

INGRID DAGHASTANLI FRABZ

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

DANIELA MAYUMI SAAD

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

**NICOLY MONIQUE CÂNDIDO CORDEIRO
LEITE**

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

DANIELA DE MOURA MARQUES VICENTIN

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

CLAUDIO MARCELLINI

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

*Recebido em outubro de 2022.
Aprovado em dezembro de 2022.*

EXPRESSÃO DA PROTEÍNA P16 COMO ELEMENTO PREDITIVO DA EVOLUÇÃO DAS LESÕES INTRAEPITELIAIS DE BAIXO GRAU: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

RESUMO

INTRODUÇÃO: o vírus do papiloma humano (HPV) é o agente causador de lesões no colo do útero que podem evoluir para câncer invasor. O p16INK4a é um biomarcador para lesões cervicais, melhorando a avaliação histológica de neoplasias intraepiteliais escamosas e carcinomas. Tem-se registrado na literatura que as lesões que evoluíram para formas mais graves eram positivas para p16. Dessa forma, sua importância vem aumentando nos dias atuais. **OBJETIVO:** identificar se as mulheres com lesão intraepitelial escamosa de baixo grau com mais de 30 anos apresentam comparativamente, maior expressão tecidual da proteína p16, como elemento preditivo de sua evolução. **MATERIAL E MÉTODOS:** foram selecionados 190 artigos no PubMed e 5 no LILACS. Ao serem aplicados filtros, restaram-se 167 artigos. Após leitura dos títulos e resumos, excluiu-se 104. Os 91 trabalhos remanescentes foram lidos integralmente, 80 não se enquadravam aos critérios de elegibilidade desta pesquisa, resultando em 11 artigos incluídos. **DISCUSSÃO:** constatou-se a importância do p16 para o diagnóstico preciso das lesões intraepiteliais através da superexpressão dessa proteína e sua evolução no acompanhamento das pacientes a longo prazo. **CONCLUSÃO:** a média de idade das pacientes com LSIL com o imunomarcador p16INK4a foi acima de 30 anos. Foi possível concluir que a positividade do p16 tem maior probabilidade de evoluir para lesões de alto grau. Não foi possível distinguir qual a relação da positividade do p16 antes e depois dos trinta anos. Ainda há escassez sobre informações específicas em relação a faixa etária das mulheres com LSIL positivas para p16.

Palavras-Chave: lsil. p16ink4a. idade. progressão.

EXPRESSION OF P16 PROTEIN AS A PREDICTIVE ELEMENT OF THE EVOLUTION OF LOW-DEGREE INTRAEPITHELIAL LESIONS: A SYSTEMATIC REVIEW

ABSTRACT

INTRODUCTION: the human papilloma virus (HPV) is the causative agent of intraepithelial lesions in the cervix that could evolve into a cancer invader. Currently, the monitoring of women is through cervical-vaginal cytology. The p16INK4a is a biomarker for cervical lesions, improving the histological evaluation of CIN and carcinomas. It has been reported in the literature that lesions that evolved to more severe forms were p16 positive. Thus, its importance is increasing nowadays. **OBJECTIVE:** to identify if women with low-grade squamous intraepithelial lesions aged over 30 years have comparatively greater tissue expression of p16 protein, as a predictor of its evolution. **MATERIAL AND METHODS:** 190 articles were selected from PubMed and 5 from LILACS. When filters were applied, 167 articles remained. After reading the titles and abstracts, 104 were excluded. The remaining 91 studies were fully read, 80 did not meet the eligibility criteria of this research, resulting in 11 articles included. **DISCUSSION:** the importance of p16 for the accurate diagnosis of intraepithelial lesions was verified through the overexpression of this protein and its evolution in the long-term follow-up of patients. **CONCLUSION:** the mean age of patients with LSIL with the p16INK4a immunomarker was above 30 years. It was possible to conclude that p16 positivity is more likely to progress to high-grade lesions. It was not possible to distinguish the relationship between p16 positivity among women younger and older than 30 years. There is still lack of specific information regarding the age group of women with p16-positive in LSIL.

Keywords: lsil. p16ink4a. age. progression.

Revista UNILUS Ensino e Pesquisa

Rua Dr. Armando de Salles Oliveira, 150
Boqueirão - Santos - São Paulo
11050-071

<http://revista.lusiada.br/index.php/ruep>
revista.unilus@lusiada.br

Fone: +55 (13) 3202-4100

INTRODUÇÃO

O vírus do papiloma humano (HPV) é o agente causador de lesões intraepiteliais no colo do útero que podem evoluir para câncer invasor. As lesões chamadas de baixo grau (LSIL) representam a manifestação citológica da infecção causada por esse vírus, altamente prevalente e com potencial de regressão frequente, especialmente em mulheres com menos de 30 anos^{1,2}.

A prevalência de câncer do colo do útero, no Brasil, em 2020, foi de 7,5% em relação à todas as neoplasias mais prevalentes em mulheres, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA)³. Estima-se que 47,4% das LSIL regredem após 24 meses e apenas 0,2% das mulheres com esse diagnóstico citológico evoluem para o carcinoma invasor⁴.

Existem diferentes tipos de HPV, que carregam chances maiores ou menores de desenvolver lesões mais graves. Atualmente, o acompanhamento das mulheres é feito através da citologia cérvico-vaginal ou exame de Papanicolaou, associada ou não a exames moleculares para detecção e tipagem do HPV. A prevalência de LSIL foi de 0,8% de todos os exames citopatológicos realizados no Brasil, em 2013⁵. Considerando-se apenas os exames anormais, a prevalência de LIEBG (lesão intraepitelial escamosa de baixo grau) foi de 27,6%, representando o segundo diagnóstico citopatológico mais frequente e demandando investigação ou acompanhamento adicionais, precedida apenas pela categoria ASC-US⁶.

O diagnóstico histopatológico de NIC I (neoplasia intraepitelial cervical grau I) representa a manifestação histológica da infecção causada pelo HPV. No entanto, as implicações clínicas desse diagnóstico não são bem compreendidas, pois há poucos estudos prospectivos investigando o risco subsequente de lesões pré-invasivas (NIC II/III) ou câncer⁷. Pesquisas publicadas nos últimos anos mostram que a expressão da proteína p16 está associada a esse risco. A p16INK4a é um biomarcador para lesões cervicais, melhorando a avaliação histológica de NIC e carcinomas. A superexpressão dessa proteína indica o início da interferência das oncoproteínas virais (E6 e E7) com proteínas celulares envolvidas na regulação do ciclo celular¹.

A presença e a distribuição da proteína p16 no tecido podem confirmar uma lesão induzida por HPV em casos duvidosos. Em contrapartida, de acordo com a literatura, as lesões que evoluíram para formas mais graves eram positivas para p16. Dessa forma, o presente trabalho visa identificar se a expressão de p16 poderia indicar quais lesões evoluiriam para formas mais graves (NIC II/NIC III/Câncer invasor), permitindo uma intervenção precoce.

OBJETIVOS

Revisão sistemática sobre a superexpressão da proteína p16 em estudo imunohistoquímico de pacientes com lesão intraepitelial escamosa de baixo grau. Espera-se que mulheres com lesão intraepitelial escamosa de baixo grau com mais de 30 anos apresentem comparativamente, maior expressão tecidual da proteína p16, como elemento preditivo de sua evolução.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente revisão sistemática foi realizada de acordo com a estratégia PRISMA (Preferred Reporting Items for System Reviews and Meta-analyses) para a lista de verificação e construção do fluxograma em 4 etapas principais (identificação, seleção, elegibilidade e inclusão).

A elaboração da questão de pesquisa foi fundamentada na estratégia PICO, em que "P" representa pacientes portadoras de Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau (LSIL) acima de 30 anos, "I" pacientes acima de 30, "C" pacientes abaixo de 30 anos e "O" expressão tecidual da proteína p16 em estudo imunohistoquímico.

A busca foi realizada no dia 10/05/2021. As bases de dados foram MedLine, via PubMed e LILACS, via BVS (Biblioteca Virtual em Saúde). Para a base MedLine foi usada a seguinte estratégia de busca: "Intraepithelial Lesion, Squamous" OR "Lesions, Squamous Intraepithelial" OR "Squamous Intraepithelial Lesion" OR "LSIL, Atypical Squamous Cells Cannot Exclude HSIL" OR "Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions" OR "Low Grade Squamous Intraepithelial Lesions" OR "Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion" OR "Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion" OR "LSIL, Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions" OR "LSIL, Low Grade Squamous Intraepithelial Lesions") AND ("Genes, p16INK4A" OR "p16INK4A Gene" OR "p16INK4A Genes" OR p16 Genes OR p16 Gene OR "Genes, p16INK4" OR "p16INK4 Gene" OR "p16INK4 Genes" OR "CDKN2 Genes" OR "CDKN2 Gene" OR "Cyclin Dependent Kinase Inhibitor p16" OR "CDKN2 Protein" OR "CDKN2A Protein" OR "p16INK4 Protein" OR "p16(INK4A)" OR "INK4A Protein" OR "Protein, INK4A" OR "Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor-2A" OR "Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A" OR "Multiple Tumor Suppressor-1" OR "Multiple Tumor Suppressor 1" OR "Cdk4-Associated Protein p16" OR "Cdk4 Associated Protein p16" OR "p16INK4A Protein".

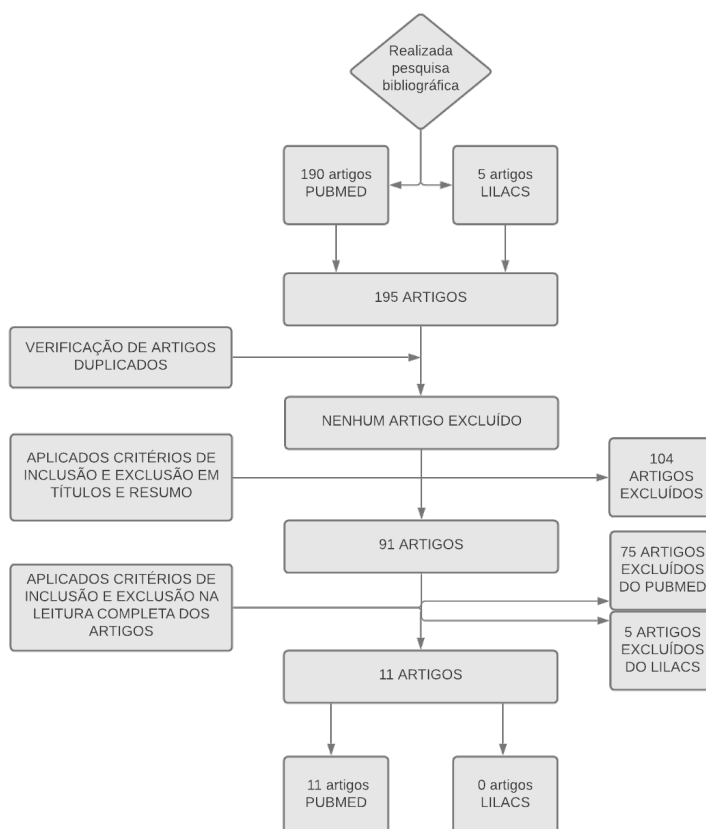
Os filtros utilizados foram: sexo feminino, humanos, artigos em português, espanhol, italiano e inglês.

Para a base LILACS foi utilizada a seguinte estratégia de busca: LSIL OR Lesões Escamosas Intraepiteliais OR Lesões Escamosas Intraepiteliais de Baixo Grau OR Lesões Intraepiteliais Escamosas de Baixo Grau OR Lesões Intraepiteliais Escamosas de Baixo Grau LSIL AND p16 or p16INK4A.

A pesquisa nas bases de dados resultou em 190 artigos achados no PubMed e 5 no LILACS. Ao serem aplicados os filtros, restaram-se 167 artigos, não havendo duplicação dos mesmos. Realizou-se leitura atenta dos títulos e resumos dos 167 artigos, pela qual constatou-se 104 excluídos. Os 91 trabalhos remanescentes foram lidos integralmente, sendo que 80 não se enquadravam aos critérios de elegibilidade desta pesquisa, resultando em 11 artigos ao total.

Foram incluídos estudos que trataram de pacientes com diagnóstico de Lesão Intraepitelial de Baixo Grau (LSIL), expressão da proteína p16 e trabalhos que relacionam a positividade da p16 com a faixa etária das pacientes. Foram excluídos artigos que não citam p16, trabalhos que não estudam o p16 isoladamente, estudos que somente se referem a ASC-US, ASC-H, LEIAG, AGUS, ACIS e câncer invasor.

Figura 1: FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SELEÇÃO DE ARTIGOS DO PUBMED E LILACS COM TODOS OS ARTIGOS INCLUÍDOS E EXCLUÍDOS APÓS ANÁLISE DE DADOS.



RESULTADOS

TABELA 1: RELAÇÃO ENTRE CASOS DE LSIL E A MÉDIA DE IDADE DAS PACIENTES ESTUDADAS

AUTOR E ANO DE PUBLICAÇÃO	TOTAL DE CASOS LSIL	MÉDIA DE IDADE
Lambert et al, 2005	6	30,3 anos
Piñó et al, 2009	105	-
Eleuterio et al, 2010	26	29 (± 7,1) anos.
Cheah et al, 2011	29	46,3 anos (18 aos 68 anos)
Tiwari et al, 2011	87	47,78 anos (21 aos 71 anos)
Yu Jin Koo et al, 2013	6	41,7 ± 11,0 anos
Razmpoosh et al, 2014	64	29,3 anos.
Silveira et al, 2015	40	35 anos (19 aos 57 anos)
Sagasta et al, 2015	507	33 ± 10 anos.
Huang et al, 2016	109	34,4 anos (20 aos 65 anos)
Moral-Hernández, 2021	901	37,4 ± 11,6 anos (14 aos 82 anos)

TABELA 2: NÚMERO DE CASOS POSITIVOS PARA P16 EM RELAÇÃO A IDADE

AUTOR E ANO DE PUBLICAÇÃO	Nº CASOS POSITIVOS PARA P16	MÉDIA DE IDADE POSITIVOS	≤ 29 ANOS COM p16 +	> 30 ANOS COM p16 +
Pino et al, 2009	77/105 (73,3%)	–	–	–
Obadi et al, 2011	1/29 (3,4%)	–	–	–
Tipava et al, 2011	56/78 (71,8%)	–	47,7%	52,3%
Yu Jin Koo et al, 2013	2/6 (33,3%)	–	–	–
Razmpoosh et al, 2014	64 (estudou apenas os casos positivos)	–	–	–
Sagasta et al, 2015	245/507 (48%)	–	–	–
Silveira et al, 2015	5/40 (14%)	–	–	–
Huang et al, 2016	70/109 (64,2%) (P=0,453)	–	–	–
Moral-Hernandez et al, 2021	208/ 901 (22,8%)	–	–	–

TABELA 3: REGRESSÃO, PERSISTÊNCIA E PROGRESSÃO NOS CASOS POSITIVOS PARA P16

AUTOR E ANO DE PUBLICAÇÃO	Nº CASOS POSITIVOS	REGRESSÃO	PERSISTÊNCIA	PROGRESSÃO
Pino et al, 2009	77/105 (73,3%)	33 (42,8%)	30 (40%)	14 (18,2%)
Huang et al, 2016	70/109 (64,2%)	63 (90%)	3 (4,3%)	4 (5,7%)
Silveira et al, 2015	5/40 (14%)	0	4 (80%)	1 (20%)
Tipava et al, 2011	56/78 (71,8%)	6		50 (90%)
Sagasta et al, 2015	245/507 (48%)	276 (54%) TOTAL de LSIL	145 (29%)	86 (17%)
Razmpoosh et al, 2014	64 Estudou os casos positivos	40 casos (62,5%)	18 casos (28,1%)	6 casos (9,4%)

DISCUSSÃO

Nessa revisão literária foram avaliados diversos estudos em que os autores analisaram a importância da superexpressão do p16 tecidual. A p16INK4a visa melhorar a avaliação histológica de NIC e neoplasias malignas. A positividade da proteína mostra uma interferência de oncoproteínas virais no ciclo celular. Os estudos deste trabalho apuraram dados como a idade média nos LSIL, avaliaram sua regressão, persistência e progressão da lesão, nos casos positivos para p16.

Sagasta et al⁸, em 2015, recrutou 507 pacientes com diagnóstico de LSIL/NIC1 confirmados em biópsia. Desses, 86 (17%) evoluíram para HSIL (lesão intraepitelial de alto grau) / NIC2-3 (neoplasia intraepitelial cervical grau 2-3). No estudo, foi demonstrado que essas 86 mulheres acompanhadas com desfecho de HSIL / NIC2-3 eram mais velhas e mais frequentemente positivas para hrHPV do que aquelas com lesões persistentes de LSIL⁸. Esses dados sugerem uma lenta progressão das lesões de baixo grau para HSIL e câncer. Em 2005, foi demonstrado também por Lambert et al⁹ essa lenta progressão. Dentro de suas análises, foi demonstrado que as pacientes com LSIL possuíam uma média de idades de 30,3 anos, sendo constatada uma variação média de 15,1 anos entre uma LSIL e um câncer de colo⁹.

No estudo de 2011, a idade média das pacientes que apresentavam LSIL, estudada por Cheah et al¹⁰ foi de 46,3 anos, variando entre 18 e 68 anos em 29 casos¹⁰. Desses, apenas um apresentou-se positivo para o p16 (3,4%), enquanto o p16 nas lesões de HSIL já confirmadas, tiveram positivo em 24 mulheres¹⁰. Para o autor, essa variação mostra que é provável devido as definições ainda indeterminadas e divergentes de positividade do p16. LSIL parece afetar a mesma faixa etária do HSIL, mas a maioria de LSIL não deve progredir para carcinoma cervical, de acordo com o autor¹⁰.

No estudo de Moral-Hernández et al¹¹, em 2021, foi abordada a eficiência do diagnóstico precoce do câncer cervical utilizando marcadores celulares para identificar lesões pré cancerígenas com grande probabilidade de progressão para câncer. Observa-se, no trecho destacado na tabela 4, a positividade em 100% dos casos em câncer cervical. Isso demonstra que a expressão dos marcadores celulares foi significativamente maior em CC do que em HSIL, LSIL e NSIL e sugere que a expressão de todos os marcadores celulares testados aumenta de acordo com a gravidade da lesão cervical (TABELA 4)¹¹.

	NORMAIS	LSIL	HSIL	CÂNCER
Nº AMOSTRA	79	208	35	42
NEGATIVO	33 (41.8%)	0	0.0	0
LEVE	29 (36.7%)	7 (3.4%)	1 (2.9%)	0
MODERADO	11 (13.9%)	168 (80.8%)	6 (17.1%)	0
INTENSO	6 (7.6%)	33 (15.9%)	28 (80.0%)	42 (100%)

Pino et al¹, em 2009, incluiu 138 mulheres com uma biópsia de NIC1 no estudo. Dessas, 105 (76,1%) tiveram o diagnóstico de LSIL na citologia. Dos 138 com NIC1, foram observadas progressão em 14 (18,2%), regressão em 33 (42,8%) e persistência do LSIL com HPV positivo em 12 (16%)¹. O risco de progressão para NIC 2/3 em menores de 30 anos foi de 4,5%, e em maiores de 30 anos, 15,3%. Já esse risco, de acordo com a imuno-histoquímica do p16 foi de 14 casos em 77 positivos (18,2%). Dessa forma, o autor demonstrou que a lesão NIC 1 positiva para p16 tem maior tendência de progressão para NIC 2/3¹. O resultado negativo de p16 pode excluir a progressão (TABELA 5). Assim como, Razmpoosh et al¹², em 2014, concluiu que as lesões verdadeiramente positivas, do ponto de vista prognóstico,

são aquelas que demonstram a imunocoloração do p16 no epitélio cervical do colo do útero, observando 62,5% de regressão, 28,1% de persistência e 9,4% de evolução para lesões de alto grau¹² (TABELA 3). Ao contrário de Sagasta et al⁸, em 2015, que, observou que o p16 não é um imunomarcador significativo para prognóstico de lesões de alto grau, conforme visto na tabela 3. O autor concluiu que o p16 deve ser utilizado como diagnóstico diferencial entre LSIL e HSIL.

TABELA 5 ADAPTADA DE PINO ET AL: VALOR DE P16 COMO MARCADOR DE PROGRESSAO/REGRESSAO NA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL GRAU 1			
EVOLUÇÃO NO ACOMPANHAMENTO	NUMERO DE AMOSTRA	IDADE MEDIA	P16 POSITIVO
PROGRESSAO	14	35,7 (22-65)	14 (100%)
PERSISTENCIA EM LSIL, COM HPV POSITIVO	28	32,9 (21-63)	12 (42,9%)
PERSISTENCIA EM NIC 1, COM CITOLOGIA NEGATIVA E HPV POSITIVA	25	34,9 (21-61)	16 (64%)
PERSISTENCIA EM LSIL, COM HPV NEGATIVO	5	36,4 (22-52)	2 (40%)
REGRESSAO	66	30,6 (19-68)	33 (50%)
TOTAL	138	-	77 (55,8%)

Para Huang et al¹³, em 2016 o valor de p16 na atribuição de grau de lesão é incerta e um preditor independente no resultado de HSIL, sem uma associação significativa. Ao contrário de Silveira et al¹⁴, em 2015, que observou que a metilação do p16 teve uma correlação significativa com a persistência do LSIL, porém constatou que precisavam de uma amostra maior, pois nenhum dos pacientes exibiram regressão (TABELA 3).

Eleuterio et al¹⁵, em 2010 e Tipaya et al¹⁶, em 2011, sugeriram que a combinação da detecção de HPV e p16INK4a poderia ajudar a prever NIC de alto grau e fornecer a base para o tratamento precoce e a prevenção do câncer cervical em uma proporção substancial de mulheres (TABELA 2).

No ano de 2013, Yu Jin Koo¹⁷ et al estudou uma dupla coloração do p16 com o ki67 para avaliar se esses marcadores poderiam prever alguma lesão de alto grau, porém, ainda os estudou separadamente. A média de idade das pacientes foi de 41,7 e a maioria delas tinha 30 anos ou mais. Das pacientes com NIC1 (6 casos), o p16 foi superexpresso em apenas 2 dos casos. Já, nas pacientes com lesões de alto grau o p16 foi superexpresso em 80% dos casos de NIC2 e em 100% dos casos de NIC3. Além disso, comparou resultados de pacientes menores de 30 anos, com as maiores de 30 anos, porém apenas com a dupla coloração e não com o p16 isoladamente (TABELA 6). Os autores concluíram que a coloração dupla de p16 / Ki-67 é um método emergente para detectar lesões de alto grau. Esta técnica mostrou-se com melhor precisão do que o teste HR-HPV para detectar NIC de alto grau¹⁷.

TABELA 6 ADAPTADA DE YU JIN KOO: COMPARAÇÃO DE TESTAGEM DE HPV, P16, KI-67, P16/KI-67 (CINTECC PLUS) DE ACORDO COM TIPO HISTOLÓGICO DIAGNOSTICADO NO ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES COM ASCH-H CITOLOGIA NO PAPANICOLAU

EXAME	DIAGNOSTICO HISTOLOGICO				
	Negativo (n=27)	CIN 1 (n=6)	CIN 2 (n=20)	CIN 3 (n=17)	TOTAL = 70
HR-HPV + (%)	9 (33.3%)	2 (33.3)	14 (70)	11 (64.7)	36 (51.4)
HPV 16/18+ (%)	3 (11.1)	0	7 (35)	8 (47.1)	18 (25.7)
HR-HPV - (%)	18 (66.7)	4 (66.7)	6 (30)	6 (35.3)	34 (48.6)
p16/KI-67 dual+ (%)	0	2 (33.3)	4 (20)	6 (35.3)	12 (17.1)
p16+ (%)	15 (55.6)	2 (33.3)	16 (80)	17 (100)	50 (71.4)

CONCLUSÃO

Constatou-se que a média de idade das pacientes com LSIL testadas com o imunomarcador p16INK4a foi acima de 30 anos (tabela 1) e que a positividade do p16 tem maior probabilidade de evoluir para lesões de alto grau. Apesar dos trabalhos analisados terem abordado a idade média das pacientes em LSIL, não foi possível distinguir qual a relação da positividade do p16 entre as mulheres antes e depois dos 30 anos, todavia notou-se uma idade mais avançada nas positivas para p16.

Portanto, ainda há escassez sobre informações específicas em relação a faixa etária das mulheres com LSIL positivas para p16. São necessários mais estudos sobre o tema para que a importância da expressão da proteína seja aplicada na prática médica e traga benefícios na condução dos casos positivos.

REFERÊNCIAS

1. DEL PINO M, et al. Value of p16INK4a as a marker of progression/regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. American Journal of Obstetrics and Gynecology 2009;201:488.e1-7.doi:10.1016.
2. INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER; WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. Human papillomaviruses. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human, v. 90, p. 1-636, 2007
3. INCA - INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Estatísticas de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>. Acesso em jun. 2021.
4. MELNIKOW, J. et al. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. Obstetrics Gynecology, v. 92, n. 4 part. 2, p. 727-735,1998.)
5. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. - 2. ed. rev. atual. - Rio de Janeiro: INCA, 2016
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do SUS. Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero (SISCOLO). Disponível em: Acesso em: 01 out. 2014.
7. ARBYN, M. et al. Evidence regarding human papillomavirus19 testing in secondary prevention of cervical cancer. Vaccine, v. 30, suppl. 5, p. 88-99, 2012.
8. SAGASTA, A. et al. p16 staining has limited value in predicting the outcome of histological low-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. Mod Pathol 29, 51-59 (2016).
9. LAMBERT, A. P. F., Anschau, F., & Schmitt, V. M. (2006). p16INK4A expression in cervical premalignant and malignant lesions. Experimental and Molecular Pathology, 80(2), 192-196.



10. CHEAH, P. et al (2011). Implications of continued upregulation of p16(INK4a) through the evolution from high-grade squamous intraepithelial lesion to invasive squamous carcinoma of the cervix. *The Malaysian journal of pathology*, 33 2, 83-7.
11. MORAL-HERNÁNDEZ, O., et al. (2021). TOP2A/MCM2, p16INK4a, and cyclin E1 expression in liquid-based cytology: a biomarkers panel for progression risk of cervical premalignant lesions. *BMC cancer*, 21(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07740-1>.
12. RAZMPOOSH, M, MD et al. Assessment of Correlation Between p16INK4a Staining, Specific Subtype of Human Papillomavirus, and Progression of LSIL/CIN1 Lesions: First Comparative Study, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 142, Issue 1, July 2014, Pages 104-114.
13. HUANG, E., et al. p16ink4 and cytokeratin 7 immunostaining in predicting HSIL outcome for low-grade squamous intraepithelial lesions: a case series, literature review and commentary. *Mod Pathol* 29, 1501-1510 (2016).
14. SILVEIRA, F.A., et al., HPV DNA genotyping and methylation of gene p16INK4A in cervical LSIL, *Exp. Mol. Pathol.* (2015).
15. ELEUTÉRIO, J., et al (2007). Prognostic markers of high-grade squamous intraepithelial lesions: the role of p16INK4a and high-risk human papillomavirus. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 86: 94-98.
16. TIPAYA et al. Combined p16INK4a and human papillomavirus testing improves the prediction of cervical intraepithelial neoplasia (CIN II-III) in Thai patients with low-grade cytological abnormalities. *Asian Pac J Cancer Prev*, v. 12, n. 7, p. 1777-1783, 2011.
17. YU-JIN KOO, et al. Dual immunostaining of cervical cytology specimens with atypical squamous cells for p16/Ki-67 does not exclude the existence of a high-grade squamous intraepithelial lesion. *Virchows Archiv*, v. 463, n. 5, p. 689-696