



## Human papillomavirus: Microbiology, association with penile cancer, and characteristics of the vaccine

### Virus del papiloma humano (VPH): microbiología, relación con el cáncer de pene y características de la vacuna

Javier Eduardo Rengifo-Rodríguez,<sup>1</sup> Julio César Osorio,<sup>1,2</sup>  Herney Andrés García-Perdomo.<sup>1\*</sup>

#### Abstract

Over the past two decades, human papillomavirus (HPV) has been an important object of study due to its causal relation to cervical cancer and its association as a risk factor for anogenital neoplasias, especially penile cancer (PC).

The molecular study of HPV and the identification of essential proteins led to the development of the vaccine, and a clear epidemiologic relation between HPV and PC has also been identified. With respect to the molecular aspect of that association, the alteration of the P16 cellular pathway by the oncoproteins of the virus is evident, but it is not thought to be the only pathogenic mechanism. The vaccine appears to be effective in preventing HPV infection but there is not sufficient evidence that it protects against PC.

Therefore, more research is needed, both in the clinical area, to determine whether the vaccine is definitively effective/efficacious in the prevention of PC, and in molecular biology, studying the molecular mechanisms involved in the pathogeny of that neoplasia.

#### Keywords:

Human papillomavirus, penile cancer, vaccine, carcinogenesis.

**Citación:** Rengifo-Rodríguez J. E., Osorio J. C., García-Perdomo H. A. *Virus del papiloma humano (VPH): microbiología, relación con el cáncer de pene y características de la vacuna*. Rev. Mex. Urol. 2020;80(4):pp 1-10

#### Correspondencia:

\*Herney Andrés García-Perdomo. Dirección: Cll 4b #36-00. Correo electrónico: herney.garcia@correounivalle.edu.co

<sup>1</sup> Universidad del Valle, Grupo de investigación UROGIV, Cali, Colombia

<sup>2</sup> UNICOC, Cali, Colombia

**Recepción:** 08 de septiembre de 2019

**Aceptación:** 07 de abril de 2020



## Resumen

El Virus del Papiloma Humano (VPH) ha sido en las últimas 2 décadas un objeto importante de estudio por su relación causal en el cáncer de cérvix y su asociación como factor de riesgo en neoplasias anogenitales, en especial el cáncer de pene (CaPe).

El estudio molecular del VPH y la identificación de proteínas esenciales ha permitido el desarrollo de la vacuna. Además, se identifica una relación epidemiológica clara entre el VPH y el CaPe. En el aspecto molecular de esta relación, es clara la alteración de la vía del P16 celular por las oncoproteínas del virus, aunque se cree que no es el único mecanismo de patogenia. En cuanto a la vacuna, se sugiere efectividad en la prevención contra infección del VPH en hombres, aunque no hay evidencia suficiente para aseverar la protección contra CaPe.

Teniendo en cuenta lo anterior, se abre una brecha de investigación, tanto en el área clínica, para tratar de establecer la efectividad-eficacia de la vacuna en la prevención CaPe, como el de la biología molecular en el estudio de los mecanismos moleculares en la patogenia de esta neoplasia.

### Palabras clave:

Virus de papiloma humano, cáncer de pene, vacuna, carcinogénesis

## Introducción

El virus del papiloma humano (VPH) es responsable de la mayoría de los casos de cáncer de cérvix y algunos cánceres de vagina, vulva, pene, ano y orofaringe.<sup>(1)</sup> Se sabe que el VPH tiene una prevalencia aproximada del 11–12 % a nivel mundial en mujeres y dicha prevalencia se correlaciona con la prevalencia en hombres mostrando cifras similares.<sup>(2,3)</sup> Adicionalmente en Estados Unidos se han estimado prevalencias de la infección en hombres hasta del 45.2%,<sup>(4)</sup> convirtiéndola en la infección de transmisión sexual más frecuente y un factor de riesgo importante para patologías neoplásicas mencionadas.<sup>(5)</sup> Lo anterior ha perfilado al VPH como un tópico importante de estudio epidemiológico y molecular, siendo tema de elección para futuros trabajos por su íntima co-

rrelación con cáncer y en especial el de origen anogenital.<sup>(1)</sup>

El cáncer de pene (CaPe) globalmente es una patología infrecuente, pero en algunas partes del mundo como Sudamérica alcanzan prevalencias hasta del 10%.<sup>(6)</sup> El estudio de esta patología y sus factores de riesgo conlleva necesariamente a hablar del VPH como importante factor de riesgo, y la potencial relevancia que pueda tener en la prevención de este cáncer a través de la vacunación contra dichos microorganismos.<sup>(7)</sup> En este artículo se pretende describir la microbiología general del VPH, la asociación de este virus con el CaPe y las características de la vacuna, haciendo énfasis en la efectividad como método de prevención para esta patología.

## Metodología

Se realizó una búsqueda de la literatura en Medline (PubMed) y Google Académico desde 22 de julio 2019 hasta el 27 de agosto de 2019. Se incluyeron artículos de revisión, ensayos clínicos, estudios experimentales y reportes epidemiológicos teniendo en cuenta que se mencionara elementos pertinentes relacionados con microbiología del virus del papiloma humano, su relación con el CaPe y la efectividad de la vacuna contra el virus. Finalmente se obtuvo un total de 46 artículos. Se utilizaron palabras clave como *Human papillomavirus*, *penile cancer*, *vaccine*, *carcinogenesis*.

## Microbiología del VPH

La familia *Papillomaviridae* es un grupo de virus conocido desde la antigüedad, pero descrito por primera vez a finales del siglo XX.<sup>(8)</sup> Los papilomavirus están ampliamente distribuidos en la naturaleza e infectan a la mayoría de las especies de mamíferos, así como a las aves o los reptiles, con un tropismo muy definido por sus hospedadores.<sup>(9)</sup> En la actualidad hay descritos alrededor de 200 tipos de VPH, 120 de los cuales son capaces de infectar al hombre.<sup>(10)</sup>

### Estructura y función

Los VPH son virus de tamaño pequeño (55 nm), no encapsulados, presentan una simetría icosaédrica con 72 capsómeros y poseen una doble cadena circular de ácido desoxirribonucleico (ADN) de unos 8.000 pares de bases,<sup>(11)</sup> que codifica ocho genes, incluidas dos proteínas tardías estructurales capsulares (L), que

conforman la cubierta del virus y además una secuencia reguladora de ADN conocida como región larga de control. Por otro lado, codifica para seis proteínas tempranas (E) que se asocian principalmente con la regulación de genes virales y la transformación celular.<sup>(12)</sup>

Las dos proteínas de VPH más importantes en la patogénesis de la enfermedad maligna son E6 y E7. Ambas proteínas se expresan consistentemente en tumores malignos anogenitales portadores de VPH, y actúan de manera cooperativa para inmortalizar las células epiteliales. A nivel molecular, la capacidad de dichas proteínas para transformar células se relaciona en parte con su interacción con dos proteínas intracelulares, p53 y retinoblastoma (Rb), respectivamente.<sup>(13-15)</sup>

### Ciclo Replicativo

Los tipos de VPH cutáneos tienen un tropismo muy definido por la epidermis e infectan la piel de manos y pies, mientras que los tipos de VPH mucosos infectan el epitelio de la boca, la garganta, el tracto respiratorio y el tracto anogenital.<sup>(11)</sup> El ciclo viral del VPH está íntimamente unido al programa de diferenciación de las células del tejido epitelial, y las distintas fases del mismo son dependientes y acompañan al proceso de maduración y diferenciación del queratinocito.<sup>(16)</sup> La infección ocurre a través de abrasiones en el tejido epitelial que exponen las células de la capa basal a la entrada de las partículas virales, los viriones de VPH infectantes parecen unirse a la célula madre basal a través de proteoglicanos de heparán sulfato específicos de tejido,<sup>(17-19)</sup> y una vez en el interior, aprovechando la maquinaria celular, el virus se replica y se propaga restringiendo la produc-

ción de las proteínas y el ensamblaje viral a las capas superiores del epitelio.<sup>(20)</sup> Se ha visto que se transcriben productos génicos específicos en cada nivel de diferenciación del queratinocito escamoso. En el nivel más superficial, los genes para las proteínas L1, L2 y E4 se transcriben para el ensamblaje de la cápside viral en la que se empaqueta el genoma del VPH. Tras la descamación de esta célula de corta duración, se liberan viriones infecciosos del VPH para la próxima ronda de infección.<sup>(21)</sup>

La infección por VPH no produce lisis celular o muerte citopática como consecuencia de la replicación, ensamblaje o la liberación viral debido a que el queratinocito es una célula destinada a la descamación.<sup>(22)</sup> Además, para permitir la replicación viral, las proteínas virales retrasan la condensación nuclear en los queratinocitos diferenciados (coilocitos), y los queratinocitos “cargados” con el virus mueren así por causas naturales, tal y como está programado en su proceso de diferenciación.<sup>(23)</sup> De esta forma, la infección por VPH no está acompañada de inflamación, y al no haber una señal obvia de daño (muerte celular) que active al sistema inmune de la presencia viral, permite que éste pase desapercibido durante periodos muy largos, pudiendo dar lugar a la persistencia o la cronicidad de la infección.<sup>(24)</sup>

### Relación del VPH con el cáncer de pene Presencia del VPH en cáncer de pene

El VPH es la infección de transmisión sexual más común en Estados Unidos y probablemente a nivel mundial,<sup>(5,25)</sup> por lo tanto cobra importancia por su ya descrita relación como agente causal del cáncer de cérvix y como importante factor de riesgo para el CaPe.<sup>(7)</sup> Derivado de lo

anterior, se han descrito genotipos de alto riesgo y bajo riesgo. Dentro de los de alto riesgo se encuentran 16, 18, 33 y 35, en los de bajo riesgo se identifican 6 y 11 para cáncer de cérvix.<sup>(26)</sup> En cuanto a genotipos de riesgo para CaPe como tal, se sabe que la prevalencia del ADN del VPH en el CaPe fue del 51 %, siendo el tipo oncogénico predominante el VPH 16 (68 %), seguido por el VPH 6 (8 %) y VPH 18 (7 %). La prevalencia agrupada de ADN del VPH en la neoplasia intraepitelial del pene alcanza un 80%.<sup>(27)</sup> En contraste, la infección por los genotipos 16 y 18 son objeto de estudio importante como agente causal del cáncer de cérvix y como factor de riesgo relevante en CaPe.

### Mecanismos moleculares del cáncer de pene

El carcinoma de células escamosas representa alrededor del 95% de todas las enfermedades malignas del pene. El 5% restante comprende varias entidades tumorales raras, desde carcinomas de células claras, medulares y basales hasta melanomas y sarcomas, entre otros.<sup>(28,29)</sup> Del estudio de este tipo histológico de cáncer, se ha encontrado vías y mecanismos moleculares importantes los cuales se relacionan con esta patología y que aún son en gran medida desconocidos. Esto se podría deber a la poca frecuencia de la enfermedad en países industrializados, por lo tanto, al pequeño número de casos y al escaso material tisular disponible para la investigación molecular.<sup>(28)</sup>

Uno de los mecanismos mejor descritos para el desarrollo del CaPe es el estado de inflamación crónica de las células epiteliales, este es el mecanismo general, tanto en tipos de CaPe dependiente de VPH como en los inde-

pendientes. Se ha estudiado que el gen supresor tumoral, p16, desempeña un papel clave en la patogénesis del CaPe a través de la pérdida de la capacidad de inducir apoptosis en células produciendo un daño en el ADN celular.<sup>(30,31)</sup> El gen p16 codifica la proteína p16INK4A, y la expresión aumentada de esta proteína se ha visto como un evento tardío después de la infección por VPH y causa la inactivación de la cascada del ciclo celular. En el carcinoma cervical, el aumento de la expresión de p16INK4A se ha asociado con la transformación maligna en los cánceres positivos para el VPH.<sup>(32)</sup>

En cuanto al CaPe VPH específico, los oncogenes del virus codifican para las proteínas E5, E6, E7, de los cuales E6 y E7 inactivan las vías p53 y p21/Retinoblastoma (Rb) respectivamente. Al inactivar esta vía, conduce a una regulación positiva de p16INK4A en el ciclo, esto conduce a un ciclo celular no regulado y una proliferación descontrolada.<sup>(28,31,33)</sup> También se ha visto que el ADN del VPH se puede insertar en las células no cancerígenas y causar una regulación positiva y la amplificación del gen MYC, lo que conduce a una proliferación y progresión descontrolada de la enfermedad.<sup>(31,34)</sup> La proteína HPV-E5 es responsable de la activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que posteriormente conduce a un aumento en el crecimiento celular no controlado y la migración celular.<sup>(31,35,36)</sup>

En contraste, los VPH de bajo riesgo, el tipo 6 y el tipo 11, se asocian más comúnmente con lesiones benignas. No se cree que estas variantes participen activamente en la carcinogénesis, ya que se ha demostrado que sus oncoproteínas no causan un efecto significativo de la vía supresora de tumores Rb y p53, lo que conduce a una regulación positiva mínima de p16INK4A.<sup>(28,37)</sup> Sin embargo, estas variantes se

encuentran comúnmente en CaPe en especial VPH 6.

## Características de la vacuna del VPH Vacunas disponibles

Se han desarrollado tres vacunas diferentes, que varían en la cantidad de tipos de VPH e inmunógenos que contienen y a los cuales se dirigen. La vacuna cuadrivalente contra el VPH (Gardasil) se dirige a los tipos 6, 11, 16 y 18 del VPH, La vacuna 9-valente (Gardasil 9) se dirige a los mismos tipos de VPH que la vacuna cuadrivalente (6, 11, 16 y 18), así como a los tipos 31, 33, 45, 52 y 58, por último, la vacuna bivalente (Cervarix) se dirige a los tipos de VPH 16 y 18.<sup>(38)</sup>

Todas estas son vacunas profilácticas, diseñadas para prevenir la infección inicial por VPH y las lesiones posteriores asociadas con el VPH. Las vacunas terapéuticas, diseñadas para inducir la regresión de las lesiones existentes asociadas al VPH, están en desarrollo, pero no están aún disponibles como la VGX-3100.<sup>(39)</sup>

## Mecanismos de acción

Las vacunas contra el VPH utilizan tecnología de ADN recombinante en un sistema de cultivo celular, por lo que el gen del VPH de la proteína L1, que conforma la cápside viral externa, se expresa en un vector como las células eucariotas (células de levadura *Saccharomyces cerevisiae* o células de ovario *Spodoptera frugiperda*). Estas cápsides virales vacías se auto-ensamblan en dicho medio de cultivo en las llamadas “partículas similares a virus” (VLP) e imitan efectivamente una infección viral por VPH natural,

pero no son infecciosas, dado que no contienen ningún ADN.<sup>(40,41)</sup>

En cuanto a la respuesta inmune generada por la administración de la vacuna, las infecciones naturales en animales muestran que el anticuerpo neutralizante contra la proteína de la cubierta del virus L1 es protector, lo que sugiere que esta sería una estrategia eficaz de la vacuna. Las vacunas actuales contra el VPH VLP estimulan los componentes inmunes intraepiteliales y generan altos niveles de anticuerpos y memoria, tanto serológica como de células B, como lo demuestra la persistencia de anticuerpos y respuestas de memoria sólidas que persisten en el tiempo.<sup>(42)</sup>

### Efectividad de la vacuna del VPH

La aparición en la escena mundial de la vacuna del VPH abre un campo extenso de estudio como método preventivo en cuanto a patología neoplásica asociada a este virus. Por esto, la costo-efectividad y la eficacia de la vacuna en cuanto a prevención de patología cancerosa en hombres y en especial en CaPe es objeto de investigación.<sup>(25,43)</sup>

La eficacia es definida como la prevención de la infección por un tipo específico de VPH que sea persistente en la población. Se mide a través de la presencia de seronegatividad o PCR-ADN negativa para cada tipo de virus relevante para la vacuna después de la administración de esta.<sup>(38)</sup> Con base en esta definición, se ha tratado de determinar la eficacia en prevención en hombres de la infección del VPH, la aparición de lesiones precursoras y de neoplasias. Se ha encontrado que todo se dirige a que la vacuna es efectiva en la prevención de la infección del VPH y por ende sugiere la prevención de CaPe

entre otras neoplasias asociadas a este virus en hombres, aunque la evidencia no es consistente, probablemente por la baja frecuencia de la enfermedad.<sup>(44,45)</sup> A pesar del vacío que existe, la OMS y algunos autores recomiendan la vacunación en ambos sexos, basados en la premisa de la eficacia demostrada en la prevención que ofrece la vacuna contra la infección por el VPH en hombres.<sup>(46)</sup> Teniendo en cuenta lo anterior, se puede decir que aún faltan más estudios en el tema para establecer una relación preventiva definitiva entre la vacuna del VPH y el CaPe, además, en el mundo están en desarrollo estudios de costo-efectividad para establecer la viabilidad de programas de vacunación para hombres.<sup>(43)</sup>

### Conclusiones

En el presente trabajo, se establece la relación epidemiológica entre el VPH y el cáncer de pene, ratificando la idea del virus como factor de riesgo/etiológico de esta neoplasia. También se describe el mecanismo más estudiado en cuanto a su patogenia para la adecuada comprensión de esta asociación. Sin embargo, aún faltan estudios para aseverar que la vacuna contra VPH es efectiva para prevenir el cáncer de pene.

### Referencias

1. Senkomago V, Henley SJ, Thomas CC, Mix JM, Markowitz LE, Saraiya M. Human Papillomavirus–Attributable Cancers — United States, 2012–2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2019 Aug 23;68(33):724–8. doi: <https://dx.doi.org/10.15585%2Fmmwr.mm6833a3>

2. **Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al.** Global Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30:F12–23. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.07.055>
3. **Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Barregard L, Bhutta ZA, Brenner H, et al.** Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol*. 2017 Apr 1;3(4):524–48. doi: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.5688>
4. **Deshmukh AA, Tanner RJ, Luetke MC, Hong Y-R, Sonawane Deshmukh K, Mainous AG.** Prevalence and Risk of Penile Human Papillomavirus Infection: Evidence From The National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2014. *Clin Infect Dis*. 2017 May 15;64(10):1360–6. doi: <https://doi.org/10.1093/cid/cix159>
5. **Cates W.** Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. American Social Health Association Panel. *Sex Transm Dis*. 1999 Apr;26(4 Suppl):S2–7. doi: <https://doi.org/10.1097/00007435-199904001-00002>
6. **Diorio GJ, Leone AR, Spiess PE.** Management of Penile Cancer. *Urology*. 2016 Oct;96:15–21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.urology.2015.12.041>
7. **Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, Muñoz J, et al.** Human Papillomavirus and Related Diseases Report. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre); 2019 Jun p. 307. Available from: <https://hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>
8. **Syrjänen S, Syrjänen K.** The History of Papillomavirus Research. *Cent Eur J Public Health*. 2008;16:S7–41.
9. **Bernard H-U, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers E-M.** Classification of Papillomaviruses (PVs) Based on 189 PV Types and Proposal of Taxonomic Amendments. *Virology*. 2010 May 25;401(1):70–9. doi: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virol.2010.02.002>
10. **Cubie HA.** Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology*. 2013 Oct;445(1–2):21–34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.06.007>
11. **Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I.** Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Reviews in Medical Virology*. 2015;25(S1):2–23. doi: <https://doi.org/10.1002/rmv.1822>
12. **Palefsky JM, Holly E.** Molecular virology and epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 1995;
13. **Münger K, Phelps WC, Bubb V, Howley PM, Schlegel R.** The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *Journal of Virology*. 1989 Oct 1;63(10):4417–21.
14. **Roman A, Munger K.** The papillomavirus E7 proteins. *Virology*. 2013 Oct;445(0):138–68. doi: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virol.2013.04.013>
15. **Duensing S, Münger K.** Mechanisms of genomic instability in human cancer: Insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *International Journal of Cancer*. 2004;109(2):157–62. doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.11691>



16. **Strati K.** Changing Stem Cell Dynamics during Papillomavirus Infection: Potential Roles for Cellular Plasticity in the Viral Lifecycle and Disease. *Viruses*. 2017 Aug;9(8):221. doi: <https://doi.org/10.3390/v9080221>
17. **Shafti-Keramat S, Handisurya A, Kriehuber E, Meneguzzi G, Slupetzky K, Kirnbauer R.** Different Heparan Sulfate Proteoglycans Serve as Cellular Receptors for Human Papillomaviruses. *Journal of Virology*. 2003 Dec 15;77(24):13125–35. doi: <https://doi.org/10.1128/JVI.77.24.13125-13135.2003>
18. **Johnson KM, Kines RC, Roberts JN, Lowy DR, Schiller JT, Day PM.** Role of Heparan Sulfate in Attachment to and Infection of the Murine Female Genital Tract by Human Papillomavirus. *J Virol*. 2009 Mar;83(5):2067–74. doi: <https://dx.doi.org/10.1128%2FJVI.02190-08>
19. **Selinka H-C, Florin L, Patel HD, Freitag K, Schmidtke M, Makarov VA, et al.** Inhibition of Transfer to Secondary Receptors by Heparan Sulfate-Binding Drug or Antibody Induces Noninfectious Uptake of Human Papillomavirus. *J Virol*. 2007 Oct;81(20):10970–80. doi: <https://dx.doi.org/10.1128%2FJVI.00998-07>
20. **Conway MJ, Meyers C.** Replication and Assembly of Human Papillomaviruses. *J Dent Res*. 2009 Apr;88(4):307–17. doi: <https://dx.doi.org/10.1177%2F0022034509333446>
21. **Doorbar J.** Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci*. 2006 May;110(5):525–41. doi: <https://doi.org/10.1042/CS20050369>
22. **Stanley MA.** Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Apr;25(2):215–22. doi: <https://dx.doi.org/10.1128%2FCMR.05028-11>
23. **Burd E.** Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 16: 1–17. 2003.
24. **Tindle RW.** Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. *Nat Rev Cancer*. 2002 Jan;2(1):59–65. doi: <https://doi.org/10.1038/nrc700>
25. **Stratton KL, Culkin DJ.** A Contemporary Review of HPV and Penile Cancer. *Oncology (Williston Park, NY)*. 2016 Mar;30(3):245–9.
26. **Mammas IN, Spandidos DA, Sourvinos G.** Genomic diversity of human papillomaviruses (HPV) and clinical implications: an overview in adulthood and childhood. *Infect Genet Evol*. 2014 Jan;21:220–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.002>
27. **Olesen TB, Sand FL, Rasmussen CL, Albieri V, Toft BG, Norrild B, et al.** Prevalence of human papillomavirus DNA and p16INK4a in penile cancer and penile intraepithelial neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2019;20(1):145–58. doi: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30682-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30682-X)
28. **Emmanuel A, Nettleton J, Watkin N, Berney DM.** The molecular pathogenesis of penile carcinoma—current developments and understanding. *Virchows Arch*. 2019 Oct 1;475(4):397–405. doi: <https://doi.org/10.1007/s00428-019-02607-8>
29. **Kayes O, Ahmed HU, Arya M, Minhas S.** Molecular and genetic pathways in penile cancer. *Lancet Oncol*. 2007 May;8(5):420–9. doi: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(07\)70137-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(07)70137-7)
30. **Protzel C, Spiess PE.** Molecular Research in Penile Cancer—Lessons Learned from the Past and Bright Horizons of the Future? *Int J Mol Sci*. 2013 Sep 26;14(10):19494–505. doi: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms141019494>
31. **Adashek JJ, Necchi A, Spiess PE.** Updates in the molecular epidemiology and systemic approaches to penile cancer. *Urologic*



- Oncology: Seminars and Original Investigations. 2019 Jul;37(7):403–8. doi: <https://doi.org/10.1016%2Fj.urolonc.2019.04.012>
32. **Poetsch M, Hemmerich M, Kakies C, Kleist B, Wolf E, vom Dorp F, et al.** Alterations in the tumor suppressor gene p16INK4A are associated with aggressive behavior of penile carcinomas. *Virchows Arch.* 2011 Feb 1;458(2):221–9. doi: <https://doi.org/10.1007/s00428-010-1007-4>
  33. **Hanahan D, Weinberg RA.** Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646–74. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
  34. **Peter M, Rosty C, Couturier J, Radvanyi F, Teshima H, Sastre-Garau X.** MYC activation associated with the integration of HPV DNA at the MYC locus in genital tumors. *Oncogene.* 2006 Sep 28;25(44):5985–93. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209625>
  35. **Chipollini J, Chaing S, Azizi M, Kidd LC, Kim P, Spiess PE.** Advances in Understanding of Penile Carcinogenesis: The Search for Actionable Targets. *Int J Mol Sci.* 2017 Aug 16;18(8). [accessed 6 May 2020] Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5578166/>
  36. **Agarwal G, Gupta S, Spiess PE.** Novel targeted therapies for the treatment of penile cancer. *Expert Opinion on Drug Discovery.* 2014 Aug 1;9(8):959–68. doi: <https://doi.org/10.1517/17460441.2014.925875>
  37. **Guimerà N, Lloveras B, Lindeman J, Alemany L, van de Sandt M, Alejo M, et al.** The occasional role of low-risk human papillomaviruses 6, 11, 42, 44, and 70 in anogenital carcinoma defined by laser capture microdissection/PCR methodology: results from a global study. *Am J Surg Pathol.* 2013 Sep;37(9):1299–310. doi: <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31828b6be4>
  38. **Harper DM, DeMars LR.** HPV vaccines - A review of the first decade. *Gynecol Oncol.* 2017;146(1):196–204. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.04.004>
  39. **Trimble CL, Morrow MP, Kraynyak KA, Shen X, Dallas M, Yan J, et al.** Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet.* 2015 Nov 21;386(10008):2078–88. doi: [https://dx.doi.org/10.1016%2F0140-6736\(15\)00239-1](https://dx.doi.org/10.1016%2F0140-6736(15)00239-1)
  40. **Granadillo M, Torrén I.** Human papillomavirus vaccines: current status and perspectives. *Biotechnologia Aplicada.* 2008;25(1):1–6.
  41. **Stillo M, Santistevé PC, Lopalco PL.** Safety of human papillomavirus vaccines: a review. *Expert Opinion on Drug Safety.* 2015 May 4;14(5):697–712. doi: <https://doi.org/10.1517/14740338.2015.1013532>
  42. **Stanley M.** HPV - immune response to infection and vaccination. *Infect Agents Cancer.* 2010 Oct 20;5(1):19. doi: <https://doi.org/10.1186/1750-9378-5-19>
  43. **Douglawi A, Masterson TA.** Updates on the epidemiology and risk factors for penile cancer. *Transl Androl Urol.* 2017 Oct;6(5):785–90. doi: <https://dx.doi.org/10.21037%2Ftau.2017.05.19>
  44. **Giuliano AR, Palefsky JM, Goldstone S, Moreira ED, Penny ME, Aranda C, et al.** Efficacy of Quadrivalent HPV Vaccine against HPV Infection and Disease in Males. *N Engl J Med.* 2011 Feb 3;364(5):401–11. doi: <https://dx.doi.org/10.1056%2FNEJMoa0909537>
  45. **Harder T, Wichmann O, Klug SJ, van der Sande MAB, Wiese-Posselt M.** Efficacy, effectiveness and safety of vaccination against human papillomavirus in males: a systematic

review. BMC Med. 2018 Jul 18;16. [accessed 6 May 2020] Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6050686/>

46. **Voris BRI, Visintin CDN, Reis LO, Voris BRI, Visintin CDN, Reis LO.** HPV vaccination is fundamental for reducing or eradicate penile cancer | Opinion: YES. International braz j urol. 2018 Oct;44(5):859–61. doi: <https://doi.org/10.1590/s1677-5538.ibju.2018.05.02>