

НАСЛОВ ТЕМЕ:

“Повезаност инфекције Хуманим папилома вирусом у преинвазивним и инвазивним туморима коже и ектоцервикса порекла сквамозних ћелија са експресијом транскрипционог фактора FOXP3”

УВОД

Први опис Хуманог папилома вируса (ХПВ) дали су *Strauss* и сарадници 1949. године користећи електронску микроскопију у испитивању екстракта ткива кожних брадавица (1). Од тада су прошле деценије до момента када је професор *Harald zur Hausen* доказао повезаност инфекције ХПВ и цервикалног карцинома и за своја открића добио Нобелову награду 2008. године (2). Савремена сазнања о различитим типовима овог вируса све више указују на његов значај у настанку сквамозног карцинома коже (3).

Инфекција ХПВ се сматра најчешћом сексуално преносивом инфекцијом. Са друге стране, ХПВ је увек присутан код имунокомпетентних особа као део нормалне флоре коже. ХПВ припада фамилији *Papillomaviridae* и до данас у људском роду је откривен 441 тип ХПВ (4) од чега је 231 тип ХПВ комплетно секвенциран (5). Сви типови ХПВ су груписани у 5 родова: алфа (66 типова), бета (67 типова), гама (302 типа), му (5 типова) и н (1 тип) и то према хомологији ДНК секвенце у гену *L1* који кодира *L1* протеин капсида. Алфа типови проузрокују инфекције и коже и слузокоже. Утврђено је да вирусни тропизам према кожи имају ХПВ типови: 2, 27 и 57 и да су удржени са настанком кожних брадавица, док ХПВ типови 6 и 11 имају тропизам према слузокожи и изазивају гениталне брадавице (6). Ови типови ХПВ према онкогеном ризику се класификују као типови ниског ризика. Насупрот овим, откривени су алфа типови ХПВ високог ризика за развој аногениталног и орофарингеалног карцинома и понекад карцинома коже. На првом месту то су ХПВ 16 и 18, али и: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 и 82 (7).

Карцином грлића материце је најчешћи малигнитет код жена у свету, са око 660 000 новооткривених случајева годишње. У Европи од овог тумора оболи око 58 000 жена (10,7 на 100 000), а премине око 26 000 жена (3,76 на 100 000) годишње (8,9). Сквамозног карцином грлића материце је у око 90% случајева узрокован ХПВ инфекцијом од чега је највећи број високог ризика типови 16 и 18. Код око 10% инфицираних жена се успоставља перзистентна инфекција, а код 1-4% ових жена у оквиру неколико година развиће се преинвазивни или инвазивни тумор (10). Осим типа ХПВ у процесу канцерогенезе значајно је и присуство имунодефицијенције, стање имunosупресије након трансплантације, употреба оралних контрацептива, пушење, *Chlamydia trachomatis* инфекција (11). Напори да се смањи инциденција карцинома грлића материце усмерени су према скринингу карцинома грлића материце и примени ХПВ вакцине (12).

Током порођаја или непосредно по рођењу деца преко родитеља долазе у контакт са бета типовима ХПВ. Бета типови ХПВ су такође повезани са канцерогенозом и развојем

немеланомског карцинома коже (13). Као фактори ризика наводе се имуносупресија због трансплантације, опекотине од сунца и старије животно доба (14). ХПВ типови 5 и 8 су увек присутни код пацијената са епидермодисплазијом веруциформис у којој прогресијом болести из верукозних лезија настаје сквамoцелуларни карцином на фотоекспонираним деловима коже, али је могућа повезаност ових типова ХПВ и са актиничном кератозом и сквамoцелуларним карцином у општој хуманој популацији (15), док су подаци о променама и механизму њиховог настанка на фотонеекспонираним деловима коже оскудни. Сквамoцелуларни карцином коже чини 20-50% свих карцинома коже при чему број новооткривених случајева непрекидно расте. Стопа морталитета због овог карцинома је релативно ниска, али узимајући у обзир број пацијената и низ процедура у лечењу разумљиво је да се ради о значајном економском оптерећењу како пацијента тако и здравственог система (4).

Познато је да је дисрегулација Т регулаторних лимфоцита описана у инфламаторним и аутоимуним болестима, али и различитим карциномима. У литератури постоји веома мали број података о улози и значају Т регулаторних лимфоцита у настанку и прогресији кератиноцитних тумора ектоцервикса, коже, и вулве и повезаности са ХПВ инфекцијом. FOXP3 (енгл. *forkhead box P3*, FOXP3) је транскрипциони фактор и индикатор индентитета Т регулаторних лимфоцита. Експресија FOXP3 најпре је описана код карцинома панкреаса, а касније код карцинома дојке, простате, желуца, тироидне жлезде, меланома, хепатоцелуларног и колоректалног карцинома, као и неситноћелијског карцинома плућа (16,17). Протеин FOXP3 је кодиран од стране истоименог гена који се код човека налази на кратком краку хромозома X (*Xp*, 11.2). У секвенци гена *FOXP3* постоји више генских полиморфизама који представљају нормалне варијације у наследном материјалу. То су углавном полиморфизми једног нуклеотида. Полиморфни локуси *rs2280883 (IVS9+459 T/C)* и *rs3761548 (-3279 A/C)* се налазе у регулаторним регионима гена *FOXP3* и имају утицаја на ниво транскрипције што значи да су одређени алели и генотипови удружени са повећаном или смањеном експресијом гена и синтезом протеина (18,19). У бројним студијама асоцијације анализирали су ови полиморфизми као фактори предиспозиције за појаву различитих обољења, укључујући и малигнитете (19,20,21). Резултати ових студија су често противречни, што се може објаснити разликама у учесталости појединих генотипова у оквиру полиморфизама у различитим популацијама, разликама у величини и конзистентности испитиваног узорка и слично. Постоји претпоставка да би генски полиморфизми могли бити фактори предиспозиције за појаву преинвазивних и инвазивних лезија коже и ектоцервикса (21,22).

РАДНА ХИПОТЕЗА

Инфекција различитим типовима Хуманог папилома вируса у преинвазивним и инвазивним туморима коже и ектоцервикса повезана је са повећаном експресијом FOXP3 протеина и полиморфизмима у оквиру *FOXP3* гена.

ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

1. Испитати присуство и одредити типизацију ХПВ инфекције у узорцима цервикалних брисева превинвазивних тумора ектоцервикса (сквамозна интраепителна лезија ниског степена тј. *L-SIL* и сквамозна интраепителна лезија високог степена тј. *H-SIL*) и инвазивних тумора ектоцервикса (сквамоцелуларни карцином), као и биоптатима преинвазивних тумора коже (актинична кератоза и *Morbus Bowen*) и инвазивних тумора коже (сквамоцелуларни карцином) и преинвазивних тумора коже вулве (сквамозна интраепителна лезија ниског степена тј. *VIN-1*, сквамозна интраепителна лезија високог степена тј. *VIN-2* и *VIN-3*) и инвазивних тумора коже вулве (сквамоцелуларни карцином).
2. Одредити експресију FOXP3 протеина у биоптатима превинвазивних тумора ектоцервикса (сквамозна интраепителна лезија ниског степена тј. *L-SIL* и сквамозна интраепителна лезија високог степена тј. *H-SIL*) и инвазивних тумора ектоцервикса (сквамоцелуларни карцином), као и биоптатима преинвазивних тумора коже (актинична кератоза и *Morbus Bowen*) и инвазивних тумора коже (сквамоцелуларни карцином) и преинвазивних тумора коже вулве (сквамозна интраепителна лезија ниског степена тј. *VIN-1*, сквамозна интраепителна лезија високог степена тј. *VIN-2* и *VIN-3*) и инвазивних тумора коже вулве (сквамоцелуларни карцином).
3. Одредити учесталост генотипова и алела за локусе *rs2280883* и *rs3761548* гена *FOXP3* у узорцима крви испитаница са превинвазивним туморима ектоцервикса (сквамозна интраепителна лезија ниског степена тј. *L-SIL* и сквамозна интраепителна лезија високог степена тј. *H-SIL*) и инвазивним туморима ектоцервикса (сквамоцелуларни карцином), као и преинвазивним туморима коже (актинична кератоза и *Morbus Bowen*) и инвазивним туморима коже (сквамоцелуларни карцином) и преинвазивним туморима коже вулве (сквамозна интраепителна лезија ниског степена тј. *VIN-1*, сквамозна интраепителна лезија високог степена тј. *VIN-2* и *VIN-3*) и инвазивним туморима коже вулве (сквамоцелуларни карцином) и њихову повезаност са експресијом FOXP3 протеина у наведеним преинвазивним и инвазивним туморским ткивима ектоцервикса, коже и коже вулве.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

ДИЗАЈН СТУДИЈЕ:

Кохортна проспективна мултицентрична студија

МЕСТО И ПЕРИОД:

Клиника за гинекологију и акушерство Универзитетског Клиничког центра Србије (УКЦС), Клиника за опекотине, пластичну и реконструктивну хирургију УКЦС, Клиника за оториноларингологију и максилофацијалну хирургију УКЦС, Институт за онкологију и радиологију Србије, Гинеколошко акушерска клиника “Народни фронт”, Институт за

микробиологију и имунологију Медицинског факултета Универзитета у Београду (МФУБ), Институт за патологију МФУБ и Институт за хуману генетику МФУБ.

Период истраживања је од 2025. до 2026. године уз дозволу Етичког одбора УКЦС (одлука број 1128/23 од 3. јула 2025., допуна број 1500/48 од 29. септембра 2025.), Етичког одбора Института за онкологију и радиологију Србије (одлука број 01-1/25/2106 од 11. јула 2025.) и Етичког одбора Гинеколошко акушерске клинике “Народни фронт” (одлука број 2208/2025/021590 од 9. октобра 2025.). Прибављене су и сагласности: Клинике за гинекологију и акушерство УКЦС (број 2380 од 9. јуна 2025.), Клинике за опекотине, пластичну и реконструктивну хирургију УКЦС (број 600 од 4. јуна 2025.), Клинике за оториноларингологију и максиларнофацијалну хирургију УКЦС (број 965 од 22. септембра 2025.), Института за онкологију и радиологију Србије (број 01-1/25/2017 од 4. јула 2025.), Гинеколошко акушерске клинике “Народни фронт” (број 29023-2025-011731 од 12. јуна 2025.), Института за микробиологију и имунологију МФУБ (број 130 од 5. јуна 2025.), Института за патологију МФУБ (број 02-582/25 од 2. јуна 2025.) и Института за хуману генетику МФУБ (број 108 од 5. јуна 2025.).

ИСПИТАНИЦИ И МЕТОДЕ:

У студију ће бити укључене особе женског пола старије од 18 година оперисане због преинвазивних (*L-SIL* и *H-SIL*), и инвазивних тумора ектоцервикса (сквамозелуларни карцином), преинвазивних (актинична кератоза и *Mb. Bowen*) и инвазивних тумора коже (сквамозелуларни карцином), као и преинвазивних (*VIN-1*, *VIN-2*, и *VIN-3*) и инвазивних тумора коже вулве (сквамозелуларни карцином). Све испитанице ће потписати информисани пристанак за учешће у студији. Прикупљаће се: 1) демографски подаци (старост, занимање, место становања, индекс телесне масе, пушење, конзумација алкохола), 2) анамнестички подаци (симптоми, временски период присуства тегоба, досадашња терапија и интервенције, менарха, уредност менструалног циклуса, порођаји, побачаји, навике о излагању сунцу, операције, повреде, алергије, хроничне болести, породична анамнеза за туморе коже и гинеколошке регије и хроничне болести), 3) подаци дерматолошког и дермоскопског прегледа (коса, кожа, генитална и орофарингеална слузокожа и нокатне плоче шака и стопала), 4) подаци гинеколошког прегледа (инспекција вулве, преглед под спекулумом, бимануелни и ултразвучни преглед и резултат *Papanicolaou* бриса) и 5) хистопатолошки налази.

Доказивање и типизација ХПВ у узорцима цервикалних брисева и биоптатима лезија коже тела и вулве ће се урадити у Вирусолошкој лабораторији Института за микробиологију и имунологију МФУБ. Након узимања, узорци брисева и биоптата ће бити стављани у стерилне епрувете са физиолошким раствором. Добијени филтрат ће бити чуван на -20 °C. Након изоловања ДНК приступиће се умножавању ХПВ ДНК методом полимеразне ланчане реакције у реалном времену (*qPCR*) где ће бити коришћени прајмери за *E1* и *L1* ген вируса. *QPCR* продукти ће након тога бити анализирани електрофорезом на 2% агарозом гелу са

ДНК стандардом у који ће се додати етидијум бромид као обележивач у циљу визуелизације ДНК. Методом директног секвенцирања по *Sanger-u* ће бити урађена ХПВ генотипизација. Процедура обухвата пречишћавање qPCR продукта применом комерцијалног теста *Mini Elute PCR purification (QIAGEN, Немачка)* према упутству произвођача, затим реакцију цикличног секвенцирања оба ланца применом *ABI BigDye Terminator v.3.1* комплета (*Applied Biosystem, Фостер Сити, САД*) употребом истих прајмера који су коришћени за qPCR. Након проћишћавања изопропанолом и денатурације формаидом, продукти реакције ће се унети у аутоматски ДНК секвенатор (*ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer, Applied Biosystem, Фостер Сити, САД*). Секвенце ће се потом анализирати употребом софтверских пакета *Sequence Analysis 5.1* и *SeqScape 2.5* (*Applied Biosystem, Фостер Сити, САД*). Применом *BLAST* програма биће одређен ХПВ генотип сваког изолата поређењем са референтним секвенцама у *NCBI* бази података Националног центра за биотехнолошке информације САД.

Експресија FOXP3 протеина ће бити анализирана на Институту за патологију МФУБ применом имунохистохемијског бојења на пресецима ткива фиксираних у формалину и укалупљеног у парафирну. Имунохистохемијско бојење ће бити вршено применом анти-FOXP3 антитела (рекомбинанто мишије антитело, клон 236A/E7, *Abcam, Кембриџ, Уједињено Краљевство, САД*), у разблажењу 1:100 на собној температури у трајању од 60 минута. Детекција реакције ће бити вршена применом детекционог система *UltraVision Quanto Detection System HRP (EpreDia, САД)* и 3,3'-диаминобензедина (ДАБ) као хромогена. Анализа имунохистохемијски бојених ткивних пресека ће бити вршена на светлосном микроскопу бројањем позитивних ћелија на 5 поља великог увећања (400x). Експресија FOXP3 ће бити изражена као просечан број FOXP3 позитивних ћелија по видном пољу.

За анализу полиморфизама гена *FOXP3* узорци пуне крви (10мл) са *EDTA* као антикоагулансом узимаће се периферном венепункцијом од свих испитаница и транспортовати до лабораторије Института за хуману генетику МФУБ где ће се анализирати. Изолација ДНК ће се вршити методом исољавања по *Miller-у* (23). Генотипизација полиморфних локуса *rs2280883* и *rs3761548* у гену *FOXP3* ће бити рађена методом qPCR, коришћењем комерцијалних *TaqMan SNP Genotyping* есеја (*Thermo Fisher Scientific, САД*). У овој методи поред специфичних прајмера за qPCR користе се и алел-специфичне олигонуклеотидне пробе обележене различитим флуорофорима. Емитовање одређене флуоресценце указује на постојање датог алела у узорку, и региструје се од стране софтвера. Анализе ће бити рађене на апарату *ABI 7500 RT PCR System (Life Technologies, САД)* у коме примарну обраду података врши интегрисани *7500 Software*.

СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА:

За ниво значајности алфа од 0,05 и статистичку моћ теста 1-бета од 80% израчуната је потребна величина узорка од укупно 168 пацијенткиња, од чега је укупан број испитаница са преинвазивним и инвазивним туморима коже вулве планиран да буде 25 за целокупан период трајања студије. С обзиром да се ови узорци сакупљају из два референтна центра за

оперативно лечење ових обољења у Србији то обухвата готово све пацијенткиње са преинвазивним и инвазивним туморима коже вулве. Узорак је израчунат на основу података из до сада објављених студија где је ХПВ типизацијом утврђена учесталост по локализацијама од око 43% из брисева грлића материце, 9% из биопсија коже и 43-60% из биопсија коже вулве (7,24,25).

За дескрипцију података користиће се: мере централне тенденције (аритметичка средина, медијана), мере варијабилитета (интервал варијације и стандардна девијација), релативни бројеви, табеларно и графичко приказивање узимајући у обзир тип података као и њихову расподелу. Нормалност расподеле ће се евалуирати математичким (*Shapiro-Willk test*) и графичким (хистограм и дијаграм кутије) методама. За поређење две независне групе примениће се следеће методе аналитичке статистике: Студентов т-тест за два независна узорка или *Mann Whitney U* тест, у зависности од расподеле нумеричких података, као и хи квадрат тест или Фишеров тест тачне вероватноће за категоријалне податке. Од метода за поређење 3 и више независних узорака, примениће се: хи квадрат тест, једнофакторска анализа варијансе и *Kruskal Wallisov* тест. Логистичком регресионом анализом ће се проценити шанса за припадност једној од две поређене групе у зависности од испитиваних фактора. Све статистичке хипотезе биће тестиране на нивоу значајности од 0,05, што значи да ће се резултати сматрати статистички значајним уколико је *p*- вредност мања од 0,05.

За анализу података користиће се софтверски пакет *IBM SPSS Statistics 31* (*IBM Corporation*, Армоник, Њујорк, САД).

Процена кандидата о потенцијалном научном доприносу

У планираном истраживању анализираће се присуство инфекције Хуманим папилома вирусом у преинвазивним и инвазивним туморима коже, вулве и ектоцервикса, укључујући прецизну типизацију ХПВ секвенцирањем вирусне ДНК. Да би се испитали улога и значај Т регулаторних лимфоцита у настанку и прогресији ових тумора у захваћеном ткиву ће се анализирати експресија протеина FOXP3, који је индикатор индентитета овог типа лимфоцита. Анализа ће обухватити и генетичке детерминанте експресије FOXP3, како би се утврдили потенцијални предиспонирајући фактори за појаву тумора. Планирано истраживање има значај јер је интердисциплинарно и предвиђа испитивање повезаности вирусолошких, имунохистохемијских и генетичких налаза са клиничком сликом и патохистологијом тумора. Прикупљени подаци даће значајан допринос познавању етиологије и патогенезе кератиноцитних тумора коже и ектоцервикса, што ће омогућити развој ефикаснијих путева превенције и терапије. Поред општег научног значаја, посебан део доприноса односи се на идентификацију ХПВ типова као и FOXP3 генотипова присутних у нашој средини. Уколико се утврди повезаност експресије FOXP3 и генског полиморфизма то би могло да пружи нови терапијски приступ лечењу ових тумора. Познавање специфичне молекуларне типологије омогућиће развој алгоритама за персонализовани приступ пацијентима, што има несумњиви научни и практични значај.

РЕФЕРЕНЦЕ

1. Strauss MJ, Shaw EW, et al. Crystalline virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1949 Oct;72(1):46-50. doi: 10.3181/00379727-72-17328. PMID: 15403582.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*. 2009 Feb 20;384(2):260-5. doi: 10.1016/j.virol.2008.11.046. Epub 2009 Jan 8. PMID: 19135222.
3. Neagu N, Dianzani C, Venuti A, Bonin S, Voidăzan S, Zalaudek I, Conforti C. The role of HPV in keratinocyte skin cancer development: A systematic review. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2023 Jan;37(1):40-46. doi: 10.1111/jdv.18548. Epub 2022 Sep 1. PMID: 36000380.
4. Hasche D, Akgül B. Prevention and Treatment of HPV-Induced Skin Tumors. *Cancers (Basel)*. 2023 Mar 10;15(6):1709. doi: 10.3390/cancers15061709. PMID: 36980594; PMCID: PMC10046090.
5. Meyer T, Stockfleth E. Treatment and Prevention of HPV-Associated Skin Tumors by HPV Vaccination. *Vaccines (Basel)*. 2024 Dec 20;12(12):1439. doi: 10.3390/vaccines12121439. PMID: 39772099; PMCID: PMC11680430.
6. Gheit T. Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology. *Front Oncol*. 2019 May 8;9:355. doi: 10.3389/fonc.2019.00355. PMID: 31134154; PMCID: PMC6517478.
7. Tampa M, Mitran CI, Mitran MI, Nicolae I, Dumitru A, Matei C, Manolescu L, Popa GL, Caruntu C, Georgescu SR. The Role of Beta HPV Types and HPV-Associated Inflammatory Processes in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *J Immunol Res*. 2020 Apr 6;2020:5701639. doi: 10.1155/2020/5701639. PMID: 32322596; PMCID: PMC7165336.
8. Organization WH. Cervical cancer. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer>
9. Organization WH. HPV information center. 2024. Available from: <https://hpvcentre.net/>
10. Xu M, Cao C, Wu P, Huang X, Ma D. Advances in cervical cancer: current insights and future directions. *Cancer Commun (Lond)*. 2025 Feb;45(2):77-109. doi: 10.1002/cac2.12629. Epub 2024 Nov 29. PMID: 39611440; PMCID: PMC11833674.
11. Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci (Lond)*. 2017 Aug 10;131(17):2201-2221. doi: 10.1042/CS20160786. PMID: 28798073.
12. Lindquist S, Frederiksen K, Petersen LK, Kjær SK. The risk of vaginal, vulvar and anal precancer and cancer according to high-risk HPV status in cervical cytology samples. *Int J Cancer*. 2024 Jul 1;155(1):61-70. doi: 10.1002/ijc.34896. Epub 2024 Feb 28. PMID: 38418719.
13. Becerril S, Corchado-Cobos R, García-Sancha N, Revelles L, Revilla D, Ugalde T, Román-Curto C, Pérez-Losada J, Cañueto J. Viruses and Skin Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021 May 20;22(10):5399. doi: 10.3390/ijms22105399. PMID: 34065594; PMCID: PMC8161099.

14. Johnson LH, Son HG, Ha DT, Strickley JD, Joh J, Demehri S. Compromised T Cell Immunity Links Increased Cutaneous Papillomavirus Activity to Squamous Cell Carcinoma Risk. *JID Innov.* 2022 Sep 29;3(2):100163. doi: 10.1016/j.xjidi.2022.100163. PMID: 36714811; PMCID: PMC9879970.
15. Bouwes Bavinck JN, Feltkamp MCW, Green AC, Fiocco M, Euvrard S, et al. Human papillomavirus and posttransplantation cutaneous squamous cell carcinoma: A multicenter, prospective cohort study. *Am J Transplant.* 2018 May;18(5):1220-1230. doi: 10.1111/ajt.14537. Epub 2017 Nov 22. PMID: 29024374; PMCID: PMC5947129.
16. Jia H, Qi H, Gong Z, Yang S, Ren J, Liu Y, Li MY, Chen GG. The expression of FOXP3 and its role in human cancers. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2019 Jan;1871(1):170-178. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.12.004. Epub 2019 Jan 7. PMID: 30630091.
17. Wang J, Gong R, Zhao C, Lei K, Sun X, Ren H. Human FOXP3 and tumour microenvironment. *Immunology.* 2023 Feb;168(2):248-255. doi: 10.1111/imm.13520. Epub 2022 Jul 6. PMID: 35689826.
18. Oda JM, Hirata BK, Guembarovski RL, Watanabe MA. Genetic polymorphism in FOXP3 gene: imbalance in regulatory T-cell role and development of human diseases. *J Genet.* 2013 Apr;92(1):163-71. doi: 10.1007/s12041-013-0213-7. PMID: 23640423.
19. Zhang Y, Zhang J, Liu H, He F, Chen A, Yang H, Pi B. Meta-analysis of FOXP3 gene rs3761548 and rs2232365 polymorphism and multiple sclerosis susceptibility. *Medicine (Baltimore).* 2019 Sep;98(38):e17224. doi: 10.1097/MD.00000000000017224. PMID: 31567981; PMCID: PMC6756718.
20. Hernández-Bello J, Preciado-Aguilar MS, Muñoz-Valle JF, Baños-Hernández CJ, García-Arellano S, Alvarado-Navarro A. Influence of *FOXP3* rs2280883 and rs3761548 Variants on IL-10 and TGF- β 1 Serum Levels and Plaque Psoriasis Risk in the Mexican Population. *Int J Mol Sci.* 2025 Feb 20;26(5):1789. doi: 10.3390/ijms26051789. PMID: 40076417; PMCID: PMC11898888.
21. Cheng Z, Guo Y, Ming L. Functional Foxp3 polymorphisms and the susceptibility to cancer: An update meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018 Aug;97(34):e11927. doi: 10.1097/MD.00000000000011927. PMID: 30142808; PMCID: PMC6113014.
22. Cezar-Dos-Santos F, Ferreira RS, Okuyama NCM, Trugilo KP, Sena MM, Pereira ÉR, et al. FOXP3 immunoregulatory gene variants are independent predictors of human papillomavirus infection and cervical cancer precursor lesions. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019 Aug;145(8):2013-2025. doi: 10.1007/s00432-019-02951-x. Epub 2019 Jun 8. PMID: 31177386; PMCID: PMC11810407.Scasc
23. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16(3):1215.
24. Nikolic N, Basica B, Strbac M, Terzic L, Patić A, Kovacevic G, Velicki R, Petrovic D, Mandić A, Petrovic V. Prevalence of Carcinogenic Genotypes of HPV-Infected Women in a Ten-Year Period (2014-2023) in Vojvodina, Serbia. *Medicina (Kaunas).* 2024 Jun 1;60(6):922. doi: 10.3390/medicina60060922. PMID: 38929539; PMCID: PMC11205824.

25. Tan A, Bieber AK, Stein JA, Pomeranz MK. Diagnosis and management of vulvar cancer: A review. J Am Acad Dermatol. 2019 Dec;81(6):1387-1396. doi: 10.1016/j.jaad.2019.07.055. Epub 2019 Jul 23. PMID: 31349045.

У Београду, 23.2.2026.

ПОТПИСИ МЕНТОРА

Проф. др Катарина Стефановић

Проф. др Giuseppe Argenziano