

Biomarcadores imunohistoquímicos para lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino: revisão sistemática com metanálise

Immunohistochemical biomarkers for high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix: a systematic review with meta-analysis

Biomarcadores inmunohistoquímicos para lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado del cuello uterino: una revisión sistemática con metaanálisis

 Nirliane Ribeiro Barbosa¹

 Luciana Xavier Pereira²

 Salviane dos Santos Barbosa³

 Anderson Ferreira Barbosa⁴

 Edilson Leite de Moura⁵

 Elaine Virgínia Martins de Souza Figueiredo⁶

 Karol Fireman de Farias⁷

 Teresinha Gonçalves da Silva⁸

^{1,8}Universidade Federal de Pernambuco. Recife (PE), Brasil.

^{1,2,3,4,6,7}Universidade Federal de Alagoas. Arapiraca (AL), Brasil.

⁵Universidade Federal de Alagoas. Maceió (AL), Brasil.

Editor de Seção

 Valesca Patriota de Souza

Submetido: 29/04/2024

Aceito: 26/10/2025

Autor Correspondente

Nome: Nirliane Ribeiro Barbosa

E-mail: nirliane.barbosa@ufpe.br

RESUMO

Objetivo: identificar os principais marcadores imunohistoquímicos para diferenciação de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino e analisar os diferentes métodos de interpretação. **Método:** revisão sistemática com metanálise. Após busca nas bases Cochrane, Embase, Scopus e Web of Science, realizada em março de 2021, incluíram-se 51 artigos de caso-controle que descreveram biomarcadores imunohistoquímicos de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino em biópsia cervical, publicados entre 2000 e 2021. **Resultados:** os biomarcadores p16INK4 e Ki-67 foram destaques nas lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino. Em relação aos artigos que estudaram apenas p16INK4 e/ou Ki-67, foram descritos sete diferentes métodos para interpretação imunohistoquímica para expressão de p16INK4 e três métodos para Ki-67. **Conclusão:** entre os métodos encontrados, a coloração nuclear ou citoplasmática por camadas de epitélio (sem coloração ou coloração focal = negativa; marcação difusa = positiva) se apresenta como o mais significativo para interpretação do biomarcador p16INK4 (OR = 13,97; IC95%: 7,93 – 24,63; Z = 9,12; p < 0,00001) e do biomarcador Ki-67 (OR = 8,47; IC95%: 3,75 – 19,14; Z = 5,13; p < 0,00001) em lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino, quando comparados à lesão de baixo grau. Conclui-se, portanto, que este é o método imunohistoquímico mais seguro para interpretar essas lesões. Registro PROSPERO: CRD42020210747.

Descritores: Lesões intraepiteliais escamosas; Colo do útero; Biomarcadores; Imunohistoquímica; Revisão sistemática.

ABSTRACT

Objective: to identify the main immunohistochemical markers for differentiating high-grade squamous intraepithelial lesions in the cervix and to analyze the different interpretation methods. **Method:** a systematic review with meta-analysis. After searching the Cochrane, Embase, Scopus, and Web of Science databases, conducted in March 2021, 51 case-control articles describing immunohistochemical biomarkers of high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix in cervical biopsies, published between 2000 and 2021, were included. **Results:** the biomarkers p16INK4 and Ki-67 were prominent in high-grade squamous intraepithelial lesions in the cervix. Regarding the articles that studied only p16INK4 and/or Ki-67, seven different methods for immunohistochemical interpretation of p16INK4 expression and three methods for Ki-67 were described. **Conclusion:** among the methods found, nuclear or cytoplasmic staining by epithelial layers (no staining or focal staining = negative; diffuse staining = positive) appears to be the most significant for interpreting the p16INK4 biomarker (OR = 13.97; 95%CI: 7.93 – 24.63; Z = 9.12; p < 0.00001) and the Ki-67 biomarker (OR = 8.47; 95%CI: 3.75 – 19.14; Z = 5.13; p < 0.00001) in high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix, when compared to low-grade lesions. Therefore, it is concluded that this is the most reliable immunohistochemical method for interpreting these lesions. PROSPERO registration: CRD42020210747.

Descriptors: Squamous intraepithelial lesions; Cervix uteri; Biomarkers; Immunohistochemistry; Systematic Review.

RESUMEN

Objetivo: identificar los principales marcadores inmunohistoquímicos para diferenciar las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado en el cuello uterino y analizar los distintos métodos de interpretación. **Método:** revisión sistemática con metaanálisis. Tras la búsqueda en las bases de datos Cochrane, Embase, Scopus y Web of Science en marzo de 2021, se incluyeron 51 artículos de casos y controles que describían biomarcadores inmunohistoquímicos de lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado en biopsias cervicales, publicados entre 2000 y 2021. **Resultados:** los biomarcadores p16INK4 y Ki-67 se destacaron en lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado del cuello uterino. En los artículos que estudiaron únicamente p16INK4 y/o Ki-67, se describieron siete métodos diferentes para la interpretación inmunohistoquímica de la expresión de p16INK4 y tres métodos para Ki-67. **Conclusión:** entre los métodos encontrados, la tinción nuclear o citoplasmática de las capas epiteliales (sin tinción o tinción focal = negativo; tinción difusa = positivo) parece ser el más significativo para la interpretación del biomarcador p16INK4 (OR = 13,97; IC95%: 7,93-24,63; Z = 9,12; p < 0,00001) y del biomarcador Ki-67 (OR = 8,47; IC95%: 3,75-19,14; Z = 5,13; p < 0,00001) en lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado del cuello uterino, en comparación con las lesiones de bajo grado. Por lo tanto, se concluye que este es el método inmunohistoquímico más seguro para la interpretación de estas lesiones. Registro PROSPERO: CRD42020210747.

Descriptores: Lesiones intraepiteliales escamosas; Cuello del útero; Biomarcadores; Inmunohistoquímica; Revisión sistemática.

Como citar este artigo:

Nirliane RB, Luciana XP, Salviane SB, Anderson FB, Edilson LM, Elaine VMSF, Karol FF, Teresinha GS. Biomarcadores imunohistoquímicos para lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino: revisão sistemática com metanálise. Rev. enferm. UFPE on line. 2025;19(2):e262675. DOI: <https://doi.org/10.5205/1981-8963.2025.262675>

Introdução

As lesões intraepiteliais escamosas do colo do útero são classificadas em lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (*low-grade squamous intraepithelial lesions* - LSIL) e lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (*high-grade squamous intraepithelial lesions* - HSIL). Essas lesões estão associadas com o Papilomavírus Humano (*Human Papillomavirus* - HPV), sendo considerados de alto risco oncogênico os subtipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59. A LSIL geralmente regride, entretanto a HSIL é considerada um precursor do câncer cervical, podendo progredir para carcinoma *in situ* quando não tratada adequadamente. O câncer cervical é uma das principais causas de mortalidade nas mulheres em todo o mundo, com algumas variações entre os países e suas regiões.¹⁻⁴

Para identificar as características dessas lesões, é necessária avaliação histológica e, especialmente em casos de HSIL, avaliação de características imunohistoquímicas. Identificar essas alterações e suas características é essencial para o estudo de diagnósticos diferenciais e intervenções terapêuticas inovadoras, pois diversos fatores podem contribuir para um resultado negativo na conização.^{3,5}

Entre os motivos que explicam a ausência de lesões no colo do útero, os mais frequentes foram erros na colposcopia, regressão espontânea da lesão, remoção completa das pequenas lesões durante a biópsia, erros no material pré-conização, resultados falso-negativos e erro excisional. A revisão da peça patológica e a aplicação dos biomarcadores imunohistoquímicos p16INK4 (ou p16) e Ki-67 pareceram melhorar a acurácia e ajudar no desafio do diagnóstico diferencial.⁵ Desse modo, já está bem estabelecido que p16 e Ki-67 são biomarcadores substitutos para a presença de HPV. No entanto, há relatos de dificuldades dos patologistas no diagnóstico diferencial entre as lesões intraepiteliais cervicais, principalmente as HSIL.⁶

Para este propósito, objetivou-se identificar os principais marcadores imunohistoquímicos para diferenciação de HSIL e analisar os diferentes métodos de interpretação.

Método

Revisão sistemática, registrada no PROSPERO (*International Prospective Register of Systematic Reviews*), sob número CRD420202107477, realizada em março de 2021 nas bases de dados Cochrane, Embase, Scopus e *Web of Science* usando a seguinte estratégia: ((*"Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix"* OR *"High-grade squamous intraepithelial lesion"* OR *"cervical intraepithelial neoplasia"*) AND (*"Biomarkers"* OR

"Marker" OR "inflammatory mediators" OR "inflammatory markers") AND ("Histology" OR "Immunohistochemistry" OR "Immunofluorescence")). A revisão sistemática seguiu o protocolo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*.⁸

Buscou-se, com esta revisão, responder à seguinte pergunta: quais os principais marcadores imunohistoquímicos para diferenciação de HSIL e os diferentes métodos de interpretação? Os descritores foram definidos pelo método PICOS,⁹ configurando o estudo de revisão sistemática, com População (P): mulheres com HSIL no colo do útero; Intervenção (I): identificação da expressão de biomarcadores imunohistoquímicos; Comparação ou Controle (C): mulheres com LSIL no colo do útero; Desfecho (O): presença ou ausência da associação entre expressão dos biomarcadores imunohistoquímicos e HSIL no colo do útero; Desenho do Estudo (S): caso-controle, comparando a expressão dos biomarcadores imunohistoquímicos entre HSIL e LSIL.

Incluíram-se artigos originais que descrevessem biomarcadores imunohistoquímicos de HSIL na biópsia do colo uterino de 2000 a 2021. Excluíram-se artigos de revisão, relatos de caso, artigos com estudos em animais, artigos com estudos *in vitro*, artigos duplicados e cartas ao editor. Mediante a natureza secundária dos dados coletados e analisados no estudo, não houve submissão deste ao Comitê de Ética em Pesquisa.

Por meio da plataforma Rayyan, títulos, resumos e artigos completos foram avaliados por dois pesquisadores, separadamente, para selecionar estudos para a revisão, e em caso de diferenças na seleção entre os dois, um terceiro pesquisador realizou a avaliação.

Dois pesquisadores extraíram os dados de forma independente, incluindo-os cuidadosamente na metanálise. Os dados coletados foram título, DOI, autores, ano de publicação, biomarcador imunohistoquímico e método imunohistoquímico de interpretação da expressão de biomarcador.

A metanálise foi realizada usando o *software Review Manager 5.3*. Para isso, utilizou-se o método de De Moura *et al.*¹⁰ Valores agrupados de *Odds Ratio* (OR) com Intervalo de Confiança (IC) de 95% foram calculados para avaliar a associação entre a expressão de biomarcadores imunohistoquímicos e HSIL no colo do útero. Os OR agrupados foram determinadas pelo teste Z, no qual o valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

A heterogeneidade entre os estudos foi analisada usando os testes estatísticos qui-quadrado (Q2) e Higgins (I2).¹¹ Para calcular os OR agrupados, utilizaram-se o modelo de efeito fixo, quando o P para heterogeneidade foi $> 0,05$ ou $I^2 < 50\%$, e o modelo de efeito aleatório, quando o P para heterogeneidade foi $< 0,05$ ou $I^2 > 50\%$.¹²

Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, por meio do Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde 06/2016.

Resultados

Um total de 157 artigos emergiram da busca nas bases de dados (Figura 1). Estes mostraram 130 biomarcadores para lesão intraepithelial escamosa de alto grau no colo do útero.

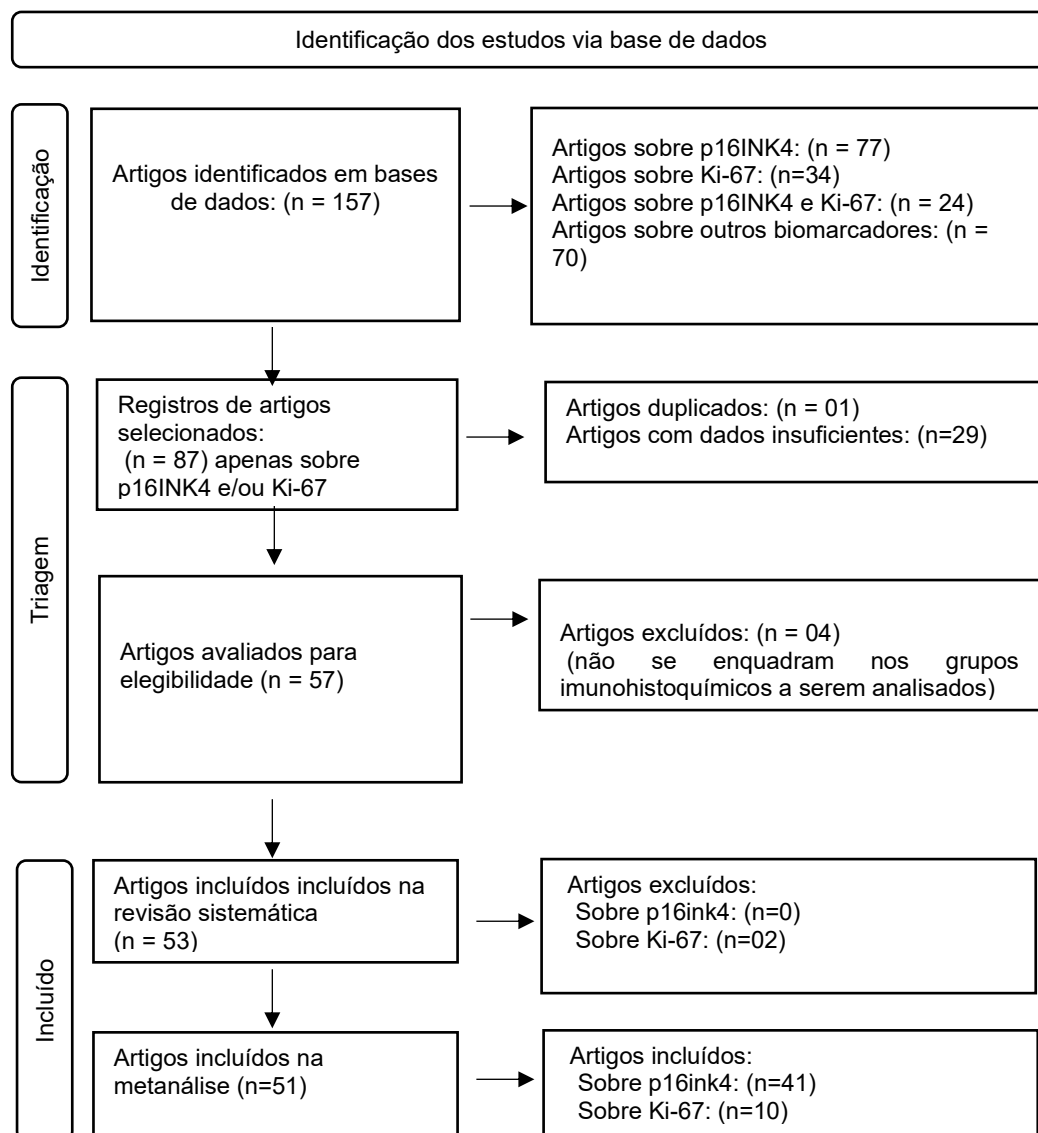


Figura 1 – Processo de seleção de estudos para revisão sistemática e metanálise. Recife (PE), Brasil, 2023.

O biomarcador p16INK4 (ou p16) foi o mais estudado nas HSIL no colo do útero, presente em 77 (55,79%) dos artigos encontrados. Em seguida, o biomarcador Ki-67 aparece em 34 (24,63%) dos artigos, seguido pelos outros 128 biomarcadores estudados em até sete (5,07%) dos artigos resultantes da busca. Destaca-se que alguns artigos

estudaram mais do que um biomarcador. Por exemplo, 25 artigos estudaram os biomarcadores p16 e Ki-67 simultaneamente.

Com base nos biomarcadores mais estudados em HSIL no colo uterino, foram selecionados, inicialmente, 57 artigos para este estudo. Contudo, foram incluídos 53 artigos, agrupados de acordo com os sete diferentes métodos de interpretação imunohistoquímica da expressão de p16 e três para a expressão de Ki-67: método “A” (coloração nuclear ou citoplasmática por camadas epiteliais: sem coloração ou coloração focal = negativa; marcação difusa = positiva); método “B” (marcação nuclear por camadas epiteliais: sem marcação = negativa; marcação focal e difusa = positiva); método “C” (marcação por % de células: 0% = negativa; >0% = positiva); método “D” (marcação por % de células: <1% de células marcadas = negativa; > ou igual a 1 = positiva); método “E” (marcação por % de células: <5% de células marcadas = negativa; > ou igual a 5% = positiva); método “F” (marcação por %: <10% = negativa; > ou igual a 10% = positiva); e método “G” (marcação por %: < ou igual a 25% = negativa; > 25% = positiva).

Além dos diferentes métodos de interpretação imunohistoquímica mencionados, foram encontrados outros métodos que usaram mais de um parâmetro de interpretação, sendo eliminados deste estudo.

A expressão do biomarcador p16 nos casos de HSIL no colo uterino foi analisada em 41 artigos entre 53 incluídos nesta revisão sistemática. Esses 41 artigos foram agrupados entre os sete diferentes métodos encontrados nos estudos, com 14 artigos no método “A”, seis, no método “B”, três, no método “C”, nove, no método “D”, três, no método “E”, quatro, no método “F”, e dois, no método “G”.

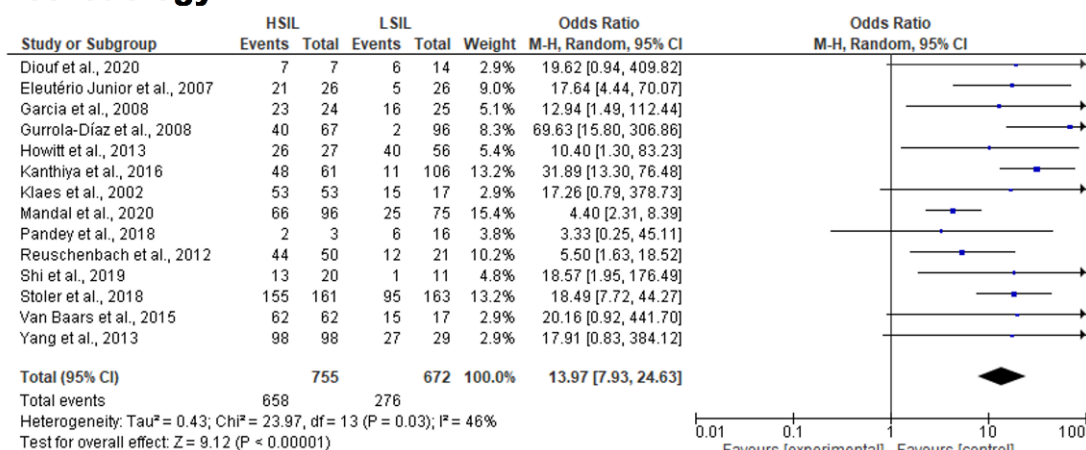
Já a expressão do biomarcador Ki-67 nos casos de HSIL no colo do útero foi analisado em 12 artigos entre 53 incluídos neste estudo. Esses artigos foram agrupados entre dois métodos de interpretação imunohistoquímica encontrados nos estudos, com cinco artigos no método “A”, cinco, no método “F”, e dois, no método “G”.

A seleção dos dados de desfecho para a metanálise foi realizada considerando a expressão dos biomarcadores p16 and Ki-67 nos casos de HSIL no colo uterino comparado ao controle definido como lesão intraepitelial escamosa de baixo grau no colo uterino. Esta análise foi realizada para cada um dos seis métodos de interpretação imunohistoquímica (de “A” a “F”) usados para interpretar expressão de p16 e/ou Ki-67 individualmente. Apenas no método “G” não foi possível gerar metanálise devido ao número insuficiente de estudos. Assim, foram incluídos na metanálise um total de 51 artigos: 41 para p16 e dez para Ki-67.

Em relação ao biomarcador p16, os métodos “A” e “D” foram os mais estudados para interpretação imunohistoquímica, enquanto o resultado da metanálise revela que o método

“A” representou o maior OR, com OR = 13,97 (IC95%: 7,93 - 24,63; Z = 9,12; $p < 0,00001$). Isso indica que o método “A” (coloração nuclear ou citoplasmática por camadas epiteliais: sem coloração ou coloração focal = negativa; marcação difusa = positiva) é mais eficiente para interpretar a expressão de p16 em HSIL e que mulheres com expressão positiva para p16 têm 13,97 vezes mais chance para desenvolver HSIL, quando comparadas com LSIL e aquelas sem expressão positiva para p16. O método “B” apresenta OR = 6,35 (IC95%: 4,18 – 9,65; Z = 8,67; $p < 0,00001$) para o biomarcador p16 (Figura 2).

Methodology A



Methodology B

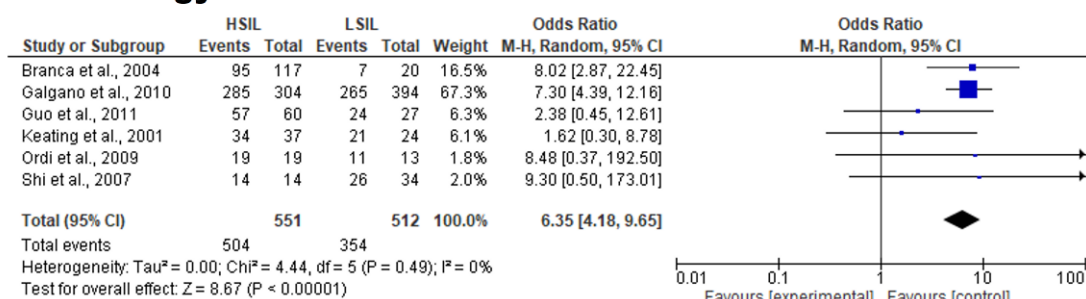
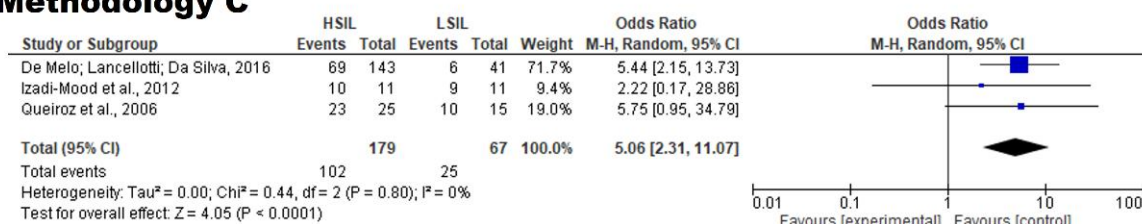


Figura 2 – Forest plots de comparações que usaram os métodos “A” e “B” para interpretar a expressão de p16 em lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino. Recife (PE), Brasil, 2023.

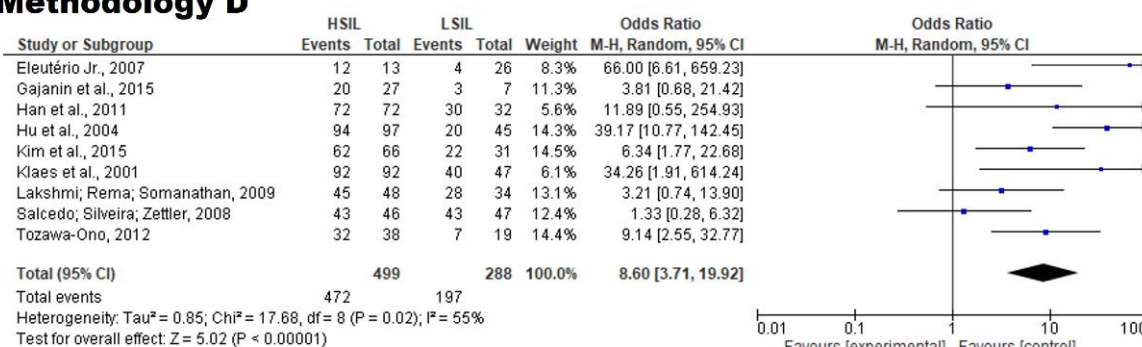
A Figura 3 mostra que o método “C” apresenta OR = 5,06 (IC95%: 2,31 – 11,07; Z = 4,05; $p < 0,0001$) para o biomarcador p16, o método “D” apresenta OR = 8,60 (IC95%: 3,71 – 19,72; Z = 5,02; $p < 0,0001$) e o método “E” apresenta OR = 11,99 (IC95%: 2,80 – 51,34; Z = 3,35; $p = 0,0008$) para o biomarcador p16. A Figura 4, por sua vez, mostra que o método

“F” apresenta OR = 6,93 (IC95%: 2,92 – 16,45; Z = 4,39; p < 0,0001) para o biomarcador p16.

Methodology C



Methodology D



Methodology E

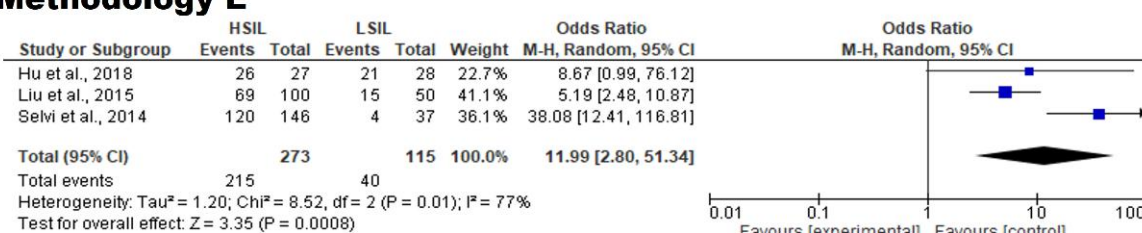


Figura 3 - Forest plots de comparações que usaram os métodos “C”, “D” e “E” para interpretar a expressão de p16 em lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino. Recife (PE), Brasil, 2023.

Methodology F

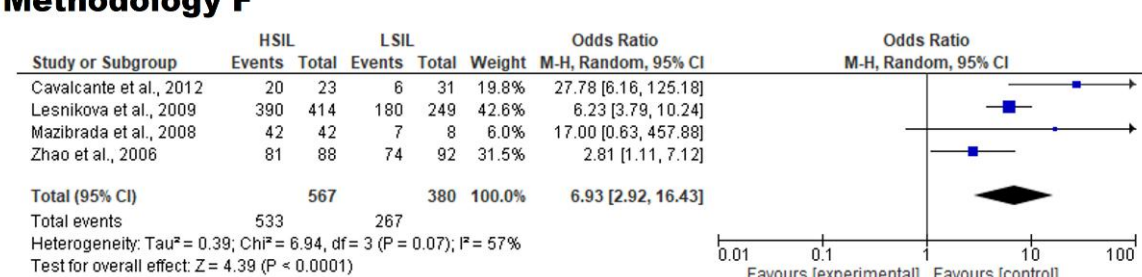
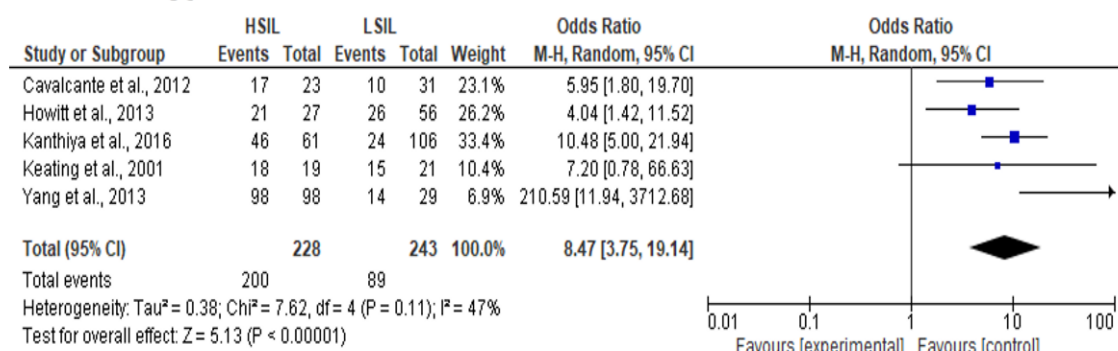


Figura 4 - *Forest plots* de comparações que usaram o método “F” para interpretar a expressão de p16 em lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino. Recife (PE), Brasil, 2023.

Os métodos “A” e “F” foram igualmente estudados para o biomarcador Ki-67 (Figura 5), mas o desfecho da metanálise revela que o método “A” representou o mais alto OR, com OR = 8,47 (IC95%: 3,75 – 19,14; Z = 5,13; p < 0,00001). Isso indica que o método “A” é também mais eficiente para interpretação da expressão de Ki-67 em HSIL, e que mulheres com expressão positiva para Ki-67 tem 8,47 vezes mais chance de desenvolver HSIL em relação ao LSIL, quando comparadas àquelas que não tem expressão positiva para Ki-67. A Figura 5 também mostra que o método “F” apresenta OR = 6,44 (IC95%: 2,11 – 19,66; Z = 3,27; p = 0,001) para o biomarcador Ki-67.

Methodology A



Methodology F

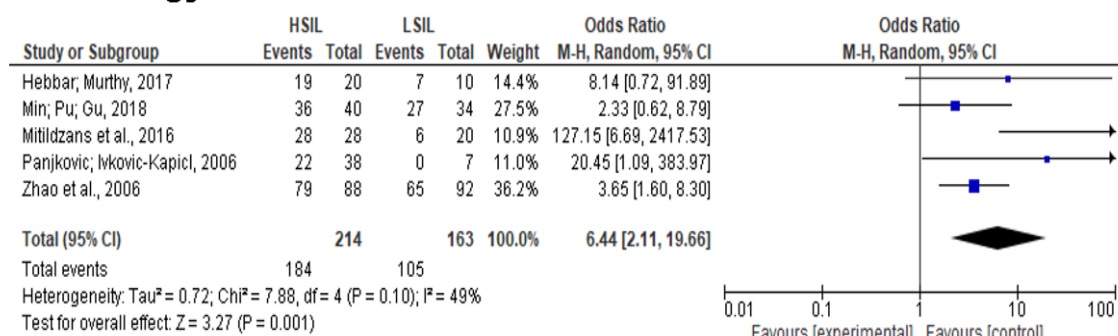


Figura 5 - *Forest plots* de comparações que usaram os métodos “A” e “F” para interpretar a expressão de Ki-67 em lesões intraepiteliais escamosas de alto grau no colo uterino. Recife (PE), Brasil, 2023.

Além disso, foi encontrada heterogeneidade em 14 comparações que usaram o método “A” para interpretar a expressão de p16 ($I^2 = 47\%$; $P = 0,03$). Por outro lado, em cinco comparações de interpretação da expressão do Ki-67 pelo método “A”, não foi detectada heterogeneidade ($I^2 = 47\%$; $P = 0,11$).

Discussão

Diante da dificuldade de diagnóstico diferencial entre as lesões do colo uterino, apenas pela morfologia, a imunohistoquímica (IHQ) se torna uma alternativa a ser aplicada para identificação de biomarcadores específicos de cada tipo de lesão.¹³ Na prática clínica, a IHQ já tem sido amplamente usada para diferentes tipos de câncer, e muitos estudos têm indicado a importância da sua aplicação não só para o diagnóstico, mas também para indicação de terapias personalizadas.¹⁴

Esta revisão sistemática indica que p16 e Ki-67 são os principais biomarcadores para HSIL do colo uterino. De fato, os biomarcadores se mostram mais eficazes na confirmação de presença de anomalias maiores, como no caso de HSIL, do que para alterações menores como LSIL.¹³ Vários estudos já destacaram a força da expressão desses dois biomarcadores em HSIL no colo do útero. A expressão do biomarcador p16 tem sido amplamente aplicada e estudada no diagnóstico de HSIL no colo uterino, enquanto que, em segundo plano, a expressão do biomarcador Ki-67 também se mostrou importante para esse diagnóstico.¹⁵⁻²⁰

Esses resultados podem ser relacionados à própria patogênese da HSIL, pois embora LSIL e HSIL estejam relacionadas à infecção pelo HPV, na HSIL, tem-se identificado a associação com tipos de HPV de alto risco, enquanto que LSIL apresenta principalmente HPV de baixo risco. Um dos HPV de alto risco mais encontrado entre pacientes com HSIL é o HPV-16, cuja maior persistência no organismo aumenta as chances de progredirem para neoplasias malignas devido à produção de oncogenes como E7.²¹⁻²⁴

Para compreender a relação da expressão dos biomarcadores p16 e Ki-67 com a patogênese de HSIL, é necessário considerar a biologia do ciclo celular. A proteína p16 (também conhecida como p16INK4A) é uma proteína supressora de tumor, a qual atua na regulação da progressão do ciclo celular por meio da inibição de quinase dependente de ciclina, mais especificamente a CDK4/6. Essa inibição impede a fosforilação da proteína retinoblastoma (pRB), a qual então continua a bloquear o fator de transcrição E2F, impedindo a transcrição de genes relacionados à progressão do ciclo celular.²⁵ Na infecção pelo HPV-16, há produção de oncoproteína viral E7, que se liga à pRB, inativando-a, e E2F

é liberado e então passa a atuar na expressão de genes que levarão à progressão do ciclo celular. Consequentemente, ocorre uma regulação positiva de p16, resultado de um mecanismo de *feedback* negativo da célula.²⁶

Além disso, como consequência da progressão desregulada do ciclo celular resultante da ação da oncoproteína viral E7, haverá aumento do número de mitoses. Ki-67 é uma proteína nuclear presente nas fases do ciclo celular, sendo usada, portanto, como marcador de proliferação celular para investigação de diagnósticos de neoplasias. Ressalta-se a importância da avaliação histopatológica por hematoxilina e eosina em conjunto para avaliar a presença de mitoses atípicas.^{13;27}

Portanto, a expressão difusa de p16 e Ki-67 está associada à patogênese da HSIL, a qual está relacionada à prevalência de HPV de alto risco e, assim, maior ação do oncogene E7. Este leva à desregulação do ciclo, com consequente superexpressão de p16, resultante do mecanismo de *feedback* negativo da célula, conforme descrito anteriormente, e aumento também da expressão de Ki-67, resultante do aumento do número de mitoses, quando comparados com LSIL.

Recente estudo de revisão mostrou a importância clínica do rastreamento do câncer cervical, enfatizando a necessidade e sucesso de diferentes ferramentas que direcionem precisamente a decisão clínica e o tratamento correto para o paciente, como a marcação dupla para p16/ki67.²⁸ Além disso, outros recentes estudos têm mostrado o papel da IHQ para p16 e ki67 na distinção entre HSIL e LSIL.²⁹⁻³¹ Porém, este estudo é a primeira revisão sistemática com metanálise a mostrar, de forma criteriosa, a relação da expressão desses biomarcadores como ferramenta complementar nos casos de diagnóstico diferencial de HSIL.

É importante destacar que, na presente revisão sistemática, observou-se que o diagnóstico imunohistoquímico para HSIL no colo do útero tem sido realizado por uma variedade de métodos de análise da marcação no tecido biológico, sendo que até sete diferentes métodos de interpretação imunohistoquímica foram identificados para interpretar as expressões de p16 e Ki-67. Este resultado indica a falta de padronização neste tipo de análise, podendo interferir no diagnóstico final. Estudo evidenciou que ainda existe dificuldades na interpretação da marcação IHQ, principalmente para p16.¹⁹ Portanto, para a metanálise, estabeleceram-se subgrupos segundo o método de interpretação imunohistoquímica utilizado nos dados extraídos, com o objetivo de reduzir a influência desse fator na heterogeneidade do tamanho do efeito entre os estudos.

Embora todas as análises dos subgrupos tenham mostrado uma relação positiva entre a presença dos biomarcadores e HSIL, nota-se que mesmo os diferentes métodos de

interpretação imunohistoquímica com classificação semelhante apresentam uma diferença importante na leitura da expressão dos biomarcadores. Entre os métodos encontrados, o método “A”, por meio de coloração nuclear ou citoplasmática por camadas do epitélio (sem coloração ou coloração focal = negativa; marcação difusa = positiva), apresenta maior significância para interpretação da expressão de p16 em HSIL, com o maior OR entre os subgrupos analisados (OR = 13,97; IC95%: 7,93 - 24,63; Z = 9,12; p < 0,00001), quando comparados à LSIL. Da mesma forma, este método teve maior significância para interpretação do biomarcador Ki-67, com maior OR (OR = 8,47; IC95%: 3,75 – 19,14; Z = 5,13; p<0,00001). Portanto, o método “A”, que considera coloração nuclear ou citoplasmática por camadas do epitélio, sendo sem coloração ou coloração focal considerado negativo e marcação difusa considerada positiva, foi o que mostrou maior OR. Tal resultado indica que o método de análise da IHQ pode aumentar as chances de identificar casos clínicos de HSIL e, assim, interferir na tomada de decisão em relação ao paciente.

Algumas limitações desta revisão sistemática e metanálise se referem à inclusão apenas de biomarcadores imunohistoquímicos, mas existem outros marcadores a serem estudados neste contexto, como marcadores imunológicos e genéticos. Ainda, o desenho do estudo gerou um tempo prolongado para a busca, análise e interpretação dos dados. Portanto, é possível que artigos recentes não tenham sido incluídos nesta revisão e metanálise.

Conclusão

O diagnóstico de HSIL no colo do útero pode ser realizado por diferentes métodos. Para garantir a segurança clínica da mulher, é fundamental seguir evidências científicas, com critérios específicos. Esta revisão sistemática com metanálise contribui para validação dos biomarcadores p16 e Ki-67 como os mais relevantes no diagnóstico histopatológico de HSIL, em comparação à LSIL. Além disso, descreve os distintos métodos de interpretação da expressão de p16 e Ki-67, indicando que o método que classifica a coloração nuclear ou citoplasmática por camadas do epitélio (sem coloração ou coloração focal = negativa; marcação difusa = positiva) apresenta maior significância para interpretação de ambos os biomarcadores em HSIL.

Contribuições dos autores

Concepção do estudo: Nirliane Ribeiro Barbosa, Luciana Xavier Pereira. **Coleta de dados:** Nirliane Ribeiro Barbosa, Luciana Xavier Pereira, Salviane dos Santos Barbosa, Anderson Ferreira Barbosa. **Análise e interpretação dos dados:** Nirliane Ribeiro Barbosa, Luciana Xavier Pereira, Edilson Leite de Moura. **Redação do manuscrito:** Nirliane Ribeiro Barbosa, Luciana Xavier Pereira. **Revisão crítica do manuscrito:** Edilson Leite de Moura, Elaine Virgínia Martins de Souza Figueiredo, Karol Fireman de Farias, Teresinha Gonçalves da Silva. **Aprovação da versão final do texto:** Nirliane Ribeiro Barbosa, Luciana Xavier Pereira, Edilson Leite de Moura, Elaine Virgínia Martins de Souza Figueiredo, Karol Fireman de Farias, Teresinha Gonçalves da Silva.

Conflito de interesse

Os autores declaram que receberam apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, sem que a fonte financiadora tenha participado da elaboração do presente artigo. Não há outros interesses financeiros ou relações pessoais que possam ser considerados como potenciais conflitos de interesse.

Financiamento

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, por meio do Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde 06/2016.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, pelo apoio financeiro. Ademais, manifestam gratidão ao médico e professor Hamilton Pimentel dos Santos Filho, pela contribuição na revisão do conteúdo.

Referências

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de ciência, tecnologia, inovação e do complexo econômico-industrial da saúde [Internet]. Portaria conjunta SAES/SECTICS NO 13, de 29 de julho de 2025. Aprova as Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer de Colo do Útero: Parte I – Rastreamento organizado utilizando testes moleculares para detecção de DNA-HPV Oncogênico. 2025. Available from: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2025/aprovada-diretrizes-brasileiras-para-o-rastreamento-do-cancer-de-colo-do-utero>.
2. Manga SM, Ye Y, Nulah KL, Manjuh F, Fokom-Domgue J, Scarinci I, et al. Human papillomavirus types and cervical cancer screening among female sex workers in Cameroon [Internet]. *Cancers*. 2024;16: 1-17. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers16020243>.

3. World Health Organization [Internet]. Guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention. 2021. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030824/>.
4. Zanine RM. Doenças do Trato Genital Inferior e Colposcopia: um enfoque na terapêutica. 1 ed. Rio de Janeiro: Thieme Revinter; 2021.
5. Lorenset LC, Zanine RM. Reliability of negative cone specimens of the cervix: A review [Internet]. Ann Diagn Pathol. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2022.151929>
6. Melo CAF, Uttagawa ML. Expressão imuno-histoquímica dos biomarcadores p16 e Ki-67 na lesão intraepitelial cervical de alto grau: revisão de estudos [Internet]. RBAC. 2021;53 (3): 228-231. DOI: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202202030>
7. Barbosa NR, Pereira, LX, Farias KF, Silva TG, 2020. High-grade squamous intraepithelial lesion in uterine cervix: a systematic review with meta-analysis [Internet]. International prospective register of systematic reviews/ PROSPERO.1-12. Available from: <https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/view/CRD42020210747>.
8. Galvão TF, Tiguman GMB, Sarkis-Onofre R. A declaração PRISMA 2020 em português: recomendações atualizadas para o relato de revisões sistemáticas [Internet]. Epidemiol. Serv. Saúde. 2022;31(2). DOI: <https://doi.org/10.1590/SS2237-9622202200011>.
9. Roever L, Gomes-Neto M, Durães AR, Reis PEO, Pollo-Flores P, Silva RML, Resende ES. Compreendendo o GRADE: PICO e qualidade de estudos [Internet]. Rev Soc Bras Clin Med. 2021;19 (1):54-61. Available from: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/03/1361752/54-61.pdf>.
10. De Moura EL, Dos Santos ACM, Da Silva DM, Dos Santos BB, Figueredo DS, Moura AWA, et al. Association of polymorphisms in cytokine genes with susceptibility to precancerous lesions and cervical cancer: a systematic review with meta-analysis [Internet]. Immunol Invest. 2020;50:492-526. DOI: <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1778023>.
11. Higgins JPT, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis [Internet]. Stat Med. 2002;21:1539-58. DOI: <https://doi.org/10.1002/sim.1186>.
12. Dersimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials [Internet]. Controlled Clinical Trials. 1986;7:177-188. DOI: [https://doi.org/10.1016/0197-2456\(86\)90046-2](https://doi.org/10.1016/0197-2456(86)90046-2).
13. Kamal M. Pré-cânceres cervicais: biópsia e imuno-histoquímica [Internet]. CytoJournal. 2022;19 (38):1-17. DOI: https://doi.org/10.25259/CMAS_03_13_2021.
14. Mebratie DY, Dagnaw GG. Revisão de técnicas de imunohistoquímica: aplicações, estado atual e perspectivas futuras [Internet]. Seminars in Diagnostic Pathology. 2024;41(3):154-160. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semmp.2024.05.001>.
15. Bittencourt DD, Zanine RM, Ribas CAPM, Czezczko NG, Tabushi FI. Avaliação epidemiológica e expressão dos marcadores P16/Ki-67 como fatores de risco na persistência ou recidiva da lesão intraepitelial de alto grau [Internet]. Scielo preprints. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.4132>.

16. Dovnik A, Repše Fokter A. O papel da coloração dupla p16/Ki67 no rastreamento do câncer cervical [Internet]. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2023;45:8476–8491. DOI: <https://doi.org/10.3390/cimb45100534>.
17. Zuberi Z, Mremi A, Chilongola JO, Semango G, Sauli E. Análise da expressão dos biomarcadores proteicos p16 e TOP2A em lesões de câncer cervical e sua correlação com características clínico-histopatológicas em um hospital de referência, Tanzânia [Internet]. *PLoS ONE*. 2021;16(10):e0259096. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259096>.
18. Ding L, Song L, Zhao W, Li X, Gao W, Qi Z, Wang J. Valor preditivo das características imunoqualitativas de p16INK4a, Ki-67 e ProExC na progressão de LSIL para HSIL [Internet]. *Exp Ther Med*. 2020;19:2457-2466. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8496>
19. Liu J, Su S, Liu Y. O valor do Ki67 para o diagnóstico de LSIL e os problemas do p16 no diagnóstico de HSIL [Internet]. *Sci Rep*. 2022;12:7613. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11584-z>.
20. Feitoza EN, Oliveira D de O, Carvalho BM, Andrade ML. Diagnóstico precoce do câncer de colo do útero utilizando biomarcadores tumorais P16 e Ki67: uma revisão sistemática [Internet]. *Braz. J. Hea. Rev.* 2023;6(3):13881-90. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n3-427>.
21. Tao X, Austin M, Yu T, Zhong F, Zhou X, Cong C et al. Estratificação de risco para neoplasia cervical usando genotipagem estendida de HPV de alto risco em mulheres com citologia ASC-US: um grande estudo retrospectivo da China [Internet]. *Cancer Cytopathology*. 2022;130(4):248-252. DOI: <https://doi.org/10.1002/cncy.22536>.
22. Luo Q, Zeng X, Luo H, Pan L, Huang Y, Zhang H, Han N. Características epidemiológicas do HPV de alto risco e a correlação entre infecções múltiplas e lesões cervicais [Internet]. *Doenças Infecciosas BMC*. 2023;23(667):1-14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08634-w>.
23. Liu Q, Chen L, Yu M, Zhou X, Zhang X, Zheng W, Niu S, Zhou F. Prevalência de pré-cânceres ou cânceres cervicais em mulheres com citologia ASC-H/HSIL de acordo com os genótipos de HPV detectados pelo ensaio Aptima HPV (AHPV) e idade [Internet]. *J Câncer*. 2024;15(1):140-148. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.89715>.
24. Khieu M, Butler SL. High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion of the Cervix. [Updated 2023 Nov 12]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430728/>
25. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4 [Internet]. *Nature*. 1993;366:704-707. DOI: <https://doi.org/10.1038/366704a0>.
26. Khleif SN, DeGregori J, Yee CL, Otterson GA, Kaye FJ, Nevins JR, Howley PM. A inibição da atividade da ciclina D-CDK4/CDK6 está associada à indução mediada por E2F da atividade inibidora da ciclina quinase [Internet]. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*. 1996;93:4350-4354. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.93.9.4350>.
27. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: mais que um marcador de proliferação [Internet]. *Chromosoma*. 2018;127:175–186. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00412-018-0659-8>.

28. Perkins RB, Wentzensen N, Guido RS, Schiffman M. Rastreamento do câncer Cervical: uma revisão [Internet]. JAMA. 2023;330(6):547-558. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2023.13174>.
29. Hosseini MS, Talayeh M, Moghaddam NA, Arab N, Farzaneh F, Ashrafganjoei T. Comparação do índice Ki67 e da expressão de P16 em diferentes graus de lesões intraepiteliais escamosas cervicais [Internet]. Caspian J Intern Med. 2023;14(1):69-75. DOI: <https://doi.org/10.22088/cjim.14.1.69>.
30. Wu M, Wang SY, Zheng M, Tian LX, Wu X, Guo K, Zhang Y, Wu G. A utilidade diagnóstica da imunocoloração p16 na diferenciação de câncer e HSIL de LSIL e benigno em células cervicais [Internet]. Transplante celular. 2019;28(2):195-200. DOI: <https://doi.org/10.1177/0963689718817478>.
31. Silva DC, Gonçalves AK, Cobucci RN, Mendonça RC, Lima PH, Júnior GC. Expressão imuno-histoquímica de p16, Ki-67 e p53 em lesões cervicais – Uma revisão sistemática [Internet]. Pathology – Research and Practice. 2017;213(7):723–729. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2017.03.003>.