan moléculas de superficie celular (CD4, receptores de quimocinas, factores de crecimiento, β_2 -microglobulina, etc.)²⁶. Los VPH no tienen receptor celular específico, sino una molécula de superficie muy conservada con funciones celulares vitales, lo que imposibilitaría su utilización como diana para el bloqueo de la infección. A diferencia de lo que ocurre con otros virus, no parece que los receptores de superficie estén implicados en la especificidad de tejido y especie ni en el tropismo de los VPH²⁷.

Tanto el reconocimiento de la infección por la célula huésped como el tropismo específico de cada subtipo viral van a determinar los efectos citopáticos en los tejidos específicos²⁸; de este modo, se distinguen infecciones latentes que no muestran sus efectos durante largos períodos de tiempo, e infecciones activas con efectos citopáticos prácticamente inmediatos. En función de estos parámetros se puede calificar el nivel antigénico o inmunogénico de cada virus, lo cual es fundamental para la elaboración de vacunas profilácticas o terapéuticas.

INMUNIDAD CELULAR E INMUNIDAD HUMORAL FRENTE A VPH

La inmunidad celular está representada principalmente por las células T, que actúan en el tejido local mediante íntimo contacto célula a célula. La respuesta humoral está mediada por las células B bajo la inducción de las células T-helper, mediante la producción de anticuerpos. Las células T reconocen antígenos asociados a moléculas de la superficie celular (HLA), mientras que los anticuerpos lo hacen tanto frente a antígenos de superficie como frente a

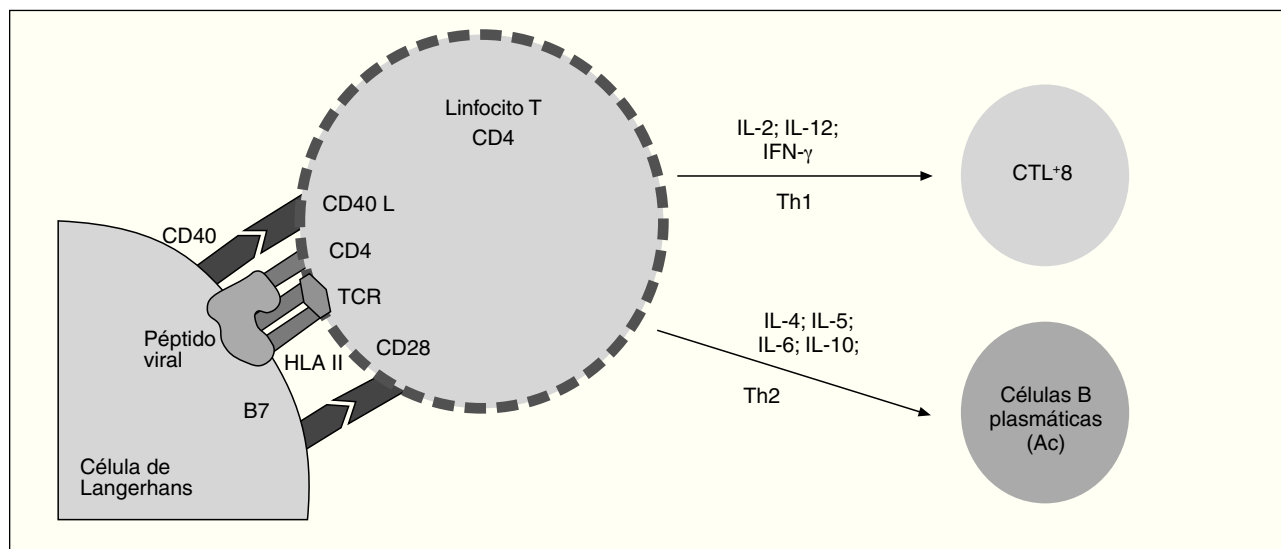


Figura 2. La activación de los linfocitos T CD4 requiere el reconocimiento de las moléculas de superficie que expone la célula presentadora. El péptido viral, junto con el HLA de clase II, será reconocido en el contexto del TCR y CD4, pero hace falta un mecanismo de «seguridad» que controle el proceso de activación; por ello, es necesario que otras moléculas, como CD40 y B7, presentes en la superficie de la célula presentadora, sean reconocidas por sus receptores (respectivamente, CD 40 ligando y CD28) para que la activación tenga lugar. El linfocito T CD4 activado se convertirá en linfocito T-helper de tipo 1 o de tipo 2, en función de una serie de factores tisulares locales, fundamentalmente la vía de entrada del antígeno, el mecanismo de procesamiento y la presencia de diferentes interleucinas. La vía Th1 inducirá la maduración de los linfocitos T CD8⁺ hacia células citotóxicas efectoras.

antígenos solubles, en este último caso con mayor especificidad. Los receptores de las células T reconocen secuencias específicas de pequeños péptidos presentados por el MHC, mientras que los anticuerpos reconocen estructuras esféricas, tridimensionales, con una conformación determinada. Si bien la presentación adecuada del antígeno es esencial para la inducción de la respuesta inmunológica, la cinética de la unión antígeno-anticuerpo, su cantidad y distribución serán los factores que determinen el grado de respuesta inmunológica.

En términos generales, tras la primera infección de las células del epitelio cervical por el VPH, se desencadena una respuesta inespecífica acompañada de un proceso inflamatorio, quimioatracción de neutrófilos, activación de macrófagos, intervención de células *natural killer* (NK), de anticuerpos naturales, e incluso del sistema del complemento, que formarán una primera barrera defensiva de inmunidad inespecífica. La prolongación de la respuesta en el tiempo y la protección frente a futuras infecciones requiere mecanismos de inmunidad específica.

En el epitelio cervical hay células específicas con capacidad de actuar como presentadoras de antígenos y, aunque algunos queratinocitos desarrollan esta capacidad, son las células reticulares de Langerhans las verdaderas especialistas en la presentación antigénica. Estas células fagocitan las partículas virales para digerirlas en endosomas y comenzar un proceso de activación, que incluye la presentación en superficie del antígeno junto con HLA de las células presentadoras. Estas células activadas serán reconocidas por los linfocitos T CD4⁺, en el caso de que se reconozcan todas y cada una de las moléculas en su entorno adecuado y, tras ello, evolucionarán hacia linfocitos helper (Th) en el contexto local de expresión de ciertas interleucinas (IL). Dependiendo del tipo de IL, se promoverá la diferenciación hacia una vía Th1 que inducirá la activación y la proliferación de los linfocitos T CD8⁺ citotóxicos de la inmunidad específica (CTL⁺8), o bien se promoverá la vía Th2, que inducirá la activación y la expansión de linfocitos B, los cuales evolucionarán diferenciándose hacia células plasmáticas productoras.

ras de anticuerpos frente a las proteínas virales, base de la inmunidad inespecífica que podríamos identificar como profiláctica (fig. 2).

Los CTL⁺8 tienen la capacidad de actuar frente a la infección viral establecida, mientras que las células B plasmáticas producen anticuerpos que actúan frente a los antígenos virales de origen externo expuestos durante ésta y las sucesivas infecciones por el VPH.

PERSISTENCIA DE LA INFECCIÓN VIRAL

Muchos virus son capaces de mantener infecciones a largo plazo sin efectos citopáticos aunque con producción de viriones, bien de forma crónica o bien con reactivaciones intermitentes productivas. El patrón de infección, crónica o latente, y la aparición de brotes con efectos citopáticos dependen en gran medida de las condiciones celulares del huésped. La persistencia de la infección viral requiere la evasión de la detección y la eliminación de las células infectadas por el sistema inmune. Estos procesos de evasión pueden producirse por diferentes vías: *a*) si el virus presenta antígenos de superficie muy variable, la síntesis de un exceso de anticuerpos, no neutralizantes, puede interferir con los que sí tienen esa capacidad de neutralización; *b*) depleción de la expresión de moléculas del MHC; *c*) disminución del número de células de Langerhans con la consiguiente reducción de la capacidad de presentación antigénica (evidenciado en condilomas), y *d*) disminución de la actividad de las células NK (comprobada en lesiones pretumorales y tumorales).

Hay 2 consideraciones fundamentales en el diseño de las vacunas antitumorales: la selección de antígenos y el procedimiento mediante el cual esos antígenos estimulan la respuesta inmune. Por definición, las vacunas deben ser seguras, efectivas y potentes, de modo que requieran pocas dosis de inmunización; además, deben ser estables y fáciles de manipular. Muchas de las vacunas utilizadas actualmente basan su estrategia en la utilización de virus atenuados; la incorporación de nuevas técnicas de biología molecular y los avances en el campo de los cultivos celulares ha permitido el desarrollo de nuevos tipos de vacunas en los que se aplica la técnica de selección antigénica y la fabricación de partículas químicas, entre otras, para lograr respuestas dirigidas.

VACUNAS PROFILÁCTICAS CONTRA EL VPH

385

Como hemos descrito previamente, la evidencia científica acumulada en los últimos 15 años permite afirmar que el cáncer de cuello uterino es el resultado final de una infección persistente y no resuelta por ciertos tipos de VPH. El hecho de que el VPH sea la causa necesaria del cáncer de cuello uterino implica que la vacunación contra los genotipos más frecuentes de VPH sea una estrategia que cabe considerar en la prevención primaria del cáncer de cérvix.

ESTUDIOS PRECLÍNICOS

La prevención primaria del cáncer de cérvix uterino puede llevarse a cabo mediante vacunas profilácticas que impidan la infección por el VPH y su patología asociada. Para diseñar una vacuna profiláctica, los antígenos diana deben ser los de la cápside, ya que éstos son los únicos accesibles a la respuesta clásica de anticuerpos neutralizantes (respuesta humoral). Inicialmente, los trabajos de Christensen y Kreider demostraron que los anticuerpos contra las proteínas de la cápside L1 neutralizaban el VPH11 en ratones. Unos años más tarde, Zhou et al²⁹ demostraron que las proteínas de la cápside del VPH16, cuando se expresaban en un sistema recombinante, formaban partículas similares a virus o pseudovirales denominadas VLP (*virus like particles*). Dichas partículas están desprovistas de ADN y se sintetizan mediante autoensamblaje de proteínas del antígeno mayor de la cápside L1³⁰. Las VLP se fabrican mediante ingeniería genética y son estructuralmente idénticas a los virus nativos, pero carecen de capacidad infectiva. La proteína estructural menor L2 puede ensamblarse con la L1 y formar una VLP incluso más estable. Las semejanzas antigénicas con los viriones auténticos del papiloma explican que las VLP induzcan una potente respuesta humoral con anticuerpos neutralizantes.

Los primeros estudios experimentales con vacunas VLP L1 en modelos animales (perros, vacas y conejos) demostraron la formación de anticuerpos circulantes neutralizantes, inmunogenicidad duradera y protección especie-específica. La inducción de IgG neutralizantes depende de los epítomos conformacionales sobre VLP intactos, ya que la utilización de

- 386 proteínas L1 desnaturalizadas son incapaces de generar dichos anticuerpos.

ENSAYOS CLÍNICOS

La primera generación de vacunas VLP evaluadas en ensayos clínicos utilizaron sistemas de producción basados en levaduras. Estudios iniciales (en fase I) realizados en voluntarios sanos demostraron que la inyección de 20-100 µg de L1 VLP en 3 dosis durante 6 meses generaba títulos altos de anticuerpos anti-L1. Además de la seguridad de la vacuna, se evidenció un elevado poder inmunógeno con una respuesta de anticuerpos de la subclase IgG1 varias veces superior a la conseguida por la infección natural.

Hay 2 grandes líneas que investigan muy activamente el desarrollo de vacunas VLP L1 profilácticas: *a*) vacuna bivalente VPH16/18 (Cervarix®) formulada con un nuevo adyuvante, el 3-deacylated- monophosphoryl lipid A (MLP), que es un derivado detoxificado de un lipopolisacárido de la *Salmonella minnesota*, desarrollada por GlaxoSmithKline, y *b*) vacuna tetravalente HPV6/11/16/18 (Gardasil®) formulada con aluminio, desarrollada por Merck & Co.

Para valorar la eficacia de la vacuna, dado que el cáncer de cérvix puede prevenirse a través de la detección precoz y el tratamiento de las lesiones precursoras, tomar como objetivo final *end point* el desarrollo de cáncer es éticamente impracticable. Por tanto, se han buscado otros objetivos alternativos que representen aspectos relevantes de la enfermedad y permitan valorar igualmente la eficacia de la vacuna. Hay 2 potenciales objetivos virológicos: la incidencia de infección por el VPH y la infección persistente definida como la detección del mismo tipo viral entre 2 visitas espaciadas al menos 6 meses, puesto que la persistencia de la infección se considera el más poderoso predictor del ulterior desarrollo de CIN 2-3 y cáncer³¹⁻³³. Los objetivos clínicos son la detección de lesiones precursoras de cáncer cervical. Dado que los verdaderos precursores del cáncer de cuello uterino son la CIN 2-3, éste debe ser el principal objetivo clínico, puesto que si la vacuna impide la aparición de dichas lesiones, se puede asumir que también previene el desarrollo de cáncer.

Hoy día se dispone de resultados de 3 ensayos clínicos controlados y aleatorizados sobre la eficacia de dicha vacuna.

El primer estudio aleatorizado en fase II y controlado por placebo, promovido por Merck Research Laboratories (Koutsky et al, 2002), ensayó una vacuna monovalente que contenía VLP del VPH-16 con adyuvante basado en aluminio, administrando 3 dosis intramusculares de 40 µg a los 0, 2 y 6 meses a mujeres de Estados Unidos de 16-23 años de edad con menos de 5 parejas previas, VPH seronegativas y ADN-VPH negativas en el momento de la inclusión³⁴. Se evaluaron 768 mujeres en el grupo de la vacuna y 765 en el grupo placebo. La eficacia de la vacuna fue del 91% en la prevención de las infecciones incidentes o transitorias. Sin embargo, se consiguió una eficacia del 100%, tanto en la infección cervical persistente (0 en el grupo vacuna frente a 41 en el grupo placebo) como en el desarrollo de alteraciones citológicas (0 en el grupo vacuna frente a 9 en el grupo placebo). La tasa de seroconversión fue del 100%, con títulos específicos 60 veces mayores que la infección natural y sin efectos adversos. Este grupo ha comunicado datos de seguimiento a 4 años³⁵. En el grupo vacunado han aparecido 7 infecciones persistentes frente a 116 en el de control; en el vacunado, ningún CIN II/III, y en el de control 12.

El segundo estudio que se llevó a cabo en Estados Unidos, Canadá y Brasil, promovido por GlaxoSmithKline (Harper et al, 2004) en fase IIb multicéntrico, utilizó una vacuna bivalente (VLP de VPH 16,18) expresada en baculovirus más adyuvante basado en aluminio y MPL, administrando 3 dosis intramusculares de 40 µg (20 µg de VPH 16 y 20 µg de VPH 18) a los 0, 1 y 6 meses³⁶. Se incluyó a 1.113 mujeres entre 15 y 25 años de edad, con no más de 6 parejas previas, con serologías negativas para VPH 16 y 18 y ADN del VPH negativo para 14 tipos de alto riesgo. El tiempo de seguimiento fue de 27 meses. En la tabla 1 se resume el número de infecciones y/o lesiones cervicales en cada grupo de aleatorización y las distintas estimaciones de la eficacia de la vacuna, según un análisis por protocolo o por intención de tratar. En el análisis según el protocolo, la eficacia de la vacuna frente a la infección transitoria o persistente por VPH 16 o 18 fue del 91,6%, y frente a la infección persistente por VPH 16 o 18 del 100%. La eficacia frente a las lesiones preinvasivas

Tabla 1 Análisis de eficacia de la vacuna bivalente VPH 16/18 para la prevención de la infección cervical por VPH 16/18, ASCUS y CIN

<i>Episodio preventivo de interés</i>	<i>Tipo de análisis</i>	<i>Grupo</i>	<i>Número de mujeres</i>	<i>Casos con episodio</i>	<i>Eficacia (IC del 95%)</i>	<i>p</i>
Infección persistente por VPH 16 o 18	Según protocolo	Vacuna VPH 16/18 Placebo	366 355	0 7	100% (47,0-100)	0,007
Infección persistente por VPH 16 o 18	Por intención de tratar	Vacuna VPH 16/18 Placebo	553 560	1 20	95,1% (63,5-99,3)	< 0,0001
Infección transitoria o incidente por VPH 16 o 18	Según protocolo	Vacuna VPH 16/18 Placebo	366 355	2 23	91,6% (64,5-98,0)	< 0,0001
Casos con lesiones de ASCUS, SIL o CIN positivas por VPH 16 o 18	Por intención de tratar	Vacuna VPH 16/18 Placebo	553 560	2 (1 CIN1/2) 27 (6 CIN1/2)	92,9% (70-98,3)	< 0,0001

ASCUS: lesiones citológicas cervicales de significado incierto; CIN: neoplasia cervical intraepitelial; IC: intervalo de confianza; VPH: virus del papiloma humano.

de cérvix ($\geq$ ASCUS) positivas por VPH 16 o 18 fue del 92,9% en el análisis por intención de tratar. La tasa de seroconversión fue del 100%, con títulos específicos 50 veces mayores para el VPH 16, y 80 veces mayores para el VPH 18 que los producidos en la infección natural. Tampoco se observaron efectos adversos significativos.

Más recientemente (Villa et al, 2005), se han publicado los resultados de un estudio en fase II, aleatorizado y multicéntrico, sobre la eficacia de una vacuna profiláctica tetravalente (VLP de VPH 16, 18, 6, 11) expresada en levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) más adyuvante basado en aluminio, promovido por Merck Research Laboratories³⁷. Se asignó a 277 mujeres al grupo vacuna y a 275 al grupo placebo. Se administraron 3 dosis intramusculares de 40 μ g (20 μ g de VPH 16, 40 μ g de VPH 18, 40 μ g de VPH 6 y 20 μ g de VPH 11) a los 0, 2 y 6 meses. Tras un seguimiento de 36 meses, los títulos de anticuerpos fueron permanentemente muy altos para los subtipos 16 y 18, por encima de los producidos por la infección natural, pero no para los relacionados con los subtipos 6 y 11, que se situaron a los mismos valores que los inducidos por la infección natural.

En la tabla 2 se resumen los principales resultados de los análisis de eficacia de dicha vacuna. El desenlace o resultado de interés del ensayo fue la incidencia combinada de infección por VPH 6, 11, 16 o 18, enfermedad cervical, o lesión genital externa. Esta definición incluye: infección persistente por

cualquiera de los 4 VPH incluidos en la vacuna, detección de ADN de VPH en la última visita, y detección histopatológica de neoplasia cervical intraepitelial (CIN), carcinoma de cérvix, o lesión genital externa (condiloma, neoplasia intraepitelial vulvar [VIN], o neoplasia intraepitelial vaginal [VaIN]) relacionada con cualquiera de los genotipos vacunales. Tal como muestra la tabla, la eficacia para la prevención de la incidencia combinada de infección y/o enfermedad fue del 90%, y del 100% para enfermedad asociada a los VPH incluidos en la vacuna. La protección conferida frente a la infección o la enfermedad por cada tipo específico fue del 100% para el VPH 6, del 86% para el VPH 16 y del 89% para el VPH 18. Para el VPH 11, al observarse sólo 3 episodios asociados a este genotipo (los tres en el grupo placebo), los autores consideraron que la estimación de eficacia no era estadísticamente fiable.

En conclusión, estos primeros ensayos muestran que la vacunas basadas en VLP son seguras (la principal reacción adversa es el dolor en el lugar de la inyección debida al adyuvante) y eficaces, tanto en la prevención de infecciones transitorias y persistentes como en el desarrollo de lesiones citológicas asociadas a ellas.

Actualmente, están en desarrollo 3 grandes ensayos en fase III aleatorizados, controlados por placebo, multicéntricos, que incluirán más de 50.000 mujeres de todo el mundo con una gran diversidad étnica y socioeconómica, y cuyos resultados definiti-

Tabla 2 Análisis de eficacia de la vacuna tetravalente VPH 6/11/16/18 para la prevención de la infección cervical por el VPH 6/11/16/18 o enfermedad clínica asociada

<i>Episodio preventivo de interés</i>	<i>Grupo</i>	<i>Número de mujeres</i>	<i>Casos con episodio</i>	<i>Eficacia (IC del 95%)</i>	<i>p</i>
Incidencia combinada de infección persistente y/o enfermedad clínica por tipos vacunales	Vacuna	235	4	90% (71-97)	< 0,0001
	Placebo	233	36		
Infección persistente por tipos vacunales	Vacuna	235	4	88% (70-97)	< 0,0001
	Placebo	233	35		
Enfermedad clínica asociada a los tipos vacunales	Vacuna	235	0	100% (16-100)	0,015
	Placebo	233	6 ^a		
Infección o enfermedad clínica asociada a VPH 6	Vacuna	214	0	100% (68-100)	< 0,0001
	Placebo	209	13		
Infección o enfermedad clínica asociada a VPH 11	Vacuna	214	0	NA ^b	NA ^b
	Placebo	209	3		
Infección o enfermedad clínica asociada a VPH 16	Vacuna	199	4	86% (54-97)	< 0,0001
	Placebo	198	21		
Infección o enfermedad clínica asociada a VPH 18	Vacuna	224	1	89% (21-100)	0,01
	Placebo	224	9		

Análisis según protocolo.

IC: intervalo de confianza; NA: no aplicado; VPH: virus del papiloma humano.

^aIncluye 3 casos de neoplasia cervical intraepitelial y 3 casos de lesiones genitales externas (condiloma, neoplasia intraepitelial vulvar [VIN], o neoplasia intraepitelial vaginal [VaIN]).^bNúmero de episodios demasiado pequeño para la estimación fiable de estadísticos de eficacia.

vos estarán disponibles entre 2007 y 2009³⁸. Los 2 primeros estudios interacionales corresponden a la vacuna bivalente y tetravalente de GlaxoSmithKline y Merck & Co., respectivamente. El tercer gran estudio lo lleva a cabo el National Cancer Institut (NCI) en Costa Rica, con la vacuna bivalente VPH 16 y 18 de GlaxoSmithKline. El profundo conocimiento previo sobre la prevalencia del VPH en esta región permitirá conocer el impacto de la vacuna sobre los tipos de VPH en la población. Los resultados preliminares del estudio Merck & Co. a los 18 meses revelan una eficacia del 100% en la prevención de CIN, VAIN, VIN y condilomas asociados a los tipos de VPH incluidos en la vacuna (Barr E, 2005; datos no publicados presentados en el Advisory Committee on Immunization Practices).

COMPOSICIÓN DE LA VACUNA. TIPO-ESPECIFICIDAD

La actual generación de vacunas basadas en las VLP de L1 de VPH sólo contiene 2 tipos de VPH-AR,

el 16 y el 18. Si se asume que estos tipos virales son agentes causales del cáncer de cérvix en el 50-60 y el 10-12%, respectivamente, la vacunación del 100% de la población diana podría prevenir como máximo el 70% de dichos cánceres. Los anticuerpos neutralizantes inducidos por la vacuna VLP L1 parecen ser tipo-específicos. Algunos tipos con similitudes filogenéticas y antigénicas pueden presentar protección cruzada (p. ej., el VPH 6 y 11, el VPH 31 y 33, y el VPH 18 y 45). Aun así, posiblemente sería necesaria la incorporación de más tipos en la vacuna (p. ej., 16, 18, 31, 45 y 59) para sobrepasar una protección del 80%. Para una protección superior al 90%, posiblemente sería necesaria una vacuna polivalente que incorporase otros 6 tipos más. Los datos epidemiológicos sugieren que la transmisión de diferentes tipos de VPH es dinámica y no independiente. Algunos estudios indican una interacción sinérgica (la infección por algunos tipos facilita la infección concurrente o subsiguiente por otros tipos), mientras otros estudios sugieren una interferencia antagónica entre tipos de VPH³⁹⁻⁴¹. Actualmente, se están desarrollando modelos matemáticos para explorar cómo

estas interacciones pueden aumentar o disminuir la eficacia de los programas de vacunación⁴².

VACUNAS PROFILÁCTICAS. CUESTIONES PENDIENTES

Edad de vacunación

Se asume a partir modelos animales que la vacuna sólo es efectiva si se administra antes de la exposición al virus. Anticiparse al inicio sexual implica que la población diana sean las niñas prepuberales de 9-10 años de edad³⁸. Algunos estudios realizados en Estados Unidos demuestran que los adolescentes inician muy pronto las relaciones sexuales, en algunos casos antes de los 13 años de edad. En función de las estadísticas poblacionales de la edad media, respecto a la primera relación sexual cada país deberá decidir cuál es el rango de edad óptimo para vacunar. Además, la infección por el VPH se adquiere pronto tras el inicio de la actividad sexual, con una incidencia acumulada del 40% en los primeros 16 meses⁴³. Por tanto, se cree que los programas vacunales idealmente deberían iniciarse alrededor de los 12 años de edad⁴⁴.

Vacunación en los varones

Se desconoce en gran medida la epidemiología y la patogenia de la infección por el VPH en los varones. La mayoría de las infecciones son asintomáticas; el VPH 16 es el más frecuentemente detectado, y la prevalencia de tipos específicos de VPH y la seroprevalencia para el mismo grupo de edad es menor en el varón que en la mujer⁴⁵. En definitiva, hay muy pocas enfermedades detectables asociadas al VPH en el varón, por lo que la recomendación para la vacuna requiere estudios sobre la prevención de la infección⁴⁴. Dicha vacunación es necesaria si se quiere conseguir la inmunización de toda la población (*herd immunity*). Hay dificultades respecto a la valoración de la eficacia vacunal para el VPH 16 y 18, dada la dificultad en la obtención de muestras de la extensa área cutánea anogenital, tanto para demostrar la presencia o la ausencia del virus como las lesiones derivadas. Sí parece factible valorar la incidencia de verrugas genitales para el VPH 6/11³⁸. Los

modelos teóricos de cálculo de rendimientos concluyen que si se vacunase al 80% de los varones y mujeres, únicamente se elevaría un 10% la eficacia de la cobertura de la población frente a la vacunación del 80% de las mujeres, por lo que supondría una baja eficiencia. Aunque la mayoría de los estudios sobre vacunas profilácticas se ha realizado en mujeres, se han realizado 3 estudios en varones de 10-15 años que evidencian niveles de seguridad, tolerancia e inmunogenicidad similares⁴⁶⁻⁴⁸. En los próximos 2 años estarán disponibles los resultados de los ensayos clínicos en fase III en varones y adolescentes, actualmente en desarrollo.

Vacunación en la «población de riesgo»

Sabemos que la gran mayoría de infecciones por el VPH se diagnostican en personas sin conductas apreciables de riesgo o con un riesgo medio. La protección de estas personas sería muy eficaz, ya que interrumpiría la cadena de transmisión. Una posible opción sería vacunar a la población masculina homosexual que presenta en el momento actual tasas relativamente altas de cáncer anal vinculado al VPH, que podría beneficiarse mucho del efecto preventivo de la vacuna.

Impacto en las políticas de cribado

En los países con cribados activos es probable que el impacto de la vacunación sobre la incidencia del cáncer de cérvix no sea muy alto. Es previsible que este impacto sea particularmente importante sobre las tasas de CIN II/III, quizá del orden del 50%. Además, el número de citologías atípicas se espera que se reduzca de forma muy apreciable (70%), con lo que los gastos derivados de su valoración y seguimiento deberían disminuir de forma sustancial. El cribado tendrá que mantenerse, ya que se deberá proteger a las mujeres contra los subtipos no incluidos en la vacuna. Hay una cierta preocupación acerca de que la vacuna pueda tener un efecto negativo sobre el cribado, al provocar una falsa seguridad en la mujer vacunada que puede pensar erróneamente que no necesita someterse a más controles⁴⁹. Modelos de análisis matemáticos aplicados a esta cuestión prevén que en las poblaciones vacunadas se podría

- 390 postergar el inicio del cribado y alargar los intervalos entre controles. Parece evidente que la recomendación en estas poblaciones incluiría un cribado cada 5 años, iniciado a los 30 años de edad como estrategia más eficiente. Iniciar antes el cribado y acortar los intervalos mejoraría muy poco la eficacia y multiplicaría considerablemente los gastos.

Duración de la protección. Dosis de recuerdo

Los estudios en fase II demuestran la potencia de la seroconversión inducida por la vacuna, con un pico de anticuerpos tras la vacunación que posteriormente desciende, pero persiste estable tras 48 meses³⁵. Los modelos animales son esperanzadores ya que muestran una protección persistente a pesar de los bajos valores de anticuerpos. Si las vacunas se administran a niños o preadolescentes, desconocemos si los niveles de protección se mantendrán durante varias décadas o se necesitarán revacunaciones. El análisis cuidadoso de los datos que surjan de la continuidad en el seguimiento ayudará a despejar esta cuestión.

Protección cruzada

Se ha informado de la existencia de indicios de protección cruzada en la vacuna bivalente 16/18 contra otros subtipos de estructura capsular proteica muy similar^{31,32,45}. La causa sugerida de esta inmunidad cruzada sería la respuesta inmune extra inducida por el adyuvante utilizado en esta vacuna. Se desconoce el beneficio adicional que este fenómeno representaría en la práctica clínica.

Efecto de sustitución

¿Cómo se comportarán los subtipos de riesgo actualmente muy poco prevalentes al provocar la vacuna protección frente a los subtipos ahora más prevalentes? ¿Los sustituirán? Y lo contrario: ya que se ha informado que mujeres positivas al VPH 16/18 tienen 5-7 veces mayor riesgo de adquirir una subsiguiente infección por el VPH 57 que las no infectadas, ¿evitar el contagio por los subtipos vacunados podría disminuir el riesgo de contagio por otros subtipos?

Diferencias en la composición de la vacuna según la población diana

Hay diferencias notables en la distribución de tipos de VPH asociados con el cáncer de cérvix en diferentes poblaciones⁵⁰, especialmente en los tipos menos frecuentes, pues los VPH 16 y 18 siguen siendo los 2 genotipos de VPH-AR más frecuentemente detectados en los cánceres de cérvix de todas las regiones mundiales de las que se dispone de información. Actualmente, no se puede responder si esta variabilidad geográfica de los tipos menos comunes requerirá la confección de distintas vacunas que contengan diferentes cócteles de VLP de tipos de VPH para cada población específica.

Aceptación de la vacuna

La aceptación por parte de los adolescentes y los padres de una vacuna contra una enfermedad de transmisión sexual (ETS), y el adecuado soporte y la recomendación sanitaria son puntos clave en el éxito la vacuna para el VPH. Estudios recientes demuestran que mientras algunos padres consideran aceptable dicha vacuna, otros creen que su hijos no presentan un verdadero riesgo de sufrir una ETS, o expresan su preocupación de que la vacunación pueda favorecer la práctica de comportamientos sexuales de riesgo⁵¹⁻⁵³. En una encuesta reciente, las madres de niños de entre 8 y 14 años de edad manifestaban una buena disposición para vacunar a sus hijas (67%) o hijos (66%). Las que rechazaban la vacuna, lo justificaban por el riesgo de efectos adversos desconocidos, la ausencia de actividad sexual en aquel momento, y por la falta de beneficio directo en los varones⁵⁴. En otra encuesta realizada a los padres respecto a la vacunación de niños de entre 10 y 15 años de edad, la aceptación pasó del 55 al 75% tras leer una hoja informativa⁵⁵. Por tanto, es esencial una correcta información sobre la enfermedad y la vacuna por parte de los profesionales sanitarios si se desea obtener una amplia participación en los programas de vacunación⁵⁶.

Vacunación en países en vías de desarrollo

La vacunación a gran escala en estos países, donde el cáncer de cérvix provoca la mayor mortalidad,

supone grandes dificultades. Las primeras vacunas en comercializarse requerirán múltiples dosis y un adecuado mantenimiento de la cadena de frío, aspectos difíciles de conseguir en dichos países. Alcanzar la población diana, niños o adolescentes jóvenes, en países donde apenas se dispone de recursos e infraestructura sanitaria, puede suponer otra limitación, teniendo en cuenta, además, que el coste inicial puede ser prohibitivo para dicha población⁵⁷. Incluso sobreponiéndonos a las dificultades logísticas, las diferencias culturales respecto a la salud o estatus de las mujeres en las diferentes comunidades pueden ayudar o impedir la implementación de los programas vacunales. En definitiva, las mayores dificultades en los países en vías de desarrollo probablemente estén fuera de la esfera de la ciencia y la medicina, y requieran una muy amplia colaboración interdisciplinaria⁴⁴.

Vacunas terapéuticas contra el VPH

Las vacunas profilácticas tardarán varias décadas en mostrar su impacto, mientras tanto un elevado porcentaje de mujeres ya infectadas tendrán un riesgo de desarrollar una enfermedad benigna o maligna relacionada con el VPH. Queda, pues, justificada la investigación de vacunas terapéuticas capaces de inducir inmunidad específica mediada por células. Las posibles indicaciones para las vacunas terapéuticas son: *a)* postexposición; *b)* diagnóstico de lesión intraepitelial de bajo grado (L-SIL), y *c)* diagnóstico de lesión intraepitelial de alto grado (H-SIL) o cáncer invasivo.

Los datos experimentales procedentes de modelos animales (perros y conejos) hacen pensar que las vacunas que tengan como dianas los genes *E1* y *E2* serían adecuadas tanto para mujeres postexposición como para las afectas de L-SIL. Sin embargo, en mu-

jeres afectas de CIN-2/3 o cáncer, la expresión continua de los oncogenes *E6* y *E7* es esencial para la progresión y el mantenimiento del fenotipo maligno. Vacunas experimentales *E6* y *E7* han demostrado inmunogenicidad y eficacia, en términos de curación, en modelos de tumores trasplantables en roedores. Sin embargo, los ensayos realizados en humanos han demostrado inmunogenicidad y seguridad, pero una eficacia muy limitada^{58,59}.

Las vacunas terapéuticas deberían ser capaces de inducir una inmunidad específica mediada por células, capaz de prevenir el desarrollo de lesiones y eliminar las existentes o incluso los tumores malignos. Utilizan péptidos recombinados derivados de los oncogenes *E6* y *E7* (minigenes).

Un ensayo aleatorizado aportó en el año 2004 una evidencia preliminar de que el uso de ZYC101 promovía la resolución de CIN II/III en mujeres menores de 25 años. Posteriormente, algunos ensayos clínicos preliminares han demostrado cierta actividad terapéutica que necesitará ser ratificada.

Disponibilidad de las vacunas profilácticas

En diciembre de 2005 Merck presentó la solicitud a la Food and Drugs Administration (FDA) para obtener la licencia de la vacuna tetravalente para su administración a chicas y chicos de 9-15 años y mujeres de 16-26 años de edad. La FDA debe anunciar su decisión sobre la licencia el próximo 8 de junio de 2006. Por otra parte, GlaxoSmithKline tiene previsto presentar la solicitud para obtener la licencia de su vacuna bivalente antes de finales de 2006 y obtener de este modo su comercialización durante el próximo 2007. Aunque ninguna compañía ha revelado el precio de mercado de las 3 dosis, se estima a partir de análisis de coste-efectividad un coste aproximado de 300-500 dólares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer*. 2001;94:153-6.
2. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer*. 2001;37 Suppl 8:4-66.
3. Yang BH, Bray FI, Parkin DM, Sellors JW, Zhang ZF. Cervical cancer as a priority for prevention in different world regions: an evaluation using years of life lost. *Int J Cancer*. 2004; 109:418-24.
4. Durst M, Gissmann I, Ikenberg H, Zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983;80:3812-5.

5. Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst.* 1993; 85:958-64.
6. Bosch FX, Manos M, Muñoz N, et al, por el IBSCC Study Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:796-802.
7. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12-9.
8. Schiffman M, Castle PE. Human papillomavirus: epidemiology and public health. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:930-4.
9. Muñoz N, Bosch FX, De Sanjose S, et al. International agency for research on cancer multicenter cervical cancer study group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003; 348:518-27.
10. Tjalma WA, Van Waes TR, Van den Eeden LE, Bogers JJ. Role of human papillomavirus in the carcinogenesis of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2005;19:469-83.
11. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:796-802.
12. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2003;88:63-73.
13. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2003;89:101-5.
14. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine.* En prensa 2006.
15. Helmerhorst TJ, Meijer CJ. Cervical cancer should be considered as a rare complication of oncogenic HPV infection rather than a STD. *Int J Gynecol Cancer.* 2002;12:235-6.
16. Bovicelli A, Bristow RE, Montz FJ. HPV testing: where are we now? *Anticancer Res.* 2000;20:4673-80.
17. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *Can Med Assoc J.* 2001;164:1017-25.
18. McFadden SE, Schumann L. The role of human papillomavirus in screening for cervical cancer. *J Am Acad Nurse Pract.* 2001;13:116-25.
19. Evander M, Edlund K, Gustafsson A, Jonsson M, Karlsson R, Rylander E, et al. Human papillomavirus infection is transient in young women: a population-based cohort study. *J Infect Dis.* 1995;171:1026-30.
20. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:464-74.
21. Castellsague X, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV, De Sanjose S, et al, por el International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med.* 2002;346:1105-12.
22. Castellsague X, Muñoz N. Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;31:20-8.
23. Sousa R, Dostatni N, Yaniv M. Control of papillomavirus gene expression. *Biochim Biophys Acta.* 1990;1032:19-37.
24. Chen L, Thomas EK, Hu SL, Hellström I, Hellström KE. Human papillomavirus type 16 nucleoprotein E7 is a tumor rejection antigen. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:110-4.
25. Chen TM, Pecoraro G, Defendi V. Genetic analysis of in vitro progression of human papillomavirus-transfected human cervical cells. *Cancer Res.* 1993;53:1167-71.
26. Apple RJ, Becker TM, Wheeler CM, Erlich HA. Comparison of human leukocyte antigen DR-DQ disease associations found with cervical dysplasia and invasive cervical carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:427-36.
27. Muller M, Gissman L, Cristiano RJ, Sun XY, Frazer I, Jensen AE, et al. Papillomavirus capsid binding and uptake by cells from different tissues and species. *J Virol.* 1995;69:948-54.
28. Kadish A, Hagan RJ, Ritter DB. Biologic characteristics of specific human papillomavirus types predicted from morphology of cervical lesions. *Human Pathol.* 1992;23:1262-9.
29. Zhou J, Sun XY, Stenzel DJ, et al. 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;185:251-7.
30. Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, et al. Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1992;89:12180-4.
31. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998;338:423-8.
32. Liaw KL, Glass AG, Manos MM, et al. Detection of human papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. *J Nat Cancer Inst.* 1999;91:954-60.
33. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *J Am Med Inform.* 2001;286:3106-14.
34. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med.* 2002; 347:1645-51.
35. Mao C, Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Wiley DJ, et al. Efficacy of human papillomavirus-16 vaccine to prevent cervical intraepithelial neoplasia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol.* 2006;107:18-27.
36. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D, Schuind A, et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle

- vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;364:1757-65.
37. Villa LL, Costa RL, Petta CA, et al. 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;6:271-8.
 38. Stanley MA. HPV vaccines. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2005;20:1-15.
 39. Thomas K, Hughes J, Kuypers J, et al. Concurrent and sequential acquisition of different genital human papillomavirus types. *J Infect Dis*. 2000;182:1097.
 40. Liaw KL, Hildesheim A, Burk R, et al. A prospective study of human papillomavirus (HPV) type 16 DNA detection by polymerase chain reaction and its association with acquisition and persistence of other HPV types. *J Infect Dis*. 2001;183:8.
 41. Rousseau MC, Pereira J, Prado JC, Villa L, Rohan T, Franco E. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. *J Infect Dis*. 2001;184:1508.
 42. Elbasha EH, Galvani AP. Vaccination against multiple HPV types. *Math Biosci*. 2005;197:88-117.
 43. Steinbrook R. The potential of human papillomavirus vaccines. *N Engl J Med*. 2006;354:1109-12.
 44. Shaw AR. Human papillomavirus vaccines in development: if they're successful in clinical trials, how will they be implemented? *Gynecol Oncol*. 2005;99:246S-8S.
 45. Partridge JM, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection in men. *Lancet Infect Dis*. 2006;6:21-31.
 46. Harro CD, Pang YY, Roden RB, Hildesheim A, Wang Z, Reynolds MJ, et al. Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93:284-92.
 47. Evans TG, Bonnez W, Rose RC, et al. A Phase 1 study of a recombinant viruslike particle vaccine against human papillomavirus type 11 in healthy adult volunteers. *J Infect Dis*. 2001;183:1485-93.
 48. Nolan T, Block SL, Reisinger KS, et al. Comparison of the immunogenicity and tolerability of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) (types 6, 11, 16, 18) L1 virus-like particle (VLP) vaccine in male and female adolescents and young adult women. 23rd Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Disease; Valencia, Spain, 18-20 de mayo de 2005 [abstract 236]. Disponible en: <http://www.kenes.com/esp/2005/program/>
 49. Katz I, Wright AA. Preventing cervical cancer in the developing world. *N Engl J Med*. 2006;354:1110.
 50. Bosch FX, De Sanjosé S. Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;31:3-13.
 51. Mays RM, Sturm LA, Zimet GD. Parental perspectives on vaccinating children against sexually transmitted infections. *Soc Sci Med*. 2004;58:1405-13.
 52. Zimet GD, Perkins SM, Sturm LA, et al. Predictors of STI vaccine acceptability among parents and their adolescent children. *J Adolesc Health*. 2005;37:179-86.
 53. Olshen E, Woods ER, Austin SB, et al. Parental acceptance of the human papillomavirus vaccine. *J Adolesc Health*. 2005;37:248-51.
 54. Slomovitz BM, Sun CC, Frumovitz M, Soliman PT, Schmeler KM, Pearson HC, et al. Are women ready for the HPV vaccine? *Gynecol Oncol*. En prensa 2006.
 55. Davis K, Dickman ED, Ferris D, Dias JK. Human papillomavirus vaccine acceptability among parents of 10- to 15-year-old adolescents. *J Low Genit Tract Dis*. 2004;8:188-94.
 56. Zimet GD. Improving adolescent health: focus on HPV vaccine acceptance. *J Adolesc Health*. 2005;37:17S-23S.
 57. Kahn JA. Vaccination as a prevention strategy for human papillomavirus-related diseases. *J Adolesc Health*. 2005;37:10S-6S.
 58. Stanley MA. Progress in prophylactic and therapeutic vaccines for human papillomavirus infection. *Expert Rev Vaccines*. 2003;2:381-9.
 59. Adams M, Borysiewicz L, Fiander A, et al. Clinical studies of human papilloma vaccines in pre-invasive and invasive cancer. *Vaccine*. 2001;19:2549-56.