

Janina Markowska¹, Beata Sterlińska-Tulimowska², Wacław Śmiertka³

Wyniki stosowania krioterapii i aplikacji powidonu jodowanego w eradykacji przetrwałej infekcji wysokoonkogenicznymi typami HPV

The results of cryotherapy and local application of povidone-iodine in the eradication of persistent highly oncogenic HPV

¹ Prywatna Praktyka Specjalistyczna Ginekologiczno-Położniczo-Onkologiczna, Poznań, Polska

² Tulimowski & Sterlińska Gabinety, Warszawa, Polska

³ Specjalistyczny Gabinet Lekarski Wacław Śmiertka, Warszawa, Polska

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Janina Markowska, Prywatna Praktyka Specjalistyczna Ginekologiczno-Położniczo-Onkologiczna, ul. Poznańska 58 A/2, 60-853 Poznań, e-mail: jmarkmed@poczta.onet.pl

¹ Oncological-Gynecological Outpatient Centre, Poznań, Poland

² Gynecological Outpatient Clinic, Warsaw, Poland

³ Oncological-Gynecological Outpatient Clinic, Warsaw, Poland

Correspondence: Professor Janina Markowska, MD, PhD, Oncological-Gynecological Outpatients Centre, Poznańska 58 A/2, 60-850 Poznań, Poland, tel.: +48 61 848 37 32, e-mail: jmarkmed@poczta.onet.pl

Streszczenie

Leczeniem objęto 128 kobiet w wieku 24–67 lat (średnio 37,5 roku), u których stwierdzono nieprawidłowy wynik badania cytologicznego: u 77 pacjentek – atypowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym znaczeniu, u 30 – śród nabłonkowe zmiany dysplastyczne niskiego stopnia, a u 21 – jedynie obecność koilocytów. Klinicznie szyjka macicy w większości przypadków nie wykazywała zmian lub wykazywała zmiany o charakterze ektropii. U wszystkich kobiet metodą reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą wykryto obecność wysokoonkogenicznych typów wirusa brodawczaka ludzkiego. U 45 (35%) pacjentek odnotowano pojedyncze typy, w tym najczęściej HPV 16 (40% grupy). U 29 (22,6%) osób wykryto dwa typy wirusa; jednym z nich był najczęściej HPV 16 lub 18. U pozostałych 54 (42,1%) kobiet stwierdzono mnogie typy HPV. Stosowano schemat leczenia polegający na dwukrotnej krioterapii ciekłym azotem przez 3 minuty – obejmującej zmianę na tarczy (jeśli występowała ektropia) ze strefą przejściową i kanał szyjki macicy. Po każdej krioterapii stosowano globulki powidonu jodowanego (Betadine). U siedmiu pacjentek dodatkowo wykonano koagulację systemem LEEP (w przypadku krwawiącej ektropii). Po 2 miesiącach od ostatniego zabiegu ponownie oznaczano HPV metodą reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą – u żadnej z kobiet nie wykryto obecności HPV. U 10 pacjentek ze względu na przetrwałą zmianę typu ektropii wykonano elektrokonizację; ocena histopatologiczna nie wykazała zmian związanych z HPV. Krioterapia połączona ze stosowaniem powidonu jodowanego jest skuteczna w profilaktyce i eradykacji przetrwałej infekcji wysokoonkogenicznymi typami HPV.

Słowa kluczowe: infekcja HPV, krioterapia, powidon jodowany

Abstract

Treatment covered 128 women aged 24–67 (37.5 on average), with abnormal cytology: in 77 patients atypical squamous cell of undetermined significance was detected, in 30 patients low-grade squamous intraepithelial lesions were identified while in 21 only the presence of koilocytes was demonstrated. In most cases, the cervix was without any clinical changes or ectropion lesions were detected. In all the patients, the presence of highly oncogenic human papillomavirus (HPV) was detected using viral genotyping reverse transcription polymerase chain reaction. In 45 (35%) patients, a single strain of HPV was detected, HPV 16 (40% of the patients) was most common. In 29 (22.6%) patients, two types of the virus were identified, most frequently HPV 16 or 18. In the remaining 54 (42.1%) patients, multiple types of HPV were detected. The employed therapeutic scheme involved two applications of cryotherapy with liquid nitrogen for 3 minutes, covering the mucosal surface (in the case of ectropion) with the transient zone and cervical canal. Following each application

of cryotherapy, povidone-iodine (Betadine) globules were used. In 7 patients, electrocoagulation using the LEEP system was additionally performed (in the case of bleeding ectropion). Two months after the last procedure, HPV was marked again using the RT-PCR method. HPV was not detected in any of the treated patients. In 10 patients due to persistent ectropion lesion on the cervix, electroconization was conducted and histopathology demonstrated no HPV-related lesions. Cryotherapy – accompanied by the application of povidone-iodine – is effective in the prophylaxis and eradication of persistent infection with highly oncogenic HPV.

Key words: HPV infection, cryotherapy, povidone-iodine

WSTĘP

Rak szyjki macicy to czwarty pod względem częstości nowotwór złośliwy u kobiet⁽¹⁻³⁾. Z badań epidemiologicznych i molekularnych wynika, że przetrwała infekcja wysokoonkogennym typem wirusa brodawczaka ludzkiego (*human papillomavirus*, HPV) ma związek z rozwojem tego raka⁽⁴⁻⁸⁾.

Zakażenie HPV jest jedną z najpowszechniejszych infekcji przenoszonych drogą płciową. Szacuje się, że około 80% aktywnych seksualnie kobiet zostaje zainfekowanych HPV w trakcie całego życia, przy czym u większości z nich dochodzi do samoistnej eliminacji wirusa. Tylko w 5–10% przypadków, zwłaszcza u pacjentek zakażonych typami wysokoonkogennymi, infekcja ma charakter przetrwały^(6,7,9). Do wysokoonkogennych zalicza się następujące typy HPV: 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35, 59, 56, 39, 51, 73, 68 i 66^(10,11). Przetrwale zakażenie HPV definiuje się jako obecność tego samego typu wirusa przez co najmniej 6 miesięcy lub rok, a według niektórych autorów – nawet 2 lata⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Dodatkowe czynniki ryzyka, takie jak osłabienie immunologiczne, współistniejące infekcje przenoszone drogą płciową, wieloletnie stosowanie antykoncepcji hormonalnej albo ponowna infekcja HPV, powodują rozwój zmian cytologicznych o typie ASC-US (*atypical squamous cell of undetermined significance*, atypowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym znaczeniu), LSIL (*low-grade squamous intraepithelial lesions*, śródnabłonkowe zmiany dysplastyczne niskiego stopnia), HSIL (*high-grade squamous intraepithelial lesions*, śródnabłonkowe zmiany dysplastyczne wysokiego stopnia) oraz zmian histologicznych – CIN I, CIN II, CIN III (*cervical intraepithelial neoplasia grade 1, 2 and 3*, śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy stopnia 1, 2 i 3), a po latach mogą doprowadzić do raka szyjki macicy^(7,15,16).

Opisano również, że zmiany genetyczne w postaci nadliczbowego fragmentu w chromosomie 3q26 mogą być związane z progresją LSIL do HSIL i wyższych stopni⁽¹⁷⁾.

Najwydajniejszą metodą prewencji stanów przedrakowych i raka szyjki macicy jest stosowanie szczepień przeciwko wysokoonkogennym typom HPV. Szczepionka dwu- i czterowalentna w prawie 70% zabezpiecza przed rozwojem raków szyjki macicy związanych z infekcją HPV, a skuteczność szczepionki dziewięciowalentnej sięga 90%⁽¹⁸⁾. Ueno i wsp. twierdzą, że szczepienie nie

INTRODUCTION

Cervical cancer is fourth most common malignant cancer in women⁽¹⁻³⁾. Epidemiological and molecular studies have shown that persistent infection with highly oncogenic human papillomavirus (HPV) manifests a relationship with the development of this type of cancer⁽⁴⁻⁸⁾.

HPV constitutes one of the most common sexually transmitted infections. It is estimated that approximately 80% of sexually active women are affected by the HPV infection in their life time, although most of the affected women overcome the infection without treatment and only 5–10% of the women, particularly those infected with highly oncogenic viral types, manifest a persistent infection^(6,7,9). There are 15 highly oncogenic HPV types: 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35, 59, 56, 39, 51, 73, 68 and 66^(10,11). Persistent HPV infection is defined as the presence of the same virus type detected within a minimum time frame of 6 months or one year and, according to some authors, within 2 years⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Additional risk factors, such as immune weakening, coexisting sexually transmitted infections, prolonged use of hormonal contraception or another HPV infection lead to the development of cytological abnormalities in atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) type and histological lesions of cervical intraepithelial neoplasia grade 1, 2 or 3 (CIN 1, CIN 2 or CIN 3) type and, after years, they may result in cervical cancer^(7,15,16).

Genetic alterations in the form of an excess fragment in the 3q26 chromosome also were found to be associated with the progression of LSIL to HSIL and to higher degrees⁽¹⁷⁾.

The most effective preventive measure against development of precancerous conditions and cervical cancer involves vaccinations against highly oncogenic HPV. The bivalent or tetravalent vaccine prevents against the development of almost 70% of HPV-related cervical cancers, while the effectiveness of the 9-valent vaccine reaches 90%⁽¹⁸⁾. According to Ueno *et al.*, the vaccination fails to prevent against the development of clear-cell cervical cancer, the development of which manifests no relationship with the HPV infection⁽¹⁹⁾.

In recent years, methods of eradicating the HPV infection have been developed. In women infected with high risk HPV with no lesions of the HSIL type in cytology and

zapobiega rozwojowi raka jasnokomórkowego szyjki macicy, którego rozwój nie zależy od infekcji HPV⁽¹⁹⁾.

W ostatnich latach opracowano metody eliminacji infekcji HPV. Kim i wsp. u pacjentek zainfekowanych wysokoonkogennym HPV – HPV HR (*high-risk*) – bez ewidentnych zmian o typie HSIL w cytologii i kolposkopii stosowali dopochwowo wlewy z roztworu zawierającego cytrynian cynku. Trzymiesięczna kuracja eliminowała wirusy HR w ponad 64% przypadków – w porównaniu z samoistną eliminacją u 15% kobiet z HR HPV⁽²⁰⁾. Podobne właściwości eradykujące HPV na liniach komórkowych nabłonka szyjki macicy obciążonych infekcją HPV opisano dla witaminy K₃⁽²¹⁾. Wykazano także hamujący wpływ trójtlenku arsenu (As₂O₃) na onkogenne białka E6 i E7 HPV linii komórkowych raka szyjki macicy za pośrednictwem YY1 – czynnika transkrypcyjnego palca cynkowego, odgrywającego krytyczną rolę w progresji raka indukowanego HPV; As₂O₃ indukuje apoptozę komórek HPV-pozytywnych i aktywuje supresorowe p53^(22,23).

CEL PRACY

Celem pracy była ocena skuteczności eliminacji HPV HR u kobiet poddanych powtarzanej krioterapii wraz z dopochwowym leczeniem preparatem powidonu jodowanego.

MATERIAŁ I METODY

Leczeniem objęto 128 pacjentek w wieku 24–67 lat (średnio 37,5 roku), u których stwierdzono nieprawidłowe wyniki badania cytologicznego: ASC-US (u 77) i LSIL (u 30), klinicznie – szyjkę bez zmian patologicznych albo zmianę o charakterze ektropii, a ponadto obecność wysokoonkogennych typów HPV.

Cytologię oceniano za pomocą systemu Bethesda, a genotypowanie HPV wykonano w zakładzie genetyki molekularnej metodą reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą (*reverse transcription polymerase chain reaction*, RT-PCR); oznaczano 25 wysokoonkogennych i 12 niskoonkogennych typów HPV.

Stosowano następujący schemat leczenia:

1. krioterapia ciekłym azotem przez 3 minuty przy użyciu peloty zależnej od wielkości części pochwowej szyjki macicy i rodzaju ujścia zewnętrznego – obejmująca zmianę na tarczy (jeśli występowała ektropia) i ujście zewnętrzne ze strefą przejściową oraz część kanału szyjki macicy;
2. dopochwowa aplikacja powidonu jodowanego (Betadine) – globulek działających również przeciwwirusowo – przez 14 dni, na noc, tak głęboko, by lek dotarł do szyjki macicy;
3. ponowna trzyminutowa krioterapia po 2 miesiącach;
4. powidon jodowany – tak jak poprzednio;
5. oznaczenie DNA HPV po 2 miesiącach.

colposcopy, Kim *et al.* used a intravaginal infusion of a zinc-citrate solution. A three-month treatment eliminated the presence of high risk (HR) viruses in over 64% of the patients, compared to 15% of the women with HR HPV who eliminated the infection spontaneously⁽²⁰⁾. Using cell lines of uterine cervix epithelium infected with HPV, similar anti-viral effects were ascribed to vitamin K₃⁽²¹⁾. Also an inhibitory effect of arsenic trioxide (As₂O₃) was demonstrated on HPV oncogenic proteins E6 and E7 in uterine cervix cell lines, with mediation of YY1, a zinc finger transcription factor which plays a critical role in the progression of HPV-induced cancer; As₂O₃ induces apoptosis of the HPV positive cells and activates the p53 suppressor^(22,23).

AIM OF THE STUDY

The aim of the study was the evaluation of eradication of HPV HR efficacy in women subjected to repeated cryotherapy sessions with intravaginal treatment using the povidone-iodine preparation.

MATERIAL AND METHODS

Treatment covered 128 women aged 24 to 67 (37.5 on average) with abnormal cytology results: in 77 patients ASC-US was detected, in 30 patients LSIL was identified. Clinically, the cervix either manifested no pathological lesions, or ectropion type lesions were detected and also the presence of highly oncogenic HPV strains was noted.

Cytology was estimated using the Bethesda system, HPV genotyping was conducted at the Department of Molecular Genetics marking 25 types of highly oncogenic and 12 types of HPV strains manifesting low oncogenic potential with the use of reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

The following schedule of treatment was employed:

1. cryotherapy with liquid nitrogen for 3 minutes, using a cervical probe of a size corresponding to the size of the vaginal part of the cervix and the orifice, covering the lesion (if ectropion was present) on the mucosal surface, and orifice with a transitory zone and the endocervix;
2. intravaginally applied povidone-iodine (Betadine) globules, also with an antiviral effect and applied daily for 14 nights consecutively, administered so deeply that the drug contacted the uterine cervix;
3. repeated cryotherapy after 2 months, applied for 3 minutes;
4. repeated exposure to povidone-iodine, as applied earlier;
5. HPV DNA marking after 2 months.

RESULTS

ASC-US was observed in the case of 77 patients, LSIL was detected in 30 patients, and in the case of 21 patients the only change in cytology involved the presence of koilocytes. In the case of LSIL-type lesions with the presence

WYNIKI

U 77 pacjentek stwierdzono ASC-US, u 30 – LSIL, a u 21 jedyną zmianą w cytologii była obecność koilocytów. W przypadku zmian o typie LSIL z obecnością ektropii wykonywano kolposkopię (w innym ośrodku) oraz biopsję błony śluzowej szyjki macicy i biopsję na tarczy. U dwóch pacjentek stwierdzono CIN I; jedna z nich miała 24 lata, a druga – 40 lat.

U 45 (35%) kobiet wykryto po jednym typie HPV, w tym najczęściej:

- HPV 16 – u 18 (40%) pacjentek;
- HPV 31 – u 7 (15,5%);
- HPV 58 – u 9 (20%);
- HPV 39, 51, 33, 61 i 52 – w pojedynczych przypadkach.

Dwa typy wirusa wykryto u 29 (22,6%) kobiet; jednym z nich był najczęściej typ 16 lub 18. U pozostałych 54 (42,1%) pacjentek stwierdzono mnogie typy HPV, w tym 68, 73 i 66.

U siedmiu kobiet przed drugą krioterapią (krwawiąca ektropia) wykonano dodatkowo koagulację destrukcyjną systemem LEEP. U żadnej z osób leczonych krioterapią i żadnej z siedmiu, które przeszły kriodestrukcję, oznaczone DNA nie wykazało obecności HPV. Po kolejnych 3–6 miesiącach do badania zgłosiło się 76 pacjentek – u nich również nie wykryto HPV.

U 10 kobiet po 40. roku życia (bez planów prokreacyjnych) ze względu na zmiany przetrwałe o typie *cervical erosion* wykonano elektrokonzjację. Ocena histopatologiczna to *erosio glandularis* bez cech koilocytozy.

OMÓWIENIE

Przetrwała i nawracająca infekcja wysokoonkogennymi typami HPV prowadzi u części kobiet do rozwoju stanów przedrakowych i raka szyjki macicy. Nie stwierdzono natomiast, by infekcja mnogimi typami HPV była czynnikiem zwiększonego ryzyka powstania tych zmian^(7,8,16).

Według Boscha i wsp. spośród wszystkich wysokoonkogennych typów HPV najbardziej aktywny biologicznie jest typ 16⁽⁴⁾. Moscicki i wsp. uważają, że u 15% kobiet z długim okresem infekcji przetrwałej (3 lata) również typ 18 prowadzi do progresji zmian z CIN II do CIN III⁽⁹⁾.

Mimo że u większości pacjentek infekcja HPV ulega samoistnej regresji, kobiety zakażone mają niższą jakość życia. Liczne próby wykorzystania takich substancji jak cytrynian cynku (CIZAR) i witamina K₃ oraz zachęcające wyniki stosowania As₂O₃ *in vitro* wskazują na efektywność eradykacji HPV.

Metoda stosowana przez autorów niniejszej pracy jest prosta, tania, bezpieczna i skuteczna.

WNIOSKI

Krioterapia połączona ze stosowaniem powidonu jodowanego jest efektywna zarówno w profilaktyce, jak i w eradykacji przetrwałej infekcji wysokoonkogennymi typami HPV na szyjce macicy.

of ectropion, colposcopy was performed (in another center) and biopsy of the endocervix and the cervical mucosa. In two patients CIN 1 was diagnosed; one of the patients was 24 years old, the other one 40 years old.

In 45 (35%) patients, individual HPV types were demonstrated, most frequently including:

- HPV 16 – in 18 (40%) patients;
- HPV 31 – in 7 (15.5%) patients;
- HPV 58 – in 9 (20%) patients;
- HPV 39, 51, 33, 61 and 52 – in individual cases.

In 29 (22.6%) patients, two types of the virus were detected, most commonly type 16 and type 18.

In the remaining 54 (42.1%) patients, multiple HPV types were detected, including 68, 73 and 66.

In 7 women, the second cryotherapy (bleeding ectropion) was additionally preceded by destructive coagulation using the LEEP system. In all the patients treated with cryotherapy and in the 7 patients subjected to cryodestruction, DNA determination failed to demonstrate HPV. In 76 women who reported for follow-up visits after 3 to 6 months post-treatment, DNA determination did not demonstrate the presence of HPV.

In 10 women aged over 40, and declaring no procreative plans due to persistent cervical erosion type lesions, electrocoagulation was conducted and histopathological examination demonstrated glandular erosion with no presence of koilocytes.

DISCUSSION

A persistent and recurring infection with highly oncogenic HPV strains leads to the development of precancerous conditions and to cervical cancer in some women. However, in no cases was an infection with multiple HPV strains found to increase the risk of developing such lesions^(7,8,16).

According to Bosch *et al.*, out of all highly oncogenic HPV types, type 16 is biologically most active⁽⁴⁾. Moscicki *et al.* expressed the opinion that apart from type 16, type 18 leads to the progression of CIN 2 lesions to CIN 3 lesions in 15% of the women with prolonged persistent infection (3 years) with HPV⁽⁹⁾.

Even though HPV infection undergoes a spontaneous regression in most patients, women with the infection complain of a lowered quality of life. Numerous attempts to apply substances such as zinc-citrate (CIZAR), or vitamin K₃ or encouraging results of applying As₂O₃ *in vitro* point to the efficacy of HPV eradication.

The method applied by the authors is simple, economic, safe and effective.

CONCLUSIONS

The method using cryotherapy with the application of povidone-iodine is effective both in the prophylaxis as well as in the eradication of persistent infections with highly oncogenic HPV strains in the uterine cervix.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpływać na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Conflict of interest

The authors do not report any financial or personal connections with other persons or organizations, which might negatively affect the contents of this publication and/or claim authorship rights to this publication.

Piśmiennictwo / References

1. GLOBOCAN. Cancer Fact Sheets: Cervical cancer. Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.
2. Pfaendler KS, Tewari KS: Changing paradigms in the systemic treatment of advanced cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 214: 22–30.
3. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM *et al.*: Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–19.
4. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M *et al.*: Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008; 26 Suppl 10: K1–K16.
5. Goodman A: HPV testing as a screen for cervical cancer. *BMJ* 2015; 350: h2372.
6. Baseman JG, Koutsky LA: The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32 Suppl 1: S16–S24.
7. Dalstein V, Riethmuller D, Prétet JL *et al.*: Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study. *Int J Cancer* 2003; 106: 396–403.
8. Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW *et al.*: Persistent high risk HPV infection associated with development of cervical neoplasia in a prospective population study. *J Clin Pathol* 2005; 58: 946–950.
9. Moscicki AB, Ma Y, Wibbelsman C *et al.*: Rate of and risks for regression of cervical intraepithelial neoplasia 2 in adolescents and young women. *Obstet Gynecol* 2010; 116: 1373–1380.
10. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S *et al.*; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group: Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518–527.
11. Sideri M, Cristoforoni P, Casadio C *et al.*: Distribution of human papillomavirus genotypes in invasive cervical cancer in Italy: a representative, single institution case series. *Vaccine* 2009; 27 Suppl 1: A30–A33.
12. Giuliano AR, Harris R, Sedjo RL *et al.*: Incidence, prevalence, and clearance of type-specific human papillomavirus infections: The Young Women's Health Study. *J Infect Dis* 2002; 186: 462–469.
13. Rositch AF, Koshiol J, Hudgens MG *et al.*: Patterns of persistent genital human papillomavirus infection among women worldwide: a literature review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2013; 133: 1271–1285.
14. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R *et al.*: Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 315–324.
15. Kriek JM, Jaumdally SZ, Masson L *et al.*: Female genital tract inflammation, HIV co-infection and persistent mucosal Human Papillomavirus (HPV) infections. *Virology* 2016; 493: 247–254.
16. Bory JP, Cucherousset J, Lorenzato M *et al.*: Recurrent human papillomavirus infection detected with the hybrid capture II assay selects women with normal cervical smears at risk for developing high grade cervical lesions: a longitudinal study of 3,091 women. *Int J Cancer* 2002; 102: 519–525.
17. Rodolakis A, Biliatis I, Symiakaki H *et al.*: Role of chromosome 3q26 gain in predicting progression of cervical dysplasia. *Int J Gynecol Cancer* 2012; 22: 742–747.
18. Angioli R, Lopez S, Aloisi A *et al.*: Ten years of HPV vaccines: state of art and controversies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 102: 65–72.
19. Ueno S, Sudo T, Oka N *et al.*: Absence of human papillomavirus infection and activation of PI3K-AKT pathway in cervical clear cell carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2013; 23: 1084–1091.
20. Kim JH, Bae SN, Lee CW *et al.*: A pilot study to investigate the treatment of cervical human papillomavirus infection with zinc-citrate compound (CIZAR[®]). *Gynecol Oncol* 2011; 122: 303–306.
21. de Carvalho Scharf Santana N, Lima NA, Desoti VC *et al.*: Vitamin K3 induces antiproliferative effect in cervical epithelial cells transformed by HPV 16 (SiHa cells) through the increase in reactive oxygen species production. *Arch Gynecol Obstet* 2016. DOI: 10.1007/s00404-016-4097-7.
22. He G, Wang Q, Zhou Y *et al.*: YY1 is a novel potential therapeutic target for the treatment of HPV infection-induced cervical cancer by arsenic trioxide. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21: 1097–1104.
23. Um SJ, Lee SY, Kim EJ *et al.*: Down-regulation of human papillomavirus E6/E7 oncogene by arsenic trioxide in cervical carcinoma cells. *Cancer Lett* 2002; 181: 11–22.