



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**División de Estudio de Postgrado  
e Investigación**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS  
SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**"CORRELACIÓN DE LA EXPRESION DE P16 POR  
INMUNOHISTOQUIMICA Y VPH POR PCR EN  
LESIONES INTRAEPITELIALES DE CERVIX"**

**Trabajo de investigación que presenta:  
Dr. RAFAEL RODRÍGUEZ ROJAS**

**Para obtener el Diploma de la Especialidad  
de : ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**Asesor de Tesis**

**DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE Y RENDÓN**

**No.de registro de protocolo:**

**374.2017**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.**

**2017**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

DR. DANIEL ANTONIO RODRIGUEZ ARAIZA  
COORDINADOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION

---

DRA. FLOR MARIA DE GUADALUPE AVILA FEMATT  
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

---

DRA. MARTHA EUNICE RODRIGUEZ  
JEFE DE INVESTIGACION

---

DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE Y RENDON  
PROFESOR TITULAR

---

DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE Y RENDON  
ASESOR DE TESIS

## **Resumen**

El cáncer de cérvix es el cuarto cáncer más común (528 000 nuevos casos) y la cuarta causa más común de muerte por cáncer (266 000 muertes) en mujeres en todo el mundo, según se estima en 2012.

El objetivo de las pruebas de detección temprana como la Papanicolau consiste en encontrar los cambios de las células del cuello uterino que son precursoras del cáncer, antes de que empiecen a causar síntomas y permitiendo que los tratamientos sean eficaces.

Hoy se conoce la forma en que el virus del papiloma humano interactúa con una célula y altera sus vías moleculares que la transformaran en una célula cancerígena, usando de técnicas de inmunohistoquímica es posible la detección de alteraciones moleculares provocadas por el virus en las lesiones intraepiteliales de cérvix, uno de los más usados es la sobreexpresión P16, otros trabajos han mostrado una alta asociación entre la sobreexpresión de la p16 y la presencia de VPH de alto riesgo. Por otra parte, la reacción de cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de biología molecular y una de las utilidades consiste en la identificación directa del genoma del virus.

Existe una variable reproducibilidad inter-observador en el diagnóstico, tanto histológico como citológico, de las lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) del cuello uterino. Por eso muchos investigadores han buscado un marcador con alta especificidad y sensibilidad para lograr más objetividad en el diagnóstico de estas lesiones.

El objetivo del presente estudio es evaluar la correlación de esta inmunomarcación de p16 con la detección del VPH con técnicas de PCR.

## **Abstract**

Cervical cancer is the fourth most common cancer (528,000 new cases) and the fourth most common cause of cancer death (266,000 deaths) in women worldwide, estimated in 2012.

The goal of early screening tests such as the pap smear is to find changes in the cervical cells that are precursors of cancer until they start causing symptoms and allowing treatments to be effective.

It is now known how the human papillomavirus interacts with a cell and alters its molecular pathways that transform it into a cancer cell. Using immunohistochemistry techniques, it is possible to detect molecular alterations caused by the virus in intraepithelial lesions of Cervix, one of the most used is P16 overexpression, other studies have shown a high association between overexpression of p16 and the presence of high risk HPV. On the other hand, the polymerase chain reaction (PCR) is a technique of molecular biology and one of the utilities is the direct identification of the genome of the virus.

There is a variable interobserver reproducibility in the histological and cytological diagnosis of squamous intraepithelial lesions (LIE) of the cervix. That is why many researchers have sought a marker with high specificity and sensitivity to achieve more objectivity in the diagnosis of these lesions.

The aim of the present study is to evaluate the correlation of this p16 immunostaining with the detection of HPV with PCR techniques.

## **Agradecimientos**

A todos.

## **Índice**

Introducción	1
Material y métodos	5
Resultados	6
Discusión	16
Conclusiones	17
Bibliografía	18



## Introducción

El cáncer de cérvix es el cuarto cáncer más común (528 000 nuevos casos) y la cuarta causa más común de muerte por cáncer (266 000 muertes) en mujeres en todo el mundo, según se estima en 2012.

Las tasas de incidencia de cáncer de cuello uterino varían mucho de un país a otro. La enfermedad es el cáncer más común entre las mujeres en 39 de los 184 países del mundo, y es la principal causa de muerte por cáncer en mujeres en 45 países. Estos países se encuentran principalmente en África subsahariana, partes de Asia y algunos países de América Central y del Sur.

El proceso de carcinogénesis cervical lleva de 5 a 15 años, por eso es importante el diagnóstico temprano de las lesiones cervicales que de no tratarse producirán cáncer.

El cérvix uterino presenta lesiones asintomáticas mucho antes de la aparición del cáncer. Reciben el nombre de neoplasia intraepitelial (CIN). Estas lesiones son las precursoras del cáncer. Según el grado de evolución que presentan al observarlas con el microscopio se clasifican en tres grados.

El objetivo de las pruebas de detección temprana como el Papanicolau consisten en encontrar los cambios de las células del cuello uterino que son precursoras del cáncer, antes de que empiecen a causar síntomas y permitiendo que los tratamientos sean eficaces. En la década de 1970 se especuló que en la génesis de ciertos tipos de cáncer estaban involucrados los virus, en el caso del cáncer de cérvix se encontró la relación con el virus del papiloma humano (Meisels, Purolo y Salvia). Hoy se conoce la forma en que el virus del papiloma humano interactúa con una célula y altera sus vías moleculares que la transformaran en una célula cancerígena, usando la sobreexpresión de proteínas como P16 se abre un nuevo campo en la detección de lesiones de cérvix; usando biología molecular a través de técnicas de inmunohistoquímica es posible la detección del virus en las lesiones intraepiteliales de cérvix, uno de los más usados es el P16.

La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica de biología molecular (Kary Mullis, 1986), para la síntesis "in vitro" de secuencias específicas de ADN. Es una forma simple y muy rápida de multiplicar el ADN presente en diferentes muestras biológicas, obteniéndose millones de copias de una determinada secuencia de ADN. Una de las utilidades consiste en la identificación de Virus.

El virus del papiloma humanos (VPH) es una familia de virus ADN que ha sido relacionado con lesiones del cuello uterino desde benignas hasta cáncer. Se conocen más de 100 tipos virales que en relación a su patogenia oncológica, se clasifican en tipos de alto y de bajo riesgo oncológico.

## El cáncer cervicouterino

Según la organización mundial de la salud, en 2012, más de 83.000 mujeres fueron diagnosticadas de cáncer cervicouterino y casi 36.000 fallecieron por esta enfermedad en la Región de las Américas. Se estima que para el año 2030 aumentara un 45%.

La tasa de mortalidad es 3 veces más altas en América latina y el caribe que en Norteamérica, representando un problema de salud pública.

El proceso de carcinogénesis cervical lleva de 5 a 15 años, por lo que ofrece múltiples oportunidades de intervención; la detección temprana de lesiones precursoras mediante citologías o biopsias y el desarrollo y la disponibilidad de nuevas herramientas, incluyendo nuevas tecnologías para el cribado como el PCR, ofrecen oportunidades sin precedentes para lograr la prevención y el control del cáncer cervicouterino.

Actualmente, el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos propone el sistema Bethesda para el informe de las lesiones en cérvix. Y se ajusta en dos grados de lesiones intraepiteliales escamosas (LIE); el Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG) y la lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG);

La LIEBG corresponde a NIC-1 (neoplasia intraepitelial cervical grado 1, en la antigua clasificación) y es un condiloma plano, con atipia coliocítica, generalmente relacionado con la infección por VPH 6 y 11 (es decir, incluye la displasia leve y la infección por VPH).

La LIEAG corresponde a NIC 2-3, y tiene células planas atípicas pleomórficas anormales. En su etiología están implicados los VPH 16 y 18 (incluye displasia moderada, la displasia grave y el carcinoma in situ).

La graduación progresiva de a displasia/NIC/SIL es un ejemplo clásico de la progresión de la enfermedad maligna a través de cambios epiteliales paso a paso, puede desarrollarse a cualquier edad, pero esa rara antes de la pubertad. Los cambios reversibles de grado bajo aparecen en mujeres jóvenes de entre 25 y 30 años, mientras que los cambios epiteliales de grado mayor se desarrollan unos 10 a 15 después.

Se han identificado varios factores de riesgo como el inicio de la vida sexual a temprana edad, múltiples compañeros sexuales y la infección por VPH entre los más importantes.

El virus del papiloma humano (VPH) pertenece a la familia de los *Papillomaviridae*, son virus ADN y se conocen más de 100 tipos virales que en relación con su patogenia oncológica, se clasifican en tipos de alto y de bajo riesgo oncológico. Se considera que los tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66 son de alto riesgo oncológico, y los tipos 6 y 11 son de bajo riesgo. Estos virus solo establecen infecciones productivas en el epitelio estratificado de la piel y mucosas. Los virus de bajo riesgo se asocian a verrugas o condilomas, mientras que otros pueden generar infecciones subclínicas, que pueden dar lugar a cáncer. Todos los VPH se transmiten por contacto piel a piel.

La infección por VPH es la causa principal de casi todos los casos de cáncer cervical, esta asociación fue descubierta por el científico y médico alemán Harald Zur Hausen. La mayor parte de las infecciones por VPH en mujeres jóvenes son temporales, el 70% de las infecciones desaparece en un año y el 90% en dos años. Sin embargo, cuando la infección persiste, entre el 5 y el 10% de las

mujeres infectadas tienen el riesgo de desarrollar lesiones precancerosas en el cérvix que pueden progresar a cáncer cervical invasivo, proceso que normalmente lleva en 10 a 15 años.

La prevalencia presenta un pico en las jóvenes de 20 a 24 años (relacionado con el inicio de la actividad sexual) y disminuye con la edad. Esto puede deberse a que la infección es controlada o eliminada por el sistema inmune.

El genoma de VPH posee 8000 pb de longitud y codifica 8 regiones de lectura que regula la síntesis de proteínas tempranas (E1, E2, E5, E6, E7) y tardías (L1, L2) de acuerdo a su expresión durante el ciclo de vida viral. Las secuencias reguladoras requeridas para la transcripción y la replicación del genoma viral se encuentran localizadas en una región no codificante denominada URR.

Al ocurrir la infección por VPH, el genoma viral es sintetizado en las células basales a partir de copias episomales, afectando la progenie, en donde una célula perpetuaría la infección, y aquella destinada al cambio de estrato epitelial, presentaría expresión de genes tardíos, dando inicio a la fase vegetativa del ciclo de vida del VPH. Al final, el ADN viral es empaquetado en la cápside y los viriones son liberados para reiniciar un nuevo ciclo de vida.

La diferencia en el riesgo para la progresión a carcinoma cervical radica en la persistencia de la infección y, por ende, a la integración del ADN viral al de la célula huésped. Los tipos de VPH de bajo riesgo tienden a permanecer como episomas, en tanto que los de alto riesgo se integran covalentemente al ADN del hospedero, mediado por las oncoproteínas E6 y E7.

La oncoproteína E6, codifica una proteína de 150 aminoácidos con un peso molecular de 16 kD con propiedad transcripcional, que le confiere el potencial de transformación e inmortalización de la célula infectada, a través de afectar a p53, promoviendo su degradación al reclutar el complejo enzimático necesario para la proteólisis, comprometiendo la señalización en el control del ciclo celular y favoreciendo la integración del ADN viral. E6 posee la capacidad de interactuar con las quinasas, incrementando la tasa de actividad mitótica, al tiempo que degrada complejos proteicos (proteínas con dominios PDZ) localizados en la interfase citoesqueleto-membrana, que regula el crecimiento, la proliferación, la polaridad y la adhesión celular. También posee la capacidad de inducir la actividad telomerasa, favoreciendo su estado persistente activo, contribuyendo a la inmortalización de las células epiteliales, al mantener la longitud del telómero e incrementando el número de divisiones celulares.

La Oncoproteína E7 codifica una proteína de bajo peso molecular compuesta por 100 aminoácidos organizados en tres regiones conservadas, fundamentales para la unión y degradación de pRb (la familia pRb actúa como supresora del crecimiento, al controlar factores de transcripción requeridos para la replicación del ADN). La unión de E7 a pRb genera la síntesis en la fase S de ciclina A y E, favoreciendo la progresión celular, al tiempo que atenúa la actividad de los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas (CDK1: p21 y 27). E7 posee la capacidad de inducir inestabilidad genómica al generar un desbalance en la segregación cromosómica, como resultado de la inusual amplificación de los centrosomas y/o disfunción de los centrómeros (estableciendo la aneuploidía característica).

P16 o inhibidor 2A de quinasa dependiente de ciclina (p16INK4a), es una proteína supresora de tumores codificada en humanos por el gen CDKN2A, en el cromosoma 9p21, tiene un papel importante en la regulación del ciclo celular en la fase G1; inhibe las quinasas 4 y 6 dependientes de ciclina D1 (CDK4/6, ciclina D1), cuya función es regular la actividad de la proteína retinoblastoma (Rb) mediante la fosforilación de la misma. La proteína E7 bloquea a pRb, esto inactiva el complejo pRb-E2F, esto promueve la proliferación celular y sobre expresa a p16INK4a.

Hoy se conoce la forma en que el virus del papiloma humano interactúa con una célula y altera sus vías moleculares que la transformarían en una célula cancerígena, usando biología molecular a través de técnicas de inmunohistoquímica es posible la detección del virus en las lesiones intraepiteliales de cérvix, uno de los más usados es el P16, la reacción de cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de biología molecular y una de las utilidades consiste en la identificación del virus.

Estudios han mostrado que la sobreexpresión de la p16, (utilizando inmunohistoquímica, IHQ), es un marcador específico de células escamosas displásicas y neoplásicas. Otros trabajos han mostrado una alta asociación entre la sobreexpresión de la p16 y la presencia de HPV de alto riesgo.

Existe una variable reproducibilidad inter-observador en el diagnóstico, tanto histológico como citológico, de las lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) del cuello uterino. Por eso muchos investigadores han buscado un marcador con alta especificidad y sensibilidad para lograr más objetividad en el diagnóstico de estas lesiones.

El objetivo del presente estudio es evaluar la correlación de esta inmunomarcación de p16 con la detección del HPV con técnicas de PCR y el grado histológico de la lesión, y así obtener la sensibilidad y la especificidad de dichas pruebas.

## Material y Métodos.

En el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, Del ISSSTE, se estudió 131 muestras de cérvix de mujeres cuyo rango de edad varió entre los 23 y 84 años de edad, desde enero del 2012 a diciembre de 2016. De acuerdo al diagnóstico histológico se agruparon en 5 grupos; grupo 1 (cervicitis): 11 casos, grupo 2 (lesión escamosa intraepitelial de bajo grado, NIC I): 65 casos, Grupo 3 (lesión escamosa intraepitelial de alto grado, NIC 2): 26 casos, grupo 4 (lesión escamosa intraepitelial de alto grado, NIC III): 11 casos, grupo 5 (Ca invasor): 18 casos.

Con el material incluido en parafina se realizaron cortes los cuales se procesaron con el sistema p16INK4a (DAKO) para la demostración de inmunohistoquímica de la proteína p16. Se realizó recuperación antigénica con buffer de fosfatos pH 4.

Numero de casos					
Cervicitis	NIC I	NIC II	NIC III	CA INVASOR	Total de casos
11	65	26	11	18	131

## Resultados

	Cervicitis		
	P16 (+)	P16 (-)	TOTAL
Pool	0	6	6
Pool + 18	0	0	0
Pool + 16	0	0	0
Pool 16 + 18	0	1	1
16	0	1	1
18	0	3	3
TOTAL	0	11	11

Cuadro 1. Total de casos con diagnóstico de cervicitis y resultados de P16 y PCR.

	NIC I		
	P16 (+)	P16 (-)	TOTAL
(+)			
Pool	23	15	38
Pool + 18	2	0	2
Pool + 16	3	1	4
Pool 16 + 18	0	1	1
16	3	4	7
18	2	0	2
PCR (-)	3	8	11
TOTAL	36	29	65

Cuadro 2. Total de casos con diagnóstico de NIC I y resultados de P16 y PCR.

	NIC II		
	P16 (+)	P16 (-)	TOTAL
(+)			
Pool	10	1	11
Pool + 18	0	0	0
Pool + 16	6	0	6
Pool 16 + 18	0	0	0
16	6	0	6
18	1	0	1
PCR (-)	1	1	2
TOTAL	24	2	26

Cuadro 3. Total de casos con diagnóstico de NIC II y resultados de P16 y PCR.

	NIC III		
	P16 (+)	P16 (-)	TOTAL
(+)			
Pool	2	0	2
Pool + 18	0	0	0
Pool + 16	1	0	1
Pool 16 + 18	0	0	0
16	3	0	3
18	1	0	1
PCR (-)	4	0	4
TOTAL	11	0	11

Cuadro 4. Total de casos con diagnóstico de NIC III y resultados de P16 y PCR.

	CA invasor		
	P16 (+)	P16 (-)	TOTAL
(+)			
Pool	3	0	3
Pool + 18	0	0	0
Pool + 16	2	0	2
Pool 16 + 18	0	0	0
16	6	0	6
18	2	0	2
PCR (-)	5	0	0
TOTAL	18	0	18

Cuadro 5. Total de casos con diagnóstico de Cáncer invasor y resultados de P16 y PCR.

Se obtuvo un total de 131 casos, divididos en 5 grupos; cervicitis (11 casos), NIC I (65 casos), NIC II (26 casos), NIC III (11 casos), CA invasor (18 Casos), a los que se realizó detección de virus del papiloma humano (VPH) por reacción de cadena de la polimerasa (PCR) y sobreexpresión de p16 por Inmunohistoquímica (IHQ) y se obtuvo sensibilidad y especificidad de la prueba de Inmunohistoquímica P16.

Las 11 biopsias diagnosticadas con cervicitis fueron P16 negativas.

La inmunotinción para p16 con respecto al grado histológico de la lesión, la expresión de p16 aumenta conforme al grado histológico, en las lesiones clasificadas como NIC I, la expresión fue positiva en 55.4% de las muestras, en las lesiones NIC II el porcentaje de positividad fue en el 92.3% de las muestras y en las lesiones NIC III y CA invasor la expresión fue del 100 % de las muestras.

En cuanto a los resultados de la expresión de P16 con respecto a los resultados de PCR para VPH, encontramos que en las lesiones de bajo grado (NIC I) el 38.8 % de los casos fueron negativas para p16, mientras que en las lesiones NIC II solo el 4.1 % fue negativo para p16, en las lesiones NIC III y ca invasor, la expresión de p16 fue del 100% en ambos casos.

	cervicitis		
	PCR VPH (+)	PCR VPH (-)	TOTAL
P16 (+)	0	0	0
P16 (-)	11	0	11
TOTAL	11	0	11

Tabla 1. Casos con diagnóstico de cervicitis y resultado de PCR vs P16.

	NIC I		
	PCR VPH (+)	PCR VPH (-)	TOTAL
P16 (+)	33	3	36
P16 (-)	21	8	29
TOTAL	54	11	65

Tabla 2. Casos con diagnóstico de NIC I y resultado de PCR vs P16.

	NIC II		
	PCR VPH (+)	PCR VPH (-)	TOTAL
P16 (+)	23	1	24
P16 (-)	1	1	2
TOTAL	24	2	26

Tabla 3. Casos con diagnóstico de NIC II y resultado de PCR vs P16.



NIC III

	PCR VPH (+)	PCR VPH (-)	TOTAL
P16 (+)	7	4	11
P16 (-)	0	0	0
TOTAL	7	4	11

Tabla 4. Casos con diagnóstico de NIC III y resultado de PCR vs P16.

	CA INVASOR		
	PCR VPH (+)	PCR VPH (-)	TOTAL
P16 (+)	13	5	18
P16 (-)	0	0	0
TOTAL	13	5	18

Tabla 5. Casos con diagnóstico de Cáncer invasor y resultado de PCR vs P16.

Se calculó la sensibilidad y la especificidad de la inmunohistoquímica de p16 en los 5 grupos, con respecto al resultado del PCR;

#### CERVICITIS

Sensibilidad;  $0/0 + 11 = 0$

Especificidad;  $0/0 + 0 = 0$

#### NIC I

Sensibilidad=  $33/ 33+21 = 33/54 = 0.61 \times 100 = 61.1\%$

Especificidad=  $8 / 3 + 8 = 8/11 = 0.72 \times 100 = 72\%$

#### NIC II

Sensibilidad=  $23/ 23+1 = 23/24 = 0.95 \times 100 = 95\%$

Especificidad=  $1 / 1 + 1 = 1/2 = 0.5 \times 100 = 50\%$

#### NIC III

Sensibilidad=  $7/ 7+0 = 7/7 = 1 \times 100 = 100\%$

Especificidad=  $0 / 0 + 4 = 0/0 = 0 \times 100 = 0\%$

#### CA invasor

Sensibilidad=  $13/ 13+0 = 13/13 = 1 \times 100 = 100\%$

Especificidad=  $0 / 5 + 0 = 0/5 = 0 \times 100 = 0\%$

	PCR VPH (+)	PCR VPH (-)	TOTAL
P16 (+)	76	13	89
P16 (-)	33	9	42
TOTAL	109	22	131

Sensibilidad=  $76 / 76+33 = 76/109 = 0.69 \times 100 = 69\%$

Especificidad=  $9 / 13 + 9 = 9/22 = 0.40 \times 100 = 40\%$

Se calculó la sensibilidad y la especificidad de la inmunohistoquímica de p16 con respecto al grado histológico;

	NIC I	Sin lesión	TOTAL
P16 (+)	36	0	36
P16 (-)	29	11	40
TOTAL	65	11	76

Tabla 6. Resultados de P16 en casos con diagnóstico de NIC I vs muestras sin lesión.

	NIC II	Sin lesión	TOTAL
P16 (+)	24	0	24
P16 (-)	2	11	13
TOTAL	26	11	37

Tabla 7. Resultados de P16 en casos con diagnóstico de NIC II vs muestras sin lesión.

	NIC III	Sin lesión	TOTAL
P16 (+)	11	0	11
P16 (-)	0	11	11
TOTAL	11	11	22

Tabla 8. Resultados de P16 en casos con diagnóstico de NIC III vs muestras sin lesión.

	CA INVASOR	Sin lesión	TOTAL
P16 (+)	18	0	18
P16 (-)	0	11	11
TOTAL	18	11	29

Tabla 9. Resultados de P16 en casos con diagnóstico de Cáncer invasor vs muestras sin lesión.

NIC I

Sensibilidad=  $36 / 36+29 = 36/65 = 0.55 \times 100 = 55\%$

Especificidad=  $11 / 0 + 11 = 11/11 = 1 \times 100 = 100\%$

NIC II

Sensibilidad=  $24 / 24+2 = 24/26 = 0.92 \times 100 = 92\%$

Especificidad=  $11 / 0 + 11 = 11/11 = 1 \times 100 = 100\%$

NIC III

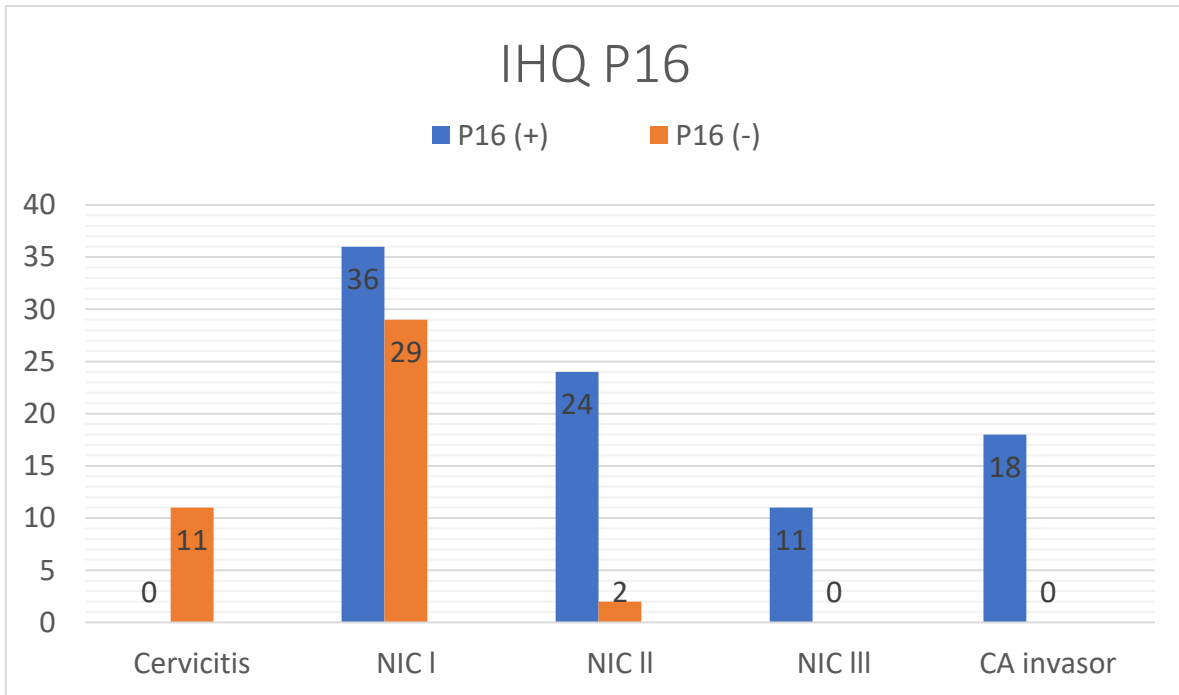
Sensibilidad=  $11 / 11+0 = 11/11 = 1 \times 100 = 100\%$

Especificidad=  $11 / 0 + 11 = 11/11 = 1 \times 100 = 100\%$

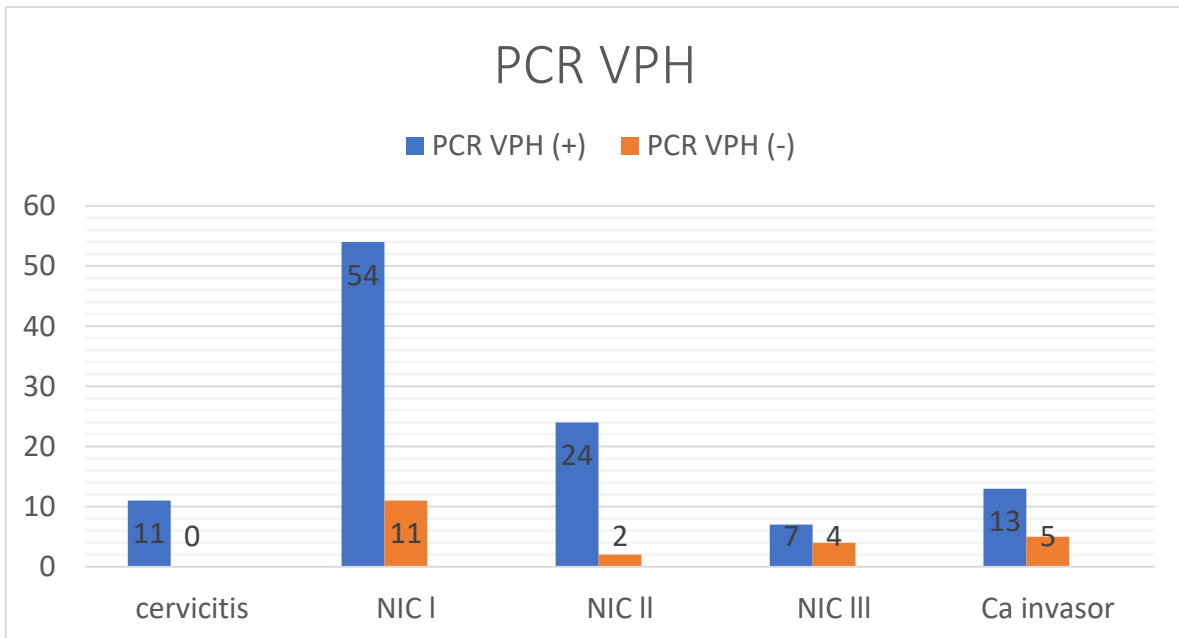
CA invasor

Sensibilidad=  $18 / 18+0 = 18/18 = 1 \times 100 = 100\%$

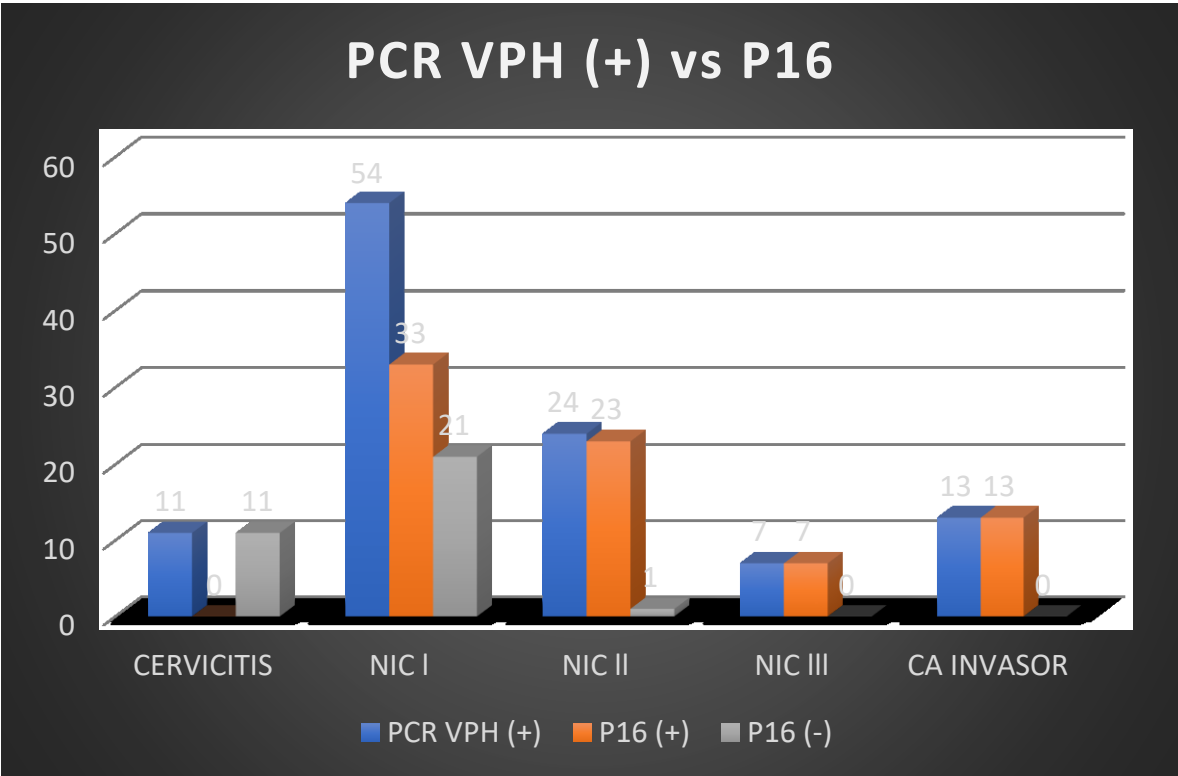
Especificidad=  $11 / 0 + 11 = 11/11 = 1 \times 100 = 100\%$



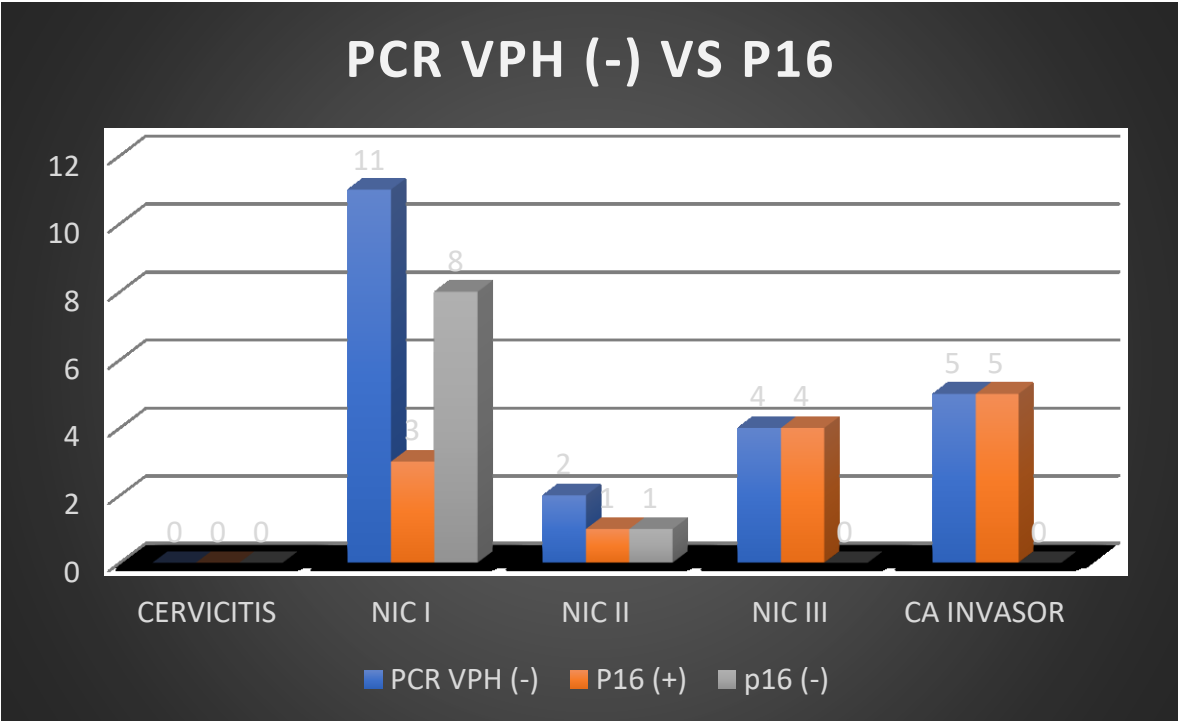
Grafica 1. Resultado de p16 en los diferentes grupos de estudio.



Grafica 2. Resultado de PCR en los diferentes grupos de estudio.



Grafica 2. PCR positivo vs resultado de p16 en los diferentes grupos de estudio.



Grafica 3. PCR negativo vs resultado de p16 en los diferentes grupos de estudio.

## Discusión

Se encontró una alta asociación entre la sobreexpresión de la proteína p16 y las lesiones intraepiteliales de cérvix, siendo un marcador útil en estos casos, estos datos son similares a los mostrados el estudio de Klaes R. y cols. (2).

En las biopsias de bajo grado (NIC I) se encontró que el 55% (36/29) de los casos fue positivo para p16 esta divergencia no fue tan significativa con las lesiones de alto grado; en las lesiones diagnosticadas como NIC III y Ca invasor, el 100% de las muestras fue positiva para la inmunohistoquímica para p16, estos resultados apoyan a los mostrados por HU L. y cols. (5).

Esto puede indicar que la infecciones por VPH en las muestras diagnosticadas como lesiones de bajo grado NIC I negativas para p16 son transitorias y que el ADN viral no está integrado en las células, Debido a que la afinidad de la proteína E7 del VPH de bajo riesgo para Rb es mucho menor que la de los tipos de PHV de alto riesgo, no habría sobreexpresión de p16INK4a (11), lo que sugiere que eran lesiones inducidas por virus de bajo riesgo (20). Esto sugiere que el uso de la inmunohistoquímica de p16 Puede identificar lesiones cervicales de bajo grado con un incremento en el riesgo para progresión a lesiones de alto grado pre cancerígenas o invasivas como se ha demostrado en varios estudios.

La especificidad de la inmunohistoquímica para la sobreexpresión de p16 es muy alta del 100%, la sensibilidad también es muy alta, excepto en las lesiones de bajo grado donde la sensibilidad es de 55%, datos apoyados por los estudios de Agoff SN y cols. (4).



## **Conclusiones**

El grado de expresión de p16 se correlacionó bien con el grado de la lesión cervical.

La determinación de la sobreexpresión de la proteína de p16 por inmunohistoquímica es un marcador confiable en la evolución de las lesiones intraepiteliales de cérvix.

Existe una asociación entre la sobreexpresión de la proteína p16 y el VPH-AR, la inmunomarcación para esta proteína es útil como factor predictivo en los grupos de riesgo en cuanto a la progresión de la enfermedad.

## BIBLIOGRAFIA.

1. K.F. Mullis, F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn and H. Erlich, 1986, *Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction*. Cold Spring Harbor Symposium in Quantitative Biology, 51:263–273.
2. Klaes R, Benner A, Friedrich T, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 1389-99.
3. Pradyot Prakash, Shashikant C U Patne, Ashish Kumar Singh, et. al. PCR and Genotyping for HPV in Cervical Cancer Patients. *J Glob Infect Dis*. 2016 Jul-Sep; 8 (3):100-107.
4. Agoff SN, Lin P, Morihara J, Mao C, Kiviat NB, Koutsky LA. p16(INK4a) expression correlates with the degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol* 2003; 16: 665-73.
5. Hu L, Guo M, He Z, Thornton J, McDaniel LS, Hughson MD. Human papillomavirus genotyping and p16INK4a expression in cervical intraepithelial neoplasia of adolescents. *Mod Pathol* 2005, 18: 267-73.
6. García A, Falcoff N, Di Camillo N, Sartor B, Catanese M, Denninghoff V. Inmunohistoquímica de la proteína p16INK4a en biopsias y extendidos cervicovaginales y su relación con HPV por PCR. *Medicina (B. Aires)*. 2008 Dic [citado 28 Oct 2014];68(6).
7. Merkelbach-Bruse S, Jakob C, Tietze L, Schröder W, Rath W, Füzési L. Consensus polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay for human papillomavirus detection and typing in cervical specimens. *Diagn Mol Pathol* 1999; 8: 32-8
8. Wang JL, Zheng BY, Li XD, et al. p16INK4A and p14ARF expression pattern by immunohistochemistry in human papillomavirus-related cervical neoplasia. *Mod Pathol* 2005, 18: 629-37.
9. Benévolo M, Mottolise M, Marandino F, et al. Immunohistochemical expression of p16(INK4a) is predictive of HR-HPV infection in cervical low-grade lesions. *Mod Pathol* 2006; 19: 384-91.
10. Pientong C, Ekalaksananan T, Kongyingyoes B, et al. Immunocytochemical staining of p16INK4a protein from conventional Pap test and its association with human papillomavirus infection. *Diagn Cytopathol* 2004; 31: 235-42.
11. Gage JR, Meyers C, Wettstein FO. The E7 proteins of the nononcogenic human papillomavirus type 6b (HPV-6b) and of the oncogenic HPV-16 differ in retinoblastoma protein binding and other properties. *J Virol* 1990;64:723–30.