

Infekcija humanim papilomavirusom i karcinom vrata maternice

Human Papillomavirus Infections and Cervical Carcinoma

Ante Ćorušić, Lana Škrgatić

Zavod za ginekološku onkologiju

Klinika za ženske bolesti i porode Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

KBC Zagreb

10000 Zagreb, Petrova 13

Sažetak Karcinom vrata maternice drugi je najčešći karcinom u žena u svijetu. Najveća incidencija ove bolesti u nerazvijenim je zemljama jugozapadne Afrike, Južne Amerike i jugoistočne Azije. U Europi najveća incidencija ove bolesti je u zemljama istočne Europe. Hrvatska ima nižu incidenciju ove bolesti od mnogih država srednje i jugoistočne Europe. Karcinom vrata maternice bolest je mladih žena. Veliko istraživanje International Agency for Research on Cancer (IARC) iz 1995. godine otkrilo je u 99,7% svih karcinoma vrata maternice genom humanog papilomavirusa (HPV). Genitalni sojevi HPV-a podijeljeni su u tri skupine: sojevi visokog onkogenog rizika, mogući karcinogeni sojevi i sojevi niskog onkogenog rizika. Sojevi 16 i 18 odgovorni su za oko 70% karcinoma cerviksa podrijetla pločastih stanica i oko 86% adenokarcinoma vrata maternice. Infekcija HPV-om danas je najčešća spolno prenosiva bolest. 90–95% slučajeva infekcija HPV-om prolazi spontano. Za razvoj preinvazivnih lezija vrata maternice (CIN – cervikalna intraepitelna neoplazija) i potom karcinoma potrebna je trajna infekcija visookonogenim sojevima HPV-a. Pretpostavka je da od trajne infekcije HPV-om do invazivnog karcinoma vrata maternice treba proći 7–10 godina, što ostavlja dovoljno vremena za prevenciju. Teoretski karcinom vrata maternice bolest je od koje ni jedna žena ne bi smjela oboljeti, a kamoli umrijeti. Ipak incidencija ove bolesti “stabilna” je. Razlog tomu je oportunistički program probira u Hrvatskoj. Na PAPA-obrisak uglavnom dolaze uvijek iste žene individualnom inicijativom. Stoga se nameće potreba organiziranog programa probira. Prošle godine u mnogim zemljama registrirano je cjepivo protiv HPV-a. Organizaciju nacionalnih imunizacijskih programa moguće je aplicirati samo u zemljama s dobro organiziranim programima sekundarne prevencije i u zemljama koje to mogu platiti.

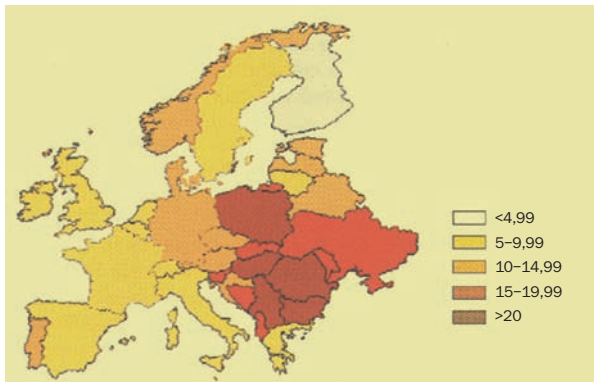
Gljučne riječi: karcinom vrata maternice, HPV, etiopatogeneza, karcinogeneza, prevencija

Summary Cervical carcinoma is the second most frequent carcinoma in women worldwide. The highest incidence is recorded in developing countries of southwest Africa, South America and Southeast Asia. In Europe, the highest incidence is recorded in eastern European countries. In Croatia, its incidence is lower than in many CEE countries. Cervical carcinoma is the disease of young women. The major study conducted by the International Agency for Research on Cancer (IARC) in 1995 revealed that 99.7% of all cervical carcinoma cases could be attributed to human papillomavirus (HPV). Genital HPV strains are divided into three groups: high oncogenic risk strains, potentially carcinogenic strains, and low oncogenic risk strains. Strains 16 and 18 are responsible for about 70% of cervical epithelial cancers, and about 86% of cervical adenocarcinomas. Nowadays the HPV infection is the most frequent sexually transmitted disease. Remission can be spontaneous in 90-95% of HPV cases. Pre-invasive cervical lesions (CIN - cervical intraepithelial neoplasia) and subsequent carcinoma develop after a persistent infection with highly oncogenic HPV strains. The presumed interval between a persistent HPV infection and invasive cervical carcinoma is seven to ten years, which leaves sufficient time for prevention. Theoretically, no woman should develop cervical carcinoma, or let alone die. However, the incidence of cervical carcinoma is stable. The reason is opportunistic screening in Croatia. These are mostly the same women who have Pap smears, and it is on their own initiative. Therefore, there is a need for organized screening program. Last year, HPV vaccine was registered in many countries. National immunization programs can be realized only in countries with well-organized secondary prevention and financial prerequisites.

Key words: cervical cancer, HPV, etiopathogenesis, carcinogenesis, prevention

Karcinom vrata maternice u svijetu je drugi najčešći karcinom u žena. Godišnje se diljem svijeta registrira oko 500.000 novih slučajeva, a 270.000 žena umre od ove bolesti. Najveća incidencija ove bolesti je u nerazvijenim zemljama jugozapadne Afrike, Južne Amerike i jugoistočne Azije. Na ove zemlje otpada gotovo 80% svih novootkrivenih karcinoma cerviksa. U Europi se godišnje otkrije oko 60.000 novooboljelih i ima oko 30.000 umrlih. Najveća incidencija ove bolesti je u zemljama istočne Europe (1-4).

Prema podacima IARC-a (International Agency for Research on Cancer) iz 2004. godine u 27 zemalja članica EU registrirano je 34.300 novooboljelih, a umrlo je 16.300 žena. Zemlje stare članice EU prije proširenja 2005. god. imaju nižu incidenciju ove bolesti zahvaljujući organiziranim programima probira ove bolesti. U tim zemljama karcinom vrata maternice je tek na 10. mjestu od svih karcinoma u žene. Najveći mortalitet od ove bolesti je u Rumunjskoj – 13,7 / 100.000, a najniži u Finskoj – 1,1 / 100.000. S izuzetkom Malte svih 11 novih članica EU ima veću pojavnost i mortalitet od ove bolesti u odnosu na stare članice EU (slika 1) (4).



Slika 1. Stopa incidencije karcinoma vrata maternice u europskim zemljama (na 100.000 žena) standardizirana po dobi (4)

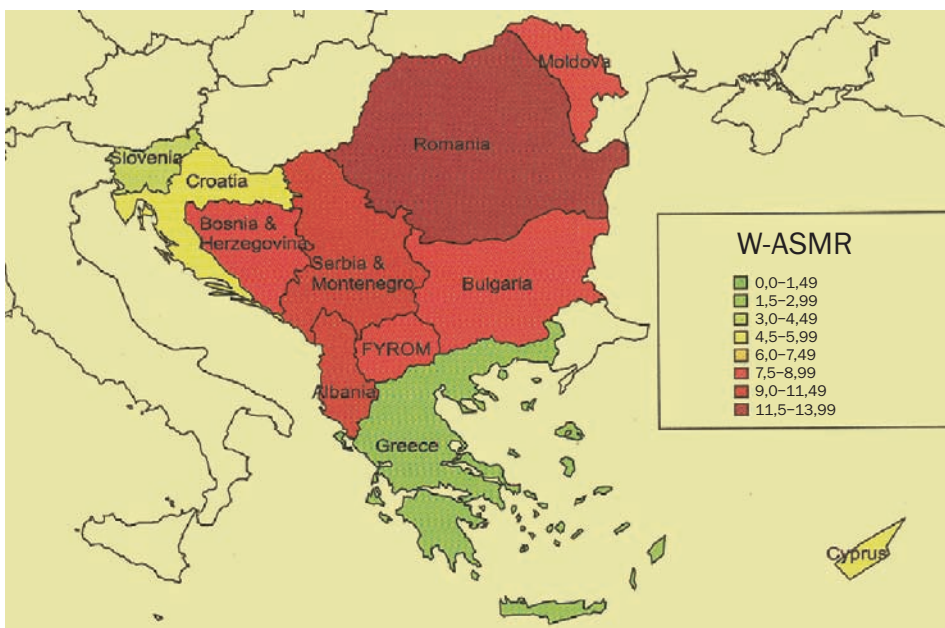
Mortalitet od ove bolesti u Hrvatskoj je 4,5 / 100.000 žena (5). U Hrvatskoj prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) incidencija je 2004. god. bila 13,6 i po učestalosti je na osmome mjestu svih malignoma u žene. Hrvatska ima nižu incidenciju ove bolesti od mnogih država srednje i jugoistočne Europe (slika 2) (1, 4, 6).

Karcinom vrata maternice je bolest mladih žena. Najveća je incidencija u dobi između 35 i 50 godina. U populaciji žena između 25 i 40 godina karcinom cerviksa je po pojavnosti na drugom mjestu, odmah iza karcinoma dojke (slika 3). S obzirom na to da se danas žene sve češće odlučuju za reprodukciju nakon tridesete godine života, možemo reći da ova bolest ozbiljno zadire u ljudsku prokreaciju.

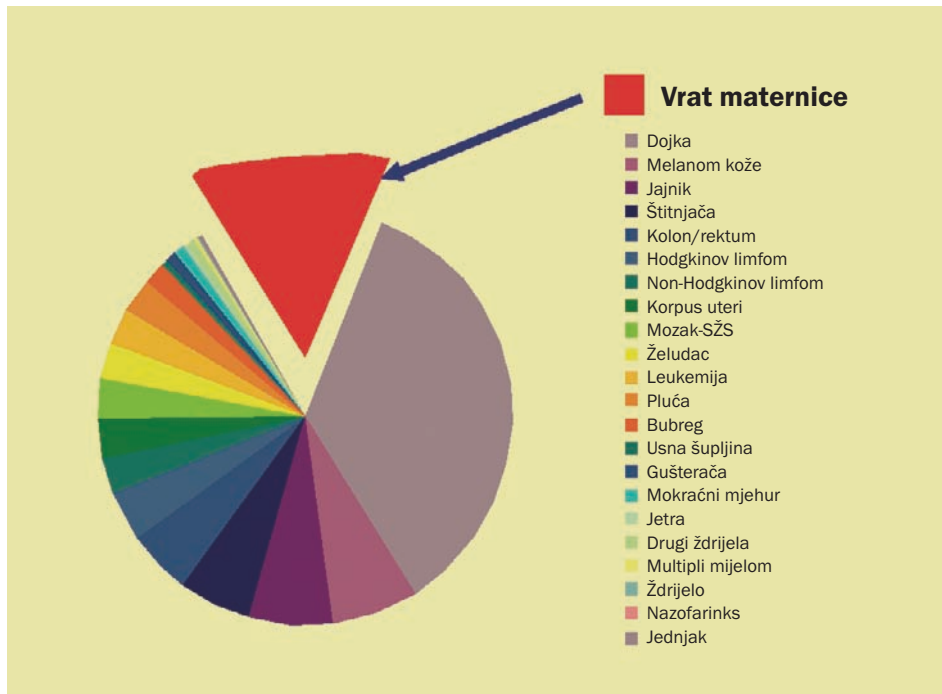
Etiopatogeneza karcinoma vrata maternice

Veliko istraživanje IARC-a iz 1995. godine na materijalu iz 22 zemlje diljem svijeta otkrilo je u 99,7% svih karcinoma vrata maternice genom HPV-a (7). Kasnije metaanalize IARC na 13.000 karcinoma vrata maternice otkrile su osam najčešćih visokoonkogenih sojeva HPV-a. To su sojevi 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 i 35. Ovih osam sojeva odgovorno je za oko 90% svih cervikalnih karcinoma. Kasnija istraživanja potvrdila su sojeve 16 i 18 kao odgovorne za oko 70% karcinoma cerviksa podrijetla pločastih stanica i oko 86% adenokarcinoma vrata maternice (4, 7).

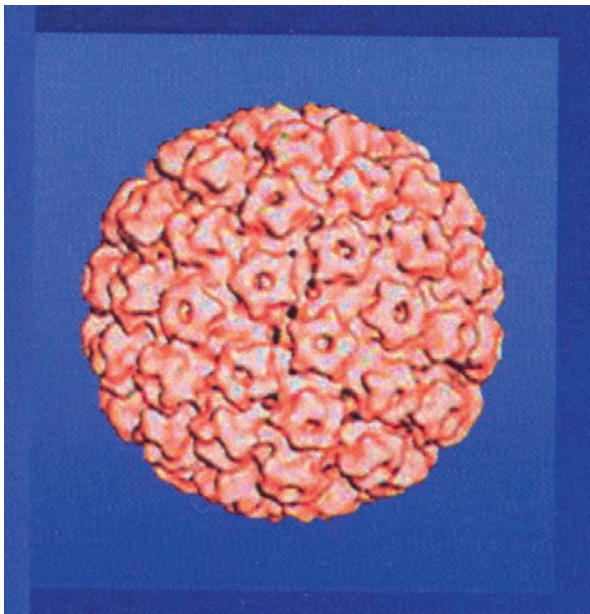
Humani papilomavirus (HPV) malen je DNK-virus koji ima cirkularni genom sastavljen od više tisuća parova baza uklopljenih u ikozaedralnu kapsidu građenu od dvije bjelancevine L1 i L2 (slika 4). Do danas je izolirano više od 100 tipova HPV-a. Četrdesetak njih je sposobno inficirati sluznicu anogenitalne regije. Ponajprije inficiraju površni sloj pločastog epitela kože i sluznice (8-10).



Slika 2. Zemljopisna distribucija mortaliteta od karcinoma vrata maternice standardiziranog po dobi (smrtnost/100.000 žena-godina) (W-ASMR engl. World age-standardised mortality) u 11 zemalja jugoistočne Europe, procjene za 2002/2004. godinu (1, 4, 6)



Slika 3. Učestalost karcinoma u mladim ženama u Europi (dob 15 – 44 godine) (4)



Slika 4. Ikozaedarska struktura HPV-a (10)

Genitalni sojevi HPV-a podijeljeni su u tri skupine, i to kako slijedi:

- sojevi visokog onkogenog rizika (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 i 59)
- mogući karcinogeni sojevi (26, 53, 66, 68, 73 i 82)
- sojevi niskog onkogenog rizika (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, 89).

Ovi potonji mogu uzrokovati benigne proliferacije epitela anogenitalne regije, ali nisu udruženi s karcinomom vrata maternice (9).

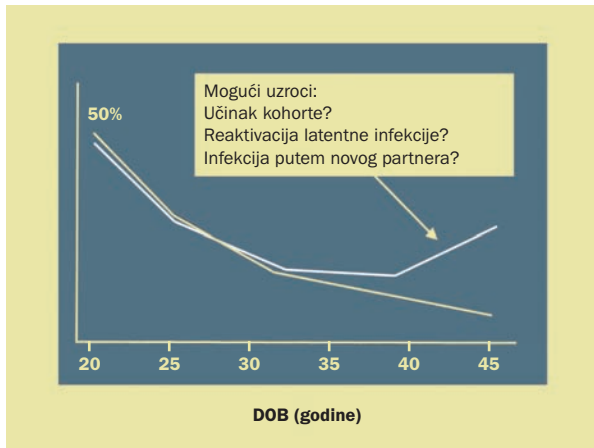
Karcinogeneza raka vrata maternice

Infekcija HPV-om danas je najčešća spolno prenosiva bolest. Mnoge studije koristeći se DNK HPV-testiranjem u asimptomatskih žena pokazuju da je prevalencija HPV-infekcije u općoj populaciji između 2–44% (11). Ova velika razlika u prevalenciji objašnjava se različitim istraživanim populacijskim skupinama, ali i molekularnom osjetljivošću različitih metoda detekcije DNK HPV-a. Mnoge epidemiološke studije pokazuju da je prevalencija HPV-infekcije najviša u spolno aktivnih žena mlađih od 25 godina i da naglo opada do dobi između 45–50 godina nakon čega se pojavljuje drugi prevalencijski vršak (12, 13). Prevalencija HPV-infekcije u odnosu na dob zorno je prikazana slikom 5.

Drugi prevalencijski vršak u dobi perimenopauze i postmenopauze može se objasniti:

- reaktiviranjem prethodne latentne infekcije
- novom infekcijom s novim partnerom
- promjene seksualnog ponašanja zadnjih desetljeća mogu utjecati na izloženost HPV-infekciji u različitim istraživanim kohortnim skupinama žena (kohortni efekt).

Uglavnom, tj. u 90–95% slučajeva infekcija HPV-om prolazi spontano. Za razvoj preinvazivnih lezija vrata maternice (CIN – cervikalna intraepitelna neoplazija) i potom karcinoma potrebna je trajna infekcija visookonkogenim sojevima



Slika 5. Prevalencija HPV-infekcije u odnosu na dob

HPV-a. Još nema konsenzusa o tome "što je trajna infekcija HPV-om". Novija istraživanja pokazuju da žena koja je pozitivna na infekciju visokoonkogenim sojem u dva navrata nakon 6 ili 12 mjeseci ima sklonost razvoju prekanceroznih lezija vrata maternice (13-15).

Rizični čimbenici za HPV-infekciju

Prema brojnim prospektivnim studijama rizik od infekcije HPV-om raste s:

- ranom dobi prvoga spolnog odnosa
- većim brojem partnera
- pušenjem cigareta
- uporabom oralnih kontraceptiva
- drugim spolno prenosivim infekcijama (*Chlamydia trachomatis*, *Herpes simplex virus* tip II)
- kroničnim upalama donjeg dijela genitalnog trakta
- imunosupresivnim stanjima.

Upotreba kondoma prema nekim spoznajama može smanjiti rizik od HPV-infekcije i do 70%. Međutim prema nekim istraživanjima upotreba kondoma može i povećati rizik od nastanka HPV-infekcije. Naime ljudi obično rabe kondom s partnerima kod kojih očekuju povećan rizik od spolno prenosivih bolesti (novi partner, prostitutka), ali ne i s partnerom s kojim očekuju siguran seks (dugotrajni partner, bračni drug). Ovaj način ponašanja može objasniti rezultate nekih istraživanja u kojima uporaba kondoma nije smanjila rizik od HPV-infekcije (16-18).

Malen broj studija upućuje na to da prehrana bogata voćem i povrćem, visoke doze C i E-vitamina, alfa i beta-karotena mogu smanjiti rizik od HPV-infekcije (18).

Dobro poznata činjenica da infekcija visokoonkogenim sojem HPV-a ne dovodi nužno do neoplastične pretvorbe upućuje na moguću ulogu imunskog mehanizma domaćina. Naime imunski sustav domaćina može eliminirati

virus, ili ako je imunski mehanizam neadekvatan, infekcija može biti trajna i dovesti do prekanceroznih lezija vrata maternice, a potom i do karcinoma. Moguće je i da sustav HLA (humani leukocitni antigen) gena ima važnu ulogu u nastanku trajne HPV-infekcije. Naime, proteinski produkti HLA-gena imaju važnu ulogu u prezentaciji antigena T-limfocitima domaćina. U dva odvojena istraživanja Maciag i Wang izolirali su različite haplotipove HLA II-sustava. Neki od ovih haplotipova smanjuju rizik od nastanka trajne HPV-infekcije tri do četiri puta, dok nositelji nekih haplotipova imaju i do sedam puta veći rizik od nastanka trajne HPV-infekcije (19, 20).

HPV građen je od 8.000 parova baza u dugačkoj cirkularnoj molekuli DNK uklopljenoj u ljusku sastavljenu od dvije proteinske molekule (L1 i L2). Viralni genom kodira ove dvije bjelančevine i još šest tzv. ranih proteina (E1, E2, E4, E5, E6 i E7). Ove bjelančevine su nužne za replikaciju virusne DNK u inficiranoj stanici domaćina. Obje skupine gena razdvojene su tzv. URR (Upstream Regulatory Region) – regulacijskom regijom virusnoga genoma s otprilike 1.000 parova baza koji ne mogu kodirati bjelančevine, ali sadržavaju elemente potrebne za regulaciju ekspresije pojedinih gena, replikaciju virusnoga genoma i inkorporiranje virusnoga genoma u virusnu česticu (8, 9).

HPV se odlično prilagođava različitim epitelnim stanicama kože i sluznice iskorištavajući stanične mehanizme i pri tome izbjegava imunski mehanizam domaćina. Naime HPV-infekcija je intraepitelna i teoretski infekcija HPV-om trebala bi biti otkrivena putem lokalnih makrofaga – antigen presenting cells (APC) odnosno Langerhansovim dendritičkim stanicama. Tako aktivirane Langerhansove stanice kreću prema prvom drenažnom limfnom čvoru i prezentiraju HPV-antigen T-limfocitima. Potom se T-limfociti diferenciraju u različite efektorne stanice koje se kreću prema mjestu infekcije i uništavaju zaražene keratinocite. Međutim to se kod HPV-infekcije ne događa (21, 22). Zašto?

HPV-infekcija je karakterizirana slabim ili nikakvim otpuštanjem proinflammatoryh citokina koji su vrlo važni za aktivaciju Langerhansovih dendritičkih stanica i stoga nedostaje esencijalni signal aktivacije lokalnog imunskog sustava. Međutim unatoč tomu HPV-om zaraženi keratinociti mogu aktivirati moćan obrambeni sustav preko sekrecije interferona 1. Tipovi interferona 1 IFN- α i IFN- β imaju snažan protuvirusni, protuproliferacijski, protuangiogenički i imunostimulatorni učinak. Ovi interferoni su ključne "molekule mostovi" između urođenog i stečenog imuniteta. Međutim HPV, kao uostalom i većina DNK-virusa uzrokuje "downregulation" IFN- α gena i tako onemogućuje sintezu ovog interferona. Prema tome HPV ima mehanizme "bijega" prirodnoj imunosti i tako onemogućuje stjecanje imuniteta. To objašnjava činjenicu da žene koje su imale prolaznu HPV-infekciju nisu imune na kasniju reinfekciju. Ovdje je važno naglasiti da kod infekcije HPV-om nema viremije i ne mogu se stvoriti cirkulirajuća blokirajuća antitijela na novu infekciju. Upravo je ova spoznaja omogućila stvaranje cjepiva protiv nekih sojeva HPV-a (23).

Replikacijski ciklus virusa počinje infekcijom bazalnog sloja epitelnih stanica, i to vezanjem za staničnu membranu

i ulaskom u stanicu kroz maleni defekt. Virus inficira matične epitelne stanice. Replikacijski virusni ciklus potom može ići u dva smjera:

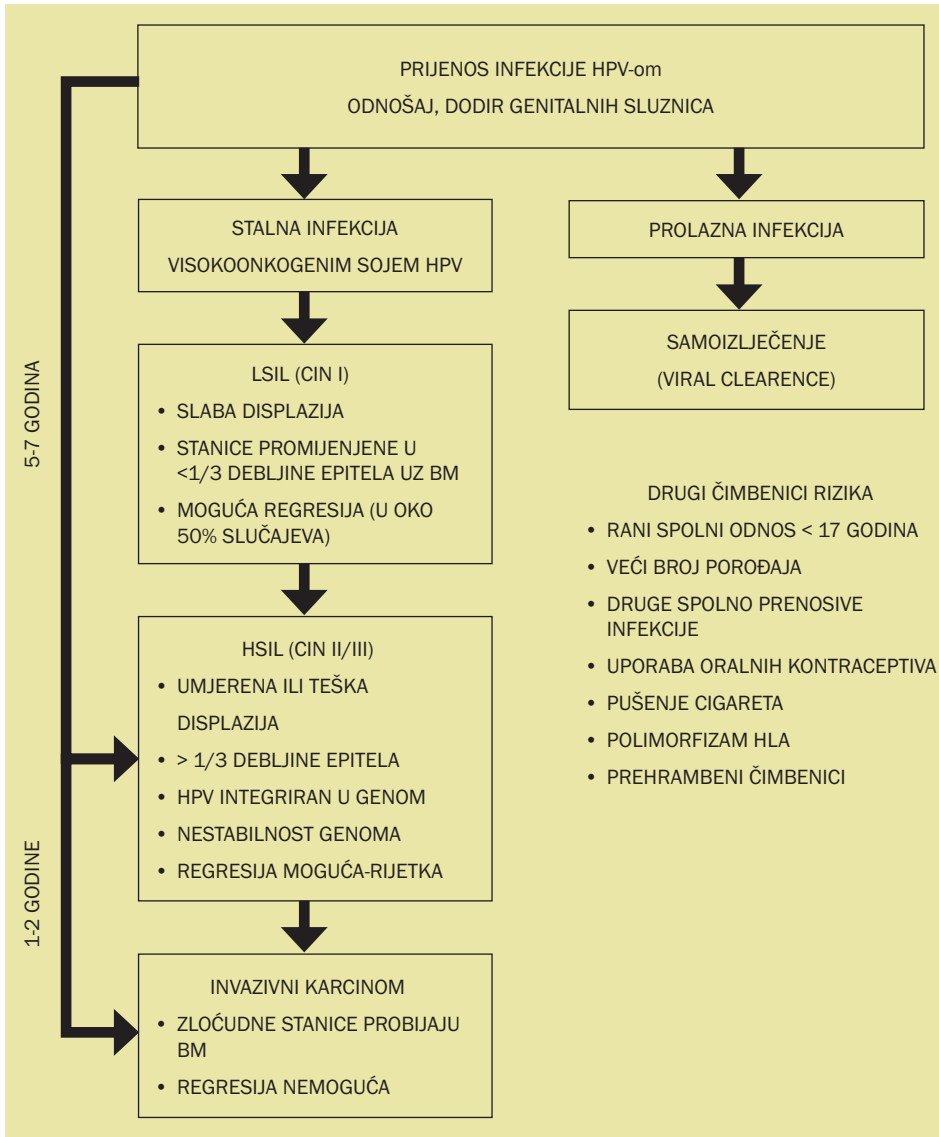
- Virusni genom se replicira u malen broj kopija. Malen broj virusnih čestica u odgovarajućem vremenu može uzrokovati odgovor imunokompetentnih stanica domaćina. Pretpostavka je da imunوسي sistem domaćina može suzbiti infekciju u ovom stadiju.
- Drugi je scenarij da se inficirane bazalne stanice "guraju" u suprabazalni sloj epitela i time stanice gube mogućnost diobe i umjesto toga započinju završni program diferencijacije keratinocita. HPV se replicira u suprabazalnom sloju (stratum spinosum). Virusne čestice se otpuštaju u okružje koristeći se raspadanjem epitelnih stanica, što posljedično uzrokuje njihov novi život u stanicama površnog epitelnog sloja (23).

Kritične molekule ovog procesa virusne replikacije su virusni proteini E6 i E7. Ove su bjelančevine u stalnoj interakciji s brojnim staničnim proteinima koji kontroliraju stanični rast i diobu. U brojnim eksperimentalnim modelima pokazano je da virusni proteini E6 i E7 uzrokuju proliferaciju, imortalizaciju (besmrtnost) i na kraju zloćudnu preobrazbu epitelne stanice. Bjelančevine RB-a (retinoblastomski gen) i bjelančevina p53 produkti su tumor-supresorskog gena normalne stanice. To su središnje molekule kontrole staničnog ciklusa i mutirane su u mnogim ljudskim zloćudnim tumorima. Vežanjem regije E7 HPV-genoma za RB-gen aktivira se transkripcijski čimbenik E2F koji potiče ekspresiju bjelančevina potrebnih za replikaciju DNK stanice domaćina. Takva neregularna S-faza staničnog ciklusa u normalnim stanicama zaustavlja se apoptozom. Međutim u stanicama inficiranim HPV-om bjelančevina p53 razgrađuje se proteolitički djelovanjem regije E6 virusnoga genoma. Dugotrajna (stalna) HPV-infekcija uzrokuje stalnu aktivnost virusnih regija E6 i E7, povećava gensku nestabilnost, akumulira onkogene mutacije, uzrokuje gubitak kontrole staničnog rasta što na kraju rezultira razvojem karcinoma (24, 25).

Trajna infekcija sojevima HPV-a visokog onkogenog rizika uzrokuje displastične promjene na epitelnim stanicama koje mogu biti blage (LSIL – Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions) ili teške (HSIL – High-grade Squamous Intraepithelial Lesions). Preinvazivne lezije relativno se lako liječe kirurškim ablativnim metodama (konizacija hladnim nožem ili LLETZ-om). Pretpostavka je da od trajne infekcije HPV-om do invazivnog karcinoma vrata maternice treba proći 7–10 godina. Prema tome imamo dovoljno vremena za prevenciju. Prirodni tijek bolesti od trajne infekcije visokoonkogenim sojem HPV-a do razvoja karcinoma prikazan je slikom 6. (26, 27).

Ako gledamo teoretski, karcinom vrata maternice je bolest od koje ni jedna žena ne bi smjela oboljeti, a kamoli umrijeti. Naime znamo uzročnika, postoje dobre metode njegove detekcije, imamo dobru metodu probira preinvazivnih lezija (konvencionalni PAPA-obrisak), organ dostupan vizualizaciji tijekom ginekološkog pregleda. Pa ipak u zadnjih 7–8 godina imamo "stabilnu" incidenciju ove bolesti od 14 do 16 /100.000 žena. Razlog tomu je što u Hrvatskoj imamo oportunistički program probira. Naime na PAPA-obrisak dolaze žene individualnom inicijativom. Uglavnom dolaze uvijek iste žene. Pretpostavljamo da je svega 30–35% ženske populacije pokriveno oportunističkim probirom. Veliki dio žena uopće nije uključen u probir i iz te skupine se regrutira 90% svih karcinoma vrata maternice. Stoga je nužno što prije krenuti s organiziranim programom probira na što nas na neki način obvezuju i zaključni Komiteta ministara zdravstva Vijeća EU iz 1994. godine. Na tom sastanku zaključeno je da postoji dovoljan broj znanstveno utemeljenih podataka koji opravdavaju uvođenje organiziranih programa probira za karcinom dojke i cerviksa u žena i kolorektalni karcinom u žena i muškaraca. Tijekom 2003. godine nacionalni ministri zdravstva svih zemalja članica EU prihvatili su dokument o potrebi organiziranog programa probira i time utrli put organiziranoj kontroli karcinoma u Europi. Dobro vođenim organiziranim programom probira pojavnost karcinoma vrata maternice može se smanjiti za 80% (28, 29).

Uz sekundarnu prevenciju sada se nameće i pitanje primarne prevencije. Istraživači su uspjeli iz genoma HPV-a izolirati gen koji kodira L1-protein. Ugradnjom ovoga gena u rekombinantne bakuloviruse stvorena je mogućnost produkcije L1 VLP (Virus Like Particles). L1-VLP je konformacijski identična prirodnom virusu, sadržava glavne epitope virusne kapside što je čini antigeničnom, a ne sadržava genom HPV-a. Put do cjepiva trajao je desetak godina. Prošle godine u mnogim zemljama registrirano je cjepivo protiv HPV-a. Četverovalentno cjepivo Gardasil registrirano je i u Hrvatskoj. Ono učinkovito štiti od infekcije sojevima virusa 6, 11, 16 i 18. Divalentno cjepivo Cervarix protiv virusa 16 i 18 registrirano je u Australiji. Njegova registracija u Europi očekuje se početkom sljedeće godine. Oba su cjepiva gotovo podjednako učinkovita u zaštiti od infekcije HPV-om. Prema zadnjim smjernicama Europskog odjela Svjetske zdravstvene organizacije primarna zadaća javnoga zdravstvenog sustava je uvođenje sekundarne prevencije dobro organiziranim programima probira. Organizaciju nacionalnih imunizacijskih programa moguće je aplicirati samo u zemljama s dobro organiziranim programima sekundarne prevencije i u zemljama koje to mogu platiti (30-33).



Slika 6. *Prirodni tijek razvoja od trajne HPV-infekcije do karcinoma vrata maternice*

Legenda:

HPV = humani papilomavirus

HSIL = High-grade Squamous Intraepithelial Lesions

LSIL = Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions

BM = bazalna membrana

HLA = humani leukocitni antigen

Literatura

1. ARBYN M, RAIFU AO, AUTIER P, FERLAY J. Burden of cervical cancer in Europe: estimates for 2004. *Ann Oncol* 18:2007. u tisku.
2. BOYLE P, FERLAY J. Cancer incidence and mortality in Europe. *Ann Oncol* 2004;16,481-8.
3. BRAY F, LOOS AH, McCARRON P, WEIDERPASS E, ARBYN M, MOLLER H, HAKAMA M, PARKIN DM. Trends in cervical squamous cell carcinoma incidence in 13 European countries: Changing risk and the effects of screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:677-86.
4. FERLAY J, BRAY F, PISANI P, PARKIN DM. GLOBOCAN 2002. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC CancerBase No. 5 version 2.0. Lyon, France: Press; 2004.
5. ZNAOR A, STRNAD M. Cervical Cancer in Croatia: State of the Art and Possibilities of Prevention. *Coll Antropol* 2007;31 (2):37-40.
6. PRIMIC-ŽAKELJ M, REPŠE-FOKTER A. Cervical Cancer Screening: A Slovenian experience. *Coll Antropol* 2007;31 (2):23-26.
7. IARC. Epidemiology of infection: human papillomaviruses. *Carcinog Risk Chem Hum* 1995;64:60-5.
8. MUNOZ N, BOSCH FX, de SANJOSE S, HERRERO R, CASTELLSAGUE X, SHAH KV i sur. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27.
9. MUNOZ N, CASTELLSAGUE X, de GONZALEZ AB, GISSMAN L, CHAPER I. HPV in etiology of human cancer. *Vaccine* 2006;24(Suppl3):S1-7.
10. HOWELY PM, LOWY DR. Papillomaviruses U: Knipe DM, Howely PM ur. *Virology*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2001, 2197-229.
11. GJOEN K, OLSEN AO, MAGNUS P, GRINDE B, SAUER T, ORSTAVIK I. Prevalence of human papillomavirus in cervical scrapes, as analyzed by PCR, in a population-based sample of women with and without cervical dysplasia. *APMIS* 1996;104(1):68-74.
12. SCHLECHT NF, KULAGA S, ROBITAILLE J, FERREIRA S, SANTOS M, MIYAMURA RA et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *J Am Med Assoc* 2001;286:3106-14.
13. BASEMAN JG, KOUTSKY LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005;32(Suppl.1):S16-24.
14. BOSCH FX, de SANJOSE S. Human papillomavirus and cervical cancer – burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:3-13.
15. MUNOZ N, MENDEZ F, POSSO H, MOLANO M, van den DRULE AJ, RONDEROS M i sur. Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Columbian women with normal cytological results. *J Infect Dis* 2004;190(12):2077-87.
16. SPENCE A, FRANCO E, FERENCZY A. The role of human papillomaviruses in cancer: evidence to date. *Am J Cancer* 2005;4:49-64.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2003. US Department of Health and Human Services; 2004.
18. WINER RL, LEE SK, HUGHES JP, ADAM DE, KIVATNB, KOUTSKY LA. Genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338(7):423-8.
19. MACIAG PC, SCHLECHT NF, SOUZA PS, ROHAN TE, FRANCO EL, VILLA LL. Polymorphisms of the human leukocyte antigen DRB1 and DQB1 genes and the natural history of human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2002;186(2):164-72.
20. WANG SS, HILDESHEIM A. Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:35-40.
21. ROUSE BT, SUVAS S. Regulatory cells and infectious agents: detentes cordiale and contriare. *J Immunol* 2004;173:2211-5.
22. McHEYZER-WILIAMS LJ, McHEYZER-WILIAMS MG. Antigen – specific memory B cell development. *Annu Rev Immunol* 2005;23:487-513.
23. STANLEY M. Immune response to human papillomavirus. *Vaccine* 2008;24:16-22.
24. CHANG YE, LAIMINS LA. Microarray analysis identifies interferoninducible genes and Stat-1 as major transcriptional targets of human papillomavirus type 31. *J Virol* 2000;74:4174-82.
25. NEES M, GEOGHEGAN JM, HYMAN T, FRANK S, MILLER L, WOODWORTH CD. Papillomavirus type 16 oncogenes and upregulate proliferation-associated and NF.kB-responsive genes in cervical keratinocytes. *J Virol* 2001;75:4283-96.
26. 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(7):423-8.
27. GOLDIE SJ, GOLDBERGER-FIEBERT JD, GARNETT GP. Chapter 18: Public Health policy for cervical cancer prevention: The role of decision science, economic evaluation, and mathematical modeling. *Vaccine* 2006;24 (Suppl 2):S155-63.
28. Council of the European Union & Committee of Ministers. Recommendation Nr R (94)11, on screening as a tool of preventive medicine. Strasbourg: Oct. 10, 1994.
29. Council of the European Union. council Recommendation of 2 December on Cancer Screening. *Off J Eur Union* 2003;878:34-8.
30. Cervix Cancer Screening. Lyons: International Agency for Research on Cancer, 2005.
31. BOSCH FX, de SANJOSE S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;(31):3-13.
32. CUZICK J, MAYRAND MH, RONCO G, SNIJDERS PJ, WARDLE J. Chapter 10: New dimensions in cervical cancer screening. *Vaccine* 2006;24(Suppl3):S90-7.
33. World Health Organization (Geneve). *Comprehensive Cervical Cancer Control*, May 2007. Copenhagen.