

VIN de tipo usual, del pasado al futuro

Mario Preti^{1#*}, Sarah Igidbashian¹, Silvano Costa^{2*}, Paolo Cristoforoni^{3*}, Luciano Mariani^{4*}, Massimo Origoni^{5*}, Maria T Sandri^{6*}, Sara Boveri¹, Noemi Spolti¹, Laura Spinaci¹, Francesca Sanvito¹, Eleonora P Preti¹, Adriana Falasca¹, Gianluigi Radici¹, Leonardo Micheletti⁷.

¹ Unidad de Prevención Ginecológica, Instituto Europeo de Oncología, Milán;

² M.F. Hospital Toniolo – Bologna;

³ Villa Montallegro, Génova, Italia

⁴ VPH-Unidad de Oncología Ginecológica, Instituto Nacional del Cáncer Regina Elena de Roma;

⁵ Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina Universidad Vita Salute San Raffaele, Milán;

⁶ División de Laboratorio Médico, Instituto Europeo de Oncología - Milán,

⁷ Departamento de Obstetricia y Ginecología, Universidad de Turín, Turín;

*El grupo italiano de VPH (IHSG)

#Autor para la correspondencia: Mario Preti, e-mail: mario.preti@ieo.it

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés

Agradecimiento

Dedicado a Mario Sideri. Volaba alto camino a la prevención. Su ejemplo, sus ideas y su entusiasmo iluminarán nuestro sendero.

Resumen

La VIN tipo usual (uVIN) es el tipo de VIN más común, que se asocia por lo general con la infección por el virus del papiloma humano (VPH), predominantemente por el tipo 16. La incidencia de la uVIN ha crecido en las últimas décadas observándose un pico bimodal a los 40-44 y por encima de los 55 años.

Casi el 40% de las pacientes con uVIN han tenido, tienen o tendrán en el futuro una lesión asociada a VPH en el tracto genital inferior. Las malignidades relacionadas con el VPH derivan de una infección persistente por VPH. La respuesta inmune del huésped es de vital importancia a la hora de determinar la ausencia o persistencia tanto de las infecciones por VPH como de las VIN asociadas a VPH. Aproximadamente el 60% de las pacientes presenta síntomas. Los rasgos clínicos de la uVIN varían en ubicación, cantidad, tamaño, forma, color y espesor de las lesiones. A menudo se presenta como enfermedad multicéntrica.

La mayoría de las lesiones de la uVIN son inmunohistoquímicamente positivas para p16^{ink4a} y p14^a, pero negativas para p53.

Sin importar el tratamiento quirúrgico utilizado para la uVIN, las tasas de recurrencia son altas. Los márgenes positivos no predicen el desarrollo de enfermedad invasiva y la necesidad de re-extirpar el tejido alrededor de la cicatriz no se ha demostrado aún. Por lo tanto, teniendo en cuenta la tasa baja de progresión de la uVIN y las secuelas psicosexuales, los tratamientos deberían ser lo más conservadores posibles.

Los tratamientos médicos disponibles se basan principalmente en la inmunoterapia para inducir la normalización del recuento de células inmunes en la uVIN. Ninguno ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de la uVIN. Si se realiza tratamiento médico, se requiere de biopsias adecuadas para disminuir el riesgo de enfermedad invasiva no reconocida. Algunos estudios sugieren que la falta de respuesta a la inmunoterapia podría estar relacionada con un microentorno local inmunosupresor, pero el conocimiento sobre el microentorno de la uVIN es limitado. Es más, nuestro conocimiento de los mecanismos potenciales involucrados en la evasión de lesiones inducidas por VPH del sistema inmunitario tiene muchos vacíos.

Las vacunas para el VPH han demostrado ser efectivas en la prevención de la uVIN, con un 94.9% de eficacia en la población sin exposición previa al VPH, mientras que los estudios sobre vacunas terapéuticas son limitados. La baja incidencia de la VIN requiere de mayores estudios multicéntricos para determinar la mejor manera para tratar a las pacientes afectadas

y para investigar las características inmunológicas del “microentorno vulvar” que lleva a la persistencia del VPH.

Palabras clave

VIN, neoplasia intraepitelial vulvar, infección por VPH

Clasificación

La definición de neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) se refiere a una proliferación de células basales atípicas en el epitelio vulvar. La sigla VIN fue introducida a comienzos de los años 80 para definir en un solo término las lesiones displásicas y el carcinoma in situ de vulva. Hasta entonces, estas lesiones se identificaban con distintos términos como eritroplasia de Queyrat, enfermedad de Bowen, y distrofia hiperplásica con atipia. La clasificación de la VIN fue adoptada en el año 1986 por la Sociedad Internacional para el Estudio de la Enfermedad Vulvar (ISSVD) incluyendo la neoplasia intraepitelial del epitelio escamoso (dividida en tres grados basados en el espesor del epitelio afectado por atipia celular) y VIN no escamosa (enfermedad de Paget y melanoma vulvar in situ) [1].

La clasificación de la VIN por parte de la ISSVD del año 1986 ha sido criticada. El primer punto de la crítica fue la inclusión en la clasificación de la enfermedad de Paget y el melanoma vulvar in situ (neoplasia intraepitelial no escamosa) que tienen epidemiología, factores de riesgo, y evolución natural diferente de la VIN escamosa.

Otras críticas dicen que:

- La clasificación de la VIN era similar a la clasificación de la neoplasia intraepitelial cervical (NIC) a pesar de que la VIN se origina en un epitelio escamoso maduro de piel o mucosa y la NIC de un epitelio de transición.
- La evidencia clínica de que la VIN1 no representa una lesión precancerosa, sino solo un signo de una infección por VPH, una alteración regresiva o una enfermedad inflamatoria.
- Los estudios de reproductibilidad en el diagnóstico histopatológico de la VIN que demostraron una muy baja reproductibilidad de la VIN1 y la diferencia entre VIN asociada a VPH y la VIN no asociada a VPH

Por lo tanto, en el año 2004 la ISSVD introdujo una nueva clasificación para la VIN basándose en criterios morfológicos y patogénicos [2].

En esta nueva clasificación se suprimió la categoría diagnóstica de VIN 1 y los cambios histológicos anteriormente incluidos bajo el término VIN 1 son descritos como condiloma y/o efectos del VPH. El término VIN se ha reservado solo para las lesiones anteriormente clasificadas como VIN 2 y 3 y la VIN diferenciada.

Se introdujeron tres términos diagnósticos para clasificar los tipos específicos de patogenicidad de la VIN:

- VIN del tipo usual (uVIN);
- VIN del tipo diferenciada (dVIN);
- VIN del tipo no clasificada (VIN NOS)

El tipo usual de VIN (bowenoide, basaloide y mixta) es el tipo más común de VIN y por lo general está asociada a la infección por virus del papiloma humano (HPV)16 [3]. Ocurre predominantemente en mujeres más jóvenes y tiende a ser multifocal.

La VIN diferenciada es la menos común (2 a 10% de todas las VIN reportadas) y por lo general no se asocia a VPH. En su mayoría es unifocal y por lo general se encuentra en mujeres mayores con dermatosis crónicas asociadas como el liquen escleroso.

Epidemiología

La incidencia a nivel mundial de la uVIN en mujeres jóvenes ha crecido en décadas recientes [4-8]. De 1992 a 2005 la incidencia de la uVIN se ha casi duplicado de 1,2/100000 a 2,1/100000, mientras que la incidencia del cáncer invasivo de vulva ha permanecido estable. El creciente concientización sobre las lesiones premalignas de vulva puede haber llevado al incremento observado en la incidencia de VIN, pero también puede resultar en la extirpación de la uVIN antes de que la misma se convierta en invasiva. Se observó una incidencia de pico bimodal de la uVIN a los 40-44 y por encima de los 55 años [5,7,8]. El 41% de las pacientes con uVIN muestran una lesión asociada a VPH en el tracto genital inferior ya sea previa, concomitante o futura [8], con las pacientes más jóvenes en mayor riesgo de tener lesiones multifocales. Van de Nieuwenhof et al demostraron que el riesgo de un diagnóstico subsecuente de carcinoma de células escamosas vulvar (CCE) aumentaba significativamente con la edad del diagnóstico de la uVIN, comenzando con 2,7% para el grupo de edad 15-29 y aumentando a 8,5% para el grupo de edad de >75 años. Asimismo, demostraron que el período de tiempo entre el diagnóstico de uVIN y el de CEE se acortaba significativamente a medida que aumentaba la edad; 50 meses para el grupo de edad de 15-29 y 25 meses para el grupo de edad de >75 [8].

Patogénesis

Un análisis reciente de más de 2000 lesiones intraepiteliales e invasivas de vulva llevado a cabo por el grupo de estudio HPV VVAP detectó ADN del VPH en 86,7% de los casos de VIN [9]. La baja proporción de lesiones VPH negativas se correlaciona con la baja proporción de dVIN en comparación con la uVIN. El genotipo más común que se detectó en la uVIN fue el

VPH 16 (77,3%), seguido de VPH 33 (10,6%) y VPH 18 (2,5%). En contraste con la alta proporción de VIN VPH positivas, solo el 28,6% del cáncer invasivo de vulva fueron ADN-VPH positivos [9]. Se conoce bien que el cáncer invasivo de vulva no asociado a VPH es más frecuente que el asociado a VPH. Estos carcinomas se encuentran normalmente en pacientes afectados con liquen escleroso o liquen plano y derivan de una dVIN.

El potencial de malignidad de la uVIN es difícil de evaluar ya que normalmente se extirpa quirúrgicamente para prevenir la enfermedad invasiva. Un análisis de 3322 casos de VIN tratadas y no tratadas mostró una progresión a cáncer invasivo de vulva en 9% de los casos no tratados dentro de los 1-8 años, mientras que en el caso de las uVIN tratadas, el potencial de malignidad era de 3,3% [10]. El riesgo futuro de cáncer invasivo de vulva se considera de alrededor de 3-4% [10-13].

De manera similar a la neoplasia intraepitelial, en el cáncer invasivo de vulva el VPH más comúnmente detectado es el VPH 16 (72,5%), seguido de VPH 33 (6,5%) y VPH 18 (4,6%). A pesar de que el VPH 45 casi no está presente en la VIN, fue el cuarto VPH (3,3%) en el cáncer invasivo de vulva mostrando una contribución probablemente distinta de este genotipo VPH a la invasión de vulva asociada a VPH [9].

Las malignidades asociadas al VPH derivan de una infección persistente por VPH. En el 90% de los casos el sistema inmune es capaz de disipar la infección temporal por VPH dentro de los 2 años [14]. La respuesta inmune del huésped es de vital importancia a la hora de determinar la ausencia o persistencia tanto de las infecciones por VPH como de las VIN asociadas a VPH [14-19]. Esto se puede ver claramente en los paciente inmunocomprometidos donde el potencial de malignidad de la uVIN es 50 veces más alto que en la población general [20]. El fracaso del sistema inmune en la producción de una respuesta efectiva al VPH de alto riesgo se relaciona tanto con la persistencia viral como con varios factores del huésped [21]. El VPH produce distintas proteínas entre las cuales se encuentran las oncoproteínas E6 y E7. Mientras más persiste la infección, más interfieren las E6 y E7 con los mecanismos de control importantes del ciclo celular [22-26]. La E6 del VPH puede llevar a la disfunción del gen supresor del tumor p53 [27]; mientras que la E7 puede inactivar el gen supresor del tumor de retinoblastoma (pRb), que lleva a la sobreexpresión de p16^{ink4a} y p14^{arf} e hiperproliferación de células infectadas [24,28]. La mayoría de las lesiones de la uVIN son inmunohistoquímicamente positivas para p16^{ink4a} y p14^a, pero negativas para p53 [24-26,29,30]. El conocimiento sobre el rol de estos antígenos específicos de tumores

definidos, E6 y E7, representa una base excelente para el desarrollo de estrategias cuyo objetivo es el de reforzar la respuesta inmune para prevenir los cánceres asociados a VPH.

Rasgos clínicos y diagnóstico

No existen disponibles pruebas de detección para el diagnóstico de VIN: La uVIN se diagnostica mediante evaluación visual de la vulva. Para confirmar el diagnóstico debe realizarse una biopsia con anestesia local de las lesiones sospechosas. La mejor biopsia es la biopsia por punción o pequeña incisión tomada del borde de la lesión con la inclusión de una parte del tejido normal que la rodea [31].

Las uVIN pueden ser asintomáticas, y diagnosticadas durante consultas ginecológicas de rutina en pacientes con exámenes de Papanicolaou anormales o test cervical del VPH positivo, o sintomáticas en un 60% de las pacientes [10,32].

Los rasgos clínicos de la uVIN varían en su ubicación en cualquier parte de la vulva, cantidad, tamaño, forma, color y espesor de las lesiones. Las uVIN por lo general son multifocales, y se ubican alrededor del introito, a menudo involucrando los labios menores, y son elevadas. Las lesiones están bien definidas, pero el borde puede ser irregular y serpiginoso [33] (Figuras 1-5).

La enfermedad multicéntrica (lesiones en el cuello del útero, vagina o ano) a menudo están presentes en los casos con uVIN, resaltando el "efecto de campo VPH" que involucra el epitelio escamoso desde el cuello uterino hasta la zona perianal y la necesidad de una examinación correcta en las pacientes afectadas con uVIN. Por lo tanto resulta obligatorio realizar un examen físico exhaustivo de la vulva, el perineo, las regiones perianales y que también incluya el cuello uterino y la vagina.

Tratamiento

El abordaje ideal para las uVIN es asegurarse de la ausencia de invasión en el estroma, mejorar los síntomas subjetivos y reducir el riesgo de reincidencia. Desafortunadamente en la actualidad, la extirpación quirúrgica de la lesión representa, para la mayoría de los casos, la técnica estándar para las uVIN [33].

De hecho el aspecto clínico ayuda a distinguir la uVIN con invasión del estroma de aquellas sin invasión y en el 12 a 17% de las mujeres con escisión de VIN una invasión clínicamente no reconocible es diagnosticada histológicamente [11,38-40]. En el pasado, se realizaban cirugías extensas para lograr este objetivo, lo que en muchos casos llevaba a la disrupción

tanto de la anatomía como de la función vulvar. Ahora se usa un tipo de cirugía más limitada para alterar la morfología lo menos posible y para preservar la función de la vulva. Sin importar el tratamiento quirúrgico utilizado las tasas de recurrencia son altas [10,11,34]. Si consideramos la tasa baja de progresión de la uVIN y la edad de las jóvenes mujeres afectadas, los tratamientos deberían ser lo más conservadores posibles con efectos mínimos sobre el ámbito psicosexual y la calidad de vida de estas mujeres.

Tratamiento quirúrgico

La escisión local para extirpar todas las lesiones visibles puede realizarse con distintas técnicas: bisturí, electrocirugía, o láser. Todas las técnicas parecen tener una eficacia similar. Todavía se considera la cirugía como el tratamiento de elección, pero los cirujanos deberían ser lo más conservadores posibles para reducir los cambios en la calidad de vida de las pacientes tratadas [33]. La óptima reconstrucción estética y funcional perineo-vulvar se considera ahora como una parte integral del tratamiento de estas lesiones. La tasa de recurrencia luego de la escisión varía entre el 20 y el 40% [12]. La presencia de enfermedad multifocal se asocia con una incidencia de recurrencia más elevada [33, 34].

No existen estudios definitivos que evalúan los márgenes de seguridad de las resecciones de VIN pero informes recientes han demostrado que los márgenes positivos no predicen el desarrollo de enfermedad invasiva [35]. En otras palabras, cuando la muestra patológica describe que los márgenes están involucrados y que no se nota invasión del estroma, en la mayoría de los casos es suficiente para seguir al paciente sin la re-escisión del tejido alrededor de la cicatriz. Los estudios en curso sobre terapia adyuvante con Imiquimod en estos casos se reportan en el siguiente párrafo.

La escisión por láser de CO₂ produce un buen resultado cosmético y funcional cuando la realiza alguien con experiencia, y provee una muestra quirúrgica para su examen histológico que no está presente en el caso de la vaporización con láser de CO₂. Por lo tanto, cuando se planifica una vaporización con láser de CO₂, deberían realizarse múltiples biopsias para descartar invasión. La supervivencia sin recurrencia es menor en el caso de la vaporización con láser, probablemente porque esta técnica es más frecuentemente utilizada en lesiones multifocales y multicéntricas. [11,12,36,37].

Tratamiento médico

Muchos tratamientos médicos han sido introducidos para evitar o limitar la cirugía en pacientes con uVIN. La mayoría de los tratamientos no tienen suficiente evidencia debido a la escasa cantidad de sujetos estudiados, los diferentes criterios de inclusión, los grupos de

comparación o seguimiento utilizados en los estudios [28]. Por lo tanto no hay medicamentos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos para el tratamiento de la uVIN.

Lo que es más, si consideramos la gran cantidad de casos de invasión clínicamente no reconocidos que se encuentran en el examen histológico de las escisiones VIN, si no se lleva a cabo el tratamiento quirúrgico, se requiere de biopsias adecuadas para reducir el riesgo de enfermedad invasiva no reconocida.

Los tratamientos médicos disponibles se basan principalmente en inmunoterapia. Las diferentes formas de inmunoterapia que se han desarrollado y evaluado para el tratamiento de la uVIN tienen como objetivo sobrellevar la "inercia" del sistema inmune en estas pacientes.

Imiquimod

Imiquimod, 1-(2-metilpropilo)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (también conocido como R-837 y S-26308), es una amina heterocíclica no nucleósido que pertenece a los modificadores de la respuesta inmune [41]. Los estudios in vivo han demostrado que el imiquimod es un inductor potente del interferon (INF) α , el factor de necrosis tumoral α , y la interleuquina-6 [42-44]. En modelos animales, el imiquimod ha demostrado poderosos efectos antivirales y antitumorales [41].

El imiquimod 5% está aprobado para el tratamiento de verrugas genitales externas, queratosis actínica y el carcinoma de células basales. El imiquimod 5% actúa como un receptor tipo peaje (TLR7) induciendo la activación de células T y la liberación de citoquinas proinflamatorias [45, 46]. Se aplica una delgada capa de imiquimod crema 5% sobre la lesión dos o tres veces a la semana por un período de 12 a 16 semanas. Los efectos secundarios son principalmente reacciones inflamatorias locales, picazón, quemazón, y síntomas como los de la gripe. En el caso de efectos secundarios severos, la aplicación puede reducirse a una vez por semana o discontinuarse por una semana.

El estudio prospectivo, aleatorio, doble-ciego, controlado por placebo más importante analizó 52 casos, de los cuales el 35% tuvo respuesta completa y 46% respuesta parcial [47]. Este estudio mostró una eficacia a largo plazo del imiquimod, ya que la VIN tuvo recidiva en un solo caso de la totalidad de las personas estudiadas [48]. Un meta-análisis reciente que evaluó a 104 pacientes confirma la efectividad del tratamiento [49].

La remisión del VPH por imiquimod se asocia con la normalización del recuento de células inmunes en la uVIN [48]. Muchas condiciones pre-existentes distintas pueden determinar el

fracaso en la capacidad de respuesta de las pacientes a la inmunoterapia: tamaño de la lesión, falta de infiltración inmunitaria, respuesta de células T específica para VPH CD4+ o CD8+, defectos en la expresión del HLA clase I, respuesta asociada al IFN γ , genes de vía de presentación del antígeno, genes involucrados en la migración de células T y en la producción de quimio o citoquinas [21].

También se ha evaluado el Imiquimod 5% luego de la cirugía en comparación con solo cirugía. Los resultados en 80 pacientes demostraron que durante 5 años de seguimiento, la respuesta completa general, la tasa de recurrencia y el período libre de enfermedad eran similares en las dos opciones de tratamiento [50].

Vacunas terapéuticas

Las vacunas terapéuticas han sido diseñadas para reforzar la respuesta de las células T CD4+ y CD8+ específicas para VPH en lesiones uVIN [51]. La mayoría de las vacunas provocan una respuesta inmune específica contra las proteínas E6 y E7 del VPH [52].

Dos estudios investigaron la efectividad de una combinación de VPH-TA, un virus vacuna que codifica E6/E7 de VPH16/18, y NIC-TA, una proteína de fusión E6/E7 de VPH 16 L2, en un total de 39 mujeres con VIN de alto grado por VPH 16. Se observó reducción en el tamaño de la lesión en 9 pacientes, mientras que 25 permanecieron estables y 5 progresaron. El régimen demostró ser inmunogénico pero no se observó una relación entre la inducción de la inmunidad específica para VPH 16 y el resultado clínico [53,54].

Kenter et al evaluaron una vacuna de péptido sintético largo en 20 pacientes con VIN de alto grado VPH 16 positivas. A los 12 meses de seguimiento 15 de las pacientes mostraron respuesta clínica, con respuesta completa en 9 casos. La respuesta completa se mantuvo a los 24 meses de seguimiento. En este ensayo las respuestas de células T inducidas por vacuna se observaron en todas las pacientes y aquellas que respondieron por completo tenían una respuesta significativamente más marcada de las células T proliferativas CD4+ asociadas a IFN γ y una respuesta amplia de las células T CD8+ IFN γ [55].

Ensayos de menor escala mostraron resultados con vacunas terapéuticas, sin embargo los costos para el desarrollo de las vacunas son elevados y en este momento el enfoque es en vacunas preventivas más que en tratamientos.

Terapia fotodinámica (TF)

La TF utiliza un fotosensor localizador de tumores, el ácido 5-aminolevulínico, en combinación con una luz sin calor para generar la muerte dirigida de las células tumorales e inducir inflamación local, que activa las células presentadoras de antígenos e induce las células T efectoras. Se condujeron varios estudios no-aleatorios y no controlados en uVIN con tasas de respuesta que variaban de 0 a 71% con mejor respuesta de las lesiones unifocales comparadas con las lesiones multifocales, pigmentadas y lesiones de alto grado [50-60]. La tasa de recurrencia (alrededor del 48%) era similar a la vaporización con láser y la cirugía [12]. La información sobre TF se limita a una pequeña serie de casos con tasas de respuesta variable. La tolerancia de las pacientes a los efectos secundarios como dolor podría limitar su uso y los costos son elevados.

Microentornos inmunológicos conocidos y desconocidos

Se sabe desde hace tiempo que la respuesta inmune adaptativa, en especial las células T, ofrecen protección contra las enfermedades inducidas por VPH [61,62]. En general, las enfermedades inducidas por VPH se asocian con una falta de células T CD4+ y CD8+ con especificidad alta para VPH [63]. Los tratamientos médicos disponibles para uVIN están todos asociados con un incremento en las células T CD4+ y CD8+ dentro de la lesión. Desafortunadamente las técnicas inmunoterapéuticas disponibles a menudo no producen respuestas clínicas. Algunos estudios sugieren que la falta de respuesta a la inmunoterapia puede estar relacionada con un microentorno local inmunosupresor, pero el conocimiento sobre el microentorno de la uVIN es limitado [19,46,48,64-66]. Es más, el conocimiento de los mecanismos potenciales involucrados en la evasión de lesiones inducidas por VPH del sistema inmunitario tiene muchos vacíos.

Winters et al encontraron que las personas que no responden inicialmente al imiquimod parecen ser relativamente resistentes, probablemente debido a su entorno local inmune desfavorable, en particular, el aumento en la proporción de células T reguladoras (Tregs). [65]. Es más, los pacientes con lesiones que no responden a las vacunas terapéuticas mostraron una respuesta reducida a las vacunas sistémicas pero también un aumento en la cantidad de lesiones asociadas con Tregs inmunosupresoras [55,66,67]. La imposibilidad de curar ciertas lesiones premalignas asociadas a VPH y lesiones malignas parece ser el resultado de un equilibrio desfavorable entre las células T y las Tregs. Es posible que el éxito de las inmunoterapias tenga que dirigirse al cambio de este equilibrio [68].

La regresión espontánea y desaparición del VPH se asocia con respuestas de células T CD4+ y CD8+ específicas para VPH y la normalización de la infiltración de células inmunes [62, 68]. El microentorno de la uVIN se caracteriza por actividad inmunitaria dermal, con un afloramiento de células dendríticas maduras (CDm), células asesinas naturales (NK) y tanto células T CD4+ como CD8+, mientras que la epidermis muestra una disminución en la cantidad de células T CD8+ y un aumento en CDm inmaduras y células de Langerhans [19,48,56].

Además van Esch et al demostraron una alteración en moléculas de antígeno leucocitario humano (HLA) no solo en cánceres inducidos por VPH sino incluso en su etapa de pre-malignidad. Detectaron una regulación descendiente parcial de la HLA clase I en más de 70% de las lesiones uVIN y en 80% del cáncer invasivo de vulva asociado a VPH. Sin embargo, la regulación descendiente de la expresión de la HLA clase I en la mayoría de las uVIN no se asoció con pérdida de la heterocigosidad (LOH) a diferencia de los hallazgos en el cáncer invasivo de vulva. Esta regulación descendiente en la uVIN se considera "programada" ya que la expresión puede recuperarse mediante la aplicación de algunos cambios al microentorno, como estimulación con IFN γ . Todas las pacientes con uVIN evaluadas que mostraron una buena respuesta clínica a la vacuna de péptido sintético largo de VPH 16 tuvieron esta regulación descendiente parcial en la uVIN. De hecho, las células T auxiliares específicas para VPH 16 inducidas por la vacuna que infiltran la lesión pueden proveer IFN γ en el microentorno [69].

La inmunoterapia puede fortalecer la activación pre-existente del sistema inmunitario local y es más probable que las lesiones primarias inmunológicamente activas respondan a la inmunoterapia, teniendo una menor cantidad de subcategorías de células T reguladoras. Por lo tanto las lesiones uVIN menos activas inmunológicamente, las lesiones recurrentes y el cáncer invasivo de vulva pueden representar desafíos más duros para las inmunoterapias [51].

Un mejor entendimiento del entorno inmunológico que pudiese encontrarse en la uVIN podría ayudar a entender mejor las condiciones que favorecen la persistencia de VPH y el desarrollo de uVIN y su potencial de transformación oncogénica en cáncer invasivo de vulva. También podría ser útil el definir marcadores inmunológicos que puedan prevenir la capacidad de respuesta a la inmunoterapia.

Prevención

Las vacunas profilácticas contra VPH han demostrado ser efectivas en la prevención de la uVIN. La eficacia de la vacuna contra la VIN asociada a VPH 16 y/o VPH 18 es mayor en la población sin exposición previa al VPH, con un 94,9% de eficacia [70]. A pesar de que la prevención del cáncer invasivo de vulva no se ha demostrado, la prevención de uVIN premaligna puede anticipar una reducción de las tasas de cáncer invasivo de vulva asociado a VPH [71].

Las vacunas contra VPH también han demostrado una eficacia parcial de protección cruzada contra los tipos de VPH sin vacunas, como VPH 31, 33 y también VPH 45 [72-75]. Esto podría llevar a una eficacia incluso mayor en la disminución de la incidencia de la uVIN y posiblemente el cáncer invasivo de vulva.

Además, estudios sobre vacunaciones previas contra VPH en mujeres tratadas por enfermedades del cuello uterino, vulva o vagina asociadas al VPH mostraron una reducción subsecuente de neoplasia intraepitelial vulvar, cervical y vaginal y verrugas genitales [76].

Un factor de riesgo establecido para el cáncer de vulva es el fumar. Por lo tanto debería disuadirse a las pacientes a que no fumen [77].

Conclusión

La VIN es observada por una gran variedad de especialistas médicos que deberían estar conscientes de la importancia vital de un examen físico exhaustivo de la vulva, el potencial de malignidad de la lesión y las posibilidades del tratamiento conservador dependiendo de la ubicación, tamaño, focalización de la VIN, enfermedades asociadas, edad y condiciones psicológicas de la paciente. El seguimiento a largo plazo de todas las mujeres tratadas es fundamental ya que la extirpación de la lesión no representa una prevención total del cáncer invasivo.

La baja incidencia de la VIN requiere de mayores estudios multicéntricos para determinar la mejor manera de tratar a las pacientes afectadas y para investigar las características inmunológicas del “microentorno vulvar” que lleva a la persistencia del VPH.

Referencias

1. Report of the ISSVD Terminology Committee: VIN. *J Reprod Med* 1986;31:973-4.
2. Sideri M, Jones RW, Wilkinson EJ, Preti M, Heller DS, Scurry J, Haefner H, Neill S. Squamous vulvar intraepithelial neoplasia: 2004 modified terminology, ISSVD Vulvar Oncology Subcommittee. *J Reprod Med* 2005;50:807-10.
3. De Vuijst H, Clifford GM, Nascimento MC, et al. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a metaanalysis. *Int J Cancer* 2009;124:1626-36.
4. Jones RW, Baranyai J, Stables S. Trends in squamous cell carcinoma of the vulva: the influence of vulvar intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 1997;90:448-452.
5. Joura EA, Losch A, Haider-Angeler MG, Breitenecker G, Leodolter S. Trends in vulvar neoplasia. Increasing incidence of vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the vulva in young women. *J Reprod Med* 2000;45:613-615.
6. Judson PL, Habermann EB, Baxter NN, Durham SB, Virnig BA. Trends in the incidence of invasive and in situ vulvar carcinoma. *Obstet Gynecol* 2006;107:1018-22.
7. Baandrup L, Varbo A, Munk C, Johansen C, Frisch M, Kjaer SK. In situ and invasive squamous cell carcinoma of the vulva in Denmark 1978-2007-a nationwide population-based study. *Gynecol Oncol* 2011;122:45-49.
8. van de Nieuwenhof HP, Massuger LF, van der Avoort IA, Bekkers RL, Casparie M, Abma W, van Kempen LC, de Hullu JA. Vulvar squamous cell carcinoma development after diagnosis of VIN increases with age. *Eur J Cancer* 2009;45:851-6.
9. de Sanjosé S, Alemany L, Ordi J, Tous S, Alejo M, Bigby SM, Joura EA, Maldonado P, Laco J, Bravo IG, Vidal A, Guimerà N, Cross P, Wain GV, Petry KU, Mariani L, Bergeron C, Mandys V, Sica AR, Félix A, Usubutun A, Seoud M, Hernández-Suárez G, Nowakowski AM, Wilson G, Dalstein V, Hampl M, Kasamatsu ES, Lombardi LE, Tinoco L, Alvarado-Cabrero I, Perrotta M, Bhatla N, Agorastos T, Lynch CF, Goodman MT, Shin HR, Viarheichyk H, Jach R, Cruz MO, Velasco J, Molina C, Bornstein J, Ferrera A, Domingo EJ, Chou CY, Banjo AF, Castellsagué X, Pawlita M, Lloveras B, Quint WG, Muñoz N, Bosch FX; HPV VVAP study group. Worldwide human papillomavirus genotype attribution in over 2000 cases of intraepithelial and invasive lesions of the vulva. *Eur J Cancer* 2013;49:528-35.
10. van Seters M, van Beurden M, de Craen AJ. Is the assumed natural history of vulvar intraepithelial neoplasia III based on enough evidence? A systematic review of 3322 published patients. *Gynecol Oncol* 2005;97:645-51.

11. Jones RW, Rowan DM, Stewart AW. Vulvar intraepithelial neoplasia: aspects of the natural history and outcome in 405 women. *Obstet Gynecol* 2005;106:1319–26.
12. Hillemanns P, Wang X, Staehle S, Michels W, Dannecker C. Evaluation of different treatment modalities for vulvar intraepithelial neoplasia (VIN): CO(2) laser vaporization, photodynamic therapy, excision and vulvectomy. *Gynecol Oncol* 2006;100:271-5.
13. van de Nieuwenhof HP, van der Avoort IA, de Hullu JA. Review of squamous premalignant vulvar lesions. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;68(2):131-56.
14. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338:423-8.
15. Bourgault Villada I, Moyal Barracco M, Ziol M, Chaboissier A, Barget N, Berville S, Paniel B, Jullian E, Clerici T, Maillère B, Guillet JG. Spontaneous regression of grade 3 vulvar intraepithelial neoplasia associated with human papillomavirus-16-specific CD4(+) and CD8(+) T-cell responses. *Cancer Res* 2004;64:8761-6.
16. Gul N, Ganesan R, Luesley DM. Characterizing T-cell response in low-grade and high-grade vulval intraepithelial neoplasia, study of CD3, CD4 and CD8 expressions. *Gynecol Oncol* 2004;94:48-53.
17. Santegoets LA, van Seters M, Heijmans-Antonissen C, Kleinjan A, van Beurden M, Ewing PC, Kühne LC, Beckmann I, Burger CW, Helmerhorst TJ, Blok LJ. Reduced local immunity in HPV-related VIN: expression of chemokines and involvement of immunocompetent cells. *Int J Cancer* 2008;123:616–22.
18. Singh K, Yeo Y, Honest H, Ganesan R, Luesley D. Antigen processing and correlation with immunological response in vulval intraepithelial neoplasia—a study of CD1a, CD54 and LN3 expression. *Gynecol Oncol* 2006;102:489-92.
19. van Seters M, Beckmann I, Heijmans-Antonissen C, van Beurden M, Ewing PC, Zijlstra FJ, Helmerhorst TJ, KleinJan A. Disturbed patterns of immunocompetent cells in usual-type vulvar intraepithelial neoplasia. *Cancer Res* 2008;68:6617-22.
20. Meeuwis KA, van Rossum MM, van de Kerkhof PC, et al. Skin cancer and (pre)malignancies of the female genital tract in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010;23:191-99.
21. van Esch EM, Welters MJ, Jordanova ES, Trimbos JB, van der Burg SH, van Poelgeest MI. Treatment failure in patients with HPV 16-induced vulvar intraepithelial neoplasia: understanding different clinical responses to immunotherapy. *Expert Rev Vaccines* 2012 Jul;11(7):821-40.

22. Ohtani N, Yamakoshi K, Takahashi A, Hara E. The p16INK4a-RB pathway: molecular link between cellular senescence and tumor suppression. *J Med Invest* 2004;51:146-53.
23. Rufforny I, Wilkinson EJ, Liu C, Zhu H, Buteral M, Massoll NA. Human papillomavirus infection and p16(INK4a) protein expression in vulvar intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. *J Low Genit Tract Dis* 2005;9:108-13.
24. van der Avoort IA, Shirango H, Hoevenaars BM, Grefte JM, de Hullu JA, de Wilde PC, Bulten J, Melchers WJ, Massuger LF. Vulvar squamous cell carcinoma is a multifactorial disease following two separate and independent pathways. *Int J Gynecol Pathol* 2006;25:22-9.
25. Hoevenaars BM, van der Avoort IA, de Wilde PC, Massuger LF, Melchers WJ, de Hullu JA, Bulten J. A panel of p16(INK4A), MIB1 and p53 proteins can distinguish between the 2 pathways leading to vulvar squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2008;123(12):2767-73.
26. Santegoets LA, van Baars R, Terlouw A, et al. Different DNA damage and cell cycle checkpoint control in low- and high-risk human papillomavirus infections of the vulva. *Int J Cancer* 2012;130:2874-85.
27. Mantovani F, Banks L. The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene* 2001;20:7874-87.
28. Munger K, Basile JR, Duensing S, Eichten A, Gonzalez SL, Grace M, Zacny VL. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. *Oncogene*. 2001;20:7888-98.
29. Santos M, Montagut C, Mellado B, García A, Ramón y Cajal S, Cardesa A, Puig-Tintoré LM, Ordi J. Immunohistochemical staining for p16 and p53 in premalignant and malignant epithelial lesions of the vulva. *Int J Gynecol Pathol* 2004;23:206-14.
30. O'Neill CJ, McCluggage WG. p16 expression in the female genital tract and its value in diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2006;13:8-15.
31. van de Nieuwenhof HP, van der Avoort IA, de Hullu JA. Review of squamous premalignant vulvar lesions. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;68(2):131-56.
32. McNally OM, Mulvany NJ, Pagano R, Quinn MA, Rome RM. VIN 3: a clinicopathologic review. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12:490-5.
33. Preti M, Scurry J, Marchitelli CE, Micheletti L. Vulvar intraepithelial neoplasia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2014;28(7):1051-62.

34. Modesitt SC, Waters AB, Walton L, Fowler WC Jr, Van Le L. Vulvar intraepithelial neoplasia III: occult cancer and the impact of margin status on recurrence. *Obstet Gynecol* 1998;92:962-6.
35. Ioffe YJ, Erickson BK, Foster KE, Mutch DG, Powell MA, Thaker PH, Hagemann AR, Conner MG, Huh WK, Massad LS. Low yield of residual vulvar carcinoma and dysplasia upon re-excision for close or positive margins. *Gynecol Oncol* 2013;129:528-32.
36. Penna C, Fallani MG, Fambrini M, Zipoli E, Marchionni M. CO2 laser surgery for vulvar intraepithelial neoplasia. Excisional, destructive and combined techniques. *J Reprod Med* 2002;47:913-8.
37. Leufflen L, Baermann P Jr, Rauch P, Routiot T, Bezdetnava L, Guillemin F, Desandes E, Marchal F. Treatment of vulvar intraepithelial neoplasia with CO(2) laser vaporization and excision surgery. *J Low Genit Tract Dis* 2013;17(4):446-51.
38. Husseinzadeh N, Recinto C. Frequency of invasive cancer in surgically excised vulvar lesions with intraepithelial neoplasia (VIN3). *Gynecol Oncol* 1999;73:119-20.
39. Polterauer S, Catharina Dressler A, Grimm C, Seebacher V, Tempfer C, Reinthaller A, Hefler L. Accuracy of preoperative vulva biopsy and the outcome of surgery in vulvar intraepithelial neoplasia 2 and 3. *Int J Gynecol Pathol* 2009;28:559-62.
40. Powell LC Jr, Dinh TV, Rajaraman S, Hannigan EV, Dillard EA Jr, Yandell RB, To T. Carcinoma in situ of the vulva. A clinicopathologic study of 50 cases. *J Reprod Med* 1986;31:808-14.
41. Beutner KR, Tyring SK, Trofatter KF Jr, Douglas JM Jr, Spruance S, Owens ML, Fox TL, Hougham AJ, Schmitt KA. Imiquimod, a patient-applied immune-response modifier for treatment of external genital warts. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(4):789-94.
42. Kono T, Kondo S, Pastore S, Shivji GM, Tomai MA, McKenzie RC, Sauder DN. Effects of a novel topical immunomodulator, imiquimod, on keratinocyte cytokine gene expression. *Lymphokine Cytokine Res* 1994;13(2):71-6.
43. Reiter MJ, Testerman TL, Miller RL, Weeks CE, Tomai MA. Cytokine induction in mice by the immunomodulator imiquimod. *J Leukoc Biol* 1994;55(2):234-40.
44. Testerman TL, Gerster JF, Imbertson LM, Reiter MJ, Miller RL, Gibson SJ, Wagner TL, Tomai MA. Cytokine induction by the immunomodulators imiquimod and S-27609. *J Leukoc Biol* 1995;58(3):365-72.
45. Meyer T, Stockfleth E. Clinical investigations of Toll-like receptor agonists. *Expert Opin Investig Drugs* 2008;17(7):1051-65.

46. van Seters M, van Beurden M, ten Kate FJ, Beckmann I, Ewing PC, Eijkemans MJ, Kagie MJ, Meijer CJ, Aaronson NK, Kleinjan A, Heijmans-Antonissen C, Zijlstra FJ, Burger MP, Helmerhorst TJ. Treatment of vulvar intraepithelial neoplasia with topical imiquimod. *N Engl J Med* 2008;358:1465-73.
47. Terlou A, van Seters M, Ewing PC, Aaronson NK, Gundy CM, Heijmans-Antonissen C, Quint WG, Blok LJ, van Beurden M, Helmerhorst TJ. Treatment of vulvar intraepithelial neoplasia with topical imiquimod: seven years median follow-up of a randomized clinical trial. *Gynecol Oncol* 2011;121:157-62.
48. Terlou A, van Seters M, Kleinjan A, Heijmans-Antonissen C, Santegoets LA, Beckmann I, van Beurden M, Helmerhorst TJ, Blok LJ. Imiquimod-induced clearance of HPV is associated with normalization of immune cell counts in usual type vulvar intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2010;127(12):2831-40.
49. Pepas L, Kaushik S, Bryant A, Nordin A, Dickinson HO. Medical interventions for high grade vulvar intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(4):CD007924.
50. Gentile M, Bianchi P, Sesti F, Sopracordevole F, Biamonti A, Scirpa P, Schimberni M, Cozza G, Marziani R, Di Martino G, Catalano A, Milazzo GN, Zinna M, Caserta D, Frega A. Adjuvant topical treatment with imiquimod 5% after excisional surgery for VIN2/3. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014 Oct;18(19):2949-52.
51. van Esch EM, van Poelgeest MI, Kouwenberg S, Osse EM, Trimbos JB, Fleuren GJ, Jordanova ES, van der Burg SH. Expression of coinhibitory receptors on T cells in the microenvironment of usual vulvar intraepithelial neoplasia is related to proinflammatory effector T cells and an increased recurrence-free survival. *Int J Cancer* 2015 Feb 15;136(4):E95-106.
52. Terlou A, Blok LJ, Helmerhorst TJ, van Beurden M. Premalignant epithelial disorders of the vulva: squamous intraepithelial neoplasia, vulvar Paget's disease and melanoma in situ. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010;89(6):741-8.
53. Davidson EJ, Faulkner RL, Sehr P, Pawlita M, Smyth LJ, Burt DJ, Tomlinson AE, Hickling J, Kitchener HC, Stern PL. Effect of TA-CIN (HPV 16 L2E6E7) booster immunisation in vulval intraepithelial neoplasia patients previously vaccinated with TA-HPV (vaccinia virus encoding HPV 16/18 E6E7). *Vaccine* 2004;22:2722-9.
54. Smyth LJ, Van Poelgeest MI, Davidson EJ, Kwappenberg KM, Burt D, Sehr P, Pawlita M, Man S, Hickling JK, Fiander AN, Tristram A, Kitchener HC, Offringa R, Stern PL, Van Der Burg SH. Immunological responses in women with human papillomavirus type 16 (HPV-16)-

associated anogenital intraepithelial neoplasia induced by heterologous prime-boost HPV-16 oncogene vaccination. *Clin Cancer Res* 2004;10:2954-61.

55. Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, Lowik MJ, Berends-van der Meer DM, Vloon AP, Essahsah F, Fathors LM, Offringa R, Drijfhout JW, Wafelman AR, Oostendorp J, Fleuren GJ, van der Burg SH, Melief CJ. Vaccination against HPV-16 Oncoproteins for Vulvar Intraepithelial Neoplasia. *N Engl J Med* 2009;361:1838-47.

56. Abdel-Hady ES, Martin-Hirsch P, Duggan-Keen M, Stern PL, Moore JV, Corbitt G, Kitchener HC, Hampson IN. Immunological and viral factors associated with the response of vulval intraepithelial neoplasia to photodynamic therapy. *Cancer Res* 2001;61:192-6.

57. Fehr MK, Hornung R, Degen A, Schwarz VA, Fink D, Haller U, Wyss P. Photodynamic therapy of vulvar and vaginal condyloma and intraepithelial neoplasia using topically applied 5-aminolevulinic acid. *Lasers Surg Med* 2002;30:273-9.

58. Hillemanns P, Untch M, Dannecker C, Baumgartner R, Stepp H, Diebold J, Weingandt H, Pröve F, Korell M. Photodynamic therapy of vulvar intraepithelial neoplasia using 5-aminolevulinic acid. *Int J Cancer* 2000;85:649-53.

59. Kurwa HA, Barlow RJ, Neill S. Single-episode photodynamic therapy and vulval intraepithelial neoplasia type III resistant to conventional therapy. *Br J Dermatol* 2000;143:1040-2.

60. Zawislak A, Donnelly RF, McCluggage WG, Price JH, McClelland HR, Woolfson AD, Dobbs S, Maxwell P, McCarron PA. Clinical and immunohistochemical assessment of vulval intraepithelial neoplasia following photodynamic therapy using a novel bioadhesive patch-type system loaded with 5-aminolevulinic acid. *Photodiagnosis Photodynamic Ther* 2009;6:28-40.

61. Stern PL, Einstein MH. From HPV infection to oncogenesis: A brief review of the complex immunobiological events. *Curr Cancer Ther Rev* 2010;6(2):110-116.

62. van der Burg SH, Melief CJ. Therapeutic vaccination against human papilloma virus induced malignancies. *Curr Opin Immunol* 2011;23:252-7.

63. Stern PL, van der Burg SH, Hampson IN, Broker TR, Fiander A, Lacey CJ, Kitchener HC, Einstein MH. Therapy of human papillomavirus-related disease. *Vaccine* 2012;30 Suppl 5:F71-82.

64. Davidson EJ, Boswell CM, Sehr P, Pawlita M, Tomlinson AE, McVey RJ, Dobson J, Roberts JS, Hickling J, Kitchener HC, Stern PL. Immunological and clinical responses in women with vulval intraepithelial neoplasia vaccinated with a vaccinia virus encoding human papillomavirus 16/18 oncoproteins. *Cancer Res* 2003;63:6032-41.

65. Winters U, Daayana S, Lear JT, Tomlinson AE, Elkord E, Stern PL, Kitchener HC. Clinical and immunologic results of a phase II trial of sequential imiquimod and photodynamic therapy for vulval intraepithelial neoplasia. *Clin Cancer Res* 2008;14:5292-9.
66. Daayana S, Elkord E, Winters U, Pawlita M, Roden R, Stern PL, Kitchener HC. Phase II trial of imiquimod and HPV therapeutic vaccination in patients with vulval intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 2010;102:1129-36.
67. Welters MJ, Kenter GG, de Vos van Steenwijk PJ, Löwik MJ, Berends-van der Meer DM, Essahsah F, Stynenbosch LF, Vloon AP, Ramwadhoebe TH, Piersma SJ, van der Hulst JM, Valentijn AR, Fathers LM, Drijfhout JW, Franken KL, Oostendorp J, Fleuren GJ, Melief CJ, van der Burg SH. Success or failure of vaccination for HPV16-positive vulvar lesions correlates with kinetics and phenotype of induced T-cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(26):11895-99.
68. van Poelgeest MI, van Seters M, van Beurden M, Kwappenberg KM, Heijmans-Antonissen C, Drijfhout JW, Melief CJ, Kenter GG, Helmerhorst TJ, Offringa R, van der Burg SH. Detection of human papillomavirus (HPV) 16-specific CD41 T-cell immunity in patients with persistent HPV16-induced vulvar intraepithelial neoplasia in relation to clinical impact of imiquimod treatment. *Clin Cancer Res* 2005;11:5273-80.
69. van Esch EM, Tummers B, Baartmans V, Osse EM, Ter Haar N, Trietsch MD, Hellebrekers BW, Holleboom CA, Nagel HT, Tan LT, Fleuren GJ, van Poelgeest MI, van der Burg SH, Jordanova ES. Alterations in classical and nonclassical HLA expression in recurrent and progressive HPV-induced usual vulvar intraepithelial neoplasia and implications for immunotherapy. *Int J Cancer* 2014;135(4):830-42.
70. Muñoz N, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Brown DR, Koutsky LA, Tay EH, Garcia PJ, Ault KA, Garland SM, Leodolter S, Olsson SE, Tang GW, Ferris DG, Paavonen J, Steben M, Bosch FX, Dillner J, Huh WK, Joura EA, Kurman RJ, Majewski S, Myers ER, Villa LL, Taddeo FJ, Roberts C, Tadesse A, Bryan JT, Lupinacci LC, Giacoletti KE, Sings HL, James MK, Hesley TM, Barr E, Haupt RM. Impact of human papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 vaccine on all HPV-associated genital diseases in young women. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:325-339.
71. Jemal A, Simard EP, Dorell C, Noone AM, Markowitz LE, Kohler B, Ehemann C, Saraiya M, Bandi P, Saslow D, Cronin KA, Watson M, Schiffman M, Henley SJ, Schymura MJ, Anderson RN, Yankey D, Edwards BK. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer,

1975–2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus(HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:175-201.

72. Paavonen J, Naud P, Salmerón J, Wheeler CM, Chow SN, Apter D, Kitchener H, Castellsague X, Teixeira JC, Skinner SR, Hedrick J, Jaisamrarn U, Limson G, Garland S, Szarewski A, Romanowski B, Aoki FY, Schwarz TF, Poppe WA, Bosch FX, Jenkins D, Hardt K, Zahaf T, Descamps D, Struyf F, Lehtinen M, Dubin G; HPV PATRICIA Study Group. Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. *Lancet* 2009;374:301–14.

73. Brown DR, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Koutsky LA, Tay EH, Garcia P, Ault KA, Garland SM, Leodolter S, Olsson SE, Tang GW, Ferris DG, Paavonen J, Steben M, Bosch FX, Dillner J, Joura EA, Kurman RJ, Majewski S, Muñoz N, Myers ER, Villa LL, Taddeo FJ, Roberts C, Tadesse A, Bryan J, Lupinacci LC, Giacoletti KE, Sings HL, James M, Hesley TM, Barr E. The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV; types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naive women aged 16-26 years. *J Infect Dis* 2009;199:926–35.

74. Einstein MH, Baron M, Levin MJ, Chatterjee A, Fox B, Scholar S, Rosen J, Chakhtoura N, Lebacqz M, van der Most R, Moris P, Giannini SL, Schuind A, Datta SK, Descamps D; HPV-010 Study Group. Comparison of the immunogenicity of the human papillomavirus (HPV)-16/18 vaccine and the HPV-6/11/16/18 vaccine for oncogenic non-vaccine types HPV-31 and HPV-45 in healthy women aged 18-45 years. *Hum Vaccin* 2011;7(12):1359-73.

75. Kemp TJ, Hildesheim A, Safaeian M, Dauner JG, Pan Y, Porras C, Schiller JT, Lowy DR, Herrero R, Pinto LA. HPV16/18 L1 VLP vaccine induces cross-neutralizing antibodies that may mediate crossprotection. *Vaccine* 2011;29:2011–4.

76. Joura EA, Garland SM, Paavonen J, Ferris DG, Perez G, Ault KA, Huh WK, Sings HL, James MK, Haupt RM; FUTURE I and II Study Group. Effect of the human papillomavirus (HPV) quadrivalent vaccine in a subgroup of women with cervical and vulvar disease: retrospective pooled analysis of trial data. *BMJ* 2012;344:e1401.

77. Jones RW, Rowan DM, Stewart AW. Vulvar intraepithelial neoplasia: aspects of the natural history and outcome in 405 women. *Obstet Gynecol*. 2005 Dec;106(6):1319-26.