

Métodos biomoleculares em caso de lesão intraepitelial cervical de alto grau

Biomolecular methods in case of high-grade cervical intraepithelial injury

Samira Dal-Toé de Pra¹

Fabiane Yumi Kakitani Uchida²

Aline Fernanda Delani³

Eduarda Flach de Goes³

Resumo

O câncer de colo de útero (CCU) é a segunda neoplasia que mais acomete mulheres no Brasil. É uma doença de progressão lenta com estágios bem definidos. Quando diagnosticado precocemente tem grande probabilidade de cura, sendo indispensável o estudo sobre métodos que auxiliem no seu diagnóstico. O principal fator associado a essa neoplasia é a infecção pelo HPV, vírus que infecta aproximadamente 75% das pessoas sexualmente ativas. Atualmente, no Brasil, o método de prevenção mais utilizado é o exame citológico de Papanicolaou. Com maiores estudos sobre biologia molecular e HPV surgiram métodos de triagem do carcinoma cervical, baseados na detecção de DNA-HPV. Entre esses novos métodos está a coloração dupla p16/Ki-67, técnica desenvolvida visando uma alta especificidade para detecção de lesões de alto grau. Este é um trabalho de revisão bibliográfica com o objetivo de discutir como métodos biomoleculares podem ser ferramentas importantes para o diagnóstico precoce do câncer de colo de útero. Os métodos mais utilizados para diagnosticar o HPV são os exames citopatológicos, colposcópicos e histopatológicos, porém esses métodos podem apresentar altas variações na detecção de lesões neoplásicas. Com este estudo, concluímos a importância do uso da coloração dupla p16/Ki-67 para um diagnóstico preciso em casos de CCU.

Palavras-chave

Neoplasias do colo do útero; infecções por *Papillomavirus*; biologia celular; citologia

INTRODUÇÃO

O presente trabalho torna-se relevante em razão do índice de lesões intraepiteliais cervicais, que pode progredir em um carcinoma de alto grau. E a partir desse estudo analisamos métodos biomoleculares para diagnósticos mais eficazes através da dupla coloração do p16 e Ki-67.

Georgios Papanicolaou (1883-1962) foi um médico pesquisador que após anos de pesquisa identificou células cancerígenas no esfregaço cervical, tornando-se, portanto, fidedigna a técnica que faz diagnósticos de diversas patologias que acometem o colo do útero, principalmente o câncer por infecção persistente do Papilomavírus Humano.⁽¹⁾

O câncer do colo uterino (CCU) é considerado um importante problema de saúde pública, sendo responsável por uma alta incidência de mortalidade. É considerada a segunda neoplasia que mais acomete mulheres no Brasil

apesar de possuir alto potencial de prevenção, ficando atrás apenas do câncer de mama.⁽²⁾

De acordo com Brito-Silva et al.,⁽³⁾ o CCU representa aproximadamente 20% dos tipos de câncer femininos, no entanto, depois do câncer de pele, esta neoplasia possui maior probabilidade de cura quando realizado o diagnóstico precoce, e isso se deve ao fato de ser uma doença de evolução lenta e com estágios bem definidos.

Goulart⁽⁴⁾ explica que o principal fator relacionado com o surgimento do CCU é a infecção por Papilomavírus Humano (HPV). As infecções por HPV são na sua maioria assintomáticas, sugeridas por anormalidades citológicas e confirmadas pela presença do ácido desoxirribonucleico (DNA) do HPV de alto risco. Uma grande proporção das lesões regride espontaneamente, porém em alguns casos a infecção se torna persistente, possivelmente por falha imunológica e pelo tipo viral, podendo causar alterações morfológicas no epitélio cervical que podem evoluir para o câncer.⁽⁵⁻⁷⁾

¹Docente. Departamento de Saúde, Sociedade Educacional de Santa Catarina UniSociesc. Joinville-SC, Brasil.

²Discente do curso de especialização em Citologia Clínica da Universidade Tuiuti do Paraná. Curitiba-PR, Brasil.

³Discente do curso de Biomedicina da Sociedade Educacional de Santa Catarina UniSociesc. Joinville-SC, Brasil.

Instituição: Sociedade Educacional de Santa Catarina UniSociesc. Joinville-SC, Brasil.

Conflito de interesse: não há conflito de interesse.

Suporte financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq).

Recebido em 05/11/2020

Aprovado em 14/01/2021

DOI: 10.21877/2448-3877.202101989

Existem fatores que aumentam o risco de desenvolvimento do câncer, como o início precoce da atividade sexual e múltiplos parceiros, alta paridade, uso prolongado de contraceptivos orais e tabagismo.⁽⁸⁻¹⁰⁾ Em relação à faixa etária, o HPV de baixo risco tem incidência maior em mulheres com idade entre 25 e 35 anos. E o HPV de alto risco prevalece na população com idade entre 36 a 45 anos ou mais de 45 anos, corroborando, assim, a necessidade de testes mais específicos e sensíveis para a detecção precoce do HPV, já que são consideradas grupo de risco para o câncer cervical.^(6,11)

Segundo o Ministério da Saúde, mulheres com idade entre 25 e 59 anos, ou que já tenham iniciado sua vida sexual mesmo antes desta faixa devem fazer o exame citológico de Papanicolau anualmente e, quando dois exames sucessivos negativos, o intervalo pode ser de três anos.^(12,13)

Loghavi et al.⁽¹⁴⁾ descrevem que mulheres com idade inferior a 20 anos com células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US). É indicado o teste de HPV de alto risco (HR-HPV), e, se positivo, devem ser realizadas a colposcopia e biópsia; já HR-HPV negativo em pacientes com ASC-US exclui-se a neoplasia intraepitelial cervical de alto grau. Quando o resultado para HPV for positivo, a especificidade é de 14%-44% para se detectar neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC II e III). O mesmo autor enfatiza que, em pacientes com mais de 20 anos e diagnóstico citopatológico de Lesão de Baixo Grau (LSIL), é recomendada a colposcopia, pois nessa faixa etária, 80%-85% dos testes HR-HPV são positivos, não sendo eficaz como triagem para esse grupo de pacientes. Além disso, a colposcopia confirma NIC II e NIC III em somente 12%-28% dos casos. Desta forma, é necessário o desenvolvimento de uma ferramenta de triagem mais eficaz.

Qian et al.⁽¹⁵⁾ descrevem que com os avanços na pesquisa sobre a biologia molecular e o HPV, vários métodos de triagem alternativos para o carcinoma cervical surgiram, sendo que a maioria destes métodos de rastreio baseia-se na detecção de DNA-HPV, incluindo a Hybrid Capture 2 (HC-2). Dentre as novidades, a técnica de coloração dupla p16/Ki-67 foi desenvolvida para reduzir a variabilidade entre os observadores e resultar em alta especificidade e reprodutibilidade para a detecção de lesões de alto grau.

Estudos mostram que a relação simultânea de p16 e Ki-67 pode ser vista como um marcador para a desregulação do ciclo celular induzida por HPV. Dessa forma, a infecção persistente do HPV pode levar à supressão da proteína retinoblastoma (pRb), à superexpressão da oncoproteína E7 viral, e à diminuição da pRb, promovendo a expressão de p16 através de um mecanismo de repressão. Desse modo, os níveis de expressão de p16 podem refletir a gravidade da lesão relacionada ao HPV. Já a proteína nuclear Ki-67 é expressa apenas no ciclo

celular ativo. A superexpressão de Ki-67 relaciona-se com alta proliferação, como frequentemente observado em células malignas.⁽¹⁵⁾

Segundo Solares et al.,⁽⁷⁾ a técnica citada realça a coloração citoplasmática marrom, possibilitando visualizar a proteína p16 em coloração nuclear vermelha para expressão do Ki-67. Seguindo com uma ou mais células cervicais duplamente coradas, os resultados serão positivos.

Alguns estudos sugerem que testar a dupla coloração de p16/Ki-67 e a citologia convencional concomitante pode contribuir para evitar resultados falso negativos e, dessa forma, manter a integridade psicológica das pacientes, além de contribuir para que se obtenha uma especificidade de até 90% no diagnóstico. Isso mostra como esses marcadores podem ser uma opção viável para resultados de citologia anormal, especialmente em mulheres com menos de 30 anos ou positivas para o HPV de alto risco.^(14,15)

Com base nesses estudos até o presente momento este trabalho vem contribuindo para investigar através de uma revisão do que há na literatura sobre os aspectos da infecção do vírus HPV, e as evidências que estas levaram no desenvolvimento das lesões precursoras e da neoplasia cervical, avaliando a efetividade de métodos biomoleculares de diagnóstico através da técnica de dupla coloração p16/Ki-67 utilizada para detectar casos de lesão intraepitelial do colo cervical por HPV.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta é uma pesquisa bibliográfica de caráter descritivo e retrospectivo, visto que a pesquisa bibliográfica, em termos genéricos, é um conjunto de conhecimentos reunidos em obras de toda natureza. Todo tipo de estudo deve, primeiramente, ter o apoio e respaldo da pesquisa bibliográfica, mesmo que esse se baseie em outro tipo de análise, uma vez que esse método pode tanto conduzir um estudo em si quanto constituir-se em uma pesquisa preparatória para outro tipo de estudo.⁽¹⁶⁾

A pesquisa descritiva, segundo Sellitz et al.,⁽¹⁷⁾ busca descrever um fenômeno ou situação em detalhe, especialmente o que está ocorrendo, permitindo abranger, com exatidão, as características de um indivíduo, uma situação, ou um grupo, bem como desvendar a relação entre os eventos. Vergara,⁽¹⁸⁾ por sua vez, argumenta que a pesquisa descritiva expõe as características de determinada população ou fenômeno, estabelece correlações entre variáveis e define sua natureza.

O presente trabalho é uma revisão de literatura sobre métodos biomoleculares em casos de lesão Intraepitelial de alto grau, onde as bases de dados consultados foram: SciELO, *Science Direct*, PubMed, Google Acadêmico e para selecionar os artigos e textos foram utilizados os seguintes descritores: HPV, câncer de colo de útero, métodos bio-

moleculares em caso de lesão cervical, lesão intraepitelial cervical, técnica de coloração dupla p16/Ki-67. O período da pesquisa bibliográfica foi realizado entre janeiro de 2019 a fevereiro de 2020, e não houve delimitação por período dos trabalhos revisados.

RESULTADOS

O câncer cervical é a segunda causa mais comum de câncer entre as mulheres no mundo, apesar de apresentar grande potencial de prevenção e cura quando diagnosticado e tratado precocemente, o que pode reduzir a taxa de mortalidade entre as acometidas. Estima-se que 75% das pessoas sexualmente ativas em algum ponto de suas vidas irão se infectar pelo HPV, o agente causal do câncer de colo uterino.⁽¹⁹⁾

Segundo Soares et al.,⁽²⁰⁾ a prevenção do CCU possui grande relevância à medida que compromete de forma intensa a vida das mulheres. Diante do destaque em que se encontra, é fundamental que os serviços de saúde capacitem seus profissionais para orientarem as mulheres, família e a comunidade em geral sobre a importância do exame preventivo e o esclarecimento quanto aos fatores de risco para o CCU.

Os tipos 16 e 18 estão entre os sorotipos de alto risco e estão associados a aproximadamente 70% de todos os cânceres de colo de útero.⁽²¹⁾

O HPV é um DNA vírus com uma única molécula, circular dupla. Seu genoma é dividido em três regiões. *Early* ou região precoce, região reguladora ou *Long Control Region* (LCR) e a região distal ou *late* (L). As proteínas E6 e E7 codificadas na região *Early* são as mais relevantes, pois seu grau de expressão está relacionado de forma direta ao grau de lesão cervical.^(8,13,22)

Devido à sua capacidade de infecção, o HPV é responsável por 4,5% de todos os diagnósticos de câncer no mundo, levando a um número de 630 mil novos casos por ano. É a maior causa de câncer do CCU, resultando em 83% dos casos diagnosticados. Além disso, o HPV atinge o trato anogenital, gerando, por ano, 8.500 casos de câncer na vulva, 12 mil na vagina, 35 mil no ânus (metade ocorrendo em homens) e 13 mil no pênis. Além disso, está atribuído ao câncer de cabeça e pescoço, sendo que 21 mil casos são de câncer orofaríngeo.⁽²³⁾

Por ser comum o vírus HPV afetar mulheres jovens, não é viável descartar como fatores de risco comportamento sexual, fumo e uso de contraceptivos.⁽⁴⁾ Além disso, a localização geográfica é relevante quando se fala de países subdesenvolvidos, trazendo um alto percentual de mortes em mulheres diagnosticadas com câncer do colo do útero.⁽²⁴⁾ Contudo, é importante ressaltar que mesmo as pacientes infectadas com o mesmo tipo de vírus não terão os mesmos sintomas e evolução da doença, havendo então a necessi-

dade de se observar cada caso como único, desenvolvendo um plano de tratamento individual e específico.⁽⁴⁾

Da Silva Réus et al.⁽²⁵⁾ afirmam que o HPV acomete principalmente mulheres com vida sexual ativa entre 18 e 28 anos. O vírus citado se classifica em dois grupos virais, sendo eles de alto risco HPV16 / 18 e HPV6 / 11/16/18/31/33/45/52/58 e de baixo risco variando em mais de 150 tipos. O grupo de alto risco está intimamente ligado com lesões pré-cancerosas e câncer cervical, e o grupo de baixo risco normalmente é encontrado na população em geral, diferenciando-se em inúmeros tipos virais.

É comum se diagnosticar o vírus HPV através de exames citopatológicos, colposcópicos e histopatológicos.⁽²⁵⁾ Há mais de cinco décadas o exame citopatológico de Papanicolaou vem sendo utilizado como uma ferramenta primordial na detecção de lesões do colo cervical em mulheres de todo mundo.⁽²⁶⁾

No caso de serem encontrados achados anormais em proporção elevada é necessário então a realização da biópsia. A biópsia nada mais é do que a retirada de uma pequena parte do epitélio para análise histopatológica e biópsia excisional se define pela retirada de todo o tumor com anestesia local e realização em consultório. Em casos de lesão Intraepitelial de alto grau (HSIL) e carcinoma, confirmado no histopatológico, a paciente é encaminhada para a realização da biópsia excisional.⁽²⁷⁾

O exame histopatológico é o padrão-ouro para o diagnóstico adequado de neoplasia intraepitelial, e essa técnica é usada para determinar o melhor tratamento para pacientes com câncer de colo uterino. No entanto, estudos clínicos mostraram que a reprodutibilidade das interpretações da biópsia cervical é, no máximo, moderada, pelo fato de que os múltiplos fatores não relacionados ao vírus do HPV podem estar relacionados à lâmina da paciente, como atrofia, metaplasia imatura e atipia reativa/inflamatória, que podem alterar o muco cervical. De fato, essas condições podem simular neoplasias intraepiteliais escamosas do colo do útero e causar discrepâncias mesmo entre patologistas experientes.⁽²⁸⁾

Dentro dos métodos aplicados à citologia, a convencional é utilizada há mais tempo, a citologia em meio líquido é uma técnica mais recente, tendo ambas igual eficácia para diagnóstico do câncer do colo do útero. A citologia em meio líquido surgiu após a década de 90 a fim de automatizar o processo de coleta e facilitar a visualização pelos profissionais, porém essa técnica requer maior uso de materiais, conseqüentemente, maior custo. A citologia convencional tem sido o padrão para a coleta no Sistema Único de Saúde (SUS).⁽¹⁾ Já na rede privada a citologia cervical com o meio líquido vem sendo utilizada com mais frequência devido a relação custo-benefício. É possível realizar testes biomoleculares, como a Captura híbrida, exame capaz de diagnosticar 18 tipos diferentes

do vírus do HPV, ainda que não tenham aparecido os primeiros sintomas da doença.⁽²⁹⁾

Apesar da inquestionável contribuição dos exames citológicos de Papanicolaou comumente utilizados pelos programas de rastreamento do câncer cervical, estes apresentam grande variação na sua sensibilidade e especificidade em detectar lesões neoplásicas cervicais, com taxas de resultados falsos-negativos que podem chegar a 20%. Diante disso, o emprego de biomarcadores e a utilização de testes moleculares para pesquisa de HPV de alto risco constituem auxílios valiosos no incremento da acurácia dos testes de rastreio.⁽³⁰⁾

Em conformidade com Goulart et al.,⁽⁴⁾ o uso de marcadores moleculares tem auxiliado o profissional patologista na definição de casos duvidosos e na identificação de mulheres de alto risco para recorrência da doença após tratamento das neoplasias intraepiteliais cervicais. Há um interesse atual na utilização de biomarcadores moleculares como método auxiliar aos procedimentos de triagem vigentes.

Um melhor entendimento sobre os benefícios e limitações da utilização desses marcadores poderá permitir a implementação dessa técnica na rede pública de saúde, uma vez que atualmente ela não se encontra disponível na grande parte dos hospitais do Sistema Único de Saúde (SUS).⁽³¹⁾

Não existe hoje na citologia exames que respondam suficientemente para a detecção da classe oncogênica do HPV trazendo apenas presença ou ausência do mesmo; todavia, cerca de 2%-3% de mulheres com diagnóstico de LSIL vão evoluir para HSIL. Mulheres com resultado positivo para LSIL, dependendo da idade e com histórico familiar, são orientadas a realizar de imediato o exame de colposcopia para detecção de lesão, e sucessivamente repetir o exame de Papanicolaou periodicamente. Desta forma, se faz necessária a informação correta da classificação do vírus, com o intuito de se obter um diagnóstico precoce e assim seguir com o devido tratamento. Nesse contexto surge a importância dos biomarcadores, como a presença de expressão gênica de proteínas celulares p16 e Ki-67 nas células infectadas pelo HPV, para confirmar casos positivos de HSIL.⁽²⁴⁾

A proteína p16 é um inibidor da quinase ciclino-dependente (CDK) e comumente está superexpressa em lesões precursoras HSIL e carcinoma invasor por HPV. Já o biomarcador Ki-67 está situado no núcleo celular quando está em proliferação durante quase todos os estágios do ciclo celular. Quando há alteração no ciclo celular, as células contendo expressão da proteína p16 se proliferam ativamente. Sendo assim, há simultaneamente a expressão de p16 e do marcador Ki-67, revelando desequilíbrio do ciclo celular. A expressão da proteína p16 está presente em células onde há detecção de câncer no colo do útero. Consequentemente, há inativação da proteína pRb (proteína de susceptibilidade ao retinoblastoma) e em seu lugar se manifesta a oncoproteína E7 viral do HPV de alto risco.⁽²⁴⁾

Nota-se, portanto, que a utilização de marcadores imunohistoquímicos para as proteínas p16 e Ki-67 mostra concordância no diagnóstico das biópsias do colo uterino. A p16 é uma proteína supressora tumoral, está superexpressa nos casos de displasia, apresentando alta especificidade, sendo um biomarcador útil para detectar lesões de alto risco. Estes trabalhos mostram uma associação significativa entre o grau da lesão cervical, a distribuição e a intensidade da expressão da proteína p16.⁽⁴⁾

Geralmente, em países desenvolvidos, as mulheres com diagnóstico ASC-US ou LSIL e teste positivo para HPV tendem a repetir o exame, o que gera custo e, além disso, pode provocar sofrimento psicológico às pacientes. Dito isso, os biomarcadores da proliferação celular como Ki-67 de alta sensibilidade e p16 de controle da proliferação que apresenta alta especificidade mostram-se em uso concomitante, sendo eficientes para identificar o risco de desenvolver câncer em pacientes predispostas, gerando, portanto, mais precisão no diagnóstico.^(7,32)

A dupla coloração da imunocitoquímica p16 e Ki-67, onde a superexpressão de p16 cora o citoplasma em marrom e a expressão de Ki-67 avermelha o núcleo, dado às informações, o resultado se torna positivo quando uma ou mais células cervicais com dupla-coloração é vista, independente da morfologia celular. A dupla coloração se torna útil em amostras relatadas ASC-US e LSIL por citologia em meio líquido ou citologia convencional.^(7,33)

Corroborando com Shi Qin et al.,⁽³²⁾ o inibidor da proteína p16 dependente do ciclo celular, é uma proteína que pode regular negativamente o ciclo celular. A infecção persistente por HPV causa superexpressão de p16, mas a expressão de p16 também está presente nas células normais. A proteína p16 é de grande importância para o rastreamento do câncer do colo do útero, mas, por si só, pode não ser suficiente para o diagnóstico. O Ki-67 é um antígeno nuclear que pode ser detectado na fase não G0 do ciclo celular, marcando o processo de proliferação celular. Assim, para tecidos normais, a expressão simultânea de p16 e Ki-67 possui menor probabilidade de ocorrer.

As proteínas p16 e Ki-67 são, respectivamente, marcadores de proliferação celular. A proteína p16 é um supressor de tumor da família Ink4a que induz a hiperfosforilação da proteína retinoblastoma (pRb), e tem baixa expressão nos tecidos normais. O Ki-67 é uma proteína nuclear presente nas células durante a fase de proliferação ativa, mas não é expressa quando as células estão no estado de repouso. A expressão de ambas as moléculas simultaneamente já denota algum problema no ciclo celular.⁽³⁴⁾

Aguilar et al.⁽²⁾ descrevem que o CCU é de fato um problema de saúde pública com altas taxas de prevalência e mortalidade. É uma doença de evolução lenta e estágios bem definidos, inicialmente assintomática, enfatizando a importância de exames periódicos. E Loghavi et al.⁽¹⁴⁾ afir-

mam que apenas 12%-28% dos exames de colposcopia vão definir o estágio da lesão. Diante disso, é imprescindível que os sistemas de saúde tenham métodos atuais e fidedignos para o diagnóstico e tratamento, e se fazem necessárias técnicas de rastreamento menos invasivas e mais eficientes a fim de se manter a integridade psicológica das pacientes. O aparecimento das técnicas de biologia molecular revolucionou o estudo do CCU, evidenciando que a infecção por HPV é a principal responsável pelo desenvolvimento da carcinogênese do colo uterino, que se inicia por uma infecção aguda por um ou mais subtipos de vírus carcinogênicos de HPV, seguida de persistência da infecção viral, lesão pré-maligna e, por fim, invasão por carcinoma.⁽²⁴⁾

De acordo com Silva,⁽³¹⁾ devido à subjetividade envolvida na análise histológica, tem-se buscado marcadores biológicos que possam auxiliar no diagnóstico e classificação das lesões de alto grau e carcinoma de colo uterino. Os dois marcadores mais citados para esse fim, proteína p16 é um inibidor da cinase ciclino-dependente está ligada a quase todas as lesões precursoras de HSIL e carcinoma invasor. A Ki-67 é uma proteína que se pode detectar no núcleo das células apenas quando estão em proliferação. Logo, o termo simultâneo de Ki-67 e p16 deve ser considerado um indicador de desregulação do ciclo celular e consequente transformação celular.⁽²⁴⁾

CONCLUSÃO

Dado o exposto, a utilização de testes moleculares e o estudo de biomarcadores para pesquisa de HPV de alto risco na detecção de lesão intraepitelial cervical através da técnica de dupla coloração p16 / Ki-67 tornam-se uma ferramenta de suma importância para maior precisão no diagnóstico clínico e na minimização de resultados falsos-negativos no método de esfregaço cervical do colo uterino.

Por esse estudo, podemos observar que a saúde da mulher vem sendo discutida há décadas, e mais do que nunca se faz necessário a exposição de métodos preventivos para toda a população. Dessa forma, expõe o câncer do colo do útero como uma doença grave, e se não for diagnosticada precocemente pode levar a óbito. Tendo em vista os aspectos mencionados, é possível identificar a importância do diagnóstico fidedigno através de biomarcadores para as proteínas p16 e Ki-67, tornando necessário para a confirmação de casos graves de lesão de alto grau e carcinoma invasor uterino.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer pelo apoio financeiro ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq), pela concessão da Bolsa de iniciação científica e ainda a todo o grupo de pesquisa na área onde teve colaboração neste trabalho.

Abstract

Cervical cancer is the second neoplasm that most affects women in Brazil. It is a slow-progressing disease with well-defined stages. When diagnosed early, it has a high probability of cure, and it is essential to study methods that help in its diagnosis. The main factor associated with this neoplasm is infection with HPV, a virus that infects approximately 75% of sexually active people. Currently in Brazil the most used prevention method is the Pap smear test. With further studies on molecular biology and HPV, screening methods for cervical carcinoma have emerged, based on the detection of HPV DNA. Among these new methods is the double staining p16 / Ki-67, a technique developed aiming at a high specificity for detecting high-grade lesions. This is a bibliographic review work with the objective of discussing how biomolecular methods can be important tools for the early diagnosis of cervical cancer. The most used methods to diagnose HPV are cytopathological, colposcopic and histopathological exams, however these methods can present high variations in the detection of neoplastic lesions. With this study, we concluded the importance of using double staining p16 / Ki-67 for an accurate diagnosis in cases of cervical cancer.

Keywords

Uterine cervical neoplasms; Papillomavirus infections; cell biology; cytology

REFERÊNCIAS

1. Heise A, Lima APW. Citopatologia convencional e Citologia em meio líquido: uma revisão integrativa. Revista Saúde e Desenvolvimento, v. 10, n. 5, p. 208-221, 2016.
2. Aguilar RP, Soares DA. Barreiras à realização do exame Papanicolaou: perspectivas de usuárias e profissionais da Estratégia de Saúde da Família da cidade de Vitória da Conquista-BA. Physis: Revista de Saúde Coletiva, v. 25, p. 359-379, 2015.
3. Brito-Silva K, Bezerra AF, Chaves LD, Tanaka OY. Integrality in cervical cancer care: evaluation of access. Rev Saude Publica. 2014 Apr;48(2):240-8. doi: 10.1590/s0034-8910.2014048004852. [Article in English, Portuguese].
4. Goulart APS, Gonçalves MAG, Da-Silva VD. Avaliação da expressão de Telomerase (hTert), Ki67 e p16 ink4a em lesões intraepiteliais cervicais de baixo e alto graus. Rev. Col. Bras. Cir. [online]. 2017, vol.44, n.2, pp.131-139. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-69912017002005>.
5. Marcelino MY, et al. Avaliação de exames coletados de colpocitologia oncótica em mulheres residentes no Município de Assis, estado de São Paulo, Brasil. Horus, v. 7, n. 2, p. 30-40, 2017.
6. Rama CH, Roteli-Martins CM, Derchain SFM, Longatto-Filho A, Gontijo RC, Sarian LOZ, et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para câncer cervical. Rev. Saúde Pública [Internet]. 2008 Feb;42(1):123-130. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102008000100016>.
7. Solares C, Velasco J, Álvarez-Ruiz E, González-Fernández L, Encinas AI, Astudillo A, Schneider J. Expression of p16/Ki-67 in ASC-US/LSIL or Normal Cytology with Presence of Oncogenic HPV DNA. Anticancer Res. 2015 Nov;35(11):6291-5.
8. Camara GNN de Lima, Cruz MR, Veras VS, Martins CRF. Os papilomavírus humanos-HPV: carcinogênese e imunogênese. Centro de Ensino Unificado de Brasília. Universitas: Ciências da Saúde, v. 1, n. 1, p. 159-168, 2008. doi: 10.5102/ucs.v1i1.503.
9. Casarin MR, Piccoli JCE. Educação em saúde para prevenção do câncer de colo do útero em mulheres do município de Santo Ângelo/RS. Ciênc. saúde coletiva [online]. 2011, vol.16, n.9, pp.3925-3932. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232011001000029>.
10. Magno VA. Avaliação da segurança e efetividade da termocoagulação no tratamento da neoplasia intraepitelial cervical de alto grau. 2015. 68 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculdade de Medicina,

- Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
11. Zampirolo JA, Merlin JC, Menezes ME. Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II) em Santa Catarina. *Rev. bras. anal. clin.*, p. 265-268, 2007.
 12. Moraes MN, Jerônimo CGF. Análise dos resultados de exames citopatológicos do colo uterino. *J Nurs UFPE*. [online]. *Rev Enferm UFPE on line.* v.9, n.3, p.7510-7515, 2015.
 13. Nakagawa JTT, Schirmer J, Barbieri M. Human papillomavirus (HPV) and uterine cervical cancer. *Revista brasileira de enfermagem*, v. 63, n. 2, p. 307-311, 2010.
 14. Loghavi S, Walts AE, Bose S. CINtec® PLUS dual immunostain: A triage tool for cervical pap smears with atypical squamous cells of undetermined significance and low grade squamous intraepithelial lesion. *Diagn Cytopathol.* 2013 Jul;41(7):582-7. doi: 10.1002/dc.22900.
 15. Qian QP, Zhang X, Ding B, Jiang SW, Li ZM, Ren ML, Shen Y. Performance of P16/Ki67 dual staining in triaging hr-HPV-positive population during cervical Cancer screening in the younger women. *Clin Chim Acta.* 2018 Aug;483:281-285. doi: 10.1016/j.cca.2018.05.023
 16. Fachin O. Fundamentos de Metodologia. São Paulo: Saraiva. *Rev. Int. Investig. Cienc. Soc.*, 2005.
 17. Sellitz C, Wrightsman LS, Cook SW. Métodos de pesquisa das relações sociais. São Paulo: Herder, 1965.
 18. Vergara SC. Projetos e relatórios de pesquisa em administração. 3ª ed. Rio de Janeiro: Atlas, 2000.
 19. Oliveira PS, Coelho CC, Cerqueira EFS de, Lopes FVF, Fernandes MSA, Monteiro DLM. Conduta na lesão intraepitelial de alto grau em Mulheres Adultas. *Rev. Col. Bras. Cir.* [online]. 2011, vol.38, n.4, pp.274-279. <https://doi.org/10.1590/S0100-69912011000400012>.
 20. Soares MC, Mishima SM, Meincke SMK, Simino GPR. Câncer de colo uterino: caracterização das mulheres em um município do sul do Brasil. *Esc. Anna Nery* [online]. 2010;14(1): 90-96. <https://doi.org/10.1590/S1414-814520100001000014>.
 21. Pinto VFC, Barbosa VFC, Paiva SG. Aspectos epidemiológicos e citológicos de infecções pelo papilomavirus humano (HPV) em adolescentes: uma revisão. *Revista Científica do ITPAC, Araguaína*, v. 5, n. 4, 2012.
 22. Zardo GP, Farah FP, Mendes FG, Franco CAGS, Molina GVM, Melo GN, et al. Vacina como agente de imunização contra o HPV. *Ciênc. saúde coletiva* [online]. 2014, vol.19, n.9, pp.3799-3808.
 23. De Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer.* 2017 Aug 15;141(4):664-670. doi: 10.1002/ijc.30716.
 24. Da Costa MC. Cintec R PLUS (Ki-67 e p16INK4a) vs Métodos Biomoleculares em casos de Lesão Intraepitelial Baixo Grau do colo do útero. 2014. (Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Medicina e Oncologia Molecular, submetida à Faculdade de Medicina da Universidade do Porto)
 25. Da Silva Réus B, Machado AR, Madeira K, Simões PWTA, Ronchi DI. Achados Citológicos em Pacientes com Captura Híbrida Positiva para Papilomavírus Humano em um Laboratório de Patologia de Criciúma. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, v. 46, n. 4, p. 62-71, 2017.
 26. Nascimento MI do, Silva GA, Monteiro GTR. Previous history of Pap smears and cervical cancer: a case-control study in the Baixada Fluminense, Rio de Janeiro State, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2012 Oct;28(10):1841-53. doi: 10.1590/s0102-311x2012001000004. [Article in Portuguese]
 27. Wright Jr, Thomas C, Kuhn Louise. Alternative approaches to cervical cancer screening for developing countries. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012 Apr;26(2):197-208. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2011.11.004
 28. De Melo FL, Lancellotti CL, Da Silva MA. Expression of the immunohistochemical markers p16 and ki-67 and their usefulness in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasms. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2016 Feb;38(2):82-7. doi: 10.1055/s-0036-1571470
 29. Meneses MSL, Toralles MBP, Mendes CMC. Evolução da técnica de PCR: sua contribuição no diagnóstico da infecção por HPV. *Rev. Ciênc. Méd. Biol.*, v. 18, n. 3, p. 361-366, 2019.
 30. Resende JCP. Detecção de lesão intraepitelial cervical de alto grau em mulheres com citologia de ASC-US e LIEBG: comparação entre a expressão imunocitoquímica dos biomarcadores p16/ki-67 e teste molecular de dna-*hpv* de alto risco. 2014. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Oncologia.
 31. Silva VR da. O impacto da marcação imuno-histoquímica para p16 e ki-67 na reprodutibilidade diagnóstica das biópsias do colo uterino. 2017. Tese de Doutorado.
 32. Shi Q, Xu L, Yang R, Meng Y, Qiu L. Ki-67 and P16 proteins in cervical cancer and precancerous lesions of young women and the diagnostic value for cervical cancer and precancerous lesions. *Oncol Lett.* 2019 Aug;18(2):1351-1355. doi: 10.3892/ol.2019.10430.
 33. Olaya M, Olaya-C M, López EMC, Moreno CHP. Inmunotinción dual p16INK4a/ki-67 en citología vaginal en medio líquido. Prueba piloto de complemento diagnóstico. *Universitas Medica*, v. 61, n. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed61-1.dual>
 34. Leite PM de O, Tafuri L, Costa MZO, Lima MIM, Simões RT. Evaluation of the p16 and Ki-67 Biomarkers as Predictors of the Recurrence of Premalignant Cervical Cancer Lesions after LEEP Conization. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2017 Jun;39(6):288-293. doi: 10.1055/s-0037-1598643. English.

Correspondência

Samira Dal-Toé de Pra

*Sociedade Educacional de Santa Catarina UniSociesc
R. Gothard Kaesemodel, 833 - Anita Garibaldi
89203-400 – Joinville-SC, Brasil*