

Uterin Serviksin İntraepitelyal Neoplazileri ve Skuamöz Hücreli Karsinomlarında P16, P27, Siklin D1, BCL-2 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi

Evaluation Of P16, P27, Cyclin D1, Bcl-2 Expressions In Uterine Cervical Intraepithelial Neoplasia and Skuamous Cell Carcinoma

Bülent ARAL*, Selver ÖZEKİNCİ**, Özben YALÇIN**

*Mersin Şehir Hastanesi Patoloji Bölümü, İçel

**Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü, İstanbul

ÖZ

Amaç: Human Papilloma Virus serviks kanserlerinden sorumlu tutulan en önemli etkidir. Lezyon varlığında bile, araştırmacılar arasında servikal intraepitelyal neoplazi tanısında fikir ayrılıklarının olması ve diğer lezyonlarla ayırıcı tanıda yaşanan güçlüklerden dolayı spesifik belirteçlere gereksinim vardır. Çalışma p16, p27, siklin D1 ve Bcl-2'nin serviksin neoplastik ve non-neoplastik lezyonlarının ayırıcı tanısına katkısı olup olmadığını, araştırmak amacıyla yapıldı.

Gereç ve Yöntem: 20 LSIL (Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon), 16 HSIL (Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon), 20 SHK (Yassı hücreli karsinom) tanılu olguya ve kontrol grubu olarak belirlediğimiz 20 non-neoplazik servikse immunohistokimyasal yöntem ile p16, p27, siklin D1 ve Bcl-2, uygulandı.

Bulgular: P16 ile normal servikse %80 zayıf (+), SHK olgularında ise %75 güçlü (+) boyanma izlendi. P27 ile normal servikslerin %45'inde orta derecede (+), SHK'ların %5'inde orta derecede (+) boyanma %60'unda (-) izlendi. Siklin D1 ile tanı grupları arasındaki boyanma paterni ve yoğunluğu arasında belirgin farklılık izlenmedi. Bcl-2 ile normal servikse %5 orta derecede (+), SHK'da %15 orta derecede boyanma izlenmiş olup, grupların hiçbirinde güçlü boyanma görülmedi.

Sonuç: P16 LSIL ve non-neoplastik lezyonların ayırıcı tanısında güvenilir bir belirteçtir. P27 prognostik bir faktör olarak ayırıcı tanıda kullanılabilir. Siklin D1 ve Bcl-2'nin ayırıcı tanı ve prognozdaki rolünü belirleyebilmek için daha geniş serilerde detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Servikal intraepitelyal lezyon, p16, p27, siklin D1, Bcl-2

ABSTRACT

Objective: The most important agent in cervical carcinogenesis is especially high-risk types of Human Papilloma Virus. Even in the presence of lesions, specific markers are needed due to disagreements among researchers regarding cervical intraepithelial neoplasia and difficulties with differential diagnosis with other lesions. This study's aim that contribution of p16, p27, cyclin D1 and Bcl-2 were determined whether differential diagnosis between neoplastic and non-neoplastic lesions of servix.

Material and Method: We applied the p16, p27, cyclin D1 and Bcl-2 immunohistochemical markers on 20 cases diagnosed as LSIL, 16 cases diagnosed as HSIL, and 20 cases diagnosed as SCC.

Results: P16 showed weak (+) staining in 80% of normal cervix and 75% strong (+) staining in SHK cases. With P27, moderate (+) staining was observed in 45% of normal cervix, and medium (+) staining in 5% of SHC was observed in 60% (-). There was no significant difference in the pattern and intensity of the staining between Cyclin D1 and the diagnostic groups. Bcl-2 showed moderate (5%) and normal (15%) staining in the normal cervix, whereas none of the groups showed strong staining.

Conclusion: P16 is reliable marker in the differential diagnosis between LSIL and non-neoplastic cervical lesion. P27 can be used as a prognostic marker in differential diagnosis. To determine role of cyclin D1 and Bcl-2, in differential diagnosis and prognosis, studies larger series are needed.

Keywords: Cervical intraepithelial lesion, p16, p27, cyclin D1, Bcl-2

Alındığı tarih: 25.02.2017

Kabul tarihi: 18.09.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Bülent Aral, Korukent Mah. 96015 Sok. 33240 Toroslar / Mersin

e-posta: bulentaral33@hotmail.com

GİRİŞ

Dünyada serviks kanseri görülme sıklığı açısından yedinci sırada olmakla birlikte kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci en yaygın görülen kanserdir ⁽¹⁾. Servikal karsinom gelişiminde en önemli etkenin HPV olduğu kabul görmüştür. Doğurganlık çağı süresince kadınların çoğu bir veya daha çok HPV tipi ile enfekte olmakta ancak enfekte kadınların çok azında önce displazi, sonrasında kansere dönüşüm izlenmektedir. HPV enfeksiyonunun latent kalmasını, prekansere veya kansere doğru gelişimini diğer kokarsinojenler, bireyin bağışıklık durumu, beslenme gibi birçok faktör etkiler ^(2,3).

Serviks kanserlerinin %95’inde hibridizasyon teknikleri ile Human papilloma virüs (HPV) DNA’sı saptanmıştır. P16, kromozom 9p21 yerleşimli CDKN2A geni tarafından kodlanan, hücre siklusunun G1-S kontrol noktasında görev alan, tümör supresör proteindir. Yapılan çalışmalarda servikal intraepitelial neoplazi (CIN) ve invaziv kanserlerde p16 ekspresyonundada artış görülmüş, servikalneoplazinin derecesi ve yüksek riskli (YR) -HPV enfeksiyonu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ^(4,5). p27 Kip1 geni tümör supresör bir gen olup prostat, akciğer, over gibi birçok organ tümöründe p27 ekspresyonun azaldığı veya kaybolduğu bildirilmiş, p27 ekspresyon kaybının kötü prognoza eşlik ettiği gösterilmiştir ⁽⁶⁻⁸⁾. Siklin D1 kromozom 11q13 yerleşimli CCND1 geni tarafından kodlanan ve hücre siklusunda görev alan onkogendir ⁽⁹⁾. Bcl-2 gen grubu, üyelerinin bir kısmının apoptozisi indüklediği, bir kısmının ise inhibe ettiği geniş bir ailedir. Bcl-2 ile çeşitli kanserler (meme, kolon, over, tiroid) üzerine yapılan çalışmalarda, Bcl-2 ekspresyon yüksekliğinin genel olarak iyi prognoz belirteci olduğu gösterilmiştir ^(10,11).

Çalışma p16, p27, siklin D1 ve Bcl-2’nin serviksin neoplastik ve non-neoplastik lezyonlarının ayrıcı tanısına katkısı olup olmadığını, araştırmak amacıyla yapıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı 2007-2011 yılları arasında CIN ve serviks skuamöz hücreli karsinom (SHK) tanısı almış olgular belirlendi. Bu olgulara ait preparatlar yeniden değeri-

lendirildi. Histopatolojik değerlendirme sonucu, 20 düşük dereceli intraepitelyal lezyon (LSIL), 16 yüksek dereceli intraepitelyal lezyon (HSIL), 20 SHK, kontrol grubu olarak non-neoplazik 20 serviks biyopsi preparatı seçilerek dört grup oluşturuldu. Tüm örnekler p16, p27, siklin D1 ve Bcl-2 belirteçleri ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirmede p16 ve p27 nükleer ve sitoplazmik, Bcl-2 ve siklin D1 sitoplazmik boyanma gösterdi.

• Olgular boyanmanın yaygınlık ve şiddetine göre aşağıdaki gösterildiği şekilde skorlandı.

- 0- %10’nun altı boyanma negatif
- 1- %10-30 arası zayıf boyanma
- 2- %30-70 arası orta boyanma
- 3- %70 üstü güçlü boyanma.

İstatistiksel Metod

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 17.0 for Windows (SPSS Inc. Chicago) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Kesikli değişkenlerin çapraz tabloları hazırlanarak, ‘Yates düzeltmeli Khi-Kare’ testi ile analiz yapıldı. Hipotez karşılaştırmalarında çift yönlü hipotez ve 0.05 yanılma olasılığı dikkate alındı. Gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis testleri kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 76 biyopsi alındı. P16 ile normal serviksde %80 oranında zayıf (+) boyanma, SHK olgularında ise %75 güçlü (+) boyanma izlendi. Tanı gruplarında P16 boyanma yüzdeleri Tablo’da verilmiştir.

P27 ile normal servikslerin %45’inde orta derecede (+) boyanma, SHK’ların %5’inde orta derecede (+) boyanma %60’ında (-) izlendi. Tablo’da tanı gruplarına göre boyanma yüzdeleri verilmiştir.

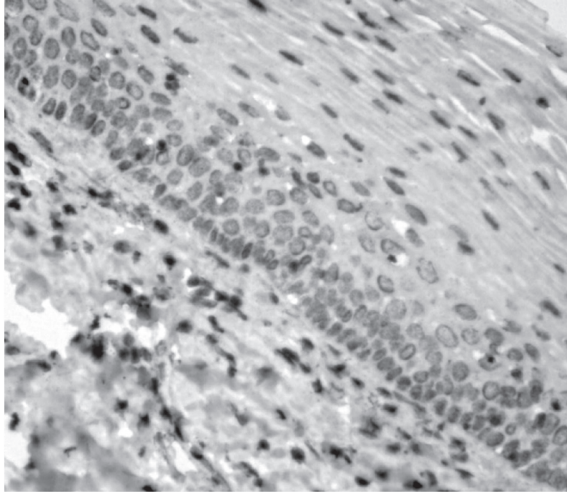
Siklin D1 ile tanı grupları arasındaki boyanma paterni ve yoğunluğu arasında belirgin farklılık izlenmedi. Tablo’da siklin D1’in tanı gruplarına göre boyanma yüzdeleri verilmiştir.

Bcl-2 ile normal servikste %5 oranında orta derecede (+), SHK’da %15 oranında orta derecede boyanma

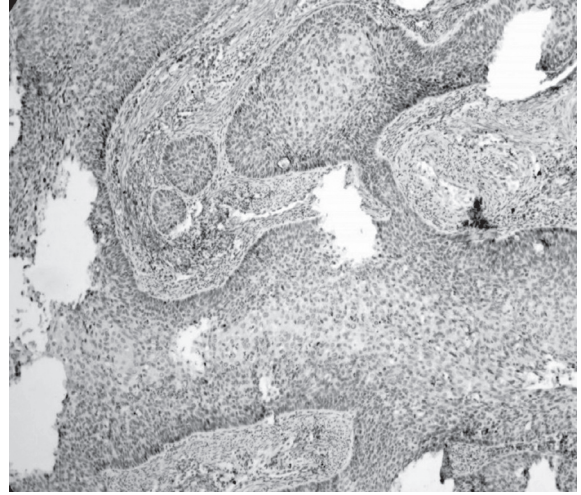
Tablo. Tanı gruplarında P16, P27, Siklin D1, Bcl-2 ile boyanma yoğunluğu ve yüzdeleri.

	P16*				P27**				Siklin D1***				Siklin D1***			
	0 %	1 %	2 %	3 %	0 %	1 %	2 %	3 %	0 %	1 %	2 %	3 %	0 %	1 %	2 %	3 %
Non-neoplazik	0	80	20	0	15	35	45	5	5	80	15	0	0	95	5	0
LSIL	0	0	40	60	45	55	0	0	0	40	60	0	10	75	15	0
HSIL	0	6.25	50	43.75	50	43.75	6.25	0	6.25	37.5	50	6.25	31.25	56.25	12.5	0
SHK	0	5	20	75	60	35	5	0	10	45	45	0	55	30	15	0

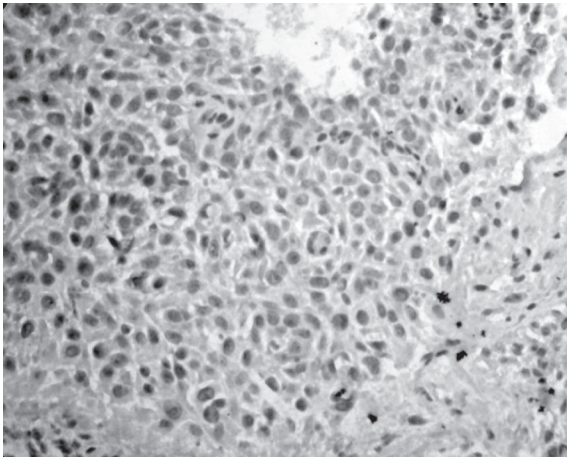
* $p=0.000$, ** $p=0.002$, *** $p=0.061$, **** $p=0.001$



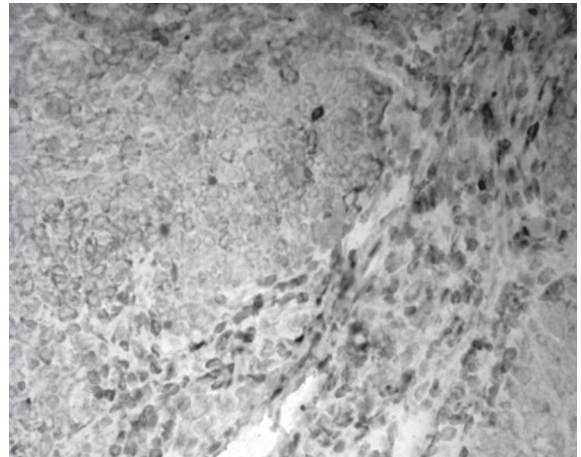
P16 Normal Serviks X 40



P16-SHK Olgusu Güçlü Pozitif Boyanma X 10



Siklin D1 SHK Olgusu X 40



Bcl-2 SHK Olgusu X 10

izlenmiş olup, grupların hiçbirinde güçlü boyanma görülmedi. Tablo'da tanı gruplarına göre Bcl-2'nin boyanma yüzdeleri verilmiştir.

İstatistiksel değerlendirmede CIN ve SHK'ların p16, Bcl-2, p27 ile boyanmasında anlamlı bir fark izlendi.

Siklin D1 ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p=0.061$).

Non-neoplazik ve LSIL/ HSIL/ SHK'da p16, p27 boyanması açısından sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

HSIL ve SHK/LSIL arasında p16 Bcl-2 p27 Siklin D1 boyanması yönünden istatistiksel değerlendirmede anlamlı sonuç bulunmadı.

SHK ve LSIL arasında p16 Bcl-2 p27 Siklin D1 boyama sonuçları istatistiksel değerlendirmede anlamlı bulunmadı.

LSIL, HSIL, SHK tanısı alan preperatlarda p16, p27, siklin D1 ve Bcl-2 boyamalarının sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.000$).

TARTIŞMA

Morfolojik inceleme, CIN tanı ve derecelendirilmesinde altın standarttır. Ancak ayırıcı tanıda ortaya çıkan güçlükler, lezyonun gerileyip, gerilemeyeceği, invaziv karsinoma mı dönüşeceğinin öngörülemezliği ve patoloğlarda gözlemciler arası uyumsuzluklar, araştırmacıları objektif kriterler kullanmaya yöneltmiş, lezyonların ayırıcısında pratikte yararlı olabilecek immün belirteçlerin araştırılmasına gereksinim duyulmuştur ^(12,13).

P16 ile LSIL'da epitelin alt 1/3'ünde, HSIL'de tam kat, SHK'da tümöral alanın tamamında, nükleer ve sitoplazmik boyanma izlendi. LSIL ve SHK'da boyanma dağılımı arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede, anlamlı bir fark izlendi ($p=0.000$). İkişerli karşılaştırma testlerine göre, non-neoplazik/LSIL, non-neoplazik/HSIL, non-neoplazik/SHK gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. Önceki çalışmalarda P16'nın YR-HPV ve düşük riskli HPV ile enfekte serviks lezyonlarının ayırıcı tanısında, özellikle LSIL, skuamöz ve glanduler CIN tespit etmede son derece yararlı olduğu ve tarama programlarında kullanılabileceği, displazinin derecesini saptamada ve progresyonu öngörmeye etkin olduğu bildirilmiştir ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. P16 boyama ile ilgili sonuçlarımız önceki çalışmaların sonuçları ile benzer olup P16, özellikle LSIL'nun normal ya da reaktif değişikliklerden ayırıcısında ve progresyonu öngörmeye güvenilir bir belirteçtir. Boyanması ve değerlendirmesi sıkıntılı olmadığından rutin pratikte, büyük kolaylık sağlayacaktır ve gerektiğinde uygun tarama programlarında kullanılabilir.

Çalışmamızda p27 ile enyoğun ve yaygın boyanma neoplazik olmayan grubta, en az boyanma invaziv

karsinomda izlendi. Genel olarak SIL'larda boyanma oranı düşük olmakla birlikte LSIL ve HSIL arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. LSIL ve SHK'nin p27 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiş olup $p=0.002$ 'dir. Literatürde p27 ile yapılan çalışmaların sonuçları belirgin farklılıklar göstermektedir. Normal servikte süperfisyal ve intermediyer tabakaların bazal tabakaya göre daha güçlü boyanma gösterdiği, LSIL ve HSIL'da kuvvetli boyanma, CIN ve SHK'da benzer oranlarda boyanma kaybı gibi sonuçlar bildirilmiştir ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. SHK'da boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu çok düşük izlenmekle birlikte p27'nin SIL'ları reaktif değişikliklerden ayırmada ve prognozu öngörmeye şu an için etkin olduğunu söyleyemeyiz. p27'nin servikal karsinogenezisdeki rolünün daha geniş serilerde araştırılması daha güvenilir sonuçlar verecektir.

Siklin D1 boyanmasında normal serviks, LSIL, HSIL, SHK ve atipik immatür metaplazili gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını ya da normal grupta boyanmanın bazale sınırlı, diğerlerinde tüm tabakalarda olan ve lezyon derecesi arttıkça sitoplazmik boyanmanın arttığını bildiren çalışmalar vardır ^(20,21). Siklin D1 boyamada CIN ve SHK'lar arasında boyanma yoğunluğu ve paterni arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p=0.061$). Literatürde Siklin D1 ve servikal neoplaziler arasındaki ilişki ile ilgili bilgiler net olmayıp farklı ve tartışmalıdır, boyanma sonuçlarımız bu görüşlerin bir kısmı ile uyumlu görüldü. Siklin D1'in SIL'ları displazik ve/veya noplazik olmayan lezyonlardan ayırmada güvenilir değildir, ancak daha detaylı ve moleküler düzeyde çalışmaların yapılması ile net bilgilere ulaşılabilir.

Çalışmamızda Bcl-2 ile normal serviks epitelinde tam kat yoğun sitoplazmik boyanma izlenirken, diğer gruplarda epitelin alt 2/3'ünde ya da tamamında zayıf-orta derecede sitoplazmik boyanma izlendi. LSIL'da HSIL'na göre, SIL'larda SHK'lara göre daha yoğun ve yaygın boyanma izlendi. CIN ile SHK'larda Bcl-2 ile boyanmasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p=0.001$). Bcl-2 ile yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiş olup bulgularımız bunların bir kısmı ile uyumludur. LSIL'da güçlü boyanma olduğu, bunlardan HSIL'a ilerleyen lezyonlarda boyanmanın azaldığı ⁽²²⁾, CIN'lerde lezyon derecesi yükseldikçe boyanmanın arttığı, SHK'de ise boyan-

ma kaybı⁽²³⁾ yanı sıra aksini ileri süren sonuçlarda bildirilmiştir⁽²⁴⁾. Servikal lezyonların ayırımında Bcl-2, p16 gibi diğer belirteçler ile birlikte kullanılırsa ayırıcı tanıda yardımcı olabilir, ancak tek başına kullanımı uygun değildir.

Sonuç olarak p16'nın LSIL ayırımında güvenilir bir belirteç olup reaktif değişiklikler ve LSIL ayırımında, mikroinvaziv karsinom olgularının değerlendirilmesinde patologların işini oldukça kolaylaştıracağı, p27'nin prognostik bir faktör olarak ayırıcı tanıda kullanılabileceği düşünüldü. Siklin D1 ve Bcl-2'nin ayırıcı tanı ve prognozadaki rolünü belirleyebilmek için daha geniş serilerde detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Not: Bu çalışma Dicle Üniversitesi Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından maddi destek almıştır.

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
<https://doi.org/10.3322/canjclin.55.2.74>
2. Wells M, Östör AG, Crum CP, Franceschi S, Tommasino M. Tumours of the Uterine Cervix. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs, pp.259-283. IARC Press, Lyon, 2003.
3. Feng W, Xiao J, Zhang Z, Rosen DG, Brown RE. Senescence and apoptosis in carcinogenesis of cervical squamous carcinoma. *Modern Pathology* 2007;20:961-6.
<https://doi.org/10.1038/modpathol.3800927>
4. Keating JT, Ince T, Crum CP. Surrogate biomarkers of HPV infection in cervical neoplasia screening and diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2001;8:83-92.
<https://doi.org/10.1097/00125480-200103000-00004>
5. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol* 1998;153(6):1741-8.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65689-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65689-1)
6. Newcomb EW, Sosnow M, Demopoulos RI, Zeleniuch-Jacquotte A, Sorich J, Speyer JL. Expression of the cell cycle inhibitor p27Kip1 is a new prognostic marker associated with survival in epithelial ovarian tumors. *Am J Pathol* 1999;154:119-25.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65258-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65258-3)
7. Tan P, Cady B, Wanner M, Worland P, Cukor B, Fiorentino M, Magi-Galluzzi C, et al. The cell cycle inhibitor p27 is an independent prognostic marker in small (T1a, b) invasive breast carcinomas. *Cancer Res* 1997; 7:1259-63.
8. Kim DH. Prognostic implications of cyclin B1, p34 cdc32, p27 and p53 expression in gastric cancer. *Yonsei Medical Journal* 2007;48:694-700.
<https://doi.org/10.3349/ymj.2007.48.4.694>
9. Donnellan R, Chetty R. Cyclin D1 and human neoplasia. *J Clin Pathol Mol Pathol* 1998;51:1-7.
<https://doi.org/10.1136/mp.51.1.1>
10. Pollina L, Pacini F, Fontanini G, Vignati S, Bevilacqua G, Basolo F. bcl-2, p53 and proliferating cell nuclear antigen expression is related to the degree of differentiation in thyroid carcinomas. *British Journal of Cancer* 1996;73:139-43.
<https://doi.org/10.1038/bjc.1996.26>
11. Sjöström J, Blomqvist C, Boguslawski K, Bengtsson NO, Mjaaland I, Malström P, Ostenstadt B, et al. The predictive value of bcl-2, bax, bcl-xL, bag-1, fas, and fasL for chemotherapy response in advanced breast cancer. *Clinical Cancer Research* 2002;8: 811-6.
12. Iaconis L, Hyjek E, Ellenson L, Pirog EC. p16 and Ki-67 Immunostaining in atypical immature squamous metaplasia of the uterine cervix correlation with human papillomavirus detection. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:1343-9.
13. Pinto AP, Schlecht NF, Woo TC, Crum CP, Cibas ES. Biomarker (ProExTM C, p16INK4A, and MiB-1) distinction of high-grade squamous intraepithelial lesion from its mimics. *Modern Pathology* 2008; 21:1067-74.
<https://doi.org/10.1038/modpathol.2008.101>
14. Murphy N, Heffron CCBB, King B, Ganugapati UG, Ring M, McGuinness E, Sheils O, et al. P16INK4A positivity in benign, premalignant and malignant cervical glandular lesions: a potential diagnostic problem. *Virchows Arch* 2004;445:610-5.
<https://doi.org/10.1007/s00428-004-1111-4>
15. Murphy N, Ring M, Heffron CCBB, King B, Killalea AG, Hughes C, Martin CM, et al. p16INK4A, CDC6, and MCM5: predictive biomarkers in cervical preinvasive neoplasia and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2005;58:525-34.
<https://doi.org/10.1136/jcp.2004.018895>
16. Nam EJ, Kim JW, Kim SW, Kim YT, Kim JH, Yoon BS, Cho NH, et al. The expressions of the Rb pathway in cervical intraepithelial neoplasia; predictive and prognostic significance. *Gynecol Oncol* 2007;104:207-11.
<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.07.043>
17. Goff BA, Sallin J, Garcia R, VanBlaricom A, Paley PJ, Muntz HG. Evaluation of p27 in preinvasive and invasive malignancies of the cervix. *Gynecol Oncol* 64.
18. Huang LW, Chao SL, Hwang JL, Chou YY. Downregulation of p27 is associated with malignant transformation and aggressive phenotype of cervical neoplasms. *Gynecol Oncol* 2002;85:524-8.
<https://doi.org/10.1006/gyno.2002.6666>
19. Kim YT, Choi EK, Cho NH, Ko JH, Yang WI, Kim JW. Expression of cyclin E and p27KIP1 in cervical carcinoma. *Cancer Lett* 2000;153:41-50.
[https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(00\)00345-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(00)00345-1)
20. Zamora PC, Doménech-Peris A, Orantes-Casado FJ, Reina SO, Frías LS, Ortega JA, et al. Effect of human papillomavirus on cell cycle-related proteins p16, Ki-67, Cyclin D1, p53, and ProEx C in precursor lesions of cervical carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2009;132:378-90.

- <https://doi.org/10.1309/AJCPO0WY1VIFCYDC>
21. **Bahnassy AA, Zekri AR, Saleh M, Lotayef M, Moneir M, Shawki O.** The possible role of cell cycle regulators in multistep process of HPV-associated cervical carcinoma. *BMC Clin Pathol* 2007;7:4.
<https://doi.org/10.1186/1472-6890-7-4>
 22. **Guimaraes MCM, Gonçalves MAG, Soares CP, Betini JSR, Duarte RA, Soares ER.** Immunohistochemical Expression of p16INK4a and bcl-2 According to HPV Type and to the Progression of cervical squamous intraepithelial lesions. *J Histochem Cytochem* 2005;53:509-16.
<https://doi.org/10.1369/jhc.4A6312.2005>
 23. **Dimitrakakis C, Kymionis G, Diakomanolis E, Papaspyrou I, Rodolakis A, Arzimanoglou I, Leandros E, et al.** The possible role of p53 and bcl-2 expression in cervical carcinomas and their premalignant lesions. *Gynecologic Oncology* 2000; 77:129-136
<https://doi.org/10.1006/gyno.1999.5715>
 24. **Giarnieri E, Mancini R, Pisani T, Alderisio M, Vecchione A.** Msh2, Mlh1, Fhit, p53, Bcl-2, and Bax expression in invasive and in situ squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clinical Cancer Research* 2000;6:3600-6.