Artículo original
Ginecol Obstet Mex. 2021; 89 (4): 286-298.

Reclasificación de las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (NIC2) del cuello uterino con el marcador p16

Reclassification of high-grade squamous intraepithelial lesions (CIN2) of cervix, with p16 marker.

Lía Barrios, Daniel Becerra, Inés Benedetti

Resumen

OBJETIVO: Reclasificar biopsias de cuello uterino con LIE-AG-NIC2 utilizando hematoxilina eosina y p16, estimar la asociación de la clasificación errada con el factor de riesgo edad y determinar el desempeño diagnóstico de p16 para definir la existencia de LIE-AG.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio prospectivo, de serie de casos, llevado a cabo en la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena, Colombia. Se incluyeron biopsias de cuello uterino diagnosticadas durante un año con LIE-AG-NIC2. Se incluyeron casos con seguimiento (cono o histerectomía) y se excluyeron los que no tenían tejido archivado. La expresión de p16 se determinó mediante inmunohistoquímica. Los reclasificaron dos patólogos en dos grupos (≤LIE-BG/≤NIC1 y LIE-AG/≥NIC2) aplicando hematoxilina eosina y p16. Para la reclasificación con p16 se aplicaron χ^2 y prueba de Fisher y para hematoxilina eosina se tomó p16 como referencia. Se obtuvo la proporción de muestras reclasificadas y la OR de la relación de éstas con los grupos etarios (menos de 30 años y más o menos mayores de 30 años).

RESULTADOS: Se incluyeron 39 casos. De los estudios de seguimiento, 10 de 39 resultaron negativos para LIE-AG/≥NIC2. Dieciocho de los 39 casos evaluados con p16 se reclasificaron en ≤LIE-BG/ ≤NIC1, de estos 10 correspondieron a menores de 30 años. 15 de los 18 casos reclasificados como LIE-AG/≥NIC2 pertenecían a pacientes ≥ 30 años (OR = 0.368, IC95%: -1.53). La concordancia interobservador para determinar resultado ≥ NIC2 con hematoxilina eosina fue pobre, y con p16 fue moderado.

CONCLUSIONES: La evaluación de las biopsias de cuello uterino con el marcador p16, junto con hematoxilina eosina, tiene mayor reproducibilidad diagnóstica que solo utilizando hematoxilina eosina, que aumenta la concordancia interobservador y reduce el tratamiento innecesario, sobre todo en mujeres menores de 30 años.

PALABRAS CLAVE: Inmunohistoquímica; hematoxilina eosina; variación interobservador; reproducibilidad de los resultados.

Abstract

OBJECTIVE: To reclassify cervical biopsies with LIE-AG-NIC2 using hematoxylin eosin and p16, to estimate the association of misclassification with risk factor age, and to determine the diagnostic performance of p16 in defining the existence of LIE-AG.

MATERIALS AND METHODS: Prospective, case series study carried out at the Faculty of Medicine of the University of Cartagena, Colombia. Cervical biopsies diagnosed during one year with LIE-AG-NIC2 were included. Cases with follow-up (cone or hysterectomy) were included and those without archived tissue were excluded. Expression of p16 was determined by immunohistochemistry. They were reclassified by two pathologists into

Grupo de Investigación en Histopatología, Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena, Colombia.

Recibido: noviembre 2020
Aceptado: diciembre 2020

Correspondencia
Inés Benedetti
ebenedettip1@unicartagena.edu.co

Este artículo debe citarse como: Barrios L, Becerra D, Benedetti I. Reclasificación de las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (NIC2) del cuello uterino con el marcador p16. Ginecol Obstet Mex. 2021; 89 (4): 286-298.
https://doi.org/10.24245/gom.v89i4.4887

two groups (≤LIE-BG/≤NIC1 and LIE-AG/≥NIC2) applying hematoxylin eosin and p16. 2 and Fisher's test were applied for reclassification with p16 with respect to reclassification with hematoxylin eosin, taking p16 as reference. The proportion of reclassified samples and the OR of the relationship of these with the age groups (less than 30 years and more or less older than 30 years) were obtained.

RESULTS: Thirty-nine cases were included. Of the follow-up studies, 10 of 39 were negative for LIE-AG/≥NIC2. Eighteen of the 39 cases evaluated with p16 reclassified to ≤LIE-BG/ ≤NIC1, of these 10 corresponded to those younger than 30 years. Fifteen of the 18 of the 18 of the cases reclassified as LIE-AG/≥NIC2 belonged to patients ≥ 30 years (OR = 0.368, 95%CI = 0.08-1.53). Interobserver agreement for determining outcome ≥ NIC2 with hematoxylin eosin was poor, and with p16 was moderate.

CONCLUSIONS: Evaluation of cervical biopsies with the p16 marker along with hematoxylin eosin has greater diagnostic reproducibility than only using hematoxylin eosin, which increases interobserver agreement and reduces unnecessary treatment, especially in women younger than 30 years.

KEYWORDS: Immunohistochemistry; Hematoxylin Eosine; Observer variation; Reproducibility of Results; Colombia.

ANTECEDENTES

La terminología utilizada para describir las lesiones premalignas del cuello uterino ha cambiado a lo largo de las últimas décadas.[1] En el 2012 se decidió adoptar el modelo de dos niveles del Sistema Bethesda, denominándolas lesión intraepitelial escamosa (LIE) de bajo grado (LIE-BG) y de alto grado (LIE-AG); LIE-BG es equivalente a neoplasia intraepitelial cervical (NIC) grado 1 (NIC1), y LIE-AG equiparable a NIC2-NIC3 de la antigua clasificación.[1]

El diagnóstico de lesión intraepitelial escamosa se basa en los hallazgos histopatológicos con coloración de rutina (hematoxilina eosina: HE) de la biopsia cervical, considerado el patrón de referencia para las conductas clínicas actuales.[2] Las pacientes con LIE-BG/NIC1 se tratan conservadoramente con observación y seguimiento, mientras que en quienes tienen LIE-AG/NIC2-3 se indica tratamiento escisional.[3] Un sobrediagnóstico histopatológico o falso positivo conduce a tratamiento innecesario que puede tener una repercusión negativa en la vida reproductiva de las mujeres[3-6] e incrementar los costos ocasionados al sistema de salud.[7]

Si bien los patólogos interpretan los hallazgos morfológicos en las biopsias cervicales de una forma segura, rápida y costo-efectiva, aplicando una serie de técnicas heurísticas para apoyar su evaluación, a veces puede haber sesgo y error asociados, con repercusión significativa en el diagnóstico.[8,9] Por ello, en la interpretación de los hallazgos histológicos de la NIC se ha descrito una alta variabilidad diagnóstica interobservador e intraobservador,[10-20] sobre todo para las LIE-AG = NIC 2.[21]

Las habilidades para identificación y clasificación de las lesiones intraepiteliales escamosas están debidamente apoyadas por los recursos existentes pero han sido poco reconocidas las ventajas de otros recursos de apoyo diagnóstico que permiten mejorar los desenlaces, identificando y

evitando los posibles sesgos asociados.[1,22] Varios estudios[23-33] han demostrado que la adición de inmunohistoquímica con el marcador p16 a la tinción hematoxilina eosina aumenta notablemente la concordancia interobservador en cuanto a presencia o ausencia de lesión, y a la gradación de dichas lesiones; además, facilita el diagnóstico diferencial entre las lesiones simuladoras[34] y las verdaderas LIE-AG, pues p16 tiene elevada sensibilidad para detectar ≥NIC2 (NIC2-NIC3), alta especificidad, su evaluación es fácil y reproducible, y aunque su uso rutinario no está estipulado, se ha aceptado para los casos dudosos.

Los diagnósticos basados en p16 reducirían la frecuencia de LIE-AG/NIC2-3, sobre todo en pacientes menores de 30 años con alta prevalencia de infecciones transitorias por VPH y baja incidencia de cáncer de cuello uterino, y se reducirían los tratamientos innecesarios evitando las complicaciones en la vida reproductiva, enfocando la atención en determinar si la enfermedad precancerosa está verdaderamente presente, o si la lesión pudiera tratarse con seguridad con un enfoque conservador.[1,35,36,37]

Para aportar evidencia adicional a estos planteamientos, los objetivos de este trabajo fueron: reclasificar con hematoxilina eosina y p16 biopsias de cuello uterino diagnosticadas como LIE-AG/NIC2, estimar la asociación de la clasificación errada con el factor de riesgo edad, y determinar el desempeño diagnóstico de p16 para definir la existencia de LIE-AG.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio prospectivo, de serie de casos, llevado a cabo en la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena, Colombia. Criterios de inclusión: biopsias de cuello uterino diagnosticadas histológicamente como LIE-AG/NIC2 en el lapso de un año, en un laboratorio de referencia para patología cervical. Se seleccionaron los casos con estudio de seguimiento (cono o histerectomía) y excluyeron los que carecían del corte histológico o bloque de tejido archivado. Los casos completos incluidos (cortes y bloques de tejido) con primer y segundo estudio histopatológico se reevaluaron y reclasificaron en dos grupos (≤LIE-BG/≤NIC1 y LIE-AG/≥NIC2) con la aplicación de hematoxilina eosina y p16. Las evaluaciones de los cortes histológicos las hicieron dos patólogos de manera independiente, sin acceso a la historia clínica ni a los estudios de seguimiento, solo con el conocimiento del resultado previo de NIC2.

Interpretación y reclasificación de los hallazgos histológicos con hematoxilina eosina

Al reevaluar los cortes histológicos con hematoxilina eosina se siguió la clasificación de Kumar (2015)[38] y los resultados se categorizaron en: LIE-BG/NIC1, LIE-AG/NIC2, LIE-AG/NIC3 y negativo para LIE. Se obtuvo la proporción de casos reclasificados en las diferentes categorías por los dos observadores.

Inmunohistoquímica, interpretación y reclasificación con el marcador p16

Se tomaron nuevos cortes seriados a un bloque de tejido de cada caso y se procesaron con inmunohistoquímica, siguiendo las recomendaciones del fabricante, con el estuche comercial CINtec® Histology (Roche® Manheim, Germany) que usa un anticuerpo primario monoclonal de ratón clon E6H4® dirigido a la proteína humana $p16^{INK4a}$.

La tinción con p16 la evaluaron los mismos dos patólogos, sin conocimiento de los resultados de la reclasificación previa con hematoxilina eosina. Se clasificaron en: positivos para p16 y negativos para p16, según los criterios de Klaes.[24] Los casos positivos se dividieron según

https://doi.org/10.24245/gom.v89i4.4887

los tercios del epitelio escamoso que mostraron tinción en: 1/3 (LIE-BG/NIC1), 2/3 (LIE-AG/NIC2) y 3/3 (LIE-AG/NIC3),(**Figura 1**). Se categorizaron en negativos para p16: falta de tinción, tinción focal, dispersa o tenue, y patrones de tinción citoplasmáticos de tipo gota, dispersos y de células individuales. Los casos discrepantes se revisaron en conjunto para llegar a un consenso.

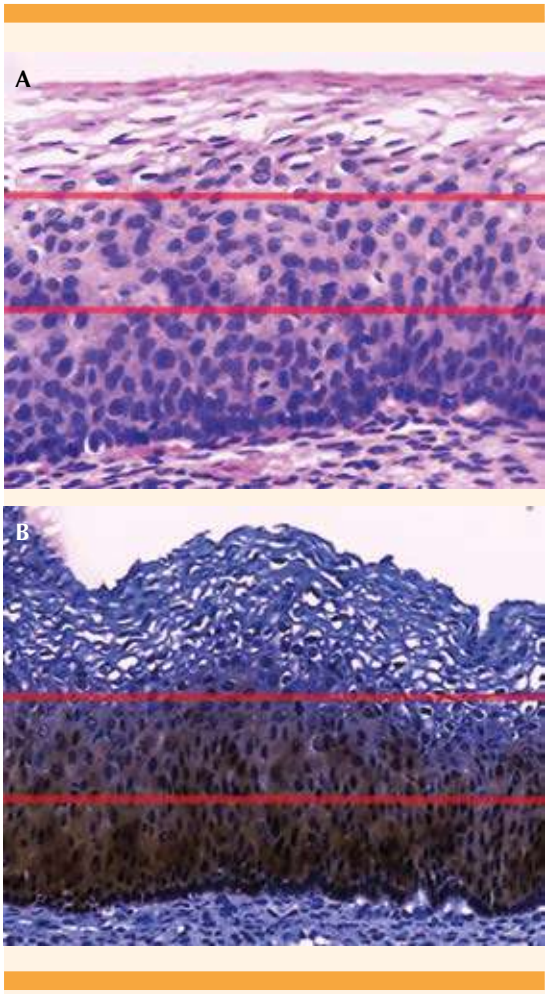


Figura 1. Cortes histológicos de biopsia de cuello uterino con LIE-AG-NIC2. La lesión afecta los dos tercios inferiores (líneas rojas) del epitelio escamoso teñido con hematoxilina eosina **(A)**, con tinción positiva para p16 en la misma localización **(B)**. A: hematoxilina eosina, 40X; B: inmunohistoquímica p16, 40X.

Se correlacionaron los hallazgos de la reclasificación con p16 con los de los estudios de seguimiento, para evaluar el desempeño diagnóstico de este marcador para detectar LIE-AG.

Los datos se registraron en una base de datos de Microsoft Excel. Se utilizó la prueba *Xhm* (χ de Haenszel Mantel) asumiendo un nivel de significación del 95%. Se utilizó la prueba de χ^2 y la prueba exacta de Fisher para los resultados obtenidos con la clasificación a partir del marcador p16 con respecto a los resultados de la reclasificación con hematoxilina eosina; la prueba de referencia fue el marcador p16. Se obtuvieron los valores predictivos positivos y negativos (VPN), porcentajes de falsos positivos (FP) y de falsos negativos (FN) de la reclasificación con hematoxilina eosina y con p16, usando los grupos previamente definidos: ≤LIEBG/≤NIC1 y LIE-AG/≥NIC2.

Se obtuvieron la proporción de muestras reclasificadas y la razón de momios de la relación de éstas con los grupos etarios (menos de 30 años y más de 30 años). La reproducibilidad diagnóstica se midió de forma cualitativa mediante el estadístico kappa, siguiendo los valores de referencia de Landis y Koch: 0.81 a 1.0 casi perfecto; 0.61 a 0.8 sustancial; 0.41 a 0.6 moderado; 0.21 a 0.4 razonable; 0 a 0.2 escaso, y kappa menor de 0.0 pobre.[39] Para todos los análisis se utilizó Microsoft Excel® (Microsoft corporation, Redmond, USA) y se consideró estadísticamente significativo el valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

A partir de las 156 biopsias con diagnóstico de LIE-AG-NIC2 se seleccionaron 40 casos con estudio de seguimiento (cono o histerectomía). Se excluyó un caso por ausencia del corte histológico. Al final se incluyeron 39 casos con diagnóstico de NIC2 con segundo estudio histopatológico de seguimiento, de éstos 3

correspondieron a conos; 2 a histerectomías y a biopsias de cuello uterino. Los resultados fueron: NIC1 en el 26% (n = 10), NIC2 en el 31% (n = 12), y NIC3 en el 43% (n = 17). La concordancia encontrada fue de 31% entre el diagnóstico inicial y el segundo estudio, con un kappa escaso (0.01).

Después de la reclasificación en consenso con hematoxilina eosina por los dos evaluadores, se obtuvieron los siguientes diagnósticos: NIC1: 31% (n = 12), NIC2: 41% (n = 16), NIC3: 18% (n = 7) y negativo para LIE: 10% (n = 4); es decir que, de este consenso, el 41% (n = 16) de los casos se reclasificaron en ≤LIE-BG/≤NIC1 y el 59% (n = 23) en LIE-AG/≥NIC2.

El consenso entre observadores para la reclasificación con el marcador p16 dio como resultado: NIC1: 16% (n = 6), NIC2: 37% (n = 14), NIC3: 16% (n = 6), y 31% (n = 12) negativos para p16. En conclusión, en este consenso el 47% (n = 18) de los casos se recategorizaron en ≤LIE-BG/≤NIC1 y el 53% (n = 20) en LIE-AG/≥NIC2. En algunos casos la reclasificación con hematoxilina eosina y con p16 por separado de cada uno de los observadores mostró resultados divergentes. **Figura 2**

En relación con los grupos etarios establecidos, la distribución porcentual de los casos reclasificados con el marcador p16, en común acuerdo por ambos observadores, mostró que un alto porcentaje de las lesiones de pacientes menores de 30 años se reclasificaron a NIC1, en contraste, la mayoría de las lesiones de pacientes ≥ 30 años permaneció como LIE-AG/≥NIC2. **Cuadro 1**

Entre los casos reclasificados con hematoxilina eosina como negativos para LIE, que fueron p16-negativos, se encontraron biopsias con: metaplasia escamosa, hiperplasia de células basales y cervicitis. Las imágenes histológicas de algunos casos estudiados y sus reclasificaciones con hematoxilina eosina y p16 se muestran en la **Figura 3.** En algunos casos se confirmó el diagnóstico de NIC2, y otros se reclasificaron; sin embargo, debe resaltarse que todos estos casos se habían diagnosticado en LIE-AG y, por lo tanto, se trataron con conización. **Figura 3**

En la reclasificación con hematoxilina eosina se obtuvo un valor kappa de 0.38 y de kappa de 0.53 en la reclasificación con p16, en relación con el diagnóstico de NIC2; y un valor de kappa de 0.94 para la reclasificación con p16 al comparar los reportes de los dos observadores. El estadístico kappa al comparar los resultados de los casos con el marcador p16 y los resultados del estudio de seguimiento fue de 0.02 (escaso). La concordancia interobservador fue mucho más alta en la reclasificación con el marcador p16 que en la reclasificación con hematoxilina eosina, y los tipos de discordancia encontrados con mayor frecuencia fueron para el diagnóstico de las LIE-BG. **Figura 4**

Los porcentajes de FP y FN, así como los valores predictivos positivos, negativos, sensibilidad y especificidad derivados de la reclasificación con hematoxilina eosina, con respecto a los resultados de los estudios de seguimiento, mostraron alto valor predictivo positivo y sensibilidad y especificidad moderadas (**Cuadro 2**, fila1). Estos mismos porcentajes, derivados de la reclasificación con p16 con respecto a los resultados de los estudios de seguimiento, resultaron en leve disminución de la sensibilidad (**Cuadro 2**, fila 2). Sin embargo, los porcentajes de sensibilidad y especificidad de la reclasificación con hematoxilina eosina, teniendo a la reclasificación con p16 como patrón de referencia, fueron mucho más altos que los descritos (**Cuadro 2,** fila 3).

Los resultados de la evaluación de la prueba *Xhm* y el OR para reclasificación con el marcador p16, según los grupos etarios establecidos,

https://doi.org/10.24245/gom.v89i4.4887

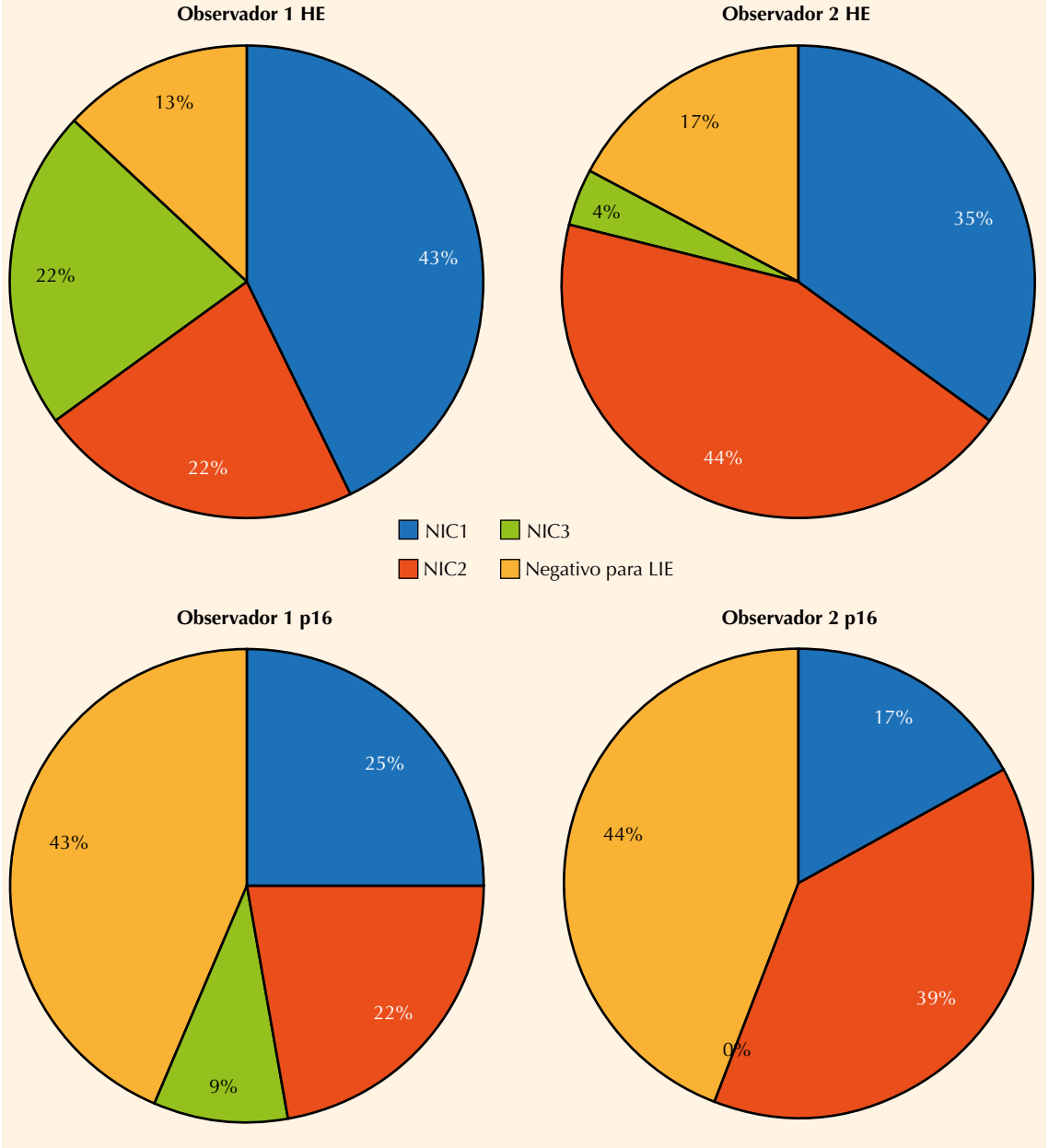


Figura 2. Reclasificación, en tinción de hematoxilina eosina y de inmunohistoquímica para p16, de las biopsias con diagnóstico inicial de NIC2. Los cortes histológicos coloreados con hematoxilina eosina (arriba) y con tinción inmunohistoquímica para p16 (abajo) se evaluaron y recategorizaron por dos patólogos, denominados observador 1 y observador 2. Se muestran las proporciones de los diagnósticos establecidos por cada uno de ellos. NIC1 = neoplasia intraepitelial cervical 1. NIC2 = neoplasia intraepitelial cervical 2. NIC3 = neoplasia intraepitelial cervical 3. Negativo para LIE = lesiones simuladoras de NIC o ausencia de hallazgos anormales.

Cuadro 1. Distribución por grupos etarios de la reclasificación con el marcador p16 según el consenso interobservador

	Resultado de reclasificación con p16			
Grupo etario	≤ NIC1 n = 18	NIC2 n = 14	NIC3 n = 6	Total n = 38
Menores de 30 años	10 (55.6%)	3 (21.4%)	0 (0%)	13 (34.3%)
Más o menos mayores de 30 años	8 (44.4%)	11 (78.6%)	6 (100%)	25 (65.7%)

NIC1: neoplasia intraepitelial cervical grado 1, lesiones simuladoras o ausencia de hallazgos anormales. NIC2: neoplasia intraepitelial cervical grado 2. NIC3: neoplasia intraepitelial cervical grado 3.

se resumen en el **Cuadro 3a**. La significación estadística, los valores de χ^2 y de la prueba exacta de Fisher encontrados para los resultados de la reclasificación con hematoxilina eosina con respecto al marcador p16, teniendo como referencia esta última prueba, se muestran en el **Cuadro 3b.**

DISCUSIÓN

La falta de precisión del diagnóstico histopatológico de las lesiones intraepiteliales del cuello uterino, a partir del estudio con hematoxilina eosina, puede llevar a tratamiento excesivo en pacientes con lesiones simuladoras o LIE-BG, o a tratamiento insuficiente en pacientes con LIE-AG.[19,20] Está demostrado que los diagnósticos de NIC no son totalmente reproducibles con este método,[10-18] sobre todo en el caso de NIC2 debido a la considerable variabilidad inter e intraobservador.[21] Está descrito que la adición de inmunohistoquímica con p16 aumenta notablemente la concordancia interobservador y mejora la sensibilidad y especificidad para la detección de las lesiones intraepiteliales producidas por VPH de alto riesgo.[23-29,40]

La proteína p16^{INK4a} es un inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina que participa en la regulación del ciclo celular de manera inhibitoria.[41] Está demostrado que las altas concentraciones de la proteína E7 del VPH desencadenan señales de estrés oncogénico e inducen remodelación epigenética que lleva a la sobreexpresión de la proteína p16,^{INK4a} que puede detectarse por inmunohistoquímica.[42] Diversos estudios demuestran que más del 99% de las NIC3 son p16-positivas; mientras solo 5 a 30% de las biopsias histológicamente negativas (LIE-BG/NIC1) lo son,[1,43] estas generalmente muestran un patrón de tinción de "tercio inferior" y, en muchos casos, en retrospectiva se demuestran pequeñas áreas con LIE-AG que no se habían detectado en las biopsias.[23,44] Además, se ha demostrado que la lectura conjunta de los cortes con tinción hematoxilina eosina y con la inmunotinción para p16 en cortes consecutivos de la misma muestra de tejido del cuello uterino mejora la precisión diagnóstica y la concordancia interobservador para el diagnóstico de NIC, sobre todo de NIC2.[23-29]

En nuestro estudio, en un alto porcentaje de los casos se obtuvo un diagnóstico diferente a NIC2 en el estudio de seguimiento; de estos, los resultados negativos para LIE-AG/≥NIC2 pueden estar relacionados con una lesión que haya sido resecada en su mayor parte o en su totalidad, o con un sobrediagnóstico en la biopsia inicial.

Al igual que otros estudios,[35,45-50] casi la mitad de nuestros casos se reclasificaron en ≤LIE-BG con p16, lo que puede derivar en repercusiones clínicas significativas en el tratamiento de las pacientes debido a que solo las LIE-AG deben recibir tratamiento quirúrgico.[1] En un estudio de biopsias de cuello uterino con NIC2 en mujeres jóvenes se reportó mayor frecuencia de ≤NIC1 en

https://doi.org/10.24245/gom.v89i4.4887

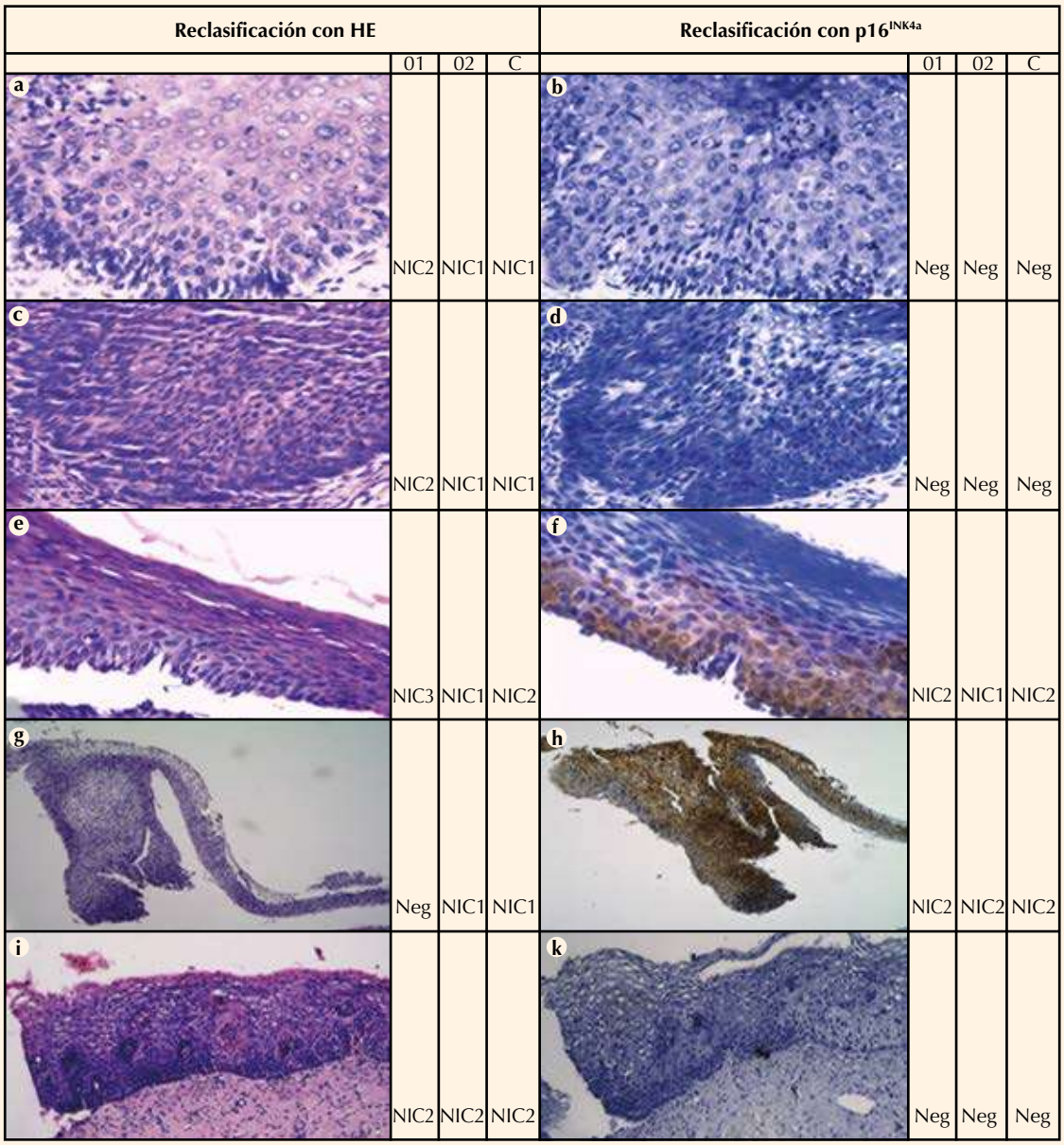


Figura 3. Comparación de la reclasificación con hematoxilina eosina y con p16 en algunos de los casos diagnosticados con NIC2. **a, b:** caso reclasificado como NIC1 con hematoxilina eosina (a), confirmado como negativo con p16 (b). **c, d:** caso reclasificado como NIC1 con hematoxilina eosina (c), confirmado como negativo con p16 (d). **e, f:** caso reclasificado como NIC2 con extensión glandular con hematoxilina eosina (e), confirmado como NIC2 con p16 (f). Casos dudosos de lesión: **g, h:** caso dudoso reclasificado como NIC1 con hematoxilina eosina (g), confirmado como NIC2 con p16 (h). **i, j:** caso dudoso confirmado como NIC2 con hematoxilina eosina (i), reclasificado como negativo con p16 (j). Hematoxilina eosina , 40X; inmunohistoquímica p16, 40X. O1: observador 1, O2: observador 2, C: consenso.

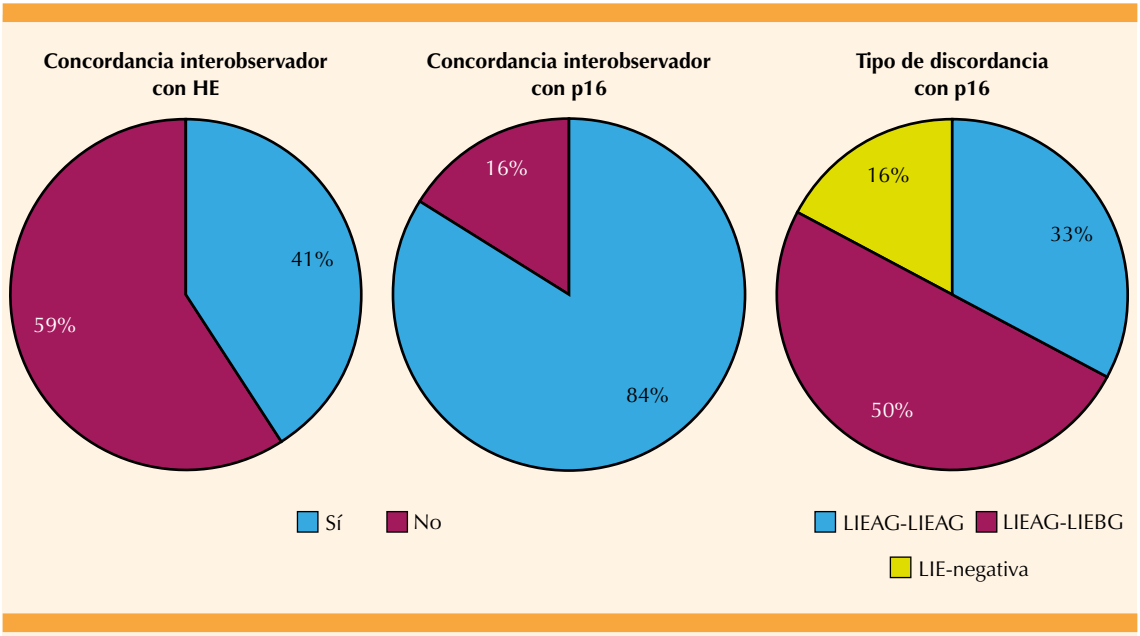


Figura 4. Concordancia interobservador en la reclasificación con hematoxilina eosina y con el marcador p16 (arriba). Tipo de discordancia diagnóstica interobservador en la reclasificación con el marcador p16 (abajo). LIE-AG: lesión intraepitelial escamosa de alto grado. LIE-BG: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado.

Cuadro 2. Porcentajes de falsos positivos (FP), falsos negativos (FN), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), sensibilidad (S) especificidad (E)

	FP (%)	FN (%)	VPP (%)	VPN (%)	S (%)	E (%)
Reclasificación con hematoxilina eosina con respecto al estudio de seguimiento como patrón de referencia	25,6	10.2	82.60	37.5	66	60
Reclasificación con p16 con respecto al estudio de seguimiento como patrón de referencia	31.5	10.5	80	33.3	57	60
Reclasificación con hematoxilina eosina con reclasificación con p16 como patrón de referencia	15	27.7	77.2	81.2	85	72.2

Los resultados se compararon agrupándolos por lesión intraepitelial de alto y de bajo grado para obtener el porcentaje de falsos positivos y negativos y los valores predictivo positivo y negativo, especificidad y sensibilidad para hematoxilina eosina, p16 y hematoxilina eosina con p16 (positivo-negativo) como patrón de referencia.

lugar de LIE-AG en el espécimen de resección.[51] De igual manera, en estudios de revisión de casos diagnosticados con ≥NIC2, con seguimiento estricto de la lesión, mostraron que el 15% fueron reclasificados a NIC1 o a negativo,[52] lo que pudo deberse a que la biopsia se orientó con los reportes de una prueba con baja especificidad, como la colposcopia,[53] que resultó en alta proporción de falsos positivos.

La reproducibilidad diagnóstica de la biopsia, con respecto al estudio de seguimiento, fue escasa; la observada en la reclasificación con hematoxilina eosina sola fue pobre. Al reclasificar las muestras en conjunto (p16/HE), la reproducibilidad diagnóstica fue moderada para el diagnóstico específico de NIC2, y fue excelente en la interpretación de la gradación de la LIE (LIE-AG-p16-positivo/LIEBG-p16- negativo).

https://doi.org/10.24245/gom.v89i4.4887

Cuadro 3.

3a. Intervalo de confianza de la razón de momios para la reclasificación de p16 por grupos etarios

p16				
Grupo etario	Positivo	Negativo	OR IC 95% (0.08-1,53)	Xhm (Haenszel-Mantel)
Menor de 30 años	7	6	0.368	1.37
Mayor de 30 años	19	6		

3b. Significación estadística de la reclasificación con hematoxilina eosina con IC95%

HE						
p16	LIE-AG	≤LIE-BG	X2 Corregido	χ^2 Crítico	Valor de p	Prueba exacta de Fisher
Positivo	20	6	10.4	3.84	0.001	0.0004
Negativo	2	10				

LIE-AG: lesión intraepitelial escamosa de alto grado. LIE-BG: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado.

Estos resultados sugieren que la evaluación de las muestras sugerentes de LIE con tinción de rutina, en conjunto con p16, aumenta la concordancia interobservador, lo que ha quedado demostrado en varios estudios.[12,15,16,23-29]

El desempeño diagnóstico de este estudio de reclasificación con hematoxilina eosina fue mayor que el observado con el marcador p16 al compararlo con los reportes de los estudios de seguimiento. Estos valores de desempeño diagnóstico para p16 fueron menores a los publicados;[23-29] por ejemplo, por Galgano y su grupo,[23] quienes obtuvieron un rendimiento de p16 con sensibilidad del 68.9% y especificidad del 97.2%. Estas discordancias quizá se deban a que en nuestro estudio se compararon los resultados de la reclasificación con el marcador p16 con los del estudio de seguimiento. Sin embargo, al comparar el valor de la prueba de hematoxilina eosina con el de p16, teniendo a éste último como patrón de referencia, se encontró que, si bien la prueba tiene sensibilidad y especificidad considerables para discriminar LIE-AG de ≤ LIE-BG, arroja un importante porcentaje de falsos positivos, lo que puede derivar en tratamientos innecesarios en pacientes con diagnóstico basado solo en la tinción de hematoxilina eosina.

Las limitaciones de este estudio se derivan de su mismo carácter exploratorio: poca cantidad de casos y posible sesgo debido a que los dos patólogos evaluadores tenían conocimiento del diagnóstico de la biopsia inicial, situación que se minimizó al garantizar una revisión independiente, sin acceso a la historia clínica ni a los estudios de seguimiento.

CONCLUSIONES

En la evaluación de biopsias de cuello uterino el marcador p16, junto con la coloración de rutina, mejora su reproducibilidad diagnóstica, aumenta la concordancia interobservador y reduce significativamente, sobre todo en mujeres menores de 30 años, la cantidad de biopsias con sobrediagnóstico de lesión intraepitelial de alto grado, lo que evitaría llevar a cabo tratamientos innecesarios que pueden generar complicaciones en la vida reproductiva de estas pacientes. Para determinar el desempeño diagnóstico de

p16 y definir la existencia de LIE-AG es necesario continuar efectuando estudios que incluyan mayor cantidad de muestras.

REFERENCIAS

1. Darragh TM, Colgan TJ, Thomas Cox J, et al. The lower anogenital squamous terminology standardization project for HPV-associated lesions: Background and consensus recommendations from the college of American pathologists and the American society for colposcopy and cervical pathology. Int J Gynecol Pathol. 2013; 32 (1): 76-115. doi.10.1097/PGP.0b013e31826916c7.
2. Ministerio de Salud y Protección Social, Sistema General de Seguridad Social en Salud – Colombia, Instituto Nacional de Cancerología, Ministerio de Salud y Protección Social. Guía de Práctica Clínica (GPC) Para La Detección Temprana, Diagnóstico, Tratamiento, Seguimiento y Rehabilitación de Pacientes Con Diagnóstico de Cáncer de Colon y Recto, 2013.
3. The American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of Abnormal Cervical Cancer Screening Test Results and Cervical Cancer Precursors 2013; 122.
4. Albrechtsen S, Rasmussen S, Thoresen S. Pregnancy outcome in women before and after cervical conization: population-based cohort study. BMJ. 2008; 337: a1343. doi.10.1136/bmj.a1343.
5. Jin G, Lanlan Z, Li C, Dan Z. Pregnancy outcome following loop electrosurgical excision procedure (LEEP) a systematic review and meta-analysis. Arch Gynecol Obstet. 2014; 289 (1): 85-99. doi.10.1007/s00404-013-2955-0.
6. Kietpeerakool C, Srisomboon J, Khobjai A, Chandacham A, Tucksinsook U. Complications of loop electrosurgical excision procedure for cervical neoplasia: A prospective study. J Med Assoc Thail. 2006; 89 (5): 583-87.
7. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. Obstet Gynecol. 2013; 121 (4): 829-46. doi.10.1097/AOG.0b013e3182883a34.
8. Brereton M, De La Salle B, Ardern J, Hyde K, Burthem J. Do We Know Why We Make Errors in Morphological Diagnosis? An Analysis of Approach and Decision-Making in Haematological Morphology. EBioMedicine. 2015; 2 (9): 1224-34. doi.10.1016/j.ebiom.2015.07.020.
9. Hamilton PW, Van Diest PJ, Williams R, Gallagher AG. Do we see what we think we see? The complexities of morphological assessment. J Pathol. 2009;218(3):285-291. doi.10.1002/path.2527.
10. Malpica A, Matisic JP, Van Niekirk D, et al. Kappa statistics to measure interrater and intrarater agreement for 1790 cervical biopsy specimens among twelve pathologists: Qualitative histopathologic analysis and methodologic issues. In: Gynecologic Oncology. 2005;99. doi.10.1016/j.ygyno.2005.07.040.
11. Parker MF, Zahn CM, Vogel KM, Olsen CH, Miyazawa K, O'Connor DM. Discrepancy in the interpretation of cervical histology by gynecologic pathologists. Obstet Gynecol. 2002; 100 (2): 277-80. doi.10.1016/S0029-7844(02)02058-6.
12. Stoler MH, Schiffman M. Atypical squamous cells of undetermined significance-low-grade squamous intraepithelial lesion triage study (ALTS) Group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. JAMA. 2001; 285 (11): 1500-5. doi.10.1001/jama.285.11.1500.
13. Grenko RT, Abendroth CS, Frauenhoffer EE, Ruggiero FM, Zaino RJ. Variance in the interpretation of cervical biopsy specimens obtained for atypical squamous cells of undetermined significance. Am J Clin Pathol. 2000; 114 (5): 735-40. doi.10.1309/K7C9-X5P0-001B-2HK5.
14. Park JJ, Genest DR, Sun D, Crum CP. Atypical immature metaplastic-like proliferations of the cervix: Diagnostic reproducibility and viral (HPV) correlates. Hum Pathol. 1999; 30 (10): 1161-65. doi.10.1016/S0046-8177(99)90032-1.
15. de Vet H, Knipschild P, Schouten H, Koudstaal J, Kwee W, Willebrand D. Interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. J Clin Epidemiol. 1990; 43 (12): 1395-98.
16. Ismail SM, Colclough AB, Dinnen JS, et al. Observer variation in histopathological diagnosis and grading of cervical intraepithelial neoplasia. BMJ. 1989; 298 (6675): 707-10. doi.10.1136/bmj.298.6675.707.
17. Robertson A, Anderson J, Beck J, Burnett R, Howatson S, Lee F. Observer variability in histopathological reporting of cervical biopsy specimens. J Clin Pathol. 1989; 42 (3): 231-38.
18. Kalof AN, Cooper K. Our approach to squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. J Clin Pathol. 2007; 60 (5): 449-55. doi.10.1136/jcp.2005.036426.
19. Joste NE, Crum CP, Cibas ES. Cytologic/histologic correlation for quality control in cervicovaginal cytology: Experience with 1,582 paired cases. Am J Clin Pathol. 1995;103 (1): 32-34.
20. Tritz DM, Weeks JA, Spires SE, et al. Etiologies for non-correlating cervical cytologies and biopsies. Am J Clin Pathol. 1995; 103 (5): 594-97. doi.10.1093/ajcp/103.5.594.
21. Stoler MH, Ronnett BM, Joste NE, et al. The interpretive variability of cervical biopsies and its relationship to HPV status. Am J Surg Pathol. 2015; 39 (6): 729-36. doi.10.1097/PAS.0000000000000381.
22. Kurman R, Norris H, Wilkinson E. Tumors of the Cervix, Vagina, and Vulva, 2010.
23. Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, Brix WK, Nassau SR, Stoler MH. Using Biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. Am J Surg Pathol. 2010; 34 (8): 1077-87. doi.10.1097/PAS.0b013e3181e8b2c4.

https://doi.org/10.24245/gom.v89i4.4887

24. 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 (11): 1389-99. doi.10.1097/00000478-200211000-00001.
25. Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Am J Clin Pathol. 2010; 133 (3): 395-406. doi.10.1309/AJCPXSVCDZ3D5MZM.
26. Dijkstra MG, Heideman DAM, De Roy SC, et al. p16INK4aimmunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions. J Clin Pathol. 2010; 63 (11): 972-77. doi.10.1136/jcp.2010.078634.
27. Horn L-C, 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. doi.10.1097/PAS.0b013e31815ac420.
28. McCluggage WG. Immunohistochemistry as a diagnostic aid in cervical pathology. Pathology. 2007; 39 (1): 97-111. doi.10.1080/00313020601123961.
29. Ordi J, Sagasta A, Munmany M, Rodríguez-Carunchio L, Torné A, Del Pino M. Usefulness of p16/ki67 immunostaining in the triage of women referred to colposcopy. In: Cancer Cytopathology 2014; 122: 227-35. doi.10.1002/cncy.21366.
30. Han Q, Guo H, Geng L, Wang Y. p16/Ki-67 dual-stained cytology used for triage in cervical cancer opportunistic screening. Chinese J Cancer Res. 2020; 32 (2): 208-17. doi.10.21147/j.issn.1000-9604.2020.02.08.
31. Mandal R, Ghosh I, Banerjee D, et al. Correlation between p16/Ki-67 expression and the grade of cervical intraepithelial neoplasias. Int J Gynecol Pathol. 2019; 16 (5): 1-7. doi.10.1097/PGP.0000000000000617.
32. Viloria ME, Bravo J, Carrero Y, Mosquera JA. In situ expressions of protein 16 (p16 CDKN2A) and transforming growth factor beta-1 in patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2018; 228: 303-7. doi.10.1016/j.ejogrb.2018.07.023.
33. Liu Y, Alqatari M, Sultan K, et al. Using p16 immunohistochemistry to classify morphologic cervical intraepithelial neoplasia 2: correlation of ambiguous staining patterns with HPV subtypes and clinical outcome. Hum Pathol. 2017; 66 (1): 144-51. doi.10.1016/j.humpath.2017.06.014.
34. Qiao X, Bhuiya TA, Spitzer M. Differentiating high-grade cervical intraepithelial lesion from atrophy in postmenopausal women using Ki-67, cyclin E, and p16 immunohistochemical analysis. J Low Genit Tract Dis. 2005; 9 (2): 100-7. doi.10.1097/00128360-200504000-00006.
35. Fishkel VS, Monge FC, von Petery FM, et al. Clinical and Economic Value of p16INK4a for the Differential Diagnosis of Morphologic Cervical Intraepithelial Neoplasia 2. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2018; 00 (00): 1. doi.10.1097/PAI.0000000000000674.
36. Kitson SJ, Greig E, Michael E, Smith M. Predictive value of volume of cervical tissue removed during LLETZ on subsequent preterm delivery: a cohort study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2014; 180: 51-55. doi.10.1016/j.ejogrb.2014.06.011.
37. Kyrgiou M, Arbyn M, Martin-Hirsch P, Paraskevaidis E. Increased risk of preterm birth after treatment for CIN. BMJ. 2012; 345 (sep04 1): e5847-e5847. doi.10.1136/bmj.e5847.
38. Kumar, V. Abbas, A. Aster J; Robbins y Cotran: Patologia estructural y funcional. 9 ed; 2015.
39. Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. Biometrics. 1977; 33 (1): 159. doi.10.2307/2529310.
40. Bergeron C, Ronco G, Reuschenbach M, et al. The clinical impact of using p16INK4a immunochemistry in cervical histopathology and cytology: An update of recent developments. Int J Cancer. 2015; 136 (12): 2741-51. doi.10.1002/ijc.28900.
41. Campisi J, D'Adda Di Fagagna F. Cellular senescence: When bad things happen to good cells. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007; 8 (9): 729-740. doi.10.1038/nrm2233.
42. McLaughlin-Drubin ME, Crum CP, Münger K. Human papillomavirus E7 oncoprotein induces KDM6A and KDM6B histone demethylase expression and causes epigenetic reprogramming. Proc Natl Acad Sci. 2011; 108 (5): 2130-35. doi.10.1073/pnas.1009933108.
43. Van Baars R, #2 HG, Wu Z, et al. Investigating Diagnostic Problems of CIN 1 and 2 Associated with High-Risk HPV by Combining the Novel Molecular Biomarker PanHPV E4 with P16 ink4a Europe PMC Funders Group. Am J Surg Pathol. 2015; 39 (11): 1518-28. doi.10.1097/PAS.0000000000000498
44. Santos M, Landolfi S, Olivella A, et al. p16 overexpression identifies HPV-positive vulvar squamous cell carcinomas. Am J Surg Pathol. 2006; 30 (11): 1347-56. doi.10.1097/01.pas.0000213251.82940.bf.
45. Grupta R, Srinivasan R, Nijhawan R, Suri V, Uppal R. Protein p 16INK4A expression in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of uterine cervix. Indian J Patol Microbiol. 2010; 53 (1): 7-11.
46. Agoff SN, Lin P, Morihara J, Mao C, Kiviat NB, Koutsky LA. p16INK4a expression correlates with degree of cervical neoplasia: A comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. Mod Pathol. 2003. doi.10.1097/01.MP.0000077518.78046.0C.
47. Kumari K, Vadivelan AA. p16INK4A expression in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. Brunei Int Med J. 2013; 9 (3): 165-71.
48. Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16INK4aimmunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: A systematic review and meta-analysis. Cancer Treat Rev. 2009. doi.10.1016/j.ctrv.2008.10.005.
49. Verguts J, Bronselaer B, Donders G, et al. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: The role of human papillomavirus tes-

ting and age at conisation. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 2006. doi.10.1111/j.1471-0528.2006.01063.x.

50. Kishore V. Expression of p16INK4A Protein in Cervical Intraepithelial Neoplasia and Invasive Carcinoma of Uterine Cervix. J Clin Diagnostic Res. 2017; 11 (19): 17-20. doi.10.7860/JCDR/2017/29394.10644.

51. Zhang L, Li Q, Zhao M, Jia L, Zhang Y. Discrepancies between biopsy-based and excision-based grading of cervical intraepithelial Neoplasia: The important role of time between excision and biopsy. Int J Gynecol Pathol. 2015; 34 (3): 221-27. doi.10.1097/PGP.0000000000000152.

52. Palma PD, Rossi PG, Collina G, et al. The risk of false-positive histology according to the reason for colposcopy referral in cervical cancer screening: A blind revision of all histologic lesions found in the NTCC trial. Am J Clin Pathol. 2008; 129 (1): 75-80. doi.10.1309/EWYGWFRRM8798U5P.

53. Underwood M, Arbyn M, Parry-Smith W, et al. Accuracy of colposcopy-directed punch biopsies: A systematic review and meta-analysis. BJOG An Int J Obstet Gynaecol 2012; 119 (11): 1293-301. doi.10.1111/j.1471-0528.2012.03444.x.

CITACIÓN ACTUAL

De acuerdo con las principales bases de datos y repositorios internacionales, la nueva forma de citación para publicaciones periódicas, digitales (revistas en línea), libros o cualquier tipo de referencia que incluya número doi (por sus siglas en inglés: Digital Object Identifier) será de la siguiente forma:

REFERENCIAS

1. Yang M, Gou, ZW, Deng CJ, Liang X, et al.* A comparative study of three different forecasting methods for trial of labor after cesarean section. J Obstet Gynaecol Res. 2017;25(11):239-42. https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2015.04..015**

* Cuando la referencia contiene hasta tres autores, éstos se colocarán de forma completa. En caso de 5 autores o más, solo se colocan cuatro, seguidos de la palabra en latín "et al".

** El registro Doi deberá colocarse con el link completo (como se indica en el ejemplo), sin punto final. salvo que así lo señale su cita original.

https://doi.org/10.24245/gom.v89i4.4887