

## EVALUACIJA P16<sup>INK4A</sup> PROTEINA KAO BIOMARKERA ZA CERVICALNU INTRAEPITELNU NEOPLAZIJU I SKVAMOCELULARNI KARCINOM GRLIĆA MATERICE

Biljana Đorđević i Nikola Živković

Udruženost infekcije humanim papiloma virusima (HPV) i cervikalne intraepitelne neoplazije (CIN) dobro je poznata. Interakcija HPV proteina sa ćelijskim regulatornim proteinima dovodi do ushodne regulacije p16<sup>INK4A</sup>. Cilj rada bila je evaluacija p16<sup>INK4A</sup> proteina kao biomarkera za CIN lezije i skvamocelularni karcinom na biopsijskim uzorcima bolesnica koje su bile podvrgnute biopsiji grlića materice zbog nenormalnog citološkog nalaza.

Autori su analizirali biopsijske uzorke 50 bolesnica sa CIN lezijama i invazivnim skvamocelularnim karcinomom grlića materice. Ekspresija p16<sup>INK4A</sup> u CIN lezijama i invazivnom skvamocelularnom karcinomom grlića materice analizirana je imunohistohemijski upotrebom monoklonskog anti-p16<sup>INK4A</sup> antitela.

Analizirano je ukupno 50 bolesnica sa CIN lezijama i invazivnim skvamocelularnim karcinomom grlića materice prosečnog starosnog doba 40.2±11.5 godina (opseg 20-74 godine). CIN I lezije nađene su kod 27 (54%), CIN II/CIN III lezije kod 9 (18%) i invazivni skvamocelularni karcinom kod 14 (28%) bolesnica. Razlike u ekspresiji p16<sup>INK4A</sup> između CIN I lezija, CIN II/CIN III lezija i invazivnog skvamocelularnog karcinoma bile su statistički značajne (p<0.0001). Ekspresija p16<sup>INK4A</sup> pokazivala je nisku senzitivnost (7%), specifičnost (8%), pozitivnu prediktivnu vrednost (8%) i negativnu prediktivnu vrednost (7%) za CIN I. Senzitivnost, specifičnost, pozitivna prediktivna vrednost i negativna prediktivna vrednost p16<sup>INK4A</sup> iznosile su 78%, 61%, 30% i 93% za CIN II/CIN III i 100%, 75%, 61% i 100% za skvamocelularni karcinom.

Rezultati ove studije ukazuju da p16<sup>INK4A</sup> protein može biti senzitivni biomarker za CIN II/CIN III lezije i invazivni skvamocelularni karcinom grlića materice. *Acta Medica Medianae* 2011;50(2):29-33.

**Cljučne reči:** cervikalna intraepitelna neoplazija, skvamocelularni karcinom, p16<sup>INK4A</sup>

Univerzitet u Nišu, Institut za patologiju Medicinskog fakulteta, Niš, Srbija

Kontakt: Biljana Đorđević  
Institut za patologiju, Medicinski fakultet  
Blvd. dr Zorana Djindjica 48  
18000 Niš, Serbia  
E-mail: ibt1@sbb.rs

### Uvod

Incidencija i stopa smrtnosti od raka grlića materice dramatično je smanjena posle uvođenja citološkog skrininga primenom Papanicolaou (Pap) testa (1). Bethesda sistem za interpretaciju nalaza Pap razmaza ustanovio je ujednačenije dijagnostičke kriterijume i smanjio greške u interpretaciji cervikalne citologije (2).

Poslednja revizija Bethesda sistema razlikuje četiri kategorije nenormalnosti u cervikalnim skvamoznim ćelijama, uključujući atipične skvamozne ćelije (atypical squamous cells - ASC), skvamozne intraepitelne lezije niskog gradusa (low-grade squamous intraepithelial lesions - LSIL), skvamozne intraepitelne lezije visokog gradusa (high-grade squamous intraepithelial lesions - HSIL) i skvamocelularni karcinom (2). U histopatologiji,

CIN (cervikalna intraepitelna neoplazija) terminologija deli prekursore skvamocelularnog karcinoma u tri grupe: CIN I, CIN II i CIN III. U stvari, LSIL odgovara CIN I leziji, a HSIL odgovara CIN II i CIN III lezijama (3).

Humani papiloma virus (HPV) je najvažniji etiološki agens u patogenezi CIN lezija i cervikalnog karcinoma. Nedavno je pokazano da je perzistentna HPV infekcija neophodna za morfološke promene u skvamoznim ćelijama grlića materice (4). Integracija HPV DNA u genom epitelnih ćelija grlića materice može da dovede do nenormalne ekspresije nekih ćelijskih proteina kao što je p16<sup>INK4A</sup>. Smatra se da je p16<sup>INK4A</sup> protein surogat marker za HPV tipove visokog onkogenog rizika, a prekomerna ekspresija p16<sup>INK4A</sup> ustanovljena je u CIN lezijama i invazivnom karcinomom grlića materice (5-10).

### Cilj rada

Cilj rada bila je evaluacija p16<sup>INK4A</sup> proteina kao biomarkera za CIN lezije i skvamocelularni karcinom na biopsijskim uzorcima bolesnica koje su bile podvrgnute biopsiji grlića materice zbog nenormalnog citološkog nalaza.

## Bolesnice i metode

Retrospektivno istraživanje sprovedeno je kod 50 bolesnica sa citološkim dijagnozama ASC-US, LSIL, HSIL i invazivni skvamocelularni karcinom koje su bile podvrgnute kolposkopiji i ciljanoj biopsiji grlića materice u Klinici za ginekologiju i akušerstvo u Nišu u periodu januar 2008 - decembar 2010. godine.

Citološki nalazi bolesnica klasifikovani su prema Bethesda (2001) klasifikaciji (3).

Histopatološka analiza rutinski obrađenih uzoraka grlića materice obojenih standardnom hematoksilin-eozin metodom i imunohistochemijska analiza za p16<sup>INK4A</sup> urađene su u Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu.

Za detekciju p16<sup>INK4A</sup> korišćeno je mišje monoklonsko anti-p16<sup>INK4A</sup> antitelo (Clone 6H12, IgG2b / Newcastle) u razblaženju 1:40 i standardna ABC (Avidin-Biotin Complex) metoda prema uputstvu proizvođača (Dako LSAB2R system-HRP).

Imunohistochemijska reakcija za p16<sup>INK4A</sup> protein bila je prisutna u jedru i/ili citoplazmi ćelija. Procena ekspresije p16<sup>INK4A</sup> proteina vršena je samo u jedrima ćelija. Imunohistochemijski nalazi klasifikovani su kao p16<sup>INK4A</sup> negativni (ukoliko je ≤10% jedara bilo obojeno) ili p16<sup>INK4A</sup> pozitivni (ukoliko je >10% jedara bilo obojeno).

Za statističku obradu podataka korišćeni su programi Excel 2000 i Statcal. Dobijeni rezultati su predstavljeni kao aritmetička sredina, standardna devijacija, interval varijacije (minimum-maksimum) i indeks strukture (%). Procena značajnosti utvrđenih razlika vršena je  $\chi^2$  testom. Razlike su smatrane značajnim za vrednost  $p < 0,05$ .

Vrednosti za senzitivnost, specifičnost, pozitivnu prediktivnu vrednost i negativnu prediktivnu vrednost imunohistochemijskog nalaza u odnosu na histopatološki nalaz određene su na sledeći način: senzitivnost = stvarno pozitivni nalazi / (stvarno pozitivni nalazi + lažno negativni nalazi); specifičnost = stvarno negativni nalazi / (stvarno negativni nalazi + lažno pozitivni nalazi); pozitivna prediktivna vrednost = stvarno pozitivni nalazi / (stvarno pozitivni nalazi + lažno pozitivni nalazi); i negativna prediktivna vrednost = stvarno negativni nalazi / (stvarno negativni nalazi + lažno negativni nalazi).

## Rezultati

Ispitivano je ukupno 50 bolesnica starosti od 20 do 74 godine. Prosečna starost bolesnica bila je 40,2±11,5 godina.

U Tabeli 1 prikazana je distribucija citoloških i histopatoloških nalaza. Citološki nalazi su klasifikovani kao ASC-US kod 5 (10%) bolesnica. LSIL (CIN I) lezije nađene su kod 20 (40%) bolesnica pri citološkom pregledu i 27 (54%) bolesnica pri histopatološkom pregledu. Kod 18 (36%) bolesnica citološki su verifikovane HSIL lezije, a kod 9 (18%) bolesnica histopatološki su verifikovane

HSIL (CIN II/CIN III) lezije. Skvamocelularni karcinom je nađen kod 7 (14%) bolesnica pri citološkom pregledu i 14 (28%) bolesnica pri histopatološkom pregledu.

Imunohistochemijskom analizom utvrđena je pozitivna jedarna ekspresija p16<sup>INK4A</sup> kod 7,41% CIN I (LSIL) lezija, 77,78% CIN II/CIN III (HSIL) lezija i 100% invazivnih skvamocelularnih karcinoma grlića materice (Slike 1-3, Tabela 2). Ove razlike bile su statistički značajne ( $\chi^2$  test,  $p < 0,0001$ ).

Tabela 1. Citološki i histopatološki nalaz

Nalaz	N (%)
Citološki nalaz	
ASC-US	5 (10)
LSIL	20 (40)
HSIL	18 (36)
Karcinom	7 (14)
Histopatološki nalaz	
CIN I (LSIL)	27 (54)
CIN II/CIN III (HSIL)	9 (18)
Karcinom	14 (28)

ASC-US – atypical squamous cells of undetermined significance (atipične skvamozne ćelije nepoznatog značaja); LSIL - low grade squamous intraepithelial lesion (skvamozna intraepitelna lezija niskog gradusa); HSIL - high grade squamous intraepithelial lesion (skvamozna intraepitelna lezija visokog gradusa); CIN - cervikalna intraepitelna neoplazija

Tabela 2. Histopatološki nalaz i ekspresija 16INK4A

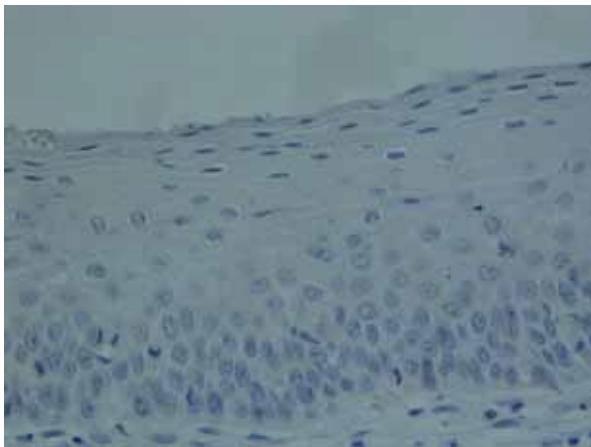
Histopatološki nalaz	Ekspresija p16 <sup>INK4A</sup>			$\chi^2$ test (p)
	Ukupno N	Pozitivna N (%)	Negativna N (%)	
CIN I (LSIL)	27	2 (7,41)	25 (92,59)	<0.0001
CIN II/CIN III (HSIL)	9	7 (77,78)	2 (22,22)	
Karcinom	14	14 (100)	0 (0)	
Ukupno	50	23 (46)	27 (54)	

LSIL - low grade squamous intraepithelial lesion (skvamozna intraepitelna lezija niskog gradusa); HSIL - high grade squamous intraepithelial lesion (skvamozna intraepitelna lezija visokog gradusa); CIN - cervikalna intraepitelna neoplazija

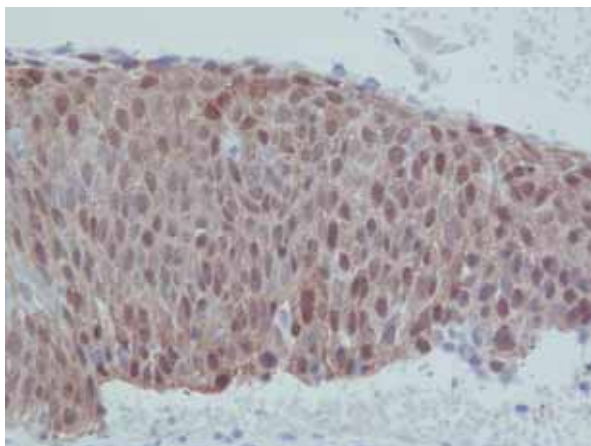
Tabela 3. Senzitivnost, specifičnost, pozitivna prediktivna vrednost i negativna prediktivna vrednost p16INK4A zavisno od histopatološke dijagnoze

	Histopatološka dijagnoza		
	LSIL (CIN I) N=27	LSIL (CIN I) N=27	LSIL (CIN I) N=27
Senzitivnost	7%	78%	100%
Specifičnost	8%	61%	75%
Pozitivna prediktivna vrednost	8%	30%	61%
Negativna prediktivna vrednost	7%	93%	100%

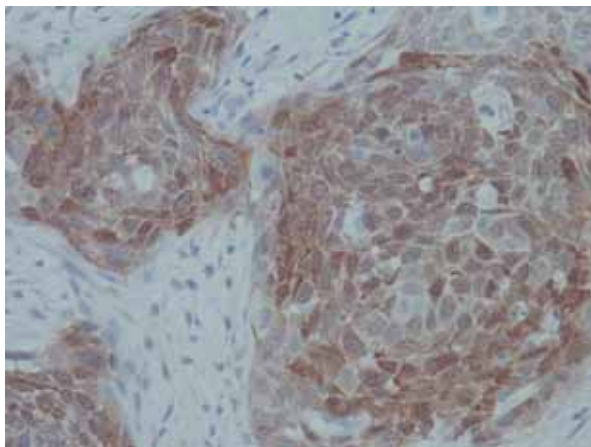
LSIL - low grade squamous intraepithelial lesion (skvamozna intraepitelna lezija niskog gradusa); HSIL - high grade squamous intraepithelial lesion (skvamozna intraepitelna lezija visokog gradusa); CIN - cervikalna intraepitelna neoplazija



Slika 1. Negativna ekspresija p16<sup>INK4A</sup> u CIN I leziji (LSAB, x400)



Slika 2. Pozitivna ekspresija p16INK4A u CIN III leziji (LSAB, x400)



Slika 3. Pozitivna ekspresija p16INK4A u skvamocelularnom karcinomu (LSAB, x400)

U Tabeli 3 prikazane su vrednosti za senzitivnost, specifičnost, pozitivnu prediktivnu vrednost i negativnu prediktivnu vrednost p16<sup>INK4A</sup> u zavisnosti od histopatološke dijagnoze. Ekspresija p16<sup>INK4A</sup> pokazivala je nisku senzitivnost (7%), specifičnost (8%), pozitivnu prediktivnu vrednost

(8%) i negativnu prediktivnu vrednost (7%) za CIN I (LSIL) lezije. Nasuprot tome, senzitivnost, specifičnost, pozitivna prediktivna vrednost i negativna prediktivna vrednost p16<sup>INK4A</sup> iznosile su 78%, 61%, 30% i 93% za CIN II/CIN III (HSIL) lezije i 100%, 75%, 61% i 100% za invazivni skvamocelularni karcinom.

### Diskusija

Pojavi invazivnog skvamocelularnog karcinoma grlića materice prethode prekarcerozne lezije koje se nazivaju cervikalne intraepitelne neoplazije (CIN). Prema težini, CIN lezije su podeљjene na CIN I, CIN II i CIN III. Danas se smatra da CIN II i CIN III lezije nastaju kao posledica perzistentne infekcije HPV tipovima visokog onkogenog rizika, ali i u prisustvu bakterijske vaginoze (11). Kod perzistentnih HPV infekcija, HPV DNA je integrisana u DNA ćelija domaćina (4). Integracija virusne DNA u genom epitelnih ćelija grlića materice dovodi do poremećaja u ekspresiji nekoliko ćelijskih proteina. Jedan od njih je i p16<sup>INK4A</sup> protein koji reguliše ćelijski ciklus.

Postoje različiti podaci koji se odnose na ekspresiju p16<sup>INK4A</sup> u CIN lezijama i invazivnom karcinomu grlića materice (12-29). Prema podacima, p16INK4A je ekspimiran kod 0-100% LSIL (CIN I) lezija, 45-100% HSIL (CIN II/CIN III) lezija i 93%-100% invazivnih karcinoma grlića materice. U ovoj studiji, ekspresija p16<sup>INK4A</sup> nađena je kod 77,78% HSIL (CIN II/CIN III) lezija i 100% invazivnih skvamocelularnih karcinoma grlića materice. Takođe, ekspresija p16<sup>INK4A</sup> nađena je kod 7,41% LSIL (CIN I) lezija. Slične rezultate zabeležili su Haidopoulos i sar. (26), koji su utvrdili ekspresiju p16<sup>INK4A</sup> kod 6,07% LSIL (CIN I) lezija.

U ovoj studiji, senzitivnost ekspresije p16INK4A u detekciji CIN II/CIN III lezija i invazivnog skvamocelularnog karcinoma grlića materice bila je visoka (75% za CIN II/CIN III lezije i 100% za invazivni skvamocelularni karcinom). Nasuprot tome, senzitivnost ekspresije p16<sup>INK4A</sup> u detekciji CIN I lezija bila je niska (7%). Specifičnost ekspresije p16INK4A za CIN I lezije, CIN II/CIN III lezije i invazivni skvamocelularni karcinom iznosila je 8%, 61% i 75%. Pozitivna prediktivna vrednost ekspresije p16<sup>INK4A</sup> bila je 8% za CIN I lezije, 30% za CIN II/CIN III lezije i 61% za invazivni skvamocelularni karcinom. Negativna prediktivna vrednost ekspresije p16<sup>INK4A</sup> za CIN I lezije, CIN II/CIN III lezije i invazivni skvamocelularni karcinom grlića materice iznosila je 7%, 93% i 100%.

### Zaključak

Na osnovu rezultata ovog istraživanja zaključeno je da p16<sup>INK4A</sup> protein može biti senzitivni biomarker za CIN II/CIN III lezije i invazivni skvamocelularni karcinom grlića materice.

## Literatura

1. DeMay RM. The Pap smear. In DeMay RM, editor: The art and science of cytopathology. Chicago: American Society for Clinical Pathology Press (ASCP Press); 1996. p. 61-205.
2. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda system: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287(16): 2114-9. [[CrossRef](#)]
3. Wright TC, Kurman RJ, Ferenczy A. Precancerous lesions of the cervix. In Kurman RJ, editor. Blaustein's pathology of the female genital tract. 5th ed. New York: Springer-Verlag; 2002. pp. 253-324.
4. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM, et al. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis* 2005; 191: 731-8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Tringler B, Gup CJ, Singh M, Groshong S, Shroyer AL, Heinz DE, et al. Evaluation of p16INK4a and pRb expression in cervical squamous and glandular neoplasia. *Hum Pathol* 2004; 35: 689-96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Masumoto N, Fujii T, Ishikawa M, Saito M, Iwata T, Fukuchi T, et al. P16 overexpression and human papillomavirus infection in small cell carcinoma of the uterine cervix. *Hum Pathol* 2003; 34: 778-83. [[CrossRef](#)]
7. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, Ridder R, Rudy W, Petry U, et al. Overexpression of p16 (INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001; 92: 276-84. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Kang S, Kim J, Kim HB, Shim JW, Nam E, Kim SH, et al. Methylation of p16 INK4a is a non-rare event in cervical intraepithelial neoplasia. *Diagn Mol Pathol* 2006; 15: 74-82. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Kalof AN, Cooper K. p16INK4a immunoreactivity: surrogate marker of high-risk HPV and high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Adv Anat Pathol* 2006; 13: 190-4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Gupta R, Srinivasan R, Nijhawan R, Suri V, Uppal R. Protein p16INK4A expression in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of uterine cervix. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 7-11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Janjić Z, Pop Trajković Z, Folić M, Popović J, Petrić A, Vukomanović P. Frequency of cervical intraepithelial neoplasia and carcinomas in women with and without bacterial vaginosis. *Acta Medica Medianae* 2011; 50(1): 5-10.
12. Murphy N, Ring M, Killalea AG, Uhlmann V, O'Donovan M, Mulcahy F, et al. p16INK4A as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep smears. *J Clin Pathol* 2003; 56(1): 56-63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Volgareva G, Zavalishina L, Andreeva Y, Frank G, Krutikova E, Golovina D, et al. Protein p16 as a marker of dysplastic and neoplastic alterations in cervical epithelial cells. *BMC Cancer* 2004; 4: 58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Guo M, Hu L, Baliga M, He Z, Hughson MD. The predictive value of p16(INK4a) and hybrid capture 2 human papillomavirus testing for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2004; 122(6): 894-901. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Hu L, Guo M, He Z, Thornton J, McDaniel LS, Hughson MD. Human papillomavirus genotyping and p16INK4a expression in cervical intraepithelial neoplasia of adolescents. *Mod Pathol* 2005; 18(2): 267-73. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. 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. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Lin ZH, Shen XH, Jin Z, Kim Y, Lee E, Kim H, et al. Human papillomavirus genotyping by oligonucleotide microarray and p16 expression in uterine cervical intraepithelial neoplasm and in invasive carcinoma in Korean women. *Pathol Int* 2005; 55(8): 491-6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Lambert AP, Anschau F, Schmitt VM. p16INK4A expression in cervical premalignant and malignant lesions. *Exp Mol Pathol* 2006; 80(2): 192-6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Queiroz C, Silva TC, Alves VA, Villa LL, Costa MC, Travassos AG, et al. p16(INK4a) expression as a potential prognostic marker in cervical pre-neoplastic and neoplastic lesions. *Pathol Res Pract* 2006; 202(2): 77-83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Benevolo M, Mottolese M, Marandino F, Vocaturo G, Sindico R, Piperno G et al. Immunohistochemical expression of p16(INK4a) is predictive of HR-HPV infection in cervical low-grade lesions. *Mod Pathol* 2006; 19(3): 384-91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Ishikawa M, Fujii T, Saito M, Nindl I, Ono A, Kubushiro K, 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. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Eleuterio J Jr, Giraldo PC, Goncalves AK, Cavalcante DI, de Almeida Ferreira FV, Mesquita SM, 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. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Guedes AC, Brenna SM, Coelho SA, Martinez EZ, Syrjanen KJ, Zeferino LC. p16(INK4a) expression does not predict the outcome of cervical intraepithelial neoplasia grade 2. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17(5): 1099-103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Focchi GR, Silva ID, Nogueira-de-Souza NC, Dobo C, Oshima CT, Stavale JN. Immunohistochemical expression of p16(INK4A) in normal uterine cervix, nonneoplastic epithelial lesions, and low-grade squamous intraepithelial lesions. *J Low Genit Tract Dis* 2007; 11(2): 98-104. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Bahnassy AA, Zekri AR, Saleh M, Lotayef M, Moneir M, Shawk O. The possible role of cell cycle regulators in multistep process of HPV-associated cervical carcinoma. *BMC Clin Pathol* 2007; 7: 4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Yıldız İZ, Usubütün A, Firat P, Ayhan A, Küçükali 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. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Haidopoulos D, Partsinevelos GA, Vlachos GD, Rodolakis A, Markaki S, Voulgaris Z, et al. p16INK4A is a strong biomarker for cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical carcinoma: a reappraisal. *Reprod Sci* 2009; 16(7): 685-93. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Monsonego J, Pollini G, Evrard MJ, Sednaoui P, Monfort L, Quinzat D, et al. p16(INK4a) immunocytochemistry in liquid-based cytology samples in equivocal Pap smears: added value in management of women with equivocal Pap smear. *Acta Cytol* 2007; 51(5): 755-66. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Liu H, Shi J, Wilkerson M, Huang Y, Huang Y, Meschter S, Dupree W, et al. Immunohistochemical detection of p16INK4a in liquid-based cytology specimens on cell block sections. *Cancer* 2007; 111(2): 74-82. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

## EVALUATION OF P16<sup>INK4A</sup> PROTEIN AS A BIOMARKER FOR CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA AND SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE UTERINE CERVIX

*Biljana Đorđević and Nikola Živković*

The association of human papilloma virus (HPV) infection and cervical intraepithelial neoplasia (CIN) is well known. Interaction of HPV proteins with cellular regulatory proteins leads to up regulation of p16<sup>INK4A</sup>. The aim of this study was to evaluate p16<sup>INK4A</sup> protein as a biomarker for CIN lesions and squamous cell carcinoma on biopsy specimens of patients who underwent biopsy of the uterine cervix due to abnormal cytological finding.

The authors analyzed biopsies from 50 patients with CIN and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Expression of p16<sup>INK4A</sup> in CIN and invasive squamous cell carcinoma was immunohistochemically analyzed by using monoclonal anti-p16<sup>INK4A</sup> antibody.

A total of 50 patients with CIN and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix (mean age 40.2±11.5 years, range 20-74 years) were analyzed. CIN I lesions were found in 27 (54%), CIN II/CIN III lesions in 9 (18%), and invasive squamous cell carcinoma in 14 (28%) patients. Differences in the expression of p16<sup>INK4A</sup> between CIN I, CIN II/CIN III and squamous cell carcinoma were statistically significant ( $p < 0.0001$ ). Expression of p16<sup>INK4A</sup> showed low sensitivity (7%), specificity (8%), positive predictive value (8%), and negative predictive value (7%) for CIN I. Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of p16<sup>INK4A</sup> were 78%, 61%, 30%, and 93% for CIN II/CIN III, and 100%, 75%, 61%, and 100% for squamous cell carcinoma, respectively.

Results of this study suggest that p16<sup>INK4A</sup> protein may be a sensitive biomarker for CIN II/CIN III lesions and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Acta Medica Medianae 2011;50(2):29-33.*

**Key words:** cervical intraepithelial neoplasia, squamous cell carcinoma, p16<sup>INK4A</sup>