

POLIMORFISMOS DO GENE C3 E NÍVEIS SÉRICOS DO COMPONENTE C3 EM MULHERES COM LESÕES PRECURSORAS E CÂNCER CERVICAL

Recebido em: 17/12/2024

Aceito em: 30/07/2025

DOI: 10.25110/arqsaude.v29i2.2025-11820



Tatiane da Piedade Batista Godoy¹
Lorena Bavia²
Renato Mitsunori Nisihara³
Camila de Freitas Oliveira Toré⁴
Patrícia Savio de Araújo Souza⁵
Fernanda Villar Fonseca⁶
Iara José de Messias Reason⁷
Fabiana Antunes de Andrade⁸

RESUMO: Objetivo: investigamos a associação entre polimorfismos do gene C3 que afetam a ativação do sistema complemento (SC) em pacientes com câncer cervical (CC). Métodos: Foram estudadas 86 mulheres com CC e 78 controles. Três polimorfismos do gene C3 (rs2250656, rs2230199 e rs1047286) foram avaliados por PCR de sequência específica. Além disso, os níveis séricos do componente C3 foram dosados através do ensaio imunoenzimático (ELISA) em 40 pacientes (CC = 11 e neoplasia intraepitelial grau I/II (NIC) = 29) e 66 controles. Resultados: as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas foram semelhantes entre mulheres com CC e controles, bem como entre tipos histológicos. Os níveis séricos do componente C3 foram significativamente mais baixos em mulheres com NIC I/II ($p = 0,001$) e CC ($p = 0,047$) que no grupo controle. Conclusão: nossos resultados sugerem que o possível papel do componente C3 na fisiopatologia do CC não está relacionado aos polimorfismos funcionais investigados. Níveis séricos reduzidos do componente C3 em mulheres com lesões precursoras e CC sugerem a sua clivagem, o que provavelmente está associado à ativação do SC e à manutenção do estado inflamatório da doença.

¹ Laboratório de Imunopatologia Molecular, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, PR, Brasil. E-mail: tatianebatistapb@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7678-3345>

² Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe, Faculdades Pequeno Príncipe, PR, Brasil.

E-mail: lorena.bavia@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1702-2284>

³ Departamento de Medicina, Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil.

E-mail: renatonisihara@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1234-8093>

⁴ Laboratório de Imunopatologia Molecular, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, PR, Brasil. E-mail: camilaoliveira15@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8937-5674>

⁵ Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade, Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, PR, Brasil. E-mail: psas@ufpr.br, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4489-9148>

⁶ Departamento de Medicina, Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil.

E-mail: luifernascimento@terra.com.br, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0162-9893>

⁷ Laboratório de Imunopatologia Molecular, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, PR, Brasil. E-mail: iara.reason@hc.ufpr.br, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5573-260X>

⁸ Pós-graduação em Biotecnologia Industrial, Universidade Positivo, PR, Brasil, Laboratório de Imunopatologia Molecular, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, PR, Brasil.

E-mail: fabiana.una@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4116-2324>

PALAVRAS-CHAVE: Câncer cervical; Gene C3; Polimorfismos genéticos; Sistema complemento.

POLYMORPHISMS OF THE C3 GENE AND SERUM LEVELS OF THE C3 COMPONENT IN WOMEN WITH PRECURSOR LESIONS AND CERVICAL CANCER

ABSTRACT: Objective: We investigated the association between C3 gene polymorphisms that affect complement system (CS) activation and cervical cancer (CC). Methods: A total of 86 women with CC and 78 controls were studied. Three C3 gene polymorphisms (rs2250656, rs2230199, and rs1047286) were evaluated using sequence-specific PCR. Additionally, serum levels of C3 were measured in 40 patients (CC = 11 and grade I/II intraepithelial neoplasia (CIN) = 29) and 66 controls using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Results: Allele, genotypic, and haplotypic frequencies were similar between women with CC and controls, as well as between histological types. Serum C3 levels were significantly lower in women with CIN I/II ($p = 0.001$) and CC ($p = 0.047$) than those in the control group. Conclusion: Our results suggest that the possible role of C3 in CC pathophysiology is not related to the functional polymorphisms investigated. Reduced serum levels of C3 in women with pre-invasive lesions and CC suggest cleavage, which is probably associated with CS activation and maintenance of the inflammatory state of the disease.

KEYWORDS: C3 gene; Cervical cancer; Complement system; Genetic polymorphisms.

POLIMORFISMOS DEL GEN C3 Y NIVELES SERICOS DEL COMPONENTE C3 EN MUJERES CON LESIONES PRECURSORAS Y CÁNCER CERVICAL

RESUMEN: Objetivo: investigamos la asociación entre los polimorfismos del gen C3 que afectan la activación del sistema complemento (SC) en pacientes con cáncer de cuello uterino (CC). Métodos: Se estudiaron 86 mujeres con CC y 78 controles. Se evaluaron tres polimorfismos del gen C3 (rs2250656, rs2230199 y rs1047286) mediante PCR de secuencia específica. Además, los niveles séricos del componente C3 se midieron mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en 40 pacientes (CC = 11 y neoplasia intraepitelial (NIC) de grado I/II = 29) y 66 controles. Resultados: alelo, genotípico y haplotípico. Las frecuencias fueron similares entre mujeres con CC y controles, así como entre tipos histológicos. Los niveles séricos del componente C3 fueron significativamente más bajos en mujeres con NIC I/II ($p = 0,001$) y CC ($p = 0,047$) que en el grupo de control. Conclusión: Nuestros resultados sugieren que un posible papel del componente C3 en la fisiopatología del CC no está relacionado con los polimorfismos funcionales investigados (rs2230199A>G y rs1047286C>T). Los niveles séricos reducidos del componente C3 en mujeres con lesiones precursoras y CC sugieren su escisión, lo que probablemente esté asociado con la activación del CS y el mantenimiento del estado inflamatorio de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: Cáncer de cuello uterino; gen C3; Polimorfismos genéticos; Sistema de complemento.

1. INTRODUÇÃO

O câncer cervical (CC) é uma das neoplasias mais prevalentes entre mulheres em todo o mundo, com cerca de 604.000 novos casos diagnosticados anualmente (WHO, 2024). Em razão disso, a busca por métodos alternativos de triagem e a investigação de biomarcadores precoces representam uma demanda de grande relevância no âmbito da saúde (Volkova; Pashov; Omelchuk, 2021). Embora a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) seja necessária, ela por si só não é suficiente para causar o desenvolvimento das lesões precursoras (neoplasia intraepitelial cervical - NIC) ou CC. Isso sugere que fatores genéticos e imunológicos das pacientes influenciam no desenvolvimento e na progressão tanto da NIC quanto do CC (Doorbar *et al.*, 2012).

Dentre os fatores imunológicos, o sistema complemento (SC) como parte do sistema imune inato, atua em processos biológicos essenciais para a defesa do organismo, incluindo o reconhecimento, fagocitose, lise e opsonização de patógenos e células tumorais (Reis *et al.*, 2017; Ricklin *et al.*, 2010). No câncer, SC exerce uma função dupla: por um lado, pode desencadear a resposta imune antitumoral, mediando a citólise e modulando a resposta imune inata. Por outro lado, a ativação desequilibrada do SC no microambiente tumoral favorece a imunossupressão das células T locais e a inflamação crônica, o que contribui para a evasão imunológica do tumor, além de promover seu crescimento e metástase (Reis *et al.*, 2017; Revel *et al.*, 2020).

O componente C3 é a molécula central na ativação do SC e tem sido associado à tumorigênese de vários tipos de câncer, incluindo CC, tanto em modelos animais quanto em humanos (Jeong *et al.*, 2008; Markiewski *et al.*, 2008; Reis *et al.*, 2017). No entanto, a influência dos polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) do gene *C3* em pacientes com CC ainda não foi investigada. Os SNPs, rs2230199:A>G [p.Arg102Gly; Alótipos C3S/F para migração lenta/rápida em eletroforese] e rs1047286:C>T [Pro314Leu] do gene *C3*, estão localizados em éxons que codificam parte do fragmento C3b. C3b é uma opsonina resultado da ativação do componente C3, e está envolvida na eliminação de complexos imunes, células tumorais e formação da C3 convertase da via alternativa (Reis *et al.*, 2017; Ricklin *et al.*, 2016). Ambas as substituições de SNPs afetam a função C3b e a ativação do SC (Abrera-Abeleda *et al.*, 2011; Heurich *et al.*, 2011). Estudos funcionais demonstraram que o alelo rs2230199_G ocasiona menor afinidade de C3b pelo fator H (FH) (Abrera-Abeleda *et al.*, 2011) sendo um regulador negativo da ativação do SC pela via alternativa (VA) (Paun *et al.*, 2016). Em contraste, o alelo rs1047286_T leva a uma

maior afinidade de C3b pelo fator B (FB), um passo crucial na formação da C3 convertase da via alternativa (Heurich *et al.*, 2011). Além disso, ambos os alelos foram associados a uma maior ativação da via alternativa (Heurich *et al.*, 2011; Yates *et al.*, 2007) e a vários distúrbios inflamatórios relacionados ao SC (Sena *et al.*, 2020; Törn *et al.*, 2016)

Considerando a relevância do SC na tumorigênese e a escassez de informações sobre a atuação do componente C3 em NICs e CC, o presente estudo teve como objetivo avaliar o possível papel dos polimorfismos do gene *C3* no CC, bem como os níveis séricos do componente C3 na patogênese de NIC I, NIC II e CC.

2. MÉTODOS

2.1 Comitê de Ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética sob protocolo número 2.835.307, do Hospital Erasto Gaertner (Curitiba, PR, Brasil). Todas as participantes que aceitaram participar dessa pesquisa assinaram o termo escrito de livre consentimento, de acordo com a Declaração de Helsinque.

2.2 Participantes

Foram analisadas 86 pacientes com CC diagnosticadas por exame citológico associado a colposcopia cervical. Destas, 63 (73%) apresentaram diagnóstico de carcinoma espinocelular (CEC) e 15 (18%) com adenocarcinoma; oito (9%) não possuíam classificação histopatológica disponível. Além disso, foram incluídas no estudo 29 pacientes com lesões precursoras [NIC I = 15 (52%); NIC II = 14 (48%)] diagnosticadas por meio de colposcopia cervical e exame histopatológico.

As pacientes foram recrutadas no ambulatório de ginecologia do Hospital Erasto Gaertner (Curitiba, Brasil) no período de julho de 2017 a novembro de 2017 e de março de 2019 a março de 2020. Os critérios de inclusão foram idade > 18 anos e diagnóstico de CC. Os critérios de exclusão foram gravidez, positividade para síndrome da imunodeficiência humana (HIV), doenças autoimunes diagnosticadas, uso de corticosteroides e transfusão sanguínea nos últimos 60 dias.

O grupo controle foi composto por 78 mulheres com citologia negativa para NIC e CC recrutadas na Unidade Básica de Saúde Nossa Senhora Aparecida (Curitiba, Brasil) entre março de 2019 e março de 2020. Os critérios de inclusão foram mulheres > 18 anos

com citologia negativa para NIC e CC, sem queixas clínicas e ausência autodeclarada de doenças inflamatórias crônicas. Os critérios de exclusão foram os mesmos das pacientes com NIC ou CC. Os dados sociodemográficos foram obtidos de pacientes e controles por meio de consulta a prontuários eletrônicos e entrevistas através de questionário padronizado (Tabela 1). Amostras de sangue periférico foram coletadas das participantes para posteriores análises genéticas e sorológicas.

Tabela 1: Características sociodemográficas do grupo controle e CC.

	Controle n=78	%	CC n=86	%	p
Idade					0.0006
20-35	25	32.05	11	12.79	
31-40	14	17.95	25	29.07	
41-50	25	32.05	17	19.77	
>51	14	17.95	33	38.37	
Ancestralidade					0.073
Eurodescendente	61	76.9	75	87.2	
Afrodescendente	13	16.7	11	12.8	
Indígena	4	6.4	0	0.0	
Contraceptivos orais					< 0.0001
Sim	23	29.5	55	64.0	
Não	55	70.5	29	33.7	
Não informado	0	0.0	2	2.3	
Número de gestações					0.006
0	14	17.9	2	2.3	
1	10	12.8	15	17.4	
2	19	24.4	18	20.9	
≥3	35	44.9	51	59.3	
^aEscolaridade					0.025
Ensino Fundamental	36	46.2	55	64.0	
Ensino Médio	27	34.6	24	27.9	
Universidade	12	15.4	6	7.0	
Nenhum estudo	0	0.0	1	1.2	
Não informado	3	3.8	0	0.0	
Estado civil					0.006
Solteira	18	23.1	6	7.0	
Casada/união estável	47	60.3	57	66.3	
Divorciada	6	7.7	11	12.8	
Viúva	3	3.8	11	12.8	
Dados ausentes	4	5.1	1	1.2	

Valor de $p < 0,05$ são mostrados em negrito. ^aBaseado no sistema educacional brasileiro.

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

2.3 Polimorfismos do gene C3

Um total de 86 mulheres com CC e 78 controles foram genotipadas para três SNPs do gene C3: rs2250656: A>G localizado no íntron 2, rs2230199: C>G [p.Arg102Gln] no éxon 3 e rs1047286: C>T [p.Pro314Leu] no éxon 9 (Figura 1), usando o método de PCR-SSP (Reação em Cadeia da Polimerase de Sequência Específica), de acordo com o método descrito por Sena *et al.* (2020) (Sena *et al.*, 2020). Esses SNPs foram selecionados com base em seus efeitos na ativação do SC (Abrera-Abeleda *et al.*, 2011; Rodriguez *et al.*, 2015), associação com doenças inflamatórias (Roostaei *et al.*, 2019; Sena *et al.*, 2020; Törn *et al.*, 2016) e frequência populacional usando o banco de dados Ensembl (<http://www.ensembl.org>). O DNA foi extraído usando o método salting-out descrito por Cardozo (Cardozo *et al.*, 2009). As amostras de DNA foram quantificadas em espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, Wilmington, EUA) e diluídas para 50 ng/μl e armazenadas a -20 °C até a amplificação.

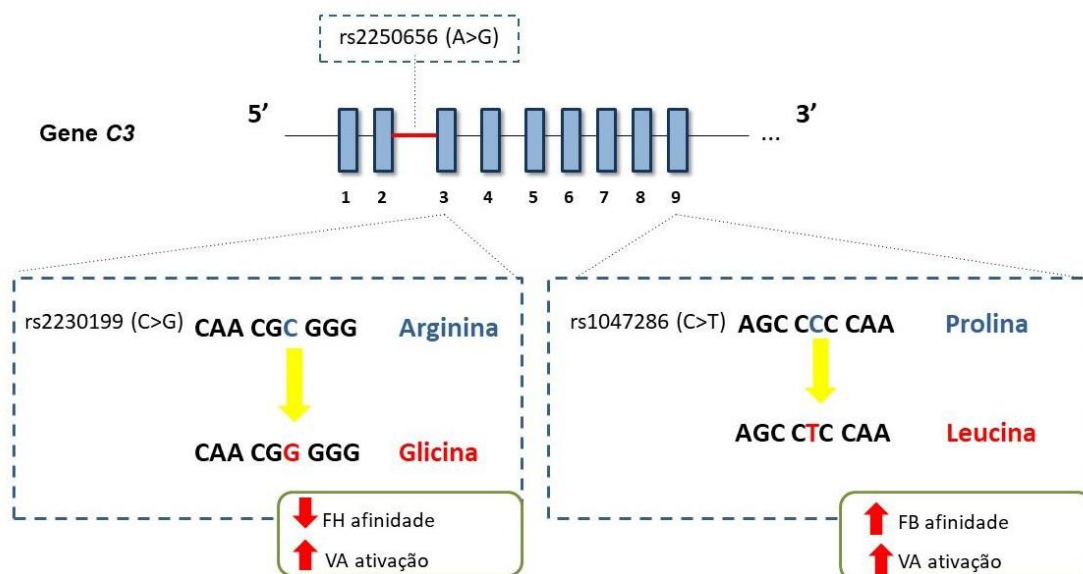


Figura 1: Localização dos SNPs do gene C3 investigados.

O SNP rs2230199 (C>G) resulta na substituição do aminoácido arginina com carga positiva pela glicina neutra, reduzindo a capacidade de ligação da proteína reguladora do fator H (FH) e consequentemente associando-se à maior ativação da via alternativa (VA) (Abrera-Abeleda *et al.*, 2011). O rs1047286 (C>T) resulta na substituição do aminoácido prolina pela leucina, causando maior afinidade pelo Fator B (FB), e está relacionado à maior ativação da via alternativa (VA) (Abrera-Abeleda *et al.*, 2011; Heurich *et al.*, 2011).

Fonte: os autores.

2.4 Níveis séricos do componente C3

Os níveis séricos do componente C3 foram avaliados em 66 controles e 40 pacientes, 11 com CC e 29 com lesões precursoras (NIC I = 15; NIC II = 14). Os grupos foram pareados por idade (média nos controles: 39,1 anos; CC: 37,5 anos; NIC I/II: 35,6 anos; $p > 0,05$) e ancestralidade (euro-brasileiras nos controles: 81%, CC: 64%, NIC I/ II 76%; $p > 0,05$).

A dosagem de C3 foi determinada usando ensaio imunoenzimático (ELISA) desenvolvido internamente conforme descrito por Gracia *et al.* (2021) (Gracia *et al.*, 2021). Os dados são apresentados como médias e desvios padrão.

2.5 Análise estatística

As frequências alélicas e genótípicas foram determinadas por contagem direta. Os haplótipos foram inferidos usando os algoritmos EML e EBL em Arlequin (v.3.1). As distribuições genótípicas euro e afro-brasileira nos controles e pacientes foram comparadas usando o teste exato de diferenciação populacional (Raymond; Rousset, 1995). O pacote do software Arlequin v.3.1 foi usado para testar a hipótese de equilíbrio de Hardy-Weinberg (Guo; Thompson, 1992). Para análises de associação, foram realizados testes independentes entre variáveis por meio do teste qui-quadrado com correção de Yates ou teste de Fisher bicaudal. Os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk foram utilizados para avaliar a normalidade dos dados de quantificação do componente C3 utilizando o software GraphPad Prism (versão 3.0). As comparações entre médias foram realizadas por meio do teste t e dos testes de Mann-Whitney. As estatísticas descritivas das concentrações séricas de C3 foram apresentadas como média e desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ foram ajustados por análise de regressão logística utilizando o programa STATA v.9.2 (StataCorp, EUA). As covariáveis idade, etnia, uso de anticoncepcionais orais, número de gestações, escolaridade e estado civil foram incluídas no modelo de regressão logística quando apresentaram valor de $p \leq 0,2$ na análise univariada. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

A distribuição genotípica dos SNPs do gene *C3* estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg nos controles e pacientes ($p < 0,05$). As frequências alélicas e genótípicas dos SNPs estudados foram semelhantes às encontradas em europeus, de acordo com o banco

de dados SNP ([//www.ensembl.org/index.html](http://www.ensembl.org/index.html)). Além disso, as populações euro-brasileira e afro-brasileira apresentaram frequências genotípicas semelhantes. O desequilíbrio de ligação (LD) foi elevado entre os alelos rs2230199G e rs1047286T em pacientes e controles ($R^2 > 0,80$; Figura 2).

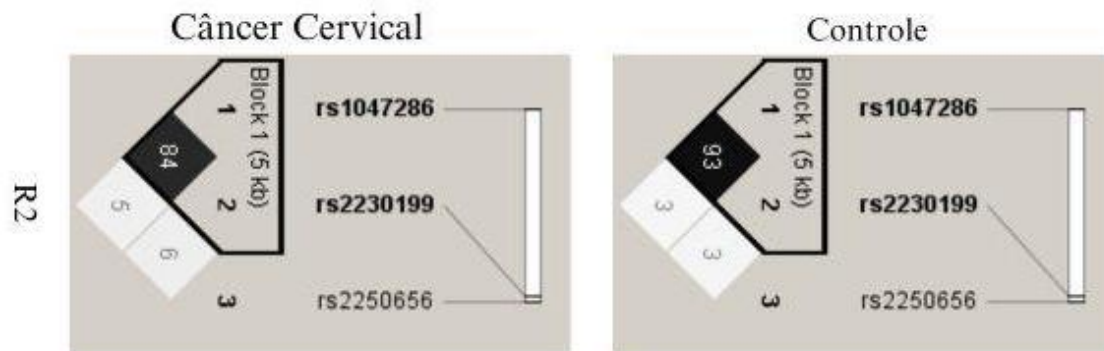


Figura 2: Gráfico de desequilíbrio de ligação dos três SNPs do gene *C3* em pacientes com CC e controle.

Não houve diferenças nas frequências alélicas e genotípicas entre os grupos controle e CC, ou entre controle e os tipos histológicos de CC (CEC e adenocarcinoma). Entretanto, houve tendência de associação positiva do genótipo rs2250656_GG com CEC ($p = 0,058$; odds ratio (OR) = 1,54 [IC 95% 0,86–2,76], e dos genótipos rs2230199_GG e 1047286_TT com CC tipo adenocarcinoma ($p = 0,060$; OU = 1,57; [IC 95% 0,51–4,77] e 0,053 OR = 1,26 [IC 95% 0,38–4,12]) (Tabela 2).

Tabela 2: Frequências alélicas e genotípicas de SNPs do gene *C3* em pacientes com CC e seus tipos histológicos (CEC e adenocarcinoma) e controles.

C3 SNPs	Controle	CC	CEC	Adenoc.	Controle	Controle	Controle	CEC vs.
	n=78	n=86	n=63	n=15	vs. CC	vs. CEC	vs. Adenoc.	Adenoc.
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	p	p	p	p
rs2250656 (Intron 2)								
AA	46 (59.0)	40 (46.5)	27 (42.9)	7 (50.0)	0.102 [#]	0.058 [#]	0.279 [#]	0.836 [#]
AG	29 (37.2)	36 (41.9)	28 (44.4)	5 (35.7)	0.120 ^s	0.064 ^s	0.568 ^s	0.768 ^s
GG	3 (3.8)	10 (11.6)	8 (12.7)	2 (14.3)	0.085 ^{&}	0.063 ^{&}	0.165 ^{&}	1.000 ^{&}
A	121 (77.6)	116 (67.4)	82 (65.1)	19 (67.9)	0.410	0.250	0.335	0.830
G	35 (22.4)	56 (32.6)	44 (34.9)	9 (32.1)				
rs2230199 p.Arg102Gly (Exon 3)								
CC	60 (76.9)	69 (80.2)	52 (82.5)	10 (71.4)	0.284 [#]	0.319 [#]	0.060 [#]	0.418 [#]
CG	18 (23.1)	15 (17.4)	10 (15.9)	3 (21.4)	0.704 ^s	0.530 ^s	0.736 ^s	0.455 ^s
GG	0 (0.0)	2 (2.3)	1 (1.6)	1 (7.1)	0.498 ^{&}	0.447 ^{&}	0.152 ^{&}	0.333 ^{&}
C	138 (88.5)	153 (88.9)	114 (90.5)	23 (82.1)	1.000	0.699	1.000	0.737
G	18 (11.5)	19 (11.1)	12 (9.5)	5 (17.9)				

rs1047286
 Pro314Leu
 (Exon 9)

<i>CC</i>	61 (78.2)	72 (83.7)	53 (84.1)	11 (78.6)	0.357 [#]	0.399 [#]	0.053 [#]	0.102 [#]
<i>CT</i>	17 (21.8)	13 (15.1)	10 (15.9)	2 (14.3)	0.427 ^{\$}	0.399 ^{\$}	1.000 ^{\$}	0.695 ^{\$}
<i>TT</i>	0 (0.0)	1 (1.2)	0 (0.0)	1 (7.1)	1.000 ^{&}	na	0.152 ^{&}	0.182 ^{&}
<i>C</i>	139 (89.1)	157 (91.3)	116 (92.1)	24 (85.7)	0.578	0.424	0.533	0.286
<i>T</i>	17 (10.9)	15 (8.7)	10 (7.9)	4 (14.3)				

CC: câncer cervical; CEC: carcinoma espinocelular; Adenoc: adenocarcinoma; [#]Modelo aditivo: homozigoto para o haplótipo de análise vs heterozigoto vs demais haplótipos; [&]Modelo dominante: homozigoto/heterozigoto para o haplótipo de análise vs. demais haplótipos; ^{\$}Modelo recessivo: homozigoto para o haplótipo de análise vs. demais haplótipos;

Os três SNPs avaliados resultaram em uma combinação de cinco haplótipos (ACC, GCC, AGT, GCT e AGC) (Tabela 3). Uma associação do haplótipo C3 GCC com CC (p = 0,032; OR = 2,92 [IC 95% 1,12–7,54]) e CEC (p = 0,021; OR = 3,12 [IC 95% 1,16–8,38]) foi observada no análise univariada; entretanto, a significância não foi mantida após ajuste por regressão logística (CC: p = 0,348; OR = 1,34 [IC 95% 0,72–247]; CCS: p = 0,274; OR = 2,51 [IC 95% 0,48–13,2]). Os demais haplótipos C3 não foram associados ao CC ou aos tipos histológicos de CC avaliados.

Tabela 3: Haplótipos do gene *C3* em pacientes com CC e os tipos histológicos (CEC e adenocarcinoma), e controles.

C3 Haplótipos	Controle	CC	CEC	Adenoc.	Controle vs. CC		Controle vs. CEC		Controle vs. Adenoc.	SCC vs. Adenoc.
	n=156	n=172	n=126	=30	p ^{bruto}	p ^{ajust.*}	p ^{bruto}	p ^{ajust.*}	p	p
<i>ACC</i>	103 (66.0)	97 (56.4)	70 (55.6)	15 (50.0)	0.132 [#]		0.119 [#]		0.209 [#]	0.858 [#]
					0.089 ^{&}		0.085 ^{&}		0.102 ^{&}	0.684 ^{&}
					0.084 ^{\$}		0.063 ^{\$}		0.157 ^{\$}	0.825 ^{\$}
<i>GCC</i>	35 (22.4)	55 (32.0)	43 (34.1)	10 (33.4)	0.044 [#]	0.346 [#]	0.028 [#]	0.167 [#]	0.099 [#]	0.903 [#]
					0.063 ^{&}		0.033 ^{&}	0.250 ^{&}	0.244 ^{&}	1.000 ^{&}
					0.032 ^{\$}	0.348 ^{\$}	0.021 ^{\$}	0.274 ^{\$}	0.058 ^{\$}	0.752 ^{\$}
<i>AGT</i>	17 (10.9)	14 (8.1)	9 (7.1)	4 (13.3)	0.192 [#]		0.308 [#]		0.697 [#]	0.240 [#]
					0.452 ^{&}		0.308 ^{&}		0.753 ^{&}	0.277 ^{&}
					0.500 ^{\$}		n.a ^{\$}		0.250 ^{\$}	0.360 ^{\$}
<i>AGC</i>	1 (0.7)	5 (2.9)	3 (2.4)	1 (3.3)	0.218 [#]		0.328 [#]		0.328 [#]	0.578 [#]
					0.218 ^{&}		0.328 ^{&}		0.297 ^{&}	0.578 ^{&}
					n.a ^{\$}		n.a ^{\$}		n.a ^{\$}	n.a ^{\$}
<i>GCT</i>	0	1 (0.6)	1 (0.8)	0	1.000 [#]		n.a [#]		n.a [#]	n.a [#]
					1.000 ^{&}		0.447 ^{&}		n.a ^{&}	n.a ^{&}
					n.a ^{\$}		n.a ^{\$}		n.a ^{\$}	n.a ^{\$}

CC: câncer cervical; CEC: carcinoma espinocelular; Adenoc: adenocarcinoma.

*valor de p ajustado por idade, etnia, uso de anticoncepcional oral e número de gestações. na=não se aplica; [#]Modelo aditivo: homozigoto para o haplótipo de análise vs heterozigoto vs demais haplótipos;

[&]Modelo dominante: homozigoto/heterozigoto para o haplótipo de análise vs. demais haplótipos;

^{\$}Modelo recessivo: homozigoto para o haplótipo de análise vs. demais haplótipos.

Os níveis séricos de C3 foram significativamente mais baixos em mulheres com lesões precursoras [NIC I/II] (média: $83,9 \pm 16,4$ mg/dl; $p = 0,001$) e CC (média: $87,2 \pm 28,0$ mg/dl; $p = 0,047$) do que no grupo controle (média: $102,1 \pm 23,8$ mg/dl). Mulheres com NIC I (média: $82,1 \pm 9,7$ mg/dl; $p = 0,005$) e NIC II (média: $85,9 \pm 21,7$ mg/dl; $p = 0,019$) também apresentaram níveis mais baixos de C3 em comparação aos controles. Não foram observadas diferenças significativas entre os demais grupos (Figura 3).

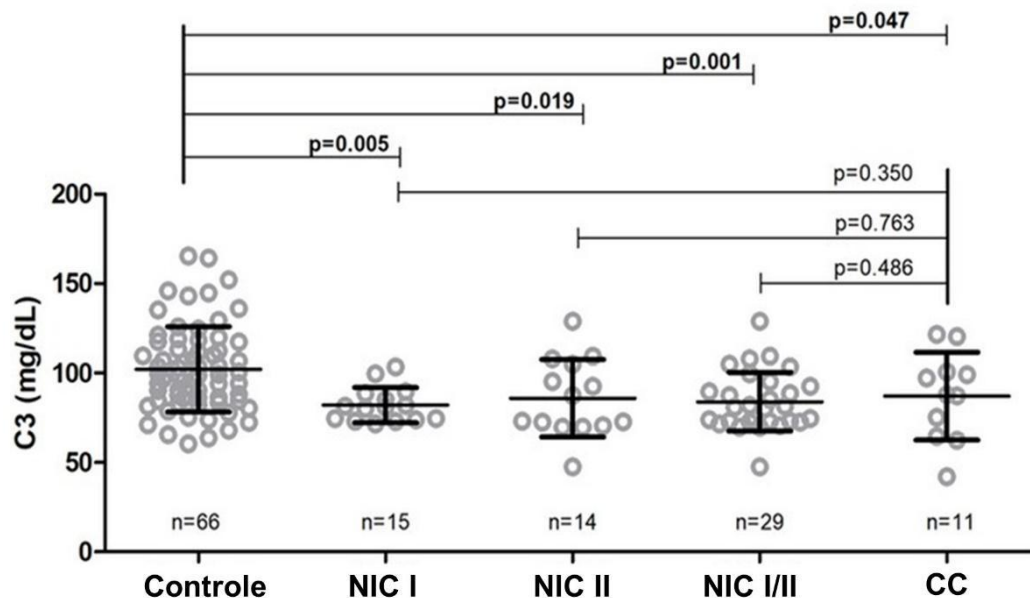


Figura 3: Níveis séricos de C3 em controle, NIC I, NIC II, NIC I/II e CC. NIC I: neoplasia intraepitelial cervical grau I; NIC II: neoplasia intraepitelial cervical grau II; CC: câncer do colo do útero.

Os dados são apresentados como média e desvio padrão. Valores de p ajustados por regressão logística (ajustados por idade, ancestralidade, uso de anticoncepcionais orais e número de gestações). A dosagem de C3 foi determinada por ELISA.

4. DISCUSSÃO

Pesquisas sobre o papel do SC no desenvolvimento e progressão de CC são limitadas, com poucos estudos utilizando modelos animais e clínicos (Canales *et al.*, 2014; Jeong *et al.*, 2008; Maestri *et al.*, 2018; Markiewski *et al.*, 2008). Os resultados do presente estudo sugerem que o componente C3 do SC desempenha papel na imunopatologia de NICs e CC. Observamos concentrações séricas de C3 significativamente mais baixas em mulheres com lesões precursoras e CC em comparação aos controles. Esse achado pode estar relacionado à ativação do SC que leva a clivagem do componente C3 e consequente redução de seus níveis circulantes, devido ao estado inflamatório associado ao processo de tumorigênese na doença.

Nossa hipótese inicial era de que os alelos rs2230199_G e rs1047286_T estivessem associados ao CC, promovendo a formação da C3 convertase e ativando SC pela via alternativa (Abrera-Abeleda *et al.*, 2011; Heurich *et al.*, 2011; Paun *et al.*, 2016), o que contribuiria para o processo inflamatório crônico favorecendo o microambiente tumoral. A ativação desequilibrada do SC no microambiente tumoral está relacionada à imunossupressão local de células T, que promove evasão imunológica, crescimento tumoral e metástase (Corrales *et al.*, 2012; Markiewski *et al.*, 2008; Reis *et al.*, 2017). Contudo, no presente estudo, os alelos rs2230199_G e rs1047286_T do gene C3, que geneticamente predisõem ao aumento da ativação do SC, não foram associados ao risco aumentado de CC. Embora o tamanho da amostra seja uma limitação, não se pode descartar a possibilidade de que ele tenha influenciado os resultados. Além disso, o papel dos polimorfismos do gene C3 no CC pode ser independente dos SNPs analisados.

A menor concentração sérica do componente C3 observada em pacientes com CC e NIC I/II sugere a clivagem de C3, provavelmente relacionado à ativação do SC e ao estado inflamatório presente no microambiente tumoral e nas lesões precursoras. Esta hipótese é reforçada pela extensa deposição de produtos de clivagem do C3 (C3b, iC3b e C3c) no tecido tumoral de um modelo de camundongo com CC, indicando ativação local do SC (Corrales *et al.*, 2012). Nesse contexto, níveis séricos baixos de C3 podem resultar, em parte, da ativação do SC devido à imunovigilância (Revel *et al.*, 2020).

A clivagem de C3 pode sugerir que o SC participa de mecanismos pró-tumorais, como a imunossupressão de células T (Revel *et al.*, 2020). Em contraste com os nossos resultados, um estudo em mulheres coreanas com CC mostrou níveis plasmáticos elevados do componente C3 em comparação com aquelas tratadas para doenças cervicais benignas (Jeong *et al.*, 2008). Alguns fatores podem ter influenciado os resultados distintos em comparação com o presente estudo, entre eles, a média de idade das participantes entre os estudos, bem como entre casos e controles, inclusão de pacientes em tratamento para doenças cervicais benignas, diferentes métodos de quantificação e populações estudadas (Heurich *et al.*, 2011; Ricklin *et al.*, 2016). Em nosso estudo, a quantificação do componente C3 foi realizada em uma coorte de mesma faixa etária e ancestralidade, e que não estava recebendo tratamento para CC ou outras condições que afetassem o colo do útero.

Este estudo apresenta como limitação o número reduzido de pacientes. Entretanto, a amostra estudada dispõe de boa caracterização clínica, dados que foram utilizados nos

ajustes estatísticos para aumentar a confiabilidade dos resultados obtidos. Além disso, as amostras não possuíam genotipagem para os principais tipos de HPVs oncogênicos (HPV16 e HPV18), o que seria importante para melhor caracterização do grupo controle e a classificação de pacientes com maior risco de progressão para CC. Estudos futuros, com uma coorte maior e abrangendo todos os estágios de NIC e CC, são necessários para esclarecer o papel dos SNPs do gene *C3* e do componente C3 nas lesões precursoras e CC.

Em conclusão, este é o primeiro estudo a investigar a associação entre polimorfismos funcionais do gene *C3* e CC. Nossos resultados indicaram que os alelos rs2230199_G e/ou rs1047286_T, os quais predis põem os pacientes à alta ativação da via alternativa do SC, não estão associados à fisiopatologia do CC. Os níveis reduzidos do componente C3 observados em mulheres com lesões precursoras e CC e sugerem a clivagem desse componente, que provavelmente está associado à ativação do SC e ao estado inflamatório da doença. Esses achados podem contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos imunes envolvidos na doença, além de orientar futuros estudos e aplicações clínicas.

5. AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado por subsídios e bolsas da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

ABRERA-ABELEDA, M. A. *et al.* Allelic variants of complement genes associated with dense deposit disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 8, p. 1551–1559, 2011.

CANALES, N. A. G. *et al.* A1BG and C3 are overexpressed in patients with cervical intraepithelial neoplasia III. **Oncology Letters**, v. 8, n. 2, p. 939–947, 2014.

CARDOZO, D. M. *et al.* Extração de DNA a partir de sangue humano coagulado para aplicação nas técnicas de genotipagem de antígenos leucocitários humanos e de receptores semelhantes à imunoglobulina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 6, p. 651–656, 2009.

CORRALES, L. *et al.* Anaphylatoxin C5a Creates a Favorable Microenvironment for Lung Cancer Progression. **The Journal of Immunology**, v. 189, n. 9, p. 4674–4683, 2012.

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

GRACIA, D. F. K. *et al.* Ficolin activation as a potential biomarker of the severity of schizophrenia. **Psychiatry Research**, v. 304, p. 114122, 2021.

GUO, S. W.; THOMPSON, E. A. Performing the exact teste of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrical Journal**, v. 48, n. 2, p. 361–372, 1992.

HEURICH, M. *et al.* Common polymorphisms in C3, factor B, and factor H collaborate to determine systemic complement activity and disease risk. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 21, p. 8761–8766, 24 maio 2011.

JEONG, D. H. *et al.* Plasma proteomic analysis of patients with squamous cell carcinoma of the uterine cervix. **J Gynecol Oncol**, v. 19, n. 3, p. 173–180, 2008.

MAESTRI, C. A. *et al.* MASP-1 and MASP-2 serum levels are associated with worse prognostic in cervical cancer progression. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 23 nov. 2018.

MARKIEWSKI, M. M. *et al.* Modulation of the antitumor immune response by complement. **Nature Immunology**, v. 9, n. 11, p. 1225–1235, 2008.

PAUN, C. C. *et al.* A Novel Complotype Combination Associates with Age-Related Macular Degeneration and High Complement Activation Levels in vivo. **Scientific Reports**, v. 6, n. 31, p. 1–8, 2016.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. An Exact Test for Population Differentiation. **Evolution**, v. 49, n. 6, p. 1280–1283, 1995.

REIS, E. S. *et al.* Complement in cancer: Untangling an intricate relationship. **Nature Reviews Immunology**, v. 18, n. 1, p. 5–18, 2017.

REVEL, M. *et al.* Complement system: Promoter or suppressor of cancer progression? **Antibodies**, v. 9, n. 4, p. 1–21, 2020.

RICKLIN, D. *et al.* Complement: A key system for immune surveillance and homeostasis. **Nature Immunology**, v. 11, n. 9, p. 785–797, 2010.

RICKLIN, D. *et al.* Complement component C3 – The “Swiss Army Knife” of innate immunity and host defense. **Immunological Reviews**, v. 274, n. 1, p. 33–58, 2016.

RODRIGUEZ, E. *et al.* A revised mechanism for the activation of complement C3 to C3b: A molecular explanation of a disease-associated polymorphism. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 4, p. 2334–2350, 2015.

ROOSTAEI, T. *et al.* Convergent effects of a functional C3 variant on brain atrophy, demyelination, and cognitive impairment in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 25, n. 4, p. 532–540, 2019.

SENA, L. *et al.* C3 Gene Functional Polymorphisms and C3 Serum Levels in Patients with Rheumatoid Arthritis. **Immunological Investigations**, v. 50, n. 8, p. 1–15, 2020.

TÖRN, C. *et al.* Complement gene variants in relation to autoantibodies to beta cell specific antigens and type 1 diabetes in the TEDDY Study. **Scientific Reports**, v. 6, n. June, p. 1–10, 2016.

VOLKOVA, L. V.; PASHOV, A. I.; OMELCHUK, N. N. Cervical carcinoma: Oncobiology and biomarkers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, 1 nov. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cervical cancer, Key facts**. [S. l.]: WHO, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer>. Acesso em: 17 dez. 2024.

YATES, J. R. W. *et al.* Complement C3 Variant and the Risk of Age-Related Macular Degeneration. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 6, p. 553–561, 9 ago. 2007.

CONTRIBUIÇÃO DE AUTORIA

Tatiane da Piedade Batista Godoy: Escrita do artigo, dosagem do componente C3, coleta de amostras biológicas, análise estatística e genotipagem do gene C3.

Lorena Bavia: Dosagem do componente C3, escrita e revisão do artigo.

Renato Mitsunori Nisihara: Dosagem do componente C3.

Camila de Freitas Oliveira Toré: Aplicação dos questionários e coleta das amostras sorológicas.

Patrícia Savio de Araújo Souza: Revisão do manuscrito.

Fernanda Villar Fonseca: Coleta das amostras biológicas e aplicação dos questionários.

Iara Messias Reason: Orientação das atividades de laboratório e revisão do manuscrito.

Fabiana Antunes de Andrade: Escrita e revisão do manuscrito, análise estatística, genotipagem do gene C3.