



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MAYLLA CARDOSO DE OLIVEIRA

**ASSOCIAÇÃO DAS VARIANTES GENÉTICAS rs5742909,
rs231775 e rs3087243 DE *CTLA4* COM A INFECÇÃO PELO
PAPILOMAVÍRUS HUMANO, NO DESENVOLVIMENTO DE
LESÕES INTRAEPITELIAIS E NO CÂNCER CERVICAL**

Londrina
2024

MAYLLA CARDOSO DE OLIVEIRA

**ASSOCIAÇÃO DAS VARIANTES GENÉTICAS rs5742909,
rs231775 e rs3087243 DE *CTLA4* COM A INFECÇÃO PELO
PAPILOMAVÍRUS HUMANO, NO DESENVOLVIMENTO DE
LESÕES INTRAEPITELIAIS E NO CÂNCER CERVICAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina como pré-requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a Karen Brajão de Oliveira

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

O48as Oliveira, Maylla Cardoso de.
Associação das variantes genéticas rs5742909, rs231775 e rs3087243 de CTLA4 com a infecção pelo Papilomavírus Humano, no desenvolvimento de lesões intraepiteliais e no câncer cervical / Maylla Cardoso de Oliveira. - Londrina, 2024.
75 f. : il.

Orientador: Karen Brajão de Oliveira.
Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Antígeno 4 associado a linfócitos T citotóxicos - Tese. 2. CD152 - Tese. 3. LIEBG - Tese. 4. LIEAG - Tese. I. Oliveira, Karen Brajão de . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental. III. Título.

CDU 616

MAYLLA CARDOSO DE OLIVEIRA

**ASSOCIAÇÃO DAS VARIANTES GENÉTICAS rs5742909,
rs231775 e rs3087243 DE CTLA4 COM A INFECÇÃO PELO
PAPILOMAVÍRUS HUMANO, NO DESENVOLVIMENTO DE
LESÕES INTRAEPITELIAIS E NO CÂNCER CERVICAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina como pré-requisito para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Karen Brajão de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Roberta Losi Guembarovski
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 18 de junho de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Profa. Dra. Karen Brajão de Oliveira pelo conhecimento obtido sob sua orientação, pelo acolhimento, cuidado, paciência e disponibilidade que permitiram a realização desse trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Roberta Losi Guembarovski e Profa. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche, e também, da banca suplente, Profa. Dra. Juliana Mara Serpeloni e Prof. Dr. Fábio Goulart de Andrade, que se dispuseram para colaborar com essa pesquisa e enriquece-la com seus conhecimentos.

Ao programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e à Universidade Estadual de Londrina, pelo incentivo à pesquisa e apoio institucional. À CAPES, CNPq, e a PROPPG-UEL, pelo apoio financeiro para realização do projeto.

Ao Sistema Único de Saúde e às pacientes que viabilizaram a realização deste estudo com a participação voluntária e doação das amostras.

Aos colegas da equipe do Laboratório de Genética Molecular e Imunologia (LAGMI) e do Laboratório de Estudos e Aplicações de Polimorfismos de DNA (LEAP) que sempre se dispuseram de seu tempo para me ensinar, discutir e sanar dúvidas. Em especial, gostaria de agradecer a Giulia Mariane pela amizade e companheirismo.

Aos meus colegas de turma de mestrado, que compartilharam suas experiências e tornaram as disciplinas mais enriquecedoras. Em particular, a Maria Beatriz, Emanuel e Paloma, meus amigos da graduação que continuaram comigo na jornada da pós-graduação; portanto, sou muito grata pela amizade deles.

A todos os meus professores, não somente do programa de Pós-graduação em Patologia Experimental, mas todos os professores que contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

Agradeço imensamente aos meus pais, Rosangela e João, por serem minha maior rede de apoio e minha maior fonte de inspiração. Aos meus sobrinhos, Miguel e Ana Beatriz, por serem meu refúgio. Ao meu irmão, Allan, por me apoiar e vibrar comigo. A todos os meus familiares e amigos que se preocuparam e me apoiaram.

Agradeço a Deus por mais essa conquista!

OLIVEIRA, Maylla Cardoso de. **Associação das variantes genéticas rs5742909, rs231775 e rs3087243 de *CTLA4* com a infecção pelo Papilomavírus Humano, no desenvolvimento de lesões intraepiteliais e no câncer cervical.** Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas – Universidade Estadual de Londrina, 2024.

RESUMO

O antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico (CTLA-4) é um receptor expresso na superfície de células T regulatórias (Tregs), T CD4⁺ e CD8⁺, sendo altamente expresso em Tregs e, quando ativo, regula negativamente a proliferação e ativação da própria célula T. Variantes de nucleotídeo único (SNVs) no gene que codifica o CTLA-4 podem levar à substituição de aminoácidos, alterar o *splicing* do mRNA e influenciar a expressão deste gene, afetando a resposta imunológica contra o Papilomavírus Humano (HPV) e o processo de malignização cervical. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho consistiu em avaliar a associação dos alelos, genótipos e haplótipos das SNVs rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4* com a infecção pelo HPV, no desenvolvimento de lesões intraepiteliais escamosas e no câncer cervical em uma amostra de mulheres atendidas pelo serviço público de saúde do Paraná, Brasil. Foram coletadas amostras de sangue periférico e de secreção cervical para extração de DNA genômico, utilizado para genotipagem das variantes genéticas (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real) e caracterização da presença de HPV (PCR convencional). As combinações haplotípicas das SNVs de *CTLA4* foram inferidas pelo *software* PHASE e as análises estatísticas foram realizadas no *software* SPSS *Statistics*, adotando-se nível de significância de $p < 0,05$. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (CAAE 38937520.2.0000.5231). Foram incluídas 445 mulheres no estudo, agrupadas inicialmente de acordo com a presença (n=264) ou ausência (n=181) de infecção pelo HPV. O grupo com infecção pelo HPV foi subdividido de acordo com o grau de lesão: sem lesão (n=84), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LIEBG) (n=19), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG) (n=56) e câncer cervical (n=105). Ao analisar a SNV rs5742909 (-318 C>T), pôde-se observar que mulheres com genótipo CT tiveram maior probabilidade de ter HPV do que aquelas com genótipo CC e mulheres portadoras do alelo T estavam mais suscetíveis ao desenvolvimento de HSIL e câncer cervical do que mulheres com o genótipo CC. Em relação a SNV rs3087243 (+6230 G>A), observou-se as mulheres portadoras do alelo A tinham menor probabilidade de desenvolver LSIL do que mulheres com o genótipo GG. Não foi encontrada associação significativa relacionada a SNV rs231775 (+49 A>G). Na análise de haplótipos observou-se que mulheres heterozigotas para TAG tinham maior probabilidade de terem a infecção pelo HPV do que aquelas que possuíam outro haplótipo analisado. Além disso, as mulheres que eram homozigotas para TAG estavam mais suscetíveis a desenvolver LIEAG e malignização cervical do que aquelas que não eram portadoras do haplótipo TAG. Esse é o primeiro trabalho que avalia a associação das SNVs rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4* com a infecção pelo HPV, no desenvolvimento de lesões intraepiteliais e no câncer cervical em mulheres brasileiras, sendo importante para a caracterização genética dessas pacientes. Uma maior compreensão do papel das variantes genéticas de *CTLA4* pode contribuir para o estabelecimento de novos biomarcadores e o desenho de tratamentos com alto nível de especificidade.

Palavras-chave: Antígeno 4 associado a linfócitos T citotóxicos; CD152; LIEBG; LIEAG; Haplótipos de *CTLA4*.

OLIVEIRA, Maylla Cardoso de. **Association of *CTLA4* genetic variants rs5742909, rs231775 and rs3087243 with Human Papillomavirus infection, development of intraepithelial lesions and cervical cancer.** Dissertation – Postgraduate Program in Experimental Pathology, Department of Pathological Sciences, Biological Science Center – State University of Londrina, 2024.

ABSTRACT

Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) is a receptor expressed on the surface of regulatory T cells (Tregs), CD4⁺ and CD8⁺ T cells, being highly expressed in Tregs and, when active, negatively regulates the proliferation and activation of the T cell. Single nucleotide variants (SNVs) in the gene encoding CTLA-4 can lead to amino acid substitution, alter mRNA splicing and influence the expression of this gene, affecting the immune response against Human Papillomavirus (HPV) and the process of cervical malignancy. Given the above, the objective of this study was to evaluate the association of alleles, genotypes, and haplotypes of CTLA4 SNVs rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G), and rs3087243 (+6230 G>A) with HPV infection, development of squamous intraepithelial lesions, and cervical cancer in a sample of women treated by the public health service in Paraná, Brazil. Peripheral blood and cervical secretion samples were collected for extraction of genomic DNA, which was used for genotyping of genetic variants (Real-Time Polymerase Chain Reaction) and characterization of the presence of HPV (conventional PCR). The haplotype combinations of *CTLA4* SNVs were inferred by PHASE software, and statistical analyses were performed using SPSS Statistics software, adopting a significance level of $p < 0.05$. The project was approved by the Human Research Ethics Committee of the State University of Londrina (CAAE 38937520.2.0000.5231). A total of 445 women were included in the study, initially grouped according to the presence (n=264) or absence (n=181) of HPV infection. The group with HPV infection was subdivided according to the degree of lesion: no lesion (n=84), low-grade squamous intraepithelial lesion (LSGIL) (n=19), high-grade squamous intraepithelial lesion (HSGIL) (n=56) and cervical cancer (n=105). When analyzing the SNV rs5742909 (-318 C>T), it was observed that women with the CT genotype were more likely to have HPV than those with the CC genotype, and women carrying the T allele were more susceptible to developing HSIL and cervical cancer than women with the CC genotype. Regarding the SNV rs3087243 (+6230 G>A), it was observed that women carrying the A allele were less likely to develop LSIL than women with the GG genotype. No significant association was found related to SNV rs231775 (+49 A>G). In the haplotype analysis, it was observed that women heterozygous for TAG were more likely to have HPV infection than those who had another haplotype analyzed. In addition, women who were homozygous for TAG were more susceptible to developing LIEAG and cervical malignancy than those who were not carriers of the TAG haplotype. This is the first study to evaluate the association of *CTLA4* SNVs rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) with HPV infection, development of intraepithelial lesions and cervical cancer in Brazilian women, and it's important for the genetic characterization of these patients. A better understanding of the role of *CTLA4* genetic variants may contribute to the establishment of new biomarkers and the design of treatments with a high level of specificity.

Keywords: Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4; CD152; HSIL; LSIL; *CTLA4* Haplotypes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da estrutura genômica de um HPV-BR e de um HPV-AR.	14
Figura 2. Entrada do HPV através de microfissuras no epitélio.....	15
Figura 3. Entrega do genoma viral ao núcleo da célula hospedeira.....	16
Figura 4. Mecanismos de carcinogênese do HPV-AR.....	21
Figura 5. Variantes genéticas de <i>CTLA4</i> associadas ao câncer.....	25
Figura 6. Isoformas de CTLA-4.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
APC	Célula apresentadora de antígeno
C	Citosina
CD28	<i>Cluster</i> de diferenciação 28
CTLA-4	Antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E2F	Fator de ligação ao promotor E2
E6AP	Proteína associada a E6
Fas	Receptor de morte da superfície celular Fas
flCTLA-4	CTLA-4 de comprimento total
G	Guanina
HPV	Papilomavírus Humano
HPV-AR	HPV de alto risco oncogênico
HPV-BR	HPV de baixo risco oncogênico
hTERT	Transcriptase reversa da telomerase humana
ICOS	Coestimulador induzível de células T
LCR	Região de controle longa
LIEAG	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
LIEBG	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
miRNA	MicroRNA
mRNA	RNA mensageiro
ORF	Fase de leitura aberta
p53	Proteína supressora de tumor p53
PD1	Proteína de morte celular programada 1
PML	Corpos de leucemia promielocítica
pRb	Proteína do retinoblastoma
RNA	Ácido ribonucleico
sCTLA-4	CTLA-4 solúvel
SNV	Variante de nucleotídeo único
SUS	Sistema Único de Saúde
T	Timina

T CD4 ⁺	Linfócito T auxiliar
T CD8 ⁺	Linfócito T citotóxico
TCR	Receptor de células T
Tregs	Células T reguladoras
UTR	Região não traduzida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)	11
1.1.1. Estrutura genômica.....	12
1.1.2. Etapas da infecção	14
1.1.3. HPV e câncer cervical	18
1.1.4. Imunidade contra o HPV.....	21
1.2. ANTÍGENO 4 ASSOCIADO AO LINFÓCITO T CITOTÓXICO (CTLA-4)	23
1.2.1. Variantes de nucleotídeo único de <i>CLTA4</i>	26
1.2.2. CTLA-4 como alvo terapêutico	30
1. OBJETIVOS	33
2.1. OBJETIVO GERAL	33
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3. REFERÊNCIAS	34
4. PRODUÇÃO CIENTÍFICA	47
5. CONCLUSÃO	71
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
APÊNDICES	73
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	73
APÊNDICE B – Questionário Socioepidemiológico	74
ANEXOS	75
ANEXO A – Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos/UEL	75

1. INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero, também chamado de câncer cervical, ocupa a terceira posição entre os tipos mais frequentes de câncer em mulheres, sem considerar os tumores de pele não melanoma (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2023).

O principal fator de risco para o desenvolvimento de câncer cervical é a infecção persistente pelos tipos oncogênicos de Papilomavírus Humano (HPV), considerada a infecção sexualmente transmissível mais comum em todo o mundo e que está relacionada em cerca de 99,7% dos casos de câncer de colo de útero (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

A maioria dos indivíduos infectados pelo HPV acaba eliminando esse vírus sem intervenção; portanto, existem cofatores intrínsecos aos indivíduos que também estão associados ao processo de malignização cervical, como cofatores imunológicos, hormonais, socioeconômicos, ambientais e genéticos (GHEIT, 2019).

Variantes genéticas em elementos envolvidos na resposta imune antitumoral, como no gene que codifica o antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico (CTLA-4), receptor inibitório envolvido na regulação negativa da resposta das células T, podem alterar a suscetibilidade ao desenvolvimento de câncer cervical (HU et al., 2020; SU et al., 2007; RAHIMIFAR et al., 2010).

Com isso, o objetivo desse estudo consiste em avaliar a frequência dos alelos, genótipos e haplótipos das variantes genéticas de *CTLA4* e suas associações com a infecção pelo HPV, desenvolvimento de lesões intraepiteliais cervicais e de câncer de colo uterino em uma amostra de mulheres do estado do Paraná - Brasil.

1.1. PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

O HPV pertence à família *Papillomaviridae* e consiste em um vírus não envelopado constituído por um capsídeo proteico icosaédrico com 50 a 55 nm de diâmetro, abrigando seu ácido desoxirribonucleico (do inglês *DNA*) circular em dupla fita (DOORBAR et al., 2015). O HPV apresenta tropismo por células epiteliais e causa infecções na pele e mucosas (LETO et al., 2011). Já foram identificados cerca de 450 tipos diferentes de HPV e esse número continua a crescer devido ao aumento

exponencial na identificação de novos Papilomavírus (BRANCACCIO et al., 2018). Para ser classificado como um novo tipo de Papilomavírus, a sequência de nucleotídeos da proteína L1 do capsídeo deve compartilhar <90% de similaridade com outros vírus da mesma família (DE VILLIERS et al., 2004).

Os tipos de HPV são organizados em cinco gêneros principais: *Alfapapilomavirus*, *Betapapilomavirus*, *Gamapapilomavirus*, *Mupapilomavirus* e *Nupapilomavirus* (DE VILLIERS et al., 2004). Com base em dados epidemiológicos e biológicos, um subgrupo de 14 tipos de HPV de mucosa (HPV 16, 18, 31, 45, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 66, 68 e 70), classificados no gênero *Alfapapilomavirus*, são referidos como tipos de HPV de alto risco oncogênico (HPV-AR), ou seja, são considerados como cancerígenos (HALEC et al., 2013; WOLF et al., 2024). Os HPV-AR são os agentes etiológicos de vários tipos de tumores malignos, como o câncer de colo do útero, vagina, vulva, ânus, pênis e um subconjunto de neoplasias malignas de cabeça e pescoço, particularmente de orofaringe (GHEIT, 2019). Os tipos de HPV-AR mais frequentemente relacionados ao desenvolvimento de câncer cervical são o HPV 16 e 18 (DE MARTEL et al., 2017).

Existem também os tipos de HPV de baixo risco oncogênico (HPV-BR), que são fatores precursores de lesões benignas, como verrugas genitais benignas ou condiloma acuminado. Os tipos de HPV-BR mais relatados e estudados são o HPV 6 e 11, que também são do gênero *Alfapapilomavirus* (BALL et al., 2011).

1.1.1. Estrutura genômica

O HPV é formado por DNA circular de dupla fita com aproximadamente 8000 pares de bases (TOMAIĆ, 2016). Ele é organizado em três regiões principais: uma região regulatória denominada Região de Controle Longa (*Long Control Region - LCR*), que contém promotores virais, intensificadores e a origem de replicação; a região de codificação precoce (*Early - E*) contendo genes que geralmente são expressos no início do ciclo infeccioso e nas camadas inferiores de uma lesão infectada, que codifica as proteínas E1, E2, E4, E5, E6 e E7 envolvidas na expressão, replicação e sobrevivência viral; e a região de codificação tardia (*Late - L*), que codifica as proteínas estruturais L1 e L2 que constituem o capsídeo proteico icosaédrico (VAN DOORSLAER; MCBRIDE, 2016; MCBRIDE, 2022).

Essa organização genômica é compartilhada entre todos os HPV do gênero *Alfapapillomavirus* (VAN DOORSLAER; MCBRIDE, 2016). Existem algumas diferenças genômicas entre os gêneros dos tipos de HPV, como, por exemplo, a fase de leitura aberta (do inglês *ORF*) E5 está ausente nos tipos de HPV que pertencem aos gêneros *Beta*, *Gama* e *Mu* (CHEN et al., 2007; NOBRE et al., 2009). No entanto, são necessárias apenas quatro ORFs (E1, E2, L1 e L2) para garantir a função de replicação viral e a disseminação do vírus (VAN DOORSLAER; MCBRIDE, 2016).

Também existem diferenças entre o genoma do HPV-AR e do HPV-BR (Figura 1). Como exemplo, o HPV-AR consegue codificar uma (ou duas) das quatro diferentes proteínas E5 (E5 α , E5 β , E5 γ e E5 δ) devido à presença de um segmento adicional do gene *E5* (BRAVO; FELEZ- SANCHEZ, 2015; BRAVO; ALONSO, 2004). Além disso, as proteínas E6 e E7 do HPV-AR são transcritas a partir de um único RNA mensageiro (mRNA) policistrônico, que, ao passar pelo *splicing* alternativo, também dá origem a uma nova proteína, conhecida como E6*; enquanto que, as proteínas E6 e E7 do HPV-BR são transcritas a partir de promotores diferentes (MCBRIDE, 2022).

A expressão dos genes do HPV é regulada a nível transcricional e pelo processamento de RNA, como pelo *splicing* alternativo e poliadenilação do mRNA, gerando vantagens que incluem a capacidade de expressar diversos genes mesmo possuindo um genoma compacto, além da habilidade de regular a expressão de cada gene individualmente dependendo do estágio do ciclo viral (SCHWARTZ, 2013). Um exemplo bastante interessante é a expressão tardia das proteínas L1 e L2 em células diferenciadas nas camadas superiores do epitélio, responsáveis pela formação do capsídeo ao redor dos genomas virais replicados, tornando os vírions prontos para serem liberados para poderem infectar outras células epiteliais (GHEIT, 2019).

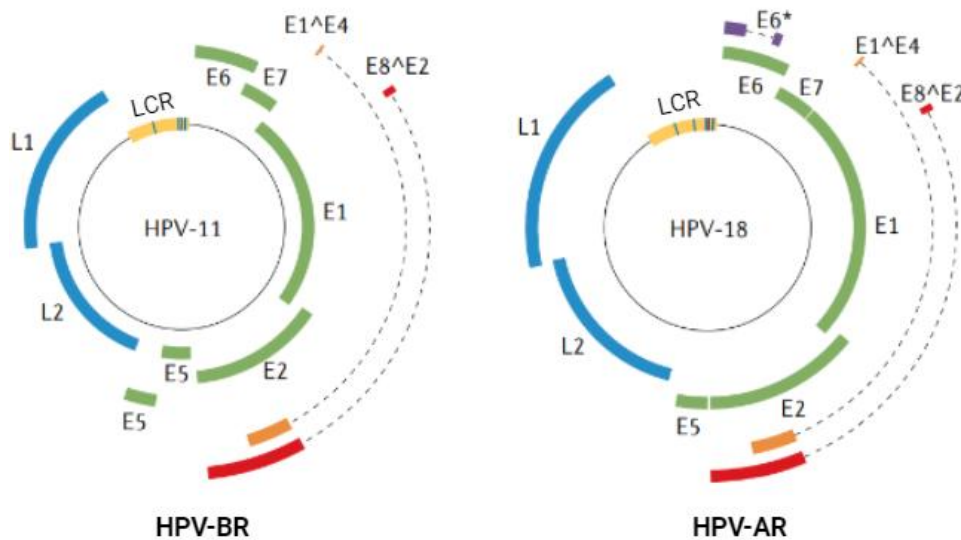


Figura 1. Representação da estrutura genômica de um HPV-BR e de um HPV-AR.

O genoma do HPV é dividido em uma região regulatória não codificante (LCR) e uma região contendo as fases de leitura aberta, que codificam proteínas precoces E1-E7 e as proteínas tardias L1-L2. Os principais transcritos originados são E1[^]E4, E8[^]E2 e E6* (expresso apenas por HPV-AR). HPV-BR (Papilomavírus Humano de baixo risco oncogênico); HPV-AR (Papilomavírus Humano de alto risco oncogênico). Adaptado de MCBRIDE (2022).

1.1.2. Etapas da infecção

A transmissão do HPV acontece através do contato pele-pele ou pele-mucosa, sendo a transmissão sexual a mais documentada, mas existem pesquisas que sugerem também vias de transmissão não sexuais (PETCA et al., 2020). Os tipos de HPV infectam diferentes regiões anatômicas do epitélio cutâneo ou da mucosa. Esse tropismo para diferentes regiões não depende dos receptores de entrada do vírus, mas acredita-se que esteja relacionado à capacidade de cada vírus de transcrever RNA em diferentes tipos de células (EGAWA; DOORBAR, 2017).

Para iniciar o ciclo de infecção, o vírion do HPV deve acessar a camada de células basais que estão em divisão, através de microfissuras (Figura 2), pois elas acabam expondo proteoglicanos de sulfato de heparina da membrana celular ou matriz extracelular, estrutura na qual o vírion se liga primeiramente através de sua proteína L1 (ROBERTS et al., 2007). Essa ligação promove uma alteração conformacional no capsídeo viral, expondo a proteína L2 à enzima furina convertase, ocasionando a proteólise de L2, permitindo que o vírion se ligue a um receptor secundário nos queratinócitos, causando a internalização dele pela célula (DAY; SCHELHAAS, 2014).

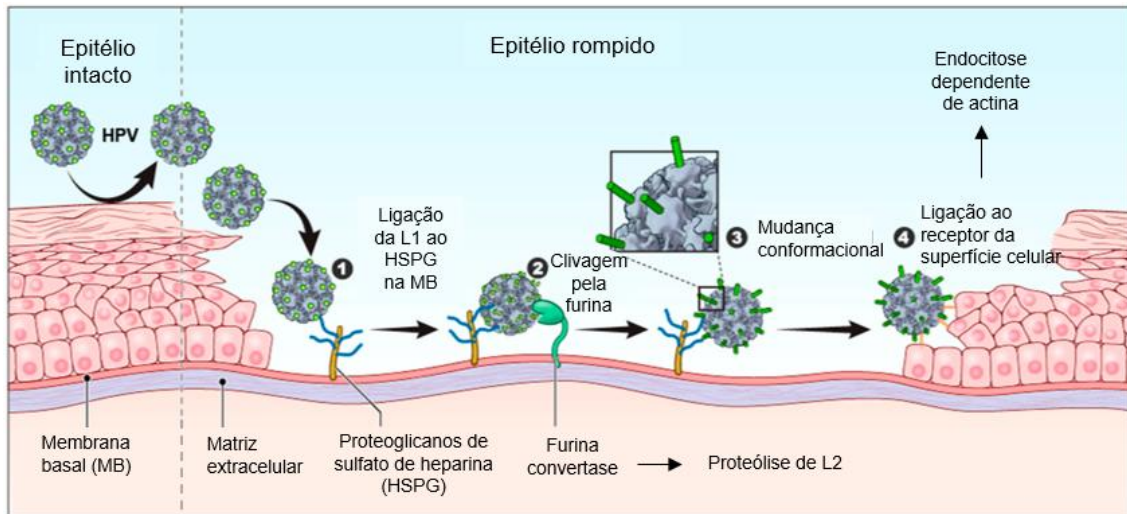


Figura 2. Entrada do HPV através de microfissuras no epitélio.

O HPV se liga a proteoglicanos de sulfato de heparina da membrana celular ou matriz extracelular exposta através de microfissuras (1). Então a proteína L2 é clivada pela furina convertase (2) e o vírion sofre uma mudança conformacional (3) antes de se ligar a um receptor da superfície celular (4) para promover sua entrada na célula. HPV-BR (Papilomavírus Humano de baixo risco oncogênico); HPV-AR (Papilomavírus Humano de alto risco oncogênico). Adaptado de KINES e SCHILLER (2022).

Uma vez dentro da célula, o vírus que está endocitado precisa alcançar o núcleo e isso acontece através da rede trans-Golgi (Figura 3). Dentro de endossomos tardios, o capsídeo icosaédrico é desmontado devido ao microambiente ácido, promovendo a dissociação da proteína L1, que é degradada nos lisossomos. A proteína L2 é necessária para o tráfego eficiente do genoma viral para o núcleo, por isso permanece associada (POPA et al., 2015). Já no núcleo, a proteína L2 medeia a entrega do genoma do vírus aos corpos de leucemia promielocítica (do inglês *PML*), onde ocorrerá a transcrição e a replicação viral precoce (GUION et al., 2019; DAY et al., 2004). Os PML, ou também conhecidos como domínios nucleares, limitam a infecção viral, pois são estruturas que participam da defesa intrínseca contra infecções virais (TAVALAI et al., 2011). Estudos demonstram que o antígeno nuclear Sp100, um dos componentes dos PML, acaba reprimindo a transcrição, a replicação e o estabelecimento do DNA do HPV na célula hospedeira durante os estágios iniciais da infecção. Como mecanismo de defesa, a proteína L2 do capsídeo do HPV promove a alteração da composição dos PML, levando à liberação ou degradação de Sp100 (STEPP; MEYERS; MCBRIDE, 2013).

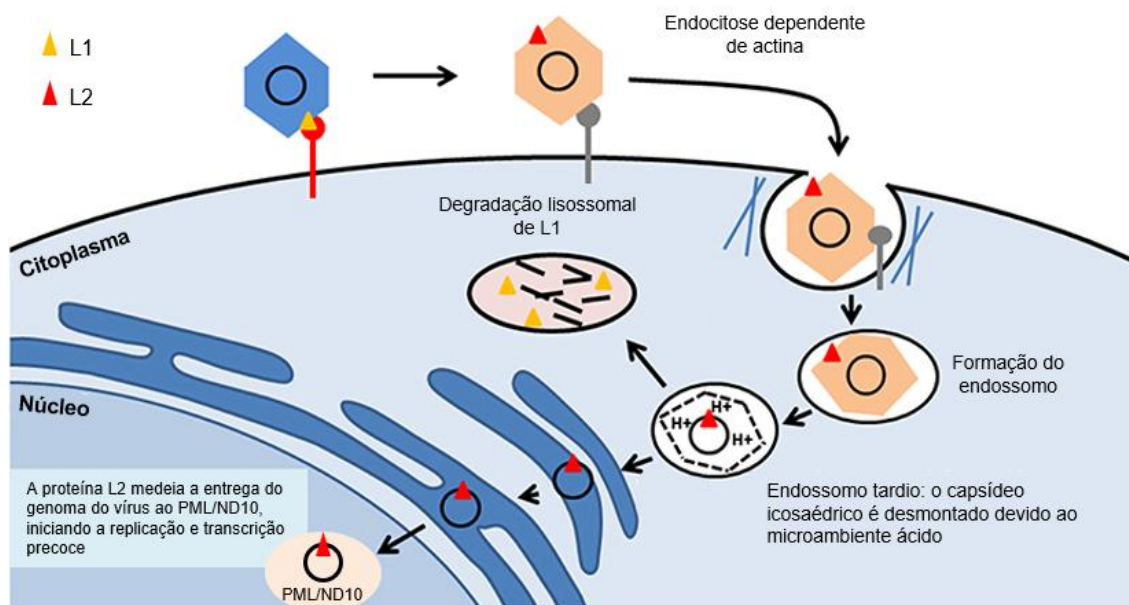


Figura 3. Entrega do genoma viral ao núcleo da célula hospedeira.

O vírus endocitado é entregue à rede trans-Golgi. Dentro dos endossomos tardios, o capsídeo viral é desmontado em um ambiente de baixo pH, levando à dissociação da proteína L1 e sua degradação nos lisossomos. O complexo L2-DNA viral é então entregue no núcleo, nos corpos de leucemia promielocítica (PML), durante a mitose celular. Adaptado de GHEIT (2019).

O início da transcrição e replicação precoce começa com uma primeira etapa denominada replicação de estabelecimento, que tem como objetivo a manutenção de um número constante de cópias epissômicas (50-100 por célula) (DOORBAR et al., 2012). As primeiras proteínas a serem expressas são as proteínas de replicação E1 e E2, que sofrem estímulo oriundo dos fatores de transcrição celulares gerados para a divisão da célula basal (DELLA FERA et al., 2021). A proteína E1 atua no processo de replicação viral como uma helicase e desenrola a origem da replicação; então a proteína E2 se liga à proteína E1 e aos seus locais de ligação na origem para formar um complexo de iniciação de alta afinidade, recrutando a maquinaria que participa da replicação celular para promover a replicação dos componentes virais (COURSEY; MCBRIDE, 2019).

Ao se ligar em seus sítios de ligação nas regiões de regulação viral, a proteína E2 também atua como regulador transcricional, ativando ou reprimindo a transcrição viral. Para manter um baixo nível de atividade viral nesse momento, é necessária a proteína E8^{E2}, uma proteína E2 contendo um peptídeo curto da ORF E8 fundido em sua região carboxi-terminal. O domínio E2 compete com a proteína E2 de comprimento total para se ligar ao DNA durante a replicação; já o domínio E8 recruta

correpressores da transcrição, ou seja, E8^{E2} atua reprimindo tanto a transcrição quanto a replicação viral (DREER; VAN DE POEL; STUBENRAUCH, 2017). Além disso, a proteína E2 promove a interação do genoma viral com os cromossomos mitóticos, fazendo com que ele seja dividido entre as células-filhas, mantendo a infecção persistente e sem ativar o sistema imune inato no citoplasma (COURSEY; MCBRIDE, 2019; WU et al., 2020).

Já a E5 é uma proteína codificada apenas pelos *Alfapapilomavirus*. Ela não é totalmente necessária para o ciclo de vida do vírus, mas possui papéis importantes envolvendo a proliferação celular e, em função disso, está associada ao processo de carcinogênese (DIMAIO; PETTI, 2013; ARALDI et al., 2018).

As proteínas E6 e E7 são responsáveis por manter o equilíbrio entre a proliferação e a diferenciação celular, com o objetivo de proporcionar um ambiente celular propício para a replicação viral e, concomitantemente, um reservatório de células indiferenciadas infectadas. Dependendo do gênero do HPV, essas proteínas terão diferentes funções ao se ligar em fatores celulares. Nos HPV-AR, as proteínas E6 e E7 são consideradas oncogênicas (PAL; KUNDU, 2020).

A proteína E4, originada como uma proteína de fusão E1^{E4} a partir do resultado do *splicing* de mRNA, é expressa tardiamente, embora seja codificada pela região inicial do genoma viral. Ela promove a parada do ciclo celular em G2 em células já diferenciadas devido à inibição do acúmulo nuclear da proteína Ciclina/Cdk1, contribuindo indiretamente para a amplificação do genoma viral. Além disso, a proteína E4 pode interagir com os filamentos de queratina do citoplasma, causando perturbações que levam à descamação das células da camada córnea da epiderme, contribuindo para a liberação dos vírions após sua montagem (ARALDI et al., 2018; DOORBAR, 2013; MCBRIDE, 2022).

Para a montagem da estrutura do vírion, o genoma viral é montado nos nucleossomos utilizando histonas do próprio hospedeiro (PORTER et al., 2021). Os transcritos tardios são responsáveis por codificar as proteínas L1 e L2 e são expressos nas camadas mais superficiais do tecido infectado. Ambas as proteínas são responsáveis pela formação do capsídeo ao redor dos genomas virais replicados, sendo expressas durante a montagem e liberação dos vírions pela descamação das camadas superficiais do epitélio (GHEIT, 2019). As proteínas L1 e L2 também

possuem papéis muito importantes durante a infecção das células basais, já citados anteriormente (ROBERTS et al., 2007; DAY; SCHELHAAS, 2014).

1.1.3. HPV e câncer cervical

O câncer cervical, também conhecido como câncer do colo do útero, é o terceiro tipo de câncer mais frequente entre as mulheres brasileiras, sem considerar os tumores de pele não melanoma (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2023). Para cada um dos anos do triênio 2023-2025 foram estimados 17.010 novos casos no Brasil, representando uma taxa bruta de incidência de 15,38 casos a cada 100 mil mulheres (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2022). Mulheres de baixa e média renda, que são a maioria em países subdesenvolvidos, assim como o Brasil, representam 87% dos casos de morte pelo câncer de colo de útero (SOERJOMATARAM; BRAY, 2021).

O HPV é considerado o agente etiológico necessário para a carcinogênese cervical, uma vez que essa infecção está relacionada a 99,7% dos casos (SCHIFFMAN; WENTZENSEN, 2013). Os tipos de HPV-AR podem induzir transformações celulares, causando lesões intraepiteliais escamosas, que podem ser classificadas como lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LIEBG, em inglês *LSIL*) ou lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG, em inglês *HSIL*), segundo o Sistema *Bethesda*, um modelo de laudo padronizado para citologia cervical. Ao longo do tempo, essas lesões podem evoluir para o câncer de colo de útero (PANGARKAR, 2022). Contudo, a infecção pelo HPV é necessária, mas não é suficiente para o desenvolvimento do câncer cervical, porque a maioria dos indivíduos (70% a 90%) elimina o vírus 12 a 24 meses após o diagnóstico inicial sem intervenção. Alguns cofatores também estão relacionados à carcinogênese cervical, como os imunológicos, hormonais, socioeconômicos, ambientais e genéticos (GHEIT, 2019).

Acredita-se que o câncer de células escamosas do colo do útero pode se desenvolver a partir de dois diferentes cursos. De forma clássica, considera-se que as lesões de alto grau e os cânceres se originam e se desenvolvem a partir do epitélio estratificado infectado da ectocérvice. Porém, de forma mais frequente, o câncer cervical se origina na zona de transformação cervical, resultado da infecção de células embrionárias residuais da junção escamocolunar (HERFS et al., 2012; YANG et al.,

2015). Presume-se que a expressão dos genes do HPV esteja desregulada nessas células e que elas possam evoluir diretamente para lesões de alto grau sem o acontecimento da infecção viral produtiva ou lesão de baixo grau (REICH; REGAUER, 2017; DOORBAR; GRIFFIN, 2019). Outra região que está propensa à carcinogênese pelo HPV e contém tipos celulares parecidos é a junção anorretal (YANG et al., 2015).

Ao integrar o seu genoma ao DNA da célula hospedeira, o HPV-AR pode utilizar a maquinaria celular para expressar continuamente suas proteínas oncogênicas E6 e E7. Essas proteínas desempenham papéis centrais para o desenvolvimento de câncer de colo de útero, pois interagem com inúmeras proteínas celulares envolvidas em processos importantes, como o ciclo celular e a apoptose. Além disso, elas são conhecidas por alterar vias envolvidas na resposta imunológica do hospedeiro, estabelecendo uma infecção persistente que pode promover a transformação celular. A proteína E5 também parece desempenhar funções relevantes na carcinogênese induzida pelo HPV-AR (BORDIGNON et al., 2017; MCBRIDE, 2022).

A oncoproteína E6 possui cerca de 150 aminoácidos e tem a capacidade de se ligar a diversas proteínas celulares, como a proteína associada a E6 (E6AP), que realiza ubiquitinação de proteínas para serem degradadas pelo proteossoma. O complexo E6/E6AP pode se ligar à proteína supressora de tumor p53 (p53). Após danos ao DNA, a p53 induz a parada do ciclo celular na fase G1 para permitir que a maquinaria de reparo do DNA realize sua função ou, caso o dano ao DNA seja muito extenso, a p53 ativa vias que induzem a apoptose. Porém, quando o complexo E6/E6AP se associa à p53, como um mecanismo promovido pelos HPV-AR, existe a degradação proteossomal da p53 mediada pela ubiquitina (Figura 4A). Como consequência, acontece o acúmulo de danos ao DNA e instabilidade genômica, que podem induzir processos carcinogênicos (PAL; KUNDU, 2020; VATS et al., 2021).

Apenas as proteínas E6 de HPV-AR possuem uma pequena inserção de 30-60 pares de base na extremidade 3' da sua ORF, que tem como função codificar um domínio específico de ligação a proteínas, evidenciando a importância dessa interação no progresso tumorigênico (AUSLANDER et al., 2019). Proteínas alvo do HPV-AR atuam regulando negativamente a proliferação celular e desempenham um papel importante na polaridade das células epiteliais. A interação do HPV-AR com proteínas específicas leva à degradação dessas proteínas pelo proteossoma,

contribuindo para as atividades transformadoras da oncoproteína E6 (JAMES; ROBERTS, 2016).

Outra função da proteína E6 do HPV-AR é a inibição da senescência celular dos queratinócitos ao preservar a telomerase pelo aumento significativo da atividade do promotor gênico transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT). A hTERT possui atividade de transcriptase reversa, sintetizando as sequências repetitivas do DNA telomérico (ZHOU et al., 2014), fornecendo uma maior probabilidade de malignização celular devido ao não encurtamento dos telômeros que aconteceria a cada divisão celular (VANDE POL; KLINGELHUTZ, 2013). Além disso, repressores de hTERT também são alvos do complexo E6/E6AP. Juntos, esses e outros eventos promovem o aumento da vida útil dos queratinócitos do hospedeiro infectado, podendo acarretar na imortalização dessas células (XU et al., 2008).

A oncoproteína E7 é composta por aproximadamente 100 aminoácidos e também possui atividades transformadoras. Como exemplo, seus domínios podem interagir com a proteína do retinoblastoma (pRb), degradando-a via proteassoma após ubiquitinação, interrompendo a ligação da pRb a fatores de transcrição, como o fator de ligação ao promotor E2 (E2F) (Figura 4B). Após a interação da pRb com a E7, o E2F é liberado, induzindo a transcrição de genes do ciclo celular que forçam a entrada de células infectadas por HPV na fase S, que é caracterizada pela duplicação do DNA. Esse mecanismo promove a proliferação celular não programada e consequente instabilidade genômica (PAL; KUNDU, 2020). Além disso, a proteína oncogênica E7 também pode desregular o ciclo celular ao se ligar e anular o efeito de inibidores de quinase dependente de ciclina, como o p21, que medeiam a interrupção do ciclo celular. Devido essa interação, há o favorecimento da proliferação celular (SHIN et al., 2009).

A expressão da proteína E5 também contribui para a transformação celular induzida pelo HPV-AR; porém, ela não é necessária para a manutenção do fenótipo oncogênico (GHEIT, 2019). Por conta do aumento do pH endossomal, pela interação da proteína E5 com a próton-ATPase, existe a atenuação da degradação do receptor do fator de crescimento epidérmico, aumentando o estímulo para a proliferação celular (ARALDI et al., 2018).

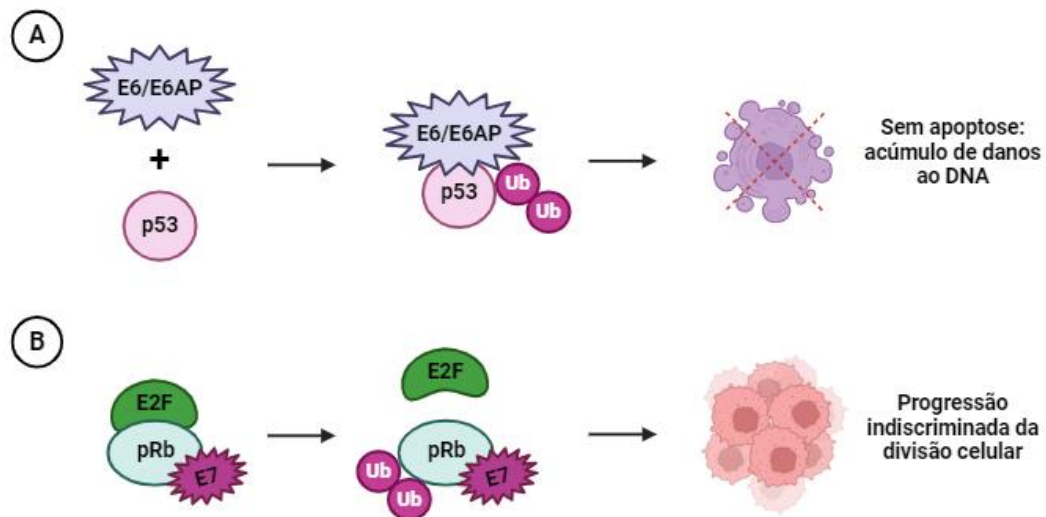


Figura 4. Mecanismos de carcinogênese do HPV-AR.

(A) O complexo E6/E6AP pode se ligar à proteína supressora de tumor p53 (p53) e promover sua degradação via proteassoma após ubiquitinação, impedindo a ativação de vias de apoptose dependentes de p53, com consequente acúmulo de danos ao DNA. (B) A proteína E7 pode interagir com a proteína do retinoblastoma (pRb) e promover sua degradação via proteassoma após ubiquitinação, fazendo com que o fator de ligação ao promotor E2 (E2F) fique livre para induzir a duplicação do DNA, com consequente progressão indiscriminada da divisão celular. HPV-AR (Papilomavírus Humano de alto risco oncogênico). Autoria própria.

A proteína E5 também pode atuar inibindo a apoptose pela degradação do receptor de morte da superfície celular Fas (Fas), diminuição dos níveis das proteínas pró-apoptóticas Bax e Bak e aumento da expressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2, promovendo a sobrevivência celular (DIMAIO; PETTI, 2013; PAL; KUNDU, 2020). Por exemplo, a proteína E5 do HPV16 inibe a apoptose de células cancerígenas do colo do útero estimulando a degradação da proteína Bax mediada pela ubiquitina-proteassoma (OH et al., 2010). Além disso, essa proteína fornece a função de evasão imunológica pelas células cancerígenas, afetando a expressão do complexo principal de histocompatibilidade (do inglês *MHC*) de classe I e a maturação do MHC de classe II, impedindo a apresentação de peptídeos virais (DIMAIO; PETTI, 2013; SCOTT et al., 2020; MCBRIDE, 2022).

1.1.4. Imunidade contra o HPV

Cerca de 90% das infecções pelo HPV são eliminadas espontaneamente pelo sistema imunológico, enquanto cerca de 10% persistem e <1% evoluem para câncer cervical. A imunidade inata e a imunidade adaptativa trabalham para eliminar a

infecção pelo HPV e evitar o desenvolvimento de câncer de colo de útero (PALEFSKY, 1995; DE JONG et al., 2002; GADDUCCI et al., 2011).

O início da resposta imune inata depende da captação e apresentação de antígenos virais por células apresentadoras de antígenos (APCs). A população imunológica predominante na epiderme são as células de Langerhans, consideradas APCs profissionais; porém, são principalmente as células dendríticas da derme que reconhecem os antígenos virais presentes nas microfissuras e os apresentam para as células T virgens nos linfonodos. Os potenciais padrões moleculares associados a patógenos (do inglês *PAMPs*) do HPV, reconhecidos pelas APCs, são as proteínas L1 e L2 que formam o capsídeo viral, além do genoma do vírus (HENRI et al., 2010).

Os linfócitos T CD4⁺ virgens presentes no linfonodo reconhecem os antígenos apresentados a partir do MHC de classe II, diferenciando-se em linfócitos T auxiliares, iniciando a resposta imune adaptativa. Os linfócitos T auxiliares podem ser diferenciados em células Th1, que são responsáveis por promover a imunidade mediada por células (ativação dos linfócitos T citotóxicos); ou em células Th2, que estimulam a imunidade humoral (ativação dos linfócitos B) (SASAGAWA; TAKAGI; MAKINODA, 2012).

Os linfócitos T CD8⁺ virgens podem reconhecer antígenos apresentados pelo MHC de classe I, diferenciando-se em linfócitos T citotóxicos. Entretanto, os linfócitos T CD8⁺ geralmente participam da apresentação cruzada de antígenos durante a infecção pelo HPV, na qual as células dendríticas fagocitam células infectadas e apresentam antígenos exógenos às células T CD8⁺ através do MHC de classe I (HIBMA et al., 2012). As células Th1 podem secretar citocinas, como como Interleucina-2, Interleucina-12 e Interferon- γ , ativando os linfócitos T citotóxicos (SASAGAWA; TAKAGI; MAKINODA, 2012). Os linfócitos T citotóxicos desempenham um papel importante na eliminação da infecção pelo HPV, secretando proteínas citolíticas, conhecidas como granzimas e perforinas (TIAN et al, 2021).

Além disso, as células Th2 podem estimular a atividade humoral tanto por meio da ligação direta do seu ligante CD-40L ao receptor CD-40 dos linfócitos B quanto indiretamente, por meio da expressão de citocinas, como Interleucina-4, Interleucina-5 e Interleucina-6. Essa interação promove a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos, que passam a secretar anticorpos contra o HPV (SASAGAWA; TAKAGI; MAKINODA, 2012).

As células T reguladoras (Tregs), uma subpopulação de linfócitos T CD4⁺, possuem ação imunossupressora, tendo como função principal prevenir a resposta imunológica a autoantígenos, desempenhando um papel muito importante na homeostase imunológica (GLIWÍŃSKI; IWASZKIEWICZ-GRZEŚ; TRZONKOWSKI, 2017); porém, as Tregs são encontradas em infecções persistentes pelo HPV (HIBMA et al., 2012) e na periferia e no infiltrado de tumores (WOLF et al., 2003). Devido ao seu papel anti-inflamatório, as Tregs podem secretar Interleucina-10, afetando a diferenciação de células dendríticas e, conseqüentemente a apresentação de antígenos virais e tumorais (KITCHING; HOLDSWORTH, 2011). Além disso, Tregs foram encontradas em lesões causadas por alguns tipos de HPV, incluindo HPV 16, considerado de alto risco oncogênico (SCOTT et al, 2009).

1.2. ANTÍGENO 4 ASSOCIADO AO LINFÓCITO T CITOTÓXICO (CTLA-4)

Durante a apresentação de antígeno, são necessárias interações moleculares entre as células T e as APCs, processo denominado de sinapse imunológica. A sinapse imunológica integra três grandes categorias de receptores: o receptor de células T (do inglês *TCR*), moléculas de adesão e moléculas coestimuladoras. As moléculas coestimuladoras são importantes para a proliferação e diferenciação das células T virgens. Na ausência de coestimulação, as células T não conseguem responder aos antígenos, entrando em um estado de não responsividade, denominado anergia, ou também podem morrer por meio de morte celular programada (DUSTIN, 2014).

Cluster de diferenciação 28 (CD28) é o primeiro membro de uma subfamília de moléculas coestimuladoras, que também inclui outros membros, como o coestimulador induzível de células T (do inglês *ICOS*), a proteína de morte celular programada 1 (do inglês *PD1*) e o CTLA-4. O CD28 é expresso pelos linfócitos e depende da interação com os seus ligantes, B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), regulados positivamente nas células dendríticas após o sinal fornecido pelo TCR e por citocinas inflamatórias (ESENSTEN et al., 2016). A ativação de CD28 promove a produção de Interleucina-2, que desempenha um papel central na ativação de células T (DUSTIN, 2014).

Também existem os receptores inibitórios que participam de um ponto de verificação imunológica essencial; porém, diferente do coestimulador CD28, atuam na regulação negativa de linfócitos T (QURESHI et al., 2011). O equilíbrio entre os sinais coestimuladores e inibitórios determina as respostas das células T aos antígenos apresentados pelas APCs, a fim de alcançar uma resposta sem excesso de inflamação e autoimunidade (RUDD; TAYLOR; SCHNEIDER, 2009). Um dos inibidores mais bem definidos é o CTLA-4. O CTLA-4, também conhecido como CD152, compete pelos mesmos ligantes de CD28 (CD80 e CD86) e fornece *feedback* negativo para ativação das células T (CHIKUMA, 2017). E, apesar do CD28 compartilhar os mesmos ligantes que o CTLA-4, o CTLA-4 possui uma afinidade maior por esses ligantes do que CD28 (LINSLEY et al., 1991; LINSLEY et al., 1994).

Em humanos, o *CTLA4* é formado por 4 éxons e 3 íntrons (LING et al., 1999) localizados no cromossomo 2q33, entre os genes *CD28* e *ICOS* (UEDA et al., 2003) (Figura 5). O éxon 1 fornece a sequência do peptídeo líder; o éxon 2 codifica um sítio de ligação a CD80/CD86 e um sítio de dimerização; o éxon 3 codifica uma região transmembrana; já o éxon 4 codifica uma cauda citoplasmática (LING et al., 1999) (Figura 6). O mRNA de CTLA-4 pode começar a ser detectado cerca de 1 hora após a célula T reconhecer, através do TCR, o antígeno apresentado e atinge o pico cerca de 24-36 horas depois da apresentação (LINDSTEN et al., 1993; PERKINS et al., 1996).

A transcrição resultante do gene *CTLA4* pode sofrer *splicing* alternativo. Para o *CTLA4* humano, existe o mRNA de comprimento total ou *full-length* (fICTLA-4) contendo os éxons 1, 2, 3 e 4; um transcrito que codifica o CTLA-4 solúvel (sCTLA-4), que é detectável em soro humano e não contém o éxon 3; e um transcrito que codifica apenas os éxons 1 e 4 (OAKS et al., 2000; HUURMAN et al., 2007). Em relação ao fICTLA-4, a meia-vida do sCTLA-4 é mais curta (WANG et al., 2001) (Figura 5).

Após a produção de CTLA-4 no retículo endoplasmático, esse receptor pode ser armazenado em compartimentos intracelulares, como na rede trans-Golgi. Ele é transportado para a membrana celular quando há a ligação entre o antígeno apresentado e o TCR (SCHNEIDER; RUDD, 2014). Após a expressão de CTLA-4 na superfície celular, essa molécula é rapidamente internalizada e pode ser reciclada para a membrana plasmática. Essa rápida internalização ocorre provavelmente devido ao rígido controle dos efeitos inibitórios de CTLA-4 (PERKINS et al., 1996;

TAKAHASHI et al., 2000). A única exceção são as células Tregs, pois apresentam uma expressão constitutiva de CTLA-4 (QURESHI et al., 2011).

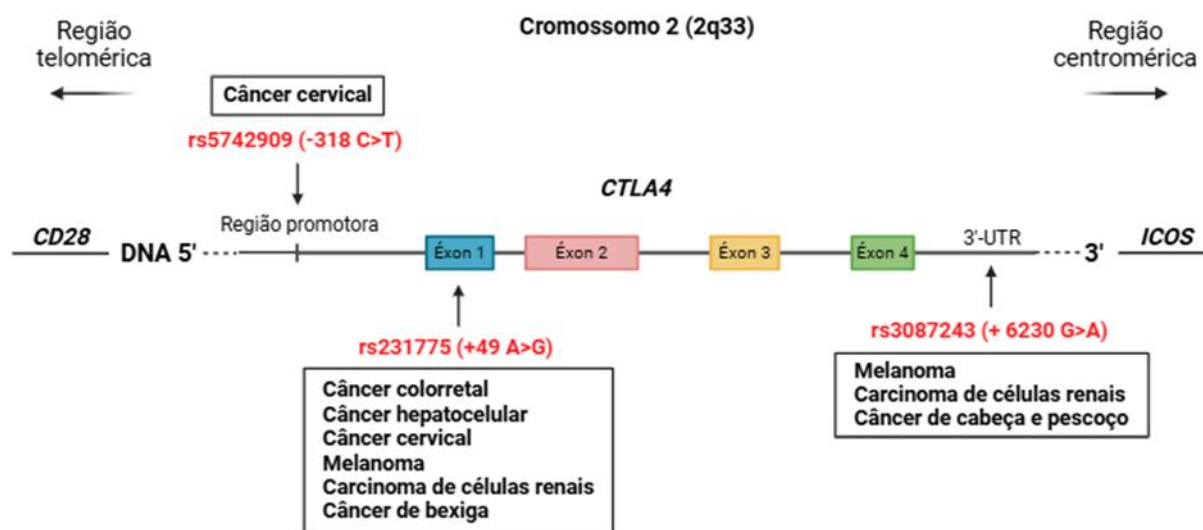


Figura 5. Variantes genéticas de *CTLA4* associadas ao câncer.

As variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) do *CTLA4*, gene localizado no cromossomo 2 (2q33) entre *CD28* e *ICOS*, têm sido associadas à suscetibilidade a diferentes tipos de malignidades. Adaptado de ZHAO et al. (2018).

O CTLA-4 tem diferentes alvos celulares para inibir a ativação das células T; por exemplo, quando o CTLA-4 está na membrana celular ligado ao seu ligante B7, ele é fosforilado por tirosinas quinases. Então o CTLA-4 recruta a tirosina fosfatase denominada domínio SH2 contendo inositol polifosfato 5-fosfatase-2, que acaba desfosforilando CD3, uma molécula sinalizadora associada ao TCR. Desse modo, o CTLA-4 inibe a cascata de sinalização de TCR/CD3 e, conseqüentemente, de CD28/B7, resultando na regulação negativa das células T (THOMPSON; ALLISON, 1997; WALUNAS et al., 1994).

Já as células Tregs, conhecidas pela atividade de imunossupressão (WALKER, 2017), utilizam como mecanismo de regulação negativa das células T a interação do seu receptor CTLA-4 com o ligante CD80/CD86 presente nas células dendríticas. Essa interação promove um sinal de regulação negativa de CD80/CD86 na superfície das células dendríticas, fazendo com que os linfócitos T CD4+ ou T CD8+ tenham menos ligantes para interagir com seu receptor CD28 durante a apresentação de antígenos, inibindo uma possível ativação desses linfócitos (MELLOR; MUNN, 2004). Além disso, essa interação do CTLA-4 de Tregs com o CD80/CD86 também promove

a regulação positiva da enzima indoleamina-2,3-dioxigenase em células dendríticas (MELLOR; MUNN, 2004), que, quando liberada, atua como catabolizante de um aminoácido essencial, o triptofano (BOASSO et al., 2005; FALLARINO et al., 2003). A degradação do triptofano pela IDO, além do acúmulo de catabólitos derivados dessa degradação, pode afetar o ciclo celular e ocasionar a supressão da proliferação das células T, inibir células T efetoras ativadas e induzir a apoptose de células T (MUNN, 2011).

1.2.1. Variantes de nucleotídeo único de *CLTA4*

Para o desenvolvimento do câncer cervical é necessária a infecção pelo HPV, mas outros cofatores também são importantes, como os genéticos (GHEIT, 2019). O genoma sofre variações de um indivíduo para outro, sendo denominadas de variantes genéticas, que podem influenciar a regulação imunológica e modificar a suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças (HEDRICK, 2011; CHEN et al., 2021; RICHARDS et al., 2015). A forma mais comum de variação genética é denominada de variante de nucleotídeo único (SNV), caracterizada pela variação de um único nucleotídeo por outro em uma região específica do genoma (Human Genome Structural Variation Working Group, 2007).

O *CTLA4* possui mais de cem variantes genéticas, sendo rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) as mais estudadas (EI WAFAI et al., 2011), mas que ainda não foram exploradas na população brasileira em relação ao desenvolvimento de câncer de colo de útero. Estudos trazem que essas variantes genéticas estão associados à suscetibilidade a diferentes tipos de doenças malignas, como câncer colorretal (QI et al., 2010; WANG et al., 2015), carcinoma hepatocelular (LIU et al., 2015; HU et al., 2010), câncer cervical (HU et al., 2010; GOKHALE et al., 2013; LEE et al., 2014), melanoma (QUEIROLO et al., 2013) câncer de cabeça e pescoço (ERFANI et al., 2012), carcinoma de células renais (TUPIKOWSKI et al., 2015), câncer de bexiga (KOIKE et al., 2024), entre outros (Figura 6).

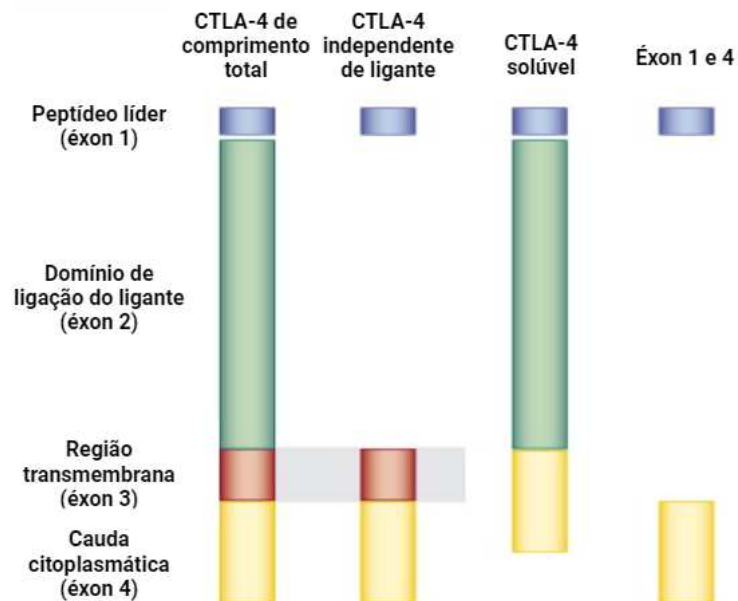


Figura 6. Isoformas de CTLA-4

As variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) do *CTLA4*, gene localizado no cromossomo 2 (2q33) entre *CD28* e *ICOS*, têm sido associadas à suscetibilidade a diferentes tipos de malignidades. Adaptado de ZHAO et al. (2018).

A variante genética rs5742909 consiste em uma transição de Citosina (C) para Timina (T) na posição -318 da sequência do promotor de *CTLA4*. Fatores de transcrição específicos, que reconhecem a sequência promotora, ligam-se e recrutam outras proteínas, incluindo polimerases envolvidas na iniciação da transcrição. Portanto, a sequência da região promotora é crucial para a ligação de proteínas, e um sítio de ligação criado ou abolido por uma variante genética pode colaborar no aparecimento de diferenças que podem ser observadas na expressão gênica de *CTLA4* na superfície celular (VOHRA et al., 2020).

Estudos de caso-controle demonstraram que o alelo T da SNV rs5742909 (-318 C>T) está associado à suscetibilidade ao câncer cervical nas populações analisadas (SU et al. 2007; PAWLAK et al. 2010; JIANG et al. 2011; XIONG et al. 2014). Rahimifar *et al.* obtiveram outra conclusão avaliando a população Iraniana, sugerindo que a presença do alelo C da SNV rs5742909 (-318 C>T) está associada à suscetibilidade ao desenvolvimento de câncer de colo uterino (RAHIMIFAR et al., 2010). Analisando a população Indiana e Sueca, Gokhale *et al.* e Castro *et al.*, respectivamente, não encontraram associação significativa da SNV rs5742909 (-318 C>T) ao desenvolvimento de neoplasia maligna de colo de útero (GOKHALE et al., 2013; CASTRO et al., 2009) (Tabela 1).

Tabela 1. Estudos de caso-controle envolvendo variantes de nucleotídeo único do *CLTA4* e sua associação com o câncer cervical.

Autor (data)	País	Tamanho amostral		Variante genética estudada	Resultado
		Caso	Controle		
Su et al. (2007)	China	144	378	rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A)	O alelo T da SNV rs5742909 está associado à susceptibilidade ao câncer cervical
Rahimifar et al. (2010)	Irã	54	110	rs5742909 (-318 C>T) e rs231775 (+49 A>G)	O alelo C da SNV rs5742909 está associado à susceptibilidade ao câncer cervical
Gokhale et al. (2013)	Índia	105	162	rs5742909 (-318 C>T) e rs231775 (+49 A>G)	O alelo A e o genótipo AA da SNV rs231775 estão associados à susceptibilidade ao câncer cervical
Hu et al. (2010)	China	719	719	rs231775 (+49 A>G)	O genótipo AA está associado à susceptibilidade ao câncer cervical
Pawlak et al. (2010)	Polônia	147	225	rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A)	O alelo T e o modelo genético dominante TT+CT da SNV rs5742909 está associado à susceptibilidade ao câncer cervical
Jiang et al. (2011)	China	100	100	rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A)	O alelo T da SNV rs5742909 está associado à susceptibilidade ao câncer cervical
Li et al. (2011)	China	314	320	rs231775 (+49 A>G)	O genótipo AA está associado à susceptibilidade ao câncer cervical
Castro et al. (2009)	Suécia	973	1.763	rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G)	Não foi encontrada associação significativa
Xiong et al. (2014)	China	365	421	rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A)	O alelo T da SNV rs5742909 e do alelo G da SNV rs3087243 estão associados à susceptibilidade ao câncer cervical

Pesquisas têm sido realizadas para analisar a associação entre as variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) do *CTLA4* e o desenvolvimento de câncer cervical. Autoria própria.

A variante genética rs231775 consiste em uma transição de Adenina (A) por Guanina (G) no éxon 1 na posição +49 de *CTLA4*, com consequente substituição de treonina por alanina no códon 17 (NISTICO et al., 1996). Essa troca de aminoácidos pode fazer com que o receptor CTLA-4 consiga ter uma melhor interação com o seu ligante B7 (HU et al., 2010), e, como consequência, indivíduos com o genótipo GG apresentam maior eficiência na inibição da proliferação e ativação de células T em comparação com indivíduos com o genótipo AA (MÄURER; LOSERTH; KOLB-MÄURER; 2002). Em contrapartida, estudos sugerem que essa variante genética pode diminuir a eficiência da ligação de CTLA-4 entre as moléculas B7, promovendo a redução da função inibitória de CTLA-4 em células T ativadas (SUN et al., 2008; KOUKI et al., 2000). Além disso, pesquisadores demonstram que a substituição de treonina por alanina pode causar a glicosilação incompleta de CTLA-4 no retículo endoplasmático, diminuindo a quantidade de CTLA-4 na superfície celular (ANJOS et al., 2002).

Em relação a SNV rs231775 (+49 A>G), Hu *et al.* e Li *et al.* destacaram a associação significativa entre o genótipo AA e o desenvolvimento de câncer de colo de útero em seus estudos de caso-controle (HU et al., 2010; LI et al., 2011). Gokhale *et al.* também obtiveram associação significativa entre o genótipo AA e o desenvolvimento desse tipo de malignidade na população Indiana, e, além disso, observaram associação significativa ao analisar somente o alelo A. No entanto, Pawlak *et al.*, Jiang *et al.*, Castro *et al.* e Xiong *et al.* não encontraram associação significativa entre a SNV rs231775 (+49 A>G) e o desenvolvimento de câncer cervical (PAWLAK et al., 2010; JIANG et al., 2011; CASTRO et al., 2009; XIONG et al., 2014; GOKHALE et al., 2013) (Tabela 1).

A variante genética rs3087243 consiste em uma transição de Guanina (G) para Adenina (A) na região 3' não traduzida (do inglês *3'UTR*) em +6230 de *CTLA4*. As regiões 3' não traduzidas dos mRNAs são conhecidas por regular diversos processos, como a localização do mRNA, a estabilidade do mRNA e tradução (MAYR, 2019). Essa região serve de ligação para pequenos RNAs não codificantes, conhecidos como microRNAs (miRNAs), que participam da regulação negativa da expressão proteica. As SNVs que acometem essa região de *CTLA4* podem afetar a regulação realizada pelos miRNAs, seja pela interrupção ou pela criação de um novos sítios de ligação ao

mRNA, diminuindo ou aumentando a expressão de CTLA-4 na superfície celular, respectivamente (PRESKILL; WEIDHAAS, 2013).

Em relação a SNV rs3087243 (+6230 G>A), Xiong *et al.* afirmaram que o genótipo AA e o alelo A estavam relacionados à proteção contra o desenvolvimento de câncer de colo de útero, enquanto a presença do alelo G estava associada à suscetibilidade a esse tipo de câncer (XIONG *et al.* 2014). No entanto, Pawlak *et al.* e Jiang *et al.* não encontraram associação significativa entre a SNV rs3087243 (+6230 G>A) e o desenvolvimento de câncer cervical (PAWLAK *et al.*, 2010; JIANG *et al.*, 2011) (Tabela 1).

1.2.2. CTLA-4 como alvo terapêutico

A supressão e a ativação do sistema imunológico são dois polos que fazem parte do equilíbrio das respostas imunes; porém, as células cancerígenas são capazes de modificar esse equilíbrio imunológico, provocando um estado imunossupressor com conseqüente crescimento tumoral. As células cancerígenas podem utilizar como alvo os *checkpoints* ou pontos de controle imunológico, como o receptor CTLA-4, para controlar o microambiente tumoral (HEEREN *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2019).

O CTLA-4 tem um papel crítico na regulação das respostas imunes para tumores e é considerado um alvo potencial para imunoterapia contra o câncer (LEACH *et al.*, 1996; MOKYR *et al.*, 1998; SABEL *et al.*, 2005). A imunoterapia visa quebrar a supressão imunológica, como através do bloqueio de pontos de controle imunológico, aumentando o efeito antitumoral das células imunológicas. Contudo, foram desenvolvidos anticorpos monoclonais que atingem e bloqueiam CTLA-4, como ipilimumabe e tremelimumabe, podendo ser utilizados em combinação com outras terapias ou outros bloqueadores (HE *et al.*, 2017).

O ipilimumabe, o primeiro anticorpo monoclonal humano anti-CTLA-4 (IgG1) de humanos, foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* para a terapia de pacientes com melanoma avançado em 2011 (LIPSON; DRAKE, 2011; ROBERT *et al.*, 2011). Ensaios clínicos demonstraram efeito antitumoral significativo e melhora do prognóstico de diversos tipos de câncer pelo tratamento com ipilimumabe, como melanoma avançado (WOLCHOK *et al.*, 2010; O'DAY *et al.*, 2010; EGGERMONT *et*

al. 2015), carcinoma de células renais (YANG et al., 2007), linfoma de células B (ANSELL et al., 2009) e câncer de próstata metastático (KWON et al., 2014). Os estudos com tremelimumabe demonstraram tolerabilidade aceitável e atividade clinicamente significativa em pacientes com melanoma (CAMACHO et al., 2009; KIRKWOOD et al., 2010; JOSHUA et al., 2015), câncer colorretal metastático (CHUNG et al., 2010), carcinoma hepatocelular (SANGRO et al., 2013) e mesotelioma maligno (CALABRÒ et al., 2013).

Além disso, a combinação do bloqueio de CTLA-4 com outras terapias, como quimioterapia e radioterapia, tem sido amplamente utilizada para o tratamento de uma variedade de malignidades, como câncer de pulmão (LYNCH et al., 2012; HORINOUCI et al., 2015; ARRIOLA et al., 2016), melanoma avançado (HERSH et al., 2011; WEBER et al., 2013) e câncer de próstata metastático (SLOVIN et al., 2013). O uso de ipilimumabe também pode ser combinado com outras imunoterapias e tem demonstrado resultados satisfatórios. Por exemplo, a combinação de ipilimumabe mais nivolumabe, anticorpo direcionado especificamente ao PD-1 e utilizado para o tratamento de câncer (TIE et al., 2017), levou a uma sobrevida significativamente mais longa em comparação com a imunoterapia somente com ipilimumabe em pacientes com melanoma avançado (TSUI et al., 2017; HODI et al., 2016; CALLAHAN et al., 2018; WOLCHOK et al., 2017), osteossarcoma metastático (LUSSIER et al., 2015), câncer colorretal (OVERMAN et al., 2018), glioblastoma recorrente (OMURO et al., 2017) e carcinoma de células renais (HAMMERS et al., 2017).

Entretanto, os tratamentos direcionados ao CTLA-4 também podem induzir efeitos adversos devido à ativação de células T não específicas no tumor decorrente do bloqueio de CTLA-4. Esses efeitos adversos foram relatados em até 72% dos pacientes que receberam ipilimumabe e podem atingir diversos órgãos e sistemas, como a pele, trato gastrointestinal, fígado, sistema endócrino, olhos, rins, sistema nervoso, pâncreas, entre outros (VOSKENS et al., 2013; WEBER et al., 2012; BERTRAND et al., 2015). Efeitos adversos desencadeados pelo bloqueio de CTLA-4 podem gerar uma limitação no desenvolvimento dessa estratégia de tratamento para o câncer, criando um desafio para pesquisas futuras relacionadas à imunoterapia (ZHAO et al., 2018).

Diante do exposto, as variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4* são alvos de estudo promissores em

relação ao câncer de colo de útero, seja como fatores de suscetibilidade ou proteção. Pesquisas em relação a essas variantes genéticas e sua associação à infecção pelo HPV, ao desenvolvimento de lesões intraepiteliais escamosas e ao câncer cervical ainda não foram estabelecidas na população da região Sul do Brasil, sendo essenciais para a caracterização genética dessas mulheres. Além disso, é de suma importância obter uma melhor compreensão sobre o papel das SNVs associadas ao *CTLA4*, gene que está associado à resposta imune regulatória, contribuindo assim para o estabelecimento de novos biomarcadores e delineamento de tratamentos com alto nível de especificidade.

1. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a associação dos alelos, genótipos e haplótipos das variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4* com a infecção pelo HPV, no desenvolvimento de lesões intraepiteliais escamosas e no câncer cervical em uma amostra de mulheres do estado do Paraná - Brasil.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a detecção de HPV em uma amostra de pacientes atendidas pelos programas de prevenção ao câncer de colo de útero do Sistema Único de Saúde (SUS) do estado do Paraná - Brasil;
- Avaliar o perfil sociodemográfico e características sexuais e reprodutivas de uma amostra de pacientes atendidas pelos programas de prevenção ao câncer de colo do útero do SUS do estado do Paraná - Brasil;
- Correlacionar a infecção pelo HPV e os diferentes graus de lesões intraepiteliais cervicais com dados sociodemográficos e características sexuais e reprodutivas das pacientes participantes da pesquisa;
- Avaliar a frequência dos alelos, genótipos e haplótipos das variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4* em uma amostra de pacientes atendidas pelos programas de prevenção ao câncer de colo de útero do SUS do estado do Paraná - Brasil;
- Avaliar a associação dos alelos, genótipos e haplótipos das variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4* com a infecção pelo HPV, desenvolvimento de lesões intraepiteliais cervicais e câncer cervical em uma amostra de pacientes atendidas pelos programas de prevenção ao câncer de colo de útero do SUS do estado do Paraná – Brasil.

3. REFERÊNCIAS

- ANJOS, S. et al. A common autoimmunity predisposing signal peptide variant of the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 results in inefficient glycosylation of the susceptibility allele. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 48, p. 46478-46486, nov. 2002.
- ANSELL, S. M. et al. Phase I study of ipilimumab, an anti-CTLA-4 monoclonal antibody, in patients with relapsed and refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 20, p. 6446-6453, oct. 2009.
- ARALDI, R. P. et al. The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1537–1556, oct. 2018.
- ARRIOLA, E. et al. Outcome and Biomarker Analysis from a Multi-center Phase 2 Study of Ipilimumab in Combination with Carboplatin and Etoposide as First-Line Therapy for Extensive-Stage SCLC. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 11, n. 9, p. 1511-1521, sep. 2016.
- AUSLANDER, N. et al. A unique insert in the genomes of high-risk human papillomaviruses with a predicted dual role in conferring oncogenic risk. **F1000Research**, v. 8, p. 1000, jul. 2019.
- BALL, S. L. R. et al. Analyses of human papillomavirus genotypes and viral loads in anogenital warts. **Journal of Medical Virology**, v. 83, n. 8, p. 1345–1350, aug. 2011.
- BERTRAND, A. et al. Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis. **BMC Medicine**, v. 13, p. 211, sep. 2015.
- BOASSO, A. et al. Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophanyl-tRNA-synthetase by CTLA-4-Fc in human CD4+ T cells. **Blood**, v. 105, n. 4, p. 1574–81, feb. 2005.
- BORDIGNON, V. et al. How Human Papillomavirus Replication and Immune Evasion Strategies Take Advantage of the Host DNA Damage Repair Machinery. **Viruses**, v. 9, n. 12, p. 390, dec. 2017.
- BRANCACCIO, R. N. et al. Generation of a novel next-generation sequencing-based method for the isolation of new human papillomavirus types. **Virology**, v. 520, p. 1-10, jul. 2018.
- BRAVO, I. G.; ALONSO, A. Mucosal human papillomaviruses encode four different E5 proteins whose chemistry and phylogeny correlate with malignant or benign growth. **Journal of Virology**, v. 78, n. 24, p. 13613–13626, dec. 2004.
- BRAVO, I. G.; FÉLEZ-SÁNCHEZ, M. Papillomaviruses: Viral evolution, cancer and evolutionary medicine. **Evolution, Medicine and Public Health**, v. 2015, n. 1, p. 32-51, jan. 2015.

CALABRÒ, L. et al. Tremelimumab for patients with chemotherapy-resistant advanced malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 trial. **The Lancet Oncology**, v. 14, p. 1104-1111, oct. 2013.

CALLAHAN, M. K. et al. Nivolumab Plus Ipilimumab in Patients with Advanced Melanoma: Updated Survival, Response, and Safety data in a Phase I Dose-Escalation Study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 36, n. 4, p. 391-398, feb. 2018.

CAMACHO, L. H. et al. Phase I/II trial of tremelimumab in patients with metastatic melanoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 27, n. 7, p. 1075-1081, mar. 2009.

CASTRO, F. A. et al. Association of HLA-DRB1, interleukin-6 and cyclin D1 polymorphisms with cervical cancer in the Swedish population—a candidate gene approach. **International Journal of Cancer**, v. 125, n. 8, p. 1851–1858, oct. 2009.

CHEN, A. Y. A. et al. Single Nucleotide Polymorphisms of Immunity-Related Genes and Their Effects on Immunophenotypes in Different Pig Breeds. **Genes**, v. 12, n. 9, p. 1377, 31 aug. 2021.

CHEN, Z. et al. Human Papillomavirus (HPV) types 101 and 103 Isolated from Cervicovaginal Cells Lack an E6 Open Reading Frame (ORF) and are Related to Gamma-Papillomaviruses. **Virology**, v. 360, n. 2, p. 447-453, apr. 2007.

CHIKUMA, S. CTLA-4, an Essential Immune-Checkpoint for T-Cell Activation. **Emerging Concepts Targeting Immune Checkpoints in Cancer and Autoimmunity**, v. 410, p. 99–126, 2017.

CHUNG, K. Y. et al. Phase II study of the anti-cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody, tremelimumab, in patients with refractory metastatic colorectal cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 28, v. 21, p. 3485-3490, jul. 2010.

COURSEY, T. L.; MCBRIDE, A. A. Hitchhiking of Viral Genomes on Cellular Chromosomes. **Annual Review of Virology**, v. 6, n. 1, p. 275–296, sep. 2019.

DAY, P. M. et al. Establishment of papillomavirus infection is enhanced by promyelocytic leukemia protein (PML) expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 39, p. 14252–14257, sep. 2004.

DAY, P. M.; SCHELHAAS, M. Concepts of papillomavirus entry into host cells. **Current Opinion in Virology**, v. 4, p. 24–31, feb. 2014.

DE JONG, A. et al. Frequent detection of human papillomavirus 16 E2-specific T-helper immunity in healthy subjects. **Cancer Research**, v. 62, n. 2, p. 472–509, jan. 2002.

DE MARTEL, C. et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. **International Journal of Cancer**, v. 141, n. 4, p. 664–670, aug. 2017.

DE VILLIERS, E. M. et al. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17–27, jun. 2004.

DELLA FERA, A. N. et al. Persistent Human Papillomavirus Infection. **Viruses**, v. 13, n. 2, p. 321, feb. 2021.

DIMAIO, D.; PETTI, L. M. The E5 proteins. **Virology**, v. 445, n. 1-2, p. 99-114, oct. 2013.

DOORBAR, J. et al. Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Reviews in Medical Virology**, v. 25, p. 2-23, mar. 2015

DOORBAR, J. et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, p. F55-F70, nov. 2012.

DOORBAR, J.; GRIFFIN, H. Refining our understanding of cervical neoplasia and its cellular origins. **Papillomavirus Research (Amsterdam, Netherlands)**, v. 7, p. 176–179, jun. 2019.

DOORBAR, J. The E4 protein; structure, function and patterns of expression. **Virology**, v. 445, n. 1-2, p. 80-98, oct. 2013.

DREER, M.; VAN DE POEL, S.; STUBENRAUCH, F. Control of viral replication and transcription by the papillomavirus E8^{E2} protein. **Virus Research**, v. 231, p. 96–102, mar. 2017.

DUSTIN, M. L. The Immunological Synapse. **Cancer Immunology Research**, v. 2, n. 11, p. 1023-1033, nov. 2014.

EGAWA, N.; DOORBAR, J. The low-risk papillomaviruses. **Virus Research**, v. 231, p. 119-127, mar. 2017.

EGGERMONT, A. M. et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma (EORTC 18071): a randomised, double-blind, phase 3 trial. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 5, p. 522-530, may 2015.

EI WAFI, R. J. et al. Association of HLA class II alleles and CTLA-4 polymorphism with type 1 diabetes. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, v. 22, n. 2, p. 273-281, mar. 2011.

ERFANI, N. et al. Strong association of CTLA-4 variation (CT60A/G) and CTLA-4 haplotypes with predisposition of Iranians to head and neck cancer. **Iranian Journal of Immunology**, v. 9, n. 3, p. 188-198, sep. 2012.

ESENSTEN, J. H. et al. CD28 Costimulation: From Mechanism to Therapy. **Immunity**, v. 44, n. 5, p. 973–988, may 2016.

FALLARINO, F. et al. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. **Nature Immunology**, v. 4, n. 12, p. 1206–12, dec. 2003.

GADDUCCI, A. Smoking habit, immune suppression, oral contraceptive use, and hormone replacement therapy use and cervical carcinogenesis: a review of the literature. **Gynecological Endocrinology**, v. 27, n. 8, p. 597-604, aug. 2011.

GHEIT, T. Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology. **Frontiers in Oncology**, v. 9, p. 355, may 2019.

GLIWIŃSKI, M.; IWASZKIEWICZ-GRZEŚ, D.; TRZONKOWSKI, P. Cell-Based Therapies with T Regulatory Cells. **BioDrugs**, v. 31, n. 4, p. 335-347, aug. 2017.

GOKHALE, P. et al. CTLA-4 gene polymorphism at position +49 A>G in exon 1: a risk factor for cervical cancer in Indian women. **Cancer Genetics**, v. 206, n. 5, p. 154–161, may 2013.

GUION, L. et al. PML nuclear body-residing proteins sequentially associate with HPV genome after infectious nuclear delivery. **PLoS Pathogens**, v. 15, n. 2, p. e1007590, feb. 2019.

HALEC, G. et al. Biological activity of probable/possible high-risk human papillomavirus types in cervical cancer. **International Journal of Cancer**, v. 132, n. 1, p. 63-71, jan. 2013.

HAMMERS, H. J. et al. Safety and Efficacy of Nivolumab in Combination with Ipilimumab in Metastatic Renal Cell Carcinoma: The CheckMate 016 Study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 35, n. 34, p. 3851-3858, dec. 2017.

HE, M. et al. Remarkably similar CTLA-4 binding properties of therapeutic ipilimumab and tremelimumab antibodies. **Oncotarget**, v. 8, n. 40, p. 67129-67139, may 2017.

HEDRICK, P. W. Population genetics of malaria resistance in humans. **Heredity**, v. 107, n. 4, p. 283–304, oct. 2011.

HEEREN, A. M. et al. High and interrelated rates of PD-L1+CD14+ antigen-presenting cells and regulatory T cells mark the microenvironment of metastatic lymph nodes from patients with cervical cancer. **Cancer Immunology Research**, v. 3, n. 1, p. 48-58, jan. 2015.

HENRI, S. et al. CD207+ CD103+ dermal dendritic cells cross-present keratinocyte-derived antigens irrespective of the presence of Langerhans cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 207, n. 1, p. 189-206, jan. 2010.

HERSH, E. M. et al. A phase II multicenter study of ipilimumab with or without dacarbazine in chemotherapy-naïve patients with advanced melanoma. **Investigational New Drugs**, v. 29, n. 3, p. 489-498, jun. 2011.

- HERFS, M. et al. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 26, p. 10516-10521, jun. 2012.
- HIBMA, M. H. The Immune Response to Papillomavirus During Infection Persistence and Regression. **The Open Virology Journal**, v. 6, n. 1, p. 241-248, dec. 2012.
- HODI, F. S. et al. Combined nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab alone in patients with advanced melanoma: 2-year overall survival outcomes in a multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. **The Lancet Oncology**, v. 17, n. 11, p. 1558-1568, nov. 2016.
- HORINOUCI, H. et al. Phase I study of ipilimumab in phased combination with paclitaxel and carboplatin in Japanese patients with non-small-cell lung cancer. **Investigational New Drugs**, v. 33, n. 4, p. 881-889, may 2015.
- HU, L. et al. CTLA-4 gene polymorphism +49 A/G contributes to genetic susceptibility to two infection-related cancers-hepatocellular carcinoma and cervical cancer. **Human Immunology**, v. 71, n. 9, p. 888–891, sep. 2010.
- HU, S. et al. CTLA-4 rs5742909 polymorphism and cervical cancer risk. **Medicine**, v. 99, n. 11, p. e19433, mar. 2020.
- Human Genome Structural Variation Working Group. Completing the map of human genetic variation. **Nature**, v. 447, n. 7141, p. 161–165, may 2007.
- HUURMAN, V. A. L., et al. Differential inhibition of autoreactive memory- and alloreactive naive T cell responses by soluble cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (sCTLA-4), CTLA4Ig and LEA29Y. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 150, n. 3, p. 487–493, dec. 2007.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Câncer. Tipos de câncer. **Câncer de corpo do útero**. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Available at: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Access at: 11 jun. 2024.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Câncer. Tipos de câncer. **Câncer de corpo do útero**. Rio de Janeiro: INCA, 2023. Available at: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/corpo-do-utero>. Access at: 11 jun. 2024.
- JAMES, C.; ROBERTS, S. Viral Interactions with PDZ Domain-Containing Proteins—An Oncogenic Trait? **Pathogens**, v. 5, n. 1, p. 8, jan. 2016.
- JIANG, L. et al. Single nucleotide polymorphisms of CTLA4 gene and their association with human cervical cancer. **Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi**, v. 28, n. 3, p. 313–317, jun. 2011.
- JOSHUA, A. M. et al. A phase 2 study of tremelimumab in patients with advanced uveal melanoma. **Melanoma Research**, v. 25, n. 4, p. 342-347, aug. 2015.

KINES, R. C.; SCHILLER, J. T. Harnessing Human Papillomavirus Natural Tropism to Target Tumors. **Viruses**, v. 14, n. 8, p. 1656, jul. 2022.

KIRKWOOD, J. M. et al. Phase II trial of tremelimumab (CP-675,206) in patients with advanced refractory or relapsed melanoma. **Clinical Cancer Research**, v. 16, n. 3, p. 1042-1048, feb. 2010.

KITCHING, A. R.; HOLDSWORTH, S. R. The emergence of TH17 cells as effectors of renal injury. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 2, p. 235–238, feb. 2011.

KOIKE, A. et al. CTLA4 genetic variants associated with urothelial bladder cancer susceptibility. **Urologic Oncology**, v. 42, n. 11, p. 374.e1-374.e10, nov. 2024.

KOUKI, T. et al. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. **The Journal of Immunology**, v. 165, n. 11, p. 6606–6611, dec. 2000.

KWON, E. D. et al. Ipilimumab versus placebo after radiotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer that had progressed after docetaxel chemotherapy (CA184-043): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. **The Lancet Oncology**, v. 15, n. 7, p. 700-712, jun. 2014.

LEACH, D. R. et al. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. **Science**, v. 271, n. 5256, p. 1734-1736, mar. 1996.

LEE, Y. H.; SONG, G. G. A meta-analysis of the association between CTLA-4 +49 A/G, -318 C/T, and IL-1 polymorphisms and susceptibility to cervical cancer. **Neoplasia**, v. 61, p. 481-490, mar. 2014.

LETO, M. G. P. et al. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 2, p. 306-317, mar. 2011.

LI, H. et al. Association between CTLA-4 gene polymorphism and susceptibility to cervical cancer. **Zhonghua Zhong Liu Za Zhi**, v. 33, n. 9, p. 681–684, sep. 2011.

LI, X. et al. A comprehensive analysis of key immune checkpoint receptors on tumor-infiltrating T cells from multiple types of cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 9, p. 1066, oct. 2019.

LINDSTEN, T. et al. Characterization of CTLA-4 structure and expression on human T cells. **The Journal of Immunology**, v. 151, n. 7, p. 3489-99, oct. 1993.

LING, V. et al. Complete sequence determination of the mouse and human CTLA4 gene loci: cross-species DNA sequence similarity beyond exon borders. **Genomics**, v. 60, n. 3, p. 341-355, sep. 1999.

LINSLEY, P. S. et al. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. **Journal of Experimental Medicine**, v. 174, n. 3, p. 561-9, sep. 1991.

LINSLEY, P. S. et al. Human B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) bind with similar avidities but distinct kinetics to CD28 and CTLA-4 receptors. **Immunity**, v. 1, n. 9, p. 793-801, dec. 1994.

LIPSON, E. J.; DRAKE, C.G. Ipilimumab: an anti-CTLA-4 antibody for metastatic melanoma. **Clinical Cancer Research**, v. 17, n. 22, p. 6958-6962, nov. 2011.

LIU, Z. et al. Association between CTLA-4 rs231775 polymorphism and hepatocellular carcinoma susceptibility. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 8, n. 11, p. 15118-15122, nov. 2015.

LUSSIER, D. M. et al. Combination immunotherapy with α -CTLA-4 and α -PD-L1 antibody blockade prevents immune escape and leads to complete control of metastatic osteosarcoma. **The Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 3, p. 21, may 2015.

LYNCH, T. J. et al. Ipilimumab in combination with paclitaxel and carboplatin as first-line treatment in stage IIIB/ IV non-small-cell lung cancer: results from a randomized, double-blind, multicenter phase II study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 30, n. 17, p. 2046-2054, jun. 2012.

MÄURER, M.; LOSERTH, S.; KOLB-MÄURER, A. A polymorphism in human cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA4) gene (exon 1 +49) alters T-cell activation. **Immunogenetics**, v. 54, n. 1, p. 1-8, apr. 2002.

MAYR, C. What Are 3' UTRs Doing? **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 11, n. 10, p. a034728, oct. 2019.

MCBRIDE, A. A. Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 2, p. 95-108, feb. 2022.

MELLOR, A. L.; MUNN, D. H. IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 10, p. 762-74, oct. 2004.

MOKYR, M. B. et al. Realization of the therapeutic potential of CTLA-4 blockade in low-dose chemotherapy-treated tumor-bearing mice. **Cancer Research**, v. 58, n. 23 p. 5301-5304, dec. 1998.

MUNN, D. H. Indoleamine 2,3-dioxygenase, Tregs and cancer. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 15, p. 2240-2246, 2011.

NISTICO, L. et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. **Human Molecular Genetics**, v. 5, n. 7, p. 1075-1080, jul. 1998.

NOBRE, R. J. et al. E7 Oncoprotein of Novel Human Papillomavirus Type 108 Lacking the E6 Gene Induces Dysplasia in Organotypic Keratinocyte Cultures. **Journal of Virology**, v. 83, n. 7, p. 2907-2916, apr. 2009.

O'DAY, S. J. et al. Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter single-arm phase II study. **Annals of Oncology**, v. 21, n. 8, p. 1712-1717, aug. 2010.

OAKS, M. K. et al. A native soluble form of CTLA-4. **Cellular Immunology**, v. 201, n. 2, p. 144-153, may 2000.

OH, J. M. et al. Human papillomavirus type 16 E5 protein inhibits hydrogen peroxide-induced apoptosis by stimulating ubiquitin-proteasome-mediated degradation of Bax in human cervical cancer cells. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 3, p. 402-410, mar. 2010.

OMURO, A. et al. Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: results from exploratory phase 1 cohorts of CheckMate 143. **Neuro-Oncology**, v. 20, n. 5, p. 674-68, oct. 2018.

OVERMAN, M. J. et al. Durable Clinical Benefit with Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 36, n. 8, p. 773-779, mar. 2018.

PAL, A.; KUNDU, R. Human Papillomavirus E6 and E7: The Cervical Cancer Hallmarks and Targets for Therapy. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 3116, 21 jan. 2020.

PALEFSKY, J. Human papillomavirus-associated malignancies in HIV-positive men and women. **Current Opinion in Oncology**, v. 7, n. 5, p. 437-441, sep. 1995.

PANGARKAR, M. A. The Bethesda System for reporting cervical cytology. **Cytojournal**, v. 19, p. 28, apr. 2022.

PAWLAK, E. et al. Influence of CTLA-4/CD28/ICOS gene polymorphisms on the susceptibility to cervical squamous cell carcinoma and stage of differentiation in the Polish population. **Human Immunology**, v. 71, n. 2, p. 195-200, feb. 2010.

PERKINS, D. et al. Regulation of CTLA-4 expression during T cell activation. **The Journal of Immunology**, v. 156, n. 11, p. 4154-9, jun. 1996.

PETCA, A. et al. Non-sexual HPV transmission and role of vaccination for a better future (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 20, n. 6, p. 1, dec. 2020.

POPA, A. et al. Direct Binding of Retromer to Human Papillomavirus Type 16 Minor Capsid Protein L2 Mediates Endosome Exit during Viral Infection. **PLOS Pathogens**, v. 11, n. 2, p. e1004699, feb. 2015.

PORTER, S. S. et al. Histone Modifications in Papillomavirus Virion Minichromosomes. **mBio**, v. 12, n. 1, p. e03274-20, feb. 2021.

PRESKILL, C.; WEIDHAAS, J. B. SNPs in microRNA binding sites as prognostic and predictive cancer biomarkers. **Critical Reviews in Oncogenesis**, v.18, n. 4, p. 327-340, apr. 2013.

QI, P. et al. CTLA-4 +49A>G polymorphism is associated with the risk but not with the progression of colorectal cancer in Chinese. **International Journal of Colorectal Disease**, v. 25, n. 1, p. 39-45, jan. 2010.

QUEIROLO, P. et al. Association of CTLA-4 polymorphisms with improved overall survival in melanoma patients treated with CTLA-4 blockade: a pilot study. **Cancer Investigation**, v. 31, n. 5, p. 336-345, jun. 2013.

QURESHI, O. S. et al. Trans-Endocytosis of CD80 and CD86: A Molecular Basis for the Cell-Extrinsic Function of CTLA-4. **Science**, v. 332, n. 6029, p. 600–603, apr. 2011.

RAHIMIFAR, S. et al. ctla-4 gene variations may influence cervical cancer susceptibility. **Gynecologic Oncology**, v. 119, n. 1, p. 136–139, oct. 2010.

REICH, O.; REGAUER, S. Thin HSIL of the Cervix: Detecting a Variant of High-grade Squamous Intraepithelial Lesions With a p16INK4a Antibody. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 36, n. 1, p. 71-75, jan. 2017.

RICHARDS, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in Medicine**, v. 17, n. 5, p. 405-24, may 2015.

ROBERT, C. et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated meta-static melanoma. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 26, p. 2517-2526, jun. 2011.

ROBERTS, J. N. et al. Genital transmission of HPV in a mouse model is potentiated by nonoxynol-9 and inhibited by carrageenan. **Nature Medicine**, v. 13, n. 7, p. 857–861, jul. 2007.

RUDD, C. E.; TAYLOR, A.; SCHNEIDER, H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. **Immunological Reviews**, v. 229, n. 1, p. 12-26, may 2009.

SABEL, M. S. et al. CTLA-4 blockade augments human T lymphocyte-mediated suppression of lung tumor xenografts in SCID mice. **Cancer Immunology and Immunotherapy**, v. 54, n. 10, p. 944-952, oct. 2005.

SANGRO, B. et al. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C. **Journal of Hepatology**, v. 59, n. 1, p. 81-88, jul. 2013.

SASAGAWA, T.; TAKAGI, H.; MAKINODA, S. Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 18, n. 6, p. 807-815, dec. 2012.

SCHIFFMAN, M.; WENTZENSEN, N. Human Papillomavirus infection and the multistage carcinogenesis of cervical cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 22, n. 4, p. 553-560, abr. 2013.

SCHNEIDER, H.; RUDD, C. E. Diverse Mechanisms Regulate the Surface Expression of Immunotherapeutic Target CTLA-4. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 619, dec. 2014.

SCHWARTZ, S. Papillomavirus transcripts and posttranscriptional regulation. **Virology**, v. 445, n. 1-2, p. 187–196, oct. 2013.

SCOTT, M. E. et al. Diminished IFN- γ and IL-10 and elevated Foxp3 mRNA expression in the cervix are associated with CIN 2 or 3. **International journal of cancer**, v. 124, n. 6, p. 1379–1383, mar. 2009.

SCOTT, M. L. et al. Human Papillomavirus 16 E5 Inhibits Interferon Signaling and Supports Episomal Viral Maintenance. **Journal of Virology**, v. 94, n. 2, p. e01582-19, jan. 2020.

SHIN, M. K. et al. Human Papillomavirus E7 Oncoprotein Overrides the Tumor Suppressor Activity of p21Cip1 in Cervical Carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 69, n. 14, p. 5656–5663, jul. 2009.

SLOVIN, S. F. et al. Ipilimumab alone or in combination with radiotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer: results from an open-label, multicenter phase I/II study. **Annals of Oncology**, v. 24, n. 7, p. 1813-1821, jul. 2013.

SOERJOMATARAM, I.; BRAY, F. Planning for tomorrow: global cancer incidence and the role of prevention 2020-2070. **Nature Reviews. Clinical Oncology**, v. 18, n. 10, p. 663–672, oct. 2021.

STEPP, W. H.; MEYERS, J. M.; MCBRIDE, A. A. Sp100 Provides Intrinsic Immunity against Human Papillomavirus Infection. **mBio**, v. 4, n. 6, p. e00845-13, dec. 2013.

SU, T. H. et al. CTLA-4 gene and susceptibility to human papillomavirus-16-associated cervical squamous cell carcinoma in Taiwanese women. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 6, p. 1237-1240, jun. 2007.

SUN, T. et al. Functional genetic variations in cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and susceptibility to multiple types of cancer. **Cancer Research**, v. 68, n. 17, p. 7025-7034, sep. 2008.

TAKAHASHI, T. et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. **Journal of Experimental Medicine**, v. 192, n. 2, p. 303-10, jul. 2000.

TAVALAI, N. et al. Evidence for a Dual Antiviral Role of the Major Nuclear Domain 10 Component Sp100 during the Immediate-Early and Late Phases of the Human Cytomegalovirus Replication Cycle. **Journal of Virology**, v. 85, n. 18, p. 9447–9458, sep. 2011.

THOMPSON, C. B.; ALLISON, J. P. The emerging role of CTLA-4 as an immune attenuator. **Immunity**, v. 7, n. 4, p. 445-50, 1997.

TIAN, T. et al. Potential role of naturally acquired immunity against HPV in the control of HPV related diseases. **The Lancet Regional Health - Western Pacific**, v. 13, p. 100220, jul. 2021.

TIE, Y. et al. Safety and efficacy of nivolumab in the treatment of cancers: A meta-analysis of 27 prospective clinical trials. **International Journal of Cancer**, v. 140, n. 40, p. 948-958, feb. 2017.

TOMAIĆ, V. Functional Roles of E6 and E7 Oncoproteins in HPV-Induced Malignancies at Diverse Anatomical Sites. **Cancers**, v. 8, n. 10, p. 95, 19 oct. 2016.

TSUI, E. et al. Combination Ipilimumab and Nivolumab for Metastatic Melanoma Associated with Ciliochoroidal Effusion and Exudative Retinal Detachment. **JAMA Ophthalmology**, v. 135, n. 12, p. 1455-1457, dec. 2017.

TUPIKOWSKI, K. et al. CTLA-4 and CD28 genes' polymorphisms and renal cell carcinoma susceptibility in the Polish population—a prospective study. **Tissue Antigens**, v. 86, n. 5, p. 353-361, nov. 2015.

UEDA, H. et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. **Nature**, v. 423, n. 6939, p. 506-511, may. 2003.

VAN DOORSLAER, K.; MCBRIDE, A. A. Molecular archeological evidence in support of the repeated loss of a papillomavirus gene. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 33028, sep. 2016.

VANDE POL, S. B.; KLINGELHUTZ, A. J. Papillomavirus E6 oncoproteins. **Virology**, v. 445, n. 1-2, p. 115-137, out. 2013.

VATS, A. et al. Human papillomavirus E6 and E7: What remains? **Tumour Virus Research**, v. 11, p. 200-213, jun. 2021.

VOHRA, M. et al. SNPs in Sites for DNA Methylation, Transcription Factor Binding, and miRNA Targets Leading to Allele-Specific Gene Expression and Contributing to Complex Disease Risk: A Systematic Review. **Public Health Genomics**, v. 23, n. 5-6, p. 155-170, 2020.

VOSKENS, C. J. et al. The price of tumor control: an analysis of rare side effects of anti-CTLA-4 therapy in metastatic melanoma from the ipilimumab network. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. 53745, 2013.

WALKER, L. S. K. EFIS lecture: understanding the CTLA-4 checkpoint in the maintenance of immune homeostasis. **Immunology Letters**, v. 184, p. 43–50, apr. 2017.

WALUNAS, T. L. et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. **Immunity**, v. 1, n. 5, p. 405-13, aug. 1994.

WANG, L. et al. Association between CTLA-4 rs231775 polymorphism and risk of colorectal cancer: a meta-analysis. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, n. 1, p. 650-657, jan. 2015.

WANG, X. B. et al. Regulation of surface and intracellular expression of CTLA-4 on human peripheral T cells. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 54, n. 5, p. 453-458, nov. 2001.

WEBER, J. S. et al. Management of immune-related adverse events and kinetics of response with ipilimumab. **Journal of Clinical Oncology**, v. 30, n. 21, p. 2691-7, jul. 2012.

WEBER, J. S. et al. Randomized phase I pharmacokinetic study of ipilimumab with or without one of two different chemotherapy regimens in patients with untreated advanced melanoma. **Cancer immunity**, v. 13, p. 7, may 2013.

WOLCHOK, J. D. et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. **The Lancet Oncology**, v. 11, n. 2, p. 155-164, feb. 2010.

WOLCHOK, J. D. et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. **The New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 14, p. 1345-1356, oct. 2017.

WOLF, A. M. et al. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. **Clinical Cancer Research**, v. 9, n. 2, p. 606–612, feb. 2003.

WOLF, J. et al. Human papillomavirus infection: Epidemiology, biology, host interactions, cancer development, prevention, and therapeutics. **Reviews in medical virology**, v. 34, n. 3, p. e2537, may 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem**. Available at: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107>>. Access at: 11 jun. 2024.

WU, S. C. et al. Human Papillomavirus: Proving and Using a Viral Cause for Cancer. London; San Diego, CA: **Academic Press**, 2020.

XIONG, Y. H.; HE, L.; FEI, J. Genetic variations in cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 and susceptibility to cervical cancer. **International Immunopharmacology**, v. 18, n. 1, p. 71-76, jan. 2014.

XU, M. et al. NFX1 Interacts with mSin3A/Histone Deacetylase to Repress *hTERT* Transcription in Keratinocytes. **Molecular and Cellular Biology**, v. 28, n. 15, p. 4819-4828, aug. 2008.

YANG, E. J. et al. Microanatomy of the cervical and anorectal squamocolumnar junctions: a proposed model for anatomical differences in HPV-related cancer risk. **Modern Pathology**, v. 28, n. 7, p. 994–1000, jul. 2015.

YANG, J. C. et al. Ipilimumab (anti-CTLA4 antibody) causes regression of metastatic renal cell cancer associated with enteritis and hypophysitis. **Journal of Immunotherapy**, v. 30, n. 8, p. 825-830, nov-dec. 2007.

ZHAO, Y. et al. Evolving Roles for Targeting CTLA-4 in Cancer Immunotherapy. **Cellular Physiology & Biochemistry**, v. 47, n. 2, p. 721–734, 2018.

ZHOU, J. et al. Telomerase reverse transcriptase in the regulation of gene expression. **BMB Reports**, v. 47, n. 1, p. 8-14, jan. 2014.

4. PRODUÇÃO CIENTÍFICA

The article was written according to STROBE (Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology)

Journal recommendation for publication: Viruses

CTLA4 HAPLOTYPE STRUCTURES AND -318CT (rs5742909) GENETIC VARIANT CONTRIBUTE TO THE SUSCEPTIBILITY OF HPV INFECTION AND CERVICAL CANCER

High-risk Human Papillomavirus (HPV) infection is considered the necessary etiological agent for cervical carcinogenesis, but some cofactors are also related, such as genetic cofactors. Single nucleotide variants (SNVs) in *CTLA4* can lead to amino acid substitution, alter the mRNA splicing and influence the gene expression of this gene, affecting the immune response against the HPV and the process of cervical malignancy. In view of the above, the objective of this study was to analyze the association of alleles, genotypes and haplotypes of the *CTLA4* SNVs rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) with HPV infection, development of low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) and cervical cancer in a cohort of women treated by the public health service of Paraná, Brazil. Peripheral blood and cervical secretion samples were collected for genomic DNA extraction, used for genotyping of *CTLA4* SNVs and characterization of the presence of HPV (Polymerase chain reaction [PCR]). Statistical analyses were performed adopting a significance level of $p < 0.05$. HPV negative group (control) included 181 women and the HPV positive group included 264 women. The HPV positive group was divided into no lesion (n=84), LSIL (n=19), HSIL (n =56) and cervical cancer (n=105). It was observed that women carrying the T allele of rs5742909 (-318 C>T) and the TAG haplotype were more susceptible to HPV infection, development of HSIL and cervical cancer. Our results suggest that the T allele of rs5742909 (-318 C>T) as well as the TAG haplotype may be relevant molecular biomarkers of susceptibility to HPV infection and worse prognosis.

Keywords: Human papillomavirus; CD152; cytotoxic T-lymphocyte associated antigen-4; cervical intraepithelial lesions; polymorphism.

1. INTRODUCTION

The Human Papillomavirus (HPV) is considered the necessary etiological agent for cervical carcinogenesis being related to approximately 99.7% of cases of cervical cancer (SCHIFFMAN; WENTZENSEN, 2013). High-risk HPV (HR-HPV) infection is essential but may not be sufficient for the cancer development since the majority of infected individuals eliminate the virus without intervention (CHEN; JIANG; SHEN; HU, 2011). However, some cofactors are also related, such as hormonal, immunological, socioeconomic, environmental and genetic cofactors (GHEIT, 2019).

CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte protein 4) is an inhibitory receptor of the immune system, involved in downregulation of T-cell response and peripheral tolerance (WING; YAMAGUCHI; SAKAGUCHI, 2011). It's constitutively expressed on regulatory T cells (Tregs), but is also present on T CD4⁺ and T CD8⁺ cells (QURESHI et al., 2011). Studies report that single nucleotide variants (SNVs) in the gene that encodes this receptor are associated with susceptibility to autoimmune diseases and carcinogenesis (MIN et al., 2009; FERNÁNDEZ-MESTRE et al., 2009).

CTLA4 has more than one hundred genetic variants, but rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) are the most studied (EI WAFAI et al., 2011). Studies show that these genetic variants are associated with the susceptibility to cervical cancer in different populations (RAHIMIFAR et al. 2010; GOKHALE et al. 2013; HU et al. 2010; PAWLAK et al. 2010; JIANG et al. 2011; LI et al. 2011; XIONG et al. 2014).

The SNV rs5742909 (-318 C>T), which affects the *CTLA4* promoter sequence, is associated with increased promoter activity and consequent increased CTLA-4 expression on the cell surface, decreasing T cell activity (GUNAVATHY et al., 2019). In contrast, the SNV rs231775 (+49 A>G) causes the exchange of the amino acids threonine for alanine at position +49 of the CTLA-4 signal peptide (NISTICO et al., 1996), promoting an inadequate translocation of the growing CTLA-4 peptide from the ribosome to the lumen of the endoplasmic reticulum and a consequent defective targeting of CTLA-4 to the cell surface (ANJOS et al., 2002; MÄURER; LOSERTH; KOLB-MÄURER; 2002). Furthermore, the SNV rs3087243 (+6230 G>A), which occurs in the 3' untranslated region of *CTLA4*, can affect the proportion of isoforms of this protein, decreasing the transcription of soluble CTLA-4 (sCTLA-4) and, consequently, increasing the transcription of full-length CTLA-4 (flCTLA-4) which is present in the cell membrane and can decrease T cell activation (UEDA et al., 2003).

Considering that HPV infection is the most common sexually transmitted infection (STI) in the world (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020) and cervical cancer is the third most common cancer in Brazilian women (INCA, 2023), the study of possible associated genetic factors is essential to understand the carcinogenesis mechanisms of cervical lesions. rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants have already been associated with the development of cervical cancer in different populations, but the results are inconclusive

and the Brazilian population has not been analyzed yet. Therefore, the objective of this study was to evaluate the association of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants with HPV infection, development of cervical intraepithelial lesions and cervical cancer in a cohort of women from the southern region of Brazil.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. ETHICAL APPROVAL AND SAMPLE CHARACTERIZATION

The present case-control study was approved by Institutional Ethics Committee Involving Humans at State University of Londrina, Londrina – Paraná (PR), Brazil (CAAE 38937520.2.0000.5231). The study objective and steps were explained to the patients and written informed consent was obtained and each participant completed a structured questionnaire containing questions related to sociodemographic data (age, smoking status, self-declared ethnicity, education level, marital status and monthly income) and reproductive and sexual behavior (oral contraceptive usage, condom usage, age at menarche, age at first sexual intercourse, sexual partners during the lifetime, knowledge about HPV, knowledge about HPV transmission, previous cervical screening and history of familial cervical cancer).

Were analyzed 445 women who underwent outpatient cytology testing between 2013 and 2017 at an ambulatory colposcopy facility of Intermunicipal Consortium of Health of the Middle Paranapanema (CISMEPAR) in Londrina - PR, at Cancer Hospital of Londrina, at Outpatient Clinic of the University Hospital of Londrina, at two Basic Healthcare Units in Londrina - PR and at Erasto Gaertner Hospital in Curitiba - PR. After sample collection, cytobrushes containing cervical cells were stored in 2 mL TE buffer (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA pH 8.0) at -20°C until DNA extraction. The women's peripheral blood was also collected and stored at 7°C in tubes containing EDTA as anticoagulant.

2.2. DNA EXTRACTION AND HPV DETECTION

The methodologies for DNA extraction and HPV detection were described in previously studies from our group (MANGIERI et al., 2019; MANGIERI et al., 2023).

2.3. CERVICAL CYTOLOGY

Cervical cytology samples were analyzed at the Public Health System Laboratories of Londrina – PR and Curitiba – PR. Cervical smears were classified as no lesions (cytology sample were normal), low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) or cervical cancer, according to the Bethesda System (2014) (NAYAR; WILBUR, 2015).

2.4. *CTLA4* GENETIC VARIANTS GENOTYPING

The identification of the genotypes of *CTLA4* genetic variants (rs5742909 -318 C>T, rs231775 +49 A>G and rs3087243 +6230 G>A) was carried out by real-time PCR using validated assays (C__27834180_10, C__2415786_20 and C__3296043_10) of hydrolysis probes 40x (TaqMan™ System, Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) that were diluted with ultrapure water to 20x and were stored at -20°C. The reactions consisted of DNA (1 ng/μL), TaqMan™ Universal PCR Master Mix (TaqMan™ System, Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) and the specific probe for each genetic variant. Cycles were performed by the StepOne™ Real-Time PCR System thermal cycler (TaqMan™ System, Applied Biosystems, Waltham, MA, USA).

2.5. HAPLOTYPE ANALYSIS

Recombination sites between *CLTA4* genetic variants alleles were inferred using PHASE version 2.1.1 software (STEPHENS; SCHEET, 2005; STEPHENS; SMITH; DONELLY, 2001).

2.6. STATISTICAL ANALYSIS

Pearson's chi-square test (χ^2) or Fisher's exact test was used to evaluate differences in the frequency distributions of sociodemographic data and reproductive and sexual behavior characteristics, as well as *CTLA4* genetic variants (alleles, genotypes and haplotypes), between the groups related to HPV infection and lesions grade. Regarding the *CLTA4* genetic variants genotypes, the dominant, codominant

and recessive genetic models were analyzed. The χ^2 test was also used to evaluate the Hardy-Weinberg equilibrium. Data were expressed as absolute number (n) and percentage (%).

Binary or multinomial logistic regression was performed to predict independent associations between variables and study groups. Adjusted odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were estimated. Statistical analyzes were performed using the SPSS Statistics 25.0 software (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA), considering the significance level of $p < 0.05$.

3. RESULTS

The study population consisted of 445 women categorized as HPV-infected (59.3%) and HPV-uninfected (HPV control group - 40.7%). The HPV-infected women were divided into four groups based on cervical cytology results: no lesion (31.8%), LSIL (7.2%), HSIL (21.2%) or cervical cancer (39.8%).

3.1. Association of participant sociodemographic, reproductive and sexual behavior characteristics with HPV infection and cervical lesion status

It was observed that age range ($p < 0.001$), smoking status ($p = 0.042$), marital status ($p = 0.006$), monthly income ($p = 0.023$), age at first sexual intercourse ($p = 0.002$) and number of sexual partners during the lifetime ($p = 0.007$) were associated with HPV infection. Furthermore, educational stage ($p = 0.013$), oral contraceptive usage ($p = 0.010$) and condom usage ($p = 0.010$) were also associated with HPV infection (Supplementary table 1 and Supplementary table 2).

A significantly higher proportion of infected women compared to uninfected women who are 24 years old or younger was observed on binary logistic regression (Supplementary table 3 and Supplementary table 4), with these 4.67 times more likely to have HPV than those over 55 years old (OR=4.67; CI 95%=1.54-14.15). Women who didn't finish high school were less likely to have HPV (OR=0.36; CI 95%=0.15–0.83) compared to women who didn't finish elementary school. Furthermore, women who had 1 sexual partner during the lifetime were less likely to have HPV (OR=0.43; CI 95%=0.23–0.77) compared to those who had 5 or more partners during the lifetime.

Age range ($p < 0.001$), educational level ($p < 0.001$), marital status ($p = 0.014$), monthly income ($p < 0.001$) and knowledge about HPV transmission ($p < 0.001$) were associated with cervical lesion status. When analyzing this association through adjusted multinomial logistic regression (Supplementary table 5), women who didn't complete undergraduate degree were less likely to develop cervical cancer (OR=0.050; CI 95%=0.006–0.457) compared to those who didn't complete elementary school. Single women were less likely to develop LSIL (OR=0.092; CI 95%=0.013–0.656) compared to married women. Furthermore, it was observed that HPV-infected women 24 years old or younger were 22.37 times more likely to develop LSIL than those over 55 years of age (OR=22.37; CI 95%=1.55-322.123).

3.2. Distribution of alleles, genotypes and haplotypes of *CTLA4* genetic variations and susceptibility to HPV infection, cervical lesions and cervical cancer.

The distribution of rs5742909 (-318 C>T) genotype between the HPV infection groups was statistically significant on codominant ($p < 0.001$), dominant ($p = 0.004$) and recessive ($p = 0.020$) genetic model. Regarding the lesion grade groups, there was also statistical significance on dominant ($p = 0.010$) and codominant ($p = 0.006$) genetic model. Furthermore, differences were observed in relation to the distribution of rs5742909 (-318 C>T) alleles between the lesion grade groups ($p = 0.012$). The distribution of rs3087243 (+6230 G>A) genotype between the lesion grade groups was statistically significant on codominant ($p = 0.030$) genetic model (Table 1).

Binary and multinomial logistic regression was also conducted to assess the influence of *CTLA4* SNVs on the susceptibility to HPV infection and development of cervical lesions, respectively (Table 2). About rs5742909 (-318 C>T), women with CT genotype were more likely to have HPV (OR=2.93; CI 95%=1.71-5.02) than those with CC and women with TT+CT were more likely to have HPV than those with CC genotype (OR=2.38; CI 95%=1.43-3.96). Women with CT genotype were more susceptible to develop HSIL (OR=2.94; CI 95%=1.27-6.80) and cervical cancer (OR=4.20; CI 95%=1.84-9.58) than women with CC genotype. Furthermore, observing the dominant genetic model, women with TT+CT genotype were more likely to developing HSIL (OR=2.98; CI 95%=1.26-6.76) and cervical cancer (OR=4.31; CI

95%=1.89-9.81) than women with CC. Analyzing rs3087243 (+6230 G>A), women with AA+GA genotype were less likely to develop LSIL than those with the GG genotype (OR=0.25; CI 95%=0.06-0.95). Furthermore, women with GA genotype were 3.48 times more likely to develop cervical cancer than those with GG (OR=3.48; CI 95%=1.33-9.05) and women with AA genotype were less likely to develop cervical cancer than those with GG+GA genotypes (OR=0.28; CI 95%=0.11-0.72).

Combinations of investigated genetic variants resulted in eight inferred haplotype structures: CAG, CAA, TAG, TAA, CGG, CGA, TGG and TGA (composed of the genetic variants rs5742909 [-318 C>T], rs231775 [+49 A>G] and rs3087243 [+6230 G>A] of *CTLA4*). For statistical analysis, only haplotypes over 5% frequency across the study population were tested; they were CAG, CAA, TAG, CGG and TGG. When realizing the comparison of the frequency of the haplotypes in HPV infection and cervical lesion groups, no statistical differences were found ($p>0.05$) (Table 3). When analyzing the association of *CTLA4* haplotypes with HPV infection, statistical differences were found in TAG haplotype ($p=0.007$) (Table 4). Moreover, statistical differences were found in the haplotypic models of CAA haplotype when it was associated with the development of cervical lesions ($p=0.004$) (Table 5).

To verify whether *CTLA4* haplotypes were independently associated with HPV infection and with the development of cervical lesions, logistic regression was performed (Table 6). Individuals who were heterozygous for CAA were less likely to develop LSIL than those who didn't carry the CAA haplotype (OR=0.25; CI 95%=0.07-0.92). Women who were heterozygous for CAA were 2.57 times more likely to develop cervical cancer than those who didn't have the CAA haplotype (OR=2.57; CI%=1.13-5.80). About TAG haplotype, individuals who were heterozygous for TAG were 2.41 times more likely to have HPV than those who didn't have the TAG haplotype (OR=2.41; CI%=1.36-4.25). Furthermore, women who were homozygous for TAG were more likely to develop HSIL (OR=2.56; CI%=1.03-6.38) and cervical cancer (OR=3.21; CI%=1.34-7.69) than those who didn't carry the TAG haplotype.

Data on genetic variants and haplotypes distribution were adjusted for age range, sexual partners during the lifetime, educational level and marital status, when appropriated.

2. DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study that associates the alleles, genotypes and haplotypes of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants with HPV infection, development of cervical lesions and cervical cancer in Brazilian women.

Regarding the traditional risk factors, we observed that age range, smoking status, educational level, marital status, monthly income, oral contraceptive usage, condom usage, age at first sexual intercourse and the number of sexual partners during the lifetime are significantly associated with HPV infection. Age range, educational level, marital status, monthly income and knowledge about HPV transmission were also variables associated with the development of cervical lesions or cervical cancer. Sociodemographic, sexual and reproductive behavior characteristics may also be cofactors associated with the development of HPV (YETIMALAR et al., 2012). The observed data corroborate the results of a previous study by our group (MANGIERI et al., 2023).

In addition to HPV infection, genetic cofactors may be associated with the process of cervical malignancy. CTLA-4 receptor plays a very important role in the immune system by negatively regulating T lymphocytes (MIN et al., 2009; FERNÁNDEZ-MESTRE et al., 2009). Several genetic variants can affect *CTLA4* and lead to amino acid changes and alterations in messenger RNA (mRNA) splicing, which could influence T cell function, leading to continued attenuation of the immune response (MISRA et al., 2015). T cells play an essential role in the regression of HPV infection and cancer; however, *CTLA4* genetic variants can promote downregulation of T cell response, and consequently, the progression of these diseases (HIBMA et al., 2012; OH et al., 2021).

Our study observed that, regarding rs5742909 (-318 C>T), the presence of T allele may be a risk factor for HPV infection, development of HSIL and cervical cancer. These data corroborate with previous studies, which associated the T allele of this genetic variant with susceptibility to cervical cancer in different populations (PAWLAK et al. 2010; JIANG et al. 2011; XIONG et al. 2014). This genetic variation occurs in *CTLA4* promoter region, increasing promoter activity and, consequently, increasing CTLA-4 expression on the cell surface (GUNAVATHY et al., 2019). With increased

regulation of CTLA-4 on the surface of CD4⁺ or CD8⁺ T cells, this receptor will bind in greater quantities to the B7 ligand present on antigen-presenting cells, such as dendritic cells, during the immunological synapse, downregulating T cells (THOMPSON; ALLISON, 1997; WALUNAS et al., 1994). A subpopulation of T cells, known as regulatory T cells, constitutively express CTLA-4 and secrete inhibitory cytokines, such as transforming growth factor beta (TGF- β) and Interleukin-10, and also downregulate the activity of effector T cells (GLIWIŃSKI; IWASZKIEWICZ-GRZEŚ; TRZONKOWSKI, 2017; KITCHING; HOLDSWORTH, 2011). T cells have important functions against the establishment of cancer and HPV infection (EDWARDS et al., 1995); however, with its function compromised due to immunosuppression caused by CTLA-4 overactivation, like due to genetic variants, the progression of the malignant process may occur.

Analyzing rs3087243 (+6230 G>A), we observed that the presence of the A allele may be a protective factor for LSIL; however, the A allele may also be a risk factor for the development of cervical cancer. In addition to CTLA-4, there are other molecules that are important in regulating the T cell response, such as CD28 and inducible co-stimulator (ICOS), considered costimulatory molecules. The genes encoding CD28, CTLA-4, and ICOS are located side by side in a 300 kb stretch in the q33 region of chromosome 2 (LING et al., 2001). Therefore, we hypothesized that genetic variants in the genes encoding CD28 and/or ICOS may have been inherited together, due to their proximity on the chromosome, and may be influencing the functional effect of *CTLA4* rs3087243 (+6230 G>A), but studies are needed for a better understanding.

Through the haplotype analyses, it was possible to observe the association of TAG haplotype with HPV infection and the association of CAA, TAG and TGG haplotypes with cervical lesion status. In logistic regression, eliminating possible confounding factors, it was observed that the presence of the TAG haplotype may be a susceptibility factor for HPV infection, development of HSIL and cervical cancer. This result creates hypotheses about the heritability of the TAG haplotype being a factor associated with cervical cancer. Although the A allele of rs3087243 (+6230 G>A) is present in the TAG haplotype and was also associated with cervical malignancy in our study, the OR of the association of the CT genotype of rs5742909 (-318 C>T) with cervical cancer is considerably higher. Therefore, it's proposed that the presence of

the T allele of rs5742909 (-318 C>T) promoted the association of the TAG haplotype with the susceptibility to the development of cervical carcinoma.

This study has some limitations, such as the number of samples, specifically in the LSIL group, which may reduce the statistical power of our analysis. The reduced number of samples in the LSIL group may have been caused by the fact that cervical lesions can evolve directly to HSIL without the occurrence of LSIL (REICH; REGAUER, 2017; DOORBAR; GRIFFIN, 2019). However, as a strong point, we collected socio-demographic, sexual and reproductive behavior data from the participants, which allow an analysis for possible confounding factors during the study of *CTLA4* genetic variants possibly associated with cervical cancer. It's noteworthy that studies with the participation of women from other regions of Brazil are necessary to obtain more trustworthy results in relation to the country's heterogeneity.

In short, we demonstrated that the allele T of *CTLA4* genetic variant rs5742909 (-318 C>T) and TAG haplotype are associated to HPV infection, development of cervical intraepithelial lesions and cervical cancer in a cohort of Brazilian population. Due to this, our study suggests that this genetic variant and haplotype could be relevant molecular biomarkers of HPV infection susceptibility and worst prognosis.

Supplementary table 1. Association of participants sociodemographic characteristics with HPV infection and cervical lesions status.

Variables	HPV				p-value	Lesion grade (HPV infected patients)								p-value	
	Uninfected (n=181)		Infected (n=264)			No lesion (n=84)		LSIL (n=19)		HSIL (n=56)		Cervical cancer (n=105)			
	N	%	N	%		N	%	N	%	N	%	N	%		
Age range (years)	≤ 24	9	5.0	33	12.5	<0.001	14	16.7	6	31.6	13	23.2	0	0.0	<0.001*
	25 – 34	42	23.2	58	22.0		28	33.3	6	31.6	15	26.8	9	8.6	
	35 – 44	45	24.9	58	22.0		17	20.2	3	15.8	12	21.4	26	24.8	
	45 – 54	57	31.5	47	17.8		13	15.5	3	15.8	10	17.9	21	20.0	
	≥ 55	28	15.5	68	25.8		12	14.3	1	5.3	6	10.7	49	46.7	
Smoking status**	No	136	75.6	178	68.7	0.042	63	75.9	9	50.0	33	61.1	73	70.2	0.161*
	Yes	28	15.6	65	25.1		18	21.7	7	38.9	17	31.5	23	22.1	
	Ex-smoker	16	8.9	16	6.2		2	2.4	2	11.1	4	7.4	8	7.7	
Ethnicity**	Caucasian	95	52.8	131	51.4	0.773	41	49.4	7	38.5	25	50.0	58	55.8	0.553
	No caucasian	85	47.2	124	48.6		42	50.6	11	61.5	25	50.0	46	44.2	
Education level***	Incomplete elementary school	51	28.3	113	44.1	0.013	21	25.3	6	33.3	20	40.0	66	62.9	<0.001*
	Complete elementary school	24	13.3	33	12.9		12	14.5	1	5.6	6	12.0	14	13.3	
	Incomplete high school	24	13.3	22	8.6		10	12.0	1	5.6	7	14.0	4	3.8	
	Complete high school	59	32.8	72	28.1		34	41.0	9	50.0	14	28.0	15	14.3	
	Incomplete undergraduate degree	7	3.9	5	2.0		2	2.4	0	0.0	3	6.0	0	0.0	
	Complete undergraduate degree	15	8.3	11	4.3		4	4.8	1	5.6	0	0.0	6	5.7	
Marital status**	Married	131	72.4	152	57.8	0.006	47	56.0	8	42.1	34	60.7	63	60.6	0.014*
	Single	17	9.4	50	19.0		21	25.0	4	21.1	15	26.8	10	9.6	
	Divorced	24	13.3	38	14.4		11	13.1	4	21.1	6	10.7	17	16.3	
	Widowed	9	5.0	23	8.7		5	6.0	3	15.8	1	1.8	14	13.5	
Monthly income ^{b**}	≤ 1 minimum wage	77	42.8	98	53.3	0.023*	34	41.0	6	33.3	33	67.3	25	71.4	<0.001*
	1 - 3 min. wages	96	53.3	75	40.5		41	49.4	10	55.6	16	32.7	8	22.9	
	3 - 5 min. wages	3	1.7	10	5.4		8	9.6	2	11.1	0	0.0	0	0.0	
	5 - 7 min. wages	3	1.7	1	0.5		0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	2.9	
	≥ 7 min. wages	1	0.6	1	0.5		0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	2.9	

^aBased on Brazilian educational system. ^bBased on Brazilian minimum wage (approximately U\$ 287.00). Data presented as absolute number and percentage. Analysis carried out using the two-tailed Chi-square (X²) test or *Fisher test, with p<0.05 being adopted as the significance level (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesions); HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesions). Bold values represent statistical significance (p<0.05). **Variable containing incomplete data for some participants.

Supplementary table 2. Association of participant reproductive and sexual behavior characteristics with HPV infection and cervical lesion status.

Variables	HPV					p-value	Lesion grade (HPV infected patients)								p-value
	Uninfected (n=181)		Infected (n=264)		No lesion (n=84)		LSIL (n=19)		HSIL (n=56)		Cervical cancer (n=105)				
	N	%	N	%	N		%	N	%	N	%	N	%		
Oral contraceptive usage**	No	125	69.1	148	56.9	0.010	57	68.7	10	52.6	29	52.7	52	50.5	0.073
	Yes	56	30.9	112	43.1		26	31.3	9	47.4	26	47.3	51	49.5	
Condom usage**	No	162	90.0	205	81.0	0.010	69	83.1	15	83.3	42	85.7	79	76.7	0.521
	Yes	18	10.0	48	19.0		14	16.9	3	16.7	7	14.3	24	23.3	
Age at menarche (years)**	≤11	39	21.5	53	26.9	0.273	16	21.4	6	31.6	19	33.9	10	26.3	0.875
	12	43	23.8	55	27.9		26	31.0	5	26.3	15	26.8	9	23.7	
	13	47	26.0	38	19.3		15	17.9	4	21.1	11	19.6	8	21.1	
	≥14	52	28.7	51	25.9		25	29.7	4	21.1	11	19.7	11	28.9	
Age at first sexual intercourse (years)**	≤17	87	48.1	162	63.3	0.002	48	57.1	15	78.9	39	69.6	60	61.9	0.167
	≥18	94	51.9	94	36.7		36	42.9	4	21.1	17	30.4	37	38.1	
Sexual partners during the lifetime**	1	70	38.9	45	24.2	0.007	23	27.7	3	16.7	7	14.6	12	32.4	0.360*
	2	35	19.4	31	16.7		11	13.3	4	22.2	9	18.8	7	18.9	
	3	26	14.4	28	15.1		10	12.0	6	33.3	9	18.8	3	8.1	
	4	13	7.2	19	10.2		9	10.8	2	11.1	5	10.5	3	8.1	
	≥5	36	20.0	63	33.9		30	36.1	3	16.7	18	37.5	12	32.4	
Knowledge about HPV**	No	32	17.8	53	28.0	0.062	19	22.9	4	22.2	12	24	18	47.4	0.107
	Heard about	99	55.0	89	47.1		45	54.2	8	44.4	23	46	13	34.2	
	Yes	49	27.2	47	24.9		19	22.9	6	33.3	15	30	4	18.4	
Knowledge about HPV transmission**	No	18	43.3	97	51.3	0.124	32	38.6	11	91.1	24	48.0	30	78.9	<0.001
	Yes	102	56.7	92	48.7		51	61.4	7	38.9	26	52.0	8	21.1	
Previous cervical screening**	No	4	2.2	7	3.7	0.398	4	4.8	0	0.0	0	0.0	3	8.1	0.207*
	Yes	176	97.8	181	96.3		79	95.2	18	100.0	50	100.0	34	91.9	
Familial cervical cancer**	No	158	87.8	168	88.0	0.958	72	86.7	17	94.4	45	86.5	34	89.5	0.906*
	Yes	22	12.2	23	12.0		11	13.3	1	5.6	7	13.5	4	10.5	

Data presented as absolute number and percentage. Analysis carried out using the two-tailed Chi-square (X²) test or *Fisher test, with p<0.05 being adopted as the significance level (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesions); HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesions). Bold values represent statistical significance (p<0.05). **Variable containing incomplete data for some participants.

Supplementary table 3. Association of participants sociodemographic characteristics with HPV infection through adjusted logistic regression.

Variables	HPV +		
	OR (CI95%)	Adjusted p-value	
Age range (years)	≤ 24	4.673 (1.543-14.153)	0.006
	25 – 34	2.049 (0.915-4.588)	0.081
	35 – 44	1.107 (0.523-2.344)	0.791
	45 – 54	0.651 (0.316-1.341)	0.245
	≥ 55	Reference	
Smoking status	No	Reference	
	Yes	0.958 (0.426-0.2.153)	0.917
	Ex-smoker	1.718 (0.686-4.303)	0.248
Education level ^a	Incomplete elementary school	Reference	
	Complete elementary school	0.660 (0.316-1.380)	0.270
	Incomplete high school	0.362 (0.158-0.830)	0.016
	Complete high school	0.595 (0.319-1.108)	0.102
	Incomplete undergraduate degree	0.262 (0.064-1.076)	0.063
	Complete undergraduate degree	0.364 (0.117-1.134)	0.081
Marital status	Married	Reference	
	Single	1.791 (0.870-3.688)	0.114
	Divorced	1.620 (0.845-3.107)	0.147
	Widowed	2.336 (0.892-6.120)	0.084
Monthly income ^b	≤ 1 minimum wage	1.430 (0.070-29.259)	0.817
	1 - 3 min. wages	0.944 (0.047-19.052)	0.970
	3 - 5 min. wages	5.325 (0.209-135.590)	0.311
	5 - 7 min. wages	0.453 (0.006-32.737)	0.717
	≥ 7 min. wages	Reference	

^aBased on Brazilian educational system. ^bBased on Brazilian minimum wage (approximately U\$ 287.00). Data were analyzed by logistic regression with $p < 0.05$ considered significant (bold) and with “uninfected” group as reference (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); OR (Odds Ratio); CI (confidence interval).

Supplementary table 4. Association of participant reproductive and sexual behavior characteristics with HPV infection through adjusted logistic regression.

Variables		HPV +	
		OR (CI95%)	Adjusted <i>p</i> -value
Oral contraceptive usage	No	0.918 (0.580-1.452)	0.714
	Yes	Reference	
Condom usage	No	0.776 (0.400-1.508)	0.455
	Yes	Reference	
Age at first sexual intercourse (years)	≤17	1.411 (0.901-2.210)	0.133
	≥18	Reference	
Sexual partners during the lifetime	1	0.430 (0.239-0.772)	0.005
	2	0.563 (0.296-1.072)	0.080
	3	0.655 (0.332-1.294)	0.223
	4	0.900 (0.395-2.050)	0.802
	≥5	Reference	

Data were analyzed by logistic regression with $p < 0.05$ considered significant (bold) and with “uninfected” group as reference (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); OR (Odds Ratio); CI (confidence interval).

Supplementary table 5. Association of participant sociodemographic, reproductive and sexual behavior characteristics with cervical lesion groups through adjusted logistic regression.

Variables	Lesion grade (HPV infected patients)						
	LSIL	Adjusted <i>p</i> -value	HSIL	Adjusted <i>p</i> -value	Cervical cancer	Adjusted <i>p</i> -value	
	OR (CI95%)		OR (CI95%)		OR (CI95%)		
Age range (years)	≤ 24	22.375 (1.554-322.123)	0.022	1.106 (0.246-4.968)	0.896	-	0.974
	25 – 34	4.414 (0.335-58.195)	0.259	2.051 (0.488-8.614)	0.327	1.539 (0.229-10.3200)	0.657
	35 – 44	2.793 (0.214-36.433)	0.433	2.151 (0.545-8.891)	0.274	1.471 (0.329-6.564)	0.613
	45 – 54	4.536 (0.355-57.909)	0.245	1.512 (0.376-6.091)	0.561	0.579 (0.125-2.677)	0.485
	≥ 55	Reference		Reference		Reference	
Education level ^a	Incomplete elementary school	Reference		Reference		Reference	
	Complete elementary school	0.240 (0.014-3.997)	0.320	-	0.998	0.389 (0.050-3.058)	0.370
	Incomplete high school	0.030 (0.001-1.144)	0.059	-	0.998	0.128 (0.013-1.316)	0.084
	Complete high school	0.066 (0.002-1.850)	0.110	-	0.998	-	0.996
	Incomplete undergraduate degree	0.411 (0.349-0.028)	0.411	-	0.998	0.050 (0.006-0.457)	0.008
	Complete undergraduate degree	-	-	-	-	-	0.998
Marital status	Married	Reference		Reference		Reference	
	Single	0.092 (0.013-0.656)	0.017	3.630 (0.382-34.516)	0.262	0.437 (0.097-1.964)	0.280
	Divorced	0.130 (0.014-1.185)	0.070	2.627 (0.244-28.331)	0.426	-	0.994
	Widowed	0.427 (0.054-3.356)	0.418	2.859 (0.257-31.742)	0.392	0.521 (0.092-2.945)	0.460
Knowledge about HPV	No	0.987 (0.192-5.083)	0.987	0.578 (0.180-1.862)	0.359	1.126 (0.224-5.645)	0.886
	Heard about	0.593 (0.144-2.444)	0.470	0.531 (0.196-1.437)	0.212	0.327 (0.071-1.509)	0.152
	Yes	Reference		Reference		Reference	

^aBased on Brazilian educational system. Data were analyzed by logistic regression with $p < 0.05$ considered significant (bold) and with “no lesion” group as reference (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesions); HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesions); OR (Odds Ratio); CI (confidence interval). Some categories of the variables didn't complete the logistic regression, probably due to the sample size.

Table 1. Association of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants with HPV infection and cervical lesion status.

Genetic models	HPV					<i>p</i> -value	Lesion grade (HPV infected patients)								<i>p</i> -value
	Uninfected (n=181)		Infected (n=264)		No lesion (n=84)		LSIL (n=19)		HSIL (n=56)		Cervical cancer (n=105)				
	N	%	N	%	N		%	N	%	N	%	N	%		
rs5742909 (-318 C>T)															
Codominant	CC	148	82.2	185	70.3	<0.001*	70	83.3	15	78.9	36	64.3	64	61.5	0.010*
	CT	26	14.4	77	29.3		14	16.7	4	21.1	20	35.7	39	37.5	
	TT	6	3.4	1	0.4		0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	1.0	
Dominant	CC	148	82.2	185	70.3	0.004	70	83.3	15	78.9	36	64.3	64	61.5	0.006
	CT+TT	32	17.8	78	29.7		14	16.7	4	21.1	20	35.7	40	38.5	
Recessive	CC+CT	174	96.7	262	99.6	0.020*	84	100	19	100	56	100	103	99.0	1.000*
	TT	6	3.3	1	0.4		0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	1.0	
Alleles	C	322	89.5	447	84.9	3.714	154	74.4	34	89.5	92	82.1	167	80.3	0.012
	T	38	10.5	79	15.1		14	25.6	4	10.5	20	17.9	41	19.7	
rs231775 (+49 A>G)															
Codominant	AA	66	36.5	100	38.0	0.369	33	39.3	4	21.1	21	37.5	42	40.4	0.715
	AG	86	47.5	133	50.6		44	52.4	12	63.2	28	50.0	49	47.1	
	GG	29	16.0	30	11.4		7	8.3	3	15.7	7	12.5	13	12.5	
Dominant	AA	66	36.5	100	38.0	0.739	33	39.3	4	21.1	21	37.5	42	40.4	0.452
	AG+GG	115	63.5	163	62.0		51	60.7	15	78.9	35	62.5	62	59.6	
Recessive	AA+AG	152	84.0	233	88.6	0.159	77	91.7	16	84.2	49	87.5	91	87.5	0.721
	GG	29	16.0	30	11.4		7	8.3	3	15.8	7	12.5	13	12.5	
Alleles	A	218	60.2	333	63.3	0.351	110	65.5	20	52.6	70	62.5	133	63.9	0.517
	G	144	39.8	193	36.7		58	34.5	18	47.4	42	37.5	75	36.1	
rs3087243 (+6230 G>A)															
Codominant	GG	51	31.8	58	26.4	0.344	19	28.8	8	50.0	11	27.5	20	20.5	0.030
	GA	79	49.4	125	56.8		30	45.5	6	37.5	23	57.5	66	67.3	
	AA	30	18.8	37	16.8		17	25.7	2	12.5	6	15.0	12	12.2	
Dominant	GG	51	31.9	58	26.4	0.241	19	28.8	8	50.0	11	27.5	20	20.4	0.085
	GA+AA	109	68.1	162	73.6		47	71.2	8	50.0	29	72.5	78	79.6	
Recessive	GG+GA	130	81.2	183	83.2	0.626	49	74.2	14	87.5	34	85.0	86	87.8	0.136
	AA	30	18.8	37	16.8		17	25.8	2	12.5	6	15.0	12	12.2	
Alleles	G	181	56.6	241	54.8	0.623	68	51.5	22	68.7	45	56.3	106	62.7	0.362
	A	139	43.4	199	45.2		64	48.5	10	31.3	35	43.7	90	37.3	

Data presented as absolute number and percentage. Analysis carried out using the two-tailed Chi-square (χ^2) test or *Fisher test, with $p < 0.05$ being adopted as the significance level (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesions); HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesions). Bold values represent statistical significance ($p < 0.05$). The distribution of the genotype frequency of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T) wasn't in Hardy Weinberg equilibrium on HPV uninfected group ($p < 0.05$). Some participants didn't complete the genotyping for all the genetic variants analyzed.

Table 2. Association of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants with HPV infection and cervical lesion status through adjusted logistic regression.

Genetic models	HPV			Lesion grade (HPV infected patients)					
	Infected	Adjusted <i>p</i> -value	LSIL OR (CI95%)	Adjusted <i>p</i> -value	HSIL	Adjusted <i>p</i> -value	Cervical cancer	Adjusted <i>p</i> -value	
	OR (CI95%)				OR (CI95%)		OR (CI95%)		
rs5742909 (-318 C>T)									
Codominant	CC	Reference	Reference		Reference		Reference		
	CT	2.936 (1.715-5.026)	<0.001	1.057 (0.277-4.035)	0.935	2.945 (1.274-6.808)	0.012	4.207 (1.846-9.588)	0.001
	TT	-	0.999	-	1	-	1	-	0.997
Dominant	CC	Reference		Reference		Reference		Reference	
	TT+CT	2.382 (1.432-3.963)	0.001	1.057 (0.277-4.035)	0.935	2.928 (1.267-6.766)	0.012	4.314 (1.896-9.817)	<0.001
Recessive	CC+CT	Reference		Reference		Reference		Reference	
	TT	-	0.999	-	1	-	1	-	0.997
rs231775 (+49 A>G)									
Codominant	AA	Reference		Reference		Reference		Reference	
	AG	0.940 (0.594-1.486)	0.790	2.352 (0.623-8.876)	0.207	1.209 (0.554-2.641)	0.634	1.106 (0.538-2.273)	0.785
	GG	0.712 (0.366-1.384)	0.316	4.135 (0.568-30.090)	0.161	2.179 (0.625-7.597)	0.221	1.298 (0.397-4.239)	0.666
Dominant	AA	Reference		Reference		Reference		Reference	
	GG+AG	0.883 (0.572-1.365)	0.576	2.573 (0.702-9.425)	0.154	1.346 (0.637-2.843)	0.437	1.127 (0.565-2.248)	0.734
Recessive	AA+AG	Reference		Reference		Reference		Reference	
	GG	0.737 (0.399-1.360)	0.329	2.327 (0.409-13.228)	0.341	1.954 (0.607-6.288)	0.261	1.223 (0.401-3.733)	0.723
rs3087243 (+6230 G>A)									
Codominant	GG	Reference		Reference		Reference		Reference	
	GA	1.190 (0.707-2.003)	0.512	0.299 (0.073-1.227)	0.094	1.098 (0.391-3.090)	0.859	3.481 (1.338-9.056)	0.011
	AA	1.023 (0.521-2.011)	0.947	0.181 (0.026-1.264)	0.085	0.523 (0.144-1.895)	0.323	0.641 (0.207-1.983)	0.440
Dominant	GG	Reference		Reference		Reference		Reference	
	AA+GA	1.144 (0.698-1.875)	0.594	0.250 (0.065-0.955)	0.043	0.891 (0.335-2.367)	0.817	2.111 (0.878-5.077)	0.095
Recessive	GG+GA	Reference		Reference		Reference		Reference	
	AA	0.918 (0.508-1.661)	0.777	0.413 (0.074-2.294)	0.312	0.485 (0.159-1.478)	0.203	0.283 (0.111-0.724)	0.008

Data were analyzed by logistic regression adjusted for “age range”, “educational level” and “sexual partners during the lifetime” (HPV infection analysis) or “age range”, “education level” and “marital status” (lesion grade analysis), with “uninfected” group or “no lesion” group as reference, respectively, and with $p < 0.05$ considered significant (bold) (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesions); HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesions); OR (Odds Ratio); CI (confidence interval). Some categories of the variables didn't complete the logistic regression, probably due to the sample size.

Table 3. Association of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants haplotypes with HPV infection and cervical lesion status.

<i>CTLA4</i> Haplotypes	HPV				<i>p</i> -value	Lesion grade (HPV infected patients)								<i>p</i> -value
	Uninfected (n=181)		Infected (n=264)			No lesion (n=84)		LSIL (n=19)		HSIL (n=56)		Cervical cancer (n=105)		
	N	%	N	%		N	%	N	%	N	%	N	%	
CAG	41	47.7	45	52.3	0.071	16	9.6	4	10.2	11	10.1	14	6.7	
CAA	152	40.2	226	59.8		81	48.5	12	30.7	42	38.5	91	43.7	
TAG	25	28.7	62	71.3		12	7.2	4	10.2	17	15.6	29	13.9	
CGG	129	42.3	176	57.7		57	34.1	18	46.4	37	33.9	64	30.8	
TGG	14	51.8	13	48.2		1	0.6	1	2.5	2	1.9	10	4.9	

Data presented as absolute number and percentage. Analysis carried out using the two-tailed Chi-square (X^2) test, with $p < 0.05$ being adopted as the significance level (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesions); HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesions). Bold values represent statistical significance ($p < 0.05$). SNVs alleles in haplotype structures follow the order rs231775 A>G, rs5742909 C>T and rs3087243 G>A.

Table 4. Association of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants haplotype models with HPV infection.

Haplotype models	HPV – (n=181)		HPV + (n=264)		<i>p</i> -value
	N	%	N	%	
CAG/CAG	4	2.2	4	1.6	0.449
CAG/OTHERS	33	18.3	37	14.3	
OTHERS/OTHERS	143	79.5	217	84.1	
CAA/CAA	34	18.9	45	17.4	0.550
CAA/OTHERS	84	46.7	134	51.9	
OTHERS/OTHERS	62	34.4	79	30.7	
TAG/TAG	1	0.6	0	0.0	0.007
TAG/OTHERS	23	12.8	62	24.0	
OTHERS/OTHERS	156	86.6	196	76.0	
CGG/CGG	21	11.7	21	8.1	0.462
CGG/OTHERS	86	47.8	130	50.4	
OTHERS/OTHERS	73	40.5	107	41.5	
TGG/TGG	4	2.2	1	0.4	0.185
TGG/OTHERS	6	3.3	11	4.3	
OTHERS/OTHERS	170	94.5	246	95.3	

Data presented as absolute number and percentage. Analysis carried out using the two-tailed Chi-square (X^2) test, with $p < 0.05$ being adopted as the significance level (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus). Bold values represent statistical significance ($p < 0.05$). SNVs alleles in haplotype structures follow the order rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A). Some participants didn't complete genotyping for all genetic variants analyzed, so their haplotypes were incomplete and they weren't counted.

Table 5. Association of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) haplotype models with cervical lesion status.

Haplotype models	No lesion (n=84)		LSIL (n=19)		HSIL (n=56)		Cervical cancer (n=105)		p-value
	N	%	N	%	N	%	N	%	
CAG/CAG	2	2.4	0	0	1	1.9	1	1.0	0.859
CAG/OTHERS	12	14.5	4	21.1	9	17.0	12	11.7	
OTHERS/OTHERS	69	83.1	15	78.9	43	81.1	90	87.3	
CAA/CAA	21	25.3	3	15.8	10	18.9	11	10.7	0.004
CAA/OTHERS	38	45.8	6	31.6	22	41.5	68	66.0	
OTHERS/OTHERS	24	28.9	10	52.6	21	39.6	24	23.3	
TAG/TAG	0	0	0	0	0	0	0	0	0.069
TAG/OTHERS	12	14.5	4	21.1	17	32.1	29	28.2	
OTHERS/OTHERS	71	85.5	15	78.9	36	67.9	74	71.8	
CGG/CGG	7	8.4	3	15.8	3	5.7	8	7.8	0.471
CGG/OTHERS	43	51.8	12	63.2	28	52.8	47	45.6	
OTHERS/OTHERS	33	39.8	4	21.0	22	41.5	48	46.6	
TGG/TGG	0	0	0	0	0	0	1	1.0	0.280
CGG/OTHERS	1	1.2	0	0	2	3.8	8	7.8	
OTHERS/OTHERS	82	98.8	19	100.0	51	96.2	94	91.2	

Data presented as absolute number and percentage. Analysis carried out using the two-tailed Chi-square (X^2) test, with $p < 0.05$ being adopted as the significance level (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Bold values represent statistical significance ($p < 0.05$). SNVs alleles in haplotype structures follow the order rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A). Some participants didn't complete genotyping for all genetic variants analyzed, so their haplotypes were incomplete and they weren't counted.

Table 6. Association of *CTLA4* rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) and rs3087243 (+6230 G>A) genetic variants haplotype models with HPV infection and cervical lesion status through adjusted logistic regression.

Haplotype models	HPV		Lesion grade (HPV infected patients)					
	Infected OR (CI95%)	Adjusted <i>p</i> -value	LSIL OR (CI95%)	Adjusted <i>p</i> -value	HSIL OR (CI95%)	Adjusted <i>p</i> -value	Cervical cancer OR (CI95%)	Adjusted <i>p</i> -value
CAG								
CAG/CAG	0.702 (0.146- 3.377)	0.659	-	0.999	0.758 (0.061- 9.368)	0.829	0.123 (0.009- 1.696)	0.118
CAG/OTHERS	0.877 (0.499- 1.540)	0.648	1.954 (0.515- 7.410)	0.325	1.269 (0.460- 3.506)	0.646	0.669 (0.247- 1.811)	0.429
OTHERS/OTHERS	Reference		Reference		Reference		Reference	
CAA								
CAA/CAA	0.977 (0.532- 1.796)	0.941	0.295 (0.066- 1.327)	0.112	0.479 (0.178- 1.289)	0.145	0.471 (0.165 - 1.344)	0.159
CAA/OTHERS	1.026 (0.638- 1.650)	0.916	0.258 (0.072- 0.924)	0.037	0.532 (0.226- 1.255)	0.150	2.571 (1.139- 5.803)	0.023
OTHERS/OTHERS	Reference		Reference		Reference		Reference	
TAG								
TAG/TAG	-	1	1.907 (0.502- 7.242)	0.343	2.569 (1.033- 6.388)	0.042	3.212 (1.340- 7.695)	0.009
TAG/OTHERS	2.414 (1.368- 4.258)	0.002	-	-	-	-	-	-
OTHERS/OTHERS	Reference		Reference		Reference		Reference	
CGG								
CGG/CGG	0.627 (0.295- 1.332)	0.225	4.608 (0.742- 28.610)	0.101	0.950 (0.209- 4.316)	0.947	0.629 (0.169- 2.340)	0.490
CGG/OTHERS	0.901 (0.575- 1.412)	0.650	2.215 (0.610- 8.045)	0.227	1.109 (0.508- 2.422)	0.794	0.900 (0.446- 1.819)	0.770
OTHERS/OTHERS	Reference		Reference		Reference		Reference	
TGG								
TGG/TGG	-	0.999	-	-	-	1	-	0.998
TGG/OTHERS	1.882 (0.633- 5.596)	0.255	-	0.996	4.240 (0.357- 50.394)	0.253	9.210 (0.809- 104.901)	0.074
OTHERS/OTHERS	Reference		Reference		Reference		Reference	

Data were analyzed by logistic regression adjusted for "age range", "educational level" and "sexual partners during the lifetime" (HPV infection analysis) or "age range", "education level" and "marital status" (lesion grade analysis), with "uninfected" group or "no lesion" group as reference, respectively, and with $p < 0.05$ considered significant (bold) (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). HPV (Human Papillomavirus); LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesions); HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesions); OR (Odds Ratio); CI (confidence interval); adj (adjusted). Some categories of the variables didn't complete the logistic regression, probably due to the sample size.

REFERENCES

- ANJOS, S. et al. A common autoimmunity predisposing signal peptide variant of the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 results in inefficient glycosylation of the susceptibility allele. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 48, p. 46478-46486, nov. 2002.
- CHEN, X. et al. Genetic susceptibility of cervical cancer. **Journal of biomedical research**, v. 25, n. 3, p. 155-164, may 2011.
- DOORBAR, J.; GRIFFIN, H. Refining our understanding of cervical neoplasia and its cellular origins. **Papillomavirus Research (Amsterdam, Netherlands)**, v. 7, p. 176-179, jun. 2019.
- EDWARDS, R. P. et al. T lymphocytes infiltrating advanced grades of cervical neoplasia. CD8-positive cells are recruited to invasion. **Cancer**, v. 76, n. 8, p. 1411-5, 1995.
- EI WAFAI, R. J. et al. Association of HLA class II alleles and CTLA-4 polymorphism with type 1 diabetes. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, v. 22, n. 2, p. 273–281, mar. 2011.
- FERNÁNDEZ-MESTRE, M. et al. Influence of CTLA-4 gene polymorphism in autoimmune and infectious diseases. **Human Immunology**, v. 70, n. 7, p. 532–535, jul. 2009.
- GHEIT, T. Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology. **Frontiers in Oncology**, v. 9, p. 355, may. 2019.
- GLIWIŃSKI, M.; IWASZKIEWICZ-GRZEŚ, D.; TRZONKOWSKI, P. Cell-Based Therapies with T Regulatory Cells. **BioDrugs**, v. 31, n. 4, p. 335-347, aug. 2017.
- GOKHALE, P. et al. CTLA-4 gene polymorphism at position +49 A>G in exon 1: a risk factor for cervical cancer in Indian women. **Cancer Genetics**, v. 206, n. 5, p. 154-161, may. 2013.
- GUNAVATHY, N. et al. Association of CTLA-4 and CD28 gene polymorphisms with type 1 diabetes in South Indian population. **Immunological Investigations**, v. 48, n. 6, p. 659–671, aug. 2019.
- HIBMA, M. H. The Immune Response to Papillomavirus During Infection Persistence and Regression. **The Open Virology Journal**, v. 6, n. 1, p. 241-248, dec. 2012.
- HU, L. et al. CTLA-4 gene polymorphism +49 A/G contributes to genetic susceptibility to two infection-related cancers-hepatocellular carcinoma and cervical cancer. **Human Immunology**, v. 71, n. 9, p. 888-891, sep. 2010.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER – INCA (Brasil). Câncer. Tipos de câncer. **Câncer de corpo do útero**. Rio de Janeiro: INCA, 2023. Available at: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/corpo-do-uterio>. Access at: 11 jun. 2024.

JIANG, L. et al. Single nucleotide polymorphisms of CTLA4 gene and their association with human cervical cancer. **Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi**, v. 28, n. 3, p. 313–317, jun. 2011.

KITCHING, A. R.; HOLDSWORTH, S. R. The emergence of TH17 cells as effectors of renal injury. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 2, p. 235-238, feb. 2011.

LI, H. et al. Association between CTLA-4 gene polymorphism and susceptibility to cervical cancer. **Zhonghua Zhong Liu Za Zhi**, v. 33, n. 9, p. 681–684, sep. 2011.

LING, V. et al. Assembly and annotation of human chromosome 2q33 sequence containing the CD28, CTLA4, and ICOS gene cluster: analysis by computational, comparative, and microarray approaches. **Genomics**, v. 78, n. 3, p. 155-168, dec. 2001.

MANGIERI, L. F. L. et al. CCR5 genetic variants and epidemiological determinants for HPV infection and cervical premalignant lesions. **International journal of immunogenetics**, v. 46, n. 5, p. 331-338, oct. 2019.

MANGIERI, L. F. L. et al. Cross-Sectional Analysis of Human Papillomavirus Infection and Cytological Abnormalities in Brazilian Women. **Pathogens**, v. 12, n. 1, p. 148, jan. 2023.

MÄURER, M.; LOSERTH, S.; KOLB-MÄURER, A. A polymorphism in human cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA4) gene (exon 1 +49) alters T-cell activation. **Immunogenetics**, v. 54, n. 1, p. 1-8, apr. 2002.

MIN, W. K. et al. Allelic discrimination of the Restorer-of-fertility gene and its inheritance in peppers (*Capsicum annuum* L.). **Theoretical and applied genetics**, v. 119, n. 7, p. 1289–1299, nov. 2009.

MISRA, M. K. et al. Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene polymorphism influences the incidence of symptomatic human cytomegalovirus infection after renal transplantation. **Pharmacogenet Genomics**, v. 25, n. 1, p. 19–29, jan. 2015.

NAYAR, R.; WILBUR, D. C. The Pap test and Bethesda 2014. **Cancer Cytopathology**, v. 123, n. 5, p. 271-81, may 2015.

NISTICO, L. et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. **Human Molecular Genetics**, v. 5, n. 7, p. 1075-1080, jul. 1998.

OH, D. Y. et al. Toward a better understanding of T cells in cancer. **Cancer Cell**, v. 39, n. 12, p. 1549-1552, dec. 2021.

- PAWLAK, E. et al. Influence of CTLA-4/CD28/ICOS gene polymorphisms on the susceptibility to cervical squamous cell carcinoma and stage of differentiation in the Polish population. **Human Immunology**, v. 71, n. 2, p. 195–200, feb. 2010.
- QURESHI, O. S. et al. Trans-Endocytosis of CD80 and CD86: A Molecular Basis for the Cell-Extrinsic Function of CTLA-4. **Science**, v. 332, n. 6029, p. 600–603, apr. 2011.
- RAHIMIFAR, S. et al. CTLA-4 gene variations may influence cervical cancer susceptibility. **Gynecologic Oncology**, v. 119, n. 1, p. 136-139, oct. 2010.
- REICH, O.; REGAUER, S. Thin HSIL of the Cervix: Detecting a Variant of High-grade Squamous Intraepithelial Lesions With a p16INK4a Antibody. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 36, n. 1, p. 71-75, jan. 2017.
- SCHIFFMAN, M.; WENTZENSEN, N. Human Papillomavirus Infection and the Multistage Carcinogenesis of Cervical Cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 22, n. 4, p. 553–560, 2 abr. 2013.
- STEPHENS, M.; SCHEET, P. Accounting for Decay of Linkage Disequilibrium in Haplotype Inference and Missing-data Imputation. **The American Journal of Human Genetics**, v. 76, p. 449–462, jan. 2005.
- STEPHENS, M.; SMITH, N. J.; DONNELLY, P. A New Statistical Method for Haplotype Reconstruction from Population data. **The American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 4, p. 978–989, apr. 2001.
- THOMPSON, C. B.; ALLISON, J. P. The emerging role of CTLA-4 as an immune attenuator. **Immunity**, v. 7, n. 4, p. 445-50, oct. 1997.
- UEDA, H. et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. **Nature**, v. 423, n. 6939, p. 506-511, may. 2003.
- WALUNAS, T. L. et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. **Immunity**, v. 1, n. 5, p. 405-13, aug. 1994.
- WING, K.; YAMAGUCHI, T.; SAKAGUCHI, S. Cell-autonomous and -non-autonomous roles of CTLA-4 in immune regulation. **Trends in Immunology**, v. 32, n. 9, p. 428-433, sep. 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem**. available at: <<https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240014107>>. access at: 9 feb. 2024.
- XIONG, Y. H.; HE, L.; FEI, J. Genetic variations in cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 and susceptibility to cervical cancer. **International Immunopharmacology**, v. 18, n. 1, p. 71-76, jan. 2014.

YETIMALAR, H. et al. Cofactors in human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 285, n. 3, p. 805-810, mar. 2012.

5. CONCLUSÃO

No presente estudo, foram avaliadas 445 mulheres atendidas pelo serviço público de saúde do estado do Paraná - Brasil, quanto à presença de infecção por HPV. Entre as participantes, 40,7% não apresentaram infecção, enquanto 59,3% foram diagnosticadas com a infecção pelo HPV. As mulheres infectadas foram subdivididas em grupos conforme o grau de lesão cervical, com base nos resultados da citologia cervical: 31% não apresentaram lesão, 7,2% foram diagnosticadas com LSIL, 21,2% com HSIL e 39,8% com câncer cervical.

Em relação às características sociodemográficas e de comportamento sexual e reprodutivo das participantes da pesquisa, os resultados obtidos corroboram com os achados de um estudo anterior do nosso grupo. Nós demonstramos que a faixa etária, o nível de escolaridade, o estado civil, a renda mensal e o nível de conhecimento sobre a transmissão do HPV estão associados ao desenvolvimento de lesões cervicais e de câncer cervical. Para a infecção pelo HPV, além dessas variáveis, o tabagismo, o uso de anticoncepcional oral e de preservativo, a idade da primeira relação sexual e o número de parceiros sexuais ao longo da vida também foram significativos.

As participantes do estudo foram genotipadas para as variantes genéticas rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4*. Posteriormente, foi analisada a possível associação dos alelos, genótipos e haplótipos dessas variantes com a infecção por HPV, o desenvolvimento de lesões intraepiteliais cervicais e de câncer cervical. Observou-se que mulheres portadoras do alelo T da variante rs5742909 (-318 C>T) apresentaram maior suscetibilidade de infecção por HPV, bem como maior risco de desenvolver HSIL e câncer cervical. Em relação à variante rs3087243 (+6230 G>A), a presença do alelo A foi associada ao desenvolvimento de LSIL. No entanto, os resultados da variante genética rs231775 (+49 A>G) não foram significativos. O haplótipo TAG, composto pelas variantes rs5742909 (-318 C>T), rs231775 (+49 A>G) e rs3087243 (+6230 G>A) de *CTLA4*, foi associado à infecção por HPV, ao desenvolvimento de HSIL e ao câncer cervical.

Em resumo, demonstramos que o alelo T da variante rs5742909 (-318 C>T) de *CTLA4* e o haplótipo TAG estão associados à infecção por HPV, desenvolvimento de lesões intraepiteliais cervicais e de câncer cervical na população brasileira.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O câncer cervical é o terceiro tipo de câncer mais incidente entre as mulheres brasileiras e constitui um problema de saúde pública que exige estratégias eficazes para sua eliminação. Este estudo contribui para a caracterização social da população mais afetada por esse tipo de câncer, além de abordar aspectos genéticos potencialmente relacionados, como a associação da variante genética rs5742909 (-318 C>T) e do haplótipo TAG (composto pelas variantes genéticas rs5742909 [-318 C>T], rs231775 [+49 A>G] e rs3087243 [+6230 G>A] do gene *CTLA4*) com a infecção pelo HPV. Assim, este trabalho amplia a compreensão dos cofatores envolvidos no desenvolvimento do câncer de colo do útero, fornecendo contribuições para aprimorar estratégias de prevenção, diagnóstico, tratamento e prognóstico das pacientes afetadas.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

"Variantes polimórficas nos genes *IL10*, *CTLA4* e *PDCD1* e expressão de miRNAs: associação com risco, progressão e prognóstico no câncer de colo de útero"

Prezada Senhora:

Gostaríamos de convidá-la para participar da pesquisa **"Variantes polimórficas nos genes *IL10*, *CTLA4* e *PDCD1* e expressão de miRNAs: associação com risco, progressão e prognóstico no câncer de colo de útero"**, a ser realizada **no Laboratório de genética molecular e imunologia da UEL**. O objetivo da pesquisa é "detectar a presença do vírus HPV, que pode causar câncer de colo de útero, em amostra ginecológica, e também avaliar possíveis variações genéticas no sistema imune das mulheres que podem favorecer a infecção e o desenvolvimento de lesões de colo de útero". Sua participação é muito importante e ela se dará da seguinte forma: 1) você responderá a um questionário sobre dados como idade, escolaridade, renda familiar, hábito tabagista, idade da primeira menstruação e da primeira relação sexual, número de gestações e partos, entre outros; 2) você doará o material ginecológico que seria descartado após a confecção da lâmina do exame de Papanicolaui (caso você esteja em consulta na UBS) ou material ginecológico restante das análises patológicas (caso você esteja em consulta no Hospital do Câncer de Londrina); 3) doará 5mL de sangue periférico, que serão coletados por equipe capacitada; 4) permitirá a consulta de dados de seu prontuário médico para análise de resultados de exames prévios.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo a senhora recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer dano ou prejuízo à sua pessoa.

Esclarecemos, também, que **suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e para pesquisas futuras** e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Os materiais biológicos serão armazenados no laboratório de genética molecular e imunologia da UEL, e serão mantidos codificados, de modo a não permitir a sua identificação, e serão armazenados por 10 anos para a realização desta pesquisa e de pesquisas futuras, que serão submetidas ao comitê de ética em pesquisa antes de sua realização.

Esclarecemos ainda, que você não pagará e nem será remunerada por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

Os **benefícios** esperados são realização da detecção do vírus HPV e sua tipagem, por meio de metodologia sensível e específica, que permite diagnóstico precoce da infecção. E como benefícios indiretos espera-se contribuir para um maior conhecimento dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de lesões provocadas pelo HPV, contribuindo assim para a elaboração de medidas e protocolos médicos que poderiam vir a ser utilizados, na prática clínica, como marcadores moleculares de susceptibilidade para a infecção pelo HPV e também para o desenvolvimento de lesões de colo de útero.

Quanto aos **riscos** desta pesquisa são mínimos, pois os únicos procedimentos extras aos quais você será submetida são: 1) a realização de questionário sociodemográfico, que será aplicado em local reservado, a fim de garantir a sua privacidade e você poderá se recusar a responder as perguntas caso não se sinta confortável; 2) a realização de coleta de sangue que poderá gerar algum desconforto, dor, hematoma no local, e raramente desmaios, contudo serão realizadas por profissionais capacitados a fim de minimizar estes possíveis riscos, e serão realizadas nas UBSs ou no HCL, em sala apropriada. Em relação à coleta de material ginecológico, não há riscos diretos da participação nesta pesquisa, tendo em vista que você já seria submetida aos procedimentos descritos, para seu diagnóstico e tratamento, independentemente de sua participação neste estudo. Contudo caso ocorra algum tipo de desconforto você será prontamente atendida e amparada por mim (pesquisadora responsável) e / ou pela equipe de trabalho deste projeto.

Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar Karen Brajão de Oliveira (Rua dos Coqueiros, 555, apto 103, Telefone (43) 3371-5728/ (43) 9955-5566, karen.brajao@uel.br), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep328@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue a você.

Londrina, ___ de _____ de 202_.

Karen Brajão de Oliveira (pesquisador responsável)
RG: 6.538.742-5

(NOME POR EXTERNO DO SUJEITO DE PESQUISA), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar voluntariamente da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____
Data: _____

*Termo de Consentimento Livre Esclarecido apresentado, assinado, conforme normas da Resolução 466/2012 de 11 de dezembro de 2012.

APÊNDICE B – Questionário Socioepidemiológico

Nº LAB

ANEXO 1 - QUESTIONÁRIO SOCIOEPIDEMIOLÓGICO

Data: ___/___/___

Reg. N° _____

1. Telefone: _____

Email: _____

2. Conhece o HPV???

Nunca ouvi falar

Já ouvi falar mas não sei o que é

Conheço

3. Conhece as formas de transmissão ou formas de contrair o vírus?

Não **Sim** Qual ou quais:

4. Idade _____ anos DN, _____

5. Etnia: _____

Branca / parda / negra / asiática / indígena

6. Sua renda mensal (em salário mínimo) é de?

Até 1 Salário **De 1 à 3 salários**

De 3 à 5 salários **De 5 à 7 salários**

De 7 à 10 salários

7. Você fuma?

Não

Sim Tempo: _____

Ex-fumante tempo que fumou _____
Quando parou _____

8. Qual o seu grau de escolaridade?

Fundamental Incompleto

Fundamental Completo

Médio Incompleto **Médio completo**

Superior incompleto **Sup. completo**

9. Estado Civil:

Solteira **Casada / união estável**

Divorciada/separada **Viúva**

10. Qual sua profissão? _____

11. Faz o uso de anticoncepcional? **N** **S**

Qual _____

12. Faz uso de preservativo? **N** **S**

13. Nº Gestações: _____

14. Números de Partos Normais: _____

15. Numero de cesárea: _____

16. Abortos: _____

17. Idade da 1ª relação sexual: _____ anos

18. Idade da 1ª menstruação: _____ anos

19. Número de parceiros sexuais:

durante a vida: _____

nos últimos 6 meses: _____

20. Já realizou outros exames preventivos?

Sim **Não**

21. Com qual frequência realiza os preventivos?

Último exame: _____

22. Existem casos de câncer de colo de útero em sua família?

Sim **Não**

Em caso de resposta ``SIM`` descrever o grau de parentesco: _____

23. PESO _____

24. Altura _____

25. IMC: _____

26. Circunferência abdominal: _____

27. Faz algum tipo de tratamento para outra doença? Qual?

28. Está na menopausa? _____

29. Faz reposição hormonal? _____

Medicação: _____

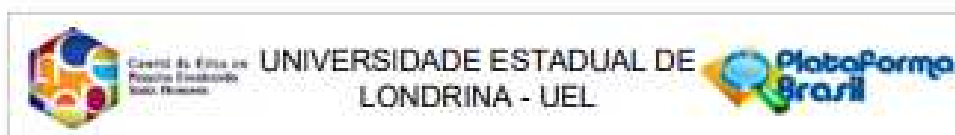
28. Faz uso de bebida alcoólica? _____

Com qual frequência? _____

Pesquisador: _____

ANEXOS

ANEXO A – Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos/UEL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Variantes polimórficas nos genes IL10, CTLA4 e PDCD1 e expressão de miRNAs: associação com risco, progressão e prognóstico no câncer de colo de útero

Pesquisador: Karen Brajão de Oliveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 38937520.2.0000.5231

Instituição Proponente: CCB - Departamento de Ciências Patológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.368.250

Apresentação do Projeto:

Destaca a pesquisadora que: "O papilomavírus humano (HPV) é o agente etiológico da infecção viral mais frequente do trato anogenital e possui papel central no desenvolvimento de lesões intraepiteliais cervicais e do câncer cervical. No Brasil, o número de casos novos de câncer cervical estimados para cada ano do triênio 2020-2022 é de 16.590. Embora ao longo da vida sexual a maioria das mulheres seja infectada por algum dos tipos de HPV, apenas uma pequena porcentagem desenvolve a doença invasiva. A regressão ou progressão das lesões depende em grande parte da ação do sistema imunológico, cujas células e moléculas neste microambiente desempenham um papel de fundamental importância na tumorigênese. Considerando-se que variantes de sequência de DNA podem acontecer em todo o genoma, e que dependendo da localização, elas podem modificar a expressão gênica e a produção, estrutura e função das proteínas, assim como os miRNAs desempenham importante papel na regulação da resposta imunológica. Portanto, este estudo transversal será realizado com mulheres atendidas em programas de prevenção ao câncer de colo de útero de unidades básicas de saúde (UBS), localizadas na região Norte do Paraná e no Hospital do Câncer de Londrina. A adesão das pacientes neste projeto de pesquisa ocorrerá de forma voluntária, após receberem as informações e explicações sobre o estudo e seus objetivos" e será investigado "[...] o papel da regulação da resposta inflamatória e como variantes genéticas de moléculas reguladoras da resposta imune

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-0400

CEP: 86.057-070

E-mail: cep250@uel.br