مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره یازدهم، شمارهٔ ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۳۸۸، صفحه ۱۳-۸

حساسیت و ویژگی بیومارکر P16 در تشخیص تغییرات دیسپلاستیک- نئوپلاستیک سرویکس به روش ایمونوهیستوشیمی

مجید شربتداران*[۱]، شهریار شفائی[۱]، مهتاب زینال زاده[۲]، حسن رنجبر[۳]، بابک جاهد[۴]

۱- استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل
۲- استادیار گروه زنان و زایمان مرکز تحقیقات بهداشت باروری و ناباروری فاطمه زهرا (س) دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳- پزشک عمومی
۴- دستیار پاتولوژی

دریافت: ۸۷/۸/۱۵، اصلاح: ۸۷/۹/۱۳، پذیرش: ۸۷/۱۱/۳۰

خلاصه

سابقه و هدف: کانسرسرویکس دومین سرطان منجربه مرگ دستگاه تناسلی زنان می باشد که با تشخیص ضایعات پیش سرطانی می توان از میزان آن کاست. این مطالعه با هدف تعیین نقش P16 بعنوان یک بیومارکر در تشخیص دیسپلازی و متاپلازی نارس سرویکس به روش ایمونوهیستوشیمی انجام شده است.

مواد و روشها: این مطالعه بر روی ۹۶ نمونه بافتی موجود در بخش پاتولوژی بیمارستان شهید یحیی نژاد که تشخیصی قطعی پاتولوژیک داشتند، انجام شد. نمونه ها در ۴ گروه (۳۰ مورد سرویکس سالم، ۳۰ مورد متاپلازی نارس سرویکس، ۳۰ مورد دیسپلازی سرویکس و ۶ مورد کانسر سرویکس از نوع اسکواموس) قرار گرفتند. پس از تهیه برش از بلوکهای پارافینه، با رنگ آمیزی ایمونو هیستوشیمی و استفاده از کیت P16INK4a کلون E6H4 شرکت DAKO ساخت کشور دانمارک به شماره K5334 نمونه ها از نظر وجود P16 مورد ارزیابی قرار گرفتند. اطلاعات هیستوپاتولوژی و نتایج P16 به همراه سن افراد مورد تجزیه و تحلیل و مقایسه قرار گرفت.

یافته ها: نتیجه رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی بیومارکر P16 در ۳ نفر، ۱۰٪ از افراد با سرویکس نرمال، ۹ نفر ۳۰٪ متاپلازی سرویکس، ۱۹ نفر ۶۳/۳٪ دیسپلازی سرویکس و ۵ نفر ۸۳/۳٪ کانسر، مثبت بود. در موارد با دیسپلازی، P16 در ۴ نفر از درجه I، ۸ نفر از درجه II و ۷ نفر از درجه III مثبت بود که ارتباط معنی داری مشاهده نشد. P16 دارای حساسیت ۸۳/۳٪ در افراد دارای کانسر و در وضعیت دیسپلازی و متاپلازی نارس سرویکس نیز بترتیب ۶۳/۳٪ و ۳۰٪ بود. ویژگی P16 برای تشخیص دیسپلازی و کانسر اسکواموس سرویکس ۸۰٪ برآورد شد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که بیومارکر P16 دارای حساسیت و ویژگی مناسب برای تشخیص ضایعات دیسپلازی و نئوپلاستیک سرویکس می باشد و می تواند در تشخیص ضایعات سرطانی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: *حساسیت، ویژگی، دیسپلازی سرویکس، متاپلازی، نئو پلاسم‌سرویکس رحم، نئوپلازی داخل اپیتلیال سرویکس، مهار کننده کیناز وابسته به سیکلین P16*

مقدمه

سرطان دهانه رحم دومین سرطان شایع منجر به مرگ در دستگاه تناسلی خانم ها می باشد (۱) که با تشخیص ضایعات پیش سرطانی (دیسپلازی) و درمان به موقع می توان از آن جلوگیری کرد (۳و۲). نئوپلازی سرویکس از لحاظ منشا یک تغییر نئوپلاستیک در زمینه نوعی تغییر فیزیولوژیک طبیعی (متاپلازی) است که در اپی تلیوم سرویکس رخ می دهد و بصورت یک طیف از تغییرات جزیی اپیتلیوم (نئوپلازی داخل اپی تلیومی سرویکس با درجه پایین) تا درگیری تمام ضخامت اپی تلیوم (یعنی کارسینوم در جای سرویکس) و در نهایت تا سرطان تهاجمی سرویکس متغیر است و در آن ضایعات پیش تهاجمی (یعنی ضایعات محدود به اپی تلیوم) می توانند خود به خود با پسرفت خود به اپی تلیوم طبیعی تبدیل شوند و یا با پیشرفت به سرطان تهاجمی مبدل گردند (۴). پیشرفت از یک درجه پایین تر به درجه بالاتر اجتناب ناپذیر نیست و در بسیاری از موارد، حتی ضایعات درجه بالا به سمت سرطان پیشرفت نمی کنند (۵). در سالهای اخیر بیومارکر P16 که یک مهارکننده کیناز-CDK4 وابسته به سیکلین می باشد و به عنوان یک ژن سرکوب گر تومور و یک تنظیم کننده مهم چرخه سلولی عمل می کند برای اهداف تشخیصی در پاتولوژی های زنان به کار برده شده و توانسته است تکرار پذیری جوابها را افزایش دهد و بنظر می رسد بتواند در تشخیص حیح ضایعات پیش بدخیم (دیسپلازی) از متاپلازی نارس سرویکس کمک کند (۸-۶). در مطالعات انجام شده P16 در ۱۰۰-۹۲/۳٪ دیسپلازی درجه بالا و ۱۵/۴٪ دیسپلازی درجه پایین مثبت و در موارد سالم و متاپلازی نارس منفی بوده و حساسیت ۹۲/۳-۵۶٪، ویژگی ۱۰۰-۶۰٪، ارزش اخباری مثبت ۱۰۰-۷۹٪ و ارزش

هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۱۷۳۱۷۸۲۴۴۳ از اعتبارات دانشگاه علوم پزشکی بابل تأمین شده است.

* مسئول مقاله:
آدرس: بابل، بیمارستان شهید یحیی نژاد، گروه پاتولوژی
e-mail: Sharbatdaran@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1388.11.1.1.6]

اخباری منفی ۹۸/۳-۷۵٪ برای آن محاسبه شده است (۱۳-۹). ولی در مطالعه Mulvany ادعا شده که ویژگیP16 از حساسیت آن در تشخیص ضایعات اسکواموس سرویکس بیشتر است (۱۴).

با توجه به اهمیت تشخیص زودرس ضایعات پیش بدخیم سرویکس در پیشگیری از ابتلا به سرطان سرویکس در این مطالعه حساسیت و ویژگی بیومارکر P16 در تشخیص زودهنگام متاپلازی نارس سرویکس، دیسپلازی و کانسر اسکواموس سرویکس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

این مطالعه مقطعی بر روی نمونه های بافتی سرویکس ۹۶ زن مراجعه کننده به بیمارستان شهید یحیی نژاد بابل در طی سالهای ۱۳۸۵-۱۳۸۴ انجام شد. از میان نمونه های موجود در آرشیو بخش پاتولوژی بیمارستان، در آندسته از بیماران که تشخیص قطعی هیستوپاتولوژیک داشته و نمونه بافتی آنها در بلوک پارافینی برای انجام ایمونوهیستوشیمی از لحاظ کیفیت و کمیت بافتی مناسب بود به ترتیب به روش نمونه گیری آسان انتخاب شدند و در چهار گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل ۳۰ زن که بنا به دلایل گوناگون هیسترکتومی شده و در هیستوپاتولوژی سرویکس سالم داشتند، گروه دوم ۳۰ زن مبتلا به متاپلازی نارس سرویکس، گروه سوم ۳۰ زن مبتلا به دیسپلازی سرویکس و در گروه چهارم ۶ زن مبتلا به کانسر سرویکس از نوع اسکواموس قرار گرفتند. از نمونه های بافتی این افراد در بلوکهای پارافینه برش تهیه شد و سپس رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با استفاده از کیت P16INK4a شرکت DAKO ساخت کشور دانمارک به شماره سریال K5334 به روش زیر انجام شد:

ابتدا ظروف رنگ به همراه محلول رقیق شده بازیاب اپی توپ درون ظروف آب با دمای ۹۹-۹۵ درجه سانتیگراد حرارت قرارداده شد. لامهای تهیه شده از برش نمونه های بافتی درون بلوکهای پارافینی پس از دپارافینه کردن (جدا کردن پارافین) هم دما با دمای اتاق، در محلول از قبل گرم شده بازیاب اپی توپ در ظروف رنگ آمیزی شناور شد و دمای ظرف آب و محلول بازیاب اپی توپ به ۹۹-۹۵ درجه سانتیگراد رسانده شد و به مدت ۴۰ دقیقه در همان دما انکوبه شد. سپس تمام ظروف حاوی لام از ظروف حاوی آب خارج و لام ها در محلول بازیاب اپی توپ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شدند و در محلول بافر رقیق شده به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. در مرحله بعد، ۲۰۰ میکرومول محلول مسدود کننده پراکسیداز را روی نمونه ریخته و به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد و پس از شستشو درون ظرف بافر تازه قرار گرفت. در مرحله سوم ۲۰۰ میکرو مول شناساگر تازه رقیق شده کنترل منفی روی نمونه قرار گرفت و برای ۳۰ دقیقه انکوبه شد و بعد از شستشو درون ظرف بافر تازه قرار داده شد. در مرحله چهارم ۲۰۰ میکرو مول از محلول آشکارساز را روی نمونه ریخته و برای ۳۰ دقیقه انکوبه شد و بعد لام ها همانند مرحله ۳ شستشو شد.

در مرحله پنجم نیز ۲۰۰ میکرو مول از محلول سوبسترا-کروموژن (دی آمینوبنزیدین (DAB) را روی نمونه ریخته و انکوبه شد. بعد از انکوبه شدن به آرامی بوسیله آب مقطر شستشو شد. سپس لام ها در داخل یک ظرف حاوی هماتوکسیلین قرار گرفت و به مدت ۵-۲ دقیقه انکوبه شد. پس از شستشو به مدت ۱۰ دقیقه در یک ظرف حاوی ۳۷ لیتر/ میلی مول آب آمونیوم قرار گرفت و بعد از خارج شدن، لامها در یک ظرف آب مقطر به مدت ۵-۲ دقیقه شستشو شد. در مرحله آخر از چسب محیط غیر آبی دائم شرکت Dako با کد S3026 استفاده شد. اسلاید های تهیه شده به روش فوق توسط پاتولوژیست مورد بررسی میکروسکوپیک قرار گرفتند و نمونه هایی که در آنها هسته ها برای P16 رنگ شده بودند مثبت تلقی شدند. در نهایت نتایج هیستوپاتولوژی و بیومارکر P16 به همراه سن افراد ثبت گردید و سپس مقایسه میانگین سنی در گروههای مورد مقایسه به روش آنالیز واریانس و ارتباط وضعیت طبیعی، متاپلازی، دیسپلازی و کانسر سرویکس با P16 با استفاده از آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و p<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه از ۹۶ نمونه سرویکس خانم های در محدوده ۲۸ تا ۶۸ سال، میانگین سنی آنها ۴۶/۷±۸/۷ سال بود. میانگین سن افراد با سرویکس نرمال ۴۴/۶±۹/۹ سال، افراد با متاپلازی سرویکس ۴۴/۹±۷/۸ سال، افراد با دیسپلازی سرویکس ۴۸/۵±۶/۶ سال و افراد مبتلا به کانسر سرویکس ۵۷/۳±۷/۶ سال بود میانگین سنی افراد مبتلا به کانسر بطور معنی‌داری بیشتر از سایر گروهها بوده است (p=۰/۰۰۳).

نتیجه رنگ آمیزی p16 بر روی نمونه های سرویکس افراد تحت مطالعه نشان داد که از ۳۰ زن نرمال ۳ نفر (۱۰٪)، از ۳۰ زن دارای متاپلازی نارس سرویکس ۹ نفر (۳۰٪)، از ۳۰ زن دارای دیسپلازی سرویکس ۱۹نفر (۶۳/۳٪) و از ۶ زن دارای کانسر سرویکس از نوع اسکواموس ۵ نفر (۸۳/۳٪) دارای P16 مثبت بودند که بین نتیجه رنگ آمیزی P16 با وضعیت پاتولوژی رابطه معنی‌داری مشاهده شد (p=۰/۰۰۰). همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که بیومارکر P16 دارای ویژگی ۸۰٪ در تشخیص دیسپلازی و نئوپلازی سرویکس می‌باشد. با افزایش درجه دیسپلازی، درصد مثبت بودن بیومارکر P16 افزایش داشت بطوریکه از ۴ نفر در دیسپلازی درجه I به ۸ نفر در دیسپلازی درجه II افزایش یافت اما این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نبود.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه بیومارکر P16 در ۸۳/۳٪ افراد مبتلا به کانسر، ۶۳/۳٪ زنان با دیسپلازی، ۳۰٪ زنان با متاپلازی و ۱۰٪ زنان با وضعیت نرمال مثبت بود که بین نتایج بیومارکر P16 با وضعیت پاتولوژی رابطه معنی‌داری مشاهده شد (p=۰/۰۰۰). در مطالعه ای که Wang و همکاران انجام دادند نشان دادند که بیومارکر P16 در بیش از ۷۵٪ بیمارانی که دچار نئوپلازی داخل اپیلیومی سرویکس CIN (Cervical intraepithelial neoplasia) و ۱۲/۵٪ افرادیکه دچار سرویکس نرمال یا التهابی بودند مثبت شده بود (۱۵). که نتایج آن مشابه مطالعه ما می باشد. همچنین در این مطالعه بیومارکر P16 در ۱۰٪ زنان با وضعیت نرمال مثبت بود. ولی در مطالعه ای که در کشور برزیل بر روی ۹۶ نمونه سرویکس شامل ۱۳ مورد با درجه بالا، ۲۶ مورد با درجه پایین و ۵۷ بافت نرمال توسط p16INK4a (E6H4 clone) انجام گرفت÷ P16 در تمامی موارد نمونه های سالم بافت سرویکس منفی بود و در ۹۲/۳٪ درجه بالا و ۱۵/۴٪ درجه پایین مثبت بود

[DOR: 20.1001.1.15614107.1388.11.1.1.6]

(۱۶). مطالعه ما هم نشان داد که با افزایش درجه دیسپلازی، درصد مثبت بودن بیومارکر P16 افزایش دارد بطوریکه از درجه I به درجه III افزایش یافت اما این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مطالعه دیگری که در کشور ژاپن انجام شده، موارد مثبت P16 (clone E6H4) در ضایعات CIN2 بیشتر از ضایعات CIN1 بود (۱۷) که همه این مطالعات انجام شده با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

در این مطالعه بیومارکر P16 دارای حساسیت ۸۳/۳٪ و ویژگی ۸۰٪ در افراد دارای کانسر بود ولی حساسیت آن در وضعیت دیسپلازی ۶۳/۳٪ بدست آمد. در مطالعه ای که توسط Meyer و همکاران انجام شد حساسیت و ویژگی بیومارکر P16 در تشخیص نمونه های سرویکس به ترتیب ۸۱٪ و ۶۲٪ گزارش گردید (۱۸). همچنین در مطالعه ای که توسط Yildiz و همکاران در ترکیه انجام شده بود حساسیت بیومارکر P16 در تشخیص دیسپلازی سرویکس ۸۰٪ گزارش گردید (۱۹) که بیشتر از حساسیت گزارش شده در مطالعه ما می باشد. ولی در مطالعه دیگری که بر روی ۴۰۰ زن با بیماری سرویکس در کشور آمریکا انجام شد حساسیت بیومارکر P16 برای تشخیص دیسپلازی سرویکس ۵۶٪ گزارش شد (۲۰) که این میزان کمتر از مطالعه ما می باشد. Wang و همکاران در مطالعه دیگری با بررسی بلوکهای مربوط به ۲۹۲ خانم توسط p16INK4a (clone E6H4) حساسیت و ویژگی P16 را در CIN1 بترتیب ۱۰۰٪ و ۹۵٪ در CIN2 بترتیب ۸۱/۱٪ و ۹۵/۴٪ بدست آوردند (۲۱).

همچنین در مطالعه ما حساسیت P16 بیش از ویژگی آن محاسبه شد که با نظر بعضی از مقالات در این خصوص که ویژگی P16 را بیش از حساسیت آن ذکر می کنند (۱۴) متفاوت است. بنظر می رسد که اختلاف نتایج میان مطالعات مختلف و معنی دار نبودن نتایج P16 در درجه های مختلف دیسپلازی ناشی از ناتوانی رنگ آمیزی معمول H&E در تمایز متاپلازی نارس سرویکس از دیسپلازی سرویکس و نیز جداسازی درجه های مختلف آن می باشد ضمن آنکه در یک بیمار ممکن است در نواحی مختلف سرویکس طیفی از تغییرات شامل سرویکس نرمال، متاپلازی و درجه های مختلف دیسپلازی وجود داشته باشد که همین موضوع باعث ایجاد خطاهای تصادفی در نمونه گیری شده و بر نتایج مطالعه تاثیر می گذارند. درکل مقایسه این مطالعه با سایر مطالعات نشان می دهد که بیومارکر P16 دارای حساسیت و ویژگی مناسبی برای تشخیص ضایعات دیسپلاستیک و نئوپلاستیک سرویکس بوده و می تواند در امور تشخیصی مورد استفاده قرار گیرد و دیگر اینکه، P16، بیومارکری بوده که در موارد بدخیم و پیش بدخیم افزایش قابل ملاحظه ای دارد ولی در برخی نمونه های سرویکس نرمال یا متاپلازی نارس سرویکس نیز مثبت می باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی و شورای پژوهشی دانشگاه بخاطر تامین اعتبار مالی این پروژه، از آقای دکتر کریم اله حاجیان که در انجام امور آماری این مطالعه ما را راهنمایی نمودند و از خانم نرگس زیاری که تایپ و ویرایش فارسی مقاله را به عهده داشتند تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1388.11.1.1.6]

Sensitivity and Specificity of P16 Immunohistochemistry in Diagnosis of Dysplastic Neoplastic Changes in Cervix

M. Sharbatdaran (MD) [1*], Sh. Shafaee (MD) [2], M. Zeinalzadeh (MD) [3], H. Ranjbar (MD) [4], B. Jahed (MD) [5]

1. Assistant Professor of Pathology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
2. Assistant Professor of Pathology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3. Assistant Professor of Gynecology & Obstetrics, Fatemeh Zahra Infertility & Reproductive Health Research Centre, Babol University of Medical Sciences, Babol Iran
4. General Practitioner
5. Resident of Pathology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Received: November 5th 2008, Revised: December 3rd 2008, Accepted: February 18th 2009.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Cervical cancer is the second most common cancer in women that early diagnosis of its preneoplastic lesion can reduce cancer development. The aim of this study was to evaluate P16 role as a biomarker in diagnosis of dysplastic and neoplastic lesions of uterine cervix with immunohistochemistry.

METHODS: This study was done on samples of 96 women in pathology department of Shahid Yahyanejad hospital, Babol, Iran. The samples divided into 4 groups (30 cases of normal cervix, 30 cases of cervical immature metaplasia, 30 cases of cervical dysplasia and 6 cases of cervical malignancy of squamous cell type). Immunohistochemical method was performed using kit of Dako company, made in Denmark, (p16INK4a, Clone E6H4), on paraffin embedded samples. P16 staining results, histopathological findings and age of women were analyzed and compared.

FINDINGS: P16 staining was positive in 10% of normal cervix (3 subjects), 30% of cervical immature metaplasia (9 subjects), 63.3% of cervical dysplasia (19 subjects) and 83.3% of normal cervix (5 subjects). In cases with dysplasia P16 was positive in 4 subjects of grade I, 8 subjects of grade II and 7 subjects of grade III that there was not a significant relationship. The sensitivity of P16 was 83.3% in uterine cervical squamous cancer and sensitivity was respectively 63.3% in dysplasia and 30% in immature squamous metaplasia. The specificity of P16 was 80%.

CONCLUSION: Result show that P16 had suitable sensitivity and specificity for diagnosis of dysplasia and neoplasia of uterine cervix and can be used in diagnosis of cancer lesions.

KEY WORDS: *Sensitivity, Specificity, Uterine cervical dysplasia, Metaplasia, Uterine cervical neoplasm, Cervical intraepithelial neoplasia, Cycline dependent kinase inhibitor P16.*

* **Corresponding Author;**
Address: Department of Pathology, Shahid Yayanejad Hospital, Babol, Iran
E-mail: sharbatdaran@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1388.11.1.1.6]

References

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 1999; 49(3): 33-7.
2. Herrero R. Epidemiology of cervical cancer. J Natl Cancer Inst Monogr 1996; 53(2): 109-18.
3. Dehn D, Torkko KC, Shroyer KR. Human papillomavirus testing and molecular markers of cervical dysplasia and carcinoma. Cancer 2007; 111(1): 1-14.
4. Berkowitz RS, Barbieri RL, Dunaif AE, et al. Kistner's gynecology and women's health, 8th ed, Mosby Co 2004; pp: 120-56.
5. Kumar V, Cotran RS, Robbins SJ. Robbins basic pathology, 7th ed, Philadelphia, Saunders Co 2003; pp: 356-60.
6. O'Neill CJ, McCluggage WG. P16 expression in the female genital tract and its value in diagnosis. Adv Anat Pathol 2006; 13(1): 8-15.
7. Horn LC, Reichert A, Oster A, et al. Immunostaining for p16INK4a used as a conjunctive tool improves interobserver agreement of the histologic diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. Am J Surg Pathol 2008; 32(4): 502-12.
8. Gurrola Díaz CM, Suárez Rincón AE, Vázquez Camacho G, et al. P16INK4a immunohistochemistry improves the reproducibility of the histological diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia in cone biopsies. Gynecol Oncol 2008; 111(1): 120-4.
9. Sayed K, Korourian S, Ellison DA, et al. Diagnosing cervical biopsies in adolescents: the use of p16 immunohistochemistry to improve reliability and reproducibility. J Low Genit Tract Dis 2007; 11(3): 141-6.
10. Regauer S, Reich O. CK17 and p16 expression patterns distinguish (atypical) immature squamous metaplasia from high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN III). Histopathology 2007; 50(5): 629-35.
11. Liu H, Shi J, Wilkerson M, et al. Immunohistochemical detection of p16INK4a in liquid-based cytology specimens on cell block sections. Cancer 2007; 111(2): 74-82.
12. Wentzensen N, Hampl M, Herkert M, et al. Identification of high-grade cervical dysplasia by the detection of p16INK4a in cell lysates obtained from cervical samples. Cancer 2006; 107(9): 2307-13.
13. Tringler B, Gup CJ, Singh M, et al. Evaluation of p16INK4a and pRb expression in cervical squamous and glandular neoplasia. Hum Pathol 2004; 35(6): 689-96.
14. Mulvany NJ, Allen DG, Wilson SM. Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies. Pathology 2008; 40(4): 335-44.
15. Wang JL, Zheng BY, Li XD, et al. Predictive significance of the alterations of p16INK4A, p14ARF, p53, and proliferating cell nuclear antigen expression in the progression of cervical cancer. Clin Cancer Res 2004; 10(7): 2407-14.
16. Eleuterio J Jr, Giraldo PC, Gonçalves AK, et al. Prognostic markers of high-grade squamous intraepithelial lesions: the role of p16INK4a and high-risk human papillomavirus. Acta Obstet Gynecol Scand 2007; 86(1): 94-8.
17. Ishikawa M, Fujii T, Saito M, et al. Overexpression of p16 INK4a as an indicator for human papillomavirus oncogenic activity in cervical squamous neoplasia. Int J Gynecol Cancer 2006; 16(1): 347-53.
18. Meyer JL, Hanlon DW, Andersen BT, Rasmussen OF, Bisgaard K. Evaluation of p16INK4a expression in ThinPrep cervical specimens with the CINtec p16INK4a assay: correlation with biopsy follow-up results. Cancer 2007; 111(2): 83-92.
19. Yildiz IZ, Usubütün A, Firat P, Ayhan A, Kücükali T. Efficiency of immunohistochemical p16 expression and HPV typing in cervical squamous intraepithelial lesion grading and review of the p16 literature. Pathol Res Pract 2007; 203(6): 445-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1388.11.1.1.6]

20. Holladay EB, Logan S, Arnold J, Knesel B, Smith GD. A comparison of the clinical utility of p16 (INK4a) immunolocalization with the presence of human papillomavirus by hybrid capture 2 for the detection of cervical dysplasia and neoplasia. Cancer 2006; 108(6): 451-61.
21. Wang SS, Trunk M, Schiffman M, et al. Validation of p16INK4a as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a population-based cohort in Costa Rica. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004; 13(8): 1355-60.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1388.11.1.1.6]