

Expresión de p16 y correlación citocolpohistológica en lesiones de cérvix en pacientes de Puerto Vallarta, Jalisco

Clara Eugenia Moreno-Ramírez¹, Jesús Aarón Curiel-Beltrán¹, Orlando Román Cruz-Toraya^{1,3}, Martha Arisbeth-Villanueva², Edgar Armando Morales-Flores^{1,4}, Gustavo Adolfo Castro-Herrera⁵, Esmeralda Mihuezet Nande-Vázquez^{1,4}, Juan Agustín Torres-Vázquez¹, Guillermo Ramos-Gallardo¹ y José Manuel Corona-Hernández⁴

Resumen

El presente estudio pretende evaluar la correlación diagnóstica citológica-colposcópica-histológica y comparar la expresión de p16 mediante inmunohistoquímica (IHQ) en muestras de citologías convencionales y biopsias de lesiones recientes, obtenidas en el examen colposcópico de pacientes con diagnóstico por citología de lesiones escamosas intraepiteliales (LEI), para evaluar su uso como una herramienta de apoyo diagnóstico.

Se incluyeron 49 pacientes de entre 20 y 60 años de edad, que acudieron a la consulta para revisión colposcópica y toma de biopsia con reporte previo citológico de LEI. Se realizó IHQ tanto en las muestras citológicas como en las biopsias para determinar la sobreexpresión de la proteína p16.

De las 49 muestras de citologías cervicovaginales e histológicas de cérvix se reportaron 32 casos con diagnóstico de LEI de bajo grado (LEIBG) (65.3%), 16 casos con diagnóstico de LEI de alto grado (LEIAG) (32.7%) y un caso con diagnóstico de carcinoma escamoso invasor (CEI) (2 %). Hubo correlación diagnóstica citológica-histológica-colposcópica en 43 casos (87.75%, $p < 0.001$) y no la hubo en 6 casos (12.25%); se encontró una sobreexpresión positiva de p16 en 5 casos (15.6%) y en las muestras de los casos con reporte diagnóstico de LEIAG y de CEI una sobreexpresión positiva en el 100% de los casos.

La correlación citología-colposcopia-histología es útil y complementaria para una mayor certeza diagnóstica, siendo una fuerte correlación la encontrada en el presente estudio. Las pruebas de IHQ para evaluar la sobreexpresión de P16 son de gran utilidad cuando existen diferencias diagnósticas entre LEIBG y LEIAG, disminuyendo la variabilidad interobservador; en nuestro estudio encontramos que en citologías convencionales se presenta una sobreexpresión semejante a la de las biopsias, demostrando que en las citologías ordinarias anormales con dificultad diagnóstica la tinción IHQ de p16 es de gran utilidad.

PALABRAS CLAVE: Proteína p16. Lesión escamosa intraepitelial. Cáncer cervical. Citología-colposcopia-histología.

¹Departamento de Ciencias Médicas
Centro Universitario de la Costa
Universidad de Guadalajara

²Departamento de Morfología
Centro Universitario Ciencias de la Salud
Universidad de Guadalajara

³Hospital Regional de Puerto Vallarta
Secretaría de Salud Jalisco

⁴Clínica Hospital Puerto Vallarta ISSSTE

⁵Jefatura de Servicios de Enseñanza e Investigación
Dirección Médica del ISSSTE
Guadalajara, Jal., México

Recibido: 05-08-2017

Aceptado: 27-11-2017

Correspondencia:

Clara Eugenia Moreno-Ramírez
E-mail: labhistoanco@gmail.com

Rev Esp Méd Quir. 2017;22:153-61

Expression of p16 and cyto-colpo-histological correlation in cervical lesions in patients from Puerto Vallarta, Jalisco

Clara Eugenia Moreno-Ramírez¹, Jesús Aarón Curiel-Beltrán¹,
Orlando Román Cruz-Toraya^{1,3}, Martha Arisbeth-Villanueva²,
Edgar Armando Morales-Flores^{1,4}, Gustavo Adolfo Castro-Herrera⁵,
Esmeralda Mihuezet Nande-Vázquez^{1,4}, Juan Agustín Torres-Vázquez¹,
Guillermo Ramos-Gallardo¹ and José Manuel Corona-Hernández⁴

Abstract

This study aims to evaluate the correct cytologic-colposcope-histologic diagnostic and compares the expression of p16 by immunohistochemistry in conventional cytology and biopsies of recent lesions, the samples were obtained from the colposcope examination of patients with LEI cytology diagnostic, pretending to evaluate its use as a diagnostic support tool.

49 patients between 20 -60 years old were include, every patient came to consultation for colposcope review and biopsy with a previous LEI cytology report, immunohistochemically were realized to cytological samples and biopsies to determine overexpression of the p16 protein.

32 cases with diagnostic for LEIBG (65.3%) were reported from de 49 samples of cytology's cervix-vaginal and cervix histologist, 16 cases from LEIAG diagnostic (32.7%), and one case with invasive squamous carcinoma (2%); there was a diagnostic correlation with histologic-colposcope in 43 cases (87.75%) $p < 0.001$ and there wasn't in 6 cases (12.25%), there were found a positive overexpression to p16 in 5 cases (15.6%) also the samples with diagnostic report from LEIAG and CEI there was a positive overexpression of 100% in all the cases.

The present study found a strong correlation between a better diagnostic assurance and the correlation cytologic-colposcope-histologic analysis. The immunohistochemistry probes to evaluate overexpression of P16 is useful when there are diagnostic differences between LEIBG and LEIAG, decreasing the inter-examination variation. In this study we found that in conventional cytology there was a similar overexpression with biopsies, demonstrating that in abnormal routine cytology the staining with p16 will be useful.

KEY WORDS: P16 protein. Intraepithelial lesion. Cervical cancer. Cytology-colposcopy-histology.

¹Departamento de Ciencias Médicas
Centro Universitario de la Costa
Universidad de Guadalajara

²Departamento de Morfología
Centro Universitario Ciencias de la Salud
Universidad de Guadalajara

³Hospital Regional de Puerto Vallarta
Secretaría de Salud Jalisco

⁴Clínica Hospital Puerto Vallarta ISSSTE

⁵Jefatura de Servicios de Enseñanza e Investigación
Dirección Médica del ISSSTE
Guadalajara, Jal., México

Correspondence:

Clara Eugenia Moreno-Ramírez
E-mail: labhistoanco@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El cáncer cervicouterino (CaCU) representa el 11% de los cánceres diagnosticados en mujeres y es la segunda causa de muerte por cáncer a nivel mundial, así como también en México, en donde presenta una incidencia de 23.3 casos por 100,000 mujeres. Es un carcinoma originado en la zona de transformación del cérvix, que tiene como principales factores de riesgo el presentar citología anormal, neoplasia intraepitelial cervical (NIC), infección por virus del papiloma humano (VPH), tabaquismo e infección por VIH¹⁻⁴.

La infección por el VPH es el principal factor de riesgo para el CaCU, así como para otros tipos de cáncer. Los VPH son virus de ADN de doble cadena (8,000 pares de bases), miden aproximadamente de 52 a 55 nm, no poseen envoltura y pertenecen a la familia *Papovaviridae*; de esta gran familia viral se han identificado más de 100 subtipos virales catalogados como virus de bajo riesgo y de alto riesgo, de acuerdo a su potencial para desarrollar o no lesiones premalignas y cáncer. Los tipos 6 y 11 se consideran virus de bajo riesgo y son encontrados en condilomas acuminados. Los virus de alto riesgo son los tipos 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51 y 52, principalmente^{5,6}. En México la prevalencia de infección por VPH es aproximadamente del 37.2% y los genotipos detectados mediante *linear array* son los subtipos 16 y 18; los genotipos 31, 33, 35, 45, 52 y 58 son los más prevalentes, además de estar relacionados con el CaCU⁷.

Las LEI están ocasionadas por el VPH, del cual se refieren varios subtipos, pero los que se han asociado a cáncer de cérvix son los subtipos 16 y 18. Estas LEI pueden ser clasificadas LEIBG o LEIAG^{6,8}; las LEIAG abarcan la displasia moderada y la displasia severa, las cuales se pueden malignizar⁹. A pesar de que el diagnóstico histológico se encuentra entre los métodos diagnósticos más utilizados, en ocasiones las LEI del cuello uterino pueden llegar a presentar una notable variabilidad interobservador. Por medio del estudio de IHQ es posible determinar la sobreexpresión de la proteína p16 en citologías en base líquida, citologías convencionales y biopsias de cérvix. En carcinomas, así como en las LEIAG, se presenta una expresión intensa, pero también es de gran relevancia en pacientes con LEIBG¹⁰.

Para realizar el diagnóstico de CaCU o de lesiones precursoras se cuenta con herramientas accesibles, ampliamente estudiadas, que permiten elaborar un diagnóstico integral, oportuno y preciso de las LEI como la citología cervicovaginal, el examen colposcópico y la biopsia de la lesión. El diagnóstico oportuno y preciso de las LEI es indispensable para el tratamiento de las pacientes. La morbilidad por CaCU disminuye gracias al cribado extensivo universal que detecta las lesiones cervicales tempranas, así como su incidencia, hasta en dos terceras partes¹¹. Sin embargo, en las lesiones dudosas, lesiones con mucha inflamación o un proceso infeccioso agregado, es difícil establecer un diagnóstico preciso¹². Con pruebas inmunohistoquímicas como la de la proteína p16^{INK4a} (p16) expresada en células humanas, que actúa inhibiendo las cinasas dependientes de ciclinas, se ha demostrado que existe una sobreexpresión de p16 en los carcinomas, así como en las lesiones premalignas de alto grado, y por ello ha sido propuesta como un marcador biológico que puede identificar las células con cambios displásicos, puesto que existe una relación directamente proporcional entre su sobreexpresión y el grado de LEI¹²⁻¹⁶. Sin embargo, se pueden presentar diferencias interobservador y no es posible determinar por estas técnicas, sobre todo en las LEIBG, la progresión de la enfermedad¹⁷. Los estudios especializados como la hibridación *in situ* y otras técnicas por medio de biología molecular suelen ser muy sensibles y específicas para saber si el VPH es de bajo riesgo o de alto riesgo, incluso se puede conocer el subtipo, pero estas técnicas suelen ser costosas¹⁸. La técnica de IHQ en las biopsias utilizando la proteína p16 ha demostrado ser útil como marcador pronóstico de las lesiones, expresándose en aquellas muestras donde el virus ya fue integrado al genoma celular¹⁹.

El presente estudio determina la correlación de la citología y la colposcopia con la biopsia para establecer el diagnóstico de LEI y analiza la sobreexpresión de p16 en las LEIBG y las LEIAG, tanto en citologías cervicovaginales convencionales como en biopsias de cérvix.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 49 pacientes de entre 20 y 60 años de edad, que acudieron a la consulta para revisión

colposcópica y toma de biopsia a la Unidad de Colposcopia del Hospital Regional de Puerto Vallarta y a la Clínica del ISSSTE en Puerto Vallarta de abril a agosto del 2017 con reporte de citología de LEIBG y LEIAG o de CEI, a las cuales se les tomó muestra frotis de citología cervical adecuada y muestra histológica de biopsia obtenida mediante detección de lesión por colposcopia, previo consentimiento informado firmado.

Citología cervical

Para la obtención de la muestra de citología cervical se colocó a la paciente en posición ginecológica, introduciendo posteriormente el espejo vaginal, y tras observar el cérvix se tomaron las muestras con espátula de Ayre tanto del exocérnix como del canal endocervical, realizando extendidos celulares en portaobjetos utilizando spray fijador para su conservación. Las muestras fueron valoradas por dos patólogos certificados y evaluadas mediante la clasificación de Bethesda para su interpretación; se les realizó IHQ para la detección de p16 dentro de los primeros siete días posteriores a la toma²⁰.

Inmunohistoquímica p16 en citología convencional

Se realizó IHQ p16 de la citología convencional reciente (en los primeros siete días posteriores a la toma) obtenida de las pacientes, previo a la valoración colposcópica a dos muestras en frotis fijadas con alcohol al 95%, a las cuales se les agregó p16 para la demostración por IHQ de la proteína p16 (DAKO®) realizando recuperación antigénica con *buffer* citrato en horno de microondas y se utilizó el anticuerpo monoclonal E6H4 para el reconocimiento de la proteína p16, con un reactivo de visualización consistente en un polímero de dextrano conjugado con peroxidasa e inmunoglobulinas caprinas anti ratón y diamino benidina (DAB) como cromógeno (siguiendo las instrucciones del proveedor)²¹⁻²³.

Procedimiento colposcópico

Las pacientes con reporte citológico de LEI fueron evaluadas mediante colposcopia con sus respectivas

pruebas de Lugol y ácido acético. El tejido anormal se obtuvo mediante biopsia en sacabocado y se procedió a fijar en formaldehído al 10% con *buffer*. La colposcopia fue realizada por tres ginecobstetras expertos en este rubro.

Se colocó a la paciente en posición ginecológica, introduciendo el espejo vaginal, y tras observar el cérvix bajo visión colposcópica binocular (con el colposcopio Omni 9 Carl Zeiss) se aplicó solución fisiológica para limpiar moco cervical y eliminar detritus, se magnificó la imagen a 16x para observar lesiones procediendo a aplicar ácido acético al 5% con un atomizador, limpiando el excedente, esperando tres minutos. Se observan los diferentes epitelios para identificar la reacción celular. Se considera positiva cuando existe acetorreactividad, la cual consiste en el cambio de coloración de rosa a blanco. Posterior a la aplicación de ácido acético se aplica solución Lugol para realización de la prueba de Schiller; en los casos normales se observará el color caoba en toda la superficie del exocérnix (prueba del yodo positiva); en cambio, el epitelio que carezca de glucógeno presentará un color amarillento u ocre (zona yodo negativa o Schiller positiva). Las zonas anormales identificadas se valoraron bajo el índice colposcópico de Reid. Se tomó la biopsia con pinza Tischler baby, bajo técnica de sacabocado, colocando la pieza en solución del formaldehído al 10%, verificando hemostasia, y en caso de ser necesario se aplicó solución Monsel en vasos sangrantes. Tras la toma se retiró espejo vaginal, concluyendo el procedimiento, y se registró en la base de datos²⁴⁻²⁷.

Procesamiento de muestras de biopsia

De cada biopsia se realizaron seis secciones tisulares; dos para hematoxilina y eosina y cuatro para análisis mediante IHQ (secciones de 3-4 micras) para la detección de la expresión de p16.

Evaluación histológica

Las muestras fueron evaluadas y clasificadas como LEIBG, LEIAG y CEI, con base en la clasificación de Richard (neoplasia intraepitelial cervical, NIC): NIC I, VPH displasia leve y presencia de VPH; NIC II, displasia moderada y NIC III, displasia severa o

carcinoma *in situ*. Cada muestra fue evaluada por dos patólogos certificados, los cuales no conocían los datos clínicos de las pacientes^{25,28}.

Inmunohistoquímica p16 en las biopsias de cérvix

Se utilizaron cuatro secciones de cada bloque de parafina para análisis mediante IHQ con el anticuerpo monoclonal específico p16^{INK4a} para la demostración por IHQ de la proteína p16 (DAKO®). Se realizó recuperación antigénica con *buffer* citrato en horno de microondas y se utilizó el anticuerpo monoclonal E6H4 para el reconocimiento de la proteína p16, con un reactivo de visualización consistente en un polímero de dextrano conjugado con peroxidasa e inmunoglobulinas caprinas anti ratón y DAB como cromógeno. Siguiendo las instrucciones del proveedor²⁸⁻³⁰.

La reacción de positividad para la expresión de p16 en las muestras citológicas e histológicas se valoró de acuerdo al esquema de Klaes, et al., de la siguiente forma: negativa (menos del 1% de reacción), esporádica (células positivas aisladas, pero menos del 5% de reacción), focal (positiva pero en menos del 25% de las células) y difusa (más del 25% de las células)³¹.

Para que una muestra celular fuera considerada como positiva para sobreexpresión de p16 se consideró la tinción continua y difusa en los estratos basal y parabasal del epitelio escamoso estratificado cervical, hubiera o no teñido en los estratos más superficiales (>5%). Cualquier resultado con ausencia de tinción o la tinción de células aisladas o de pequeños grupos celulares (<5%), o la tinción exclusiva de los estratos superficiales se considera negativa²⁸.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el *software* SPSS 17.0 (IBM-SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Los resultados se expresaron en promedio, media y desviación estándar en la estadística descriptiva, se aplicó prueba de correlación bivariada de Spearman y para determinar las diferencias intra e intergrupos se utilizaron las pruebas de Wilcoxon y de U de Mann Whitney; se consideró un $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

De las muestras obtenidas de 50 pacientes que acudieron a la consulta para revisión colposcópica y toma de biopsia a la Unidad de Colposcopia del Hospital Regional de Puerto Vallarta y a la Clínica del ISSSTE se incluyeron 49 muestras de pacientes con una media de edad de 33.9 años \pm 9.85 de desviación estándar. Se descartó una muestra de paciente por no presentar citología anormal (LEI).

De las 49 muestras de citologías cervicovaginales se reportaron 36 con diagnóstico de LEIBG (73.5%), 12 con diagnóstico de LEIAG (24.5%) y una con diagnóstico de CEI (2%); de los cortes histológicos de biopsias con tinción de hematoxilina y eosina se reportaron 32 casos con diagnóstico de LEIBG (65.3%), 16 casos con diagnóstico de LEIAG (32.7%), y un caso con diagnóstico de CEI (2%); y en los reportes colposcópicos, 36 casos con diagnóstico de LEIBG (73.5%), 12 casos con diagnóstico de LEIAG (24.5%) y un caso con diagnóstico de CEI (2%) (Tabla 1).

Hubo correlación diagnóstica citología-colposcopia-histología en 43 casos (87.75%) ($p < 0.001$) y no la hubo en seis casos (12.25%). De los casos en los que no hubo correlación diagnóstica, dos casos fueron reportados con diagnóstico citológico y colposcópico como LEIBG y en el histológico como LEIAG, NIC II con eversión glandular; dos casos fueron reportados con diagnóstico citológico como LEIBG y en el colposcópico e histológico como LEIAG y dos casos fueron reportados con diagnóstico colposcópico como LEIBG y en el citológico e histológico como LEIAG, NIC II con eversión glandular (Tabla 2).

Expresión de p16 fue en muestras citológicas e histológicas

En los casos con reporte diagnóstico de LEIBG, la expresión de p16 fue positiva en cinco casos (15.6%), de los cuales se encontró positiva difusa en ambas muestras citológica e histológica en un caso (3.13%) y positiva focal en dos casos (6.26%); y en dos casos (6.26%) fue positiva focal en la muestra histológica y en la citológica la expresión fue esporádica.

En las muestras de los casos con reporte diagnóstico de LEIAG, la expresión fue positiva en el 100% de los

Tabla 1. Diagnóstico citológico, histológico y colposcópico de los casos

Diagnóstico	Citológico n (%)		Histológico n (%)		Colposcópico n (%)	
LEIBG (NIC I)	36	(73.5%)	32	(65.3%)	36	(73.5%)
LEIAG (NIC II)	12	(24.5%)	16	(32.7%)	12	(24.5%)
(NIC III)	8		12			
	4		4			
CEI	1	(2%)	1	(2%)	1	(2%)
Total de casos	49		49		49	

CEI: carcinoma escamoso invasor; LEIAG: lesión escamosa intraepitelial de alto grado; LEIBG: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado; NIC: neoplasia intraepitelial cervical.

Tabla 2. Correlación diagnóstica citología-colposcopia-histología

Diagnóstico	Cito-histo n (%)	Cito-colpo n (%)	Histo-colpo n (%)	Cito-histo-colpo n (%)
LEIBG	32	34	32	32 (65.3%)
LEIAG	12	10	12	10 (20.4%)
CEI	1	1	1	1 (2%)
Total	45	45	45	43 (87.7%)

CEI: carcinoma escamoso invasor; LEIAG: lesión escamosa intraepitelial de alto grado; LEIBG: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado; NIC: neoplasia intraepitelial cervical.

casos en ambas muestras, citológica e histológica, de los cuales en 15 (93.8%) fue positiva difusa y en un caso fue positiva focal; en el caso de CEI, en ambas muestras, citológica e histológica, la expresión fue positiva difusa, presentándose en el 100% de las células.

Se encontró correlación positiva entre el porcentaje de expresión de p16 en citologías y biopsias con un coeficiente de correlación de 0.919 ($p < 0.00000001$) y del porcentaje de expresión de p16 con el grado de lesión, para citologías con un coeficiente de correlación de 0.792 y para biopsias con un coeficiente de correlación de 0.861 ($p < 0.000001$); no se encontró diferencia estadística significativa entre las medias de porcentaje de expresión de p16 entre citologías 21.7 ± 31.5 vs. muestras histológicas de biopsia 23.9 ± 34.1 ($p = 0.382$).

DISCUSIÓN

La correlación citología-colposcopia-histología permite evaluar la calidad de la interpretación utilizando como estándar de oro la biopsia, es importante

conocer esta correlación diagnóstica de las lesiones cervicales para asegurar el diagnóstico certero y futuro tratamiento de las pacientes. En el presente estudio se encontró una correlación diagnóstica citológica-histológica-colposcópica del 87.75%, siendo semejante o mayor que la media reportada en otros estudios^{12,18,32,33}.

La proteína p16 codificada por el gen supresor *CDK-N2A* (MTS1, INK4A) situado en el cromosoma 9p21 de las células humanas actúa inhibiendo las cinasas dependientes de ciclinas y es considerado un biomarcador útil en el diagnóstico de lesiones premalignas y CaCU, puesto que ha mostrado sobreexpresión en los carcinomas, así como en las lesiones premalignas de alto grado. Esta sobreexpresión puede ser detectable por tinción de IHQ y ha sido propuesta como un marcador biológico que puede permitir identificar las células con cambios displásicos; se ha encontrado además una relación directamente proporcional entre la sobreexpresión y el grado de lesión intraepitelial cervical¹³⁻¹⁶. Las lesiones de alto grado y los carcinomas presentan una intensidad marcada y ocupan todo el espesor del epitelio cervical^{19,22,34}. En el presente

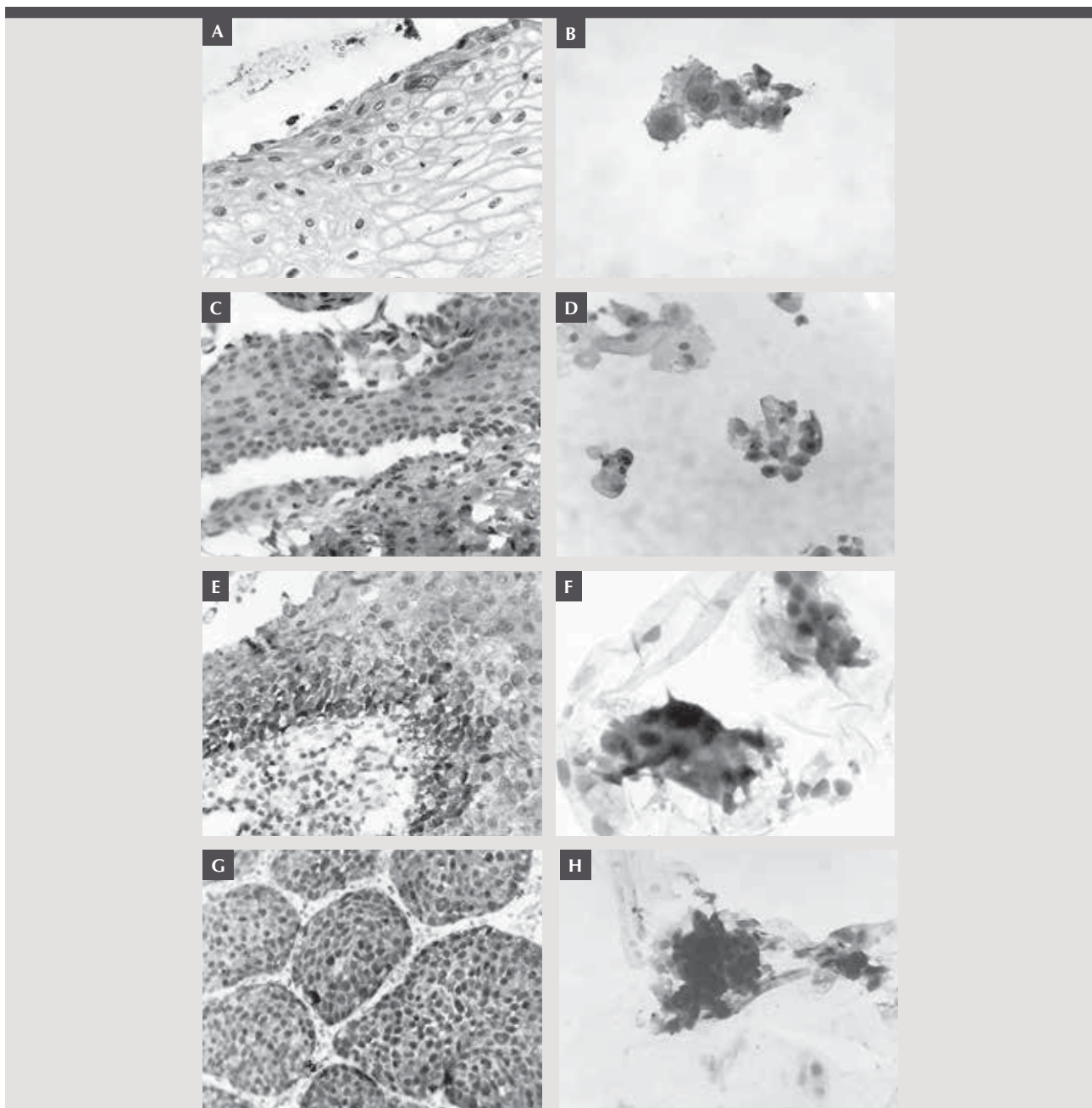


Figura 1. Expresión de p16 por IHQ en cortes histológicos. **A:** LEIBG con inmunorreactividad focal, nuclear y citoplasmática en el tercio superficial del epitelio. **C:** LEIBG con inmunorreactividad difusa, nuclear y citoplasmática aleatoria con predominio en las capas intermedia y superficial. **E:** LEIAG con inmunorreactividad difusa, nuclear y citoplasmática en todo el espesor del epitelio. **G)** LEIAG (NIC III/carcinoma *in situ*) con inmunorreactividad en todas las células, nuclear y citoplasmática. Expresión de p16 por IHQ en citología cervicovaginal. **B:** LEIBG con células que presentan atipias nucleares e inmunorreactividad focal. **D:** LEIBG con inmunorreactividad citoplasmática y nuclear en algunas células. **F:** LEIAG que muestra células con atipia con inmunorreactividad citoplasmática y nuclear. **H:** LEIAG con atipia que presentan inmunorreactividad citoplasmática y nuclear. IHQ: inmunohistoquímica; LEIAG: lesión escamosa intraepitelial de alto grado; LEIBG: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado.

estudio se encontró una expresión positiva de p16^{INK4a} en el 100% de los casos de pacientes con diagnóstico de LEIAG y de CEI en ambas muestras, citológica e histológica. En los seis casos en los que no hubo correlación diagnóstica citológica-histológica-colposcópica reportados como LEIBG, dos en el diagnóstico citológico, dos en la colposcopia y dos en ambos informes diagnósticos, se presentó una tinción positiva difusa en el 100% de los casos, lo que refuerza la utilidad diagnóstica de la IHQ con p16^{INK4a} e inclusive desde la citología cervical convencional la utilidad como herramienta de apoyo de este biomarcador, disminuyendo las discrepancias entre los diagnósticos^{19,35-39}.

Un hallazgo destacado se presentó en los casos en los que no hubo correlación entre la citología, la colposcopia y la biopsia, teniendo como diagnósticos tanto en la citología como en la colposcopia LEIBG y reportándose en las biopsias de estos casos LEIAG, presentándose una sobreexpresión marcada de p16 tanto en la citología como en la biopsia, y en la colposcopia en estos casos se reporta la zona de lesión como ectopia cervical. A pesar de que en nuestro estudio se observa una fuerte correlación diagnóstica entre la citología y la colposcopia se hace evidente que en los casos de margen de error (falsos negativos para LEIAG) estos falsos negativos subclasificados pueden progresar a carcinoma, no fueron detectados por estas técnicas diagnósticas y fue por medio de la biopsia que se detectó la lesión. corroborándose con la sobreexpresión de p16 tanto en las biopsias como en las citologías convencionales, lo que evidencia la gran utilidad diagnóstica de la tinción IHQ de p16 en citologías convencionales en el escrutinio de CaCU.

CONCLUSIONES

El estudio meticuloso colposcópico y morfológico de las muestras es indispensable para la interpretación adecuada en las lesiones de cérvix y el estudio de la correlación citología-colposcopia-histología es útil y complementario para una mayor certeza diagnóstica. Las pruebas de IHQ para evaluar la sobreexpresión de p16 son de gran utilidad cuando existen diferencias diagnósticas entre LEIBG y LEIAG, disminuyendo la variabilidad interobservador, realizándose inclusive en citologías convencionales, ya que presentan una

sobreexpresión semejante a la de las biopsias, demostrando que en las citologías ordinarias anormales con dificultad diagnóstica la tinción IHQ de p16 es de gran utilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. International Agency for Research on Cancer. Cervix Cancer Screening. Lyon: IARC Press; 2005.
2. Parkin DM, Passini P, Ferlay J. Estimates of worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer*. 1999;54:827-41.
3. GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388(10053):1659-724.
4. Secretaría de Salud [Internet]. México; 2015 [fecha de consulta 14 de octubre de 2016]. Cáncer del cuello uterino y VPH. Disponible en: <http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/cancer-de-cuello-uterino>
5. Said HM, Ahmed K, Burnett R, et al. HPV genotypes in women with squamous intraepithelial lesions and normal cervixes participating in a community based microbiocide study in Pretoria, South Africa. *J Clin Virol*. 2009;44(4):318-21.
6. Thomas J, Castle P, Behrens C, et al. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the ATHENA HPV study. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(184):184.e1-11.
7. Flores-Miramontes MG, Torres-Reyes LA, Aguilar-Lemarroy A, et al. Prevalencia de genotipos de VPH en México y en el mundo detectados mediante Linear Array. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2015;53 (Supl 2):122-30.
8. Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16(INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2009;35:210-20.
9. Kurshumliu F, Thorns C, Gashi-Luci L. p16INK4A in routine practice as a marker of cervical epithelial neoplasia. *Gynecol Oncol*. 2009;115(2009):127-31.
10. Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16INK4a/Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology. *Cancer Cytopathol*. 2015;123:212-18.
11. Chen YY, You SL, Koong SL, et al. Screening frequency and atypical cells and the prediction of cervical cancer risk. *Obstet Gynecol*. 2014;123(5): 1003-11.
12. Thomas J, Castle P, Behrens C, et al. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the ATHENA HPV study. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(184):184.e1-11.
13. Yang DG, Liu L, Zheng XY. Cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a and telomerase may co-modulate endothelial progenitor cells senescence. *Ageing Research Reviews*. 2008;7:137-146.
14. El-Ghobashy A, Shaaban AM, Innes J, et al. Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and apoptosis-related proteins in endocervical lesions. *Eur J Cancer*. 2007;43:2011-8.
15. Kurshumliu F, Thorns C, Gashi-Luci L. p16INK4A in routine practice as a marker of cervical epithelial neoplasia. *Gynecologic Oncology*. 2009;115(2009):127-131.
16. Gertych A, Joseph AO, Walts AE, et al. Automated detection of dual p16/Ki67 nuclear immunoreactivity in liquid-based Pap tests for improved cervical risk stratification. *Ann Biomed Eng*. 2012;40(5):1192-204.
17. Wensveen C, Kagie M, Nagelkerke N, et al. Interobserver agreement on interpreting hand drawings of colposcopy in women with borderline cytology to predict high-grade lesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;135:123-6.
18. Del Pino M, Rodríguez-Carunchio L, Alonso I, et al. Clinical, colposcopic and pathological characteristics of cervical and vaginal high-grade lesions negative for HPV by Hybrid Capture 2. *Gynecologic Oncology*. 2011;122:515-20.
19. Genovés J, Frances A, Gemma M, et al. Human papillomavirus detection and p16INK4a expression in cervical lesions: a comparative study. *Human Pathology*. 2014;45(4):826-33.
20. Solomon D. The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytological diagnosis. *J Am Med Assoc*. 1989;262:931-4.
21. Kisser A, Zechmeister-Koss I. A systematic review of p16/Ki-67 immuno-testing for triage of low grade cervical cytology. *BJOG*. 2015;122(1):64-70.

22. Gomez FJT, Machín PF, Cala CR, et al. Papel de p16 en lesiones preinvasivas e invasivas de cáncer de cuello uterino. Aplicación de la técnica a citología convencional. *Prog Obstet Ginecol*. 2011;54(4):193-203.
23. Ding L, Chen Q, Fan, et al. Application of a time-resolved fluoroimmunoassay for detection of p16INK4a in cervix. *Ann Diagn Pathol*. 2017;29:7-10.
24. Tatti S, Bornstein J, Prendiville W. Colposcopy: a global perspective introduction of the new IFCPC colposcopy terminology. *Obstetric Gynecologic Clinic N Am*. 2013;40:235-50.
25. Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2009;35:210-20.
26. Jeronimo J, Massad S, Schiffman M; National Institutes of Health/American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (NIH/ASCCP) Research Group. Visual appearance of the uterine cervix. Visual appearance of the uterine cervix: correlation with human papillomavirus detection and type. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;197: 47.e1-8.
27. Tan J, Wrede D. New technologies and advances in colposcopic assessment. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011;25:667-77.
28. Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol*. 2010;133:395-406.
29. Cheng-Chieh C, Lee-Wen H, Chyi-Huey B, et al. Predictive value of p16/Ki-67 immunocytochemistry for triage of women with abnormal Papanicolaou test in cervical cancer screening: a systematic review and meta-analysis. *Ann Saudi Med*. 2016;36:245-51.
30. Klaes R, Benner A, Friedrich T, et al. p16 INK4a improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:1389-99.
31. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16ink4a as specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer*. 2001;92:276-84.
32. Adamopoulou M, Kalkani E, Charvalos E, et al. Comparison of cytology, colposcopy, HPV typing and biomarker analysis in cervical neoplasia. *Anticancer Research*. 2009;29:3401-10.
33. Diaz-Amézquita E, Martínez N, Dragustinovs I. Correlación citológica-colposcópica e histológica de lesiones de bajo y alto grado en cérvix. *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González* 2006;7(2):54-8.
34. Gajanin Z, Vilendecic R, Ecim Zlojutro V, et al. Significance of immunohistochemical expression of p16INK4a in the differentiation of inflammatory and preneoplastic cervical lesions. *Srp Arh Celok Lek*. 2015;143:42-9.
35. Gertych A, Joseph AO, Walts A, et al. Automated detection of dual p16/Ki67 nuclear immunoreactivity in liquid-based Pap tests for improved cervical cancer risk stratification. *Ann Biomed Eng*. 2012;40(5):1192-204.
36. Zeqiri F, Paçarada M, Kongjeli K, et al. The importance of colposcopy in the prevention of cervical malignancies. *Int J Gynaecol Obstet*. 2010;110:149-62.
37. Gomez FJT, Machín PF, Cala CR, et al. Papel de p16 en lesiones preinvasivas e invasivas de cáncer de cuello uterino. Aplicación de la técnica a citología convencional. *Prog Obstet Ginecol*. 2011;54(4):193-203.
38. Van Bogaert LJ. P16INK4a immunocytochemistry/immunohistochemistry: need for scoring uniformization to be clinically useful in gynecological pathology. *Annals*. 2012;16:422-6.
39. Bergeron C, Ronco G, Reuschenbach M, et al. The clinical impact of using p16INK4a immunochemistry in cervical histopathology and cytology: An update of recent developments. *Int J Cancer*. 2015;136:2741-51.