

Original

Tratamiento inmunomodulador con interferón beta en pacientes con neoplasia cervical intraepitelial e infección por virus del papiloma humano. Seguimiento a largo plazo

E. Cazorla¹, A. Urgal¹, J. Córdoba², A. Boldó¹, M. Marín¹, M. Sánchez Gutiérrez¹, J.M. Molina² y J. Llixiona¹

¹Servicio de Ginecología y ²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe, Valencia

RESUMEN

El objetivo del estudio fue valorar la eficacia a largo plazo del interferón beta en el tratamiento de las lesiones cervicales intraepiteliales asociadas a infección por el virus del papiloma humano (VPH) en un grupo de pacientes seleccionadas. Se administraron 27.000.000 UI de interferón beta intramuscular a 39 pacientes con diagnóstico citopatológico de neoplasia cervical intraepitelial I-II y determinación de VPH positiva. Se realizaron controles periódicos posteriores mediante citología o colposcopia (o ambas) y detección del DNA-VPH, por un plazo máximo de 8 años. Se logró un porcentaje de respuesta completa inicial del 75% y una tasa de recidivas del 25%, siendo de neoplasia cervical intraepitelial de mayor grado las producidas más tardíamente. En ningún caso tuvo que suspenderse el tratamiento por sus efectos secundarios. La existencia de coinfecciones virales parece confirmarse como un factor de riesgo para la recidiva, no así la multiparidad ni el hábito tabáquico. La inmunomodulación con interferón beta parece obtener buenos resultados a largo plazo en el tratamiento de la neoplasia cervical intraepitelial I-II, aunque son necesarios estudios aleatorizados más amplios para conseguir resultados concluyentes.

Palabras clave: Interferón beta - Neoplasia cervical intraepitelial - Virus del papiloma humano

Immunomodulatory treatment with beta-interferon in patients with cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection: Long-term follow-up

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the long-term efficacy of beta-interferon treatment in the management of cervical intraepithelial neoplasia associated with human papillomavirus (HPV) infection in a selected group of patients. Thirty-nine patients who had histologically proven cervical intraepithelial neoplasia I or II with concurrent HPV infection were administered 27,000,000 IU of intramuscular beta-interferon. Periodical controls were carried out based on Papanicolau smears and/or colposcopic examination and DNA HPV determination was performed by hybridation test, for a maximum of 8 years' follow-up. An initial complete response rate of 75% was obtained, with a recurrence rate of 25%; cervical intraepithelial neoplasia with late manifestation was of higher grade. Treatment interruption due to side-effects was not necessary. Associated viral infections appeared to be a recurrence risk factor, but not smoking or parity. While immunomodulatory treatment with beta-interferon has good long-term results in cervical intraepithelial neoplasia I/II treatment, wider randomized studies are required to obtain conclusive results

Key words: Beta-interferon - Cervical intraepithelial neoplasia - Human papillomavirus

INTRODUCCIÓN

El cáncer escamoso cervical comienza como una lesión intraepitelial en la unión escamocolumnar en la zona de transformación. La lesión generalmente se inicia por alteraciones en células aisladas, y la progresión a cáncer invasor se produce después de una secuencia de acontecimientos según la proporción de células indiferenciadas (1). Supone la mayor causa de muerte por cáncer en las mujeres en los países desarrollados y la segunda en todo el mundo (2). Distintos estudios epidemiológicos, clínicos, patológicos y moleculares han señalado a la infección por el virus del papiloma humano (VPH) como el agente etiológico principal en la carcinogénesis del epitelio del tracto genital inferior femenino (3-5). Actualmente, el VPH es el factor independiente más importante implicado en la inmortalización y transformación maligna de las células epiteliales (6), pudiendo detectarse la presencia de su DNA en el 99,7% de los cánceres cervicales (7).

Las infecciones por VPH suelen ser transitorias por la respuesta del sistema inmunitario de la paciente (8, 9), e incluso podrían tener cierto carácter protector frente a reinfecciones por el mismo tipo de virus; sin embargo, la infección persistente por VPH oncogénicos es el primer requisito para la carcinogénesis, aunque se precisan cofactores para su persistencia y progresión. Ésta pasa generalmente por la integración del genoma viral en el DNA celular, con inducción de la síntesis de sus oncoproteínas E6 y E7, capaces de bloquear las proteínas p53 y Rb, condicionando una situación de "inmortalidad" en los queratinocitos, cuyo DNA no sólo ha quedado dañado sino que puede continuar acumulando errores (7). La inadecuada respuesta linfocitaria es la causa del mantenimiento de la infección por VPH y de la evolución hacia lesiones intraepiteliales escamosas de distinto grado (10). El uso del interferón como modulador de la respuesta linfocitaria en células infectadas por el VPH se plantea como una posible alternativa al tratamiento quirúrgico, ya sea en administración sistémica o intralesional (11-15).

En el presente estudio se revisan los resultados a largo plazo en un grupo de pacientes con diagnóstico histológico de neoplasia cervical intraepitelial e infección por VPH tratadas con interferón beta sistémico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el periodo comprendido entre marzo de 1994 y septiembre de 1996, 150 pacientes con diagnóstico citológico de lesiones intraepiteliales escamosas fueron remitidas a nuestro centro para evaluación y tratamiento. Con el

fin de determinar una posible regresión espontánea se practicó nueva citología, colposcopia y biopsia si procedía, así como toma para determinación de VPH. Del total de pacientes, se confirmó el diagnóstico en 116 casos (77,3%), de los cuales 70 correspondieron a neoplasia cervical intraepitelial I-II. En 21 pacientes de estas 70 el resultado del VPH fue negativo, y en otras 10 se optó por tratamiento quirúrgico mediante conización cervical (ocho casos de grado II que no aceptaron el tratamiento médico) o histerectomía que se indicó ante otra enfermedad ginecológica concomitante (dos casos). En las 39 restantes se administró tratamiento con interferón. La pauta utilizada fue interferón beta, 3.000.000 UI por vía intramuscular, en días alternos, hasta una dosis total de 27.000.000 UI. Se observaron efectos secundarios leves, como fiebre, mialgias o cefalea, en el 38,5% de las pacientes, que no obligaron a suspender el tratamiento. Los controles posteriores se practicaron a los dos a tres meses de finalizado el tratamiento, semestralmente durante cuatro años y posteriormente cada año hasta un máximo de ocho años. Dichos controles incluían citología cervicovaginal, colposcopia y toma para determinación de VPH. Se consideró como respuesta completa al tratamiento la desaparición de los hallazgos citopatológicos, incluidos los asociados a la infección por VPH, y la negativización del DNA de éste tras la administración de un ciclo de 27.000.000 UI.

En 15 pacientes no se detectó regresión de la lesión tras el tratamiento inicial. En diez de éstas (ocho casos de neoplasia cervical intraepitelial de grado II y dos de grado I) no se obtuvo respuesta, por lo que se pasó a tratamiento quirúrgico mediante conización. En las otras cinco se comprobó una respuesta parcial, consistente en tres casos de grado II inicial que, tras tratamiento y control posterior, se modificaron a grado I, y dos casos de grado I inicial con resultado posterior de cambios coilocíticos y persistencia de la infección por VPH. La evolución de estas cinco pacientes fue hacia la desaparición completa en el control anual en tres casos, con VPH negativo, mientras que en los otros dos continuaba la lesión en el control semestral: un caso de neoplasia cervical intraepitelial de grado II persistente y otro de grado II que al año presentó positividad de VPH de alto riesgo con colposcopia sospechosa y biopsia de grado III. Estas dos pacientes fueron tratadas con conización cervical.

Las 24 pacientes con respuesta completa entraron en el protocolo de seguimiento. A dos de estas pacientes, en las cuales se encontró una muestra VPH positiva en ausencia de lesión citopatológica o colposcópica, se les administró un segundo ciclo de tratamiento con interferón beta.

La detección de DNA del VPH se llevó a cabo mediante hibridación molecular con *Digene Hybride Capture Sys-*

Tabla 1. Distribución de las pacientes según el grado inicial de la neoplasia cervical intraepitelial y su evolución.

	Inicial		Recidiva		
	Grado I	Grado II	Grado I	Grado II	Grado III
Respuesta completa inicial (n = 24)	16	8	2	1	3
Recidiva en el primer año (n = 2)	1	1	2	0	0
Recidiva entre uno y tres años (n = 3)	2	1	0	0	3
Recidiva después de tres años (n = 1)	1	0	0	1	0
Ausencia de lesión (n = 18)	12	16	0	0	0

tem[®], que utiliza la detección quimioluminiscente. Esta técnica nos permite identificar la presencia de los 14 VPH anogenitales más frecuentes, distinguiendo los tipos de bajo riesgo (6, 11, 42-44) de aquéllos de riesgo intermedio o alto (16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 y 56).

RESULTADOS

El periodo de seguimiento osciló entre un mínimo de cuatro años y un máximo de ocho. La distribución según el grado inicial de la neoplasia cervical intraepitelial y la evolución de las pacientes se presenta en el Tabla 1.

Del total de 24 pacientes con respuesta completa encontramos seis casos de recidiva de la lesión, que fueron en forma de lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (I) en las pacientes con recaída en el primer año, y de alto grado (II-III) en las pacientes con mayor tiempo de seguimiento. Las dos mujeres que recayeron en el primer año fueron sometidas a una conización, y en una de ellas no se encontró lesión anatomopatológica.

En los casos de recidiva en el intervalo de uno a tres años, el tratamiento definitivo fue la histerectomía por vía abdominal. En una paciente la indicación fue la afectación de los bordes del cono cervical por lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (III). En otra paciente la indicación fue por coexistencia de un útero miomatoso y una histología de neoplasia cervical intraepitelial de grado III; a los tres años se le diagnosticó una lesión de alto grado vaginal e infección por VPH, por lo que fue tratada con criocoagulación e interferón beta, siendo negativo el control al año. Se trataba de una paciente de 48 años con una cesárea previa, casada, no fumadora y portadora del VHB. En el tercer caso se recurrió a histerectomía por el hallazgo de neoplasia cervical intraepitelial de grado III en la pieza de conización y tratarse de una paciente VIH positiva.

El caso de recidiva tardía ocurrió en el cuarto año de control y era una paciente nulípara con diagnóstico en pie-

za de conización de neoplasia cervical intraepitelial de grado II, destacando en el periodo libre de enfermedad un embarazo ectópico a los dos años del tratamiento. Los casos de coinfección por el VIH se distribuyeron en una recidiva intermedia y una ausencia de lesión. Esta paciente presentaba carga viral indetectable y su periodo de seguimiento fue de ocho años, en los que no se detectó lesión citopatológica ni colposcópica, permaneciendo negativas las determinaciones del VPH.

Todas las recidivas se acompañaron de la presencia de VPH de alto riesgo. En el grupo de no recidiva encontramos dos mujeres con VPH positivo sin lesión clínica ni patológica al año y dos años de iniciado el control. A ambas se les administró una segunda tanda de interferón beta, y las detecciones posteriores del VPH fueron negativas. En la pareja de una de ellas también se obtuvo un resultado positivo para el VPH, aplicándosele al varón el mismo protocolo de tratamiento con interferón beta. En la Tabla 2 se presentan los resultados de estas pacientes.

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio nos dan una tasa de recurrencia del 25% sobre el total de pacientes incluidas en el grupo de tratamiento conservador con interferón beta sistémico. Se trata de una muestra de pequeño tamaño y seleccionada en función del tipo de lesión (neoplasia cervical intraepitelial de grado I-II), lo que hace que las conclusiones sean limitadas, si bien se presenta como una posible alternativa al tratamiento quirúrgico. Se requieren estudios aleatorizados, pero podrían ser controvertidos respecto a su planteamiento, dada la complejidad a la hora de establecer grupos homogéneos de pacientes en cuanto a factores de riesgo que puedan influir. Por otro lado, la propia historia natural de la lesión, con su tendencia incierta tanto a la curación como a la progresión, es otra cuestión a tener en cuenta antes de interpretar los resultados. Por último, la evidencia de su íntima relación con la infección por VPH ha-

Tabla 2. Características y distribución de las pacientes según la respuesta al tratamiento con interferón beta.

Evolución	Edad media	Múltiparas	Coinfección*	Pareja estable
Respuesta completa inicial (n = 24)	32,7	15	4	22
Recidiva en el primer año (n = 2)	43,5	2	0	2
Recidiva entre uno y tres años (n = 3)	36	2	2	3
Recidiva tardía (n = 1)	22	No	No	Sí
Ausencia de lesión (n = 18)	31,7	11	2	16

*Dos casos de VHB y dos casos de VIH, una de ellas adicta a drogas por vía parenteral y portadora del VHC.

ce centrar las investigaciones en un tratamiento etiológico preventivo que busque hacer regresar la lesión o impedir su aparición, como las vacunas terapéuticas (16).

En el planteamiento de la utilidad del tratamiento médico conservador frente al quirúrgico ha de considerarse el riesgo de recidivas. La disparidad en cuanto a las características de las pacientes incluidas en distintos estudios hace difícil establecer unos porcentajes ajustados que permitan unificar pautas. Así, el porcentaje de recidivas tras el tratamiento quirúrgico en lesiones intraepiteliales escamosas oscila entre un 3% (17) y un 47% (18, 19).

Cuando revisamos los distintos tratamientos conservadores con interferón nos encontramos con una situación similar. En un estudio reciente, con control a largo plazo, se describen recidivas en un 47% de las pacientes, con el inconveniente de que se trata de una muestra escasa (15). Otros autores con valoraciones más a corto plazo muestran unos índices de recurrencia que oscilan entre el 21% y el 58% (11, 14, 20, 21).

La alta variabilidad hace que la mayoría de los resultados se encuentren dentro del amplio intervalo referenciado en la literatura. Lo que sí parece cierto es que los resultados comparados con placebo apuntan a una mejor evolución de las pacientes tratadas con interferón, si bien el control a largo plazo con muestras amplias es deficiente.

La historia natural de la infección por VPH ha sido ampliamente estudiada, estableciéndose que el periodo de mayor probabilidad de recurrencia es los dos primeros años (22), y que éste es el factor predictivo más importante de reaparición de lesión tras el tratamiento quirúrgico (23). En un estudio reciente se comenta que la administración de interferón podría contribuir a una cierta resistencia frente a la reinfección y al desarrollo de una recidiva (15), lo que justificaría que ésta se manifestase fundamentalmente pasados esos dos años, cuando la recurrencia de forma espontánea, derivada del curso natural de la enfermedad, es más probable. En nuestro caso no hay diferencias respecto al porcentaje de recidivas tardías o dentro de los primeros años,

quizá debido al bajo número de pacientes, que dificulta establecer conclusiones.

Los casos de VPH inicial negativos asociados a lesiones intraepiteliales escamosas pueden ser explicados por falsos negativos en relación con el tipo de técnica de determinación usada (hibridación molecular, diagnóstico clínico o citológico) y las características de la toma (presencia o no de células infectadas, integración de parte del DNA del VPH en la célula huésped) (7). Estas pacientes entrarían en el grupo de “no riesgo” de forma equivocada y no serían controladas de forma exhaustiva, con lo que podrían presentar recurrencias inadvertidas. En nuestro estudio, 21 pacientes diagnosticadas de neoplasia cervical intraepitelial de grado I-II fueron inicialmente negativas para el VPH, lo cual nos plantea dos posibilidades: la primera, que la toma de la muestra pudiera no haberse realizado de manera óptima, no recogiendo una concentración suficiente de virus para que la detección resultase positiva; y la segunda, que puede ser complementaria de la anterior, es la sensibilidad de la técnica empleada. En efecto, la técnica de hibridación molecular empleada entre los años 1994 y 1996 tenía una sensibilidad limitada, que en la actualidad ha sido superada por las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, como la PCR, tanto si se utilizan cebadores derivados de la región L1 del genoma del VPH como de otras regiones más conservadas del DNA del virus, como los genes E6 y E7. Tal como se ha demostrado en los casos de cáncer de cérvix, los genes más invariables del VPH son E6 y E7, ya que son necesarios para la conversión de las células normales en atípicas y el mantenimiento de sus características de malignidad, por lo que su determinación hace que el porcentaje inicial negativo se corrija y nos acerque casi al 100% de diagnóstico (7, 24, 25). Este descubrimiento ha sido la base del inicio del desarrollo de las vacunas terapéuticas, cuyo uso podría llevar a la casi desaparición del cáncer de cérvix (26).

La evolución total de nuestros casos muestra una aceptable respuesta global al tratamiento con interferón beta

sistémico (75% sin recurrencias). Los casos de recidiva en forma de neoplasia cervical intraepitelial de mayor grado correspondieron a las pacientes con más tiempo de control. Al analizar las características de estas cuatro pacientes de forma individualizada, encontramos que todas estaban casadas y referían tener una pareja estable. Respecto al hábito tabáquico, referenciado en la literatura como factor de riesgo (27, 28), no queda demostrado en nuestro estudio, ya que sólo una paciente de las cuatro con recidiva era fumadora. En el grupo de 18 pacientes libres de lesión el porcentaje de fumadoras fue del 61,1% (11 de 18). La paridad tampoco resulta un factor de diferenciación, encontrando dos pacientes con partos previos y dos nulíparas. Sí hallamos una relación con otras infecciones acompañantes, en concreto una paciente portadora del VIH y otra del VHB. Las conocidas características de inmunodepresión propias de las infecciones virales se convierten en un factor que limita la respuesta inmunitaria a otras infecciones. El otro caso de VIH incluido en nuestra muestra, que era también portadora del VHC y que mostró una evolución favorable, presentaba un buen estado de su población linfocitaria. El uso de interferón en casos de pacientes VIH positivas con lesiones por VPH ha sido estudiado y se ha observado respuesta al tratamiento, aunque en menor medida que en pacientes con el mismo tipo de lesión pero VIH negativas (29).

A la luz de los resultados parece adecuado concluir que el interferón, como agente inmunomodulador, podría estar indicado en el tratamiento de la neoplasia cervical intraepitelial de bajo grado como un modo de paliar esa cierta ineficacia del sistema inmunitario celular del huésped que condiciona la persistencia de la infección por VPH, que creemos que siempre subyace en este tipo de lesiones. Son necesarios, sin embargo, estudios aleatorizados en poblaciones más amplias, así como mejoras en las técnicas diagnósticas, que nos permitan confirmar este hecho, profundizar en el conocimiento de otros cofactores de riesgo y, en definitiva, obtener resultados más valorables y con un mayor ámbito de aplicación.

Correspondencia: Prof. Dr. Eduardo Cazorla, Servicio de Ginecología, Hospital Maternal, Hospital Universitario La Fe, Avda Campanar 21, 46009 Valencia. e-mail: cazorla_edu@gva.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Richart, M., Fu, Y.S., Winkler, B. *Pathology of cervical squamous and glandular intraepithelial neoplasia*. Gynecol Oncol 1992; 557-597.
2. Parkin, D.M. *Global cancer statistics in the year 2000*. Lancet Oncol 2001; 2: 533-543.
3. Herrington, C.S. *Human papillomaviruses and cervical neoplasia. Classification, virology, pathology and epidemiology*. J Clin Pathol 1994; 47: 1066-1072.
4. Brisson, J., Morin, C., Fortier, M. y cols. *Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia: Differences between low and high-grade lesions*. Am J Epidemiol 1994; 140: 700-709.
5. Sebbelov, A.M., Svendsen, C., Jensen, H., Kjaer, S.K., Norrild, B. *Prevalence of HPV in premalignant and malignant cervical lesions in Greenland and Denmark: PCR and in situ hybridation analysis on archival material*. Res Virol 1994; 145: 83-92.
6. Bosch, F.X., Rohan, T., Schneider, A. y cols. *Papillomavirus research update: Highlights of the Barcelona HPV 2000 International Papillomavirus Conference*. J Clin Pathol 2001; 54: 163-175.
7. Walboomers, J.M., Jacobs, M.V., Manos, M.M. y cols. *Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide*. J Pathol 1999; 189: 12-19.
8. Ho, G.Y., Berman, R., Beardley, L. y cols. *Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women*. N Engl J Med 1998; 338: 423-428.
9. Franco, E.L., Villa, L.L., Sobrinho, J.P. y cols. *Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer*. J Infect Dis 1999; 180: 1415-1423.
10. Nakagawa, M., Stites, D.P., Patel, S. y cols. *Persistence of human papillomavirus type 16 infection is associated with lack of cytotoxic T lymphocyte response to the E6 antigens*. J Infect Dis 2000; 182: 595-598.
11. De Aloysio, D., Miliffi, L., Ianicelli, T., Penacchioni, P., Bottiglioni, F. *Intramuscular interferon-beta treatment of cervical intraepithelial neoplasia associated with human papillomavirus infection*. Acta Obstet Gynecol Scand 1994; 73: 420-424.
12. Penna, C., Fallani, M.G., Gordigiani, R., Sonni, L., Taddei, G.L., Marchionni, M. *Intralesional beta-interferon treatment of cervical intraepithelial neoplasia associated with human papillomavirus infection*. Tumori 1994; 80: 146-150.
13. Zarcone, R., Addonizio, D., Voto, R.I., Cardone, G., Di Stefano, M., Cardone, A. *Therapeutic prospects of natural alpha interferon from normal human leucocytes in the treatment of genital condylomata in HIV positive women*. Clin Exp Obstet Gynecol 1994; 21: 173-176.
14. González-Sánchez, J.L., Martínez-Chequer, J.C., Hernández-Celaya, M.E., Barahona-Bustillos, E., Andrade-Manzano, A.F. *Randomized placebo-controlled evaluation of intramuscular interferon beta treatment of recurrent human papillomavirus*. Obstet Gynecol 2001; 97: 621-624.
15. Sikorski, M., Zrubek, H. *Long-term follow-up of patients with recombinant human interferon gamma for cervical intraepithelial neoplasia*. Int J Gynecol Obstet 2003; 82: 179-185.
16. Hallez, S., Simon, P., Maudoux, F. y cols. *Phase III trial of immunogenicity of a human papillomavirus (HPV) type 16 E7 protein-based vaccine in women with onco HPV-positive cervical intraepithelial neoplasia*. Cancer Immunol Immunother 2004; 53: 642-650.
17. Prendiville, W., Cullimore, J., Norman, S. *Large loop excision of transformation zone (LLETZ): A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia*. Br J Obstet Gynecol 1989; 96: 1054-1060.
18. Lund, E.D., Robinson, W.R., Adams, J., O'Quinn, A.G. *Predictive value of LEEP specimen margin status for residual/recurrent cervical intraepithelial neoplasia*. Gynecol Oncol 1997; 64: 307.
19. González, D.I., Zahn, C.M., Retzlöff, M.G., Moore, W.F., Kost, E.R., Snyder, R.R. *Recurrence of dysplasia after loop electrosurgical exci-*

- sion procedures with long-term follow-up. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 315-321.
20. Iwasaka, T., Hayashi, Y., Yokoyama, M., Hachisuga, T., Sugimori, H. *Interferon gamma treatment for cervical intraepithelial neoplasia*. *Gynecol Oncol* 1990; 37: 96-102.
 21. Schneider, A., Grubert, T., Hirschmayr, R., Wagner, D., Papendick, U., Schlunk, G. *Efficacy trial of topically administered interferon gamma 1-b gel in comparison to laser treatment in cervical intraepithelial neoplasia*. *Arch Gynecol Obstet* 1995; 256: 75-83.
 22. Flannelly, G., Langhan, H., Jandial, L., Mann, E., Campbell, M., Kitchener, H. *A study of treatment failures following large loop excision of the transformation zone for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia*. *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104: 718-722.
 23. Chua, K.L., Hjerpe, A. *Human papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri*. *Gynecol Oncol* 1997; 66: 108-113.
 24. Walboomers, J.M.M., Meijer, C.J.L.M. *Do HPV-negative cervical carcinoma exist?* *J Pathol* 1997; 181: 796-802.
 25. Bosch, F.X., Manos, M.M., Muñoz, N. y cols. *Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective*. *International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group*. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
 26. McNeil, C. *HPV vaccines for cervical cancer move toward clinic, encounter social issues*. *J Nat Cancer Inst* 1997; 89: 1664-1666.
 27. Daly, S.F., Doyle, M., English, J., Turner, M., Clinch, J., Prendiville, W. *Can the number of cigarettes smoked predict high-grade cervical intraepithelial neoplasia among women with mildly abnormal cervical smears?* *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 399-402.
 28. Acladios, N.N., Sutton, C., Mandal, D., Hopkins, R., Zaklama, M., Kitchener, H. *Persistent human papillomavirus infection and smoking increase risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN)*. *Int J Cancer* 2002; 98: 435-439.
 29. Semprini, A.E., Stillo, A., Marcozzi, S., Castagna, C., Fiore, S., Radaelli, U. *Treatment with interferon for genital HPV in HIV-positive and HIV-negative women*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994; 53: 135-137.