

I Simpósio Evidências e Atualizações em Ciências Médicas - UNITRI

Área Temática: Medicina

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DA PROTEÍNA P-16 E KI-67 EM NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL DE ALTO GRAU

- Prado Filho, Francisco Cyro Reis de Campos¹
- Perobelli, Giovani Mendolla²
- Ribeiro, Isabelle Louise Morais²
- Guedes Júnior, Cairo Antônio¹

1- Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia - UFU

2- Acadêmicos de Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia - UFU

RESUMO

Lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (LIEAG) são claramente associadas à ação viral do HPV e seus peptídeos mais importantes E6 e E7. O primeiro atua na proteína p-53 afetando processos críticos da reparação de DNA no ciclo celular e o disparo da apoptose em casos de defeitos adquiridos. O segundo atua no protooncogene Rb e mudança do padrão de ciclo celular. A proteína p-16 atua na regulação do ciclo celular e está superexpressa em células sob ação de variáveis oncogênicas de HPV, em especial nas lesões de alto grau. Ki-67 é uma ciclina expressa em células que estão realizando ciclo celular, podendo de forma quantitativa expressar o grau de proliferação tecidual. Múltiplos ensaios demonstram que a análise da p-16 associada à expressão de Ki-67 pode diferenciar LIEAG que possuam maior potencial de evolução. O presente estudo é um piloto observacional retrospectivo descritivo de avaliação de 19 pacientes com diagnóstico confirmado por histologia de lesão intraepitelial de alto e baixo graus que tiveram a análise de p-16 e Ki-67 realizadas. Foi avaliado o padrão de positividade dos marcadores e correlacionados ao perfil de recidivas e ao grau de lesão cervical. 6 pacientes com LIEBG avaliadas apresentaram p-16 negativa e Ki-67 com fraca expressão em 5 casos (16,6% positividade), enquanto em 9 pacientes LIEAG padrão NIC II, 6 apresentaram forte coloração p-16 e alta expressão de Ki-67 (66,6%) e em 4 pacientes com LIEAG de padrão NIC III, todos apresentaram alta expressão de p-16 e Ki-67 (100%). Os dados apresentados confirmam os achados de literatura, mostrando que a expressão de p-16 e Ki-67 são úteis em quadros intermediários de LIEAG em padrão NIC II, sendo redundantes em NIC III e pouco discriminadoras em LIEBG.

Palavras-chave: neoplasia de colo uterino; lesão intraepitelial escamosa cervical; HPV, p-16, Ki-67.

HIGH-GRADE SQUAMOUS CELL INTRAEPITHELIAL LESIONS: HISTOLOGICAL CORRELATION, MARGIN ANALYSIS AND RECURRENCES

ABSTRACT

High-grade cervical intraepithelial lesions (HSIL) are clearly associated with the viral action of HPV and its most important peptides E6 and E7. The first acts on the p-53 protein, affecting critical processes of DNA repair in the cell cycle and the triggering of apoptosis in cases of acquired defects. The second acts on the Rb protooncogene and changes the cell cycle pattern. The p-16 protein acts in the regulation of the cell cycle and is overexpressed in cells under the action of HPV oncogenic variables, especially in high-grade lesions. Ki-67 is a cyclin expressed in cells that are performing a cell cycle and can quantitatively express the degree of tissue proliferation. Multiple assays demonstrate that the analysis of p-16 associated with Ki-67 expression can differentiate HSIL that have greater potential for evolution. The present study is a retrospective observational and descriptive evaluation of 19 patients with histology-confirmed diagnosis of high- and low-grade intraepithelial lesions who had p-16 and Ki-67 analysis performed. The pattern of positivity of the markers was evaluated and correlated with the recurrence profile and the degree of cervical injury. 6 patients with LSIL evaluated had negative p-16 and Ki-67 with weak expression in 5 cases (16.6% positivity), while in 9 patients HSIL with a CIN II pattern, 6 had strong p-16 staining and high expression of Ki-67 (66.6%) and in 4 patients with HSIL, and CIN III pattern, all had high expression of p-16 and Ki-67 (100%). The data presented confirm the findings of the literature, showing that the expression of p-16 and Ki-67 are useful in intermediate cases of HSIL in CIN II, being redundant in CIN III and not very discriminating in LSIL.

Keywords: cervical neoplasia; squamous cell intraepithelial cervical neoplasia; HPV, p-16, Ki-67.

1. INTRODUÇÃO

Lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (LIEAG) são claramente associadas à ação viral do HPV e seus peptídeos mais importantes E6 e E7. O primeiro atua na proteína p-53 afetando processos críticos da reparação de DNA no ciclo celular e o disparo da apoptose em casos de defeitos adquiridos. O segundo atua no protooncogene Rb e mudança do padrão de ciclo celular. A ligação de peptídeos virais E6 e E7 a substratos endógenos naturais inativa a função destas substâncias, seja a proteína p-53, seja o protooncogene Rb. Outra proteína, chamada p-16 atua na regulação do ciclo celular e está superexpressa em células sob ação de variáveis oncogênicas de HPV, em especial nas lesões de alto grau enquanto a ciclina Ki-67 é expressa em células que estão realizando ciclo celular, podendo de forma quantitativa expressar o grau de proliferação tecidual em múltiplas neoplasias.

Classicamente é conhecido que as neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) tem graus variados de evolução aos estágios subsequentes com apenas 12% dos casos de NIC I (LIEBG) chegando a NIC III e 1 a 2% do total e evoluindo até o câncer de colo uterino. Mesmo o NIC III tem uma porcentagem minoritária de evolução ao câncer. Entre ambas as lesões ainda existem as lesões NIC II que tem em sua maioria estabilidade ou reversão a epitélio normal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004).

Definir um marcador que pudesse diferenciar quais casos de NIC II e NIC III evoluíam ao câncer foi amplamente investigado e a maioria se mostrou ineficaz para diferenciar as formas que tem comportamento clínico brando, daquelas com progressão. A investigação inicial da p-16 apontou resultados promissores em diferenciação de LIEAG, porém restritas em especial para os casos de NIC II, com baixo potencial de diferenciação em NIC III onde a maioria dos casos apresenta a proteína superexpressa. Estudos posteriores revelaram que isoladamente a p-16 não apresentava sensibilidade tão adequada, quanto os primeiros ensaios revelavam e passou-se a associar a ciclina Ki-67. A associação de ambos marcadores tem demonstrado de forma sólida que o subgrupo de LIEAG em padrão NIC II pode ser diferenciado em pacientes de baixo e alto potencial para evolução ao NIC III, através do grau de expressão da p-16 (fraca ou forte) e a quantificação de células que expressam Ki-67. As mesmas análises não são úteis em LIEAG de padrão NIC III, já que a maioria apresenta expressão de ambas, sem diferenciar casos que evoluirão ao câncer. Em LIEAG (NIC I) a expressão é mínima ou ausente nas séries de casos da literatura e a análise custo-benefício do exame é desfavorável, já que a maioria das LIEAG irá reparar naturalmente para epitélio normal (WRIGHT JR, TC et al 2022); (KIM, TH et al 2015).

O presente estudo é um piloto que visa implementar a realização rotineira da avaliação de p-16 e Ki-67 na prática clínica de pacientes com LIEAG, em especial de padrão NIC II. Como projeto piloto, serão avaliadas todas as variáveis de lesões intraepiteliais visando confirmar os parâmetros apontados na literatura corrente.

observacional retrospectivo descritivo de avaliação de 19 pacientes com diagnóstico confirmado por histologia de lesão intraepitelial de alto e baixo graus que tiveram a análise de p-16 e Ki-67 realizadas. Foi avaliado o padrão de positividade dos marcadores e correlacionados ao perfil de recidivas e ao grau de lesão cervical. 6 pacientes com LIEAG avaliadas apresentaram p-16 negativa e Ki-67 com fraca expressão em 5 casos (16,6% positividade), enquanto em 9 pacientes LIEAG padrão NIC II, 6 apresentaram forte coloração p-16 e alta expressão de Ki-67 (66,6%) e em 4 pacientes com LIEAG de padrão NIC III, todos apresentaram alta expressão de p-16 e Ki-67 (100%). Os dados apresentados confirmam os achados de literatura, mostrando que a expressão de p-16 e Ki-67 são úteis em quadros intermediários de LIEAG em padrão NIC II, sendo redundantes em NIC III e pouco discriminadoras em LIEAG.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado de forma observacional retrospectiva descritiva em forma de projeto piloto, através da análise de prontuários médicos de pacientes atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical e Vulvar do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia – EBSEH, no período de 01 de janeiro de 2018 a 31 de dezembro de 2022.

Como critério de inclusão, foram elencadas ao estudo pacientes do sexo feminino com diagnóstico citológico de rastreamento de Lesão Intraepitelial de Alto ou Baixo Grau que tenham realizado biópsia de colo uterino e tenha sido possível realizar imuno-histoquímica para a proteína p-16 e também para a ciclina Ki-67. A proteína p-16 foi avaliada como fraca, forte ou negativa, enquanto a ciclina Ki-67 foi avaliada em termos quantitativos (porcentagem de células coradas).

Foi avaliado o padrão de positividade dos marcadores e sua correlação com o grau de lesão intraepitelial, além de possível padrão de recidivas.

O projeto foi aprovado pelo CEP-UFU, sob no. CAE 59189922.2.0000.5152 em 08 de julho de 2022.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliadas 19 pacientes com mediana de idade de 40 anos de idade (27-58 anos) com acompanhamento médio de 26,7 meses.

6 pacientes apresentavam diagnóstico histológico final de LIEBG e apenas uma delas apresentava p-16 positiva e expressão de Ki-67 relevante (16,6%), enquanto as outras 5 pacientes apresentaram p-16 negativa e Ki-67 baixo.

Pacientes com LIEAG em padrão NIC II totalizaram 9 casos, com 6 deles apresentando forte coloração de p-16 e alta expressão de Ki-67 (66,6%), com 2 casos de p-16 fraco e Ki-67 baixo e um caso com p-16 fraco com Ki-67 alto. Nenhum caso foi negativo para ambos marcadores.

Em pacientes com LIEAG padrão NIC III (4 casos), todas apresentaram forte expressão de p-16 e alta expressão de Ki-67.

Não houve recidiva em pacientes com LIEBG e ocorreram 5 casos de recidiva dentre o total de 13 pacientes com LIEAG, porém sem relação direta com margens ou com os padrões de p-16/Ki-67.

Por se tratar de um estudo piloto com casuística pequena, fica restrita a interpretação de resultados, porém os dados confirmam claramente os padrões apontados na literatura com expressão universal (ou quase) de p-16 e Ki-67 em LIEAG de padrão NIC III, não discriminando diferentes padrões de evolução. Infelizmente o quadro mais grave, ainda permanece sem um preditor para evolução (KIM TH et al, 2015).

No caso das lesões NIC II o cenário é mais promissor, com a combinação dos marcadores mostrando uma diferença de padrão nas pacientes, mas nossos dados não podem confirmar prognóstico, dada a amostragem limitada. Estudos mais amplos serão necessários para que tenhamos uma validação interna compatível com os dados da literatura que demonstram a eficácia do método neste grupo de pacientes (WRIGHT JR, TC et al., 2022).

4. CONCLUSÃO

Como estudo piloto, buscou-se validar padrões adotados na literatura corrente que confirmaram a eficácia da avaliação de p-16 e Ki-67 como discriminadores apenas em LIEAG em padrão NIC II, com ausência de poder discriminatório tanto em LIEAG NIC III, quanto em LIEBG.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL - Ministério da Saúde – Instituto Nacional do Câncer. **Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer de Colo do Útero**. 2a Edição. Rio de Janeiro, 2016: 114 pg.

Disponível em:

https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizes_para_o_rastr

eamento_do_cancer_do_colo_do_uterio_2016_corrigido.pdf. Acesso em 02 de janeiro de 2024.

CHEUNG LC, et al. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines. **J Lower Gen Tract Dis** 2020,24: 90-101.

KIM TH et al. Clinical Implication of p16, Ki-67, and Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in Cervical Neoplasia: Improvement of Diagnostic Accuracy for High-grade Squamous Intraepithelial Lesion and Prediction of Resection Margin Involvement on Conization Specimen. **Journal of Cancer Prevention**, 2015:20(1),70-7.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - International Agency for Research on Cancer. Sellors JW, Sankaranarayanan R (ED.). **Colposcopia e tratamento da neoplasia intra-epitelial cervical: Manual para principiantes**. Lyon, 2004. Disponível em: <https://screening.iarc.fr/colpo.php>. Acesso em 04 de janeiro de 2024.

WRIGHT JR, TC et al. Clinical validation of p16/Ki-67 dual-stained cytology triage of HPV-positive women: Results from the IMPACT trial. **Int J Cancer** 2022; 150: 461-471.