

Existe alteração no mecanismo de adesão celular mediado pela E-caderina nas neoplasias cervicais de pacientes soropositivas para o HIV?

Is there any change in the cell adhesion method mediated by e-cadherin in cervical neoplasia of HIV-infected patients?

Artigo original

Palavras-chave

Colo do útero
Displasia do colo do útero
HIV
Imunidade
Imunidade celular
Caderinas

Keywords

Cervix uteri
Uterine cervical dysplasia
HIV
Immunity
Immunity, cellular
Cadherins

Resumo

OBJETIVOS: avaliar a expressão da E-caderina em lesões do colo uterino em pacientes portadoras da infecção pelo vírus HIV. **MÉTODOS:** foi realizado um estudo com 77 pacientes apresentando o HPV cervical, sendo 40 soropositivas e 37 soronegativas para o HIV, todas submetidas à colposcopia e biópsia de colo uterino. O material obtido foi encaminhado para histopatologia e imunoistoquímica. Foram realizados cortes e montagem em lâminas silanizadas, e o observador foi blindado para a sorologia da paciente. Foram utilizados os anticorpos E-caderina, marca DAKO, clone NHC-38, com diluição de 1:400, e o sistema de polímeros Novolink (Novocastra). A expressão de E-caderina foi avaliada na membrana da célula epitelial, através da extensão da área corada. Utilizou-se o teste do χ^2 com correção de Yates ou o teste de Fisher, para comparação de proporções na análise univariada. Foram incluídas no modelo de regressão logística todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, chamado de modelo inicial. Foi utilizado o pacote estatístico SPSS e adotado o nível de significância estatística de 5%. **RESULTADOS:** a expressão da E-caderina foi identificada em até 1/3 interno do epitélio em 59,3% dos casos e em até 2/3 do epitélio em 11,1% dos casos, mas em 29,6% dos casos a expressão foi identificada em toda a espessura do epitélio entre as pacientes soronegativas para o HIV. Por outro lado, nas pacientes soropositivas para o HIV, verificou-se 45,9% com expressão em até 1/3 do epitélio, 13,5% com expressão até 2/3 do epitélio e 40,5% em toda a espessura do epitélio. A expressão da E-caderina não foi diferente entre os dois grupos ($p=0,5$). A análise multivariada, contudo, identificou associação significativa entre as lesões cervicais de alto grau e a expressão da E-caderina em 2/3 e 3/3 do epitélio ($p \leq 0,001$; $\chi^2=36,9$). **CONCLUSÕES:** a expressão da E-caderina na membrana das células epiteliais não está associada à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, e sim ao grau da lesão intraepitelial cervical.

Abstract

PURPOSE: to evaluate the expression of E-cadherin in cervical lesions of patients suffering from HIV infection. **METHODS:** we conducted a study with 77 patients with cervical HPV infection, 40 of them were HIV seropositive and 37 HIV seronegative who underwent colposcopy and a biopsy of the cervix. The material obtained by biopsy of the cervix was sent for histopathologic and immunohistochemical study. Sections were obtained and mounted on silanized slides and examined by an observer who was blind to patient serology. E-cadherin antibody, clone NHC-38 diluted 1:400 (DAKO) and the Novolink polymer system (Novocastra) were used. The expression of E-cadherin was determined on the epithelial cell membrane based on the extent of the stained area. The χ^2 test with Yates correction or the Fisher's Exact test was used for comparison of the proportion in univariate analysis. All the variables with $p \leq 0.25$ were included in the logistic regression model, called initial model. The analyses were carried out using the SPSS software, with the level of significance set at 5%. **RESULTS:** the expression of E-cadherin was observed in up to the internal 1/3 of the epithelium in 59.3% of cases and in up to 2/3 of the epithelium in 11.1% of cases, but in 29.6% of cases the expression was identified throughout the thickness of the epithelium in HIV-seronegative patients. In contrast, in HIV-seropositive patients, 45.9% showed expression up to 1/3 of the epithelium, 13.5% showed expression in up

Correspondência:

Juliana Barroso Zimmermann
Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Juiz de Fora
Departamento Materno Infantil,
Campus Universitário – Bairro Martelos
CEP 36015-510 – Juiz de Fora (MG), Brasil
E-mail: julianabz@uol.com.br

Recebido

8/9/09

Aceito com modificações

23/6/10

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG), Brasil; Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF – Juiz de Fora (MG), Brasil.

¹Professora do Departamento Materno Infantil da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF – Juiz de Fora (MG), Brasil.

²Professora do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG), Brasil.

³Professor do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF – Juiz de Fora (MG), Brasil.

⁴Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG), Brasil.

to 2/3 of the epithelium, and 40.5% showed expression throughout the thickness of the epithelium. E-cadherin expression did not differ between groups ($p=0.5$). However, the multivariate analysis identified a significant association between high-grade cervical injury and E-cadherin expression in 2/3 and 3/3 of the epithelium ($p=0.001$; $\chi^2=36.9$). **CONCLUSIONS:** the expression of E-cadherin in the epithelial cell membrane is not associated with infection by the human immunodeficiency virus, but with the degree of intraepithelial cervical injury.

Introdução

Os macrófagos são células que pertencem ao Sistema Mononuclear Fagocitário (SMF), originando-se a partir de células medulares primitivas. Do sangue periférico, os monócitos migram para os tecidos, diferenciando-se localmente, como, por exemplo, em células de Langerhans (LC) (mucosa), macrófagos alveolares (pulmão) e osteoclastos (ossos). As principais funções dessas células incluem a fagocitose de partículas e a apresentação de antígenos para os linfócitos T e B. Essas células, após digerirem uma ampla variedade de partículas, apresentam o antígeno para o sistema imune, favorecendo o seu reconhecimento pelas células imunocompetentes¹.

Entretanto, para que ocorra resposta imunológica, é necessária a adesão celular. Essa interação é mediada por várias moléculas e, dentre elas, as caderinas, proteínas transmembrana, e cálcio-dependentes têm a função de promover adesão intercelular e a manutenção da arquitetura tecidual normal¹⁻⁴. Existem várias caderinas conhecidas, sendo que as mais estudadas são as E (epitelial), P (placentária) e N (neural), conhecidas como caderinas clássicas⁵.

A demonstração de que as LC expressam altos níveis de E-caderina sugere que esta molécula promove a manutenção destas células no tecido epitelial, e que esta expressão é atenuada como consequência da ativação e maturação celular. A perda de adesão celular está entre os primeiros eventos da resposta imunológica, que permitirá a migração das LC do epitélio para os linfonodos regionais¹. Em estudos realizados com animais e humanos, verificou-se que a E-caderina impede que as células de um tumor primário se soltem e invadam locais próximos ou distantes. Portanto, a redução da expressão dessas moléculas é um fator facilitador da disseminação das células tumorais³⁻⁶. Nas lesões cervicais, é relatada alteração da expressão da E-caderina quando comparadas ao epitélio normal⁷⁻⁹.

Deste modo, seria lícito supor que a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana possa alterar a expressão dessa proteína, o que poderia justificar a frequência elevada de neoplasias cervicais, bem como a identificação do carcinoma invasor do colo uterino como diagnóstico de AIDS em pacientes soropositivas para o HIV. Baseado no exposto, propusemo-nos a avaliar a expressão da E-caderina nas neoplasias cervicais em pacientes portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana.

Métodos

Este estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais, da Faculdade de Medicina da Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC), pela Comissão de Ética do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias Orestes Diniz (CTR-DIP) e da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte.

Foram incluídas 77 pacientes com diagnóstico de infecção pelo HPV pela biologia molecular, sendo 40 soropositivas para o vírus HIV (Grupo HIV±) e 37 soronegativas para o HIV (Grupo HIV-). Deste modo, todas as pacientes eram portadoras do HPV, sendo que o fator de exposição investigado foi a infecção pelo HIV.

Todas responderam a um questionário que faz parte do protocolo de atendimento ginecológico. Após a anamnese, as pacientes foram submetidas a exame ginecológico com realização de biópsia dirigida pela colposcopia. No laboratório de patologia, o material foi incluído em parafina e foram realizados cortes para o estudo histopatológico e imunoistoquímico. Para este estudo, foi realizada uma reavaliação histopatológica por um mesmo patologista com o objetivo de padronizar o laudo. As lesões que apresentavam importante infiltrado inflamatório mononuclear com tecido de granulação e fibrose do estroma foram classificadas como cervicite crônica. Para as neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC), utilizou-se a classificação de Richart¹⁰, assim descrita: grau I (NIC I), aquelas amostras teciduais que apresentavam histologicamente perda da polaridade celular, ausência da estratificação epitelial normal, hiperplasia da camada basal, e que não excedeu a 1/3 da espessura do epitélio; grau II (NIC II), as amostras teciduais cuja perda de polaridade celular, falta da normal estratificação epitelial e hiperplasia da camada basal não excederam 2/3 da espessura do epitélio; grau III (NIC III), as lesões que apresentavam mais de 2/3 do epitélio acometido por células com pleomorfismo acentuado, cromatina granulosa e nucleomegalia acentuada. Neste último grupo, também foram incluídas as lesões que acometiam todo o epitélio, porém sem sinais de invasão. Entretanto, para a análise estatística, as neoplasias intraepiteliais cervicais de grau II e III foram consideradas como lesões intraepiteliais de alto grau, e as de grau I como lesões intraepiteliais de baixo grau.

Para o estudo imunoistoquímico, foram realizados cortes e montagem em lâminas silanizadas. As lâminas foram codificadas para que o observador não soubesse a

origem das pacientes, ou seja, se eram de pacientes soropositivas ou soronegativas para o HIV. A E-caderina utilizada (monoclonal mouse anti-human) foi a da marca Dako (clone NHC-38, Belo Horizonte, Brasil) com diluição de 1:400, também após testes prévios com diluições de 1:100; 1:200; 1:400 e 1:600. Foram utilizados cortes previamente corados oriundos de outros tecidos (mama, linfonodo e pele) para o controle das reações. Para o processamento imunohistoquímico, foi utilizado o sistema de polímeros, não-biotinilados, Novolink (Novocastra, Belo Horizonte, Brasil). A técnica utilizada foi padronizada pelo laboratório de Patologia Mamária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

Inicialmente, realizou-se a preparação dos cortes histológicos por desparafinização, procedeu-se à recuperação antigênica e à neutralização da peroxidase endógena. A incubação com anticorpo primário, anticorpo secundário (post primary block) e polímero foi realizada por 30 minutos, separadamente para cada um deles. Em seguida, procedeu-se a revelação com DAB, a coloração com hematoxilina de Harris, desidratação e montagem das lâminas. A avaliação microscópica foi realizada utilizando microscópio óptico, com aumento de 400x. Todas as avaliações foram feitas por um único observador e os casos duvidosos foram reavaliados por outro examinador utilizando microscópio de duas cabeças, o que permitiu a análise simultânea por dois examinadores. A expressão da E-caderina foi avaliada na membrana da célula epitelial e optou-se pela avaliação abrangendo os terços epiteliais corados, ao invés da contagem celular. Sendo assim, convencionou-se a expressão do seguinte modo: expressão em até 1/3 do epitélio, expressão até 2/3 do epitélio e expressão maior que 2/3 do epitélio (Figura 1).

A carga viral foi quantificada pelos testes Nuclisens HIV-1 RNA QT, tecnologia NASBA, técnica que amplifica os ácidos nucleicos com base em sequência (Organon Teknika, Turnhout, Belgium) e Quantiplex HIV RNA 3.0, tecnologia bDNA, técnica que utiliza moléculas de DNA ramificadas (Bayer System 340 bDNA Analyser, New York, USA). A

contagem de linfócitos T CD4± foi realizada pela citometria de fluxo, após marcação com anticorpos monoclonais, obtendo-se contagem das células (Becton Dickinson, Immunocytometry Systems, San José, CA, USA). Ambos os exames foram realizados pelo Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG e foram utilizados os resultados mais próximos da realização da biópsia de colo uterino (≤ 3 meses).

A identificação do HPV foi feita por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). As amostras eram conservadas em geladeira a 4°C até seu processamento (24 a 48 horas após a entrega). Com o objetivo de extrair o DNA, as amostras eram inicialmente homogeneizadas e centrifugadas, sendo desprezado o sobrenadante. Após homogeneização, foram utilizados dois procedimentos de PCR para a pesquisa do DNA-HPV: o primeiro para a detecção e o segundo para a tipagem. Primeiramente, foi feito o mix de detecção para o diagnóstico qualitativo. Quando o resultado era positivo, procedia-se à tipagem. Para a reação de detecção, foram utilizados dois pares de primers: MY09/11 e o GP5±/6± em sistema nested-PCR. Para controle da extração, utilizou-se um par de primers que amplifica o gene da globina: a presença da globina atesta a qualidade da amostra, ou seja, existe DNA adequado para a realização da PCR. As amostras positivas foram tipadas para os vírus dos tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35¹¹.

As informações coletadas foram digitadas em um banco de dados desenvolvido no programa Epi-Info versão 6.04. Os resultados descritivos apresentados foram obtidos da listagem de frequência das características das diversas variáveis e da obtenção de medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio padrão).

A E-caderina é uma variável categórica ordinal e foi transformada em dicotômica: presença da marcação somente no terço basal do epitélio *versus* presença da marcação no terço médio ou terço superior do epitélio. A comparação entre a E-caderina e as outras variáveis categóricas foi realizada a partir de tabelas de contingência,

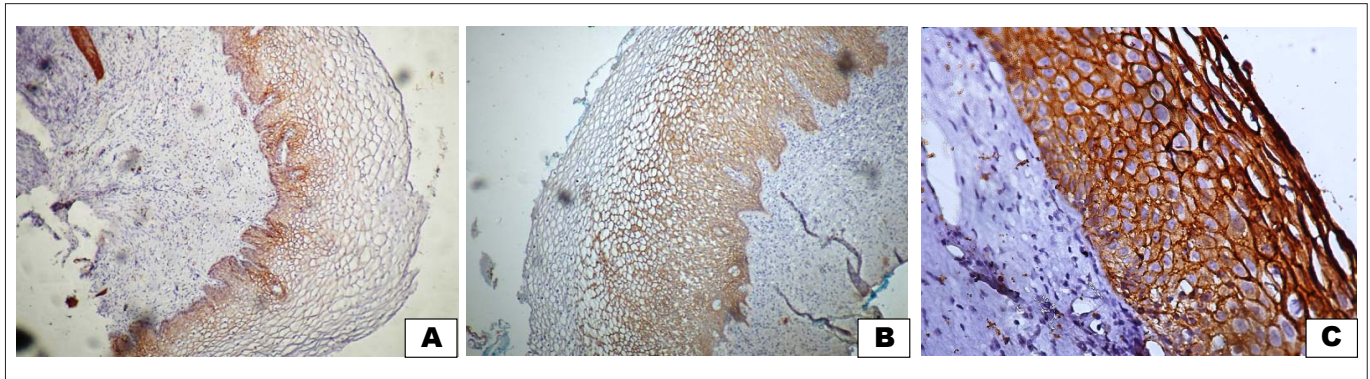


Figura 1 - Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial em 1/3 do epitélio cervical (A - 100x), em 2/3 do epitélio cervical (B - 100x) e em toda a espessura do epitélio cervical (C - 400x).

sendo utilizado o teste do χ^2 com correção de Yates para comparação de proporções. Quando uma das frequências esperadas foi menor que cinco, utilizou-se o teste de Fisher. Foram incluídas no modelo de regressão logística todas as variáveis com valor $p \leq 0,25$, denominadas modelo inicial. Em seguida, as variáveis não-significativas ($p \geq 0,05$) foram retiradas uma a uma, segundo o maior valor de p , considerando-se ainda a significância clínica. Foi utilizado o pacote estatístico SPSS e adotado o nível de significância estatística de 5%.

Resultados

Das 77 pacientes recrutadas, a média de idade foi de $31,0 \pm 8,7$ anos, com limites entre 17 e 57 anos. Em relação à escolaridade, verificou-se que 29 pacientes (37,7%) tinham até o ensino fundamental, 31 pacientes (40,3%) até o ensino médio e 17 pacientes (22,1%) tinham cursado o ensino superior. Não houve nenhum caso de paciente cursando pós-graduação. Identificou-se tabagismo em 16 pacientes (20,8%) e alcoolismo em duas (2,6%). Entre as 16 pacientes tabagistas, 15 eram portadoras do HIV.

Em relação à vida sexual, 62 pacientes (80,5%) tinham vida sexual ativa e 15 pacientes (19,5%) estavam em abstinência sexual no momento. Em relação ao número de parceiros sexuais ao longo da vida, observou-se que 65 pacientes (84,4%) haviam tido de 1 a 4 parceiros sexuais, 6 pacientes (7,8%) de 5 a 9 parceiros sexuais e 6 pacientes (7,8%) mais de 9 parceiros.

Nas 77 biópsias de colo uterino, foram diagnosticados 40 casos (51,9%) de lesão de baixo grau, 30 (39%) de lesão de alto grau e 7 (9,1%) sem evidência

de lesão intraepitelial cervical, apenas cervicite crônica. Não houve diferença significativa entre os tipos de lesão encontrados nos dois grupos (soropositivas ou soronegativas para o HIV) ($p=0,9$).

Todas as pacientes eram portadoras da infecção pelo HPV. Foram identificados 12 casos de genótipos de baixo risco (15,6%), 51 casos de genótipos de alto risco (66,2%) e em 14 casos (18,2%) os genótipos não foram identificados, apesar de o HPV ter sido detectado. Quando comparamos os genótipos do HPV (que foram identificados) com a presença ou ausência de infecção pelo HIV, verificamos que as frequências de genótipos de baixo e alto risco foram similares nos dois grupos ($p=0,5$; $\chi^2=0,29$).

No grupo de pacientes soronegativas para o HIV, foram obtidas 37 lâminas dos 37 blocos para a marcação por E-caderina. Entretanto, dez lâminas foram descartadas por apresentarem artefatos, descolamento e inclinação ao corte tangencial que impediam a avaliação adequada do material. Das 27 lâminas analisadas, encontramos 16 (59,3%) com expressão em até 1/3 do epitélio, 3 (11,1%) com expressão em até 2/3 do epitélio e 8 (29,6%) com expressão em toda a espessura do epitélio.

No grupo de pacientes soropositivas para o HIV, foram coletadas 40 lâminas dos 40 blocos para a marcação pela E-caderina. Entretanto, três lâminas foram descartadas por apresentarem os mesmos defeitos descritos anteriormente que impediam a avaliação adequada dos cortes. Das 37 lâminas analisadas, encontramos 17 (45,9%) com expressão em até 1/3 do epitélio, 5 (13,5%) com expressão até 2/3 do epitélio e 15 (40,5%) com expressão em toda a espessura do epitélio. A expressão da E-caderina não foi diferente nos dois grupos ($p=0,5$) (Tabela 1). Aplicando o modelo de regressão logística, não se identificaram dados clínico, demográficos e/ou comportamentais significativamente associados à expressão da E-caderina. Entretanto, observou-se diferença em relação ao tipo de lesão histopatológica: no epitélio escamoso normal e nas lesões de baixo grau, a expressão da E-caderina ocorreu no terço basal do epitélio, enquanto nas lesões de alto-grau sua expressão ocorreu em 2/3 ou em toda a espessura do epitélio ($p \leq 0,05$; $\chi^2=36,6$) (Figura 2 e Tabela 2).

Tabela 1 - Distribuição da expressão da E-caderina no epitélio cervical em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV

E-caderina	Infecção pelo HIV		Total
	Sim	Não	
1/3	17	16	33
2/3	5	3	8
3/3	15	8	23
Total	37	27	64

$p=0,5$; $\chi^2=1,13$.

Tabela 2 - Associação entre expressão da E-caderina e lesão intraepitelial cervical de alto grau (modelo final da regressão logística)

E-caderina	Lesão de alto grau		χ^2	AOR	IC	Valor de p
	Sim	Não				
1/3	2	31		-	-	
2/3	6	2	36,6	-	-	<0,001
3/3	19	4		-	-	
2/3 + 3/3	25	6	33,5	64,6	10,3-538,4	<0,001
1/3	2	31		1	-	

AOR: Odds Ratio ajustada; IC: intervalo de confiança.

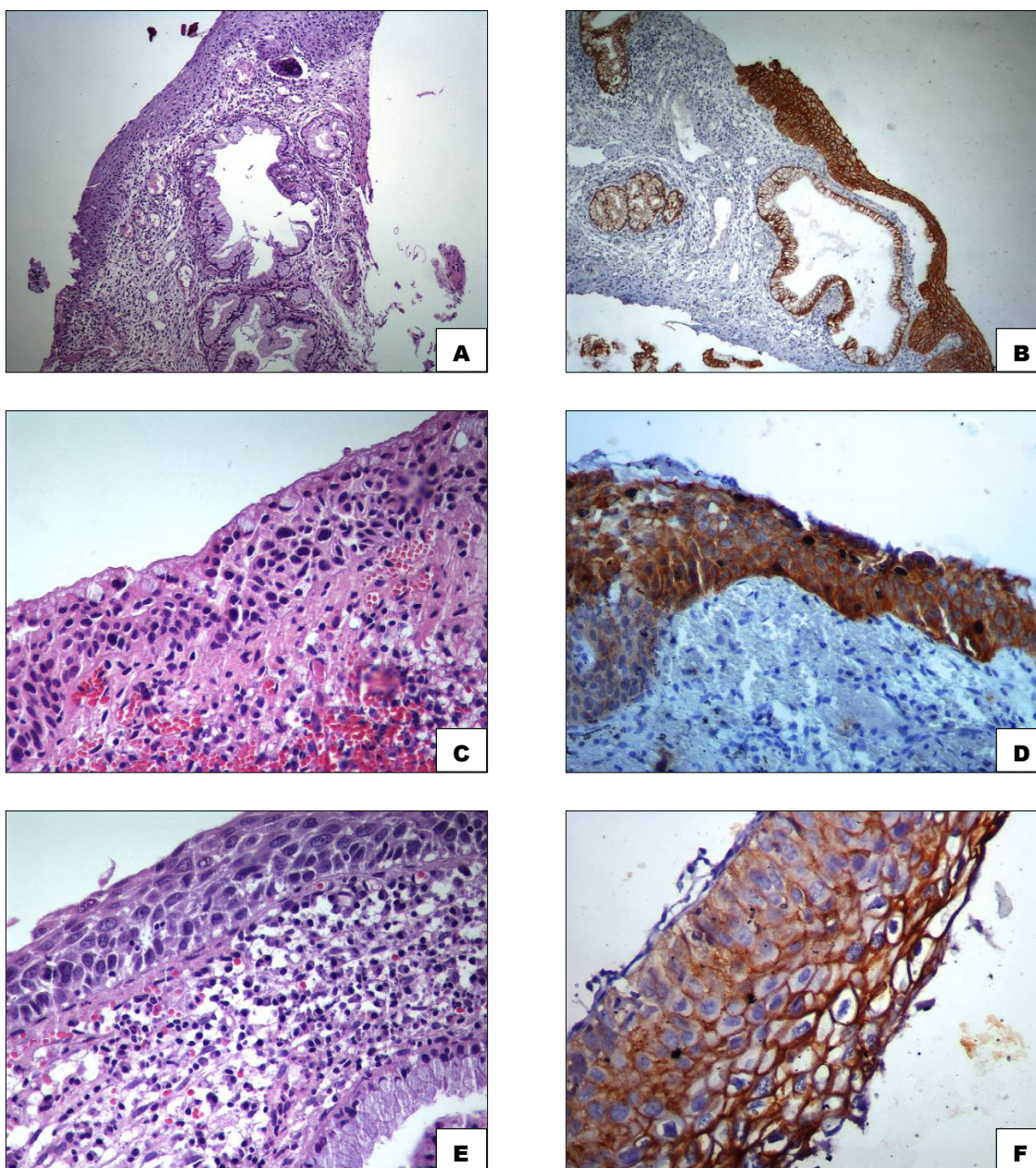


Figura 2 - Expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial (B, D, F) e comparação com o corte corado com HE (A, C, E). Em todos os casos, identificou-se lesão intraepitelial de alto grau (HE) e marcação da E-caderina em toda a espessura do epitélio. Observa-se em (D) expressão da E-caderina também no citoplasma da célula.

Discussão

A E-caderina é uma proteína relacionada à adesão célula-célula e sua expressão na membrana da célula epitelial tem sido considerada prognóstica¹². Neste estudo, não foi verificada associação entre a expressão da E-caderina e a infecção pelo HIV, já que sua expressão foi semelhante em pacientes soropositivas e soronegativas. Tais resultados são compatíveis com os apresentados

por Darai et al.⁷, que não verificaram associação entre a expressão da E-caderina e a infecção pelo vírus HIV. A expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial é inversamente proporcional ao grau da neoplasia, com menor expressão nas lesões de alto grau e carcinomas *in situ* do colo uterino, sendo praticamente ausente nos carcinomas invasores¹³⁻¹⁶. Diferentemente, em nosso estudo, a expressão da E-caderina foi diretamente proporcional ao grau da neoplasia cervical. Ou seja, quando as lesões

intraepiteliais cervicais eram leves ou ausentes (cervicite), a expressão na membrana da célula epitelial foi frequente no terço basal do epitélio. Nas lesões intraepiteliais de alto grau, a expressão da E-caderina na membrana atingiu o terço médio e superior do epitélio, confirmando os resultados do outro estudo em que se observou que a expressão da E-caderina foi proporcional ao grau da neoplasia intraepitelial cervical⁷. Outros autores verificaram que a expressão da E-caderina ocorreu na área da displasia, havendo expressão em todas as camadas nas lesões de alto grau, resultado comparável ao deste estudo¹⁷. Além disso, alguns trabalhos verificaram a expressão da E-caderina no citoplasma da célula epitelial, e tal expressão esteve associada também ao grau da neoplasia cervical^{17,18}. No presente estudo, não foi avaliada a expressão da E-caderina no citoplasma da célula, apesar de esta expressão ter sido identificada nas lesões de alto grau.

Têm se atribuído à E-caderina uma atividade regulatória no comportamento do câncer, e este mecanismo parece estar associado ao processo de hipermetilação do DNA, ou seja, de genes promotores¹⁹. Acredita-se que a hipermetilação de vários genes possa servir como marcador de recorrência da neoplasia cervical²⁰. Além disso, a infecção pelo HPV, especialmente o HPV 16, parece ser um fator importante na regulação da E-caderina. O gene Rb tem papel preponderante na manutenção do fenótipo epitelial, pois ativa o gene E-caderina, agindo sinergicamente com este último. A interação entre E7 e Rb perturba a capacidade de manutenção do fenótipo epitelial¹. Por isso, a E-caderina pode estar associada à recorrência, ao tamanho do tumor e ao intervalo livre da doença nos casos de carcinomas invasores²¹.

As diferenças de expressão da E-caderina obtidas em diversos estudos podem estar associadas às mutações do complexo E-caderina-catenina. Muitos tumores (pele, cabeça, pescoço, pulmão, mama, tireoide, estômago, cólon e ovário) apresentam redução da expressão de E-caderina quando comparados com a expressão nos respectivos tecidos normais. A perda de expressão da E-caderina é observada na maioria dos tumores gástricos de padrão difuso e nos

tumores lobulares de mama. Entretanto, sua expressão é mantida nos tumores gástricos de padrão intestinal e nos tumores ductais de mama, e acredita-se que tais alterações estejam associadas a mutações²². Estudo recente verificou expressão aberrante da E-caderina em pacientes com carcinoma lobular invasivo e carcinoma lobular *in situ* associados à deleção gênica (867del24), exon 7 do gene E-caderina e perda do alelo do tipo selvagem²³.

Não se pode deixar de citar o possível efeito da presença do HPV na expressão da E-caderina, não avaliado neste estudo, já que todas as pacientes eram HPV positivas². Outro aspecto que pode estar associado à hipermetilação da E-caderina é o tabagismo, já que a baixa frequência no grupo soronegativo pode ter influenciado o resultado final. Assim, a expressão da E-caderina em lesões neoplásicas ainda merece estudos adicionais, especialmente gênicos, para identificar a expressão heterogênea e aberrante em alguns casos, bem como sua utilidade como marcador de metástases linfáticas em pacientes com linfonodos clinicamente negativos²¹⁻²⁵.

Os resultados mostraram que a expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial do colo uterino não se altera com a infecção pelo vírus HIV e, por isso, não parece estar associada à frequência e progressão das neoplasias cervicais nessas pacientes. Entretanto, houve associação com o grau da neoplasia cervical, o que sugere que a expressão da E-caderina na membrana da célula epitelial seja um marcador de lesão de alto grau. Entretanto, a limitação da amostra, o baixo número de pacientes tabagistas e a não-inclusão de pacientes HPV-negativas como Grupo Controle foram fatores que impossibilitaram a avaliação dos possíveis responsáveis pelas alterações na expressão da E-caderina.

Acredita-se que estudos avaliando outros componentes da resposta imunológica local – assim como os fatores inerentes ao próprio HPV – devam ser realizados para tentar explicar a maior frequência e a evolução das neoplasias cervicais em pacientes soropositivas para o HIV, bem como a diferença de expressão da E-caderina encontrada entre os diversos estudos que abordam as neoplasias cervicais.

Referências

1. Caberg JH, Hubert PM, Bego DY, Herfs MF, Roncarati PJ, Boniver JJ, et al. Silencing of E7 oncogene restores functional E-cadherin expression in human papillomavirus 16-transformed keratinocytes. *Carcinogenesis*. 2008;29(7):1441-7.
2. Bex G, Van Roy F. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. *Breast Cancer Res*. 2001;3(5):289-93.
3. Knudsen KA, Wheelock MJ. Cadherins and the mammary gland. *J Cell Biochem*. 2005;95(3):488-96.
4. Matos AJ, Lopes C, Carvalheira J, Santos M, Rutteman GR, Gartner F. E-cadherin expression in canine malignant mammary tumours: relationship to other clinico-pathological variables. *J Comp Pathol*. 2006;134(2-3):182-9.
5. Rowlands TM, Symonds JM, Farookhi R, Blaschuk OW. Cadherins: crucial regulators of structure and function in reproductive tissues. *Rev Reprod*. 2000;5(1):53-61.
6. Brunetti B, Sarli G, Preziosi R, Leprotti S, Benazzi C. E-cadherin expression in canine mammary carcinomas with regional

- lymph node metastases. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2003;50(10):496-500.
7. Darai E, Walker-Combrouze F, Bénifla JL, Hénin D, Feldmann G, Madelenat P, et al. E-Cadherin and CD44 expression in cervical intraepithelial neoplasia: comparison between HIV-positive and HIV-negative women and correlation with HPV status. *Gynecol Oncol.* 2000;76(1):56-62.
 8. Branca M, Ciotti M, Giorgi C, Santini D, Di Bonito L, Costa S, et al. Predicting high-risk human papillomavirus infection, progression of cervical intraepithelial neoplasia, and prognosis of cervical cancer with a panel of 13 biomarkers tested in multivariate modeling. *Int J Gynecol Pathol.* 2008;27(2):265-73.
 9. Carico E, Atlante M, Bucci B, Nofroni I, Vecchione A. E-cadherin and alpha-catenin expression during tumor progression of cervical carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2001;80(2):156-61.
 10. Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Annu.* 1973;8:301-28.
 11. Campos RR, Melo VH, Del Castilho DM, Nogueira CPF. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(5):248-56.
 12. Al Moustafa AE, Kassab A, Darnel A, Yameen A. High-risk HPV/ ErbB-2 interaction on E-cadherin/catenin regulation in human carcinogenesis. *Curr Pharm Des.* 2008;14(22):2159-72.
 13. Branca M, Giorgi C, Ciotti M, Santini D, Di Bonito L, Costa S, et al. Down-regulation of E-cadherin is closely associated with progression of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), but not with high-risk human papillomavirus (HPV) or disease outcome in cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2006;27(3):215-23.
 14. Faleiro-Rodrigues C, Lopes C. E-Cadherin, CD44 and CD44v6 in squamous intraepithelial lesions and invasive carcinomas of the uterine cervix: an immunohistochemical study. *Pathobiology.* 2004;71(6):329-36.
 15. Kaplanis K, Kiziridou A, Liberis V, Destouni C, Galazios G. E-cadherin expression during progression of squamous intraepithelial lesions in the uterine cervix. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2005;26(6):608-10.
 16. Rodríguez-Sastre MA, González-Maya L, Delgado R, Lizano M, Tsubaki G, Mohar A, et al. Abnormal distribution of E-cadherin and β -catenin in different histologic types of cancer of the uterine cervix. *Gynecol Oncol.* 2005;97(2):330-6.
 17. Jeffers MD, Paxton J, Bolger B, Richmond JA, Kennedy JH, McNicol AM. E-cadherin and integrin cell adhesion molecule expression in invasive and in situ carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol.* 1997;64(3):481-6.
 18. Vessey CJ, Wilding J, Folarin N, Hirano S, Takeichi M, Soutter P, et al. Altered expression and function of E-cadherin in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 1995;176(2):151-9.
 19. Chen CL, Liu SS, Ip SM, Wong LC, Ng TY, Ngan HY. E-cadherin expression is silenced by DNA methylation in cervical cancer cell lines and tumours. *Eur J Cancer.* 2003;39(4):517-23.
 20. Terra AP, Murta EF, Maluf PJ, Caballero OL, Brait M, Adad SJ. Aberrant promoter methylation can be useful as a marker of recurrent disease in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade III. *Tumori.* 2007;93(6):572-9.
 21. Ancu A E, Ancu A C, Cozma LG, Iordache C, Anghelache-Lupa cu I, Anton E, et al. Tumor biomarkers in cervical cancer: focus on Ki-67 proliferation factor and E-cadherin expression. *Rom J Morphol Embryol.* 2009;50(3):413-8.
 22. Brooks-Wilson AR, Kaurah P, Suriano G, Leach S, Senz J, Grehan N, et al. Germline E-cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J Med Genet.* 2004;41(7):508-17.
 23. Da Silva L, Parry S, Reid L, Keith P, Waddell N, Kossai M, et al. Aberrant expression of E-cadherin in lobular carcinomas of the breast. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(5):773-83.
 24. Nakagawa T, Murakami A, Torii M, Nawata S, Takeda O, Sugino N. E-cadherin increases squamous cell carcinoma antigen expression through phosphatidylinositol-3 kinase-Akt pathway in squamous cell carcinoma cell lines. *Oncol Rep.* 2007;18(1):175-9.
 25. Rodrigo JP, Dominguez F, Suárez V, Canel M, Secades P, Chiara MD. Focal adhesion kinase and E-cadherin as markers for nodal metastasis in laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;133(2):145-50.