



clínica e investigación en ginecología y obstetricia

www.elsevier.es/gine



REVISIÓN DE CONJUNTO

Relación entre la infección por el virus del papiloma humano y Chlamydia trachomatis



A. Hernanz Lozón^{a,*}, M. Sánchez Pascual^a, L. Muñoz Arberas^a, A. Carrera Puerta^a,
R. Cisterna Cáncer^b y D. Andía Ortiz^a

^a Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario Basurto, Bilbao, Vizcaya

^b Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Basurto, Bilbao, Vizcaya

Recibido el 17 de octubre de 2016; aceptado el 26 de octubre de 2016

Disponible en Internet el 21 de diciembre de 2016

PALABRAS CLAVE

Virus del papiloma humano;
Chlamydia trachomatis;
Neoplasia intraepitelial cervical

KEYWORDS

Human papillomavirus;
Chlamydia trachomatis;
Cervical intraepithelial neoplasia

Resumen La infección persistente por el virus del papiloma humano (VPH) es un requisito necesario pero no suficiente para el desarrollo del cáncer de cuello uterino (CCU), puesto que solo una baja proporción de las pacientes infectadas desarrolla una lesión intraepitelial cervical o un CCU. Esto hace pensar que son necesarios algunos cofactores que favorezcan dicha progresión. Según varios estudios, la infección por Chlamydia trachomatis (CT) es más prevalente en las pacientes con infección por VPH y parece que puede influir en la progresión de las lesiones epiteliales producidas por el VPH, relacionándose así de forma indirecta con el CCU. El cribado de la infección por CT y el correcto tratamiento de los casos permitiría evitar las consecuencias derivadas de la propia infección (salpingitis, EIP, esterilidad...) y la influencia que ejerce en el desarrollo del cáncer de cervix.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Relationship between human papillomavirus infection and Chlamydia trachomatis

Abstract Human papillomavirus (HPV) infection is required but not sufficient to develop cervical cancer, since only a small proportion of HPV-infected women develop cervical intraepithelial lesions or cancer. This leads to the conclusion that other factors are required to facilitate disease progression. According to several studies, Chlamydia trachomatis (CT) infection is more

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ana.hernanzlozon@osakidetza.eus (A. Hernanz Lozón).

prevalent in HPV-infected women and seems to contribute to the progression of HPV-related epithelial lesions. It is therefore indirectly related to cervical cancer. CT infection screening and the proper treatment of this condition could avoid the consequences of this genital infection (salpingitis, pelvic inflammatory disease, infertility, etc.) and its impact on developing cervical cancer.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La infección persistente por el virus del papiloma humano (VPH) es un requisito imprescindible para el desarrollo del cáncer de cuello uterino (CCU). Se considera que alrededor del 20% de las mujeres con persistencia de VPH durante un año desarrollarán una lesión intraepitelial cervical (CIN) o CCU en los próximos 5 años. Por suerte, la mayoría de las infecciones por VPH son transitorias y de todas las infecciones persistentes por VPH solo una baja proporción progresará a CIN o CCU. Esto hace pensar que el VPH no constituye una causa suficiente de esta enfermedad, sino que son necesarios algunos cofactores que puedan promover la persistencia del virus o reforzar su oncogenicidad y así favorecer dicha progresión¹⁻⁵.

Varios estudios indican que la inmunidad del huésped se ve mermada por la acción del tabaco, que hace que disminuya la probabilidad de aclaramiento de las infecciones por VPH, favoreciendo así su persistencia^{6,7}. Parece también que las infecciones múltiples por VPH aumentan el riesgo de persistencia del virus y pueden contribuir a la progresión de la displasia cervical^{8,9}. Además, otras infecciones de transmisión sexual (ITS), como el *Ureaplasma urealyticum*¹⁰ o el virus herpes simple¹¹, podrían desempeñar un papel en el desarrollo del CIN y el consecuente desarrollo del CCU^{12,13}. Pero el germen de transmisión sexual más estudiado y que más influencia parece tener como cofactor en la carcinogénesis cervical es la *Chlamydia trachomatis* (CT). En Europa, la prevalencia de CT en pacientes asintomáticas varía significativamente entre diferentes países, entre el 1,7 y el 17% de prevalencia¹⁴. Numerosos estudios han hablado sobre su papel potencial como cofactor del VPH, aumentando el riesgo de contraer VPH o favoreciendo la persistencia del mismo. Si esta asociación entre el VPH y la *Chlamydia* es cierta, la infección por *Chlamydia* tendría entonces una asociación indirecta con el desarrollo del CCU. Dado que la infección por CT es la ITS bacteriana más frecuente y que la mayoría de las infecciones cursan de manera asintomática, esta asociación adquiere gran importancia a la hora de establecer estrategias para prevenir el CCU.

Relación entre la infección por el virus del papiloma humano y la *Chlamydia*

Tanto la infección por CT como la infección por VPH se transmiten por vía sexual y, por tanto, muchos factores relacionados con la adquisición de ambas infecciones

son compartidos: edad joven, mayor número de parejas sexuales, la falta de utilización de método anticonceptivo de barrera... No es coincidencia, por tanto, que exista una mayor prevalencia de CT en pacientes infectadas por VPH¹⁵.

Se han realizado varios estudios para establecer la relación entre ambos gérmenes, como por el ejemplo el de Lehman et al.¹⁶ en 1999. Según sus investigaciones realizadas en 144 mujeres, la tasa de infección por CT en pacientes positivas a VPH fue del 10,3% frente al 1,7% de las pacientes VPH negativas ($p < 0,05$). Asimismo demuestra que la prevalencia de CT es mayor en mujeres con alteraciones citológicas leves (ASCUS) que en mujeres con citología normal. Lo mismo observaron en EE. UU. Kanno et al.¹⁷ en 2005: realizaron un estudio con 993 citologías satisfactorias demostrando que las alteraciones citológicas están relacionadas con la infección por CT (OR 2,04, IC del 95%, 1,00-4,15). Silva et al.¹⁸, en 2013, tomaron citologías y cultivos para VPH y CT a 425 mujeres y encontraron que un 14% de pacientes infectadas por VPH eran también positivas a CT, mientras que entre las pacientes con VPH negativo solo un 6% presentaba infección por CT (OR 2, IC del 95%, 1,03-6,27, $p < 0,037$). Datos más contundentes aportaron Finan et al.¹⁹ con su estudio en 2002: el 47% de las pacientes VPH positivas presentaban también infección por CT, comparado con el 14% de las pacientes VPH negativas.

Según Panatto et al.²⁰ (2015), la prevalencia de coinfección entre CT y VPH en una población de mujeres italianas entre 16 y 26 años sin patología cervical es del 2,7% (IC del 95%, 1,6-4,3). Comparado con las mujeres VPH negativas, las pacientes VPH positivas tienen un riesgo significativamente mayor de estar infectadas por CT (OR 4,2; IC del 95%, 2,01-8,71). Concluyen también que ambas infecciones (CT y VPH) son más frecuentes en mujeres menores de 18 años que en mujeres más añosas.

En 2016, el estudio de Jianhua et al.²¹ concluye que existe una asociación estadísticamente significativa entre la positividad a VPH y la presencia de CT (OR 3,30; IC del 95%, 2,29-4,76). Entre las pacientes VPH positivas coinfectadas con CT, el 91% (71 de 78 casos) eran pacientes infectadas por VPH de alto riesgo (VPH-AR).

Otro estudio muy reciente es el de Quinónez-Calvache et al.²², publicado en 2016, que presenta una tasa de coinfección de VPH y CT del 28%. La mayoría de las mujeres con CT eran portadoras de varios serotipos de VPH (77,42% de infecciones multivirales vs. 22,58% de infecciones univirales) y a su vez la infección por múltiples tipos de VPH presentó

mayor riesgo de infección por CT (hazard ratio 2,85; IC del 95%, 1,22-6,63; $p=0,015$).

Si bien algunos estudios defienden que la mayor prevalencia de CT en pacientes con VPH se explica simplemente por compartir el mismo modo de transmisión^{23,24}, hay otros estudios, como el de Verhoeven et al.²⁵, que demuestran que la asociación entre VPH y la CT no se puede justificar solo por el comportamiento sexual. Compararon los hábitos y marcadores de riesgo (recogidos mediante un cuestionario detallado) de 22 mujeres CT positivas con los de 44 mujeres sin infección por CT (controles), con gran concordancia entre ambos grupos. La prevalencia de VPH resultó ser un 160% mayor en pacientes con CT, ajustando los resultados a los factores de riesgo más importantes para la adquisición de VPH (edad, edad con la primera relación sexual, uso de preservativo, número de parejas sexuales en el último año, nivel socioeconómico, historia previa de ITS...). Si bien se trata de una muestra pequeña, concluyen que la asociación entre la CT y el VPH parece estar relacionada con una potenciación mutua más que simplemente al hecho de que comparten la vía de transmisión.

Relación entre Chlamydia y las lesiones epiteliales cervicales

La importancia de la relación entre ambos gérmenes radica no solo en la mayor frecuencia de detección de CT en las pacientes VPH positivas, sino sobre todo en la influencia que puede ejercer esta en la progresión de las lesiones causadas por VPH. Son numerosos los estudios epidemiológicos que relacionan la CT con el CCU y observan que la CT puede estar involucrada en la carcinogénesis cervical.

Uno de los estudios más importantes a este respecto fue llevado a cabo por Anttila et al. en Finlandia en 2001²⁶: se trata de un estudio de casos y controles que analiza la seropositividad IgG frente a CT en 181 casos de CCU. La prevalencia de Ac frente a CT en los casos y controles fue del 27 y el 13%, respectivamente. Además, el estudio distingue entre los diferentes serotipos de CT, siendo el serotipo G el que más se asoció al CCU (OR 6,6; IC del 95%, 1,6-27,0). Otros serotipos asociados al CCU fueron el serotipo I (OR 3,8; IC del 95%, 1,3-11,0) y D (OR 2,7; IC del 95%, 1,3-5,6). Concluyen también que hay una asociación límite con el serotipo B (OR 4,1; IC del 95%, 1,0-18,0) y que la exposición a múltiples serotipos de forma concomitante incrementa el riesgo de CCU ($p < 0,001$). En otro estudio finlandés, los Ac frente a serotipos G, F y K eran más frecuentes en mujeres que desarrollaban CCU que en los controles²⁷.

El anterior estudio de Koskela et al.²⁸ (2000), realizado con pacientes de Finlandia, Noruega y Suecia, encontró resultados similares: la seropositividad frente a CT se relaciona con el CCU (OR 2,2; IC del 95%, 1,5-3,3), asociación que continúa siendo significativa tras ajustar por hábitos tabáquicos y/o seropositividad frente a VPH 16 o frente a cualquier otro VPH (OR 1,7; IC del 95%, 1,1-2,7). La seropositividad a CT se asocia a más riesgo de CCU escamoso (OR 2,2; IC del 95%, 1,3-3,5), pero sin embargo no se asocia al adenocarcinoma (OR 0,4; IC del 95%, 0,1-1,7).

Otro estudio llevado a cabo en Argentina por Golijow et al.²⁹ en 2009 observó que la prevalencia de CT aumenta desde niveles bajos en mujeres con citología normal (11%)

hasta un 47% en mujeres con SIL-AG, aunque en los casos de CCU la prevalencia era menor (20%). Establece una relación, por tanto, entre la CT y el CIN 3, pero no entre la CT y el CCU. Entre las mujeres con citología normal, la prevalencia de CT era aún mayor en las pacientes con VPH positivo (12,5%) frente a las VPH negativas (10,9%), aunque esta diferencia no llegaba a alcanzar la significación estadística.

El estudio más contundente que relaciona la CT con el CCU fue publicado por Wallin et al.³⁰ en 2002. Observó, con 118 pacientes con CCU y 118 controles, que en las mujeres con CCU había una prevalencia de CT del 8%, mientras que no se constató ningún caso de infección en los controles. Por tanto, según estos datos, el riesgo relativo de CCU en pacientes con infección pasada por CT, ajustado por infección concomitante por VPH (ADN positivo) fue de 17,1 (IC del 95%, 2,6- ∞).

Smith et al.³¹, en 2002, estudiaron a 455 pacientes con CCU escamoso y 44 con adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso en Brasil y en Filipinas. Encontraron que la seroprevalencia de CT es significativamente mayor en las pacientes con CCU escamoso que en los controles (47,7% vs. 22,1%; $p < 0,0001$), pero no en los pacientes con adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso (29,6% vs. 22,1%). Además, concluyeron que las mujeres seropositivas frente a CT tienen más riesgo de presentar CCU escamoso (combinando ambos países, la OR es 2,4; IC del 95%, 1,1-5,4) y que el riesgo es similar con todos los serotipos de Chlamydia. En el caso de adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso, los estudios no demuestran esta asociación (OR 0,8; IC del 95%, 0,3-2,2), igual que el estudio de Koskela del año 2000. Estos hallazgos pueden ser sorprendentes, ya que se conoce que las células glandulares endocervicales son las células diana de la CT (las mujeres con ectopia cervical son más susceptibles de contraer la infección por Chlamydia), y sin embargo la Chlamydia no actúa como cofactor en el adenocarcinoma, sino en el carcinoma de células escamosas. Una posible explicación, como describiremos más adelante, es que la CT induce metaplasia de las células endocervicales en células escamosas y es en estas células metaplásicas donde se desarrollará el CCU.

Valadan et al.³² demostraron en 2010 que la seropositividad frente a CT se asocia a un riesgo incrementado de CIN (OR 7,3; IC del 95%, 1,5-35,2). En este estudio, la presencia de cuerpos de inclusión en la muestra también se relacionó con el CIN (OR 5,5; IC del 95%, 2,4-12,4).

Más adelante, en 2011, Smith et al.³³ llevaron a cabo un análisis combinado con los datos de la International Agency for Research on Cancer (IARC, Lyon, Francia), recogiendo información de 1.139 casos de CCU escamoso invasivo y 99 casos de adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso. Entre los casos y controles VPH positivos, el riesgo de CCU escamoso era mayor si la mujer era seropositiva a CT (OR 1,8; IC del 95%, 1,2-2,7, $p < 0,001$), con una relación directa con el título de anticuerpos (Ac). En este estudio tampoco se encuentra relación entre la seropositividad frente a CT y el adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso (OR 1,0; IC del 95%, 0,53-1,9). El efecto de la CT era similar en los diferentes serotipos (OR 2,17 para serotipo A; OR 2,21 para serotipos B, E y D; OR 1,65 para C, J, H e I, y 1,87 para F, G y K); es decir, ninguno de los serotipos tenía mayor relación con el CCU que otro.

En el estudio de Wohlmeister et al.³⁴ de 2016 realizado en Brasil se incluyeron citologías de 169 pacientes. Además de la toma citológica, se recogieron cultivos para la detección VPH y de otras 7 ITS: *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, CT, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalum*, HSV1 y HSV2, y se describe una tasa de coinfección de VPH y CT del 2,4%. Este estudio establece relación entre la infección por CT y las alteraciones citológicas graves ($p=0,02$).

En contrapartida, también hay varios estudios publicados que no han encontrado esta relación entre la infección por CT y el CIN o el CCU.

En 2014, Tungsrihong et al.³⁵ realizaron un estudio en Tailandia analizando la presencia de Ac frente a CT en muestras sanguíneas 61 pacientes con CCU y en 288 controles, sin encontrar una asociación significativa, si bien la prevalencia de CT en pacientes con CCU fue algo mayor que en la de los controles (18% vs. 14,6%). Resultados similares se obtuvieron en estudios realizados en Turquía³⁶ en 2013 y en Irán³⁷ en 2012. También en 2012, da Silva Barros et al.³⁸ encontraron una prevalencia un poco mayor de CT en pacientes VPH positivas pero la diferencia tampoco fue estadísticamente significativa. Lehtinen et al.³⁹ (2011) constataron que las mujeres infectadas por CT tenían 2 veces más riesgo que las no infectadas de desarrollar un CIN2, en un seguimiento de 3,7 años. Sin embargo, no se observó esta relación con el CIN3. Safaiean et al.⁴⁰ (2010) no observaron relación entre la CT y la prevalencia o incidencia de CIN2+ al restringir el estudio a las pacientes con infección por VPH-AR. Según este estudio, es improbable que la infección por CT afecte a la persistencia o a la progresión de las lesiones precancerosas. El estudio de Paula et al.⁴¹ (2007) tampoco encuentra diferencias significativas entre la severidad de las lesiones intraepiteliales y la presencia de CT; de hecho, la tasa de detección de CT en las muestras con alteraciones histológicas es similar a la de las pacientes con citologías negativas (9%). Otros autores que no encuentran relación entre el CIN y la CT son Castle et al.⁴² en 2003, Reesink Peters et al.⁴³ en 2001 y Borisov y Mainkhard⁴⁴ en 1995.

Todos estos estudios indican que la CT parece no estar involucrada en el desarrollo de dichas lesiones y, por consecuencia, en la carcinogénesis cervical. Por tanto, la relación entre VPH y CT continúa siendo controvertida⁴⁵ y son necesarios más estudios para poder llegar a conclusiones más determinantes.

Mecanismos moleculares para la carcinogénesis

El papel de la interacción entre la CT y el VPH en las células epiteliales del cérvix no ha sido directamente demostrado, pero varios estudios sugieren que la CT influye mediante diferentes mecanismos moleculares en la carcinogénesis cervical.

Otras infecciones bacterianas o parasitarias causantes de inflamación local se han implicado también en la carcinogénesis, como por ejemplo el *Helicobacter pylori* en el cáncer de estómago y el *Esquistosoma hematobium* en el cáncer de vejiga. Aunque esta relación entre la infección bacteriana y la carcinogénesis no está del todo clara, el daño genético y los cambios neoplásicos pueden ser inducidos in vitro al cocultivar células con células inflamatorias activadas⁴⁶.

La CT infecta a las células endocervicales, por lo que las mujeres con ectopia son más propensas a presentar una infección. La CT puede inducir metaplasia de las células cilíndricas que revisten el endocérnix⁴⁷⁻⁵¹ y el VPH tiene especial tropismo por infectar estas células metaplásicas de la unión escamocolumnar⁵². Es precisamente en esta zona de transformación donde suele iniciarse la neoplasia cervical⁵³. Además, la CT incrementa la susceptibilidad frente al VPH al producir microabrasiones y alteración de las uniones entre las células epiteliales⁵⁴, dañando la barrera mucosa y facilitando así la entrada del virus del papiloma.

Mientras que la infección del cérvix por VPH es poco inmunogénica y no produce grandes cambios inflamatorios⁵⁵, la infección por CT segrega grandes cantidades de citocinas y produce especies reactivas de oxígeno con activación de la cascada inflamatoria y promoción de la angiogénesis⁵⁶. Todo ello aboca a una inflamación crónica del tejido cervical que puede objetivarse tanto en las células obtenidas mediante citología como en el examen colposcópico y en la muestra histológica^{57,58}. En este proceso inflamatorio se generan metabolitos oxidativos y se liberan radicales libres y óxido nítrico (NO)⁵⁹. En las lesiones precancerosas y en el cáncer de cérvix hay liberación aumentada de NO⁶⁰⁻⁶² y también se ha visto que niveles elevados de NO pueden favorecer la persistencia del VPH-AR⁶³. Todos estos mediadores inflamatorios pueden dañar las proteínas reparadoras del ADN o generar genotoxicidad directa, produciendo inestabilidad cromosómica⁶⁴⁻⁶⁸. De esta forma, la CT también incrementa la susceptibilidad del huésped frente al VPH y en cierta forma potencia sus efectos e incrementa el riesgo de CCU^{69,70}.

La liberación de las citocinas producidas por la CT también altera la adhesión celular y la diferenciación celular⁷¹, y hay datos in vitro que indican que la CT inhibe la capacidad apoptótica de las células infectadas^{72,73}. Parece que la CT bloquea la liberación del citocromo C mitocondrial y la caspasa 3, lo que hace que las células infectadas sean resistentes a la acción de las células Natural Killer CD8. Además, la inflamación producida por la infección puede favorecer la replicación del VPH o la fragmentación de su ADN, lo que facilitaría la integración del ADN viral en las células epiteliales⁶⁸.

No se conoce mucho sobre el proceso de integración del ADN viral en las células del huésped pero varios estudios indican que la inflamación local produce un daño en el ADN celular que facilita dicha integración^{74,75}. La presencia de otras coinfecciones y especialmente la coinfección por CT potencian este efecto⁷⁶.

La inmunidad del huésped también puede verse alterada por la infección por CT. Las mujeres seropositivas a CT tienen mayor tendencia a activar la inmunidad humoral (mediada por linfocitos T helper tipo 2) en respuesta a determinados antígenos en detrimento de la inmunidad celular⁷⁷. Sin embargo, la responsable principal del aclaramiento del VPH es la respuesta inmunitaria celular (mediada por linfocitos T helper tipo 1)⁷⁸. Además la CT también produce una disminución de las células presentadoras de antígenos⁷⁹. Se cree, por tanto, que la CT modula la inmunidad cervical, lo que puede influir en el aclaramiento del VPH⁸⁰⁻⁸³. Así, la infección por CT favorece la persistencia del VPH, lo cual es un paso esencial y el factor de riesgo más importante para el desarrollo de la displasia cervical⁸⁴⁻⁸⁶. El estudio de Samoff

et al. (2005)⁸⁷ es un estudio de cohortes prospectivo que incluye a 621 adolescentes entre 13 y 19 años, que analiza la persistencia del VPH-AR en pacientes con CT y otras ITS. Sus resultados concluyen que la infección por CT se asocia a persistencia de VPH-AR (OR 2,1; IC del 95%, 1,0-4,1). Incluso hay datos que sugieren que la CT puede modificar la actividad viral al incrementar la expresión de algunas proteínas del VPH en las lesiones de bajo grado⁸⁸.

Además, se sabe que la CT suele cursar de manera asintomática y puede persistir durante meses en el tracto genital. Por ello, es muy importante el cribado de la CT y otras ITS en pacientes sanas y aún más interesante el cribado en pacientes portadoras de VPH o con lesiones producidas por el mismo. De esta manera, se detectarían muchos casos de infección por CT, que podrían ser tratados correctamente, evitando así los efectos que esta bacteria produce en la transformación maligna de las células cervicales infectadas por VPH. De la misma manera, debería realizarse un cribado de VPH en pacientes con diagnóstico de cualquier otra ITS.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Almonte M, Albero G, Molano M, Carcamo C, García PJ, Pérez G. Risk factors for human papillomavirus exposure and co-factors for cervical cancer in Latin America and the Caribbean. *Vaccine*. 2008;26 Suppl 11:L16-36.
- Drain PK, Holmes KK, Hughes JP, Koutsky LA. Determinants of cervical cancer rates in developing countries. *Int J Cancer*. 2002;100:199-205.
- Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, et al. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer*. 2000;82:1332-8.
- Olsen AO, Dillner J, Skrandal A, Magnus P. Combined effect of smoking and human papillomavirus type 16 infection in cervical carcinogenesis. *Epidemiology*. 1998;9:346-9.
- Castellsague X, Munoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;31:20-8.
- Giuliano AR, Sedjo RL, Roe DJ, Harris R, Baldwin S, Papenfuss MR, et al. Clearance of oncogenic human papillomavirus (HPV) infection: Effect of smoking (United States). *Cancer Causes Control*. 2002;13:839-46.
- Barton SE, Maddox PH, Jenkins D, Edwards R, Cuzick J, Singer A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: A mechanism for neoplastic change? *Lancet*. 1998;352:652-4.
- Fife KH, Cramer HM, Schroeder JM, Brown D. Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. *J Med Virol*. 2001;64:550-9.
- Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 1998;338:423-8.
- Lukic A, Canzio C, Patella A, Giovagnoli M, Cipriani P, Frega A, Moscarini M. Determination of cervicovaginal microorganisms in women with abnormal cervical cytology: The role of Ureaplasma urealyticum. *Anticancer Res* 2006;26(6 C):4843-4849.
- Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:1604-13.
- Platz-Christensen JJ, Sundstrom E, Larsson PG. Bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1994;73:586-8.
- Viikki M, Pukkala E, Nieminen P, Hakama M. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol*. 2000;39:71-5.
- Wilson JS, Honey E, Templeton A, Paavonen J, Mårdh PA, Stray-Pedersen B; EU Biomed Concerted Action Group. A systematic review of the prevalence of Chlamydia trachomatis among European women. *Hum Reprod Update* 2002;8:385-94. PMID:12206472. <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/8.4.385>
- Paba P, Bonifacio D, di Bonito L, Ombres D, Favalli C, Syrjänen K, et al. Co-expression of HSV2 and Chlamydia trachomatis in HPV-positive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia lesions is associated with aberrations in key intracellular pathways. *Intervirology*. 2007;51:230-4.
- Lehmann M, Groh A, Rodel J, Nindl I, Straube E. Detection of Chlamydia trachomatis DNA in cervical samples with regard to infection by human papillomavirus. *J Infect*. 1999;38:12-7.
- Kanno MB, Nguyen RH, Lee EM, Zenilman JM, Erbeling EJ. The prevalence of abnormal cervical cytology in a sexually transmitted diseases clinic. *Int J STD AIDS*. 2005;16:549-52.
- Silva J, Cerqueira F, Ribeiro J, Sousa H, Osorio T, Medeiros R. Is Chlamydia trachomatis related to human papillomavirus infection in young women of southern European population? A self-sampling study. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;288:627-33.
- Finan RR, Tamim H, Almawi WY. Identification of Chlamydia trachomatis DNA in human papillomavirus (HPV) positive women with normal and abnormal cytology. *Archi Gynecol Obstet*. 2002;266:168-71.
- Panatto D, Amicizia D, Biachi S, Frati ER, Zorri CM, Lai PL, et al. Chlamydia Trachomatis prevalence and Chlamydia/HPV coinfection among HPV-unvaccinated young Italian females with normal cytology. *Hum Vacc Imm*. 2015;11:270-6.
- Jianhua L, Weiwei L, Yan L, Xiuzhen Z, Zhijien Z, Zhengrong S. Prevalence of microorganisms co-infections in human papillomaviruses infected women in Northern China. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;293:595-602.
- Quinónez-Calvache EM, Ríos-Chaparro DI, Ramírez JD, Soto-De León SC, Camargo M, Del Río-Ospina L, et al. Chlamydia trachomatis frequency in a cohort of HPV-infected Colombian women. En: Meyers C, editor. *PLoS ONE* 2016;11(1):e0147504. doi:10.1371/journal.pone.0147504.
- Muñoz N, Kato I, Bosch FX, Eluf-Neto J, de Sanjose S, Ascunce N, et al. Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. *Sex Transm Dis*. 1996;23:504-10.
- Tamim H, Finan RR, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Cervico-vaginal coinfections with human papillomavirus and Chlamydia trachomatis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2002;43:277-81. doi:10.1054/dm.2002.00403-0.
- Verhoeven V, Baay M, Weyler J, Avonts D, Lardon F, van Royen P, et al. Concomitant Chlamydia trachomatis and human papilloma virus infection cannot be attributed solely to sexual behaviour. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:735-7.
- Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikäheimo I, et al. Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for cervical squamous cell carcinoma. *JAMA*. 2001;285:47-51.
- Lehtinen M, Dillner J, Knekt P, Luostarinen T, Aromaa A, Reinhard Kirnbauer R, et al. Serologically diagnosed infection with human papillomavirus type 16 and risk for subsequent development of cervical carcinoma. *BMJ*. 1996;312:537-9.
- Koskela P, Anttila T, Björge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M, et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer*. 2000;85:35-9.

29. Golijow CD, Abba MC, Mouron SA, Laguens RM, Dulout FN, Smith JS. Chlamydia trachomatis and human papillomavirus infections in cervical disease in Argentine women. *Gynecol Oncol*. 2005;96:181–6, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2004.09.037>
30. Wallin KL, Wiklund F, Luostarinen T, Angstrom T, Anttila T, Bergman F, et al. A population-based prospective study of Chlamydia trachomatis infection and cervical carcinoma. *Int J Cancer*. 2002;101:371–4, <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.10639>
31. Smith JS, Munoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, et al. Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis*. 2002;185:324–31.
32. Valadan M, Yarandi F, Eftekhari Z, Darvish S, Fathollahi MS, Mirsalehian A. Chlamydia trachomatis and cervical intraepithelial neoplasia in married women in a Middle Eastern community. *EMHJ*. 2010;13:304–7.
33. Smith JS, Bosetti C, Munoz N, Herrero R, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: A pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *Int J Cancer*. 2004;111:431–9.
34. Wohlmeister D, Renz Barreto D, Etges Helfer V, Gimenes F, Lopes Consolario ME, Bones Barcellos R, et al. Association of human papillomavirus and Chlamydia trachomatis with intraepithelial alterations in cervix samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2016;111:106–13.
35. Tungsithong N, Kasinpila C, Maneenin C, Namujju PB, Lehtinen M, Anttila A, et al. Lack of significant effects of Chlamydia trachomatis infection on cervical cancer risk in a nested case-control study in North-East Thailand. *Asian Pacific Cancer Prev*. 2014;1583:1497–500.
36. Onel M, Küçük S, Töre G, Ağaçfıdan A. Investigation of Chlamydia trachomatis seropositivity in patients with cervical cancer. *Mikrobiyol Bul*. 2013;47:702–7.
37. Farivar TN, Johari P. Lack of association between Chlamydia trachomatis infection and cervical cancer —Taq Man realtime PCR assay findings. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13:3701–4.
38. Da Silva Barros NK, Costa MC, Alves RR, Villa LL, Derchain SF, Zeferino LC, et al. Association of HPV infection and Chlamydia trachomatis seropositivity in cases of cervical neoplasia in Midwest Brazil. *J Med Virol*. 2012;84:1143–50, <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.23312>
39. Lehtinen M, Ault KA, Lytikainen E, Dillner J, Garland SM, Ferris DG, et al. Chlamydia trachomatis infection and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Sex Transm Infect*. 2011;87:372–6.
40. Safaiean M, Quint K, Schiffman M, Rodriguez AC, Wacholder S, Herrero R, et al. Chlamydia trachomatis and risk of prevalent and incident cervical premalignancy in a population-based cohort. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102:1794–804.
41. De Paula FD, Fernandes AP, Carmo BB, Vieira DC, Dutra MS, Santos CG, et al. Molecular detection of Chlamydia trachomatis and HPV infections in cervical samples with normal and abnormal cytopathological findings. *Diagnostic Cytopathology*. 2007;35:198–202.
42. Castle P, Rattray C, Sugai K, Hanchard B, Hutchinson M. Chlamydia trachomatis, Herpes simplex virus 2, and human T-cell lymphotropic virus type 1 are not associated with grade of cervical neoplasia in Jamaican colposcopy patients. *Sex Transm Dis*. 2003;30:575–80.
43. Reesink-Peters N, Ossewaarde J, van der Zee AGJ, Quint W, Burger M, Adriaanse A. No association of anti-Chlamydia trachomatis antibodies and severity of cervical neoplasia. *Sex Trans Infect*. 2001;77:101–2, <http://dx.doi.org/10.1136/sti.77.2.101>
44. Borisov I, Mainkhard K. The relationship between genital chlamydial infection and the presence of cervical intraepithelial neoplasia. *Akush Ginecol*. 1995;248:2134–8.
45. Yoshikawa H, Nagata C, Noda K, Nozawa S, Yajima A, Sekiya S, et al. Human papillomavirus infection and other risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in Japan. *Br J Cancer*. 1999;80(3-4):621–4.
46. Rosin MP, Anwas WA, Ward AJ. Inflammation, chromosomal instability, and cancer. *Cancer Res*. 1994;54:1929–33.
47. Beatty WL, Morrison RP, Byrne GI. Persistent chlamydiae: From cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. *Microb Rev*. 1994;58:686–99.
48. Paavonen J, Puroola E. Cytological findings in cervical chlamydial infection. *Med Biol*. 1980;58:174e8.
49. Quint K, de Koning M, Geraets D, Quint W, Pirog E. Comprehensive analysis of human papillomavirus and Chlamydia trachomatis in in-situ and invasive cervical adenocarcinoma. *Gynecol Oncol*. 2009;114:390e4.
50. Kiviat NB, Peterson M, Kinney-Thomas E, Tam M, Stamm WE, Holmes KK. Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. II. Confirmation of Chlamydia trachomatis infection by direct immunofluorescence using monoclonal antibodies. *J Am Med Assoc*. 1985;253:997–1000.
51. Mitao M, Reumann W, Winkler B, Richart RM, Fujiwara A, Crum CP. Chlamydial cervicitis and cervical intraepithelial neoplasia: An immunohistochemical analysis. *Gynecol Oncol*. 1984;19:90–7.
52. Urbina MT, Medina R, Muñoz G, Sánchez V, Benjamin I, Lerner J. Infección por Chlamydia trachomatis. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2010;70:90.
53. Moscicki AB, Burt VG, Kanowitz S, Darragh T, Shiboski S. The significance of squamous metaplasia in the development of low grade squamous intraepithelial lesions in young women. *Cancer*. 1999;85:1139–44.
54. Prozialeck WC, Fay MJ, Lamar PC, Pearson CA, Sigar I, Ramsey KH. Chlamydia trachomatis disrupts N-cadherin-dependent cell-cell junctions and sequesters beta-catenin in human cervical epithelial cells. *Infect Immun*. 2002;70:2605–13.
55. Tindle RW. Immune evasion in human papillomavirus associated cervical cancer. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:59–65, <http://dx.doi.org/10.1038/nrc700>
56. Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. Human papillomavirus and cervical neoplasia. *Cad Saude Publica*. 2009;25:953–64.
57. Cevenini R, Costa S, Rumpianesi F, Donati M, Guerra B, Diana TR, et al. Cytological and histopathological abnormalities of the cervix in genital Chlamydia trachomatis infections. *Br J Vener Dis*. 1981;57:334–7.
58. Paavonen J, Stevens CE, Wolner-Hanssen P, Critchlow CW, Derouen T, Kiviat N, et al. Colposcopic manifestations of cervical and vaginal infections. *Obstet Gynecol Surv*. 1988;43:373–81.
59. Wei L, Gravitt PE, Song H, Maldonado AM, Ozbun MA. Nitric oxide induces early viral transcription coincident with increased DNA damage and mutation rates in human papillomavirus-infected cells. *Cancer Res*. 2009;69:4878–84.
60. Hiraku Y, Tabata T, Ma N, Murata M, Ding X, Kawanishi S. Nitrate and oxidative DNA damage in cervical intraepithelial neoplasia associated with human papilloma virus infection. *Cancer Sci*. 2007;98:964–72.
61. Mazibrada J, Ritta M, Mondini M, de Andrea M, Azzimonti B, Borgogna C, et al. Interaction between inflammation and angiogenesis during different stages of cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol*. 2008;108:112–20.
62. Da Silva CS, Michelin MA, Etchebehere RM, Adad SJ, Murta EF. Local lymphocytes and nitric oxide synthase in the uterine cervical stroma of patients with grade III cervical intraepithelial neoplasia. *Clinics*. 2010;65:575–81.
63. Rahkola P, Vaisanen-Tommiska M, Tuomikoski P, Ylikorkala O, Mikkola TS. Cervical nitric oxide release and persistence

- of high-risk human papillomavirus in women. *Int J Cancer*. 2011;128:2933–7.
64. Felley-Bosco E. Role of nitric oxide in genotoxicity: Implication for carcinogenesis. *Cancer Metastasis Rev*. 1998;17:25–37.
 65. Jaiswal M, LaRusso NF, Burgart LJ, Gores GJ. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. *Cancer Res*. 2000;60:184–90.
 66. Knowlton AE, Fowler LJ, Patel RK. Chlamydia induces Anchorage independence in 3T3 cells and detrimental cytological defects in an infected model. *PLoS ONE*. 2013;8:e54022.
 67. Rahkola P, Vaisanen-Tommiska M, Hiltunen-Back E, Auvinen E, Ylikorkala O, Mikkola TS. Cervical nitric oxide release in Chlamydia trachomatis and high-risk human papillomavirus infection. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2011;90:961–5.
 68. Williams VM, Filippova M, Soto U, Duerksen-Hughes PJ. HPV-DNA integration and carcinogenesis: Putative roles for inflammation and oxidative stress. *Future Virol*. 2011;6:45–57.
 69. Castle PE, Hillier SL, Rabe LK, Hildesheim A, Herrero R, Bratti MC, et al. An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infected with oncogenic human papillomavirus (HPV). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;10:1021–7.
 70. Castle PE, Giuliano AR. Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients —assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;31:29–34.
 71. Simonetti AC, Melo JH de L, de Souza PRE, Brunessa D, de Lima Filho JL. Immunological's host profile for HPV and Chlamydia trachomatis, a cervical cancer cofactor. *Microbes Infect*. 2009;11:435–42.
 72. Fan T, Lu H, Hu H, Shi L, McClarty GA, Nance DM, et al. Inhibition of apoptosis in chlamydia-infected cells: Blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation. *J Exp Med*. 1998;187:487–96.
 73. Greene W, Xiao Y, Huang Y, McClarty G, Zhong G. Chlamydia-infected cells continue to undergo mitosis and resist induction of apoptosis. *Infect Immun*. 2004;72:451–60.
 74. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160:1–40.
 75. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2000;21:361–70.
 76. Visalli G, Riso R, Faccioli A, Mondello P, Caruso C, Picerno I, et al. Higher levels of oxidative dna damage in cervical cells are correlated with the grade of dysplasia and hpv infection. *Journ Med Virol*. 2016;88:336–44.
 77. Eckert LO, Hawes SE, Wolner-Hanssen P, Money DM, Peeling RW, Brunham RC, et al. Prevalence and correlates of antibody to chlamydial heat shock protein in women attending sexually transmitted disease clinics and women with confirmed pelvic inflammatory disease. *J Infect Dis*. 1997;175:1453–8.
 78. Stern PL, Brown M, Stacey SN, Kitchener HC, Hampson I, Abdel-Hady DS, et al. Natural HPV immunity and vaccination strategies. *J Clin Virol*. 2000;19:57–66.
 79. Verteramo R, Pierangeli A, Mancini E, Calzolari E, Bucci M, Osborn J, et al. Human papillomaviruses and genital co-infections in gynecological outpatients. *BMC Infect Dis*. 2009;9:16.
 80. Debattista J, Timms P, Allan J. Immunogenesis of Chlamydia trachomatis infections in women. *Fertil Steril*. 2003;79:1273–87.
 81. Stephens RS. The cellular paradigm of chlamydial pathogenesis. *Trends Microbiol*. 2003;11:44–51.
 82. Kiviat NB, Paavonen J, Wolner-Hanssen P, Critchlow CW, Stamm WE, Douglas J, et al. Histopathology of endocervical infection caused by Chlamydia trachomatis, herpes simplex virus, Trichomonas vaginalis, and Neisseria gonorrhoeae. *Hum Pathol*. 1990;21:831–7.
 83. Agrawal T, Vats V, Wallace L. Role of cervical dendritic cell subsets, co-stimulatory molecules, cytokine secretion profile and beta-estradiol in development of sequelae to Chlamydia trachomatis infection. *BMC Reproduct Biol Endocrinol*. 2008;6:46.
 84. Shew ML, Fortenberry JD, Tu W, Juliar BE, Batteiger BE, Qadadri B, et al. Association of condom use, sexual behaviors, and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2006;160:151–6.
 85. Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: Biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer*. 2005;15:727–46.
 86. Velicer C, Zhu X, Vuocolo S, Liaw KL, Saah A. Prevalence and incidence of HPV genital infection in women. *Sex Transm Dis*. 2009;36:696–703.
 87. Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE, Sternberg M, Sawyer MK, Swan D, et al. Association of Chlamydia trachomatis with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. *Am J Epidemiol*. 2005;162:668–75.
 88. Fischer N. Chlamydia trachomatis infection in cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2002;23:247–50.