

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – *CAMPUS* DE
FRANCISCO BELTRÃO, CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS APLICADAS À
SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

MARCELI BORBA DO NASCIMENTO

**INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO E ASSOCIAÇÃO COM OS
POLIMORFISMOS *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695) E *TNFA-308*
(rs1800629)**

FRANCISCO BELTRÃO – PR
FEVEREIRO/2024

MARIELI BORBA DO NASCIMENTO

**INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO E ASSOCIAÇÃO COM OS
POLIMORFISMOS *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695) E *TNFA-308* (rs1800629)**

DISSERTAÇÃO apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Aplicadas à Saúde, nível Mestrado, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador(a): Dra. Léia Carolina Lucio

Co-orientador(a): Dr. Fernando Rodrigo Treco

FRANCISCO BELTRÃO – PR
(FEVEREIRO/2024)

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Nascimento, Marcieli Borba do
Infecção por Papilomavírus Humano e associação com os polimorfismos TP53 (rs1042522), GSTP1 (rs1695) e TNFA-308 (rs1800629) / Marcieli Borba do Nascimento; orientadora Léia Carolina Lucio; coorientadora Fernando Rodrigo Treco. -- Francisco Beltrão, 2024.
97 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Francisco Beltrão) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, 2024.

1. Glutathione-S-Transferase. 2. HPV. 3. Infecção Sexualmente Transmissível. 4. Polimorfismo Genético. I. Lucio, Léia Carolina, orient. II. Treco, Fernando Rodrigo, coorient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARCIELI BORBA DO NASCIMENTO

**INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO E ASSOCIAÇÃO COM OS
POLIMORFISMOS *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695) E *TNFA-308* (rs1800629)**

Essa dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde e aprovada em sua forma final pelo(a) Orientador(a) e pela Banca Examinadora.

BANCA EXAMINADORA

Orientador (a): Prof^a Dr^a. Léia Carolina Lucio
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ

Membro da banca: Prof^a Dr^a. Claudicéia Risso Pascotto
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ

Membro da banca: Prof^a Dr^a. Karen Brajão de Oliveira
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA

FRANCISCO BELTRÃO, PR
Fevereiro/2024

AGRADECIMENTOS

Sempre afirmei que estudar e se tornar mestre, era uma de minhas grandes paixões e sim é certa a ideia propagada que quando se gosta se busca por mais, caminha para mais perto daquilo que se almeja e eu fui, mas não fui sozinha. O caminho foi repleto de pessoas que sonharam comigo se não mais que eu mesma.

Todo este sonho dedico e agradeço, especialmente à minha família, cujo amor e apoio incondicionais alimentaram minha grande fonte de inspiração e motivação ao longo desta tão sonhada jornada acadêmica.

A minha orientadora Dr^a Léia Carolina Lucio, faltariam palavras para expressar minha admiração e esmero por sua pessoa, cuja paciência, sabedoria e apreço fizeram com que toda orientação ao longo do desenvolvimento de toda a pesquisa, se tornasse leve e encantador. Suas contribuições, de fato, foram fundamentais para o sucesso deste trabalho. Porém aprendi com sua leveza que a vida se conduz assim, hora gostando das surpresas de laboratório outra ficando surpresa pelo mesmo motivo.

A todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, por toda sabedoria propagada. Especialmente aos professores Fernando Rodrigo Treco e Claudicéia Risso Pascotto docentes da UNIOESTE, por todo suporte dado nesta jornada! E, também, a professora Karen Brajão de Oliveira, da Universidade Estadual de Londrina por aceitar nosso convite e enriquecer nossa pesquisa e nossos olhos com suas considerações!

Aos companheiros de estudo, que compartilharam momentos de risos, desafios e superação. Vocês tornaram esta jornada mais significativa e enriquecedora.

A todas as mulheres que participaram da pesquisa, dedicando seu tempo e compartilhando suas experiências e demais pesquisadores que antecedam a mim, captando amostras para o banco de dados. Sem a colaboração de vocês, este estudo não seria possível.

Que este trabalho possa contribuir de maneira significativa para o avanço do conhecimento em nossa área e para o bem da sociedade.

Obrigada!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – presença do segmento de β -globina humano.....	23
Figura 2 – Avaliação da presença viral nas amostras pela identificação do segmento de L1 do HPV.....	23
Figura 3 – Subtipos de HPV (HPV18 e HPV51) em gel de agarose a 2%.....	24
Figura 4 – Fragmentos gerados para o SNP de GSTP1.....	25
Figura 5 – Fragmentos Gerados Para O SNP De TNFA-308. Alelo A (184pb) - (A), Alelo G (184pb) - (B).....	26
Figura 6 – Fragmentos de TP53 gerados para Prolina (G) (177pb) e Arginina (C) (141pb).....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sequência de iniciadores empregados para avaliação dos segmentos gênicos da β -globina e L1 viral.....	22
Tabela 2 – Sequência de iniciadores empregados para determinar os genótipos de HR-HPV.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Arg (C) – Arginina

DNA – Ácido desoxirribonucleico

E – Early/Região precoce

EHW – Equilíbrio de Hardy-Weinberg

GSTP – Glutathione-S-Transferase Pi

GSTs – Glutathione-S-Transferases

HPV – Papilomavírus Humano

HR-HPV – High-Risk Human Papilomavírus (HPV de alto risco oncogênico)

IC – Intervalos de Confiança

Ile (A)– Isoleucina

IST – Infecção Sexualmente Transmissível

L – Late (Região tardia)

LCR – Long Control Region (Região regulatória)

LR-HPV – Low-Risk Human Papilomavírus (HPV de baixo risco oncogênico)

OR – Razão de Chance

ORF – Open Reading Frame (Região de leitura aberta)

p53 – proteína supressora de tumor

pRb – proteína retinoblastoma

Pro (G) – Prolina

SNP – Single Nucleotide Polymorphisms (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)

TCLE - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

TLR – Toll like receptor (Receptor do tipo Toll-Like)

TNFA – Fator de Necrose Tumoral do tipo alfa

TP53 – Gene Supressor de Tumor

UBS – Unidades Básicas de Saúde

UV – Ultravioleta

Val (G) – Valina

Infecção por Papilomavírus Humano e associação com os polimorfismos *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695) e *TNFA-308* (rs1800629)

Resumo

O Papilomavírus humano (HPV) é a infecção sexualmente transmissível (IST) mais comum na população, de acordo com seu potencial de infecção e de gerar lesões estes podem ser agrupados em alto e baixo risco oncogênico. Embora presente na quase totalidade dos casos de câncer cervical não é fator único para a doença, outras vertentes, como fatores genéticos do hospedeiro são associadas à suscetibilidade da doença, no entanto, pouco relacionada a infecção viral. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência dos subtipos de HPV de alto risco oncogênico (HR-HPV) e associação dos SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) de *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695) e *TNFA-308* (rs1800629) com a infecção viral. Para isso foi conduzida uma revisão sistemática da literatura e um estudo caso-controle, com 39 mulheres infectadas pelo HPV (casos) e 101 99 não infectadas (controles). Foi realizada a genotipagem para nove tipos de HPV de alto risco oncogênico (16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 58 e 66) e para os SNPs dos genes *TP53*, *GSTP1* e *TNFA-308* através da reação em cadeia da polimerase, sendo visualizadas as amplificações em gel de agarose a 2% e fotodocumentadas. Informações sociodemográficas, comportamentais e ginecológicas foram obtidas por questionário semiestruturado. As características gerais da população apontaram para um grupo de mulheres jovens, brancas, em união estável, com mais de oito anos de estudo e com baixa proporção de consumo de álcool e tabaco. Quanto aos subtipos virais o 16, 66, 18, 45 e 58 foram os mais frequentes. Em relação aos SNPs, para o SNP do *GSTP1* rs1695, dois controles não amplificaram fragmentos do gene, sendo analisados para tal, 39 casos e 99 controles, o genótipo AG do *GSTP1* rs1695 foi mais frequente, o alelo A (ancestral) (OR: 0,175; IC 95% 0,071-0,434; $p < 0,001$) e o genótipo AA (OR: 0,237; IC 95% 0,091-0,616; $p < 0,003$), apresentaram-se como fatores protetivos à infecção viral. Enquanto o alelo G caracterizou-se como fator de risco a infecção viral (OR: 4,22; IC 95% 1,623-10,989; $p < 0,003$), elevando em mais de 4 vezes a chance para infecção comparado aquelas com alelo A. Mulheres com genótipo AG tem quase 6 vezes mais chances de serem infectadas pelo HPV comparadas aos genótipos homocigotos, esse resultado, supõe que a presença do alelo G, em uma única cópia, é que pode favorecer a chance de

infecção viral. Os resultados para o *TNFA* rs1800629, mostraram maior prevalência do alelo ancestral (G). Para o *TP53* rs1042522 o alelo G (Arginina) também foi o mais frequente tanto nos casos quanto nos controles. Contudo, nenhuma associação, alélica e genotípica foi observada entre o rs1800629 e rs1042522 com a infecção viral.

Palavras-chave: Fator Alfa de Necrose Tumoral; Glutathione-S-Transferase; HPV de Alto Risco; Infecção Sexualmente Transmissível; Polimorfismo Genético.

Human Papillomavirus Infection and its Association with *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695), and *TNFA-308* (rs1800629) Polymorphisms

Abstract

Human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection (STI). Based on their potential to cause infection and lesions, HPV strains can be classified into high and low-oncogenic risk lesions. Although HPV is present in almost all cases of cervical cancer, it is not the sole factor involved in the development of this disease; other factors (e.g., host genetic factors) are associated with cervical cancer susceptibility, although they are less associated with HPV infection. The aim of this study was to determine the frequency of high-risk oncogenic HPV (HR-HPV) strains and the association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695), and *TNFA-308* (rs1800629) with HPV infection. A case-control study was conducted with 39 HPV-infected women (case group) and 101 uninfected women (control group). Genotyping was performed for nine HR-HPV types (namely, 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 58, and 66) and SNPs in the *TP53*, *GSTP1*, and *TNFA-308* genes by polymerase chain reaction. Amplification products were visualized on a 2% agarose gel and photographed. Sociodemographic, behavioral, and gynecologic information was obtained using a semistructured questionnaire. The study population consisted mainly of young, white women in stable relationships with at least eight years of education and low alcohol and tobacco consumption. Among the viral subtypes, the most common strains were 16, 66, 18, 45 and 58. The AG genotype of rs1695 was the most common SNP. The A (ancestral) allele (OR=0.175; 95% CI=0.071-0.434; $p < 0.001$) and the AA genotype (OR=0.237; 95% CI=0.091-0.616; $p < 0.003$) were found to be protective factors against HPV infection. However, the G allele was characterized as a risk factor for viral infection (OR: 4.22; 95% CI 1.623-10.989; $p < 0.003$) since it increases the risk of infection by more than 4-fold compared to the A allele. Compared with those with the homozygous genotype, women with the AG genotype have an almost 6-fold increased risk of HPV infection, which suggests that the presence of a single copy of the G allele may increase the risk of HPV infection. The results for rs1800629 showed a greater prevalence of the ancestral allele (G). For rs1042522, the G allele (arginine) was also the most common allele in both the cases and controls. However, no association, either allelic or genotypic, was observed between rs1800629 or rs1042522 and viral infection.

Keywords: Tumor Necrosis Factor-alpha; Glutathione Transferase; Human Papillomavirus; Sexually Transmitted Diseases; Polymorphism.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. OBJETIVOS	19
2.1 Geral.....	19
2.2 Específicos.....	19
3. METODOLOGIA	20
3.1 Delineamento da Revisão Sistemática da Literatura.....	20
3.2 População do estudo Caso-controle.....	21
3.3 Isolamento de DNA e Detecção do HPV.....	22
3.4 Genotipagem HR-HPV.....	23
3.5 Polimorfismo de Nucleotídeo Único dos genes <i>GSTP1</i> , <i>TNFA-308</i> e <i>TP53</i>	25
3.6 Análise estatística.....	27
4. REFERÊNCIAS	28
5 ARTIGO CIENTÍFICO 01	32
6. ARTIGO CIENTÍFICO 02	54
7. ANEXOS	72
ANEXO I.....	72
ANEXO II.....	73
ANEXO III.....	75
ANEXO IV.....	81

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Papilomavírus Humano (HPV) é responsável pela Infecção Sexualmente Transmissível (IST) mais comum no mundo, onde grande parte da população será infectada em algum momento da vida (Bosch *et al.*, 2008; Trottier *et al.*, 2010; Kombe Kombe *et al.*, 2021).

Ao que concerne os diferentes tipos de HPV estudados, estes podem ser agrupados em cinco gêneros filogenéticos - *Alphapapillomaviruses* (Alpha), *Mupapillomaviruses* (Mu), *Nupapillomaviruses* (Nu), *Betapapillomaviruses* (Beta) e *Gammapapillomaviruses* (Gama) (McBride, 2022). Seguindo a filogenia, os *Alphapapillomavirus* são os mais estudados devido à forte associação clínica (Lebeau *et al.*, 2022). Até o momento, cerca de 450 tipos de HPVs já foram isolados de uma ampla variedade de peixes, répteis, aves e mamíferos relatados na família *Papillomaviridae* e, mais de 200 deles infectam humanos (McBride, 2022; Lebeau *et al.*, 2022).

Morfologicamente, o HPV apresenta formato icosaédrico com aproximadamente 55nm de diâmetro e um genoma circular de DNA (ácido desoxirribonucleico) em dupla hélice com 8000 pares de base (8kb), envolto em proteínas do capsídeo viral (Leto *et al.*, 2011; Doorbar *et al.*, 2015; McBride, 2022).

A fita de DNA contém duas regiões, uma codificante e outra não-codificante (Nguyen; Ramírez-Fort; Rady, 2014), a região codificante também é conhecida como região de leitura aberta (*open reading frame* – ORFs), os genes presentes são encarregados pela transcrição de proteínas essenciais à regulação e replicação viral e manutenção do meio celular (Lebeau *et al.*, 2022). A região não codificante do genoma atua no controle da replicação e transcrição viral (Nguyen; Ramírez-Fort; Rady, 2014).

As ORFs recebem o desígnio de precoce e tardia, a região precoce (*early region*) – codifica os genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7, responsáveis por manutenção e controle do ciclo celular, transcrição e replicação viral. A tardia (*late* - genes L1 e L2) codificam proteínas estruturais do capsídeo, a região do genoma descrita como não codificante compreende a região regulatória (*long control region* – LCR ou *upstream regulatory region* – URR) (Camara *et al.*, 2003; Muñoz *et al.*, 2006; Leto *et al.*, 2011; Doorbar *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2015).

A região precoce tem suas funções bem definidas quanto aos produtos gênicos (proteínas expressas), E1 atua na replicação do HPV, E2 em conjunto com E1 desempenham funções na replicação e transcrição do DNA viral, além de regular a

expressão de E6 e E7, a proteína E4 é a mais abundante dentre as expressas e desempenha atividade na maturação e liberação das partículas virais (Doorbar *et al.*, 2015). Os genes E5, E6 e E7 atuam na transformação celular e na imortalização. E6 e E7 em específico estimulam a proliferação celular ao interagir com as proteínas celulares p53 (supressora de tumor) e pRb (retinoblastoma), cujas atividades estão envolvidas no controle da proliferação celular e supressão tumoral (Muñoz *et al.*, 2006; Leto *et al.*, 2011; Doorbar *et al.*, 2015; McBride, 2022).

Os genes da região tardia (L) codificam proteínas do capsídeo viral, L1 constitui a proteína mais abundante e de alta imunogenicidade do capsídeo (80% da composição) a proteína L2, em conjunto com L1 auxilia na incorporação do DNA viral dentro do vírion (Camara *et al.*, 2003; Tsakogiannis *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2019). A região regulatória, apesar de não ser bem conservada entre os HPVs e não codificar nenhuma proteína funcional, desempenha função direcionada à replicação viral e a expressão gênica no núcleo da célula hospedeira (Leto *et al.*, 2011).

Em relação aos tipos de HPV, estes podem ser enquadrados em alto e baixo risco oncogênico, com base na sequência do gene L1, cuja região difere entre os subtipos em pelo menos 10% da sequência de nucleotídeos. Essa característica determina a capacidade de infecção do trato anogenital e o tipo de lesão ocasionada (Camara *et al.*, 2003; Tsakogiannis *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2019).

O vírus é capaz de acometer o epitélio mucoso e cutâneo do hospedeiro, sua transmissão se dá por contato direto com a mucosa ou pele infectada, principalmente durante a relação sexual, podendo ainda ocorrer por outras formas como contato manual-genital, oral, fômites ou até mesmo durante o parto, por transmissão vertical (Brasil, 2014; Carvalho *et al.*, 2021). Ao adentrar no interior das células basais do epitélio do hospedeiro, o vírus promove o processo de ativação de genes virais, formação do capsídeo e a replicação viral (Silva *et al.*, 2015; Balasubramaniam *et al.*, 2019; McBride, 2022).

Os HPVs são agrupados em subtipos de alto e baixo risco oncogênico por sua capacidade de infecção e o tipo de lesão a ser gerada (Camara *et al.*, 2003; Tsakogiannis *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2019). Quanto ao comportamento viral na célula infectada, enquadram-se como alto risco oncogênico (*High-risk human papillomavirus* – HR-HPV) os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68, fortemente associados as lesões pré-neoplásicas e neoplasias cervicais (Muñoz *et al.*, 2006; Tsakogiannis *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2019). Subtipos considerados de baixo risco (*Low-risk human*

papilomavírus – LR-HPV) como os HPV's 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81 tendem a originar lesões verrucosas mantendo seu DNA em forma episomal não se integrando ao genoma do hospedeiro, diferentemente dos de alto risco (Muñoz *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2019).

Embora a infecção pelo HPV, na maioria dos casos, tenda a desaparecer entre seis meses e um ano, alguns tipos (HR-HPV) são capazes de ocasionar lesões cervicais podendo evoluir para neoplasias (Muñoz *et al.*, 2006; Lebeau *et al.*, 2020). Sabe-se que há presença de material genético viral na quase totalidade dos casos de câncer cervical (Sargent *et al.*, 2008; Doorbar *et al.*, 2015; Graham, 2017; Kombe Kombe *et al.*, 2020) e as principais variantes identificadas são dos subtipos 16, 18, 31, 51 e 52 (Sargent *et al.*, 2008; Wendland *et al.*, 2020).

É consenso, que a presença do HPV constitui fator importante, mas insuficientemente capaz de ser a única causa para neoplasias cervicais (McBride, 2022). O vírus pode ser detectado em mulheres que apresentem citopatológico (exame Papanicolau) dentro da normalidade, além do que, não obrigatoriamente em todas as infecções, haverá lesões características na pele ou mucosas (Nartey *et al.*, 2023).

Outros fatores estão positivamente associados tanto a presença da IST quanto a evolução à carcinogênese cervical. Esses podem ser enquadrados em fatores exógenos/ambientais (tabaco, álcool, contraceptivos, outras ISTs), os relacionados ao vírus (subtipos, tempo de infecção) e vinculados ao hospedeiro (caracteres socioeconômicos, acesso à informação e serviços de saúde, comportamentos sexuais, paridade, aspectos imunológicos e genéticos) (Muñoz *et al.*, 2006; Tay; Oon, 2014; Campos *et al.*, 2018; Simões; Zanusso Junior, 2019; Guedes *et al.*, 2020; Mangieri *et al.*, 2023). Uma vertente que vem sendo explorada no hospedeiro são os polimorfismos de nucleotídeo único (*Single nucleotide polymorphism* – SNPs), que compreendem a variações na sequência de DNA e ocorrem pontualmente em locais de relevância do genoma (Deng *et al.*, 2017; Shao *et al.*, 2021).

SNPs podem alterar a função e expressão de genes importantes levando a aumento da suscetibilidade, evolução e prognóstico de diversas patologias, incluindo as infecções virais (Deng *et al.*, 2017; Sud; Kinnersley; Houlston, 2017; Oliveira; Boery, 2018; Jakovljevic *et al.*, 2019). SNPs localizados em éxons (regiões codificadoras) são distinguidos como SNPs sinônimos e não sinônimos com base em sua capacidade de substituição do aminoácido codificado (Deng *et al.*, 2017). SNPs sinônimos (silenciosos) não alteram a sequência do aminoácido codificado, mas podem interferir na expressão do

gene resultando em redução da atividade enzimática proteica (Deng *et al.*, 2017). Os SNPs não sinônimos são divididos em missense ou nonsense e ao substituir os aminoácidos podem modificar a estrutura proteica e, conseqüentemente, suas funções e vias de sinalização celular (Tennesen *et al.*, 2012). São exemplos de SNPs não sinônimos os que acontecem no gene supressor tumoral TP53 (Arg72Pro) (Van Oijen; Slootweg, 2000).

SNPs apresentam importante influência na função e expressão gênica contribuindo para a carcinogênese (Deng *et al.*, 2017; Sud; Kinnersley; Houlston, 2017). Já se tem conhecimento sobre mais de 450 SNPs cuja interação elevam à suscetibilidade a diferentes tipos de câncer, por estarem relacionados a mecanismos como reparo do DNA e do ciclo celular, com a imunidade e metabolismo (Sud; Kinnersley; Houlston, 2017). Além das neoplasias, SNPs também são estudados associados a uma gama de quadros clínicos, como diabetes (Azarova *et al.*, 2018; Montazeri-Najafabady *et al.*, 2022), síndrome metabólica (Oliveira; Boery, 2018), pré-eclâmpsia (Jakovljevic *et al.*, 2019) e transtorno de bipolaridade (Nursal *et al.*, 2020).

O SNP do gene *TP53* conhecido como supressor tumoral (rs1042522), é estudado em diferentes tipos de câncer, a função do gene em condições normais é inibir a proliferação celular parando o ciclo celular, induzindo a apoptose das células alteradas, em resposta a radiação, hipóxia ou infecção viral (Anschau *et al.*, 2005; Michopoulou *et al.*, 2014). A proteína E6 do HPV pode bloquear o controle celular realizado pela p53, ou então, interagir com a proteína e promover sua degradação. Essa condição leva a ausência da inibição da apoptose e desregulação do ciclo celular, com isso as células infectadas pelo vírus continuam se proliferando (Malisic *et al.*, 2013; Michopoulou *et al.*, 2014; Isakova *et al.*, 2019; Mostaid *et al.*, 2021).

De maneira semelhante, SNPs em genes de citocinas podem moldar a regulação e transcrição gênica das mesmas. O SNP do TNFA-308 (rs1800629) tem sido associado ao desenvolvimento de câncer cervical em algumas populações possivelmente por culminar na imunomodulação da inflamação frente a infecção pelo HPV, mas ainda não foi descrito relação com a suscetibilidade à IST (Du *et al.*, 2019). Outros SNPs, como das glutationas-S-transferase (*GST's*) já foram associados a doenças causadas por agentes virais e o risco para a infecção, incluindo o HPV (Aguiar *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2019; Bortolli *et al.*, 2022). Visto que uma gama de compostos tóxicos pode contribuir para a carcinogênese, enzimas de desintoxicação como as *GST's* reduzem essa chance metabolizando-os. Existem sítios polimórficos que abarcam genes de relevância para tal, como o *GSTP1*

(rs1695) onde a variação alélica (A>G) reduz sua atividade na inativação de agentes mutagênicos, permitindo a sensibilização celular por radicais livres, o que explica o envolvimento da enzima na suscetibilidade ao câncer (Parl, 2005; Ansolin; Damin; Alexandre, 2010; Elhoseiny *et al.*, 2014).

Estudos que investiguem a relação da suscetibilidade da infecção pelo HPV com SNPs com funções associadas a supressão tumoral como na proteína p53, da expressão de citocinas pró-inflamatórias como o gene *TNFA* ou associadas a metabolização de compostos prejudiciais ao organismo como os SNPs das *GST's*, ainda são escassos e trazem resultados conflitantes entre si. Tendo em vista que a exposição a alguns agentes cancerígenos e a predisposição genética do indivíduo podem contribuir para a infecção pelo HPV são necessárias investigações diante desse tema.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a frequência dos subtipos de HPV de alto risco oncogênico (HR-HPV) e associação dos SNPs de *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695), e *TNFA-308* (1800629) com a infecção viral.

2.2 Específicos

- Analisar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, a interação entre os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) dos genes *TP53* (rs1042522), *TNFA-308* (rs1800629) e *GSTP1* (rs1695), infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) e a susceptibilidade ao câncer cervical;
- Caracterizar os casos e controles quanto aos aspectos sociodemográficos, comportamentais e ginecológicos na população do estudo;
- Estimar a frequência dos subtipos HR-HPV e de coinfeção por mais de um genótipo;
- Determinar as frequências alélicas e genotípicas dos SNPs de *TP53* (rs1042522), *GSTP1* (rs1695), e *TNFA-308* (1800629) na população do estudo;
- Verificar possíveis associações e fatores de risco entre os SNPs e a presença da infecção viral e com os subtipos de HR-HPV.

3. METODOLOGIA

3.1 Delineamento da Revisão Sistemática da Literatura

Foi conduzido um estudo de caráter qualitativo, do tipo revisão sistemática de literatura, seguindo os preceitos dos Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (PRISMA). A busca pelas publicações foi conduzida em bases de dados eletrônicas de abrangência para o campo da saúde, incluindo PubMed, BVS (Biblioteca Virtual em Saúde) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*). Entre o período de março de 2022 a dezembro de 2023, englobando publicações referentes aos últimos dez anos.

Os termos de busca utilizados foram selecionados com base em palavras-chave dos descritores de saúde (DeCS) e pelo vocabulário controlado hierárquico (MESH – *Medical Subject Heading*), relacionadas ao HPV, câncer cervical e os polimorfismos genéticos específicos (*TNFA-308*, *GSTP1* e *TP53*). Diante da dificuldade de encontrar os respectivos polimorfismos associados em conjunto, e buscando maximização e especificidade da busca, foi realizada combinação e/ou alternância de termos com os descritores: (HPV, CERVICAL CANCER, *TNFA-308*); (HPV, *TP53*, SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORFISM); (HPV, CERVICAL CANCER, GLUTATHIONE S-TRANSFERASE, *GSTP1*), acrescidos do operador booleano AND.

Alguns critérios de inclusão foram estabelecidos visando selecionar publicações relevantes para a interação entre HPV, câncer cervical e os SNPs de interesse (*GSTP1*, *TNFA-308* e *TP53* identificados respectivamente pelo rs1695, rs1800129 e rs1042522). Além disso, pesquisamos manualmente listas de referências de todos os artigos identificados para inclusão de mais dados. Foram incluídos somente aqueles estudos contendo população composta por mulheres com diagnóstico positivo para HPV em estudos de caso-controle ou transversais. Sendo excluídas publicações duplicadas entre as bases de dados, qualidade metodológica questionável ou publicadas há mais de dez anos.

Para seleção dos estudos foram empregadas duas etapas, na primeira os títulos e resumos foram revisados independentemente para avaliar sua relevância inicial. Na segunda etapa, todos os selecionados foram avaliados na íntegra para posteriormente ser então incluído considerando os critérios previamente estabelecidos, visando maior rigor entre as informações, todas as etapas foram realizadas por um grupo de três pesquisadores.

3.2 População do estudo Caso-controle

Pesquisa do tipo caso-controle, na proporção um caso para até três controles, com mulheres da faixa etária entre 18 e 74 anos, usuárias do serviço de saúde do município de Francisco Beltrão – PR, que procuraram o referido serviço para consulta ginecológica em Unidades Básicas de Saúde (UBS). Os casos foram compostos por 39 mulheres com a presença de HPV em amostras do colo uterino e os controles totalizaram 101 mulheres com ausência do vírus. Elas foram pareadas por idade variando até três anos para mais ou menos. O critério principal de inclusão das participantes no estudo foi ter tido a primeira relação sexual e foram excluídas aquelas na condição de gestante. Todas as participantes foram informadas sobre os objetivos da pesquisa, aquelas que concordaram em participar assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Anexo I) para serem incluídas no estudo.

Cada participante passou por entrevista semiestruturada, de forma individual, seguindo um questionário estruturado a partir de outros validados (Nonnenmacher *et al.*, 2002; Parreira, 2009; Oliveira *et al.*, 2013; Treco *et al.*, 2021; Bortolli *et al.*, 2022) (Anexo II). Deste instrumento foram obtidas informações socioeconômicas (Idade, escolaridade, estado civil, raça), de comportamento sexual e ginecológico (Idade da primeira relação sexual, número de parceiros sexuais na vida, paridade, passado de infecção ginecológica, resultado do Papanicolau) e hábitos de vida (consumo de tabaco, álcool, uso de preservativo).

A participante passou pela consulta de enfermagem na unidade de saúde, onde foram coletadas amostras para a realização do exame citopatológico Papanicolau conforme recomendação do Ministério da Saúde. As escovas endocervicais utilizadas (tipo *endobrush*), foram acondicionadas em microtubos de 2ml ou tubos do tipo Falcon, contendo 2ml de soro fisiológico e armazenadas em congelador a -20°C. Posteriormente, foi feita a extração de material genético, identificação e genotipagem viral e, determinação dos SNPs. Todas as etapas foram realizadas no laboratório de Biologia Molecular e Citogenética Humana da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), campus de Francisco Beltrão – PR.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) através do parecer nº 2.254.450 e CAAE: 72983817.5.0000.0107. Após receberem informações sobre a

pesquisa, as mulheres que concordaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Anexo I) para serem incluídas no estudo.

3.3 Isolamento de DNA e Detecção do HPV

Foi retirado da amostra original uma alíquota de 200µl para isolamento do material genético total, de acordo com o protocolo de extração e purificação proposto pelo fabricante “Kit para Extração e Purificação de DNA Colunas de Sílica” (Nova Biotecnologia, São Paulo, Brasil) e estocado em freezer a -20°C. Para determinar a qualidade da extração, todas as amostras tiveram um segmento de 268pb do gene β-globina humano sintetizado, a partir dos *primers* GH20 e PCO4 (Saiki *et al.*, 1985; Trugilo *et al.*, 2019). Para a detecção molecular do HPV, foram utilizados *primers* específicos para síntese *in vitro* da região codificadora do gene L1 do vírus, a partir dos iniciadores MY09 e MY11(Tabela 1), obtendo um fragmento de aproximadamente 450pb.

Tabela 1 – Sequência de iniciadores empregados para avaliação dos segmentos gênicos da β-globina e L1 viral

Segmento gênico	Primers	Sequência 5' – 3'	Amplicon
β-globina humano	GH20 PCO4	GAAGAGCCAAGGACAGGTAC CAACTTCATCCACGTTACC	268pb
L1 do HPV	MY09 MY11	CGTCCMAARGGAWACTGATC GCMCAGGGWCATAAYAATGG	450pb

Fonte: Saiki *et al.*, 1985; Trugilo *et al.*, 2019.

As amplificações foram processadas em termociclador *Applied Biosystems Veriti Thermal Cycler (ThermoFisher Scientific, Germany)*, seguindo as etapas: 10min a 94°C, seguida por 37 ciclos de 1 min a 94°C; 1min a 55°C e 1 min a 72°C; finalizando com extensão por 10 min a 72°C (Saiki *et al.*, 1985; Jesus *et al.*, 2018, Trugilo *et al.*, 2019). Foi tomado como controle positivo da detecção viral, a inclusão de uma amostra de DNA de células HeLa, a qual contem o genoma do HPV 18 inserido no seu. Todos os amplicons foram separados via eletroforese em gel de agarose 2%, sob uma diferença de potencial de 150 volts por meia hora, visualizado sob luz ultra-violeta (UV) e fotodocumentados (Figuras 1 e 2).

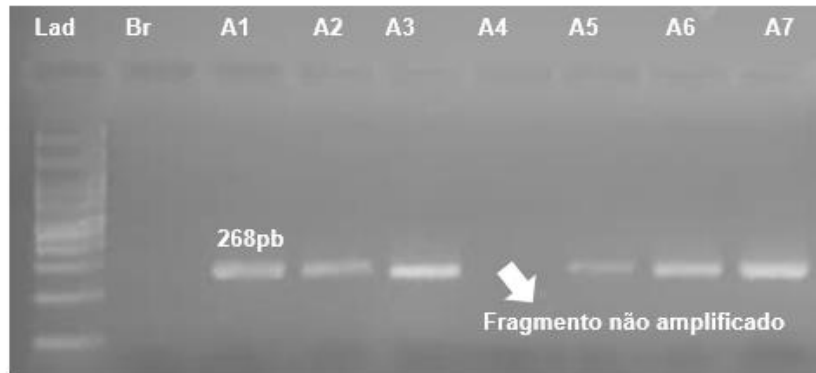


Figura 1 – presença do segmento de β -globina humano. Visualização em gel de agarose a 2% do segmento gênico contendo 268pb, nas amostras A1-A3 e A5-A7, não tendo amplificação em A4.

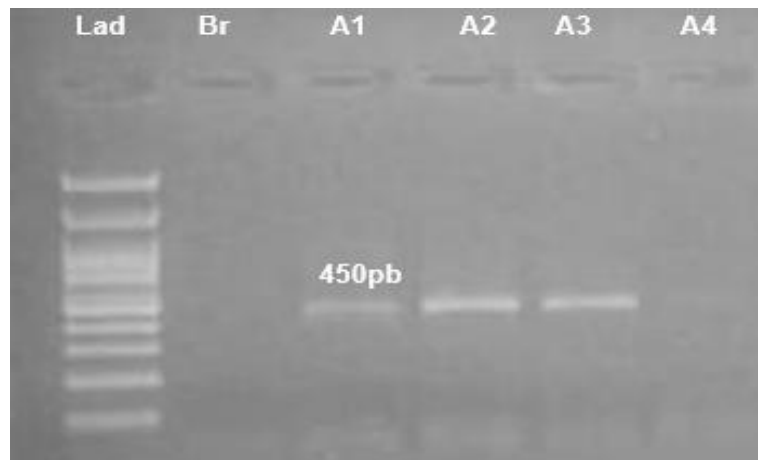


Figura 2 – Avaliação da presença viral nas amostras pela identificação do segmento de L1 do HPV

3.4 Genotipagem HR-HPV

Foram genotipados por meio de PCR multiplex nove subtipos de HR-HPV: 16, 18, 45, 35, 66, 33, 51, 58 e 31 do HPV a partir da região L1 do genoma viral. Conforme o proposto por Tsakogiannis *et al.* (2015), organizaram-se três multiplex diferentes, contendo três pares de *primers* em cada uma (Tabela 2). Cada multiplex foi preparado de modo que cada *amplicon* fosse diferente em tamanho molecular ao menos em 25pb, para facilitar a identificação na eletroforese em gel de agarose. Alguns dos fragmentos que foram gerados podem ser observados na Figura 6.

A multiplex I continha os genótipos HR-HPV 16, 45 e 66, enquanto o mix para as reações II e III continham os genótipos HR-HPV 18, 33, 35 e HR-HPV 31, 51 e 58, respectivamente. O protocolo de ciclagem foi realizado seguindo as etapas: 95°C por 30seg, seguida por 40 ciclos de 60seg a 95°C; 50seg a 58°C e 10seg a 72°C; finalizando com um período de incubação de 1min a 72°C. Por fim, as amostras foram avaliadas em

gel de agarose a 2% após 30 min de corrida em um transiluminador UV com os registros fotodocumentados (Figura 3).

Tabela 2 – Sequência de iniciadores empregados para determinar os genótipos de HR-HPV

Multiplex I	Sequência 5' – 3'	Amplicon
HPV-16 F	CACTATTTTGGAGGACTGGAAT	291pb
HPV-16 R	GATGAGGTGGTGGGTGTAGC	
HPV -45 F	TTTTATCATGCAGGCAGTTCC	233pb
HPV-45R	CCACGACCAATTTCCATACC	
HPV-66F	CGCCGTAAACGTATTCCCTA	168pb
HPV-66R	CCAACAGCAAGCAACCTAGA	
Multiplex II	Sequência 5' – 3'	Amplicon
HPV-18F	GCCCCTGCCTCTACACAGTA	292pb
HPV-18R	ATCCTGCTTATTGCCACCAC	
HPV-33F	TAACACCTCCTCCATCTGCT	202pb
HPV-33R	CCTGCCTGTAATAAAAACTTGC	
HPV-35F	GTAGGTCGTGGTCAGCCATT	227pb
HPV-35R	TGGTTAGCATTACAAGGTGTGC	
Multiplex III	Sequência 5' – 3'	Amplicon
HPV-31F	CAACGTGCTCAGGGACAC	291pb
HPV-31R	GGGAGGTGTGGTCAATCC	
HPV-51F	TCCAATACCTAAAACCTCAACG	155pb
HPV-51R	CACAACCCCACACCAACCTA	
HPV-58F	GATTTGTTACCTCCCAGGCTATT	233pb
HPV-58R	CTTTTTGCGTTTGGTGGATG	

Fonte: Tsakogiannis et al (2015).

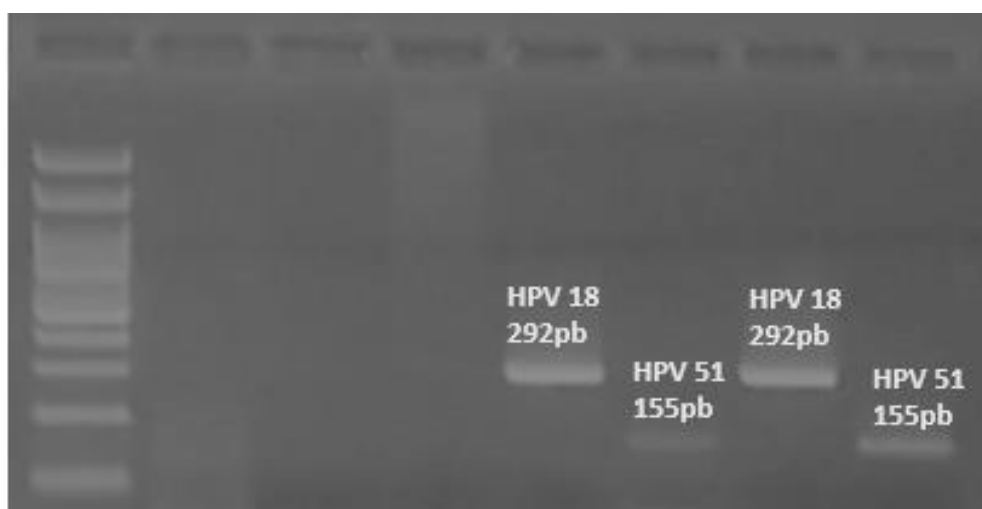


Figura 3 – Subtipos de HPV (HPV18 e HPV51) em gel de agarose a 2%

3.5 Polimorfismo de Nucleotídeo Único dos genes *GSTP1*, *TNFA-308* e *TP53*

O método T-ARMS-PCR (*tetra amplification refractory mutation system*) baseado no protocolo de Hashemi *et al.* (2012), foi utilizado para genotipar o SNP de *GSTP1* (rs1695). Os pares de iniciadores foram: *forward* outer 5'-CAGGTGTCAGGTGAGCTCTGAGCACC-3' e *reverse* outer 5'-ATAAGGGTGCAGGTTGTGTCTTGTCCCA-3' para o alelo A (Ile) e *forward inner* A/Ile 5'-CGTGGACCTCCTCCGCTGCAAATCCA-3' e *reverse Inner* 5'-GCTCACATAGTTGGTGTAGATGAGGGATAC-3' para o alelo G (Val). As etapas de ciclagem incluíram: desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguindo para 30 ciclos de 95°C por 35 segundos, 62°C por 35 segundos, 72°C por 50 segundos, finalizando a 72°C por 10 minutos. Os amplicons gerados foram de 233pb para o alelo A, 290pb para o alelo G e 467pb para *primers* externos, ou ditas como banda controle (Figura 4).

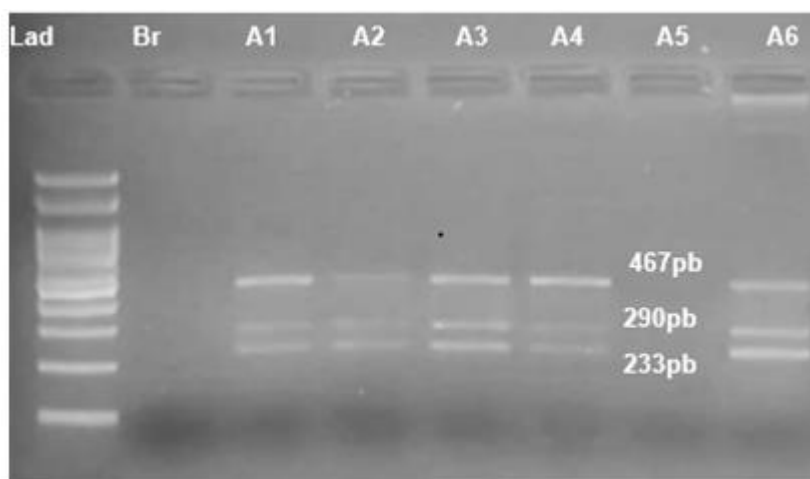
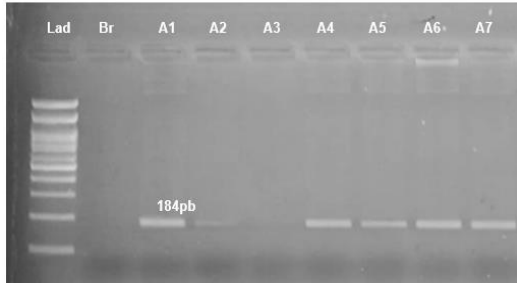


Figura 4 – Fragmentos gerados para o SNP de *GSTP1*. Alelo A (233pb), Alelo G (290pb) e banda controle (467pb). Em todas as amostras estão presentes os três fragmentos gênicos gerados na avaliação do SNP de *GSTP1*.

Os SNPs de *TNFA-308* e *TP53*, tiveram as amostras processadas, entretanto os resultados não serão discutidos neste trabalho. O SNP *TNFA-308* (rs1800629) foi investigado empregando os seguintes pares de iniciadores *Forward* comum 5'-TCTCGGTTTCTTCTCCATCG – 3', *Reverse* para Alelo A 5' – ATAGGTTTTGAGGGGCATGA – 3' e *Reverse* para Alelo G 5' - ATAGGTTTTGAGGGGCATGG – 3'. A ciclagem empregada foi desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos, seguindo para 30 ciclos de 95°C por 15 segundos, 65°C por 50 segundos, 72°C por 1 minuto, finalizada a 72°C por 5 minutos (Ahmed *et al.*, 2020). Por

amplificarem segmentos de mesmo tamanho (184pb – representados na Figura 5), o SNP foi avaliado duas vezes em cada amostra, uma vez que cada participante pode apresentar genótipo homozigoto ou heterozigoto.

a) Alelo A



b) Alelo G

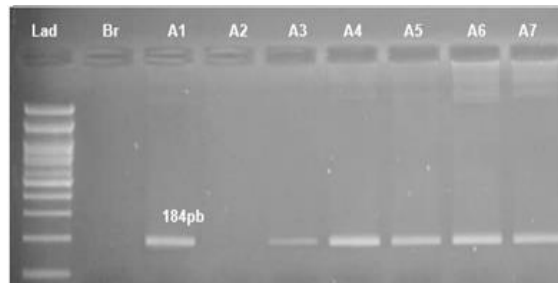


Figura 5 – Fragmentos Gerados Para O SNP De TNFA-308. Alelo A (184pb) - (A), Alelo G (184pb) - (B). A figura a, representa o fragmento do alelo A nas amostras A1, A2, A4, A5, A6 e A7 e ausência na amostra A3. Enquanto na figura b, o alelo G está presente em A1, A3, A4, A5, A6 e A7 e ausente em A2.

Para o SNP de *TP53* (rs1042522) foi empregado os seguintes pares de iniciadores para Arg (C) *Forward* 5'-TCCCCTTGCCGTCCCAA-3', Arg (C) *Reverse* 5'-CTGGTGCAGGGGCCACGC -3' e Pro (G) *Forward* 5'-GCCAGAGGCTGCTCCCCC-3' e Pro (G) *Reverse* 5'-CGTGCAAGTCACAGACTT -3'. A amplificação para ambos os alelos seguiu o proposto por Makni *et al.* (2000). Para a ciclagem incluiu desnaturação a 94°C por 2 min; seguida por 35 ciclos de 94°C por 45 segundos, 55°C por 1 minuto e 72°C for 1 minuto e meio, por fim o processo foi finalizado a 72°C por 10 min. Os fragmentos de Pro, foram amplificados com desnaturação a 94°C por 2 min; seguida por 25 ciclos de 94°C por 1 minuto, 59°C por 1 minuto e 72°C for 1 minuto, finalizando na temperatura de 72°C durante 10 min. Para o aminoácido Arg os fragmentos gerados foram de 141pb e para Pro 177pb (Figura 6).

A avaliação dos fragmentos foi determinada pela migração dos produtos em um gel de agarose a 2% e posteriormente visualização em um transiluminador de luz UV, tendo todos os resultados fotodocumentados.

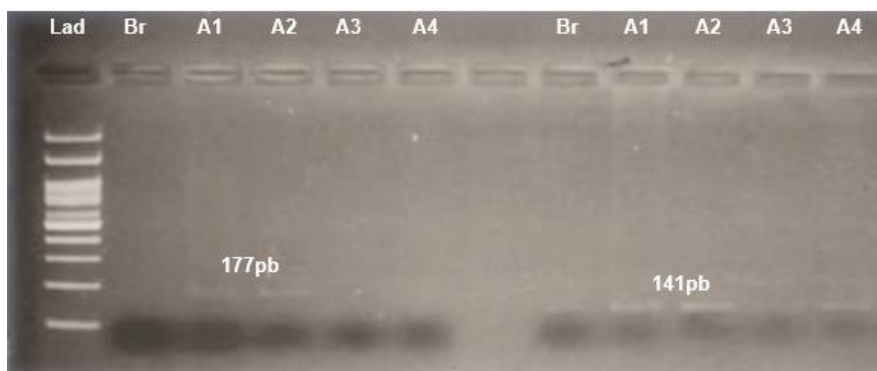


Figura 6 – Fragmentos de TP53 gerados para Prolina (G) (177pb) e Arginina (C) (141pb). Amplificação de TP53 (G) a direita nas amostras A1 e A2 e de TP53 (C) a esquerda nas quatro amostras.

3.6 Análise estatística

Os dados foram tabulados e analisados no software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 24.0. Foi determinado a frequência absoluta e relativa das variáveis para caracterizar os casos e os controles, bem como a determinação das frequências alélicas e genóticas e verificado o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) pelo teste Qui-quadrado (X^2) para os SNPs. As variáveis independentes selecionadas com valor de $p < 0,20$ seguiram para análise de regressão logística e determinação da razão de chance (OR) considerando $p < 0,05$ e intervalos de confiança (IC) de 95%.

4. REFERÊNCIAS

- AGUIAR, E. S. DE *et al.* GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms, breast cancer risk factors and mammographic density in women submitted to breast cancer screening. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 15, n. 2, p. 246–255, 2012.
- ANSCHAU, F. *et al.* Associação entre o polimorfismo no códon 72 da p53 e as lesões pré-malignas e malignas cervicais. **Rev. Bras. de Ginecol. e Obstet.**, v. 27, n. 10, 2005.
- ANSOLIN, P. L.; DAMIN, D. C.; ALEXANDRE, C. O. P. Polimorfismos das isoformas M1, T1 e P1 da glutathione S-transferase e associação com os aspectos clínico-patológicas no carcinoma colorretal. **Rev. Bras. Coloproctol.**, v. 30, n. 3, p. 281–288, 2010.
- AZAROVA, I. *et al.* Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interactions in disease susceptibility. **J. Diabetes.**, v. 10, n. 5, p. 398–407, 2018.
- BALASUBRAMANIAM, S. D. *et al.*, Key Molecular Events in Cervical Cancer Development. **Medicine**, n. 55, v.7, 2019.
- BORTOLLI, A. P. R. *et al.* GSTT1 and GSTM1 polymorphisms with human papillomavirus infection in women from southern Brazil: a case–control study. **Mol. Bio. Rep.**, v. 49, n. 7, p. 6467–6474, 2022.
- BOSCH, F. X. *et al.* Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type-Specific Implications in Cervical Neoplasia. **Vaccine**, v. 26, p. K1–K16, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia Prático sobre o HPV: Guia de Perguntas e Respostas para os profissionais de Saúde.** Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 44p.
- CAMARA, G. N. N. L. *et al.* Os papilomavírus humanos – HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. **Univ. Ci. Saúde** – v.1, n .01. 149-158, 2003.
- CAMPOS, A. A. L. *et al.* Fatores Associados ao Risco de Alterações no Exame Citopatológico do Colo do Útero, **Recom.** v. 8, n. 2330, 2018.
- DENG, N. *et al.* Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility. **Oncotarget**, v. 8, n. 66, p: 110635-110649, 2017.
- DOORBAR, J. *et al.* Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Rev. Med. Virol.**, v. 25, n. S1, p. 2–23, 2015.
- DU, G. H. *et al.* Genetic polymorphisms in tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 are associated with an increased risk of cervical cancer. **Int. Immunopharmacol.**, v. 66, p. 154–161, 2019.
- ELHOSEINY, S. *et al.* GSTP1 (Ile105Val) Gene Polymorphism: Risk and Treatment Response in Chronic Myeloid Leukemia. **J. Cancer Ther.**, v. 05, n. 01, p. 1–10, 2014.
- GRAHAM, S. V. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. **Clin. Sci**, v. 131, n. 17, p. 2201-2221, 2017.

GUEDES, D. H. S. *et al.* Factors associated to the human papillomavirus in women with cervical cancer. **Rev Rene**, v. 21, p. e43681, 2020.

ISAKOVA, J. *et al.* TP53 Codon 72 Polymorphism and Human Papilloma Virus-Associated Cervical Cancer in Kyrgyz Women. **Asian Pac. J. Cancer Prev.**, v. 20, n. 4, p. 1057–1062, 2019.

JAKOVLJEVIC, T. *et al.* Glutathione-S-transferase M1 polymorphism and pro-inflammatory cytokines tumour necrosis factor- α and interleukin-1 β are associated with preeclampsia in Serbian women. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 81, n. 5, p. e13105, 2019.

KOMBE KOMBE, A. J. *et al.* Epidemiology and Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases, Molecular Pathogenesis, and Vaccine Evaluation. **Front. Public Health**, v. 8, p. 552028, 2021.

LEBEAU, A. *et al.* HPV infection alters vaginal microbiome through down-regulating host mucosal innate peptides used by Lactobacilli as amino acid sources. **Nat. Commun.**, v. 13, n. 1, p. 1076, 2022.

LETO, M. DAS G. P. *et al.* Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 2, p. 306–317, 2011.

MA, B. *et al.* A simple and efficient method for potential point-of-care diagnosis of human papillomavirus genotypes: combination of isothermal recombinase polymerase amplification with lateral flow dipstick and reverse dot blot. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 411, n. 28, p. 7451–7460, 2019.

MALISIC, E. *et al.* TP53 codon 72 polymorphism and risk of cervical carcinoma in Serbian women. **Arch. Gynecol. Obstet.**, v. 288, n. 3, p. 621–625, 2013.

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, 2023.

MCBRIDE, A. A. Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions. **Nat. Rev. Microbiol.** v. 20, n. 2, p. 95–108, 2022.

MICHOPOULOU, V. *et al.* Detection of human papillomavirus (HPV) DNA prevalence and p53 codon 72 (Arg72Pro) polymorphism in prostate cancer in a Greek group of patients. **Tumor Biol**, v. 35, n. 12, p. 12765–12773, 2014.

MONTAZERI-NAJAFABADY, N. *et al.* The impact of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on susceptibility to gestational diabetes in Iranian population. **J. Matern-Fetal Neonatal Med.**, v. 35, n. 8, p. 1451–1456, 2022.

MOSTAID, M. S. *et al.* Elevated serum expression of p53 and association of TP53 codon 72 polymorphisms with risk of cervical cancer in Bangladeshi women. **PLOS ONE**, v. 16, n. 12, p. e0261984, 2021.

MUÑOZ, N. *et al.* Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, v. 24, p. S1–S10, ago. 2006.

NARTEY, Y. *et al.* Human papillomavirus genotype distribution among women with and without cervical cancer: Implication for vaccination and screening in Ghana. **PLOS ONE**, v. 18, n. 1, p. e0280437, 2023.

NGUYEN, H. P.; RAMÍREZ-FORT, M. K.; RADY, P. L. The Biology of Human Papillomaviruses. Em: RAMÍREZ-FORT, M. K. *et al.* (Eds.). **Curr. Probl.** [s.l.] S. Karger AG, v. 45, p. 19–32, 2014.

NURSAL, A. F. *et al.* TNF- α -308 G/A variant may be associated with bipolar disorder in a Turkish population. **Arch. Clin. Psychiatry (São Paulo)**, v. 47, n. 6, 2020.

OLIVEIRA, J. S.; BOERY, R. N. S. O. Associação de variantes polimórficas com síndrome metabólica: uma revisão integrativa. **J. Vasc. Bras.**, v. 17, n. 2, p. 141–147, 2018.

PARL, F. F. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. **Cancer Lett**, v. 221, n. 2, p. 123–129, 2005.

SARGENT, A. *et al.* Prevalence of type-specific HPV infection by age and grade of cervical cytology: data from the ARTISTIC trial. **Br. J. Cancer**, v. 98, n. 10, p. 1704–1709, 2008.

SHAO, W. *et al.* Polymorphism rs2682818 participates in the progression of colorectal carcinoma via miR-618-TIMP1 regulatory axis. **Sci. Rep.**, v. 11, n. 1, p. 23186, 2021.

SILVA, E. R. *et al.*, Diagnóstico molecular do papilomavírus humano por captura híbrida e reação em cadeia da polimerase. **Femina**, v. 43, n. 4, p. 181-4, 2015.

SIMOES, L. P.; ZANUSSO JUNIOR, G. Vírus HPV e o Desenvolvimento De Câncer de Colo de Útero – Uma Revisão Bibliográfica. **Revista Uningá**, [S.l.], v. 56, n. 1, p. 98-107, mar. 2019. ISSN 2318-0579. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uninga/article/view/2243>>. Acesso em: 18 mai 2022.

SKEVAKI, C. *et al.* Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious diseases. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 180, n. 2, p. 165–177, 2015.

SUD, A.; KINNERSLEY, B.; HOULSTON, R. S. Genome-wide association studies of cancer: current insights and future perspectives. **Nat. Rev. Cancer**, v. 17, n. 11, p. 692–704, 2017.

TAY, S. K.; OON, L. L. E. Prevalence of cervical human papillomavirus infection in healthy women is related to sexual behaviours and educational level: a cross-sectional study. **Int. J. STD AIDS**, v. 25, n. 14, p. 1013–1021, 2014.

TENNESSEN, J. A. *et al.* Evolution and Functional Impact of Rare Coding Variation from Deep Sequencing of Human Exomes. **Science**, v. 337, n. 6090, p. 64–69, 2012.

TIAN, S. *et al.* Polymorphic variants conferring genetic risk to cervical lesions support GSTs as important associated loci. **Medicine**, v. 98, n. 41, p. e17487, 2019.

TROTTIER, H. *et al.* Human Papillomavirus Infection and Reinfection in Adult Women: the Role of Sexual Activity and Natural Immunity. **Cancer Res.**, v. 70, n. 21, p. 8569–8577, 2010.

TSAKOGIANNIS, D. *et al.* Multiplex PCR assay for the rapid identification of human papillomavirus genotypes 16, 18, 45, 35, 66, 33, 51, 58, and 31 in clinical samples. **Arch. Virol.**, v. 160, n. 1, p. 207–214, 2015.

VAN OIJEN MG, SLOOTWEG PJ. Gain-of-function mutations in the tumor suppressor gene p53. **Clin. Cancer. Res**, v. 6, n. 6, p. 2138-45, 2000.

WENDLAND, E. M. *et al.* Prevalence of HPV infection among sexually active adolescents and young adults in Brazil: The POP-Brazil Study. **Sci. Rep**, v. 10, n. 1, p. 4920, 2020.

5 ARTIGO CIENTÍFICO 01

EXPLORANDO OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE *TP53*, *TNFA-308* E *GSTP1*: SUSCEPTIBILIDADE A INFECÇÃO POR HPV E CARCINOGENESE CERVICAL

Resumo

Este artigo de revisão sistemática buscou proporcionar uma análise aprofundada sobre a interação entre os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) dos genes *TP53* (rs1042522), *TNFA-308* (rs1800629) e *GSTP1* (rs1695), infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) e a suscetibilidade ao câncer cervical, em bases de dados de relevância para o campo da saúde. Foram incluídas nesta revisão 14 publicações dos últimos dez anos, dos tipos caso-controle ou transversais. Destes, cinco estudos caso-controle foram realizados com foco para *TP53*, quatro para o gene *TNFA-308* e dois para *GSTP1*, os três estudos transversais incluídos, abordaram cada um, um dos genes, ou um deles em associação com outros. A somatória de dois ou mais dos SNPs aqui estudados (rs1042522, rs1800629 e rs1695) não foi encontrada em nenhum estudo elencado. Ao examinar a literatura recente, identificamos que SNPs em genes de importância para o reparo do DNA, regulação da apoptose e da resposta inflamatória são fatores cruciais na infecção pelo HPV que tem os subtipos virais 16 e 18 como os mais referidos e associados à carcinogênese cervical. Em relação a análise dos SNPs, houve escassez de estudos nos últimos anos com foco na IST e câncer cervical, apresentando resultados conflitantes em diferentes populações. Para o rs1695 foi evidenciado tanto risco, quanto proteção ao câncer para suas variações. Para o SNP rs1800629 foi identificado, em um único estudo, o alelo G como fator favorável à infecção viral e os genótipos AA e AG como contribuintes ao risco de câncer. O rs1042522 demonstrou associação genotípica significativa ao risco de câncer para as três formas (AG, AA e GG), mas não a infecção viral.

Palavras-chave: Citocinas; Glutathione; Infecções Sexualmente Transmissíveis; Neoplasias do Colo Uterino; Polimorfismo de Nucleotídeo Único.

EXPLORING THE GENETIC POLYMORPHISMS OF *TP53*, *TNFA-308* AND *GSTP1*: SUSCEPTIBILITY TO HPV INFECTION AND CERVICAL CARCINOGENESIS

Abstract

This systematic review article sought to provide an in-depth analysis of the interaction between Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) of the *TP53*, *TNFA-308* and *GSTP1* genes, Human Papillomavirus (HPV) infection and susceptibility to cervical cancer, in relevant databases. for the health field. 14 publications from the last ten years, of case-control or cross-sectional types, were included in this review. Of these five case-control studies were carried out focusing on *TP53*, four on the *TNFA-308* gene and two on *GSTP1*, the three cross-sectional studies included addressed each one, one of the genes,

or one of them in association with others. The sum of two or more of the SNPs studied here (rs1042522, rs1800629 and rs1695) was not found in any study listed. By examining recent literature, we identified that SNPs in genes important for DNA repair, regulation of apoptosis and inflammatory response are crucial factors in HPV infection, with viral subtypes 16 and 18 being the most frequently mentioned in the literature and associated with carcinogenesis. cervical. Regarding the polymorphic analysis of the genes investigated in the review, there has been a scarcity of studies on them in recent years, presenting conflicting results in different populations. For rs1695, both risk and protection against cancer were evidenced for its variations. The presence of the G allele as a contributor to viral infection and the AA and AG genotypes as contributors to cancer risk was identified in a single study. rs1042522 demonstrated a significant genotypic association with cancer risk for the three forms (AG, AA and GG), but not for viral infection. **Keywords:** Cytokines; Glutathione; Sexually Transmitted Infections; Cervical Neoplasms; Single Nucleotide Polymorphism.

EXPLORACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE *TP53*, *TNFA-308* Y *GSTP1*: SUSCEPTIBILIDAD A LA INFECCIÓN POR HPV

Y CARCINOGENÉISIS CERVICAL

Resumen

Este artículo de revisión sistemática buscó proporcionar un análisis en profundidad de la interacción entre los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de los genes *TP53*, *TNFA-308* y *GSTP1*, la infección por el virus del papiloma humano (HPV) y la susceptibilidad al cáncer de cuello uterino, en bases de datos relevantes para la salud. campo. Se incluyeron en esta revisión 14 publicaciones de los últimos diez años, de tipo caso-control o transversal. De estos cinco estudios de casos y controles se realizaron centrándose en *TP53*, cuatro en el gen *TNFA-308-308* y dos en *GSTP1*, los tres estudios transversales incluidos abordaron cada uno de ellos, uno de los genes o uno de ellos en asociación con otros. . La suma de dos o más de los SNP estudiados aquí (rs1042522, rs1800629 y rs1695) no se encontró en ningún estudio enumerado. Al examinar la literatura reciente, identificamos que los SNP en genes importantes para la reparación del ADN, la regulación de la apoptosis y la respuesta inflamatoria son factores cruciales en la infección por HPV, siendo los subtipos virales 16 y 18 los más mencionados en la literatura y asociados con la carcinogénesis cervical. En cuanto al análisis polimórfico de los genes investigados en la revisión, ha habido escasez de estudios sobre ellos en los últimos años, presentando resultados contradictorios en diferentes poblaciones. Para rs1695, se evidenciaron tanto el riesgo como la protección contra el cáncer por sus variaciones. En un solo estudio se identificó la presencia del alelo G como contribuyente a la infección viral y de los genotipos AA y AG como contribuyentes al riesgo de cáncer. rs1042522 demostró una asociación genotípica significativa con el riesgo de cáncer para las tres formas (AG, AA y GG), pero no con la infección viral.

Palabras clave: Citocinas; Glutatió; Infecciones De Transmisión Sexual; Neoplasias Cervicales; Polimorfismo de nucleótido simple.

Introdução

O câncer cervical é uma das principais causas de morbidade e mortalidade entre as mulheres em todo o mundo, representando um importante agravo de saúde pública (Marques *et al.*, 2015; Brasil, 2021). Sua associação com a infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), principal Infecção Sexualmente Transmissível (IST) (Bosch *et al.*, 2008; Trottier *et al.*, 2010; Kombe Kombe *et al.*, 2021), é bem estabelecida, sendo detectado material genético viral na quase totalidade dos casos de câncer cervical (Doorbar *et al.*, 2015; Graham, 2017; Kombe Kombe *et al.*, 2020). O estado de latência e progressão da infecção viral para câncer cervical é influenciado por uma interação complexa entre fatores virais e do hospedeiro (McBride, 2022).

Os polimorfismos genéticos de base única, os SNPs (do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*) têm emergido como componentes de importância à suscetibilidade e progressão de diversas doenças, incluindo o câncer cervical (McBride, 2022). Entre os genes estudados, SNPs de *GSTP1* (Glutathione S-Transferase P), *TNFA-308* (Fator de Necrose Tumoral Alfa) e *TP53* (Gene Supressor do Tumor 53) são objeto de considerável atenção, devido ao seu potencial papel na modulação da resposta imunológica e controle do ciclo celular (Anschau *et al.*, 2005; Aguiar *et al.*, 2012; Michopoulou *et al.*, 2014; Du *et al.*, 2019; Tian *et al.*, 2019; Bortolli *et al.*, 2022).

Estudos que investiguem a relação da suscetibilidade da infecção pelo HPV e SNPs com funções associadas a parada do ciclo celular, reparo do material genético, supressão tumoral, expressão de citocinas pró-inflamatórias ou associadas a metabolização de compostos prejudiciais ao organismo, ainda são escassos e trazem resultados divergentes entre si (Tavares *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2018; Phuthong *et al.*, 2018; Isakova *et al.*, 2019; Mostaid *et al.*, 2021). Tendo em conta que a exposição a diferentes fatores pode contribuir para o desenvolvimento de condições patológicas como o câncer e, que a presença do HPV é notável na neoplasia cervical, a predisposição genética do hospedeiro pode influenciar a suscetibilidade à infecção pelo HPV, tornando imperativo a realização de pesquisas que abarquem esta temática.

Assim, a presente revisão tem como objetivo abordar a associação entre infecção pelo HPV, o câncer cervical e os polimorfismos genéticos em *GSTP1*, *TNFA-308* e *TP53*. A compreensão aprofundada dessas interações abarca o entendimento sobre os mecanismos moleculares subjacentes à carcinogênese cervical. Ao sintetizar a literatura atualmente disponível, este artigo visa consolidar descobertas e lacunas no entendimento científico desses polimorfismos genéticos específicos em relação ao HPV e ao câncer de colo do útero.

Materiais e métodos

Trata-se de um estudo de caráter qualitativo, do tipo revisão sistemática de literatura, realizada conforme os preceitos dos Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (PRISMA). A busca por publicações foi conduzida em bases de dados eletrônicas de abrangência para o campo da saúde, incluindo PubMed, BVS (Biblioteca Virtual em Saúde) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*). Entre o período de março de 2022 a dezembro de 2023, com publicações referentes aos últimos dez anos.

Os termos de busca utilizados foram selecionados com base em palavras-chave dos descritores de saúde (DeCS) e pelo vocabulário controlado hierárquico (MESH – *Medical Subject Heading*), relacionadas ao HPV, câncer cervical e os polimorfismos genéticos específicos (*TNFA-308*, *GSTP1* e *TP53*). Diante da dificuldade de encontrar os respectivos polimorfismos associados em conjunto, e buscando maximização e especificidade da busca, foi realizada combinação e/ou alternância de termos com os descritores: (HPV, CERVICAL CANCER, *TNFA-308*); (HPV, *TP53*, SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORFISM); (HPV, CERVICAL CANCER, GLUTATHIONE S-TRANSFERASE, *GSTP1*), acrescidos do operador booleano AND.

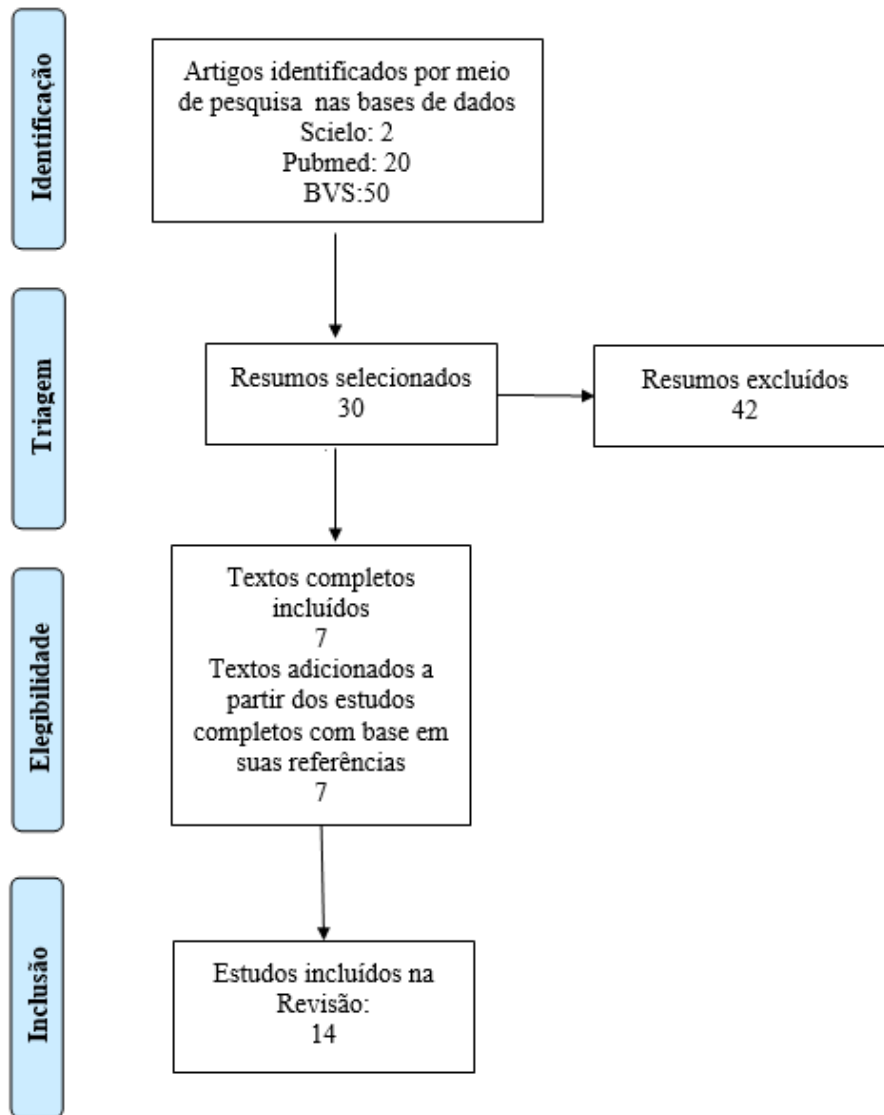
Alguns critérios de inclusão foram estabelecidos visando selecionar publicações relevantes para a interação entre HPV, câncer cervical e os SNPs de interesse (*GSTP1*, *TNFA-308* e *TP53* identificados respectivamente pelo rs1695, rs1800129 e rs1042522). Além disso, pesquisamos manualmente listas de referências de todos os artigos identificados para inclusão de mais dados. Foram incluídos somente aqueles estudos contendo população composta por mulheres com diagnóstico positivo para HPV em estudos de caso-controle ou transversais. Sendo excluídas publicações duplicadas entre as bases de dados, qualidade metodológica questionável ou publicadas há mais de dez anos.

Para seleção dos estudos foram empregadas duas etapas, na primeira os títulos e resumos foram revisados independentemente para avaliar sua relevância inicial. Na segunda etapa, todos os selecionados foram avaliados na íntegra para posteriormente ser então incluído considerando os critérios previamente estabelecidos, visando maior rigor entre as informações, todas as etapas foram realizadas pelos três pesquisadores.

Resultados e Discussão

Ao pesquisar sistematicamente nas bases de dados eletrônicas, encontramos inicialmente 72 artigos (Figura 1). Após a exclusão dos estudos duplicados, restaram 30 artigos para a próxima etapa de análise. A revisão adicional dos títulos e resumos dos estudos identificados permitiu remover 42 artigos, motivados pela duplicidade nas bases de dados e irrelevância para os polimorfismos elencados. Os 30 estudos restantes previamente selecionados, foram analisados e por fim incluímos 7 deles, buscando a lista de referências destes artigos e pesquisas na internet incluímos mais 7 publicações que contentavam os critérios de inclusão para esta revisão. Ao fim, foram incluídos estudos de caso-controle contendo 1700 casos e 1617 controles, além de três estudos transversais contendo 306 mulheres (Tabela 1). Cinco estudos de caso-controle foram realizados com foco para *TP53*, 4 com foco no gene *TNFA-308* e 2 para *GSTP1*, os três estudos transversais incluídos abordaram cada gene estudado em estudos separados. A somatória de dois ou mais dos SNPs aqui estudados não foi encontrada em nenhum estudo disponível.

Figura 1 – Fluxograma de seleção de publicações incluídas na revisão.



Fonte: Os Autores (2024).

Tabela 1 – Caracterização dos estudos incluídos na revisão.

Autor/Ano	Método de análise do SNP	Tipo de estudo/ Amostra/ Local	Objetivo	Conclusões/Achados importantes
TP53 rs1042522				
Entiauspe <i>et al.</i> , (2014).	PCR-RFLP.	Transversal/100 mulheres HIV+. Brasil.	Compreender se a infecção pelo HPV, os SNPs de <i>TP53</i> e <i>MDM2</i> <i>SNP309</i> constituem risco para persistência viral e desenvolvimento de pré-lesões e câncer cervical em mulheres HIV+.	Não foi encontrada significância entre os genótipos dos SNPs, frequências e presença de HPV. Em se tratando de <i>TP53</i> , 43% apresentavam o genótipo ArgPro (AG).
Lahsen <i>et al.</i> , (2017).	PCR-RFLP.	Caso-controle/200 mulheres HPV + e 68 mulheres não infectadas com HIV. Marrocos.	Investigar se a variante do gene <i>TP53</i> , associa-se à suscetibilidade de infecção por HPV em mulheres HIV+.	Variantes do <i>TP53</i> não se associaram à infecção pelo HPV e à progressão das lesões. Não houve também associação entre a variante polimórfica e fatores comportamentais nos casos HPV+.
Isakova <i>et al.</i> , (2019).	PCR-RFLP.	Caso-controle/103 mulheres com câncer cervical e 102 controles sem a doença. Quirguistão.	Avaliar o papel do locus polimórfico Arg72Pro de <i>TP53</i> de mulheres HPV+ com câncer cervical.	O genótipo Arg72Arg e o alelo Arg72 (A) aumentam o risco de câncer cervical associado ao HPV em cerca de 2 vezes.
Liu <i>et al.</i> , (2019).	PCR-MAMA.	Caso-controle/340 mulheres 121 com câncer cervical, 118 como controles saudáveis e 101 recrutadas para pacientes idosos > 80 anos que não apresentavam histórico de câncer cervical. China.	Integrar bioinformática explorando funções de vários SNPs de <i>XRCC1</i> e <i>TP53</i> na patogênese do câncer cervical.	A interação SNP-SNP de <i>XRCC1</i> e <i>TP53</i> , foi associado ao risco de câncer cervical em cerca de 4,63 para casos vs. controles negativos e para casos vs. idosos em 17,61 vezes.

Apu <i>et al.</i> , (2020).	PCR-RFLP.	Caso-controle/134 pacientes com câncer cervical e 102 controles saudáveis. Bangladesh.	Investigar a frequência genotípica dos SNPs de <i>TP53</i> nos códons 72 e 47	O genótipo Arg/Pro do códon 72 elevou em 2,32 vezes a chance de câncer cervical, o genótipo Pro/Pro aumentou risco ainda mais para o mesmo desfecho (4,15 vezes). Para o códon 47 não foi encontrada significância.
Mostaid <i>et al.</i> , (2021).	PCR-RFLP.	Caso-controle/129 casos e 122 controles pareados por idade. Bangladesh.	Avaliar associação entre SNPs de <i>TP53</i> nos códons 47 e 72 com o risco de câncer cervical.	O genótipo homocigoto mutante Pro/Pro do códon 72 foi mais frequente nos casos em comparação aos controles saudáveis (21,7% vs 9%). E sua presença aponta para 3,5 vezes maior suscetibilidade de desenvolver câncer cervical. O genótipo heterocigoto Arg/Pro também confere 2,1 vezes mais chances de desenvolver câncer cervical. Para o códon 47 nenhum alelo ou genótipo representou risco ou proteção para desenvolver o câncer.
<i>TNFA-308 rs160029</i>				
Duvlis <i>et al.</i> , (2020).	PCR-Multiplex.	Caso-controle/134 casos e 113 controles. Macedônia.	Avaliar se os SNPs <i>TNFA-238</i> G>A e <i>TNFA-308</i> associam-se a lesões cervicais e câncer em mulheres HPV+.	Para ambos os SNPs não foram estabelecidas relação significativa entre ser HPV+ e ter ou não lesões.
Traore <i>et al.</i> , (2020).	PCR-Multiplex.	Caso-controle/91 casos e 209 controles. Burkina Faso.	Investigar a distribuição dos SNPs de <i>TNFA-308</i> G>A e IL18-607 C>A, sua relação com a infecção por HPV.	O alelo A de <i>TNFA-308</i> esteve presente em todas as mulheres (casos e controles) com frequência de 84,61% e 84,69% respectivamente. Nenhum dos alelos de <i>TNFA-308</i> G foi associado ao à infecção por HPV.

Tavares <i>et al.</i> , (2016).	PCR-Alelo Específico.	Transversal/122 mulheres HPV+ com lesões cervicais ou câncer cervical. Brasil.	Investigar se os polimorfismos <i>TNFA-308</i> G>A e <i>IL18-137</i> G>C e <i>IL-607</i> C>A estão associados à suscetibilidade à infecção por HPV/progressão para lesão intraepitelial escamosa de alto grau.	A presença do alelo G de <i>TNFA-308</i> foi associado positivamente ao risco de infecção por HPV em quase 2 vezes. Porém não foi positiva a associação para a progressão de lesões cervicais. Para o SNP de <i>IL18</i> , o risco de infecção viral foi reduzido para portadoras do genótipo AA.
Silva <i>et al.</i> , (2022).	PCR- SSP.	Caso-controle/96 mulheres com câncer cervical, 72 mulheres HPV+ e adenocarcinoma e 169 controles HPV-. Brasil.	Investigar possível associação entre os SNPs de <i>IL-10</i> -1082 e <i>TNFA-308</i> e a suscetibilidade de desenvolver lesões intraepiteliais cervicais e adenocarcinoma.	Para o SNP: <i>TNFA-308</i> , houve maior suscetibilidade à lesões cervicais, relacionando aos fatores de risco: idade, sexarca, tabagismo, ancestralidade africana e infecção por <i>Chlamydia trachomatis</i> .
Li <i>et al.</i> , (2018).	PCR-RFLP.	Caso-controle 142 pacientes com câncer cervical e 150 controles sem a doença. China.	Investigar a correlação entre o polimorfismo do gene <i>TNFA-308</i> e a suscetibilidade ao câncer cervical.	O genótipo AA aumentou o risco de câncer cervical em 1,46 vezes.
GSTP1 rs1695				
Chagas <i>et al.</i> , (2017).	PCR-Alelo Específico.	Caso-controle 175 mulheres com anormalidades e 266 sem alterações cervicais. Brasil.	Investigar a associação entre o SNP de <i>GSTP1</i> na presença de lesões cervicais e de cofatores ambientais em mulheres HPV+.	Não houve associação significativa entre o SNP de <i>GSTP1</i> e anormalidades cervicais, no entanto foi positiva a associação para sinergia entre <i>GSTP1</i> , uso de contraceptivos e infecção pelo HPV.
Phuthong <i>et al.</i> , (2018).	PCR-RFLP.	Caso-controle/198 mulheres com câncer cervical e 198 controles saudáveis. Tailândia.	Investigar associação entre <i>GSTP1</i> e risco de câncer cervical e infecção por HPV, bem como sua sinergia com carcinógenos ambientais.	O genótipo Ile/Val (AG) em mulheres HPV+ de alto risco, o risco de câncer cervical foi reduzido. Também não foi encontrada associação entre ter parceiro fumante e risco de câncer.

Galvão <i>et al.</i> , (2021).	PCR-RFLP.	Transversal com 84 mulheres atendidas no serviço público de Pernambuco. Brasil.	Analisar o SNP de <i>GSTP1</i> e associá-lo a marcadores de estresse oxidativo e infecção por HPV.	<i>GSTP1</i> pode interferir no aumento do estresse oxidativo e suscetibilidade a lesões cervicais em mulheres HPV+ (Ile/Val (AG) ou Val/Val (GG) e HPV+ elevam em cerca de 29 vezes a chance de citologia anormal).
--------------------------------	-----------	---	--	--

Fonte: Os Autores (2024).

Os estudos revisados apresentam discrepâncias entre si em relação aos resultados para a associação entre infecção pelo HPV e o desenvolvimento do câncer ginecológico, ao passo que parte significativa dos artigos não investigam a presença do HPV, tampouco caracterizaram os subtipos virais. Neste tocante a Tabela 2 aborda os principais subtipos virais referidos nas publicações.

Tabela 2 – Principais subtipos virais referidos nas publicações analisadas.

Estudo/polimorfismo	Características virais
TP53 rs1042522	
Entiauspe <i>et al.</i> , (2014).	DNA viral detectado em 68% das amostras. Foram detectados nove subtipos de maior prevalência (HPV-6, seguido por HPV-16, HPV-31, HPV-11, HPV-18, HPV-35, HPV-45, HPV-56 e HPV-81). 33,3% eram HPV de alto risco e 66,7% de baixo risco oncogênico.
Lahsen <i>et al.</i> , (2017).	Avalia somente a presença viral, mas não os subtipos.
Isakova <i>et al.</i> , (2019).	43,4% (39/90) tinham HPV-16 e 24,4% (22/90) HPV-18, enquanto 32,2% (29/90) apresentava os dois tipos virais.
Liu <i>et al.</i> , (2019).	Sem informações da avaliação da IST.
Apu <i>et al.</i> , (2020).	Sem informações da avaliação da IST.
Mostaid <i>et al.</i> , (2021).	Sem informações da avaliação da IST.
TNFA-308 rs160029	
Duvlis <i>et al.</i> , (2020).	47,8% com genótipo HPV-16 ou 18 e 32,8% com outros subtipos virais.
Traore <i>et al.</i> , (2020).	Os subtipos HPV-52 (21.1%), HPV-39 (11.8%) e HPV-33 (11.02%) foram os genótipos mais comuns.
Tavares <i>et al.</i> , (2016).	49,2% (60/122) com infecção única - infectados pelo HPV-16, 15,6% (19/122), HPV-18, 13,9% (17/122) por outros tipos de alto risco, (subtipos 31, 33, 56, 58, 67 e 83) e 1,6% (2/122) como de baixo risco (LR-HPV). Considerando a coinfeção HPV16/18 foi detectada em 16,4% (20/122) das pacientes; e 4,1% (5/122) com coinfeções simultâneas entre HPV-16, 18 e outros tipos de HPV.
Silva <i>et al.</i> , (2022).	Somente detectou o HPV, mas não os subtipos.
Li <i>et al.</i> , (2018).	Não informa a presença de HPV nas amostras de câncer cervical.
GSTP1 rs1695	
Chagas <i>et al.</i> , (2017).	441 mulheres foram genotipadas pela plataforma BioPlex: 175 (39,7%) foram HPV+ e 266 (60,3%) eram HPV negativo. O HPV-16 foi o mais comum de alto risco, observado em 37 (21%) os subtipos de HPV-31 e HPV-33 foram outros tipos presentes em 20 (11,3%) e 6 (3,4%) mulheres infectadas pelo

	HPV. Além disso 95 das mulheres apresentavam coinfeções.
Phuthong <i>et al.</i> , (2018).	Sem informações da avaliação da IST.
Galvão <i>et al.</i> , (2021).	75% das participantes apresentaram infecção por um único tipo viral, correspondendo aos subtipos: 42/70/82/56/35/43/53/73/11/6/16 e 45. A infecção múltipla foi detectada em 25% das amostras analisadas.

Fonte: Os Autores (2023).

Já os estudos que avaliaram a presença do HPV, não descreveram associação entre os subtipos virais e os SNPs estudados. Apesar disso, foi observada variação em diferentes regiões geográficas, sinalizando os fatores ambientais e genéticos como principais contribuintes para suscetibilidade e persistência de subtipos virais. No Brasil os principais subtipos elencados foram o HPV 6, 16, 31, 11, 18 (Entiauspe *et al.*, 2014; Tavares, *et al.*, 2016; Chagas *et al.*, 2017; Galvão *et al.*, 2021). Diferentemente do encontrado em Burkina Faso (Traore *et al.*, 2020), onde os subtipos HPV-52 e HPV-39 prevaleceram. Em outras publicações, os subtipos 16, 18, 31, 51 e 52 correspondem a aproximadamente 60% das infecções por HPV de alto risco oncogênico (Sargent *et al.*, 2008; Wendland *et al.*, 2020).

Já é consenso que mulheres com mais de 40 anos, de baixa renda, com início sexual precoce e elevado número de parceiros sexuais ao longo da vida apresentam maior risco de adquirir infecção pelo HPV (Entiauspe *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2022). Em contrapartida, a prevalência de HR-HPV declina com o aumento da idade e ainda, cerca de 90% das infecções tendem a regredir em até dois anos (Trottier *et al.*, 2010).

SNPs apresentam importante influência na função e expressão gênica contribuindo para a carcinogênese (Deng *et al.*, 2017; Sud; Kinnersley; Houlston, 2017). Já se tem conhecimento sobre mais de 450 SNPs cuja interação elevam à suscetibilidade a diferentes tipos de câncer, por estarem relacionados a mecanismos como reparo do DNA e do ciclo celular, com a imunidade e metabolismo (Sud; Kinnersley; Houlston, 2017).

Além das neoplasias, SNPs também são estudados associados a uma gama de quadros clínicos, como diabetes (Azarova *et al.*, 2018; Montazeri-Najafabady *et al.*, 2022), síndrome metabólica (Oliveira; Boery, 2018), pré-

eclâmpsia (Jakovljevic *et al.*, 2019) e transtorno de bipolaridade (Nursal *et al.*, 2020).

Os polimorfismos genéticos nos genes *GSTP1*, *TNFA-308* e *TP53* emergem então como potenciais moduladores da resposta do hospedeiro à infecção pelo HPV e da progressão ao câncer cervical. Variações polimórficas de genes de enzimas que desempenham papel na desintoxicação de produtos exógenos e endógenos do estresse oxidativo pertencentes a família das GSTs são estudadas para compreender a carcinogênese em indivíduos infectados pelo HPV (Zhen; Hu; Bian, 2013; Sharma *et al.*, 2015 Bortolli *et al.*, 2022), visto que estas enzimas exercem papéis importantes na desintoxicação de metabólitos, compostos tóxicos e na proteção tecidual contra danos da oxidação especialmente de xenobióticos.

O gene *GSTP1* localiza-se no cromossomo 11q.13, apresenta cerca de 3,2kb, codifica a isoenzima P1 e dentre as funções que desempenha está a proteção celular durante a apoptose por meio da metabolização de compostos halogenados de peso molecular baixo (Chagas *et al.*, 2017). O gene apresenta nove éxons e um dos SNPs mais estudado compreende a transição A>G no nucleotídeo 313, códon 105 do éxon 5 (rs1695), envolvendo a substituição de dois aminoácidos no sítio de atividade da enzima, isoleucina/valina (Ile → Val) (Elhoseiny *et al.*, 2014), essa substituição reduz a atividade enzimática exercida na desintoxicação de compostos nocivos.

Para o SNP rs1695 de *GSTP1* efeito protetor contra o câncer cervical foi associado à presença do alelo G na população tailandesa, mulheres HPV+ que portam a variante Val (G) teriam menor suscetibilidade a infecção viral ou capacidade maior de resistir ao vírus e, portanto, um risco menor para o câncer cervical em comparação com aquelas com apenas a variante Ile (A) (Phuthong *et al.*, 2018).

Acredita-se que a variante polimórfica de *GSTP1* (rs1695) pode levar ao aumento do estresse oxidativo e na suscetibilidade a lesões cervicais em mulheres HPV+ (Galvão *et al.*, 2021). Acrescido aos resultados do mesmo estudo, apresentar os genótipos Ile/Val (AG) ou Val/Val (GG) e, estarem infectadas pelo vírus eleva em cerca de 29 vezes a chance de citologia anormal.

Chagas *et al.*, (2017) ao analisar o rs1695, também não encontraram associação significativa entre o SNP de *GSTP1* e anormalidades cervicais em

mulheres brasileiras ao averiguá-los isoladamente. No entanto, foi positiva a associação para sinergia entre o SNP de GSTP, o uso de contraceptivos e infecção pelo HPV, reforçando a ideia de que a infecção e progressão de lesões é alavancada quando associada a outras variáveis, como hábitos de vida.

Nas células infectadas pelo HPV, a oncoproteína E6 viral ao se ligar a proteína p53 é capaz de degradá-la pela ubiquitinação, bloqueando o controle celular realizado pela p53. Essa condição leva a ausência da inibição da apoptose e desregulação do ciclo celular, com isso as células infectadas pelo vírus continuam sua proliferação (Malisic *et al.*, 2013; Entiauspe *et al.*, 2014; Michopoulou *et al.*, 2014; Isakova *et al.*, 2019; Mostaid *et al.*, 2021). O gene responsável pela síntese da proteína p53, atuante no controle do ciclo celular, possui variações frequente em diferentes tumores e, em pessoas infectadas por HR-HPV estas podem inativar a ação da proteína contribuindo para a carcinogênese (Hrstka *et al.*, 2016; Travé; Zanier, 2016).

SNPs relacionados ao *TP53* já somam mais de 200, dentre estes destaca-se o SNP *TP53* g.11446G>C (rs1042522), caracterizado pela substituição residual de guanina (G) por citosina (C) no códon 72 do éxon 4, substituindo o aminoácido Arginina (Arg) por Prolina (Pro), levando à codificação de proteínas com isoformas estruturais diferentes (Hrstka *et al.*, 2016; Lashen *et al.*, 2017).

Lahsen *et al.*, (2017) investigaram a suscetibilidade a infecção pelo vírus na variação de *TP53* rs1042522 em marroquinas imunocomprometidas (HIV+), as variantes alélicas não demonstraram significância estatística, no entanto, o genótipo Arg/Arg (GG) foi menos frequente em mulheres infectadas pelo HPV quando comparada as que não tinham a IST.

Pesquisa realizada no Quirguistão, demonstrou que 87% das mulheres que desenvolveram câncer de colo uterino, tinham positividade para o HPV, além disso foi evidenciado que as portadoras do genótipo Arg/Arg (GG) pelo rs1042522 constitui fator de risco para o câncer, enquanto Pro/Pro (CC) foi protetor (Isakova *et al.*, 2019). Na mesma vertente, um estudo caso-controle desenvolvido em Bangladesh, elencou o genótipo Pro/Pro (CC) com risco ampliado em mais de três vezes para o câncer cervical. Inclusive, o genótipo heterozigoto Arg/Pro (GC) também foi positivamente associado ao risco de desenvolver a doença em cerca de duas vezes. Considerando estes achados ao combinar as frequências de

Arg/Pro (GC) e Pro/Pro (CC) a chance de desenvolver a neoplasia foi de 2,5 vezes comparada ao genótipo Arg/Arg (GG) (Mostaid *et al.*, 2021).

No estudo de Apu *et al.*, (2020), foi observado que o genótipo heterozigoto Arg/Pro (GC) apresentou aproximadamente o dobro do risco de desenvolver câncer cervical. Notavelmente, a variante em homozigose Pro/Pro (CC) também demonstrou significância estatística, exibindo um risco ainda mais elevado, estimado em quatro vezes maior para o desenvolvimento da neoplasia (Apu *et al.*, 2020).

O primeiro estudo a identificar uma nova interação entre os genes XRCC1 (rs25487) e TP53 (rs1042522) foi conduzido com o intuito de estabelecer a suscetibilidade ao risco de câncer cervical em uma população feminina no sudoeste da China e, encontrou associação positiva para o genótipo heterozigoto Arg/Pro (GC) (rs104252), com risco aproximado de 4 vezes para o câncer cervical. Os achados ainda mostram que em mulheres idosas esse risco foi de ainda maior, 17,6 vezes (Liu *et al.*, 2019).

SNPs em genes condicionantes da resposta inflamatória como a citocina TNFA-308, importantes para a eliminação do vírus, cuja ausência ou limitação pode resultar em infecção persistente ou desenvolvimento de neoplasia, também tem sido foco de investigações (Das *et al.*, 2018). O gene TNFA-308, responsável por codificar a citocina TNF α , localiza-se no braço curto do cromossomo 6 (6p21.3), na região de classe III do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), composto por três íntrons e quatro éxons totalizando cerca de 3kb (El-Tahan; Ghoneim; El-Mashad, 2016; Yang *et al.*, 2014). O SNP do gene TNFA-308 (rs1800629), recebe este nome por estar localizado a -308 nucleotídeos *upstream* da região promotora. Sua variação polimórfica é configurada por uma transição da Guanina (G) para Adenina (A) (Zaghlol *et al.*, 2019).

A relação do SNP TNFA-308 com a infecção pelo HPV aponta para resultados conflitantes. A presença do alelo G em brasileiras residentes no Recife, foi associado a duas vezes mais chance para a ocorrência da IST (Tavares *et al.*, 2015). Por outro lado, pesquisa realizada em Burkina Faso, mostrou ausência de associação com o risco de infecção viral para ambos os alelos, entretanto, o alelo A de TNFA-308 esteve presente em todas as mulheres (casos e controles) com frequência de 84,61% e 84,69% respectivamente (Traore *et al.*, 2020). Em relação a suscetibilidade ao câncer cervical, é pontuado que no rs1800629, a presença do

alelo A tende a aumentar o risco (Duvlis *et al.*, 2020). Ao mesmo passo, pesquisa conduzida na Macedônia não encontrou associação entre o rs1800629 com o risco de desenvolver câncer cervical, quando associado a presença de HPV (Duvlis *et al.*, 2020). Em brasileiras residentes em Pernambuco, aquelas com genótipos GA e AA de *TNFA-308*, estavam significativamente associados a diversos fatores de risco para infecção por HPV (Silva *et al.*, 2022).

O *TNFA-308* tem a capacidade de estimular de maneira significativa a proliferação de células cervicais com genoma viral imortalizadas a partir da atividade das proteínas E6 e E7 de HR-HPVs, apontando para uma estreita correlação entre o SNP rs1800629 e a predisposição ao câncer cervical. Apesar disso, não foram observadas diferenças significativas nos genótipos de *TNFA-308* (rs1800629), entre o grupo com câncer cervical e o grupo controle. O genótipo GA apresentou um aumento de 1,20 vezes no risco de câncer cervical, enquanto o genótipo AA mostrou um aumento de 1,46 vezes no risco, porém não foram identificadas diferenças significativas entre eles. Todavia, ao analisar a combinação genotípica GA+AA, esta demonstrou associação para o grau de malignidade da neoplasia, perfazendo a hipótese de que um alelo específico pode estar correlacionado ao aumento da agressividade do tumor (Li *et al.*, 2018).

Em suma, dentre os estudos aqui elencados, pode-se inferir que para todos os SNPs analisados houve resultados conflitantes entre si. Para o polimorfismo rs1695 de *GSTP1*, estudo de Chagas *et al.* (2017) não encontrou qualquer associação entre o SNP e a IST e ao câncer cervical. Em contrapartida, há ambiguidade de resultados entre o trabalho conduzido por Galvão *et al.*, (2021) que apontou o genótipo Ile/Val (AG) ou Val/Val (GG) como sendo fator de risco às lesões cervicais em mulheres com HPV, enquanto, no estudo de Phuthong *et al.*, (2018) o mesmo genótipo foi apontado como efeito protetivo para o desenvolvimento de lesões cervicais.

Para o SNP de *TNFA-308* rs1800629, três dos estudos não encontraram associações positivas para as variações polimórficas, câncer cervical ou infecção viral (Duvlis *et al.*, 2020; Traore *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2022). Porém, em se tratando da infecção pelo HPV, Tavares *et al.*, (2016) evidenciaram que a presença do alelo G ampliou, suficientemente, o risco para a infecção. A presença do alelo A em heterozigose ou em homozigose em mulheres chinesas eleva a chance de desenvolver lesões cervicais (Li *et al.*, 2018).

O rs1042522 de *TP53*, por ser um dos polimorfismos mais estudados quando associado ao câncer (Michopoulou *et al.*, 2014), foi o que apresentou maior número de artigos referenciados, entretanto, também com resultados divergentes entre si. O alelo G (Pro), isolado ou em homozigose (Apu *et al.*, 2020; Mostaid *et al.*, 2021) foi descrito como contribuinte para o risco de câncer cervical. Contudo, o genótipo homozigoto Arg/Arg em estudo do Quirguistão demonstrou ser mais associado ao risco da neoplasia (Isakova *et al.*, 2019).

Conclusão

Essa revisão mostra a complexidade das interações genéticas e virais no curso da infecção pelo HPV e a patogênese do câncer cervical. E, a compreensão das associações entre a IST, o câncer e polimorfismos genéticos abre caminho para implicações clínicas importantes.

Estratégias de triagem e prevenção podem ser aprimoradas com base no perfil genético do indivíduo, no entanto, reforçamos que são necessários mais estudos para validar essas associações e preencher as lacunas de conhecimento.

É crucial reconhecer limitações diante da evidência atual, tais como a heterogeneidade nos métodos de estudo, diferenças nas populações estudadas e a discrepância de resultados destacam mais uma vez a necessidade de pesquisas adicionais para resolver questões pendentes. Ao integrar os achados desta revisão com a literatura existente, contribuímos para melhor elucidar a compreensão atual das interações entre HPV, câncer de colo do útero e polimorfismos genéticos, reforçando a necessidade de buscar compreender sobre outras vertentes que possam interferir na patogênese como os SNPs, a literatura abarca a doença, mas pouco elucida a associação entre polimorfismos genéticos e risco de adquirir infecção pelo HPV.

Referências

AGUIAR, E. S. DE *et al.* GSTM1, GSTT1, and *GSTP1* polymorphisms, breast cancer risk factors and mammographic density in women submitted to breast cancer screening. **Rev. Bras. Epidemiol**, v. 15, n. 2, p. 246–255, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2012000200002>

ANSCHAU, F. et al. Associação entre o polimorfismo no códon 72 da p53 e as lesões pré-malignas e malignas cervicais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 27, n. 10, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-72032005001000007>

APU, M. N. H. et al. *TP53* genetic polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in Bangladeshi women: a case–control study. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 6, p. 4357–4364, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05523-2>

AZAROVA, I. et al. Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interactions in disease susceptibility. **J. Diabetes**, v. 10, n. 5, p. 398–407, 2018. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12623>

BORTOLLI, A. P. R. et al. *GSTT1* and *GSTM1* polymorphisms with human papillomavirus infection in women from southern Brazil: a case–control study. **Mol. Bio. Rep**, v. 49, n. 7, p. 6467–6474, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07475-1>

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer. **Como surge o câncer**. 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer>. Acesso em: 15 jul. 2021.

CHAGAS, B. S. et al. Research Article Synergic effect of oral contraceptives, *GSTP1* polymorphisms, and high-risk HPV infection in development of cervical lesions. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 3, 2017. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039742>

DAS, C. R. et al. Deregulated TNF-Alpha Levels Along with HPV Genotype 16 Infection Are Associated with Pathogenesis of Cervical Neoplasia in Northeast Indian Patients. **Viral Immunol**, v. 31, n. 4, p. 282–291, 2018. <https://doi.org/10.1089/vim.2017.0151>

DENG, N. et al. Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility. **Oncotarget**, v. 8, n. 66, p: 110635-110649, 2017. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22372>

DOORBAR, J. et al. Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Rev. Med. Virol.**, v. 25, n. S1, p. 2–23, 2015. <https://doi.org/10.1002/rmv.1822>

DU, G. H. et al. Genetic polymorphisms in tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 are associated with an increased risk of cervical cancer. **Int. Immunopharmacol.**, v. 66, p. 154–161, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.11.015>

DUVLIS, S. et al. Association of *TNF* -a (rs361525 and rs1800629) with susceptibility to cervical intraepithelial lesion and cervical carcinoma in women from Republic of North Macedonia. **International Journal of Immunogenetics**, v. 47, n. 6, p. 522–528, 2020. <https://doi.org/10.1111/iji.12506>

ELHOSEINY, S. *et al.* *GSTP1* (Ile105Val) Gene Polymorphism: Risk and Treatment Response in Chronic Myeloid Leukemia. **J. Cancer Ther.**, v. 05, n. 01, p. 1–10, 2014. <http://dx.doi.org/10.4236/jct.2014.51001>

EL-TAHAN, R. R.; GHONEIM, A. M.; EL-MASHAD, N. TNF- α gene polymorphisms and expression. **SpringerPlus**, v. 5, n. 1, p. 1508, 2016. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3197-y>

ENTIAUSPE, L. G. *et al.* Uncommon non-oncogenic HPV genotypes, *TP53* and *MDM2* genes polymorphisms in HIV-infected women in Southern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 6, p. 643–650, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2014.07.005>

GALVÃO, A. M. *et al.* Glutathione-S-transferase P1 polymorphism **and oxidative stress markers in women infected by human papilomavírus.** **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde**, v.8, n. 15, p. 3-13, 2021

GRAHAM, S. V. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. **Clin. Sci**, v. 131, n. 17, p. 2201-2221, 2017. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00634.x>

HRSTKA, R. *et al.* Polymorphisms in p53 and the p53 pathway: roles in cancer susceptibility and response to treatment. **J. Cell. Mol. Med.** v. 13, n. 3, p. 440-453, 2016. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00634.x>

ISAKOVA, J. *et al.* TP53 Codon 72 Polymorphism and Human Papilloma Virus-Associated Cervical Cancer in Kyrgyz Women. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 20, n. 4, p. 1057–1062, 2019. <https://10.31557/APJCP.2019.20.41057>

JAKOVLJEVIC, T. *et al.* Glutathione-S-transferase M1 polymorphism and pro-inflammatory cytokines tumour necrosis factor- α and interleukin-1 β are associated with preeclampsia in Serbian women. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 81, n. 5, p. e13105, 2019. <https://doi.org/10.1111/aji.13105>

KOMBE KOMBE, A. J. *et al.* Epidemiology and Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases, Molecular Pathogenesis, and Vaccine Evaluation. **Front. Public Health**, v. 8, p. 552028, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.552028>

LAHSEN, A. O. *et al.* TP53 R72P Polymorphism and Susceptibility to Human Papillomavirus Infection Among Women With Human Immunodeficiency Virus in Morocco: A Case-control Study. **Journal of Cancer Prevention**, v. 22, n. 4, p. 248–253, 2017. <https://doi.org/10.15430/JCP.2017.22.4.248>

LI, L. et al. The correlation between TNF- α -308 gene polymorphism and susceptibility to cervical cancer. **Oncology Letters**, 2018. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8246>

LIU, G.-C. et al. Interaction between *TP53* and XRCC1 increases susceptibility to cervical cancer development: a case control study. **BMC Cancer**, v. 19, n. 1, p. 24, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5149-0>

MALISIC, E. et al. *TP53* codon 72 polymorphism and risk of cervical carcinoma in Serbian women. **Arch. Gynecol. Obstet.**, v. 288, n. 3, p. 621–625, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00404-013-2783-2>

MARQUES, C. L. T. Q. et al., **Oncologia: Uma abordagem multidisciplinar**. Recife: Carpe Diem Edições e Produções Ltda, 2015. 822 p.

MCBRIDE, A. A. Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions. **Nat. Rev. Microbiol.** v. 20, n. 2, p. 95–108, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00617-5>

MICHOPOULOU, V. et al. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA prevalence and p53 codon 72 (Arg72Pro) polymorphism in prostate cancer in a Greek group of patients. **Tumor Biol**, v. 35, n. 12, p. 12765–12773, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2604-7>

MONTAZERI-NAJAFABADY, N. et al. The impact of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on susceptibility to gestational diabetes in Iranian population. **J. Matern-Fetal Neonatal Med.**, v. 35, n. 8, p. 1451–1456, 2022. <https://doi.org/10.1080/14767058.2020.1757062>

MOSTAID, M. S. et al. Elevated serum expression of p53 and association of *TP53* codon 72 polymorphisms with risk of cervical cancer in Bangladeshi women. **PLOS ONE**, v. 16, n. 12, p. e0261984, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261984>

NURSAL, A. F. et al. TNF- α -308 G/A variant may be associated with bipolar disorder in a Turkish population. **Arch. Clin. Psychiatry (São Paulo)**, v. 47, n. 6, 2020. <https://doi.org/10.15761/0101-60830000000258>

OLIVEIRA, J. S.; BOERY, R. N. S. O. Associação de variantes polimórficas com síndrome metabólica: uma revisão integrativa. **J. Vasc. Bras.**, v. 17, n. 2, p. 141–147, 2018. <https://doi.org/10.1590/S0100-72032013000500007>

PHUTHONG, S. et al. Genetic Polymorphism of the Glutathione S-transferase Pi 1 (*GSTP1*) and Susceptibility to Cervical Cancer in Human Papilloma Virus Infected Northeastern Thai Women. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 19, n. 2, 2018. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.2.381>

SARGENT, A. *et al.* Prevalence of type-specific HPV infection by age and grade of cervical cytology: data from the ARTISTIC trial. **Br. J. Cancer**, v. 98, n. 10, p. 1704–1709, 2008. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604324>

SHARMA, A. *et al.* Glutathione S-transferase M1 and T1 Polymorphisms, Cigarette Smoking and HPV Infection in Precancerous and Cancerous Lesions of the Uterine Cervix. **Asian Pac. J. Cancer Prev**, v. 16, n. 15, p. 6429–6438, 2015. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79963-y>

SILVA, A. P. *et al.* IL-10 and TNF- α genes polymorphisms and the development of cervical lesions and cervical adenocarcinoma: a case-control study. **Conjecturas**, v. 22, n. 1, p. 1274–1286, 2022. <https://doi.org/10.53660/CONJ-582-211>

SUD, A.; KINNERSLEY, B.; HOULSTON, R. S. Genome-wide association studies of cancer: current insights and future perspectives. **Nat. Rev. Cancer**, v. 17, n. 11, p. 692–704, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.82>

TAVARES, M. C. M. *et al.* Tumor necrosis factor (TNF) alpha and interleukin (IL) 18 genes polymorphisms are correlated with susceptibility to HPV infection in patients with and without cervical intraepithelial lesion. **Annals of Human Biology**, v. 43, n. 3, p. 261–268, 3 maio 2016. <https://doi.org/10.3109/03014460.2014.1001436>

TIAN, S. *et al.* Polymorphic variants conferring genetic risk to cervical lesions support GSTs as important associated loci. **Medicine**, v. 98, n. 41, p. e17487, 2019. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017487>

TRAORE, I. M. A. *et al.* Association of TNF- α -308G/A and IL-18 Polymorphisms with risk of HPV infection among sexually active women in Burkina Faso. **Biomolecular Concepts**, v. 11, n. 1, p. 97–101, 2020. <https://doi.org/10.1515/bmc-2020-0008>

TRAVÉ, G.; ZANIER, K. HPV-mediated inactivation of tumor suppressor p53. **Cell. Cycle**, v. 15, n. 17, p. 2231–2232, 2016. <http://dx.doi.org/10.1080/15384101.2016.1191257>

TROTTIER, H. *et al.* Human Papillomavirus Infection and Reinfection in Adult Women: the Role of Sexual Activity and Natural Immunity. **Cancer Res.**, v. 70, n. 21, p. 8569–8577, 2010. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-0621>

WENDLAND, E. M. *et al.* Prevalence of HPV infection among sexually active adolescents and young adults in Brazil: The POP-Brazil Study. **Sci. Rep**, v. 10, n. 1, p. 4920, 2020.

YANG, S.-D. *et al.* Association of a miR-502-Binding Site Single Nucleotide Polymorphism in the 3'-Untranslated Region of SET8 and the TP53 Codon 72 Polymorphism with Cervical Cancer in the Chinese Population. **Asian Pac. J. Cancer Prev**, v. 15, n. 16, p. 6505–6510, 2014. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.16.6505>

ZAGHLOL, H. *et al.* Tumour necrosis factor gene polymorphisms in Egyptian patients with rheumatoid arthritis and their relation to disease activity and severity. **Cent. Eur. J. Immunol**, v. 44, n. 3, p. 277–284, 2019. <https://doi.org/10.5114/ceji.2019.89602>

ZHEN, S.; HU, C.-M.; BIAN, L.-H. Glutathione S-Transferase Polymorphism Interactions with Smoking Status and HPV Infection in Cervical Cancer Risk: An Evidence-Based Meta-Analysis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. e83497, 2013. <https://org.doi.10.1371/journal.pone.0083497>

6. ARTIGO CIENTÍFICO 02

Association between *GSTP1* (rs1695) and Human Papillomavirus infection in women from southern Brazil

ABSTRACT

Background: Polymorphic variations in genes encoding enzymes involved in detoxifying oxidative stress products (e.g., those belonging to the glutathione family) have been associated with cervical carcinogenesis. However, not much is known about how they affect human papillomavirus (HPV) infection, which is a key factor in causing neoplasia. The aim of the present study was to investigate the possible association between *GSTP1* polymorphism (rs1695) and susceptibility to viral infection in women assisted by the public health system in the Southwestern Paraná, Brazil. **Methods and Results:** We conducted a case-control study involving 138 women, of whom 39 were cases (with viral infection) and 99 were uninfected. The *GSTP1* polymorphism (rs1695) was detected by the Tetra Amplification Refractory Mutation System (T-ARMS) method using polymerase chain reaction. To the best of our knowledge, the present study was the first to be conducted in Southern Brazil regarding the association between the rs1695 genetic variation and susceptibility to HPV infection. The results showed a significant difference between the variants. The A allele (Ile) was found to be protective against infection both alone (OR: 0.175; 95% CI 0.071-0.434; $p < 0.001$) and in homozygosity (OR: 0.237; 95% CI 0.091-0.616; $p < 0.003$). On the other hand, the G allele (Val) was defined as a risk factor for HPV infection (OR: 4.22; 95% CI 1.623-10.989; $p < 0.003$), increasing the risk approximately fourfold; in heterozygosity (AG), the risk for viral infection was even higher (OR: 5.714; 95% CI 2.303-14.180; $p < 0.001$). **Conclusion:** Our findings showed that both the G allele and the AG genotype contribute to the risk of HPV infection in women from Southwestern Paraná, Brazil.

Keywords: Human papillomavirus; Genetic polymorphism; glutathione S-transferase.

INTRODUCTION

Sexually transmitted infections (STI) caused by human papillomavirus (HPV) are the most prevalent worldwide [1]. HPV is a virus with strong epithelial tropism, which leads to condylomas and lesions. While many of the HPV manifestations tend to disappear within six months to a year, high-risk oncogenic strains of HPV (HR-HPV) can persist and cause cervical cancer [2,5]. The virus accounts for 5% of all human cancers, particularly anogenital (e.g., cervical, vaginal, vulvar, penile, and anal) and oropharyngeal cancers [1].

The major HR-HPV strains found in cervical tumors are 16, 18, 31, 51, and 52 [6,7], with viral genetic material present in almost all cases [6,8-10]. The current consensus is that the presence of HPV is an important, but not the only, factor in cancer progression [11]. Host-related genetic factors (e.g., single nucleotide polymorphisms [SNPs], which are variations in DNA sequence detected at relevant sites in the genome) have been studied in relation to cancer susceptibility and risk for STIs [12-14].

Glutathione S-transferases (GSTs) are a group of mitochondrial, microsomal, and cytosolic enzymes encoded by genes that detoxify metabolites and toxic compounds and protect tissues from oxidative damage, especially from xenobiotics [15-18]. Eight classes of GSTs have been identified: alpha (α), mu (μ), pi (π), theta (θ), sigma (σ), kappa (κ), omega (ω), and zeta (ζ) [17].

The *GSTP* (pi) gene is located on chromosome 11q13.2 and encodes the P1 isoenzyme, which plays a role in cellular protection during apoptosis by metabolizing low molecular weight halogenated compounds [19]. The gene has nine exons. One of the most studied SNPs is the A (adenine) to G (guanine) transition at nucleotide 313, codon 105 of exon 5 (rs1695), which results in substituting the amino acid isoleucine by valine (Ile \rightarrow Val) [20]. This nonsynonymous substitution alters the catalytic activity of *GSTP1*, where the allelic variation leads to reduced enzymatic function in many tissues as well as the inability to inactivate mutagenic agents, allowing sensitization of cells to free radicals [20-22].

Polymorphic variations in genes encoding enzymes involved in detoxifying exogenous and endogenous oxidative stress products belonging to the GST family have been studied to understand their association with cervical carcinogenesis

[23, 24]. However, few studies have associated GST SNPs with HPV infection [14, 19, 25, 26], although these SNPs are targets for understanding the detoxification of harmful compounds in other viral infections [27, 28].

Researchers, including us, conducted a systematic review of polymorphisms in other glutathione genes (i.e., *GSTM1* and *GSTT1*) and STIs and showed that the null *GSTT1* allele is more common than the null *GSTM1* allele in women infected with HR-HPV [14]. Following the same line of investigation, our group showed that in women from Southwest Paraná, Brazil, the deleted *GSTT1* allele reduced their odds of viral infection (OR_{adj} 0.219; 95% CI 0.078-0.618; $p=0.004$) compared to those with the ancestral allele [14]. This study was important for advancing the understanding of GST polymorphisms in HPV-caused STIs; other SNPs in this family may have important virus-related implications that have not yet been explored. Therefore, the aim of the study was to investigate whether the *GSTP1* polymorphism (rs1695) is associated with HPV infection in women served by the public health system in Southwest Paraná, Brazil.

METODOLOGY

Characteristics of the study participants and sampling

A case-control study was designed with 138 women from a population of 423 who use the Brazilian Unified Health System (*Sistema Único de Saúde* [SUS]) for routine gynecological consultations in the city of Francisco Beltrão, state of Paraná, Brazil. Data were collected between September and October 2017. Collection sites included four Basic Health Units of the Family Health Strategy (*Antonio de Paiva Cantelmo*, *Cristo Rei*, *Industrial*, and *Pinheirinho*), a reference unit for outpatient gynecological and obstetric care, the Women's Institute, and the oncology center of the city. All participants had the inclusion criteria of having had their first sexual intercourse, excluding pregnant women. The case and control groups were age-matched (± 3 years) and included 39 women with positive HPV detection and 101 women without viral infection. Individual interviews were conducted using a literature-based structured questionnaire to characterize the profile of the participants [29, 30].

During the gynecological visit, women underwent collection of material for Papanicolaou cytology, and the endocervical brush used for the collection was

placed in a microtube with 2 mL of saline solution and kept at a temperature of -20°C for subsequent analyses [14, 28, 31]. Biological material storage, extraction, virus detection, and *GSTP1* polymorphism (rs1695) analysis were performed at the Laboratory of Molecular Biology and Human Cytogenetics of the State University of Western Paraná, in the city of Francisco Beltrão, state Paraná.

The study was approved by both the Human Research Ethics Committee and the National Research Ethics Commission (Opinion No. 2,254,450 and Certificate of Ethical Appraisal No. 72983817.5.0000.0107). After receiving detailed information about the research, women who agreed to enroll in the study signed the informed consent form to confirm their participation.

DNA Isolation and HPV Detection

From the stored initial sample, a 200 µl aliquot was taken for isolation of total genomic DNA according to the manufacturer's extraction protocol "Silica Columns DNA Extraction and Purification Kit" (*Nova Biotecnologia*, São Paulo, Brazil). The quality of the extraction was determined by amplification of a 268 bp segment of the human β -globin gene by polymerase chain reaction (PCR), synthesized with the *primers* GH20 (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3') e PC04 (5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3') [32, 33]. For molecular detection of HPV, specific *primers* were used for in vitro synthesis of the coding region of the virus L1 gene, using *primers* MY09 (5'-CGTCCMAARGGAWACTGATC-3') e MY11 (5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'), which amplify a 450 bp fragment; both procedures followed the same PCR conditions proposed previously [14, 33]. A HeLa cell DNA sample containing the HPV 18 genome was used as a positive control for virus detection. All amplicons were analyzed by 2% agarose gel electrophoresis under a potential difference of 150 volts for half an hour, visualized under ultraviolet (UV) light, and photodocumented.

***GSTP1* Single Nucleotide Polymorphism (rs1695)**

The Tetra Amplification Refractory Mutation System (T-ARMS) method via PCR for genotyping the *GSTP1* SNP (rs1695) was based on another study [34], with some adaptations. The primer pairs used were:

Forward outer 5'-CAGGTGTCAGGTGAGCTCTGAGCACC-3' and reverse outer 5'-ATAAGGGTGCAGGTTGTGTCTTGTCCCA-3' for the A allele (Ile) and;

Forward inner A/Ile 5'-CGTGGACCTCCTCCGCTGCAAATCCA-3' and reverse Inner 5'-GCTCACATAGTTGGTGTAGATGAGGGATAC-3' for the G allele (Val).

The final volume of each PCR reaction was 25 μ l, with 10 mM Tris-HCl, 2 mM MgCl₂, 0.1 mM dNTPs, 0.5 μ M of each primer, 1.25 U Taq DNA Polymerase (*Ludwig Biotecnologia Taq DNA Polymerase*, Brazil), and total DNA added at the end (50 ng/ μ l). Cycling steps included: initial denaturation at 95°C for 5 minutes, followed by 30 cycles of 95°C for 35 seconds, 62°C for 35 seconds, 72°C for 50 seconds, and a final extension at 72°C for 10 minutes. The amplicons generated were 233 bp for the A allele, 290 bp for the G allele, and 467 bp for the external primers or control band (Figure 1).

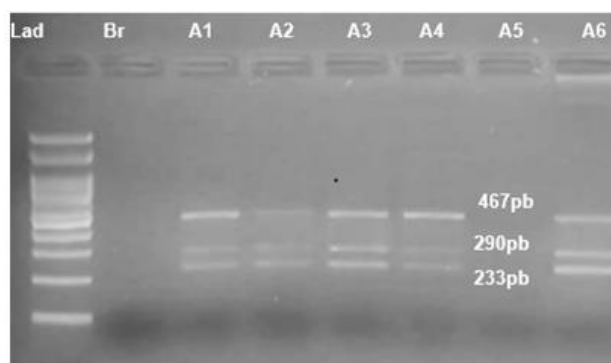


Figure 1 – Polymorphic profile of fragments generated for *GSTP1*. The A Allele (233pb), the G Allele (290pb), and control band (467pb).

Statistical analysis

Data were tabulated and analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 24.0. Absolute and relative frequencies of variables were determined to characterize cases and controls. Allelic and genotypic frequencies were determined, and Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was tested

using the chi-squared test (χ^2) for the rs1695 polymorphism, having two controls not amplified in a previous step, thus the results of 39 cases and 99 controls. Yates' correction for continuity and Fisher's exact test were used to test the association between SNP and HPV infection ($p < 0.20$). Logistic regression analysis was performed, and the odds ratio (OR) was determined considering α less than 5% ($p < 0.05$) and 95% confidence interval (CI). In the logistic regression, marital status, smoking habits, contraceptive use, and current cytology results were included as confounders.

RESULTS

The sociodemographic, behavioral, and gynecologic characteristics of the study participants are shown in Table 1. Most of cases (59%, median = 33) and controls (61.4%, median = 42) were younger than 40 years, which represents a population of young women. White race was predominant in both groups, which is typical for the Southwest Paraná. Marital status showed that the majority were in a stable relationship or married and had more than eight years of education. Lifestyle habits showed low alcohol consumption and low frequency of female smokers in both groups.

Age at first sexual intercourse showed that 69.2% of cases and 75.2% of controls started their sexual life at age 18 or younger. Two or more lifetime sexual partners were reported for 69.2% of cases, but most women did not have a new partner in the last year. Contraceptive use was most commonly reported, but condom use was less commonly reported by the participants, a condition that exposed them to various STIs. Although most participants did not have a history of STIs, HPV infection was the most common (10%) among those who did. This means that 7.7% of the case group were already infected with the virus, as were 10.9% of the women in the control group. With regard to cervical abnormalities, these were found mainly in the cases but without statistical significance. Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) had the highest prevalence (7.7%), followed by high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) and atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), both present in 5.1% of cases. In terms of cervical microbiota, *Gardnerella vaginalis* was the most common in the population studied.

Table 1. Sociodemographic, behavioral, and gynecological characteristics of women treated in the city of Francisco Beltrão, state of Paraná.

Variables	Sociodemographic characteristics			p*
	Cases (n = 39)	Controls (n = 101)	Total	
Age (mean ± SD)	39.64 (± 15.19). range: 19 to 68 years	40.34 (± 13.81). range: 19 to 74 years		
≤ 40 years	23 (59%)	62 (61.4%)	85 (60.7%)	0.945
> 40 years	16 (41%)	39 (38.6%)	55 (39.3%)	
Race				
White	30 (76.9%)	79 (78.2%)	109 (77.9%)	1
Others	9 (23.1%)	22 (21.8%)	31 (22.1%)	
Marital status				0.073
Married or in a stable relationship	24 (61.5%)	79 (78.2%)	103 (73.6%)	
Single, divorced, or widowed	15 (38.5%)	22 (21.8%)	37 (26.4%)	
Schooling				0.841
≤ 8 years	14 (35.9%)	33 (32.7%)	47 (33.6%)	
> 8 years	25 (64.1%)	68 (67.3%)	93 (66.4%)	
Compartmental patterns				
Alcohol intake				0.799
Yes (up to twice in a week)	19 (48.7%)	45 (44.6%)	64 (45.7%)	
No	20 (51.3%)	56 (55.4%)	76 (54.3%)	
Smoking habit				0.141
Never smoked	26 (66.7%)	81 (80.2%)	107 (76.4%)	
Yes/ex-smoker	13 (33.3%)	20 (19.8%)	33 (23.6%)	
Sexual and gynecological patterns				
Age at first intercourse				0.61
≤ 18 years	27 (69.2%)	76 (75.2%)	103 (73.6%)	
> 18 years	12 (30.8%)	25 (24.8%)	37 (26.4%)	
Number of sexual partners in lifetime				0.504
Only 1	12 (30.8%)	39 (38.6%)	51 (36.4%)	
Two or more	27 (69.2%)	62 (61.4%)	89 (63.3%)	
Number of sexual partners in the last year				0.477
None	28 (71.8%)	80 (79.2%)	108 (77.1%)	
One or more	11 (28.2%)	21 (20.8%)	32 (22.9%)	
Parity				0.948
No children	9 (23.1%)	21 (20.8%)	30 (21.4%)	
At least one child	30 (76.9%)	80 (79.2%)	110 (78.6%)	
Contraceptives				0.191
No/never used	7 (17.9%)	31 (30.7%)	38 (27.1%)	
Yes, and have used	32 (82.1%)	70 (69.3%)	102 (72.9%)	
Time of use				0.405
Does not use	9 (23.1%)	33 (32.7%)	42 (30%)	

≤ 1 year	3 (7.7%)	3 (3%)	6 (4.3%)	
≤ 5 years	11 (28.2%)	21 (43.6%)	32 (22.9%)	
> 5 years	16 (41.0%)	44 (43.6)	60 (42.9%)	
Use of preservative				0.288
Yes/sometimes	18 (46.2%)	35 (34.7%)	53 (37.9%)	
No	21 (53.8%)	66 (65.3%)	87 (62.1%)	
<i>Continuation</i>				
Oral sex practice				0.909
Yes	15 (38.5%)	36 (35.6%)	51 (36.4%)	
No	24 (61.5%)	65 (64.4%)	89 (63.6%)	
History of sexually transmitted infections				0.663
Yes	4 (10.3%)	15 (14.9%)	19 (13.6%)	
No	35 (89.7%)	86 (85.1%)	121 (86.4%)	
Recent history of vaginitis				0.5
Yes	17 (43.6%)	36 (35.6%)	53 (37.9%)	
No	22 (56.4%)	65 (64.4%)	87 (62.1%)	
Cytopathology report				0.003
<i>Continuation</i>				
Negative for neoplasm	31 (79.5%)	99 (98.0%)	130 (92.9%)	
LSIL	3 (7.7%)	1 (1.0%)	4 (2.9%)	
HSIL	2 (5.1%)	—	2 (1.4%)	
ASC/AGC	1 (2.6%)	—	1 (0.7%)	
ASC-US	2 (5.1%)	—	2 (1.4%)	
Microbiological analysis				0.256
Normal	30 (77%)	76 (75.2%)	106 (75.7%)	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	6 (15.4%)	15 (14.9%)	21 (15%)	
<i>Candida albicans</i>	—	5 (5.0%)	5 (3.6%)	
Unsatisfactory	3 (7.7%)	5 (5.0%)	8 (5.7%)	

LSIL – Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion; HSIL – High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion; ASC/AGC – Atypical Squamous or Glandular Cells; ASC-US – Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance. p^* = Significance of the χ^2 test, considered to be less than 0.20 ($p < 0.20$).

Regarding the *GSTP1* polymorphism (rs1695), the distribution of allelic and genotypic frequencies in HPV-infected participants and controls is described in Table 2. Genotypic frequencies are presented in HWE. In the study population, the A allele was more common than the G allele, with frequencies of 63.04% and 36.96%, respectively. Among the homozygous genotypes, AA had a frequency of 35.5% and GG 9.4%, and the heterozygous combination AG was the most frequent with 55.1%. In two controls, there was no amplification of *GSTP1*, so the final number for the group was 138 women.

Table 2. Observed allele and genotype frequencies and Hardy-Weinberg Equilibrium in the population.

SNPs	Genotypes				Alleles	
GSTP1 (rs1695)	AA	GG	AG	0.156	A (Ile/ancestral)	G (Val/variant)
Observed number	49	13	76		174	102
Observed frequency	35.50%	9.40%	55.10%		63%	37%
Expected frequency (HWE)	39.70%	13.70%	46.60%		NA	NA

GSTP1 - Glutathione S-Transferase P1. χ^2 test with 95% significance for HWE. NA (not applicable).

The results showed a significant difference in *GSTP1* (rs1695) polymorphic variants between women with and without STI. The A allele (OR: 0.175; 95% CI 0.071-0.434; $p < 0.001$), either in isolation or in homozygosity (OR: 0.237; 95% CI 0.091-0.616; $p < 0.003$), showed protective effects against viral infection. In contrast, the G allele was shown to be a risk factor for STI (OR: 4.22; 95% CI 1.623-10.989; $p < 0.003$), increasing the odds of infection more than fourfold compared to those with the A allele. For the allelic combinations, a similar result was obtained for the heterozygous genotype (AG), which increased the susceptibility of women to infection by almost six times (OR: 5.714; 95% CI 2.303-14.180; $p < 0.001$) compared to homozygous genotypes (Table 3).

Table 3. Distribution of allele and genotype frequencies of the *GSTP1* SNP (rs1695) in the study population.

Polymorphism	Women in the study (n = 138)	Cases (n = 39)	Control (n = 99)	p-value	OR (95% CI)	p-value*
Alleles rs1695						
A (ancestral)	174 (63.04%)	44 (56.41%)	130 (65.66%)	< 0.001	0.175 (0.071-0.434)	< 0.001
G	102 (36.96%)	34 (43.59%)	68 (34.34%)	0.004	4.22 (1.623-10.989)	0.003
Genotypes (rs1695)						
AA	49 (35.5%)	6 (12.2%)	43 (87.8%)	< 0.001	1 (Reference)	
GG	13 (9.4%)	1 (7.7%)	12 (93.3%)		0.191 (0.024-1.520)	0.118
AG	76 (55.1%)	32 (42.1%)	44 (57.9%)		5.714 (2.303-14.180)	< 0.001

p^* : Significance of the chi-squared test ($p < 0.20$). Consider the line for the sum of cases and controls in the X2 distribution; p^{**} : Significance of logistic regression ($p < 0.05$).

DISCUSSION

To date, this is the first Brazilian study conducted in the Southern Brazil to investigate the association between the SNP rs1695 of the *GSTP1* gene and susceptibility to HPV infection. The persistent state of viral infection and the factors that contribute to the entry of the virus into the body strengthen the assumption that evasion of host defense and detoxification mechanisms is an important step in HPV-related tumor progression [5], supporting the aim of the study.

The results of the study suggest that susceptibility to HPV infection may be associated with the G allele and its heterozygous state for the rs1695 polymorphism of the *GSTP1* gene. Conversely, the A allele, when isolated and in its homozygous form, may be considered a protective factor against viral infection in the participants.

Previous studies by the research group showed that the theta class (*GSTT*) of GSTs showed a protective association against HPV infection in women with nullity for the *GSTT1* gene (OR_{adj} 0.219; 95% CI; 0.078-0.618; $p = 0.004$) [14]. In the same study, no association was found for *GSTM1* variations. The results of the *GSTP1* rs1695 SNP, analyzed in the same geographical area, indicate a higher risk of infection in women with the G allele alone (OR_{adj} 4.22; 95% CI 1.623-10.989; $p = 0.003$) or in heterozygosity (AG) (OR_{adj} 5.714 95% CI 2.303-14.180; $p < 0.001$). The A allele (ancestral) was characterized as a protective factor against STIs, as was the AA genotype (OR_{adj} 0.237 95% CI 0.091-0.616; $p < 0.001$). Interestingly, patients with the homozygous genotype (GG) showed no significant association, suggesting that only one copy of the G allele influences viral infection.

A study conducted in the state of Pernambuco, Brazil [19] found no independent association between rs1695 and infection risk; however, it highlighted a synergy between oral contraceptive use and viral infection with the SNP, the combination of which may lead to the emergence of cervical lesions because of the persistence of viral infection. Similarly, other studies found no association between the rs1695 polymorphism and cervical cancer or susceptibility to HPV infection [16, 26, 35].

An important finding highlights that Brazilian women with the AG and GG genotypes for the rs1695 SNP and infected with HPV have a 29-fold increased risk of developing cervical lesions when associated with smoking [26]. A meta-analysis

found that the AA genotypic variant of *GSTP1* was not associated with the risk of developing cervical lesions [27], similar to our findings, where the allelic and homozygous presence of A was not associated with susceptibility to STIs. The *GSTP1* gene is involved in the metabolism of various carcinogenic substances, such as those found in cigarettes (polycyclic aromatic hydrocarbons), and the impairment of *GSTP1* enzymatic activity in the respective genotypes affects the detoxification of harmful substances in the body [36].

The present study focused on verifying the association between the SNP and viral infection, and when a possible interaction with smoking was included, no association was demonstrated. On the other hand, a possible loss or impairment of enzymatic function in the presence of the G allele may favor HPV infection, according to the results presented. The altered activity of glutathione because of genetic variations increases the risk of cancer, possibly by reducing cellular protection against damage and DNA mutations generated by the restriction of enzymatic activity. Decreased activity of antioxidant enzymes, including GSTs, has been described in patients with cervical cancer. The deficiency of these enzymes favors the progression of HPV infection by activating the adaptor complex AP-1, a fundamental factor for the expression of the viral oncoproteins E6 and E7, which are involved in the proliferation of HPV [26].

The vast majority of studies seek to understand the interference of genetic polymorphisms with the development or evolution of various types of cancer, including cervical cancer [20-23]. In addition to neoplasms, SNPs have also been studied in a number of clinical conditions, such as diabetes [37, 38], metabolic syndrome [39], and pre-eclampsia [40, 41]. However, the results are contradictory. In Thai women, the presence of the G allele in homozygosity or heterozygosity for rs1695 contributed to a reduction in the risk of developing cervical cancer [25]. A meta-analysis conducted by Indian researchers presented a different conclusion, confirming that the presence of the G allele contributes to a higher susceptibility to various types of cancer [42]. Our focus was to analyze *GSTP1* (rs1695) in relation to susceptibility to HPV infection, which makes the results presented here important since the presence of the virus is the main factor for lesions and cervical carcinogenesis [4, 5].

The high prevalence of HPV infection in women classified as young adults has been demonstrated in several studies [6, 7, 26]. In Brazil, the prevalence rate

of HPV infection was 53.6% in 2020 [7]. Another study reported HR-HPV subtypes in Brazilian women at 28.4% [43], while the estimated prevalence in North American women aged 20 to 40 years was 42.5% [44]. On the other hand, a Brazilian study found a low prevalence (6.8%) [45] in women from the same geographic region as the present study. The findings that the G allele was less frequent than the A allele and that it increases susceptibility to STIs allows us to conclude that the reduced prevalence of viral infection corresponds to the risk generated by the allelic form. Although there is still no molecular basis for this relationship, knowing the genetic profile of the population can characterize groups with greater susceptibility to viral infection and contribute to the prognosis and evolution of the infection.

Although an association between the risk of HPV infection and the characteristics of our participants could not be demonstrated, other studies have shown that sexual behaviors (e.g., age at first intercourse, number of sexual partners, and lifetime parity) tend to increase susceptibility to HPV infection [46, 47]. Furthermore, it was not possible to establish associations between the presence or absence of viral infection and cervical lesions because only a small fraction of cases and controls had them.

Although the study did not consist of a large sample of participants, care was taken to match cases and controls to minimize or eliminate research limitations.

CONCLUSIONS

Our results showed that the G allele and the heterozygous form of the rs1695 SNP of the *GSTP1* gene are risk factors for HPV infection in women. Therefore, women from Southwestern Paraná with only the G allele and with the AG genotype, respectively, are four to six times more susceptible to HPV infection compared to the control group. Further studies regarding the association of the rs1695 polymorphism of the *GSTP* gene in larger samples would be important to understand results such as those found in this study.

Acknowledgements

The Municipal Health Department of Francisco Beltrão/PR which provided access to the Basic Health Units where the collections took place;

The *Universidade Estadual do Oeste do Paraná* that guaranteed access to the Molecular Biology laboratory where the samples were processed.

To the HPV study group at the Molecular Biology and Cytogenetics Laboratory of the *Universidade Estadual do Oeste do Paraná*, Francisco Beltrão campus. And CAPES for providing the scholarship.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest

All authors declare that they have no conflict to interest.

Author Contribution

Conceptualization: M.B.N and L.C.L. Methodology: M.B.N, F.R.T., I.C.T, A.K. and L.C.L. Formal analysis and investigation: M.B.N, F.R.T., and L.C.L. Writing - original draft preparation: M.B.N, F.R.T., C.R.P, and L.C.L. Writing - review and editing: M.B.N, F.R.T., I.C.T., C.R.P, and L.C.L. Resources: I.C.T., A.K.L. and L.C.L. Supervision: M.B.N, F.R.T., and L.C.L.

Consent to Participate

All authors informed consent.

Consent to Publish

All authors approved the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

REFERENCES

1. Haręża DA, Wilczyński JR, Paradowska E (2022) Human Papillomaviruses as Infectious Agents in Gynecological Cancers Oncogenic Properties of Viral Proteins. *IJMS*. 23(3):1818. <https://doi.org/10.3390/ijms23031818>

2. Leto MGP., Santos Júnior GF Porro, A. M., & Tomimori, J (2011). Human papillomavirus infection: Etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. *An Bras Dermatol* 86(2):306–317. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962011000200014>
3. Balasubramaniam SD, Balakrishnan V, Oon CE, Kaur G (2019). Key Molecular Events in Cervical Cancer Development. *Medicina* 55(7): 384. <https://doi.org/10.3390/medicina55070384>
4. Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L (2006) Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 24:S1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.05.115>
5. Lebeau A, Bruyere D, Roncarati P, Peixoto P, Hervouet E, Cobraiville G, et al (2022) HPV infection alters vaginal microbiome through down-regulating host mucosal innate peptides used by Lactobacilli as amino acid sources. *Nat Commun.* 13(1):1076. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28724-8>
6. Sargent A, Bailey A, Almonte M, Turner A, Thomson C, et al (2008) Prevalence of type-specific HPV infection by age and grade of cervical cytology: data from the ARTISTIC trial. *Br J Cancer.* 98(10):1704–9. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604324>
7. Wendland EM, Villa LL, Unger ER, Domingues CM, Benzaken AS (2020) POP-Brazil Study Group, et al. Prevalence of HPV infection among sexually active adolescents and young adults in Brazil: The POP-Brazil Study. *Sci Rep* 10(1):4920. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61582-2>
8. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I (2015) Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol.* 25(S1):2–23. <https://doi.org/10.1002/rmv.1822>
9. Graham SV (2017) The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci* 131(17):2201–21. <https://doi.org/10.1042/CS20160786>
10. Kombe Kombe AJ, Li B, Zahid A, Mengist HM, Bounda GA, Zhou Y, et al (2021) Epidemiology and Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases, Molecular Pathogenesis, and Vaccine Evaluation. *Front Public Health* 8:552028. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.552028>
11. McBride AA (2022) Human papillomaviruses: diversity, infection and host interactions. *Nat Rev Microbiol* 20(2):95–108. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00617-5>
12. Deng N, Zhou H, Fan H, Yuan Y (2017) Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility. *8(66):* 110635-110649. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22372>

13. Shao W, Xia H, Lan Q, Gu J, Huang H, Zheng F, et al (2021) Polymorphism rs2682818 participates in the progression of colorectal carcinoma via miR-618-TIMP1 regulatory axis. *Sci Rep* 11(1):23186. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02613-4>
14. Bortolli APR, Vieira VK, Treco IC, Pascotto CR, Wendt GW, Lucio LC (2022a) GSTT1 and GSTM1 polymorphisms with human papillomavirus infection in women from southern Brazil: a case–control study. *Mol Biol Rep* 49(7):6467–74. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07475-1>
15. Oakley A (2011) Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metab Rev* 43(2):138–51. <https://doi.org/10.3109/03602532.2011.558093>
16. Kiran B, Karkucak M, Ozan H, Yakut T, Ozerkan K, Sag S, et al (2010) GST (GSTM1 , GSTT1 , and GSTP1) polymorphisms in the genetic susceptibility of Turkish patients to cervical cancer. *J Gynecol Oncol.* 21(3):169. <https://doi.org/10.3802/jgo.2010.21.3.169>
17. Hollman A, Tchounwou P, Huang HC (2016) The Association between Gene-Environment Interactions and Diseases Involving the Human GST Superfamily with SNP Variants. *IJERPH* 13(4):379. <https://doi.org/10.3390/ijerph13040379>
18. Ferreira DC, Jr VM, Cunha KSG, Janini MER, Curvedo JAR (2007) Cytochrome P450 enzymes and their correlation with the risk for developing mouth cancer – a condition of art. *R. Ci Méd Biol* 6(2):223-232
19. Chagas BS, Gurgel APAD, Júnior SSLP, Lima RCP, Cordeiro MN, Moura RR, et al. Research Article Synergic effect of oral contraceptives, GSTP1 polymorphisms, and high-risk HPV infection in development of cervical lesions. *Genet Mol Res [Internet].* 2017 [access 21 mar 2023];16(3). Disponível em: http://www.funpecrp.com.br/gmr/articles/year2017/vol16-3/pdf/gmr-16-03-gmr.16039742_0.pdf
20. Elhoseiny S, El-Wakil M, Fawzy M, Rahman AA. GSTP1 (Ile105Val) Gene Polymorphism: Risk and Treatment Response in Chronic Myeloid Leukemia (2014) *JCT* 05(01):1–10. <http://dx.doi.org/10.4236/jct.2014.51001>
21. Parl FF. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk (2005) *Cancer Letters* 221(2):123–9. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.06.016>
22. Ansolin PL, Damin DC, Alexandre CP (2010) Polymorphism of Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 and Association with Clinicopathological Aspects in Colorectal Carcinoma. *Rev bras Coloproct* 30(3): 281-288.
23. Zhen S, Hu CM, Bian LH (2013) Glutathione S-Transferase Polymorphism Interactions with Smoking Status and HPV Infection in Cervical Cancer Risk: An Evidence-Based Meta-Analysis. Coleman WB, organizador. *PLoS ONE* 8(12):e83497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083497>

24. Sharma V, Sonkar SC, Singhal P, Kumar A, Singh RK, Ramachandran VG, et al (2021) Functional impact of allelic variations/haplotypes of TNF- α on reproductive tract infections in Indian women. *Sci Rep* 11(1):627. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79963-y>
25. Phuthong S, Settheetham-Ishida W, Natphopsuk S, Ishida T (2018) Genetic Polymorphism of the Glutathione S-transferase Pi 1 (GSTP1) and Susceptibility to Cervical Cancer in Human Papilloma Virus Infected Northeastern Thai Women. *Asian Pac J Cancer Prev.* <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.2.381>
26. Galvão AM et al (2021) Glutathione-S-transferase P1 polymorphism and oxidative stress markers in women infected by human papilomavirus. *Brazilian Journal of Research in Health Sciences.* 8(15):3-13.
27. Tian S, Yang X, Zhang L, Zhao J, Pei M, Yu Y, et al (2019) Polymorphic variants conferring genetic risk to cervical lesions support GSTs as important associated loci. *Medicine* 98(41):e17487. <http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000017487>
28. Aguiar ES de, Giacomazzi J, Schmidt AV, Bock H, Saraiva-Pereira ML, Schuler-Faccini L, et al (2012) GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms, breast cancer risk factors and mammographic density in women submitted to breast cancer screening. *Rev bras epidemiol* 15(2):246–55. <https://doi.org/10.1590/s1415-790x2012000200002>
29. Nonnenmacher B, Breitenbach V, Villa LL, Prolla JC, Bozzetti MC (2002) Identification of human papillomavirus by molecular biology in asymptomatic women. *Rev Public Health* 36(1):95–100. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102002000100015>
30. Oliveira GR, Vieira VC, Barral MFM, Döwich V, Soares MA, Conçalves CV, et al (2013) Risk factors and prevalence of HPV infection in patients at Basic Health Units and a University Hospital in Southern Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet* 35(5):226–32. <https://doi.org/10.1590/S0100-72032013000500007>
31. Treco IC, Vieira VK, Silva JC da, Treco FR, Ferreto LED, Lucio LC (2021) Prevalence and factors associated to cervical changes in units from the Single Health System. *Rev Gaúcha Enferm.* 42:e20200233. <https://doi.org/10.1590/1983-1447.2021.20200233>
32. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, et al (1985) Enzymatic Amplification of β -Globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science* 230(4732):1350–4. <https://doi.org/>
33. Trugilo KP, Cebinelli GCM, Berti FCB, Okuyama NCM, Cezar SF, Sena MM, et al (2019) Polymorphisms in the TGFB1 signal peptide influence human papillomavirus infection and development of cervical lesions. *Med Microbiol Immunol* 208(1):49–58. <https://doi.org/10.1007/s00430-018-0557-y>

34. Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Fazaeli A, Bahari A, Hashemzahi NA, Shafieipour S, et al (2012) Association of Genetic Polymorphisms of Glutathione-S-Transferase Genes (*GSTT1* , *GSTM1* , and *GSTP1*) and Susceptibility to Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Zahedan, Southeast Iran. *DNA and Cell Biology* 31(5):672–7. <https://doi.org/10.1089/dna.2011.1343>
35. Palma S, Novelli F, Padua L, Venuti A, Prignano G, Mariani L, et al (2010) Interaction between glutathione-S-transferase polymorphisms, smoking habit, and HPV infection in cervical cancer risk. *J Cancer Res Clin Oncol* 136(7):1101–9. <https://doi.org/10.1007/s00432-009-0757-3>
36. Zhao E, Hu K, Zhao Y (2017) Associations of the glutathione S-transferase P1 Ile105Val genetic polymorphism with gynecological cancer susceptibility: a meta-analysis. *Oncotarget* (25):41734–9. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.1764>
37. Azarova I, Bushueva O, Konoplya A, Polonikov A (2018). Glutathione S-transferase genes and the risk of type 2 diabetes mellitus: Role of sexual dimorphism, gene-gene and gene-smoking interactions in disease susceptibility. *J of Diabetes* 10(5):398–407. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12623>
38. Montazeri-Najafabady N, Dabbaghmanesh MH, Namavar Jahromi B, Chatrabnous N, Chatrsimin, F (2022) The impact of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms on susceptibility to gestational diabetes in Iranian population. *J. Matern Fetal Neonatal Med* 35(8): 1451–1456. <https://doi.org/10.1080/14767058.2020.1757062>
39. Oliveira JS, Boery R NOS (2018) Association of polymorphic variants with metabolic syndrome: An integrative review. *J Vasc Bras* 17(2):141–147. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.007917>
40. Slijvancanin Jakovljevic T, Kontic-Vucinic O, Nikolic N, Carkic J, Soldatovic I, Milasin, J (2019) Glutathione-S-transferase M1 polymorphism and pro-inflammatory cytokines tumour necrosis factor- α and interleukin-1 β are associated with preeclampsia in Serbian women. *Am J Reprod Immunol* 81(5):e13105. <https://doi.org/10.1111/aji.13105>
41. Feyda Nursal A, Mervan Aytac H, Sentürk Ciftci H, Sila Yazar M, Oyaci Y, Pehlivan, M, Pehlivan S (2020) TNF- α -308 G/A variant may be associated with bipolar disorder in a Turkish population. *Arch Clin* 47(6). <https://doi.org/10.15761/0101-608300000000258>
42. Mandal RK, Mittal RD (2020) Glutathione S-Transferase P1 313 (A > G) Ile105Val Polymorphism Contributes to Cancer Susceptibility in Indian Population: A Meta-analysis of 39 Case–Control Studies. *Ind J Clin Biochem* 35(1):8–19. <https://doi.org/10.1007/s12291-018-0787-1>

43. Miranda, A. E., Silveira, M. F., Travassos, A. G., Tenório, T., Val, I. C. C., Lannoy, L., Mattos Junior, H. S., & Carvalho, N. S. (2017). High-risk papillomavirus infection among women living with human Immunodeficiency virus: Brazilian multicentric study. *J Med Virol* 89(12), 2217–2223. <https://doi.org/10.1002/jmv.24906>
44. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, et al (2011) Prevalence of Genital Human Papillomavirus Among Females in the United States, the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2006. *J Infect Dis.* 204(4):566–73. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir341>
45. Bortolli APR, Treco IC, Vieira VK, Pascotto CR, Ferreto LED, Wendt GW, et al (2022b) Prevalence of HPV and associated factors in a population of women living in southern Brazil. *Braz J Microbiol* 53:1979–86. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00849-4>
46. Tay SK, Oon LLE (2014) Prevalence of cervical human papillomavirus infection in healthy women is related to sexual behaviours and educational level: a cross-sectional study. *Int J STD AIDS* 25(14):1013–21. <https://doi.org/10.1177/0956462414528315>
47. Mangieri LFL, Cezar-dos-Santos F, Trugilo KP, Watanabe MAE, de Jaime Curti RR, Castilha EP, et aln (2023) Cross-Sectional Analysis of Human Papillomavirus Infection and Cytological Abnormalities in Brazilian Women. *Pathogens* 12(1):148. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010148>

7. ANEXOS

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Título do Projeto: PERFIL EPIDEMIOLOGICO E IDENTIFICAÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) POR BIOLOGIA MOLECULAR EM MULHERES

(Indianara C. Treco – 46999764010; Léia Carolina Lucio – 46999332938)

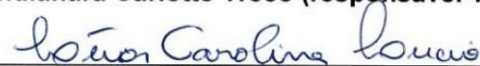
Convidamos a **Sra. ou Senhorita** a participar de nossa pesquisa que tem o objetivo de **Identificar os fatores associados à infecção por HPV e os genótipos mais frequentes em mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde, no Município de Francisco Beltrão- PR, Brasil.** Esperamos, com este estudo, **possibilitar a adoção de intervenções e medidas estratégicas para fortalecimento e redirecionamento das políticas e programas regionais de controle do câncer do colo do útero.** Para tanto, solicitamos a sua participação respondendo o presente questionário e autorizando o uso do descarte do exame citopatológico, garantimos o sigilo quanto a sua identificação na pesquisa. Durante a execução do projeto os possíveis riscos estão relacionados a algum constrangimento quanto algumas perguntas presentes no questionário durante a entrevista. Caso ocorra o constrangimento, o pesquisador tranquilizará o entrevistado informando que o objetivo da pesquisa é científico e que tem obrigação de resguardar o entrevistado e o sigilo sobre sua identidade. Sua identidade não será divulgada e seus dados serão tratados de maneira sigilosa, sendo utilizados apenas fins científicos. Você também não pagará nem receberá para participar do estudo. Além disso, você poderá cancelar sua participação na pesquisa a qualquer momento. No caso de dúvidas ou da necessidade de relatar algum acontecimento, você pode contatar os pesquisadores pelos telefones mencionados acima ou o Comitê de Ética pelo número 3220-3092. Este documento será assinado em duas vias, sendo uma delas entregue ao sujeito da pesquisa.

Declaro estar ciente do exposto e **(desejo participar do projeto)** ou **(autorizo nome do menor)** a participar da pesquisa. _____

(Assinatura da entrevista ou responsável)

Eu, **(Léia Carolina Lucio ou Indianara Carlotto Treco)**, declaro que forneci todas as informações do projeto ao participante e/ou responsável.


Indianara Carlotto Treco (responsável 1)


Léia Carolina Lucio (responsável 2)

ANEXO II



INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

INICIAIS NOME: _____ Nº

REQUISIÇÃO: _____

1) NASCIMENTO: ___/___/___ IDADE _____

2) RAÇA: _____

1. Branca; 2. Negra; 3. Parda; 4. Indígena; 5. Amarela.

3) ESTADO CIVIL: _____

1. Casada; 2. Solteira; 3. Divorciada, viúva. 4. União estável

4) PARIEDADE: _____

1. Nenhum; 2. Um; 3. Dois; 4. Mais que três.

5) ESCOLARIDADE: _____

1. Nenhuma; 2. Ensino Fundamental incompleto; 3. Ensino Fundamental Completo; 4. Ensino Médio incompleto; 5. Ensino Médio Completo; 6. Ensino Superior incompleto; 8. Ensino Superior completo.

6) RENDA: _____

7) NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS NA VIDA: _____

1. Um; 2. Dois; 3. Três; 4. Mais que quatro.

8) IDADE DA PRIMEIRA RELAÇÃO SEXUAL: _____

1. ≤14 anos; 2. 15-16 anos; 3. 17-18 anos; 4. 19-21 anos; 5. ≥22 anos.

9) USA ANTICONCEPCIONAL _____

1. Sim; 2. Não; 3. Nunca usou; 4. Não mais.

10) TEMPO DE USO _____

1. < 1 ano; 2. 1-5 anos; 3. > 5 anos;

11) USA PRESERVATIVO NA RELAÇÃO SEXUAL _____

1. Sim; 2. Não.

12) HISTÓRIA DE IST _____

1. sim; 2.não.

13) CASO A RESPOSTA ANTERIOR FOR: SIM. QUAL?

14) OCORRÊNCIA RECENTE DE INFECÇÃO VAGINAL_____

1. sim; 2.não.

15) ÚLTIMO EXAME GINECOLÓGICO (EXAME DO PAPANICOLAU) _____

1. ≤ 1 ano; 2. ≥ 2 anos.

16) RESULTADO DO ÚLTIMO EXAME GINECOLÓGICO (EXAME DO PAPANICOLAU) _____

1. Normal; 2. Alterado.

17) FUMA _____

1. sim; 2. Não; 3 ex. fumante

ANEXO III

NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA FAZ CIÊNCIA

Submissões

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso. Acesso em uma conta existente ou Registrar uma nova conta.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, justificar em "Comentários ao Editor".
- Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB).
- Todos os endereços de páginas na Internet (URLs), incluídas no texto (Ex.: <http://www.unioeste.br>) estão ativos e prontos para clicar.
- O texto usa uma fonte de 12 pontos; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
- O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.
- A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação por Pares Imparcial.
- O artigo está atualizado para a Norma ABNT NBR 10520/2023 para uso de citações e referências, publicada em agosto de 2023. Observação: Todos os artigos submetidos deverão seguir a Norma ABNT NBR 10520/2023. Os artigos que estiverem fora das normas atualizadas terão a submissão recusada pelos editores.

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

1. INSTRUÇÕES GERAIS

- As propostas submetidas, pelos autores, à publicação na Revista Faz Ciência devem respeitar as normas estabelecidas pela Revista.

- A Revista Faz Ciência é um periódico interdisciplinar, de caráter científico, que publica artigos inéditos, resenhas, documentos, que abrangem as diversas áreas das ciências humanas, ciências sociais aplicadas e ciências da saúde.
- A Revista recebe artigos em demanda contínua ou sob a forma de núcleos temáticos ou dossiês.
- A Revista publica artigos no idioma Português.
- Os textos deverão ser enviados à Revista exclusivamente pelo sistema Online disponível no endereço: <http://e-revista.unioeste.br/index.php/fazciencia>

Os autores devem seguir os passos do processo de submissão de artigos.

- Os originais não serão devolvidos aos autores.
- Os artigos devem ter no máximo **seis** autores. **Todos deverão estar cadastrados no portal da Revista Faz Ciência.**
- O envio dos textos implica a cessão de direitos autorais e de publicação à Revista Faz Ciência.
- Os trabalhos científicos publicados são de inteira responsabilidade dos autores.
- Não haverá custo para o autor para publicação na Revista Faz Ciência.
- Os autores que submeterem artigos à Revista Faz Ciência devem seguir as instruções gerais (item 1) e as normas para publicação (item 2), assim como tomar ciência das informações disponibilizadas na página da Revista. **Os trabalhos que não estiverem em conformidade com as normas estabelecidas nesta instrução não serão aceitos.**

2. **Normas:** A composição dos trabalhos, obrigatoriamente, deverá obedecer às seguintes orientações:

- **Editor de textos:** Microsoft Word (7.0 ou posterior);
- **Número de laudas:** 15 (quinze) a 25 (vinte);
- **Tamanho do papel:** A4 (21 x 29,7 cm);
- **Margens:** - superior: 2,0 cm; - inferior: 2,0 cm; - esquerda: 2,5 cm, - direita: 2,0 cm;
- **Espaço entre linhas:** 1,5cm;
- **Recuo de parágrafo:** 1,25 cm;
- **Alinhamento do texto:** justificado;

- **Tipo de fonte do texto:** Times New Roman (tamanho 12);
- **Numeração de página:** algarismos arábicos.

OBS – É de responsabilidade dos autores a revisão gramatical e ortográfica.

Os artigos devem ser normatizados da seguinte forma:

TÍTULO: Deve anteceder ao resumo de cada idioma, centralizado, apenas a primeira letra maiúscula e também nomes próprios. Fonte do título: tamanho 14.

IDENTIFICAÇÃO DOS AUTORES: Conforme as indicações do sistema. Inserir o currículo simplificado, e-mail e Orcid dos autores (que tenham orcid), com o máximo de 4 linhas cada autor.

NOTAS DE RODAPÉ: Somente explicativas. Recomenda-se evitar a utilização excessiva de notas;

RESUMO/ABSTRACT/RESUMEM: Fonte tamanho 10, espaço simples, alinhamento justificado sem parágrafo, no máximo de 20 linhas e mínimo de 10 linhas. Texto em português, obrigatoriamente, resumos em português e inglês. Um terceiro resumo no idioma espanhol é facultativo. Recomenda-se que os textos estejam acompanhados dos resumos nos três idiomas.

PALAVRAS-CHAVE/KEY-WORDS/PALABRAS CLAVE: Máximo cinco, mínimo três.

TEXTO: Conforme as normas da ABNT, sem numeração nos subtítulos. A diagramação obedecerá às normas da Revista Faz Ciência. As citações devem ser feitas no corpo do texto: (Sobrenome do autor/ra, data) ou (Sobrenome do autor/ra, data, página). Ex: (CARNEIRO, 2022) ou (CARNEIRO, 2022, p. 30). Caso o nome do/da autor/ra esteja sendo mencionado no texto, indicar somente a data. Ex: “Desta forma, Bauman (2013), discute sobre...”.

O artigo deve conter: introdução, procedimentos metodológicos (ou materiais e métodos), resultados, análise e discussão, conclusão (ou considerações finais) e referências. Os subtítulos podem ser escolhidos de acordo com o interesse dos autores e de acordo com o que é mais comum às áreas de cada artigo, desde que tragam as informações supracitadas.

Os ensaios teóricos devem apresentar formatação coerente com a abordagem adotada.

CITAÇÕES: Direta: até três linhas no corpo do texto, entre aspas duplas, seguidas de parênteses com o sobrenome do/da autor/ra e ano de publicação e número da página. Acima de três linhas recuadas com margem de 4 cm, espaçamento simples, fonte 11, com um espaço antes e outro depois da citação. Além do nome do/da autor/ra e do ano de publicação, deve-se indicar, entre parênteses, o número da página de onde foi retirada a citação. Nas referências, adotar o nome completo dos autores.

REFERÊNCIAS: Conforme a ABNT.

Devem constar no final do trabalho científico e em ordem alfabética e o nome dos autores devem estar na forma completa e por extenso.

Livros: SOBRENOME, Nome. Título da obra (em negrito). Local de publicação: Editora, ano. Ex: CORRÊA, Roberto. **A rede urbana**. São Paulo: Ática, 1989.

* Se houver mais de um autor, se for até 3 autores, eles devem estar separados entre ponto e vírgula (;). Acima de três autores, deve-se usar *et al.* após o nome do primeiro autor.

*Se houver subtítulo, este não é colocado em negrito, apenas o título principal.

Capítulo de livro: SOBRENOME, Nome. Título do capítulo. In: SOBRENOME, Nome (Org). Título do livro (negrito). Local de publicação: Editora, ano. Página inicial-final. Ex: IANNI, Octávio. Dilemas da integração regional. In: SOUZA, Álvaro (Org). **Paisagem território região: em busca da identidade**. Cascavel: EDUNIOESTE, 2000. p.133-136.

Artigo em periódico: SOBRENOME, Nome. Título do artigo. Título do periódico (em negrito), local de publicação, volume, número, página inicial-final, mês(es). Ano. Ex: MACHADO, Lucy. Cognição ambiental, processo educativo e sociedades sustentáveis. **Faz Ciência**, Francisco Beltrão, vol. 5, n.1, p.131-146, dezembro, 2003.; **Artigos de periódico eletrônico:** acrescentar Disponível em: endereço página da internet. Acesso em dia/mês/ano. **Artigos com DOI:** Inserir o link do DOI ao final da referência.

Dissertações e teses: SOBRENOME, Nome. Título da tese ou da dissertação (em negrito). Local: Instituição em que foi defendida, ano. Número de páginas. (Categoria, grau e área de concentração). Ex.: RIBAS, Alexandre. **Gestão político-territorial dos assentamentos, no Pontal do Paranapanema (SP): uma leitura a partir da COCAMP**. Presidente Prudente: FCT/UNESP, 2002. 224p. (Dissertação, mestrado em Geografia).

- Outras dúvidas sobre normas podem ser observadas no link da ABNT: [Referências ABNT - como formatar as suas referências \(NBR 6023\) \(normasabnt.org\)](http://normasabnt.org)

3. TRÂMITE DE ANÁLISE DAS PROPOSTAS DE PUBLICAÇÃO

3.1 RECEPÇÃO: pelo sistema da Revista disponível no endereço: <http://e-revista.unioeste.br/index.php/fazciencia> Os artigos que não atenderem às normas da Revista não serão encaminhados para a etapa de avaliação pelos pareceristas.

3.2 PARECERISTAS: Os artigos (sem identificação dos autores) serão enviados, para apreciação, a dois pareceristas, preferencialmente doutores, garantindo-lhes o anonimato. Esses são selecionados pelos editores e, ou, Conselho Editorial. O parecer pode ser favorável à publicação, favorável à publicação com alterações

ou desfavorável. Acompanha o trabalho um formulário com critérios para avaliação e orientação aos consultores. Uma vez aceito o trabalho, o/a autor/a receberá uma notificação (no email disponibilizado) e terá um prazo de até 15 dias para devolvê-lo com as possíveis alterações que se façam necessárias. Caso esse prazo não seja cumprido ele perderá a prioridade na publicação de seu artigo.

3.3 ENVIO DO PARECER À REVISTA: Assim que os pareceristas efetuarem a devolução das cópias devidamente apreciadas, os comentários são compilados:

1. a) Caso os dois pareceristas aprovem o trabalho sem alterações, esse é encaminhado para a etapa de edição.
2. b) Caso os pareceristas solicitem alterações, o artigo retorna aos autores para correções.
3. c) Caso os pareceres sejam desfavoráveis, serão enviadas cópias dos pareceres aos autores e encerrado o processo.

Para a aprovação do trabalho é necessário que ambos os pareceristas sejam favoráveis (com e, ou sem alterações). Caso um deles seja desfavorável e ou outro favorável (com ou sem alterações), o artigo será enviado a um terceiro parecerista.

3.4 PUBLICAÇÃO: De posse dos artigos, processa-se a diagramação do número da Revista para publicação.

MAIS INFORMAÇÕES:

UNIOESTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Francisco Beltrão

Revista Faz Ciência

Rua Maringá, nº 1200 - Bairro Vila Nova.

Francisco Beltrão – PR - CEP: 85605-010

Endereço eletrônico: revista.fazciencia@unioeste.br

Telefones: (46) 3520- 4848

Declaração de Direito Autoral

Aviso de Direito Autoral Creative Commons

Política para Periódicos de Acesso Livre

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

1. Autores mantêm os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a Licença Creative Commons Attribution que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.
2. Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.
3. Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado (Veja O Efeito do Acesso Livre).

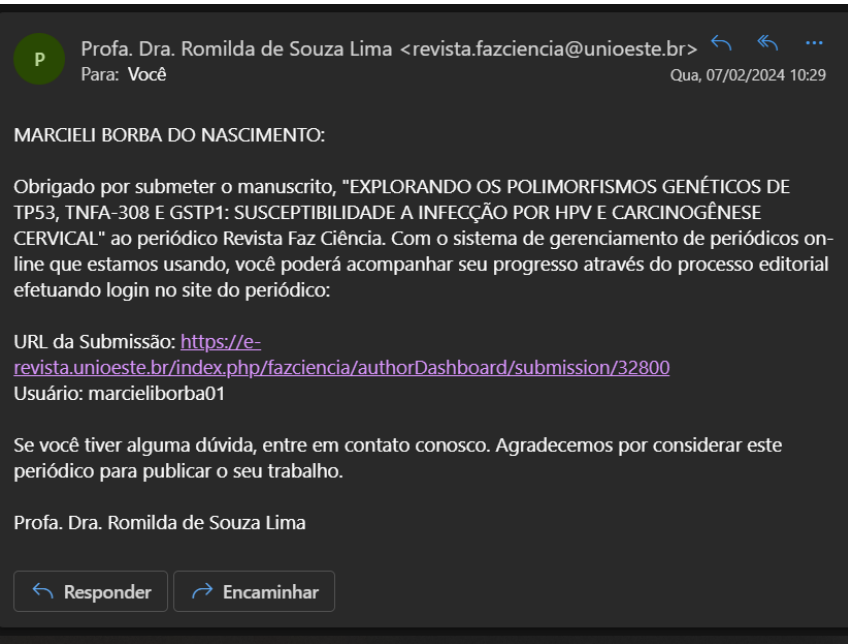
Licença Creative Commons

Esta obra está licenciada com uma Licença Internacional, o que permite compartilhar, copiar, distribuir, exibir, reproduzir, a totalidade ou partes desde que não tenha objetivo comercial e sejam citados os autores e a fonte.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou para terceiros.

Comprovante de Submissão Artigo 01



p Prof. Dra. Romilda de Souza Lima <revista.fazciencia@unioeste.br> Para: Você Qua, 07/02/2024 10:29

MARCIELI BORBA DO NASCIMENTO:

Obrigado por submeter o manuscrito, "EXPLORANDO OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE TP53, TNFA-308 E GSTP1: SUSCEPTIBILIDADE A INFECÇÃO POR HPV E CARCINOGENESE CERVICAL" ao periódico Revista Faz Ciência. Com o sistema de gerenciamento de periódicos online que estamos usando, você poderá acompanhar seu progresso através do processo editorial efetuando login no site do periódico:

URL da Submissão: <https://e-revista.unioeste.br/index.php/fazciencia/authorDashboard/submission/32800>
Usuário: marcieliborba01

Se você tiver alguma dúvida, entre em contato conosco. Agradecemos por considerar este periódico para publicar o seu trabalho.

Prof. Dra. Romilda de Souza Lima

[Responder](#) [Encaminhar](#)

ANEXO IV

NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA MOLECULAR BIOLOGY REPORTS

Instructions for Authors

General

The cover letter must include a valid institutional email address for each author. If this is not possible, the cover letter must include a means of verifying each author – such as an ORCID ID (that contains information on publications, do not include empty IDs), Scopus ID, or a link to their publication record(s).

You must include a “Declarations” section at the end of your manuscript before the reference list. Statements including conflict of interest, ethics approval, and informed consent are mandatory. Please check the “Compliance with Ethical Standards” and “Statements & Declarations” sections of these instructions.

Please find individual guidelines for each article type below. Any additional material (including figures/tables beyond the maximum allowed) can be uploaded as Supplementary Material.

Article Types

Research

Research articles should describe original experimental (in vivo and/or in vitro) work.

- 1 . Maximum Word Count: 5,000 words (not including abstract, references or figure legends)
- 2 . References: 50 or less
- 3 . Figures and/or Tables: maximum combined total of 8 (maximum 6 panels per figure)
4. Format: title page; structured abstract; keywords; abbreviations; introduction; materials and methods; results; discussion; conclusion; declarations; reference list; figures and legends.
- 5 .Results and Discussion: sections should be separate, not combined

Brief Report

Brief Report articles should describe original preliminary or proof of concept experimental (in vivo and/or in vitro) work.

1. . Maximum Word Count: 2,500 words
2. References: 25 or less
3. Figures and/or Tables: maximum combined total of 4 (maximum 6 panels per figure)
4. Format: title page; structured abstract; keywords; abbreviations; introduction; materials and methods; results and discussion (combined); conclusion; declarations; reference list; figures and legends.
5. Results and Discussion: sections may be combined

Review

Reviews should be overviews of recent developments in research fields of general interest, focused on a single topic and with a fair representation of different aspects of the topic. Reviews should incorporate the work of several different researchers and should not contain unpublished original results of the author. Language should be simple, new concepts should be defined and specialized terminology must be explained.

1. Maximum Word Count: 10,000 words (not including abstract, references or figure legends)
2. References: 100 or less
3. Figures and/or Tables: maximum combined total of 6 (maximum 6 panels per figure)
4. Format: title page; unstructured abstract; keywords; abbreviations; introduction; main text and/or discussion (divided into sections); declarations; reference list; figures and legends.

Mini Review

Mini Reviews should be brief overviews of recent developments in research fields of general interest, focused on a single topic and with a fair representation of different aspects of the topic. Mini Reviews should incorporate the work of several different researchers and should not contain unpublished original results of the author. Language should be simple, new concepts should be defined and specialized terminology must be explained.

1. Maximum Word Count: 5,000 words (not including abstract, references or figure legends)
2. References: 60 or less
3. Figures and/or Tables: maximum combined total of 4 (maximum 6 panels per figure)
4. Format: title page; unstructured abstract; keywords; abbreviations; introduction; main text and/or discussion (divided into sections); declarations; reference list; figures and legends.

Methodology

Methodology articles should be brief descriptions of new or revised methods currently routinely used in the field of molecular biology. They should include experimental data derived from the new method. Sections should be separate, not combined.

1. Maximum Word Count: 3,000 words (not including abstract, references or figure legends)
2. References: 30 or less
3. Figures and/or Tables: maximum combined total of 4 (maximum 6 panels per figure)
4. Format: title page; structured abstract; keywords; abbreviations; introduction; methods (including step-by-step description); results; discussion; declarations; reference list; figures and legends.
5. Results and Discussion: sections should be separate, not combined

Correspondence

Correspondence discussing an article published in Molecular Biology Reports in the past six months are welcome.

Correspondences will be sent to the corresponding author of the discussed article together with an invitation to respond within two weeks. If no answer is received within this timeframe, the Editors will decide if the Correspondence will be published without the authors' response. Only the original Correspondence together with the authors' response will be published; further comments will not be handled by the journal and should be sent directly to the

authors.

Correspondences should not exceed 2-3 typed, double-spaced pages with only a few essential references, if necessary. Figures should be avoided, unless there is a special need to clarify the written content. A separate page should include a short title, the writer's name and affiliations, as well as the exact citation of the article commented on.

Case Report

Case Reports must incorporate some molecular or cell biology approaches. They should provide a detailed report of an individual case which meets at least one of the following criteria:

- Unreported or unusual side effects or adverse interactions involving medications.
- Unexpected or unusual presentations of a disease. New associations or variations in disease processes.
- Presentations, diagnoses and/or management of new and emerging diseases.
- An unexpected association between diseases or symptoms.
- An unexpected event in the course of observing or treating a patient.
- Findings that shed new light on the possible pathogenesis of a disease or an adverse effect.

Case Reports should include an up-to-date review of all previous cases in the field.

Consent for publication is a mandatory requirement for all case reports. For more information, please see our [editorial policies](#).

Authors must follow the [CARE guidelines](#). The [CARE checklist](#) should be provided as a supplementary file. Submissions received without these elements will be returned to the authors as incomplete.

1. Maximum Word Count: 1,500 words (not including abstract, references or figure legends)
2. References: 40 or less.
3. Figures and/or Tables: maximum combined total of 4 (maximum 6 panels per figure)
4. Format: title page; structured abstract; background; case presentation; discussion and conclusions; declarations; reference list; figures and legends.

Abstract Format

Abstracts have a maximum word count of 250 words and should be divided into subheadings as follows (does not apply to Mini Review or Review articles):

1. Background: brief summary of basic relevant background info, rationale, and purpose of the study.
2. Methods and Results: brief explanation of experimental procedure and presentation of significant results; include sample sizes as well as animal species if applicable.
3. Conclusions: concise interpretation of results as well as significance of findings; statement of the main conclusion of the study; emphasis should be on new information found during the study.

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit manuscript” and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Source Files

Please ensure you provide all relevant editable source files at every submission and revision. Failing to submit a complete set of editable source files will result in

your article not being considered for review. For your manuscript text please always submit in common word processing formats such as .docx or LaTeX.

Submitting Declarations

Please note that Author Contribution information and Competing Interest information must be provided at submission via the submission interface. Only the information submitted via the interface will be used in the final published version. Please make sure that if you are an editorial board member and also a listed author that you also declare this information in the Competing Interest section of the interface.

Please see the relevant sections in the submission guidelines for further information on these statements as well as possible other mandatory statements.

Title Page

Please make sure your title page contains the following information. Title

The title should be concise and informative.

Author information

The name(s) of the author(s)

The affiliation(s) of the author(s), i.e. institution, (department), city, (state), country

A clear indication and an active e-mail address of the corresponding author If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

If address information is provided with the affiliation(s) it will also be published.

For authors that are (temporarily) unaffiliated we will only capture their city and country of residence, not their e-mail address unless specifically requested.

Large Language Models (LLMs), such as ChatGPT, do not currently satisfy our authorship criteria. Notably an attribution of authorship carries with it accountability for the work, which cannot be effectively applied to LLMs. Use of an LLM should be properly documented in the Methods section (and if a Methods section is not available, in a suitable alternative part) of the manuscript.

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

For life science journals only (when applicable)

Trial registration number and date of registration for prospectively registered trials

Trial registration number and date of registration, followed by “retrospectively registered”, for retrospectively registered trials

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text. Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages. Do not use end functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar. Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX. We recommend using [Springer Nature’s LaTeX template](#).

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes. Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

References

Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets.

Some examples:

Negotiation research spans many disciplines [3].

This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].

This effect has been widely studied [1-3, 7].

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text.

The entries in the list should be numbered consecutively.

If available, please always include DOIs as full DOI links in your reference list (e.g. “<https://doi.org/abc>”).

Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 341:325–329

Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med. <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

Book

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London

Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see : [ISSN.org LTWA](http://www.issn.org/LTWA)

If you are unsure, please use the full journal title.

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibliography style `le sn-basic.bst` which is included in the [Springer Nature Article Template](#).

Statements & Declarations

The following statements must be included in your submitted manuscript under the heading 'Statements and Declarations'. This should be placed after the References section. Please note that submissions that do not include required statements will be returned as incomplete.

Funding

Please describe any sources of funding that have supported the work. The statement should include details of any grants received (please give the name of the funding agency and grant number).

Example statements:

“This work was supported by [...] (Grant numbers [...] and [...]). Author A.B. has received research support from Company A.”

“The authors declare that no funds, grants, or other support were received during the preparation of this manuscript.”

Competing Interests

Authors are required to disclose financial or non-financial interests that are directly or indirectly related to the work submitted for publication. Interests within the last 3 years of beginning the work (conducting the research and preparing the work for submission) should be reported. Interests outside the 3- year time frame must be disclosed if they could reasonably be perceived as

Influencing the submitted work. Example statements:

“Financial interests: Author A and B declare they have no financial interests. Author C has received speaker and consultant honoraria from Company M. Dr. C has received speaker honorarium and research funding from Company M and Company N. Author D has received travel support from Company O. Non-financial interests: Author D has served on advisory boards for Company M and Company N.”

“The authors have no relevant financial or non- financial interests to disclose.”

Please refer to the “Competing Interests” section below for more information on how to complete these sections.

Author Contributions

Authors are encouraged to include a statement that specifies the contribution of every author to the research and preparation of the manuscript.

Example statement:

“All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by [full name], [full name] and [full name]. The first draft of the manuscript was written by [full name] and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.”

Please refer to the “Authorship Principles ” section below for more information on how to complete this section.

In addition to the above, manuscripts that report the results of studies involving humans and/or animals should include the following declarations:

Ethics approval

Authors of research involving human or animal subjects should include a statement that confirms that the study was approved (or granted exemption) by the appropriate institutional and/or national research ethics committee (including the name of the ethics committee and reference number, if available). For research involving animals, their data or biological material, authors should supply detailed information on the ethical treatment of their animals in their submission. If a study was granted exemption or did not require ethics approval, this should also be detailed in the manuscript.

“This study was performed in line with the principles of the Declaration of Helsinki. Approval was granted by the Ethics Committee of University B (Date.../No).”

“This is an observational study. The XYZ Research Ethics Committee has confirmed that no ethical approval is required.”

For detailed information on relevant ethical standards and criteria, please refer to the sections on “Research involving human participants, their data or biological material”, “Research involving animals, their data or biological material”.

Consent to participate

For all research involving human subjects, freely-given, informed consent to participate in the study must be obtained from participants (or their parent or legal guardian in the case of children under 16) and a statement to this effect should appear in the manuscript.

Example statement:

“Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.”

“Written informed consent was obtained from the parents.”

Please refer to the section on “Informed Consent” for additional help with completing this information.

Consent to publish

Individuals may consent to participate in a study, but object to having their data published in a journal article. If your manuscript contains any individual person's data in any form (including any individual details, images or videos), consent for publication must be obtained from that person, or in the case of children, their parent or legal guardian. This is in particular applicable to case studies. A statement confirming that consent to publish has been received from all participants should appear in the manuscript.

Example statement:

"The authors affirm that human research participants provided informed consent for publication of the images in Figure(s) 1a, 1b and 1c."

Please refer to the section on "Informed Consent" for additional help with completing this information.

Tables

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork and Illustrations Guidelines

Electronic Figure Submission

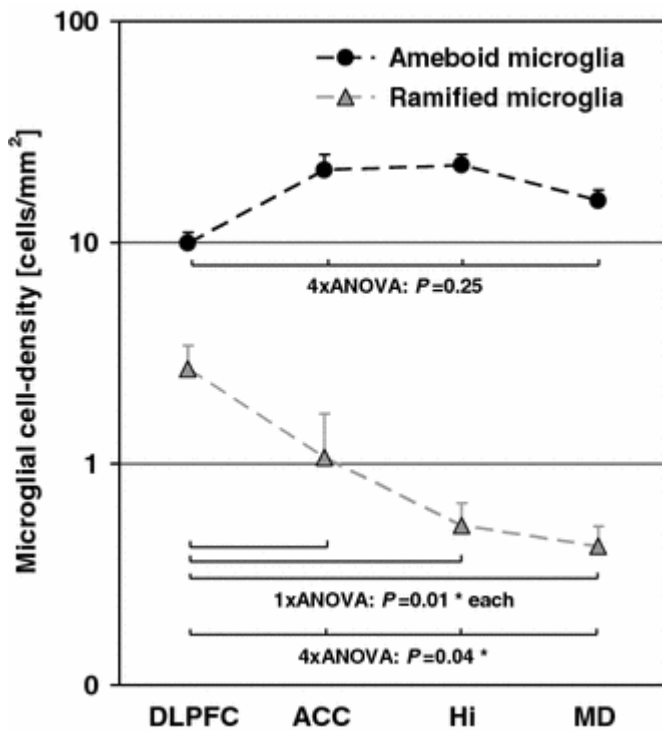
Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files. Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

LineArt



Definition: Black and white graphic with no shading.

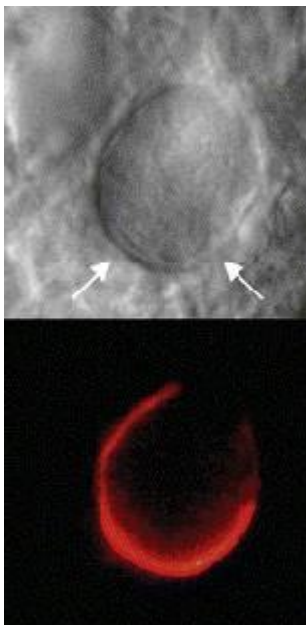
Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

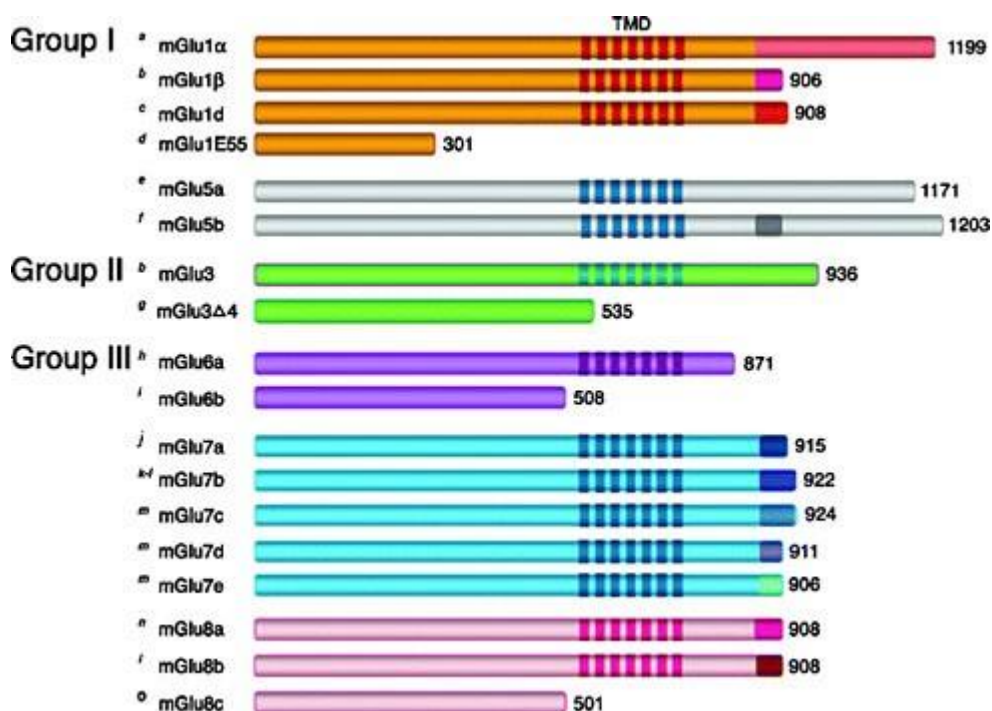
Halftone Art



Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.



Combination Art

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc. Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your nal-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order. Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices [Supplementary Information (SI)] should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text le of the manuscript, not in the figure le.

Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

Figures should be submitted within the body of the text. Only if the le size of the manuscript causes problems in uploading it, the large figures should be submitted separately from the text.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For large-sized journals the figures should be 84 mm (for double-column text areas), or 174 mm (for single-column text areas) wide and not higher than 234 mm.

For small-sized journals, the figures should be 119 mm wide and not higher than 195 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Supplementary Information (SI)

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as Supplementary Information, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

Submission

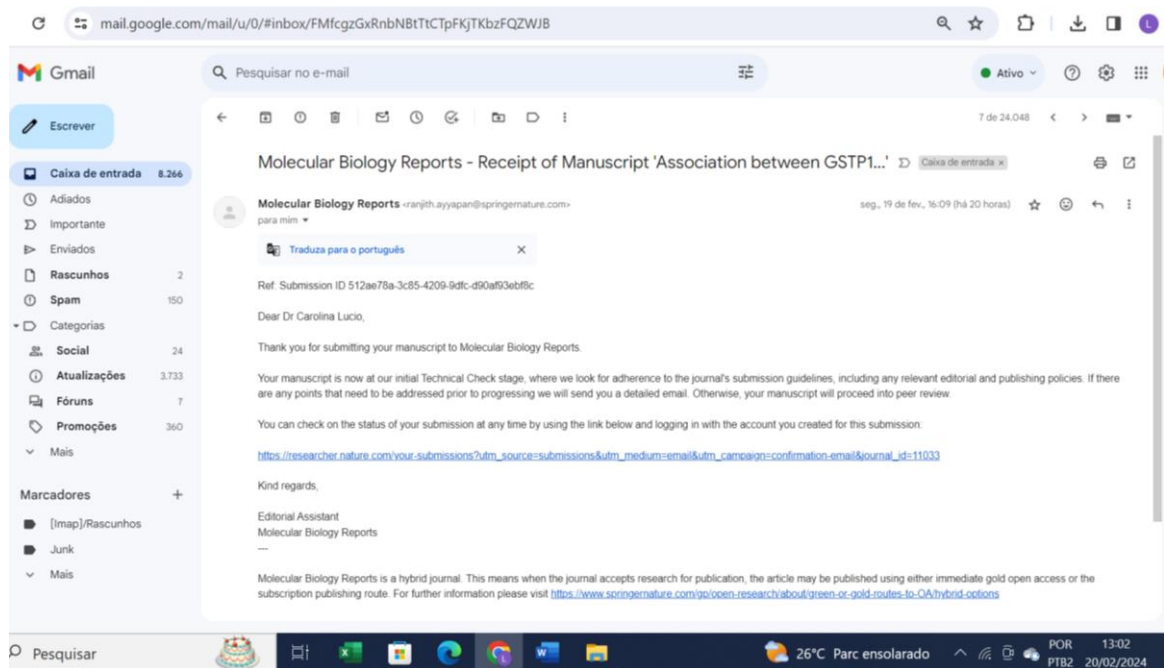
Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized les may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

High resolution (streamable quality) videos can be submitted up to a maximum of 25GB; low resolution videos should not be larger than 5GB.

Comprovante de Submissão Artigo 02



Your submissions

Track your submissions

Association between GSTP1 (rs1695) and Human Papillomavirus infection in women from southern Brazil Technical check in progress about 5 hours ago

Corresponding Author: Léia Carolina Lucio
Molecular Biology Reports
512ae78a-3c85-4209-9dfc-d90af93ebf8c | v.1.0

[View submission details](#)