

Diagnóstico precoce do Câncer de Colo do Útero utilizando biomarcadores tumorais P16 e Ki67: Uma revisão sistemática



<https://doi.org/10.56238/interdiinovationscresce-017>

Ellen Nunes Feitoza

Graduanda em Farmácia
Instituição: Centro Universitário Fametro
E-mail: ellen.nunes15@hotmail.com

Daniel de Oliveira Oliveira

Graduando em Farmácia
Instituição: Centro Universitário Fametro
E-mail: oliverdan2016@gmail.com

Bruna Mendes Carvalho

Graduanda em Farmácia
Instituição: Centro Universitário Fametro
E-mail: mbrunahair26@gmail.com

Micaele Lima Andrade

Graduanda em Farmácia
Instituição: Centro Universitário Fametro
E-mail: micaele2022@gmail.com

RESUMO

INTRODUÇÃO: O câncer de colo de útero, é uma neoplasia maligna localizada no colo do útero (porção entre o final da vagina e o útero) é uma doença que evolui ao logo dos anos. Para diagnosticar esta doença são necessárias diversas ferramentas, dentre elas está o uso de biomarcadores, como o biomarcador P16 e Ki67. **OBJETIVO:** Descrever sobre os biomarcadores tumorais P16 e ki67 e descrever sua utilidade para a identificação, diagnóstico e prognóstico precoce do câncer de colo uterino. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo de revisão sistemática, utilizando o método PRISMA de revisões sistemáticas e meta-análises. Foram utilizadas bibliotecas virtuais como Scielo, PubMed e BVS para a busca dos artigos, com palavras chaves em português, inglês e espanhol. Foram incluídos artigos com data de publicação dentro dos últimos 10 anos, dentro do tema central

deste estudo. **RESULTADOS:** Para embasar este trabalho, foi realizada a seleção de 15 artigos que fundamentaram o desenvolvimento do presente estudo. Dentre os biomarcadores abordados, destacam-se o P16 como uma proteína supressora de tumor, desempenhando papel fundamental na regulação do ciclo celular. Sua superexpressão dentro das células cervicais, indicam neoplasias intraepiteliais. O biomarcador Ki67 é outra proteína e está relacionada com a proliferação celular que indica a progressão de neoplasias intraepiteliais cervicais. No tecido normal, é encontrado exclusivamente em células parabasais, a sua superexpressão em outras camadas do tecido cervical indica desregulação do ciclo celular provocada pelo HPV. Os estudos científicos mostram que os biomarcadores P16 e Ki67 são melhores quando utilizados em conjunto, pois a coexpressão dessas duas proteínas resultam na desregulação da célula e são geralmente detectáveis em lesões de grau mais elevados, quanto maior é o grau de lesão, maior é a expressão dessas duas proteínas. **CONCLUSÕES:** Com base dos estudos encontrados, os biomarcadores tumorais p16 e Ki-67 demonstraram ser ferramentas valiosas no diagnóstico e prognóstico do câncer do colo do útero. A presença de p16 é indicativa de uma lesão precursora de alto grau, enquanto a expressão de Ki-67 está relacionada à proliferação celular e à atividade tumoral. O uso desses biomarcadores pode fornecer informações mais precisas sobre o estágio ou grau da lesão cervical da doença e auxiliar na tomada de decisões terapêuticas. Portanto, a análise desses marcadores é essencial para a abordagem clínica eficaz do câncer cervical.

Palavras-chave: Biomarcadores tumorais, Câncer de Colo do Útero, Biomarcadores tumorais do Câncer de Colo Uterino, Diagnóstico precoce do Câncer de Colo Uterino, P16, Ki-67.



1 INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero ou câncer cervical é uma neoplasia maligna localizada na porção entre o final da vagina e o útero, sendo uma doença que tem uma evolução lenta, desta forma permite o seu diagnóstico e tratamento precoce das lesões. Seu desenvolvimento está diretamente ligado à infecção persistente do Papilomavirus Humano (HPV) como o HPV 16 e o HPV 18 relacionados à 70% dos cânceres por HPV no mundo (WHO, 2022). Também existe alguns co-fatores de risco que facilitam a evolução deste tipo de câncer, como o tabagismo, iniciação do ato sexual precocemente, multiplicidade de parceiros sexuais, multiparidade, imunossupressores, co-infecção com outros agentes sexualmente transmissíveis (que causam herpes simples, clamídia e gonorreia), uso de contraceptivos orais e a idade, que podem ser um fator de risco também. (MURTA; et al., 1999; MELO, 2009; WHO, 2019).

No Brasil, o câncer do colo do útero está em terceiro lugar de câncer do tipo maligno que mais acomete mulheres no país, com média de 570 mil casos novos do câncer cervical por ano, com o risco estimado de 15,38 casos a cada 100 mil mulheres brasileiras, em 2020 foi registrado 6.627 mortes (BRASIL, 2022; INCA, 2022).

A vacinação é uma das formas de prevenção do câncer do colo uterino. A vacina é distribuída gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e é indicada para meninas e meninos de 9 a 14 anos, com esquema de 2 doses. Entre os subtipos mais comuns do HPV, estão os com maior potencial oncogênicos (HPV 18 E HPV 16), na maioria das vezes a infecção cervical pelo HPV é transitória e regride espontaneamente entre seis meses a dois anos após a exposição (WHO, 2008). Contudo a vacina não protege contra todos os tipos de HPV com potencial oncogênico e precisa estar em conjunto com métodos de detecção precoce, como o exame Papanicolaou para exercer a prevenção e combate ao câncer com sucesso (BRASIL, 2022; MESQUITA, et al., 2020).

É importante dizer que o uso de preservativos previne cerca de 80% a transmissão do HPV. Por ser uma doença de evolução lenta, é possível utilizar tratamento de prevenção do câncer cervical, já que a transmissão ocorre, principalmente por contato sexual. (INCA, 2020).

A detecção precoce e a identificação das lesões cervicais são os objetivos centrais do rastreamento do câncer cervical e está fundamentada em três exames: Citopatologia ginecológica, colposcopia e biópsia. A biópsia é considerada o padrão para a identificação das lesões.

O uso de biomarcadores utilizados pelos patologistas nos diagnósticos diferencial das NICs (Neoplasia Intraepitelial Cervical) e suas transições, necessitam de biomarcadores específicos que minimizem a discordância entre os analistas, auxiliando na classificação das lesões e na identificação precoce da doença cervical.

Estes biomarcadores tumorais são proteínas liberadas pelas células humanas normais e também por células cancerígenas, porém, as células cancerígenas liberam em maior quantidade. Por esse



motivo, servem como método de triagem com análises de diversos produtos corporais, como sangue, urina e outros (ONCOGUIA, 2020). A literatura apresenta diversos biomarcadores tumorais existentes para a detecção do câncer cervical, dentre eles o P16 e o Ki67 (UTAGAWA, et al., 2021).

O biomarcador P16 é um supressor tumoral, ou seja, tem como objetivo reduzir a incidência de tumor, impedindo as quinases que são dependentes de ciclina, porém, se esse gene protéico for mal expressado, modificado ou inativado, pode estar ligado com o surgimento de tumores malignos, como o caso do câncer do colo uterino. No HPV, a medida que o vírus infecta a célula e induz a proliferação celular inativando a pRb (proteína retinoblastoma) pelo gene E7, causa uma expressão em níveis extremamente altos do P16, o que pode ser detectado em testes imuno-histoquímico (MUNHOZ, 2009; FEBRASGO, 2018).

Já o biomarcador ki67 é uma proteína não histona, ou seja, uma proteína que atua eficientemente na reparação, e expressão do DNA, assiduamente atuantes na meiose e mitose, por esse motivo é um excelente marcador de proliferação celular estando ligado a neoplasias malignas. Porém, esse marcador só é comumente visto nas células da camada basal no colo uterino, na qual é a camada mais superficial e está em sucessiva renovação, mas quando é detectado em altos níveis em células de camadas mais profundas do colo do útero, age como um alerta à incidência do câncer do colo uterino ocasionado pelo HPV, classificando em tipos de lesões e graus conforme o aprofundamento e expressão deste marcador nas camadas do colo uterino (MUNHOZ, 2009; SILVA, 2017).

Este estudo utilizará a bibliografia existente para demonstrar a usabilidade da detecção destes biomarcadores nos exames de investigação e diagnóstico do câncer do colo uterino, visto que esses biomarcadores são promissores para o diagnóstico do câncer do colo do útero em estágios iniciais, facilitando e antecipando o tratamento de mulheres acometidas, fazendo com que a incidência de óbitos diminua ao longo dos anos.

Desta forma, o objetivo geral deste estudo são os biomarcadores tumorais P16 e ki67 utilizados para o diagnóstico do câncer do colo uterino, especificando pontos importantes, tais como:

- Descrever características e usabilidade dos biomarcadores tumorais P16 e ki67 utilizados no diagnóstico do câncer do colo do útero;
- Associar o grau de lesão com os biomarcadores tumorais P16 e ki67 utilizados no diagnóstico e prognóstico do câncer do colo do útero.
- Comparar a eficácia dos biomarcadores P16 e Ki-67 no diagnóstico do câncer do colo uterino.

2 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de revisão sistemática, utilizando como base o formulário PRISMA. A busca dos artigos científicos foi realizada nas bibliotecas virtuais PUBMED, BVS, e SCIELO. A



pesquisa bibliográfica foi feita com as seguintes palavras-chaves: em português, os vocábulos ficaram desta forma: Biomarcadores tumorais do câncer de colo uterino; diagnóstico precoce do câncer de colo uterino; biomarcador tumoral P16; biomarcador tumoral Ki-67; exames que detectam o biomarcador tumoral P16; exames que detectam o biomarcador tumoral Ki-67. Em inglês: cervical cancer tumor biomarkers; early diagnosis of cervical cancer; tumor biomarker P16; tumor biomarker Ki-67; tests that detect the tumor biomarker P16; tests that detect the tumor biomarker Ki-67. E em espanhol: Biomarcadores tumorales de cáncer de cuello uterino; diagnóstico precoz del cáncer de cuello uterino; biomarcador tumoral P16; biomarcador tumoral Ki-67; pruebas que detectan el biomarcador tumoral P16; pruebas que detectan el biomarcador tumoral Ki-67.

Os critérios de inclusão escolhidos para fazer parte desta revisão sistemática são: estudos observacionais, estudos experimentais, relatos de caso e estudo de coorte; artigos publicados no período de um de janeiro de 2013 até maio de 2023; escritos nos idiomas português, inglês e espanhol e artigos relacionados ao tema diagnóstico precoce do câncer do colo do útero utilizando biomarcadores tumorais P16 e ki67.

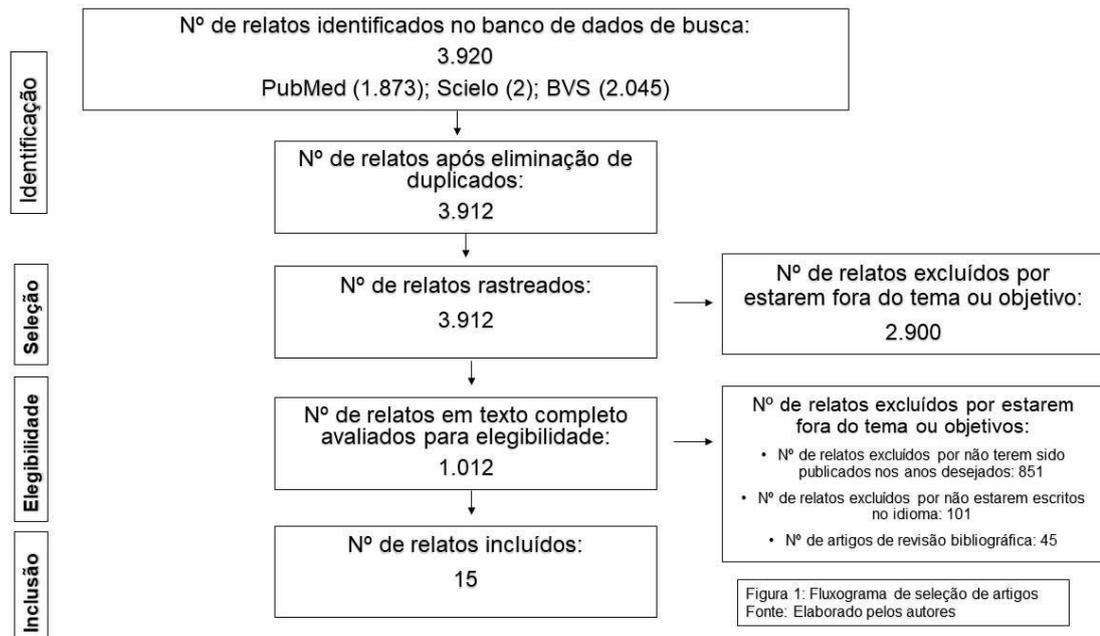
E os critérios de exclusão foram: artigos de revisão sistemática, revisão bibliográfica, meta-análise e artigos de opinião; artigos publicados até dezembro de 2012; escritos em idiomas que não sejam português, inglês e espanhol e fora da temática escolhida.

3 RESULTADOS

Para embasar este trabalho, foi realizado uma pesquisa dentro das plataformas digitais, na primeira etapa foram encontrados 3.920 artigos fichados inicialmente, no qual a plataforma que se destacou foi a biblioteca virtual de saúde-BVS dessa triagem 2.045 artigos encontrados, seguindo nas plataformas com as palavras chaves o PubMed apresentou 1.873 artigos e Scielo, 2 artigos, utilizando as palavras chaves nos três idiomas, português, inglês e espanhol, a maioria dos artigos estavam no idioma inglês. A segunda etapa foi a organização do processo de escolha dos artigos de forma fidedigna, onde foi estabelecido algumas etapas das quais marcam os quantitativos acerca deste processo, expresso na Figura 1. A terceira etapa foi a seleção dos 15 artigos selecionados para o desenvolvimetro teórico do presente estudo foi utilizado o fluxograma abaixo, onde foi executado todas as etapas para que todos os artigos de relevância fossem relatados neste estudo, dentro dos critérios de inclusão e exclusão já aludidos.



Figura 1 – Fluxograma do processo de escolha dos artigos elegíveis.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 1 – Resumo das informações dos principais artigos selecionados pela busca.

Nº	Autores/Ano	Título/Artigo	Tipo de Estudo	Objetivo	Conclusões
	MATA, S., FERREIRA, J., NICOLÁS, I., ESTEVES, S., et al. 2021.	P16 and HPV Genotype Significance in HPV-Associated Cervical Cancer- A Large Cohort of Two Tertiary Referral Centers.	Coorte	Verificar a significância prognóstica do biomarcador P16; analisar os fatores dos quais levam os significados da superexpressão do gene P16, observar o comportamento do genótipo e genes do HPV no resultado de pacientes com câncer cervical (CC) associado ao HPV.	A superexpressão dos gêneros HPV16, α-9 e P16 foi associada a uma melhor sobrevida em pacientes com câncer cervical associado ao HPV. Os resultados confirmam a existência de um pequeno número de câncer cervical associados ao HPV que não superexpressam P16 (5%). Esses pacientes tendem a ser mais velhos e têm doença avançada, ambos fatores de mau prognóstico.
	TSAKOGIANNIS D., MOSCHONAS G. D., BELA E., et al. 2018	Association of p16 (CDKN2A) polymorphisms with the development of HPV16-related precancerous lesions and cervical cancer in the Greek population	Transversal	Esclarecer se os genótipos/haplótipos de P16 têm o potencial de emergir como biomarcadores essenciais para prognóstico da doença cervical na população grega.	O polimorfismo P16 C540G influencia a suscetibilidade dos pacientes à displasia mais grave. Este polimorfismo pode emergir como um valioso biomarcador para o desenvolvimento de lesão Intraepitelial Escamosa de alto grau (HSIL).



ZUBERI Z., MREMI A., CHILONGOLA J. O., et al. 2021.	Expression analysis of p16 and TOP2A protein biomarkers in cervical cancer lesions and their correlation with clinic-histopathological characteristics in a referral hospital, Tanzania	Transversal retrospectivo	Avaliar a utilidade de P16 e TOP2A como potenciais biomarcadores em alterações displásicas e malignas do epitélio cervical, analisando uma série de lesões cervicais benignas, pré-cancerosas e cancerígenas, de modo a avaliar se sua expressão pode ser útil para o prognóstico na carcinogênese cervical na Tanzânia.	A superexpressão de TOP2A está relacionada ao grau de neoplasia intraepitelial cervical, mas não prediz o prognóstico do câncer cervical. Da mesma forma, a expressão de P16 está relacionada com o grau de displasia histológica e malignidade, o que sugere seu valor prognóstico e preventivo no tratamento de cânceres cervicais.
ISHIKAWA M., NAKAYAMA K., NAKAMURA K., et al. 2021	P16(INK4A) expression might be associated with a favorable prognosis for cervical adenocarcinoma via dysregulation of the RB pathway	Transversal	Investigar a relação entre a expressão de P16 e o prognóstico do paciente. Além disso, avaliar a relação potencial entre a expressão de P16 e a terapia relacionada ao inibidor de checkpoint imunológico no adenocarcinoma cervical.	A expressão de P16 pode ser usada como um biomarcador para melhorar o prognóstico de pacientes com adenocarcinoma cervical. Os achados sugerem que o status da expressão de P16 pode influenciar o prognóstico.
LI, C., ZHENG, M., ZHENG, X., et al.	Predictive Ki-67 Proliferation Index of Cervical Squamous Cell Carcinoma Based	Validação de teste diagnóstico	Determinar se IVIM-DWI (Imagem Ponderada por Difusão	A análise de textura em IVIM-DWI (Imagem Ponderada por Difusão de Movimento
2021	on IVIM-DWI Combined with Texture Features		de Movimento Incoerente Intravoxel) combinado com características de textura baseadas em IVIM-DWI pré-operatório pode ser usado para prever o Ki-67, que é um biomarcador de proliferação celular amplamente utilizado Câncer Cervical (CC).	Incoerente Intravoxel) e seus parâmetros foi útil para prever Ki-67. Isso pode fornecer um método não invasivo para investigar importantes biomarcadores de imagem para câncer cervical.



WANG X., LI S., LU Y., et al. 2022	Evaluation of tracer kinetic parameters in cervical cancer using dynamic contrast enhanced MRI as biomarkers in terms of biological relevance, diagnostic performance and inter-center variability	Transversal Retrospectivo	Avaliar o valor clínico dos parâmetros em teste imunohistoquímico dos biomarcadores Ki67 e CD34 ressonância magnética com contraste dinâmico sobre a correlação com angiogênese e proliferação do câncer cervical, desempenho do diagnóstico e reprodutibilidade dos parâmetros de ressonância magnética com contraste dinâmico.	A contagem de CD34 e Ki67 no tecido com câncer cervical foram significativamente maiores do que no tecido normal do colo do útero. O Volume extracelular (Ve) de cada um dos cinco modelos cinéticos traçadores foi significativamente menor no tecido do câncer do colo do útero do que no tecido do colo do útero normal, indicando a maior proliferação de células do câncer no colo do útero.
SARMA U., DO C. G., SARMAH B. 2021	Predictive Value of Marker of Proliferation Ki-67 and Cell Cycle Dependent Protein kinase Inhibitor P16INK4a in Cervical Biopsy to Determine Its Biological Behavior.	Transversal Retrospectivo	O objetivo do estudo é analisar a expressão imuno-histoquímica de Ki67 e P16 em casos de NIC e câncer cervical e sua utilidade para determinar a precisão do diagnóstico histológico e prever o comportamento biológico da lesão cervical.	A histopatologia continua sendo o "padrão ouro" para o diagnóstico de NIC de baixo e alto grau. Biomarcadores como Ki67 e P16 surgiram como adjuvantes úteis. Seu uso combinado pode auxiliar na classificação histopatológica de lesões pré-invasivas.
CLARKE, M., A.; CHEUNG, L.,C.; CASTELO, P.,E., et al. 2019	Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women	Coorte prospectivo	Avaliar o desempenho longitudinal de P16 e Ki67 usando a triagem de dupla coloração para detecção de pré-câncer cervical em mulheres HPV-positivas ao longo de 5 anos de acompanhamento no contexto dos limiares de manejo clínico	A triagem com os biomarcadores P16 e Ki67 fornece melhor estratificação de risco a longo prazo do que a citologia de 5 anos. O baixo risco de pré-câncer cervical permite a extensão segura dos intervalos de acompanhamento para 3 anos. Também reduz o risco, o reaparecimento do câncer cervical nas mulheres.
KANTHIYA K., KHUNNARONG J., TANGJITGAMOL S., et al. 2016.	Expression of the p16 and Ki67 in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions and Cancer	Transversal	Avaliar a expressão de P16 e Ki67 na neoplasia intraepitelial cervical (NIC) e câncer.	Ambos os marcadores tiveram alta sensibilidade e especificidade na determinação de >NIC2. As taxas de expressão de P16 e Ki67 foram diretamente associadas à gravidade das lesões cervicais. Diferenças significativas na expressão desses marcadores podem ser úteis em casos com características histológicas duvidosas entre lesões intraepiteliais cervicais e lesões não displásicas.



	<p>HAMMER A., GUSTAFSONO L. W., CHRISTENSEN P. N., et al. 2020</p>	<p>Implementation of p16/Ki67 dual stain cytology in a Danish routine screening laboratory: Importance of adequate training and experience</p>	<p>Validação de teste diagnóstico</p>	<p>Descrever a experiência dos autores com a implementação da coloração dupla P16/Ki67 para triagem de mulheres idosas com resultados de triagem anormais em um laboratório de triagem de rotina dinamarquês.</p>	<p>Ao interpretar lâminas duplamente coradas de mulheres mais velhas, a concordância aumentou ligeiramente à medida que os avaliadores novatos receberam mais treinamento e experiência. Embora seja necessária uma avaliação mais aprofundada, esses achados indicam que uma quantidade significativa de treinamento pode ser necessária para garantir a interpretação precisa da coloração dupla nessa faixa etária.</p>
	<p>HAMASHIMA C. 2021</p>	<p>Emerging technologies for cervical cancer screening</p>	<p>Revisão de literatura</p>	<p>Comparar a sensibilidade e especificidade da técnica de coloração dupla p16 / Ki67 com a citologia, e estimá-las.</p>	<p>Quando P16 / Ki67 coloração dupla foi usada para triagem para teste de papilomavírus humano, a sensibilidade de 2 ou mais detecção de neoplasia intraepitelial cervical (CIN2+) foi maior do que a da citologia sem especificidade diminuída.</p>
	<p>ZHANG S. K., JIA M.M., ZHAO D.M., ET AL. 2019</p>	<p>Evaluation of p16/Ki-67 dual staining in the detection of cervical precancer and cancer in China</p>	<p>Estudo de validação de teste diagnóstico</p>	<p>Avaliar o desempenho clínico da coloração dupla P16 / Ki67 na detecção de neoplasia intraepitelial cervical grau 2 ou 3 (CIN2+/CIN3+) em mulheres chinesas.</p>	<p>A coloração dupla P16 / Ki-67 provavelmente poderia fornecer um método opcional para a triagem nacional de câncer cervical da China e também poderia ser considerada um método eficiente de triagem para o manejo de mulheres com ASC-US (Células Atípicas de Significado Indeterminado).</p>
	<p>MAGKANA, M., MENTZELOPOULOU, P., MAGKANA, E., et al. 2021</p>	<p>The p16/ki-67 assay is a safe, effective and rapid approach to triage women with mild cervical lesions</p>	<p>Estudo de validação de teste diagnóstico</p>	<p>O objetivo deste estudo foi avaliar a precisão diagnóstica e a eficiência da dupla coloração P16/ki-67 na identificação de neoplasia intraepitelial cervical (NIC2+), em mulheres gregas</p>	<p>Os resultados do estudo indicam que p16/ki-67 é um ensaio seguro e rápido que pode ser usado para detectar neoplasia intraepitelial cervical (NIC2+) entre mulheres com lesões cervicais leves, apresentando alta sensibilidade</p>
				<p>com citologia células atípicas de significado indeterminado ou lesão intraepitelial de baixo grau.</p>	<p>e especificidade e pode minimizar a carga psicológica e econômica da triagem de HPV.</p>
	<p>AHMAD A., RAISH M., SHAHID M., et al. 2017</p>	<p>The synergic effect of HPV infection and epigenetic anomaly of the p16 gene in the development of cervical cancer</p>	<p>Coorte prospectivo</p>	<p>Avaliar a expressão e metilação do promotor de P16 em carcinoma de células escamosas do colo uterino infectado com HR-HPV.</p>	<p>Uma associação entre P16 metilação, expressão e infecção por HR-HPV sugeriram que a complacência da infecção por HPV e a alteração do gene P16 têm um efeito sinérgico na iniciação e</p>



					progressão do carcinoma cervical.
	JIN M., WANGL., ZHENG T., ET AL. 2021	MiR-195-3p inhibits cell proliferation in cervical cancer by targeting BCDIN3D	Ensaio Clínico	Explorar o papel potencial de mir-195-3p na progressão do câncer cervical e a utilização do biomarcador Ki67 no controle de rastreamento desta progressão.	A presente pesquisa nos levou a uma conclusão de que o mir-195-3p pode inibir a proliferação de células de câncer cervical e foi regulado inversamente por BCDIN3D. A expressão da proteína Ki67 foi inibida por mimetizadores de miR-195-3p ou silêncio de BCDIN3D. Isso sugere que os mimetizadores de miR-195-3p/BCDIN3D si-RNA podem ser usados no tratamento do câncer cervical no futuro, após vários ensaios em animais e ensaios clínicos.

Fonte: Elaborado pelos autores.

4 DISCUSSÃO

4.1 DEFINIÇÃO DOS BIOMARCADORES P16 E KI67

Segundo os autores MELO e MELO (et al, 2021, 2018), a proteína P16 tem recebido atenção especial como biomarcador imuno-histoquímico para diagnóstico do câncer cervical, devido à superexpressão da proteína P16 em neoplasias cervicais ter sido associada à infecção pelo HPV. Já que a inatividade da proteína pRb, por associação com a proteína E7 do HPV, aumenta a liberação do fator de transcrição E2F, ou seja, é determinante no aumento dos níveis de expressão da proteína P16. Em uma variação de 10 a 100% ocorre uma hipermetilação na comunidade de células tumorais em lesões cervicais escamosas precursoras ou invasivas. O que anula o controle negativo da proteína P16 é a perda da transcrição do gene P16, acontecendo um desvio de células com DNA danificado do ciclo celular, fazendo com que possa facilitar uma proliferação celular desordenada.

Já no caso do biomarcador imuno-histoquímico ki67 é utilizado para diagnóstico do câncer do colo do útero porque o antígeno nuclear Ki67 tem sido associado a proliferação celular já que a proteína P53 que regula o ciclo celular em G1/S e G2/M é degradada pela oncoproteína E6 influenciando o aumento da replicação do DNA viral. Sem a P53 não ocorre a quebra e morte das células doentes, fazendo com que o tecido cancerígeno continue crescendo. O biomarcador Ki67 é expresso durante o ciclo celular G1/S e G2/M, o que demonstra confiança para ser usado no diagnóstico de lesões cervicais (PAIVA, 2016; MELO et al., 2021; SILVA, 2016).

A associação destes dois biomarcadores pode demonstrar uma eficácia mais abrangente e clara no diagnóstico de câncer cervical e definir o grau de lesão, ambos são biomarcadores protéicos que são



revelados por meio de colorações de imuno-histoquímica também chamada de imunocitoquímica. Essa coloração é utilizada em esfregaço de lâmina colhida durante o exame Papanicolaou e tecidos retirados em biópsias (MELO et al., 2021; SILVA, 2016).

4.2 USABILIDADE, GRAU DE LESÃO E EFICÁCIA DO BIOMARCADOR P16 NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DO CÂNCER CERVICAL

Em estudos realizados por MATA, et al (2021), foi relatado em estudo de coorte com 348 mulheres com idade média de 47,5 anos, acometidas com câncer cervical associados ao HPV, que 80% eram carcinoma espinocelular, 19% das mulheres tinham adenocarcinoma e outros quatro subtipos mais raros (três carcinomas adenoescamosos e um carcinoma neuroendócrino). Dentre essas 348 mulheres 241 eram infectadas com o HPV16 com idades entre 46 e 49 anos, dentre essas 241 mulheres 70% apresentavam câncer cervical invasivo (CCI), o HPV18 também foi associado ao CCI, mas representou apenas 9,7% do percentual. Outro número interessante foi que 330 eram P16-positivas, ou seja, apenas 18 mulheres das 348 eram P16-negativas. Segundo os autores, o número de mulheres P16-negativas foi maior em mulheres com mais idade, cerca de 59 anos, pois nelas o estágio da doença estava mais avançada e há um risco aumentado de mortalidade. O estudo explica ainda que os motivos da superexpressão do P16 associados ao HPV em mulheres com menos de 46 anos, podem ser por diversos fatores, tais como a perda da heterozigosidade e a mutação do gene CDKN2A localizado no cromossomo 9, banda p21 destas pacientes.

Desta forma, a superexpressão do biomarcador no teste imuno-histoquímico ao qual seria viável para identificação e diferenciação do câncer cervical, prevaleceu em mulheres com menos idade.

No mesmo estudo observou-se que 241 mulheres infectadas com o HPV16, obtiveram um resultado clínico melhor do que as infectadas com outros tipos de HPVs, porém uma curiosidade foi observada, uma paciente com CC infectada com HPV6 foi associada com a superexpressão de P16, e a paciente estava vivendo consideravelmente bem, mesmo após 15 anos do diagnóstico. Sabe-se que esse tipo de HPV já era comumente conhecido por oferecer baixo risco de lesões invasoras e progressão lenta (MATA, et al., 2021).

Em estudo comparativo entre 146 mulheres positivas para HPV1, realizado entre 2013 à 2015, dentre elas 42 com lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL), 44 lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), 10 com câncer cervical e 50 do grupo de controle com amostras cervicais normais e sem HPV16, demonstrou que mulheres que têm genótipo P16 540 CG/GG têm 2,7 vezes maior probabilidade de desenvolver HSIL em associação com a infecção pelo HPV16; o haplótipo 540G/580C também esteve com 3,67 vezes maiores chances de associação com desenvolvimento de HSIL, ou seja, ter genótipos com o alelo G, confere maior risco de desenvolvimento de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau, lesão precursora do câncer cervical.



Os resultados demonstram ainda que P16 C540G polimorfismo podem levar as pacientes a desenvolverem displasia mais grave e sugere que este polimorfismo possa ser usado como biomarcador para HSIL. Porém outro polimorfismo investigado no estudo, P16 C580T não esteve associada ao desenvolvimento de lesão cervical nas pacientes estudadas (TSAKOGIANNIS, et al., 2018).

Seguindo essa análise bibliográfica acerca do P16 como biomarcador para o câncer do colo do útero, estudo retrospectivo realizado por ISHIKAWA (et al., 2021) que utilizou 82 amostras de pacientes de um hospital no Japão, observou que das 82 amostras, 60 (73,1%) das pacientes observou-se uma forte expressão de P16, também foi possível observar que 48 (58,5%) das 82 mulheres apresentavam adenocarcinomas maiores que os 2 estágios antecedentes mas que ainda não haviam se espalhado para os linfonodos; 49 (59,6%) mulheres apresentavam tumores menores que 4cm e 19 (23,2%) delas morreram em decorrência do adenocarcinoma cervical. Das 82 pacientes analisadas com adenocarcinoma cervical, apresentaram sobrevida livre de progressão e sobrevida global extremamente melhores com P16 positivo, quando comparados aquelas que apresentaram P16 negativo.

O estudo confirma ainda que a superexpressão de P16 está positivamente associada com o prognóstico, sugerindo ainda que seja explorada a possibilidade de P16 também funcionar como um gene supressor de tumor, já que a perda de P16 acentua a fosforilação da proteína do retinoblastoma (RB) (pRB), logo a proliferação celular é suprimida e os tumores que expressam P16 avançariam com um prognóstico satisfatório induzindo células invasivas do sistema imune da paciente (ISHIKAWA et al., 2021).

Podemos afirmar que a proteína P16 pode ser um biomarcador de resultados satisfatórios, já que a superexpressão da mesma é sempre visualizada na maior parte dos casos e nas pacientes. Os estudos analisados acerca do P16, são estudos de lugares diferentes, o que demonstra que não é somente em algumas populações que há uma expressão de P16 em lesões pré-cancerígenas e cancerígenas, mas que há uma globalização a respeito dessa expressão proteica, o que aponta que este marcador tem potencial para ser usado futuramente como um supressor tumoral.

4.3 USABILIDADE, GRAU DE LESÃO E EFICÁCIA DO BIOMARCADOR KI67 NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DO CÂNCER CERVICAL

Segundo LI (et al., 2021) em estudo realizado na China, com 70 pacientes, 16 pacientes tiveram um índice de proliferação Ki67 <50% e 54 pacientes tiveram índice de proliferação Ki67 >50%, mas não houve diferença notória entre o grau de lesão e/ou idade das pacientes, ou seja, quanto maior o grau histológico do tumor, mais potente é a multiplicação das células tumorais. E também quanto maior o nível de Ki 67, maior a correlação com o grau histológico do tumor. O estudo ressalta ainda que, o Ki67 não se relaciona apenas com a multiplicabilidade de células tumorais e sua capacidade de invadir os tecidos adjacentes, mas também com o controle de eficácia e qualidade da terapia que está sendo



usada na paciente, seja ela a radioterapia ou a quimioterapia. Porém, devido a quantidade de pacientes analisadas pelo estudo tornou-se insuficiente para definir outros parâmetros com maior precisão.

Em outro estudo retrospectivo com 113 pacientes com idade média de 56 anos, sendo que 95 delas tinham sido diagnosticadas com câncer cervical e 18 com miomas cervicais, usou a comparação entre três técnicas diferentes, de imagem com análise histológica da ressonância magnética com contraste dinâmico (RMCD) com o teste imuno-histoquímico com o biomarcador Ki67, e de imagem com análise histológica da ressonância magnética com contraste dinâmico (RMCD) com o teste imuno-histoquímico com o biomarcador CD34. Não foi possível realizar a análise imuno-histoquímico em todas as mulheres pois haviam recomendações clínicas de tratamento que as impediam de ser elegíveis para este teste, dessa forma 26 mulheres foram elegíveis para tal técnica, dessas 14 eram câncer cervical positivas e 12 positivas para mioma cervical (WANG, et al., 2022).

Destas 26 mulheres, só foi possível realizar o teste imuno-histoquímico CD34 em amostras de 6 mulheres com cânceres do colo do útero e 5 mulheres com miomas do colo do útero. Já para a análise imuno-histoquímica do biomarcador Ki67, foi possível analisar mais amostras, sendo 13 mulheres com cânceres do colo do útero e 10 mulheres com miomas do colo do útero. O resultado foi: em ambos, houve quantificação maior da expressão em tecidos com câncer cervical, sendo CD34 ($20,35 \pm 5,82$) foram maiores do que no tecido normal do colo do útero ($5,98 \pm 2,77$) ($<0,05$) e Ki67 ($65\% \pm 29\%$) no câncer cervical (WANG, et al., 2022).

Vale ressaltar que a análise de ambos biomarcadores foram prejudicadas, sobretudo o biomarcador CD34, pois havia exagero de tecido na lâmina dificultando a leitura dela, isso demonstra, dentro do tema do presente estudo que em comparação com o biomarcador CD34 e a ressonância magnética com contraste dinâmico. O biomarcador Ki67 obteve uma expressão quantificada maior nos tecidos tumorais, sendo assim um biomarcador de mais eficiência do que estas outras 2 técnicas de diagnóstico do câncer do colo do útero (WANG, et al., 2022).

No estudo de SILVA (2017) é possível observar que o grau de lesão tem relação com o padrão de marcação de P16 e Ki67 quando a paciente não apresentava neoplasia intraepitelial, o teste de coloração apresentava-se negativo e quanto maior o nível de lesão maior a expressão imuno-histoquímica dos dois biomarcadores. Nas amostras analisadas, houve a prevalência de marcação positiva para NIC3 (P16 62,2% e Ki 67 85,66%) e carcinoma invasor (P16 71,8% e Ki67 87,2%) para lesões NIC1 houve a prevalência de casos negativos (P16 91,7% e Ki67 85,8%), já para NIC2 houve dominância de resultados positivos para Ki67 e dominância de resultados negativos para P16, fato esse que indicaria que não há um ponto de corte adequado ou que essa classe abrange lesões de alto grau, que poderiam avançar para neoplasias ou lesões de baixo grau que teriam a possibilidade de regredirem. Não há um limite específico para o biomarcador Ki67 para distinguir entre os casos de NIC2 e lesões superiores e inferiores, mas o comportamento parece ser semelhante ao P16, talvez possa



ser combinado ou substituído, pois o uso do Ki67 está se expandindo no sistema de diagnóstico e prognóstico de muitas outras neoplasias. Este achado requer uma investigação mais aprofundada, uma vez que o uso do Ki67 não aprimorou a qualidade dos resultados de pesquisas neste estudo.

4.4 ESTUDOS COMPARATIVOS ENTRE EFICÁCIA DOS BIOMARCADORES KI67 E P16

Em 2021 um estudo transversal retrospectivo realizado por SARMA (et al., 2021), utilizou 110 casos de biópsias do hospital Gauhati Medical College, arquivos de junho de 2014 a maio de 2016. Destes 110 casos, 27 tiveram câncer cervical, 10 casos apresentavam uma inflamação crônica no colo uterino, 5 tinham alteração metaplásica e 68 deles obtiveram um diagnóstico inicial de neoplasia intraepitelial cervical em diversos graus.

Em 57 (51,8%) dos 110 casos o estudo revelou o nível de expressão P16, conforme a situação diagnóstica da seguinte forma: inflamação no colo uterino crônica/cervite: 0 (0%) casos; metaplasia: 2 (1,8%) casos; casos não displásicos: 55 (50%) casos. E em 61 (55,5%) dos 110 casos o estudo revelou o nível de expressão de Ki67, conforme a situação diagnóstica da seguinte forma: inflamação no colo uterino crônica/cervite: 2 (1,8%) casos; metaplasia: 2 (1,8%) casos; casos não displásicos: 57 (51,8%) casos (SARMA et al., 2021).

Desta forma os parâmetros de eficiência de ambos comparando-os ficaram: a sensibilidade de Ki67 é de 84,0% e a sensibilidade P16 foi de 92,0%. E a especificidade de Ki67 foi de 67,1% e a especificidade de P16 foi de 64,7%. A sensibilidade dos dois marcadores quando utilizados em conjunto foi de 92,45% e a especificidade foi de 100% (SARMA et al., 2021).

Anteriormente, em 2019 foi publicado um estudo de coorte prospectivo que tinha como objetivo avaliar o risco de pré-câncer após triagem utilizando P16/Ki67, neste estudo foram incluídas 1.549 mulheres com idade média de 42,2 anos, visando determinar o risco de adquirirem câncer por serem infectadas com HPV, o acompanhamento durou 3,7 anos (com intervalos de 0/2/5,4 anos). Os resultados foram: 1.308 mulheres apresentaram grau menor que neoplasia intraepitelial cervical grau 2 (NIC2); 110 mulheres tiveram o diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical grau 3 (NIC3); 108 apresentaram neoplasia intraepitelial cervical grau 2 (NIC2); 12 mulheres tiveram adenocarcinoma in situ e 11 mulheres foram diagnosticadas com câncer cervical (CLARKE et al, 2019).

Em KANTHIYA (et al., 2016) descreveu em seu estudo transversal que visava responder a expressão de P16 e Ki67 em lesões intraepiteliais de células escamosas cervicais e o câncer, com 243 casos clínicos, com mulheres de idade média de 40,4 anos e com diagnóstico primário de: 106 com neoplasia intraepitelial cervical grau 1; 61 com neoplasia intraepitelial cervical grau 2/3; 53 mulheres com lesões não displásicas e 23 carcinomas invasivos. Este estudo revelou um resultado de expressão de P16 em 85 casos com percentual de 35,0% e expressão de Ki67 em 99 casos com percentual de 40,7%.



No mesmo estudo, a expressão de P16 em cada grau de lesão foi: carcinoma 91,3%, NIC2/3 78,7%, NIC1 10,4%, lesões não-displásicas 9,4%. A expressão de Ki67 foi: 100% de todos os carcinomas invasivos, NIC2/3 75,4%, NIC1 22,6% e 11,3% não displásico, chegando a conclusão de que expressão de P16 e Ki67 foi significativamente diferente entre NIC2/3 e NIC1, onde para NIC2/3 P16 84,5% e Ki 67 90,5%, para NIC1 P16 82,1% E Ki67 88,6%. Logo as expressões de ambos biomarcadores foram totalmente associadas aos graus de lesões cervicais, principalmente nos graus mais elevados como o carcinoma e NIC2/3, ou seja, quanto maior é o grau de lesão, maior será as suas expressões, podendo assim, obter falso-negativos em diagnóstico com lesões de baixo grau cervical, porém a associação dos 2 biomarcadores podem definir o diagnóstico quanto ao grau de lesão com mais clareza e objetividade (KANTHIYA et al., 2016).

De acordo com os artigos estudados o teste de dupla coloração de P16/Ki67 se mostrou eficaz na detecção e no prognóstico do câncer do colo do útero, porém seguem alguns aspectos sobre sua usabilidade: através dos estudos observou-se que de fato a usabilidade da dupla coloração de P16 e Ki67 foi eficaz em responder se em 5 anos as mulheres iriam evoluir para câncer, já que 705 mulheres com percentual de 45,5% eram positivas para a dupla coloração, ou seja, apresentavam expressão tanto de P16 quanto de Ki67 e 785 com percentual de 50,7% apresentavam citologia ASC-US (lesões com probabilidade de tornarem-se câncer) sem expressar P16 e Ki67 no início do estudo. Com a evolução dos estudos pode-se observar que a positividade da dupla coloração de P16 e Ki67 foi aumentada juntamente com a observação do agravamento citológico em 32% das mulheres negativas para lesão intraepitelial e malignidade, para 83% em mulheres com lesões escamosas intraepiteliais de alto grau; também aumentou a positividade da dupla coloração de 22% em mulheres sem biópsia; para 77% em mulheres com NIC3 e 91% em mulheres com câncer (CLARKE et al., 2019).

HAMMER (et al., 2020) discorre sobre a usabilidade e implementação da dupla coloração de P16 e Ki67 em uma rotina laboratorial na Dinamarca, ressaltando a importância de se ter um treinamento adequado para a realização desta técnica que até então se mostrará promissora no que diz respeito a precisão do diagnóstico de câncer do colo do útero. Este estudo obteve como resultado de sua análise, em 50 lâminas escolhidas aleatoriamente dentre as 600 lâminas disponíveis, 45 delas pertenciam a mulheres com idade entre 65 e 69 anos com teste positivo de HPV e 5 de mulheres com idade em torno de 45 anos encaminhadas para colposcopia com exame de triagem anormal. As 50 lâminas foram analisadas por citotécnicos e especialistas capacitados previamente e com experiência em leitura de lâmina cervical, mas sem experiência em dupla coloração, porém, tiveram treinamento antes das análises começarem. Para os resultados da dupla coloração, ambos os citotécnicos relataram resultados exatamente iguais. Entre os citotécnicos e os especialistas, houve concordância de 95% e concordância geral de 84,0%.



Os avaliadores novatos quando submetidos a treinamento são de extrema importância no desenvolvimento da implementação segura da coloração dupla aumentando a concordância de resultados entre avaliadores novatos e especialistas pois a discordância poderia levar a resultados errôneos. É importante que seja estabelecida uma rede de treinamento com especialistas em dupla coloração e citotécnicos de laboratórios de triagem de rotina para alcançar habilidades de interpretação de lâminas. Somente com o treinamento adicional e o tempo de experiência na dupla coloração, o nível de concordância de análise entre os profissionais vão se aprimorando e aperfeiçoando, tornando totalmente possível o uso da dupla coloração na triagem de lâmina cervical para chegar ao diagnóstico final (HAMMER et al., 2020).

Quanto a usabilidade de testes de dupla coloração, outro aspecto importante é o custo associado ao uso do teste que poderia permitir a redução de custos quando comparadas com a citologia. Pelo teste de dupla coloração apresentar alta sensibilidade, isso poderia ocasionar uma diminuição de visitas médicas, acompanhamento desnecessário, encaminhamento de mulheres para colposcopia e biópsias, além de reduzir danos psicológicos, redução do sobrediagnóstico e sobretratamento. Por esses motivos a dupla coloração tem sido estudada como alternativa de utilização na triagem de mulheres HPV positivas.

Diante dos resultados comparativos entre as proteínas P16 e Ki67 como biomarcadores, pode-se observar que não há o melhor ou pior entre eles, pois ambos se complementam, fazendo com que a associação deles seja eficaz em altos níveis, levando ao diagnósticos das lesões.

5 CONCLUSÃO

Diante dos achados nesta revisão sistemática pode-se concluir que o biomarcador P16 é um biomarcador promissor no diagnóstico do câncer do colo uterino em lesões de graus altos. A positividade de P16 para lesões de altos graus é mais comum, já em lesões de graus menores há uma alta probabilidade de não positivar, levando a crer que o resultado seja um falsonegativo, seguindo este mesmo raciocínio com lesões de mulheres de maior faixa etária.

O biomarcador ki67 demonstra uma especificidade mais clara quanto ao grau de lesão. Porém são necessários mais estudos que apontem a eficácia deste biomarcador no diagnóstico de câncer do colo do útero. A partir dos resultados dos estudos utilizando dupla coloração imuno-histoquímica, pode-se concluir que a sensibilidade e especificidade de ambos os biomarcadores em conjunto parece ser maior e mais abrangente.



REFERÊNCIAS

BRASIL. Saúde amplia vacinação contra meningite e HPV; entenda o que muda. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/setembro/saudeamplia-vacinacao-contrameningite-e-hpv-entenda-o-que-muda>. Acesso em: 31 outubro 2022.

1 Saúde amplia vacinação contra meningite e HPV; entenda o que muda. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/setembro/saudeamplia-vacinacao-contrameningite-e-hpv-entenda-o-que-muda>. Acesso em 01 novembro 2022.

CLARKE, M. A.; CHEUNG, L. C.; CASTELO, P. E. et al. Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women. 2019. *Jornal Oncologia JAMA*. vol. 5. ed. 2, p. 181-186.

1 Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women. 2019. *JAMA oncology*. ed.2. vol.5.

FEBRASGO. Biomarcadores moleculares na progressão da lesão precursora para o câncer do colo uterino. 2018. Disponível em: <https://www.febrasgo.org.br/pt/noticias/item/327biomarcadores-moleculares-na-progressao-da-lesao-precursora-para-o-cancer-do-colouterino>. Acesso em: 17 outubro 2022.

HAMMER, A.; GUSTAFSONO, L. W.; CHRISTENSEN, P. N.; et al. Implementation of p16/Ki67 dual stain cytology in a Danish routine screening laboratory: Importance of adequate training and experience. 2020. *Journal Cancer medicine*. ed.21. vol.9. p. 8235-8242.

INCA – Instituto Nacional do Câncer. Conceito e Magnitude: Entenda o conceito do câncer do colo do útero e sua magnitude no Brasil. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/ptbr/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-do-colo-do-uterio/conceito-emagnitude>. Acesso em: 03 outubro de 2022.

INCA. CAUSAS E PREVENÇÃO- Estatísticas de câncer. 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>. Acesso em: 20 de setembro de 2022.

ISHIKAWA, M.; NAKAYAMA, K.; NAKAMURA, K.; et al. P16(INK4A) expression might be associated with a favorable prognosis for cervical adenocarcinoma via dysregulation of the RB pathway. 2021. *Scientific reports*. ed.1. vol.11. p. 18236.

KANTHIYA, K.; KHUNNARONG, J.; TANGJITGAMOL, S.; et al. Expression of the p16 and Ki67 in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions and Cancer. 2021. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. ed.7. vol.17.

LI, C.; ZHENG, M.; ZHENG, X.; et al. Predictive Ki-67 Proliferation Index of Cervical Squamous Cell Carcinoma Based on IVIM-DWI Combined with Texture Features. 2021. *Contrast media & molecular imaging*. vol. 2021 8873065.

MATA, S., FERREIRA, J., NICOLÁS, I., ESTEVES, S. et. P16 and HPV Genotype Significance in HPV-Associated Cervical Cancer-A Large Cohort of Two Tertiary Referral Centers. 2021. *International Journal of Molecular Sciences*.

1 P16 and HPV Genotype Significance in HPV-Associated Cervical Cancer-A Large Cohort of Two Tertiary Referral Centers. 2021. *International journal of molecular sciences*. ed.05. vol.22.



MELO, C. A. F.; UTAGAWA, M. L. Expressão imuno-histoquímica dos biomarcadores p16 e Ki-67 na lesão intraepitelial cervical de alto grau: revisão de estudos. 2021. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/artigos/expressao-imuno-histoquimica-dos-biomarcadores-p16-e-ki67-na-lesao-intraepitelial-cervical-de-alto-grau-revisao-de-estudos/>. Acesso em: 25 abril 2023.

MELO, Y. L. M. F. Biomarcadores moleculares na progressão da lesão precursora para o câncer do colo uterino. 2018. Disponível em: <https://www.febrasgo.org.br/pt/noticias/item/327biomarcadores-moleculares-na-progressao-da-lesao-precursora-para-o-cancer-do-colouterino>. Acesso em: 25 abril 2023.

MELO, Simone Cristina Castanho Sabaini; et al. Alterações citopatológicas e fatores de risco para a ocorrência do câncer de colo uterino. Rev. Gaúcha Enferm. (Online) vol.30 no.4 Porto Alegre Oct./Dec. 2009. p. 604-607 Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198314472009000400004&lang=p_t#top. Acesso em: 26 de setembro de 2022.

MESQUITA, A. D., TELES, K. K. N., SILVA, S. C. B., et al. Conhecimentos, atitudes e práticas de mulheres frente ao exame preventivo do câncer do colo uterino. Journal Health NPEPS. vol.5. no1. p. 261-275.

MUNHOZ, N. G. O uso dos marcadores moleculares (p16, Ki-67 e E-caderina) em biópsias uterinas cervicais. 2009. Disponível em: https://btd.famerp.br/bitstream/tede/525/2/NataliaGasparMunhoz_dissert.pdf. Acesso em: 25 outubro 2022.

MURTA, Edie Fernando Candido; et al. Câncer do Colo Uterino: Correlação com o Início da atividade Sexual e Paridade. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. v.21 n.9 Rio de Janeiro out. 1999. p. 556-558. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010072031999000900009&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 26 de setembro de 2022.

ONCOGUIA. Marcadores tumorais. 2020. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/marcadores-tumorais/4011/1/>. Acesso em: 17 outubro 2022.

PAIVA, C. B. Associação da expressão do ki67 e linfonodos axilares metastáticos com a sobrevida livre de doença no câncer de mama invasivo. 2016. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/20411/1/Disserta%c3%a7ao_Carina_Paiva_PG_MESTRADO_PATOLOGIA_TURMA2014-2016.pdf. Acesso em: 25 abril 2023.

SARMA, U.; DO, C. G.; SARMAH, B. Predictive Value of Marker of Proliferation Ki-67 and Cell Cycle Dependent Protein kinase Inhibitor P16INK4a in Cervical Biopsy to Determine Its Biological Behaviour. 2021. Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP. ed.7. vol.22. p. 2237-2241.

SILVA, V. R. O impacto da marcação imuno-histoquímica para p16 e ki-67 na reprodutibilidade diagnóstica das biópsias do colo uterino. 2017. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/iciict/25222/viviane_silva_iff_mest_2017.pdf?sequence=2&isAllowed=y. Acesso em 25 outubro de 2022.

1 O impacto da marcação imuno-histoquímica para p16 e ki-67 na reprodutibilidade diagnóstica das biópsias do colo uterino. 2017. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/iciict/25222/viviane_silva_iff_mest_2017.pdf?sequence=2&isAllowed=y. Acesso em: 25 abril 2023.



TSAKOGIANNIS, D.; MOSCHONAS, G. D.; BELA, E.; et al. Association of p16 (CDKN2A) polymorphisms with the development of HPV16-related precancerous lesions and cervical cancer in the Greek population. 2018. Journal of medical virology. ed.5 vol.90. p. 965-971.

UTAGAWA, M. L., MELO, C. A. F. Expressão imuno-histoquímica dos biomarcadores p16 e Ki-67 na lesão intraepitelial cervical de alto grau: revisão de estudos. 2021. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/expressao-imuno-histoquimica-dos-biomarcadores-p16-e-ki67-na-lesao-intraepitelial-cervical-de-alto-grau-revisao-de-estudos/>. Acesso em: 20 outubro 2021.

WANG, X.; LI, S.; LU, Y.; et al. Evaluation of tracer kinetic parameters in cervical cancer using dynamic contrast-enhanced MRI as biomarkers in terms of biological relevance, diagnostic performance and inter-center variability. 2022. Frontiers in oncology. vol.12.

WHO. Câncer cervical. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/cervical-cancer>. Acesso em: 01 de novembro de 2022.

WHO. Human papillomavirus (HPV) and cervical câncer. 2019. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-\(hpv\)-and-cervicalcancer](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-(hpv)-and-cervicalcancer). Acessado em: 23 de setembro de 2022.

ZUBERI, Z.; MREMI, A.; CHILONGOLA, J. O.; et al. Expression analysis of p16 and TOP2A protein biomarkers in cervical cancer lesions and their correlation with clinicohistopathological characteristics in a referral hospital, Tanzania. 2021. Journal PloS one. ed.10. vol.16.