

**José María Bayas<sup>a</sup>**

**Aureli Torné<sup>b</sup>**

**José García-Sicilia<sup>c</sup>**

**Alfonso Alba<sup>d</sup>**

281

<sup>a</sup>Servicio de Medicina Preventiva y Epidemiología. UASP-IDIBAPS. Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Sección de Ginecología Oncológica. ICGON-IDIBAPS. Hospital Clínic. Barcelona. España.

<sup>c</sup>Coordinación con Atención Primaria del Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid. España.

<sup>d</sup>Instituto de Estudios Celulares y Moleculares de Galicia. Lugo. España.

**Correspondencia:**

Dr. J.M. Bayas.  
Centro de Vacunación de Adultos. Servicio de Medicina Preventiva y Epidemiología. Hospital Clínic.  
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.  
Correo electrónico: jmbayas@clinic.ub.es

Fecha de recepción: 25/11/2008.

Aceptado para su publicación: 17/1/2009.

---

### RESUMEN

El virus del papiloma humano (VPH) produce una infección limitada al epitelio cervical. Esto provoca un escaso estímulo para el sistema inmunitario, lo que hace que la respuesta inmunitaria innata del huésped sea muy limitada. Así, la infección natural da lugar a títulos muy bajos de anticuerpos, lo que impide asegurar la protección frente a nuevas infecciones, incluso, por los mismos tipos de VPH. Las vacunas frente al VPH originan títulos de anticuerpos plasmáticos al menos 100 veces superiores a la infección natural, pero se desconoce si tras la caída o pérdida de anticuerpos a lo largo del tiempo en las mujeres vacunadas, una infección natural posterior conseguirá activar la inmunidad de memoria de manera rápida y suficiente para neutralizar la infección.

Para lograr protección a largo plazo, las vacunas profilácticas frente al VPH deben ser capaces de proporcionar valores de anticuerpos plasmáticos suficientemente altos y mantenidos para asegurar también suficientes valores de anticuerpos en el cérvix.

### **Infección natural y vacunas frente al virus del papiloma humano: papel de los anticuerpos en la protección a largo plazo**

*Natural infection and vaccines against the human papilloma virus: role of antibodies in the long-term protection*

### PALABRAS CLAVE

Cáncer de cuello de útero. Virus del papiloma humano. Vacunas. Anticuerpos.

### ABSTRACT

The human papilloma virus (HPV) causes limited infection of the cervical epithelium, which results in only limited stimulus of the immune system, meaning that the innate immune response of the host is very limited. Therefore, natural infection provokes very-low levels of antibodies which, in some cases, is not sufficient to prevent new infections, even by the same types of HPV. HPV vaccines produce plasma antibody levels at least 100 times greater than natural infection, but it is unclear whether after the fall in or loss of antibodies over time in vaccinated women, subsequent natural infection could activate memory immunity rapidly and effectively enough to neutralize the infection.

In order to provide long-term protection,

- 282** prophylactic HPV vaccines should be able to provide sufficiently-high sustained levels of plasma antibodies in order to assure sufficient levels of antibodies in the cervix.

#### KEY WORDS

Cervical cancer. Human papillomavirus. Vaccines. Antibodies.

#### VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER EN HUMANOS

La relación causal entre la infección persistente por determinados genotipos del virus del papiloma humano (VPH) y el cáncer de cuello de útero es uno de los descubrimientos más destacados de la investigación etiológica del cáncer en los últimos años. La evidencia proveniente de estudios biológicos y epidemiológicos ha demostrado de forma inequívoca que el cáncer de cuello uterino es, en realidad, una secuela a largo plazo de una infección adquirida por vía sexual<sup>1</sup>.

En 1995, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) confirmó la carcinogenicidad de los VPH 16 y 18<sup>2</sup>. Más de 10 estudios de casos y controles han demostrado que estos dos tipos virales están implicados en el 70% de los carcinomas escamosos y en el 86% de los adenocarcinomas cervicales<sup>3,4</sup>. También existe evidencia epidemiológica bien establecida a favor del papel oncogénico de los VPH 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66, y evidencia probable con los VPH 26, 53, 68, 73 y 82.

Los cánceres de vagina y ano, junto con sus lesiones precursoras, están relacionados en el 64-91% de los cánceres de vagina y en el 88-94% de los cánceres de ano con la existencia de algún tipo de VPH. Los cánceres de vulva son VPH positivos en el 60-90%. Otros tumores malignos, como el de pene, carcinomas escamosos de cabeza y cuello, cáncer de piel no melanoma y cáncer de conjuntiva, se han relacionado en proporción variable con determinados tipos de VPH oncogénicos como agentes causales<sup>5</sup>.

A pesar de los avances en la prevención del cáncer de cuello de útero mediante el cribado y la de-

tección de sus lesiones precursoras, actualmente sigue siendo el segundo cáncer más frecuente entre las mujeres de todo el mundo, con estimaciones de 493.000 nuevos casos y 274.000 fallecimientos en el año 2002<sup>6</sup>. La falta de prevención en los países en vías de desarrollo justifica que éstos acumulen el 83% de todos los casos, por lo que dicho cáncer supone el 15% de las neoplasias frente al 3,6% en los países desarrollados. Así, el riesgo acumulado a lo largo de la vida, hasta los 65 años, de presentar cáncer de cérvix en los países en vías de desarrollo es del 1,5% frente al 0,8% entre los países desarrollados<sup>6</sup>.

#### HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

La infección genital por VPH es muy común entre las mujeres jóvenes sexualmente activas, ya que se adquiere con facilidad desde las primeras relaciones sexuales. Su prevalencia en mujeres asintomáticas de la población general oscila entre un 2 y un 44% (prevalencia global ajustada del 10,41%); es máxima entre las más jóvenes, disminuye paulatinamente al aumentar la edad y se incrementa nuevamente a partir de los 55 años (sólo en Asia no se observa este segundo pico)<sup>7</sup>. En el mundo se estima que hay 291 millones de mujeres portadoras. La mayoría de las infecciones se resuelven espontáneamente al cabo de un tiempo<sup>8</sup>. Los estudios de seguimiento muestran negatividad de las pruebas en el 70% de las mujeres a los 12 meses y en el 80% a los 18 meses. Sólo las infecciones persistentes en el tiempo suponen un riesgo de desarrollo de lesiones precursoras y, eventualmente, cáncer cervical. Aunque globalmente se entiende por persistencia la presencia del mismo tipo de VPH en 2 ocasiones separadas por un intervalo, no existe ningún punto de corte consensuado entre transitoriedad y persistencia. La mayoría de los estudios encuentran que el 90% de las mujeres presentan regresión de un tipo específico de VPH después de 2 años de seguimiento, por lo que clínicamente parece adecuado establecer el punto de corte de persistencia en los 2 años<sup>9</sup>.

La susceptibilidad del cuello uterino para desarrollar cáncer estriba en la existencia de la zona de transformación epitelial, o punto de confluencia en-

tre el epitelio escamoso poliestratificado y el epitelio cilíndrico endocervical. En esta zona existe un fenómeno de reepitelización mediante metaplasia escamosa y las células basales nucleadas del epitelio, que son las susceptibles de infectarse por el VPH, son fácilmente accesibles. Otras áreas anatómicas en las que existe una zona de transformación epitelial como, el canal anal o la amígdala, presentan mayor incidencia de cáncer escamoso.

Las anomalías epiteliales asociadas al VPH que llevan a desarrollar un cáncer cervical tienen lugar mediante la progresión de lesiones intraepiteliales o neoplasia cervical intraepitelial (CIN) grados I, II y III. La mayoría de las lesiones de grado I son el reflejo del efecto citopático del virus y regresan espontáneamente junto con la negativización del VPH. Por el contrario, las lesiones grado III comportan un elevado potencial premaligno. Las características virales más importantes en la oncogénesis son el genotipo y la duración de la persistencia. El VPH tipo 16 es el que persiste durante más tiempo y el que posee mayor capacidad oncogénica<sup>10</sup>. El tiempo que transcurre desde la adquisición de la infección hasta el CIN-III puede oscilar entre 1 y 10 años. Hasta la fecha, se han identificado varios factores como promotores de la persistencia y/o progresión.

### MECANISMOS DE DEFENSA FRENTE A VIRUS (INMUNIDAD INNATA Y ADAPTATIVA)

En nuestro sistema inmunológico se distinguen funcionalmente 2 mecanismos básicos de defensa: la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa.

La inmunidad innata es heredada y mantenida a lo largo de la evolución. Representa una respuesta inicial inespecífica frente a la mayoría de patógenos previamente desconocidos o con un contacto insuficiente para desencadenar la respuesta adaptativa. La inmunidad innata, relacionada con la inflamación, es la reacción natural ante cualquier agresión que aumenta la afluencia sanguínea y atrae a fagocitos (neutrófilos, células dendríticas, macrófagos) y «células agresoras naturales» (NK) al foco de la infección<sup>11</sup>. Se ve potenciada por la liberación de citocinas y activación del complemento, que además de lisar membranas celulares puede favorecer la fagocitosis. En el contexto de esta primera inmunorreacción «a ciegas» del organismo, algunas células infectadas por virus

pueden producir interferón, que induce resistencia en las restantes células todavía no infectadas<sup>11</sup>.

En función de la magnitud del daño celular, la naturaleza del antígeno y el tipo de respuesta efectora a inducir, la inmunidad innata activa mediante las células dendríticas, principalmente, los mecanismos de inmunidad adaptativa.

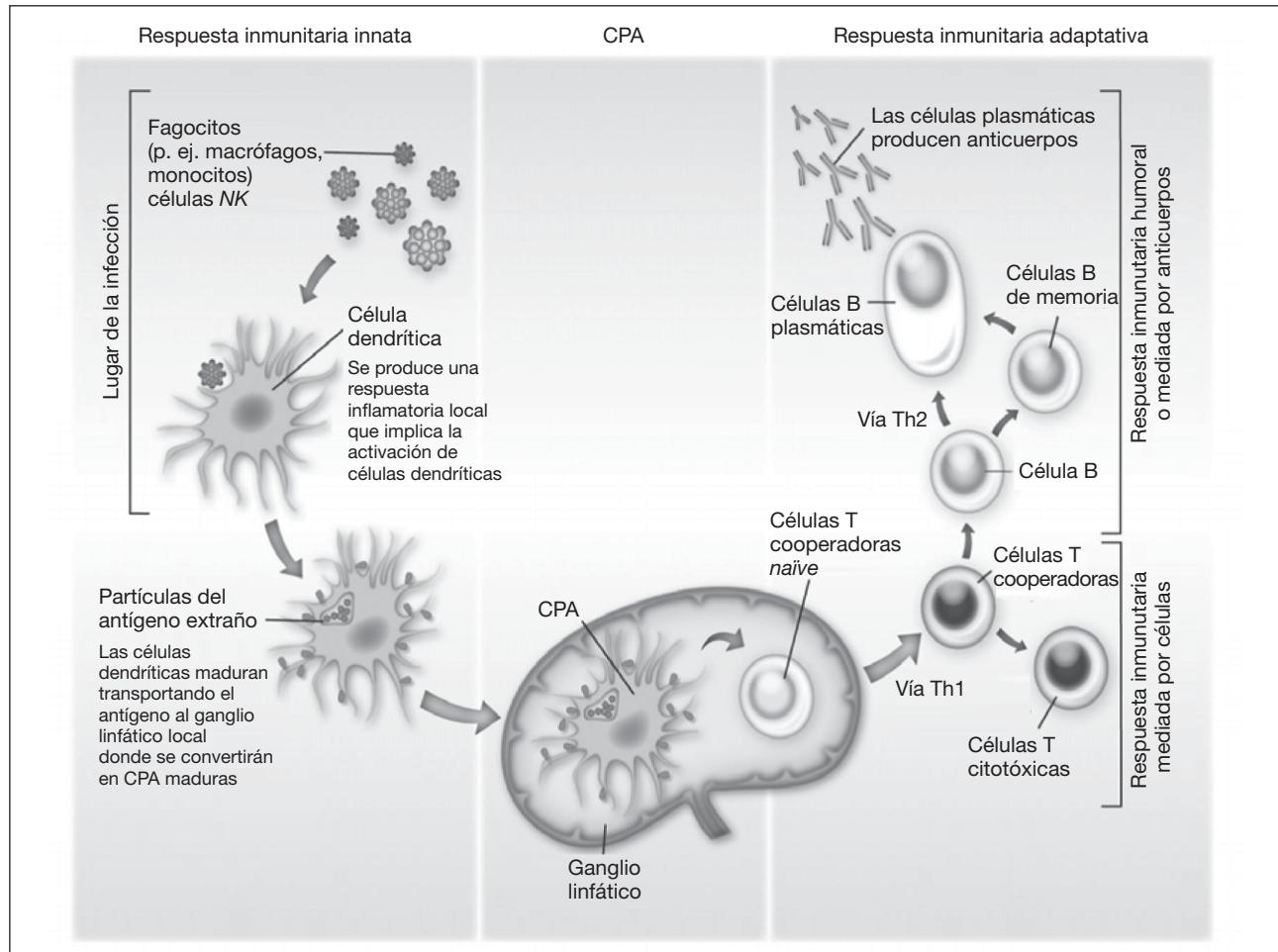
El sistema adaptativo de defensa inmunológica se caracteriza por la especificidad de protección y de memoria, mediada fundamentalmente por linfocitos T y factores solubles: glucoproteínas denominadas inmunoglobulinas o anticuerpos. Estos suponen la línea de defensa inicial y se producen localmente o acceden a la zona agredida por el aumento de la permeabilidad capilar, provocada por la reacción inflamatoria que favorece la retracción de las células endoteliales<sup>11</sup> (fig. 1).

Los microorganismos tienen múltiples antígenos; cada uno de ellos tiene un conjunto de epítopos (determinante antigenico), generalmente diferentes de un antígeno a otro<sup>11</sup>. Algunos epítopos se comparten entre varios antígenos, lo que genera reactividad cruzada. La célula defensora reconoce epítopos y no al antígeno completo.

Cada célula B genera un solo tipo de anticuerpo, que puede ser de 5 clases: las inmunoglobulinas A (de localización preferente en mucosas), D, E, M y, principalmente, G (que se distribuye uniformemente en los espacios intra y extravasculares).

### RESPUESTA INMUNITARIA EN LA INFECCIÓN NATURAL POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

La respuesta inmunitaria frente a la infección por VPH viene definida por las peculiares características biológicas del virus y del entorno en el que desarrolla su tropismo. El tracto genital inferior, en especial el epitelio cervical, tiene varias vías de defensa primaria, por tratarse de un epitelio expuesto a la entrada de multitud de patógenos. La primera vía de defensa la constituye la propia integridad del epitelio, que favorece la eliminación de las partículas virales por mero arrastre. Aun cuando los VPH logren alcanzar las capas basales, los mecanismos de inmunidad inespecífica mediados por elementos como interferón o células NK pueden evitar la entrada de las partículas virales en la célula.



**Figura 1.** Las células dendríticas son el puente entre la inmunidad innata y adaptativa. Emigran a los ganglios linfáticos, tras fagocitar al patógeno infectante, lo procesan y lo presentan a los linfocitos T CD4+, activándose las vías de linfocitos T cooperadores (helper). La vía Th1 generará inmunidad celular, necesaria para la resolución de la infección establecida, induciendo células T de memoria y promoviendo la diferenciación de linfocitos T citotóxicos, que aniquilarán las células infectadas. La vía humoral Th2 activa a los linfocitos B que, al diferenciarse en células plasmáticas, contactan con el antígeno y sintetizan anticuerpos específicos que bloquearán al patógeno. Algunas células plasmáticas perduran durante largos períodos y segregan anticuerpos constantemente, manteniendo un nivel protector. Otra fracción de linfocitos B deriva a células B de memoria que darán lugar a una respuesta humoral rápida, intensa y eficaz (Abbas AK, Lichtman AH. *Inmunología celular y molecular*. 4.ª ed. Madrid: Elsevier; 2004. p. 163-88). CPA: células presentadoras de anticuerpos; NK: natural killer.

La ausencia de esta respuesta inespecífica, que supone la internalización de la partícula viral dentro de la célula basal, da lugar a la verdadera infección por VPH. Una vez el virus se asienta en su huésped, comenzará una relación con éste que desembocará bien en la muerte de la célula infectada, y con ello la de las partículas virales, o bien la inmortalización de esa célula que, en presencia de condiciones fa-

vorables intrínsecas o extrínsecas, se podrá convertir en una célula tumoral<sup>12</sup>. Los mecanismos que utiliza la célula infectada para protegerse son, fundamentalmente, de 2 tipos: uno dependiente de la propia fisiología celular y otro de la inmunidad específica celular. En ocasiones, cuando una célula infectada comienza su proceso de replicación los mecanismos de control del ciclo celular detectan un ADN extraño

y promueven la muerte celular programada con todo el contenido viral en su interior. Los mecanismos de defensa basados en la inmunidad celular específica requieren la identificación de proteínas virales, que actuarán como antígenos, y el desarrollo de una respuesta citotóxica contra las células que los porten en su interior. Por su parte, los VPH de riesgo alto tienen la capacidad de bloquear ambos mecanismos de defensa utilizando diferentes mecanismos biológicos. Las proteínas E6 y E7 de los VPH de riesgo alto tienen la capacidad de unirse y bloquear, respectivamente, a las proteínas p53 y Rb del ciclo celular. La disfunción que genera este bloqueo se traduce en la incapacidad de la célula para poner en marcha un suicidio programado (apoptosis) generando células inmortalizadas sin capacidad de defenderse no sólo de la infección presente, sino de los propios errores genéticos intrínsecos a la replicación y maduración celular. La célula queda, de este modo, en un estado susceptible a la transformación tumoral.

Por otro lado, los VPH de alto riesgo utilizan complejos mecanismos para evadir la respuesta inmunitaria específica celular, encargada de eliminar a las células infectadas, así como la respuesta humoral responsable de proteger frente a nuevos contactos mediante generación de anticuerpos y células de memoria. Las características del epitelio cervical hacen que su «excesiva estanqueidad» impida, en muchas ocasiones, la presentación de las partículas virales en el entorno de los ganglios linfáticos, donde se genera la respuesta inmunitaria tanto humoral como celular. La ausencia de estrés celular suficiente, al no existir efecto citopático, el hecho de que no se produzca viremia, la no generación de procesos inflamatorios y la interferencia en los procesos de migración y señalización de las células presentadoras de antígenos hacen del VPH un auténtico especialista en la evasión del control por el sistema inmunitario<sup>13,14</sup>.

La suma de todos los acontecimientos descritos anteriormente es causante de la deficitaria respuesta natural ante la infección por VPH. Se ha descrito que, aproximadamente, la mitad de las mujeres infectadas por VPH no generan nunca una respuesta humoral con generación de anticuerpos. Esta deficiente vigilancia inmunológica de las células inmortalizadas por acción del VPH conduce a la persistencia de la infección, base de la transformación

neoplásica. En los casos en que el huésped logra desarrollar una respuesta inmunitaria específica celular, ésta puede no ser suficiente para la resolución de la infección, ya que depende de otros factores locales y externos. En los casos en que se logra seroconversión, es decir, desarrollar una respuesta humoral mediada por anticuerpos, los títulos medios observados tras la infección natural pueden ser insuficientes para evitar la reinfección por ese mismo tipo viral, además de ser inútiles para impedir la infección por otros genotipos diferentes del VPH<sup>15</sup>.

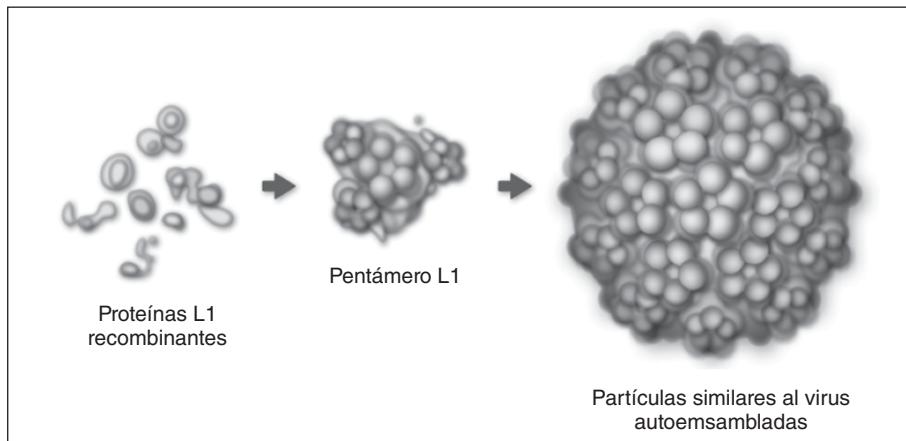
## VACUNAS PREVENTIVAS FREnte AL CÁNCER DE CÉRvIX

### Diseño y composición de las vacunas basadas en partículas similares al virus L1

Las vacunas comercializadas frente a los VPH, cuyo efecto es exclusivamente preventivo, basan su composición en la proteína estructural L1 en forma de VLP (*virus like particles* o «partículas similares al virus») (fig. 2). Las VLP son estructuras tridimensionales, morfológica y antigenicamente idénticas a los VPH seleccionados, que no contienen ADN por lo que no pueden infectar, ni replicarse, ni ocasionar ningún tipo de afección, pero son capaces de inducir una intensa respuesta protectora de anticuerpos neutralizantes. La utilización de estas proteínas L1 constituye el primer fundamento para potenciar la inmunogenicidad de estas vacunas<sup>16</sup>.

El segundo fundamento se basa en su administración intramuscular, que provoca una inmediata estimulación de las células dendríticas locales, consideradas el nexo de unión entre la respuesta inmunitaria innata y la adaptativa<sup>17</sup>. Estas células tienen un papel fundamental en la inducción de la memoria inmunológica y de la respuesta protectora específica de manera potente y prolongada<sup>17</sup> porque generan valores de anticuerpos séricos muy elevados que, trasladados al moco cervicovaginal en concentraciones proporcionales, constituyen la principal defensa frente a la infección por los VPH<sup>18</sup>.

El reconocimiento del papel de las células T en la erradicación de la infección por VPH, visibles en lesiones de papilomas en regresión, y la aparición de una respuesta efectora T CD4<sup>13</sup> hacen pensar que las vacunas preventivas que se deben desarrollar



**Figura 2.** La proteína L1 es una proteína altamente antigenica de la cápside de los virus del papiloma humano obtenida por recombinación genética. Estas proteínas tienen la propiedad de autoensamblarse dando lugar a las denominadas VLP (virus like particles o partículas similares al virus).

deberían ser capaces de inducir una potente respuesta de células T, capaz de eliminar las células infectadas por los virus que hubieran podido traspasar las líneas de defensa de los anticuerpos<sup>19</sup>.

La vacuna ideal debiera ser capaz de inducir una buena respuesta humoral y celular, lo que se podría haber conseguido con el empleo de proteínas virales adicionales a las de la cápside, como las proteínas tempranas E7, E6 y E2, obteniéndose así vacunas químicas. Este camino era probablemente muy largo y lleno de dificultades. Una opción seguramente mejor ha sido emplear sistemas adyuvantes capaces de fomentar específicamente la respuesta de las células T. El adyuvante a emplear debía, lógicamente, combinar seguridad con eficacia clínica en la prevención de las afecciones malignas a prevenir<sup>20,21</sup>.

Por tanto, el tercer fundamento que potencia la elevada inmunogenicidad de estas vacunas es el adyuvante. Las sales de aluminio incluidas en la formulación de ambas vacunas refuerzan la respuesta inmunitaria mediante: *a)* el inóculo de depósitos locales que permite una liberación más lenta y persistente del antígeno; *b)* estimulación de células inmunorreactivas por la activación del complemento, y *c)* activación de los macrófagos que optimizan la captación de las partículas antigenicas adsorbidas en aluminio. El hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfó, que incorpora la vacuna tetravalente, ha demostrado estabilizar y unirse a más VLP, garantizando un mejor ajuste con éstas e induciendo mayor inmunogenicidad humoral frente a VPH-16 *in vivo*, en ratones de experimentación, en comparación con otras sales de aluminio<sup>22</sup>. La vacuna bivalente, que

incluye el novedoso sistema adyuvante 04 (AS04), combina el hidróxido de aluminio a un lipopolisacárido detoxificado de la pared bacteriana de la *Salmonella Minnesota*: el monofosforil lípido A. La singularidad de este sistema adyuvante es que posee un efecto inmunomodulador inducido mediante la activación de receptores celulares de la inmunidad innata, tipo-Toll 4 presentes en la superficie de las células presentadoras de antígeno, incrementando la respuesta inmunitaria de las propias VLP. Se ha confirmado que AS04 es capaz de inducir valores de anticuerpos y producción de linfocitos B específicos de memoria más elevados, que la misma vacuna adyuvada únicamente con hidróxido de aluminio<sup>23</sup>.

### Modelos animales. Protección mediada por anticuerpos neutralizantes

Los modelos animales han sido fundamentales en el desarrollo de vacunas preventivas frente al VPH. En particular, las infecciones por virus del papiloma en perros y conejos son semejantes a las infecciones genitales por estos virus en humanos. Los primeros estudios en modelos animales con virus del papiloma oral canino (COPV), del conejo de cola blanca y bovino sirvieron para demostrar la posibilidad de inducir la formación de anticuerpos neutralizantes contra los epítopos L1 y L2<sup>24</sup>. Estos anticuerpos eran capaces de neutralizar el virus *in vitro* y aparecían en suero en concentraciones muy elevadas. Otros estudios confirmaron la protección inducida en conejos por transferencia pasiva de anticuerpos tipo

inmunoglobulina G (IgG) contra los epítopos L1<sup>25</sup>. Estudios posteriores en mono verde africano hallaron en las secreciones vaginales concentraciones de anticuerpos muy superiores a las inducidas por la infección natural<sup>26</sup>. Los modelos animales demostraron también que los anticuerpos séricos tenían una persistencia prolongada. La vacunación parenteral con VLP L1 del COPV indujo a la formación de anticuerpos específicos IgG capaces de proteger a perros contra la exposición de la mucosa oral a CO-PV<sup>27</sup>.

Por tanto, basándose en diferentes modelos animales, se puede considerar que la elección del antígeno parece crítica para la estimulación de una respuesta inmunitaria apropiada, aquella que permite neutralizar el virus tras una infección natural<sup>25</sup>.

## **RESPUESTA INMUNITARIA Y PROTECCIÓN TRAS LA VACUNACIÓN**

### **Administración sistémica del antígeno en la prevención de una infección local**

La infección por VPH en el tracto genital inferior deriva de un contacto entre el epitelio del portador y el del receptor por lo que la respuesta inmunológica esperada es la inmunidad mucosal celular citotóxica y mediante IgA. En realidad, la ausencia de la presentación antigénica y de la migración de los efectores inmunitarios al lugar de la respuesta, y la evasión del virus al reconocimiento inmunológico suponen una tasa de respuestas efectivas muy por debajo de lo esperable para una infección por un virus de estructura ADN<sup>13,28</sup>.

La administración sistémica de las VLP que actuarán como antígenos tiene como objetivo potenciar la presentación antigénica en los órganos linfoides encargados de la respuesta inmunitaria. Los estudios realizados demuestran inmunogenicidad en la práctica totalidad de los individuos vacunados y que los títulos de anticuerpos totales y específicos están muy por encima de los derivados de la infección natural. Este hecho es de especial importancia, ya que el título de anticuerpos que induce la infección natural, en ocasiones, no asegura protección frente a nuevas infecciones<sup>15</sup>.

La calidad de la respuesta inmunitaria generada por las VLP supone no sólo elevados títulos de an-

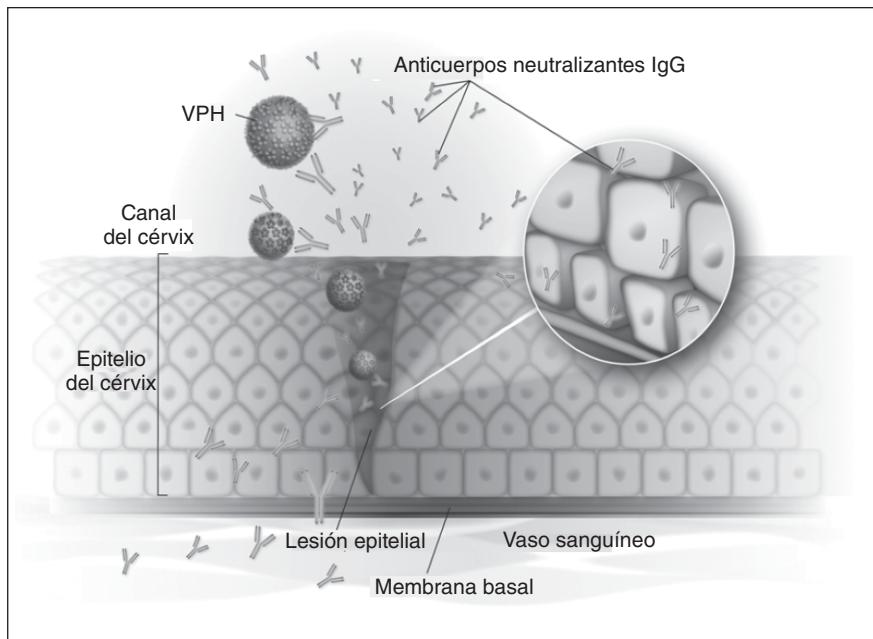
ticuerpos, sino el mantenimiento de éstos a lo largo del tiempo, lo que implica la intervención de mecanismos de memoria efectivos. Sin embargo, la demostración de recuerdo inmunológico mediante la aplicación de dosis extra a nivel sistémico podría no significar, necesariamente, la existencia de protección, ya que el contacto natural con el VPH es mucosal y, por lo anteriormente descrito, podría no ser presentado nunca ante los agentes encargados de desencadenar la memoria inmunitaria. Dado que la infección por el VPH tiene lugar en un plazo de horas desde la inoculación, la ausencia de anticuerpos en la mucosa podría dejar desprotegido durante el tiempo que requiriese la memoria inmunitaria para montar de nuevo la respuesta.

### **Importancia de los anticuerpos neutralizantes a nivel local**

Se piensa que, en el ser humano, la protección tras la vacunación contra el VPH depende de que se consigan títulos altos de anticuerpos neutralizantes en suero, que permitan su migración desde el suero hasta la mucosa del cérvix (trasudación) y así se obtengan así títulos de anticuerpos lo suficientemente elevados en el cérvix como para prevenir la infección<sup>30</sup> (fig. 3).

Tras la vacunación podría especularse con la posibilidad de que los títulos de anticuerpos generados a nivel sistémico no se correspondan con los títulos esperados en la mucosa en el cérvix; sin embargo, un estudio que incluyó a 151 mujeres vacunadas frente al VPH 16 y 18 demuestra que 2 años después de la pauta vacunal completa existía una perfecta correlación entre valores de anticuerpos en plasma y en secreción cérvico-vaginal<sup>29</sup>. Aunque se desconoce cuál es el valor mínimo de anticuerpos que resulta protector, es probable que a mayor título y persistencia de anticuerpos, mayor sea la protección a largo plazo<sup>30</sup>. Se desconoce hasta qué punto un elevado porcentaje de mujeres con infección natural y sin anticuerpos detectables son susceptibles de nuevas infecciones por estos mismos tipos de VPH.

La vacuna frente al VPH, aunque con un mecanismo de protección diferente del que se produce en la infección natural, basa su efecto en la producción de elevados títulos de anticuerpos en sangre y,



**Figura 3.** Se ha comprobado que la inmunoglobulina G (IgG) es la principal inmunoglobulina en las secreciones cervicales y se asume que la protección está mediada por la IgG sérica (predominantemente IgG neutralizante), que puede trasudar a través del epitelio cervical, especialmente en la unión escamocolumnar, en cantidades suficientes para unirse a las partículas virales y prevenir la infección. VPH: virus del papiloma humano.

secundariamente, en secreción cérvico-vaginal. La inducción de una respuesta inmunitaria robusta, con elevados títulos de anticuerpos, y el mantenimiento de éstos parecen ser requisitos indispensables para poder estimar una protección a muy largo plazo<sup>31</sup>. Aunque no se dispone de datos, es posible que la falta de detección de anticuerpos motive una baja o nula protección frente al VPH<sup>30</sup>.

#### Aspectos singulares de la vacuna frente al virus del papiloma humano respecto a otras vacunas

Tradicionalmente, se ha considerado que las características de una vacuna ideal deberían ser las siguientes: *a)* originar una respuesta inmunitaria similar a la de la infección natural; *b)* tener baja reactividad local y general; *c)* conferir alto y duradero grado de protección; *d)* emplearse en dosis única; *e)* ser compatible con otras vacunaciones (de forma simultánea o combinada); *f)* ser aplicable por vía no invasora; *g)* ser posible su administración temprana (infancia); *h)* ser estable a temperatura ambiente, y *i)* ser de fácil producción y económicamente accesible<sup>32</sup>. Naturalmente, ninguna de las vacunas actualmente disponibles, tanto de empleo sistemático como no sistemático, reúne, a la vez,

todos estos requisitos. Ser capaz de deparar una respuesta inmunitaria similar a la de la infección natural, es decir, que la vacuna pudiera ser capaz de remediar la respuesta inmunitaria de la infección natural, fue un criterio no cuestionado, hasta ahora, en vacunología. Las vacunas desarrolladas hasta la fecha inducen, en general, menor protección que la que sigue a la infección natural (sarampión, hepatitis B, etc.)<sup>33</sup>. Esto es así incluso para las vacunas vivas (p. ej., triple vírica o varicela)<sup>34</sup>, tras las que hay una multiplicación activa y un incremento exponencial en el número de microorganismos inicialmente presentes en el preparado vacunal. Las vacunas frente al VPH son singulares en este sentido. Como ya ha sido expuesto, la infección natural es muy poco eficiente para dar una respuesta humoral y celular robusta y duradera<sup>30</sup>. Por el contrario, las vacunas recombinantes de VLP administradas por vía intramuscular inducen una respuesta inmunitaria, en términos de título de anticuerpos, al menos 50 veces mayor a la originada por la infección natural. Asimismo, la respuesta de los linfocitos T y B es más eficiente debido a una mayor activación de las células presentadoras del antígeno<sup>35,36</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda basarse en experiencias previas con otras vacunas a la hora de conseguir la universalización

de la vacunación contra el VPH<sup>37</sup>. Muy específicamente, ha señalado a la hepatitis B. Algunas analogías son su elevado precio inicial y la transmisión sexual del microorganismo. Veinte años de demora entre el uso de la vacuna en los países industrializados y su empleo, todavía muy limitado en cuanto a coberturas, en los países de baja renta no deberían reproducirse con las vacunas frente al VPH.

Clásicamente, las correlaciones de protección en términos de concentración de anticuerpos se producen en otras vacunas y es de esperar que se confirme en las vacunas de VLP frente al VPH<sup>38</sup>. Si tenemos en cuenta las peculiaridades de este virus y el hecho de que sea un patógeno que se replica y provoca lesión en el sitio de entrada, cabría pensar que para las nuevas vacunas frente al VPH el título de anticuerpos presente en el lugar de la infección en el momento que se produzca el contacto con el virus sería incluso más crítico. Estas peculiaridades quedan patentes a la hora de intentar realizar una comparación entre la vacuna del VPH y la de la hepatitis B.

Los mecanismos patogénicos y la historia natural de las infecciones por virus de la hepatitis B (VHB) y VPH tienen poco en común. Los primeros estudios con la vacuna de la hepatitis B asimilaron presencia de anticuerpos con protección temporal. Actualmente, hay amplio consenso en que las personas respondedoras imunocompetentes tienen protección de por vida<sup>39</sup>. Las personas reiteradamente expuestas a infección natural mantienen títulos de anticuerpos elevados y están protegidas<sup>42</sup>, pero también lo están los que no reciben estos *boosters* naturales y han perdido los anticuerpos<sup>41</sup>. En el caso del VHB, aunque los anticuerpos en sangre lleguen a hacerse indetectables, la viremia que supone una nueva exposición al virus provoca una rápida respuesta de las células de memoria capaz de evitar la progresión de la infección. La situación es muy diferente en el caso del VPH. La infección es estrictamente local, por lo que no se va a producir ninguna viremia capaz de alertar a las células de memoria de una manera suficientemente rápida y eficaz para hacer frente a una nueva infección. No sabemos el papel que la exposición natural al VPH puede desempeñar en la persistencia del título de anticuerpos, ni el papel preciso de éstos, en el mantenimiento de la protección. Aunque desconocemos el título mínimo garante de protección, parece razonable pensar que títu-

los elevados podrían asociarse a una protección más robusta y duradera<sup>30</sup>, ya que la «la respuesta de la memoria inmunitaria podría llegar tarde».

## IMPLICACIONES CLÍNICAS

### Eficacia en la prevención de lesiones premalignas y cáncer de cérvix

En los dos últimos años se han publicado resultados sobre eficacia de las vacunas frente al VPH (Gardasil®, que contiene VLP de los tipos 6, 11, 16 y 18, y Cervarix®, que contiene VLP de los tipos 16 y 18), lo que ha permitido su autorización y aplicación clínica.

Concretamente, las publicaciones más relevantes proceden de 2 estudios en fase II y III que evalúan variables de eficacia subrogada para cáncer de cérvix (protección frente a la infección persistente y el desarrollo de lesiones CIN-II+)<sup>42-46</sup>. La interpretación de los resultados debe tener en cuenta el tipo análisis realizado. El análisis de acuerdo con el protocolo o «*according-to-protocol*» (ATP) es el más restrictivo, ya que incluye sólo participantes ideales con cumplimiento de todas las exigencias del estudio. El análisis por intención de tratar o «*intention-to-treat*» (ITT) tiene en cuenta a todos los participantes del estudio y, por tanto, es más representativo de la población general; incluso evalúa a los sujetos que han recibido una única dosis de vacuna. El análisis por ITT modificada o «*modified intention-to-treat*» (MITT) tiene un grado de exigencia intermedio entre los dos anteriores, ya que excluye a algunos sujetos con determinadas violaciones del protocolo<sup>47</sup>.

Los 5 estudios muestran que la eficacia profiláctica frente a la infección persistente y las lesiones clínicas (premalignas) es mayor del 95% en los análisis ATP. La eficacia en el grupo MITT es menor (entre 90-100%) y entre, otros motivos, se explica por la menor protección de 1 dosis respecto de 3 dosis. El análisis ITT refleja una eficacia entre el 44 y 73% (en este grupo se incluye a sujetos con infección prevalente VPH 16/18 en el momento de la inclusión)<sup>47</sup>.

En conclusión, las vacunas frente al VPH han demostrado poseer una elevadísima eficacia preventiva, próxima al 100%, frente a la infección persis-

**290** tente, lesiones premalignas y cáncer de cérvix causados por los tipos de VPH incluidos. Sin embargo, esas vacunas carecen de eficacia terapéutica.

### **Duración de la protección y potencial necesidad de dosis de recuerdo**

Aunque el objetivo primordial de la vacunación frente al VPH son las niñas entre 10 y 14 años, no se han podido realizar, por motivos éticos obvios, ensayos clínicos de eficacia en este grupo etario. Esto obliga a realizar estudios de inmunogenicidad puente que permiten extrapolar los datos de eficacia obtenidos en mujeres jóvenes (15-25 años), si se demuestra no inferioridad al comparar la inmunogenicidad inducida por la vacuna entre ambos grupos etarios<sup>48,49</sup>.

La mayoría de los anticuerpos tienen una vida media variable, disminuyendo de forma progresiva al alcanzar su nivel máximo tras la primovacunación hasta desaparecer, precisando entonces una dosis de refuerzo. No obstante, la activación de las células B provoca la diferenciación a células productoras de gran cantidad de anticuerpos y, entre ellas, células de vida media prolongada que siguen sintetizándolos, manteniendo valores protectores elevados durante períodos muy prolongados. Igualmente se generan células B de memoria que, en caso de evanescencia de la inmunoprotección, responden rápida, intensa y eficazmente ante cualquier contacto posterior con este mismo antígeno, desencadenando todos los mecanismos de defensa aprendidos previamente, con síntesis y liberación de gran cantidad de Ig específicas. Sin embargo, las células de memoria no combaten la infección, sino que lo hacen las células efectoras (linfocitos T citotóxicos y cooperadores) y los anticuerpos. Por tanto, una incógnita sobre la eficacia protectora de la vacunación sería si las células de memoria inducidas tras ésta se diferencian en células efectoras lo suficientemente rápido como para detener la infección antes de que se desarrolle la enfermedad<sup>52</sup>. Al ser un virus que no produce viremia, la infección subsiguiente tras la vacunación no se sabe si será capaz de inducir una activación de esta memoria inmunitaria de una forma adecuada, tanto en términos de cantidad como de calidad.

La administración de una dosis adicional de vacuna tetravalente a los 5 años de la primovacuna-

cion ocasiona una respuesta tipo *booster*, con un drástico incremento en el título de anticuerpos<sup>51</sup>. Es la respuesta habitual que se consigue con antígenos T-dependientes administrados por vía intramuscular; sin embargo, no tiene por qué ser predictor de la respuesta que seguirá a la exposición natural al VPH en mujeres previamente vacunadas, aspecto todavía no resuelto.

El objetivo de la vacunación frente al VPH, efectuada en edades tempranas previo al establecimiento de la sexarquia, es inducir una inmunogenicidad protectora elevada, que se mantenga durante el período de riesgo, a ser posible toda la vida sexual activa de la mujer vacunada.

Ambas vacunas presentan una seroconversión del 100% un mes después de completar la pauta vacunal. En este momento, la respuesta es máxima frente a la vacunación, los títulos de anticuerpos neutralizantes tipo-específicos para VPH16 y VPH-18 son entre 100 y 200 veces mayores que los títulos inducidos tras la infección natural<sup>52</sup>. Sin embargo, en un seguimiento a más largo plazo se observaron algunas diferencias en el perfil inmuno-génico de estas vacunas, tanto en las tasas de seroconversión como en los títulos de anticuerpos respecto a la infección natural<sup>52</sup>. Para la vacuna bivalente, diferentes modelos matemáticos predicen títulos elevados de anticuerpos, tanto para VPH 16 como para VPH 18, por encima de la infección natural por lo menos durante 20 años, teniendo en cuenta la cinética de los anticuerpos y la memoria inmunológica<sup>53</sup>. En las niñas, en las que el grado de respuesta humoral posvacunación es mucho más alto, su duración posiblemente sea indefinida.

### **CONCLUSIONES**

El VPH es el agente infeccioso oncogénico más importante conocido en humanos, tanto por su implicación en múltiples neoplasias, como por la elevada prevalencia de la infección. Una de las principales peculiaridades de este virus es que evade e inhibe la respuesta inmunitaria innata del huésped. El hecho de que la infección natural induzca títulos muy bajos de anticuerpos impide asegurar la protección natural frente a nuevas infecciones, incluso, por los mismos tipos de VPH.

El diseño de una vacuna profiláctica frente a la infección por el VPH y lesiones asociadas supone un reto, ya que para proporcionar una protección a largo plazo estas vacunas deberán mejorar la protección conferida por la infección natural.

Una vacuna frente al VPH debe inducir una potente respuesta inmunitaria, con el fin de conseguir un título sistémico de anticuerpos plasmáticos suficientemente alto y mantenido para alcanzar un elevado valor de anticuerpos en el cérvix.

Hoy día, se desconoce si tras la caída o pérdida de anticuerpos a lo largo del tiempo en las mujeres vacunadas una infección natural posterior conseguirá activar la inmunidad de memoria de manera rápida y suficiente como para neutralizar la infección. Por ello, dado que el VPH se replica y causa patología en el lugar de entrada y no produce viremia,

la mejor garantía de protección a largo plazo tras la vacunación, es conseguir la presencia de anticuerpos neutralizantes de forma elevada y mantenida en el momento y lugar de la infección.

### Declaración de conflicto de intereses

José María Bayas ha investigado sobre vacunas de GlaxoSmithkline y Sanofi Pasteur MSD (vacuna de papiloma virus y otras vacunas).

Aureli Torné ha investigado sobre vacunas de GlaxoSmithkline y Sanofi Pasteur MSD (vacuna de papiloma virus).

José García-Sicilia ha investigado y participado en comités de expertos sobre vacunas de GlaxoSmithkline.

Alfonso Alba ha colaborado con GlaxoSmithkline y con Sanofi Pasteur formando parte, respectivamente, de su Advisor Europeo y su grupo de expertos.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55:244-65.
2. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. Human papillomaviruses. Lyon: IARC Press; 1995.
3. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Eng J Med.* 2006;98:303-15.
4. Castellsague X, Diaz M, De Sanjose S, Muñoz N, Rolando Herrero SF, Ashley R, et al. The worldwide Human Papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:303-15.
5. Muñoz N, Castellsagué X, De González AB, Gissmann L. HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:S1-10.
6. Ferlay F, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC. Cancer Base N.º 5. Version 2.0. Lyon: IARC Press; 2004-2005.
7. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 1:S1-15.
8. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet.* 2005;366:991-8.
9. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine.* 2006;31 Suppl 3:42-51.
10. Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology.* 2005;337:76-84.
11. Abbas AK, Lichtman AH. Inmunología celular y molecular 4.ª ed. Madrid: Elsevier; 2004. p. 3-16.
12. Zur Hausen H, De Villiers EM. Human papillomaviruses. *Annu Rev Microbiol.* 1994;48:427-47.
13. Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 1:S16-22.
14. Trottier H, Franco EL. Human papillomavirus and cervical cancer: burden of illness and basis for prevention. *Am J Manag Care.* 2006;12 17 Suppl:S462-72.
15. Viscidi RP, Schiffman M, Hildesheim A, Herrero R, Castle PE, et al. Seroreactivity to human papillomavirus (HPV) types 16, 18, or 31 and risk of subsequent HPV infection: results from a population-based study in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13:324-7.
16. Garçon N, Mechelen MV, Wettendorff M. Immunopotentiators in modern bacines. Londres: Elsevier Academic Press; 2006. p.161-78.

17. Janeway JR, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. *Immunología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad.* 2.<sup>a</sup> ed. Barcelona: Masson; 2003. p. 1-34.
18. Schwarz TF, Leo O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: improving upon nature. *Gynecol Oncol.* 2008;110 Suppl 1:S1-10.
19. Inglis S, Shaw A, Koenig S. HPV vaccines: commercial research & development. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:99-105.
20. Boland G, Beran J, Lievens M, Sasadeusz J, Dentico P, Nothdurft H, et al. Safety and immunogenicity profile of an experimental hepatitis B vaccine adjuvanted with AS04. *Vaccine.* 2004;23:316-20.
21. Ruiz W, McClements WL, Jansen KU, Esser MT. Kinetics and isotype profile of antibody responses in rhesus macaques induced following vaccination with HPV 6, 11, 16 and 18 L1-virus-like particles formulated with or without Merck aluminum adjuvant. *J Immune Based Ther Vaccines.* 2005;3:2.
22. Caulfield MJ, Shi L, Wang S, Wang B, Tobby TW, Mach H, et al. Effect of alternative aluminum adjuvants on the absorption and immunogenicity of HPV16 L1 VLPs in Mice. *Hum Vaccin.* 2007;3:139-46.
23. Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only. *Vaccine.* 2006;24:5937-49.
24. Christensen ND, Höpfl R, DiAngelo SL, Cladel NM, Patrick SD, Welsh PA, et al. Assembled baculovirus-expressed human papillomavirus type 11 L1 capsid protein virus-like particles are recognized by neutralizing monoclonal antibodies and induce high titres of neutralizing antibodies. *J Gen Virol.* 1994;75:2271-6.
25. Breitburd F, Kirnbauer R, Hubbert NL, Nonnenmacher B, Trin-Dinh-Desmarquet C, Orth G, et al. Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CR-PV) can protect against experimental CRPV infection. *J Virol.* 1995;69:3959-63.
26. Lowe RS, Brown DR, Bryan JT, Cook JC, George HA, Hofmann KJ, et al. Human papillomavirus type 11 (HPV-11) neutralizing antibodies in the serum and genital mucosal secretions of African green monkeys immunized with HPV-11 virus-like particles expressed in yeast. *J Infect Dis.* 1997;176:1141-5.
27. Suzich JA, Ghim SJ, Palmer-Hill FJ, White WI, Tamura JK, Bell JA, et al. Systemic immunization with papillomavirus L1 protein completely prevents the development of viral mucosal papillomas. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:11553-7.
28. Carter JJ, Koutsy LA, Hughes JP, Lee SK, Kuypers J, Kiviat N, et al. Comparison of human papillomavirus types 16, 18, and 6 capsid antibody responses following incident infection. *J Infect Dis.* 2000;181:1911-9.
29. Poncelet S, Cambron S, Giannini SL, et al. Vaccine Study Group for Adult Women. Induction of Cervical Mucosal HPV IgG in Women 15-55 Years Old Following Systemic Vaccination with Cervarix® the HPV-16/18 AS04 Vaccine Candidate [abstract PS19-25]. 24th International Papillomavirus Conference, 2007
30. Stanley M, Lowy DR, Frazer I. Prophylactic HPV vaccines: underlying mechanisms. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:106-13.
31. Schwarz TF, Leo O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: improving upon nature. *Gynecol Oncol.* 2008;110 Suppl 1:S1-10.
32. Ada GL. The immunological principles of vaccination. *Lancet.* 1990;335:523-6.
33. Siegrist CA. vaccine immunology. En: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, editors. *Vaccines.* 5th ed. Philadelphia: Saunders Company; 2008. p. 17-36.
34. Ndumbe PM, Cradock-Watson J, Levinsky RJ. Natural and artificial immunity to varicella zoster virus. *J Med Virol.* 1988;25:171-8.
35. Koutsy LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB, et al; Proof of Principle Study Investigators. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med.* 2002;347:1645-51.
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. Organización Mundial de la Salud. Preparación de la introducción de las vacunas contra el virus del papiloma humano. Orientaciones normativas y programáticas para los países. [Accedido 12 Oct 2008.] Disponible en: <http://www.who.int/reproductive-health/publications/es/hpvvaccines/text.pdf>
38. Stanley M. VPH, un especialista en evadir las defensas del huésped. *VPH Today.* 2007;1:1-4.
39. European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet.* 2000;355:561-5.
40. Liao SS, Li RC, Li H, Yang JY, Zeng XJ, Gong J, et al. Long-term efficacy of plasma-derived hepatitis B vaccine: a 15-year follow-up study among Chinese children. *Vaccine.* 1999;17:2661-6.
41. West DJ, Watson B, Lichtman J, Hesley TM, Hedberg K. Persistence of immunologic memory for twelve years in children given hepatitis B vaccine in infancy. *Pediatr Infect Dis J.* 1994;13:745-7.
42. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM, et al. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet.* 2006;367:1247-55.
43. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen OE, et al. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent

- valent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up. *Br J Cancer*. 2006;95:1459-66.
44. Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Harper DM, Leodolter S, et al. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *N Engl J Med*. 2007;356:1928-43.
45. The FUTURE II Study Group. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med*. 2007;356:1915-27.
46. Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX, Naud P, Salmeron J, Wheeler CM, et al. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;369:2161-70.
47. Schiller JT, Castellsagué X, Villa LL, HildesheiM A. An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. *Vaccine*. 2008;26:K53-61.
48. Block SL, Nolan T, Sattler C, Barr E, Giacoletti KE, Marchant CD, et al. Comparison of the immunogenicity and reactogenicity of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in male
- and female adolescents and young adult women. *Pediatrics*. 2006;118:2135-45.
49. Pedersen C, Petaja T, Strauss G, Rumke HC, Poder A, Richardson JH, et al. Immunization of early adolescent females with human papillomavirus type 16 and 18 L1 virus-like particle vaccine containing AS04 adjuvant. *J Adolesc Health*. 2007;40:564-71.
50. Campos M, Godson DL. The effectiveness and limitations of immune memory: understanding protective immune responses. *Int J Parasitol*. 2003;33:655-61.
51. Olsson SE, Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Malm C, et al. Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. *Vaccine*. 2007;25:4931-9.
52. Harper DM. Prophylactic human papillomavirus vaccines to prevent cervical cancer: review of the Phase II and III trials. *Therapy*. 2008;5:313-24.
53. David MP, Van Herck K, Hardt K, Tibaldi F, Dubin G, Descamps D, et al. Long-term persistence of anti-HPV-16 and -18 antibodies induced by vaccination with the AS04-adjuvanted cervical cancer vaccine: modelling of sustained antibody responses. *Gynecol Oncol*. 2009 feb 11. [Epub ahead of print].