

Cristiane Rúbia Ferreira

Caracterização fenotípica dos tumores mucinosos do ovário

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Patologia

Orientadora: Profa. Dra. Filomena Marino Carvalho

São Paulo
2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ferreira, Cristiane Rúbia

Caracterização fenotípica dos tumores mucinosos do ovário / Cristiane Rúbia
Ferreira. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Patologia.

Área de concentração: Patologia.

Orientadora: Filomena Marino Carvalho.

Descritores: 1.Neoplasias ovarianas/classificação 2.Cistadenoma mucinoso
3.Cistoadenocarcinoma mucinoso 4.Fenótipo 5.Metástase neoplásica
6.Pseudomixoma peritoneal 7.Imunoistoquímica

USP/FM/SBD-260/07

DEDICATÓRIA

“...tu a quem tomei das extremidades da terra e chamei dos seus cantos mais remotos, e a quem disse: Tu és o meu servo, eu te escolli e não te rejeitei, não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou o teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a minha destra fiel.

... Porque Eu, o Senhor teu Deus, te tomo pela tua mão direita, e te digo: Não temas, que eu te ajudo.” Isaías 41:9-10, 13.

*Dedico esta tese ao Senhor D'us, digno de todo meu
louvor e adoração.*

AGRADECIMENTOS

Acabo de alcançar uma importante conquista na minha carreira profissional, mas não cheguei até aqui sozinha, por isso gostaria de agradecer as pessoas que me ajudaram nesta longa jornada:

Agradeço a Profa. Dra. Filomena Marino Carvalho minha orientadora por me ensinar com tanta paciência e dedicação. Aprendi a admirá-la pela sua perseverança, ética profissional e transparência nas atitudes. Alguém que certamente me ajudou a crescer como patologista.

Agradeço ao Prof. Dr. Fernando Augusto Soares que tão generosamente disponibilizou os recursos do Departamento de Patologia do Hospital do Câncer A. C. Camargo para a construção do *tissue microarray*.

Agradeço a Profa. Dra. Sheila Aparecida Coelho Siqueira pela supervisão na realização das lâminas de estudo imunoistoquímico, bem como pelas palavras de exortação que me ajudaram na qualificação.

Agradeço a Sra. Neila Silva (Divisão de Patologia Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) e ao Sr. Carlos Nascimento (Departamento de Patologia do Hospital do Câncer A. C. Camargo) pela realização técnica dos métodos de estudo imunoistoquímico e *tissue microarray*, respectivamente.

Agradeço a Profa. Dra. Maria Cláudia N. Zerbini, diretora do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, por disponibilizar todos os recursos do SAP e pelo tempo cedido para a finalização da tese, bem como pelo incentivo e carinho dedicados a mim.

Agradeço aos funcionários e médicos patologistas do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, pela amizade e compreensão.

Agradeço a Cristina Maria P. Guimarães pela sua amizade e dedicação nos ensinamentos técnicos de imunoistoquímica.

Agradeço a Rosa Maria Zanardi muito mais pela sua paciência, amizade e carinho, mas também pela dedicação na formatação da tese e figuras.

Agradeço a Elisa Amaral Agev pelo profissionalismo na formatação da capa da tese.

Agradeço a Profa. Dra. Mirian Nacagami Soto por disponibilizar a uso do *scanner* de lâminas do Departamento da Dermatopatologia do HC/FMUSP.

Agradeço a Profa. Dra. Carmen Lúcia Lancelloti pela amizade, incentivo e palavras de encorajamento, bem como ao Prof. Dr. João Norberto Stavale e ao Prof. Dr. Kiyoshi Iriya.

Agradeço aos meus amigos que me acompanharam nesse período tão difícil, sempre me apoiando e incentivando com palavras de alegria, conforto e confiança, destaco alguns nomes: Fabiana Roberto Lima, Raquel Ciovoliani M. Fernandes, Marta Fumiko, Eliana Dias S. Ferreira e Paula Piccoli C. Nafal.

Agradeço ao Paulo César S. Neves, meu querido amigo, que me ajudou nos momentos de desânimo e confortou meu coração com a sua alegria e esperança.

Agradeço aos meus pais Silas e Isabel, irmãos Katiussa e Paulo Silas, e sobrinhos Paulo Alfredo, Gabriel, Otávio e Davi, pois vocês fazem parte de mim e moram no meu coração. Agradeço ao meu pai por acreditar em mim e ter empreendido tanto esforço e trabalho durante toda sua vida para que eu pudesse estudar e me realizar profissionalmente. Agradeço a minha mãe pelas lágrimas e madrugadas de oração intercedendo junto ao Senhor D'us para que eu obtivesse vitórias e também por testemunhar do Senhor Jesus Cristo na sua vida.

Agradeço aos meus avós José Pedro e Gonçalvesina (*in memoriam*) por terem me ensinado através de seus ensinamentos e testemunhos de vida que o “princípio da sabedoria é temer ao Senhor”, a vocês também dedico o meu terno amor.

Agradeço a minha tia Lezy, e as minhas primas Kelma, Karina e também a Raquel, pela amizade e por terem orado por mim.

E finalmente agradeço ao Senhor Jesus Cristo, o autor e consumidor da minha salvação, pois “Tudo posso naquele que me fortalece” (Fp 4:13). Não

esquecendo de declarar que tudo o que sou e o que vier a ser, são Dele e para Ele.

Que o Senhor D'us abençoe a todos vocês que me ajudaram!

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors*
(Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Summary

1- INTRODUÇÃO.....	01
2- OBJETIVOS.....	10
3-. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1- Definição e evolução histórica.....	12
3.2- Epidemiologia e distribuição.....	18
3.3- Etiologia.....	20
3.4- Classificação.....	24
3.5- Carcinogênese.....	30
3.6- Diagnóstico Diferencial.....	35
3.7- Pseudomixoma peritoneal.....	40
3.8- Estudo imunoistoquímico.....	46
4- MATERIAL E MÉTODOS.....	63
4.1- Seleção de casos.....	63
4.2- Tabulação dos dados.....	64
4.3- Estudo anatomo-patológico.....	64
4.4- Certificações institucionais.....	67

4.5- Construção do <i>Tissue Microarray</i>	67
4.6- Estudo imunoistoquímico.....	68
4.7- Interpretação e tabulação dos resultados imunoistoquímicos.....	69
4.8- Análise estatística.....	70
5- RESULTADOS.....	72
6- DISCUSSÃO.....	100
7- CONCLUSÕES.....	126
8- ANEXO A.....	130
9- ANEXO B.....	134
10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139

Apêndice

LISTA DE ABREVIATURA

apud - citado por

CK7 - citoqueratina 7

CK20 - citoqueratina 20

et al. - e colaboradores

DPAM – adenomucinosose peritoneal disseminada

FIGO – *International Federation of Gynecology and Obstetrics*

FMR – taxa mutacional fracionada

HE – hematoxilina e eosina

LOH – perda de heterozigosidade

PMO – pseudomixoma ovariano

PMP – pseudomixoma peritoneal

PMCA – carcinomatose mucinosa peritoneal

PMCA-I/D – carcinomatose mucinosa peritoneal com características intermediárias ou discordantes.

RE – receptor de estrógeno

RP – receptor de progesterona

TMA – *tissue microarray*

vs. – *versus*

WHO – Organização Mundial de Saúde

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Descrição dos casos bilaterais.....	74
Tabela 2- Análise da idade das pacientes e do tamanho dos tumores entre os casos unilaterais e bilaterais.....	75
Tabela 3- Distribuição da idade das pacientes e do tamanho tumoral segundo o potencial de malignidade.....	76
Tabela 4- Distribuição dos tumores mucinosos segundo o potencial de malignidade e a faixa etária das pacientes.....	76
Tabela 5- Distribuição dos tumores mucinosos segundo o fenótipo e a faixa etária da paciente.....	77
Tabela 6- Distribuição dos tumores mucinosos segundo o fenótipo e o potencial de malignidade.....	77
Tabela 7- Estadiamento cirúrgico dos tumores <i>borderline</i> e carcinomas mucinosos.....	78
Tabela 8- Distribuição do perfil imunoistoquímico segundo o fenótipo.....	80
Tabela 9- Distribuição do perfil imunoistoquímico segundo o potencial de malignidade.....	81
Tabela 10- Distribuição da expressão coordenada das citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) nos fenótipos puros.....	83
Tabela 11- Distribuição do perfil imunoistoquímico presente nos tumores de fenótipo intestinal com e sem pseudomixoma peritoneal.....	84
Tabela 12- Distribuição do perfil imunoistoquímico presente nos tumores	

<i>borderline</i> de fenótipo intestinal com e sem pseudomixoma peritoneal.....	85
Tabela 13- Distribuição do perfil imunoistoquímico presente nos tumores de fenótipo intestinal segundo o potencial de malignidade.....	86
Tabela 14- Distribuição do perfil imunoistoquímico presente nos tumores <i>borderline</i> sem pseudomixoma peritoneal vs. demais tumores de fenótipo intestinal.....	87
Tabela 15- Distribuição do perfil imunoistoquímico coordenado das citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) nos tumores <i>borderline</i> de fenótipo intestinal com e sem pseudomixoma peritoneal.....	88
Tabela 16- Distribuição do perfil imunoistoquímico coordenado das citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) no fenótipo intestinal segundo o potencial de malignidade.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cistoadenoma mucinoso.....	90
Figura 2 – Tumor mucinoso <i>borderline</i>	90
Figura 3 – Tumor mucinoso <i>borderline</i> com carcinoma intra-epitelial.....	91
Figura 4 – Tumor mucinoso <i>borderline</i> com fenótipo intestinal.....	91
Figura 5 – Cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.....	92
Figura 6 – Tumor mucinoso <i>borderline</i> com fenótipo mülleriano.....	92
Figura 7 – Pseudomixoma peritoneal do tipo adenomucinosose disseminada...93	
Figura 8 – CA125 – marcação imunistoquímica de padrão membrana em tumor mucinoso com fenótipo misto.....	93
Figura 9 – CA19.9 – marcação imunistoquímica de padrão citoplasmático em tumor mucinoso com fenótipo gastrointestinal.....	94
Figura 10 – CK7 – marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático em cistoadenoma mucinoso.....	94
Figura 11 – CK20 – marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático focal em cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.....	95
Figura 12 – RP – marcação imunoistoquímica de padrão nuclear em carcinoma mucinoso com fenótipo mülleriano.....	95
Figura 13 – MUC1 – marcação imunoistoquímica de padrão membrana em tumor mucinoso <i>borderline</i> com fenótipo misto.....	96
Figura 14 – MUC2 – marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático em tumor mucinoso <i>borderline</i> com fenótipo intestinal.....	96

Figura 15 – MUC5AC – marcação imunistoquímica de padrão citoplasmático em cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.....	97
Figura 16 – MUC6 – marcação imunistoquímica de padrão citoplasmático em cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.....	97
Figura 17 – MUC2 – marcação imunistoquímica de padrão citoplasmático difuso em pseudomixoma peritoneal.....	98
Figura 18 – MUC2 – marcação imunistoquímica de padrão citoplasmático difuso em tumor mucinoso borderline associado a pseudomixoma peritoneal.....	98

RESUMO

Ferreira CR. *Caracterização dos tumores mucinosos do ovário* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 155p.

INTRODUÇÃO: Neoplasias mucinosas primárias do ovário apresentam muitos pontos de controvérsias em relação ao seu padrão de diferenciação, sendo classificadas como tumores benignos, *borderline* e malignos. Elas também são classificadas em diferentes fenótipos, recentemente designadas como gastrointestinal e seromucinoso. Sua heterogeneidade tem produzido não somente dificuldades na classificação morfológica e no diagnóstico diferencial com neoplasias metastáticas, mas também na compreensão da patogênese e na interpretação imunoistoquímica. O fenótipo gastrointestinal tem sido pouco explorado em relação a possíveis diferenças entre os padrões de diferenciação gástrico e intestinal, desde que os dois são geralmente analisados juntos. Os tumores mucinosos *borderline*, considerado um estágio precoce da carcinogênese dos tumores mucinosos, são freqüentemente associados com pseudomixoma peritoneal (PMP), o qual foi recentemente relacionado a neoplasias mucinosas do apêndice cecal. O propósito deste estudo foi analisar os diferentes padrões morfológicos de apresentação dos tumores mucinosos do ovário e sua associação com o potencial de malignidade e o perfil imunoistoquímico. **MATERIAL E MÉTODOS:** Este estudo retrospectivo incluiu 72 tumores de 63 pacientes com diagnóstico patológico presumido de tumor mucinoso primário de ovário selecionados dos arquivos da Divisão de Patologia Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, de 1996 a 2005. Todas as lâminas da população de pacientes foram revisadas e classificadas de acordo com os critérios da WHO. Marcação imunoistoquímica para produtos do gene de mucina (MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6), RE, RP, CK7, CK20, CA19.9 e CA125 foram feitos em *tissue microarrays*. **RESULTADOS:** Nossos resultados mostraram 28 tumores benignos, 35 *borderline* e 9 malignos distribuídos nos fenótipos: pilórico (11), intestinal (30), gastrointestinal (20), mülleriano (4) e misto (gastrointestinal e mülleriano) (7). Seis pacientes tinham PMP associados. O estudo imunoistoquímico foi realizado em 67 tumores. Os tumores pilóricos apresentaram-se mais freqüentemente como tumores benignos (72.7%) e tiveram um perfil imunoistoquímico diferente de MUC2 ($p= 0.003$) e CA19.9 ($p= 0.04$) quando comparado com o fenótipo intestinal. MUC1 foi mais expresso entre os tumores com diferenciação mülleriana (pura ou mista) (100%, $p= 0.02$) quando comparado aos tumores de outros fenótipos. Os receptores hormonais foram positivos somente no fenótipo mülleriano. Os tumores *borderline* foram mais freqüentes nos fenótipos intestinal e gastrointestinal (37.1% e 40%), e estavam associados a PMP em 25% dos casos. Todos os tumores ovarianos associados a PMP eram de tipo histológico *borderline* e com fenótipo intestinal. O perfil dos tumores *borderline* de tipo intestinal, mesmo nos casos sem PMP, foi distinto dos outros tumores mucinosos de tipo intestinal e caracterizado pela expressão

de MUC2 e CK20. A média de idade das pacientes com tumores borderline de tipo intestinal sem PMP foi menor que daquelas com PMP. CONCLUSÃO: O subgrupo de tumores mucinosos de ovário de fenótipo gastrointestinal é o mais freqüente, mas é heterogêneo e composto por uma população de células de tipos pilórico e intestinal que diferem entre si em relação ao potencial de malignidade e perfil imunohistoquímico. Os tumores de fenótipo intestinal são mais freqüentemente malignos e *borderline*. Os tumores ovarianos associados com PMP e provavelmente também a maioria dos tumores borderline de fenótipo intestinal, mesmo sem PMP, devem ser considerados como tumores secundários, quando uma origem em apêndice cecal parece a mais provável.

Descritores: 1- Neoplasias ovarianas/classificação; 2- Cistadenoma mucinoso; 3- Cistoadenocarcinoma mucinoso; 4- Fenótipo; 5- Metástase neoplásica; 6- Pseudomixoma peritoneal; 7- Imunohistoquímica.

ABSTRACT

Ferreira CR. *Phenotype characterization of the mucinous ovarian tumors* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 155p.

INTRODUCTION: Primary ovarian neoplasms of mucinous type carry many controversial points regarding their pattern of differentiation, classified as benign, borderline and malignant tumors. They are also classified into different morphological phenotypes, recently called as gastrointestinal and seromucinous. Their heterogeneity has produced not only difficulty into morphological classification and differential diagnostic with metastatic neoplasms, but also on understanding the pathogenesis and immunohistochemical interpretation. The gastrointestinal phenotype has been little explored with respect to possible differences between the gastric and intestinal morphological patterns of differentiation, since the two have generally been analyzed together. The mucinous borderline tumors, thought to be an intermediary stage of mucinous carcinogenesis, were frequently associated with pseudomyxoma peritonei (PMP), which was recently linked to appendiceal mucinous neoplasms. The purpose of the study was to analyze the different morphological patterns of presentation of mucinous ovarian tumors and their association with malignant potential and immunohistochemical profile.

MATERIAL AND METHODS: This retrospective study included 72 tumors from 63 patients with pathological diagnosis of presumed primary mucinous ovarian tumor selected from the files of the Division of Surgical Pathology of University of Sao Paulo Medical School, from 1996 to 2005. All slides from the patient cohort were reviewed and classified according to WHO criteria. Immunohistochemical staining for mucin genes products (MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6), ER, PR, CK7, CK20, CA19.9 and CA125 were performed in tissue microarrays.

RESULTS: Our results showed 28 benign, 35 borderline and 9 malignant tumors distributed in phenotypes: pyloric (11), intestinal (30), gastrointestinal (20), müllerian (4) and mixed (7) (gastrointestinal and müllerian). Six patients had PMP associated. The immunohistochemical study was performed in 67 tumors. The pyloric tumors presented more frequently as benign tumors (72.7%) and had a differential immunohistochemical profile of MUC2 ($p= 0.003$) and CA19.9 ($p= 0.04$) when compared with intestinal phenotype. MUC1 was more expressed between tumors with müllerian differentiation (pure or mixed) (100%, $p= 0.02$) when compared with the others. The hormonal receptors were positive only in müllerian phenotype. Borderline tumors were more frequently of intestinal and gastrointestinal phenotypes (37.1% and 40%), and were associated to PMP in 25% of the cases. All ovarian tumors associated to PMP were of borderline histology and of intestinal type. The profile of intestinal borderline tumors, even in cases without PMP, was distinct from that of other primary mucinous tumors of the intestinal type and characterized by MUC2 and CK20 expression. The median age of patients with intestinal borderline tumors without PMP was lower than those with PMP.

CONCLUSION: The gastrointestinal subgroup of mucinous ovarian tumors is the more frequent, but it is heterogeneous and composed of pyloric, and intestinal cell population that differ regarding malignant potential and immunoprofile. The intestinal tumors are more frequently malignant and borderline. Ovarian tumors associated with PMP and probably most intestinal borderline tumors, even without PMP, should be considered as secondary tumor when the appendiceal origin seems the most probable.

Descriptors: 1- Ovarian Neoplasms/classification; 2- Cystadenoma mucinous; 3- Cystadenocarcinoma mucinous; 4- Phenotype; 5- Neoplasm metastasis; 6- Pseudomyxoma peritonei; 7- Immunohistochemistry.

INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

Desde a sua primeira descrição anátomo-patológica por Pfannenstiel (1898)* apud Pickel e Tamussino ¹ (2003), os tumores mucinosos primários de ovário tem fascinado e desafiado os médicos patologistas e pesquisadores, estando entre os tumores epiteliais ovarianos de mais difícil interpretação, desde a compreensão da etiopatogenia até o diagnóstico histológico, bem como a definição do prognóstico.

Os tumores epiteliais ovarianos são classificados pela Organização Mundial de Saúde ² (WHO, 2003) segundo o seu potencial de malignidade entre as categorias: benigno, *borderline*, e maligno, dependendo das suas características histopatológicas. Outros termos também são usados para designar o tumor mucinoso *borderline*, como tumor mucinoso proliferativo atípico ou tumor mucinoso de baixo potencial de malignidade ^{3,4}.

Entretanto, os tumores mucinosos ovarianos, diferente dos outros tumores epiteliais ovarianos, apresentam uma diversidade de fenótipos particular, com presença de células mucinosas de tipos: endocervical ou também chamado de tipo mülleriano, gástrico foveolar ou pilórico, e intestinal com presença de células caliciformes e menos freqüentemente, também células de Paneth ⁵⁻⁷. Recentemente eles foram reclassificados e agrupados como de fenótipos gastrointestinal e seromucinoso ⁸. Considerando-se que o fenótipo intestinal é o

* Pfannenstiel HJ. Die Erkrankungen des Eierstocks und Nebeneierstocks. In: Veilt J Handbuch der Gynakologie. Vol. 3, 1. Hälfte: Wiesbaden Bergmann, 1898:299-363.

mais freqüente entre os tumores mucinosos ovarianos, a distinção entre os tumores primários e secundários nas categorias *borderline* e maligno, tem sido uns dos aspectos mais estudados nos últimos anos ^{3,9}.

Porém algumas questões continuam a intrigar os pesquisadores, principalmente na área da etiopatogenia. Uma destas é a explicação de como um tecido de origem mesodérmica, que é o epitélio mesotelial de origem celomática que reveste o ovário, pode mostrar padrão intestinal de diferenciação, presumidamente de origem endodérmica, mesmo em neoplasias benignas. Existem duas teorias principais que tentam explicar essa questão. A primeira teoria supõe que os tumores mucinosos ovarianos são originados de teratoma, onde somente o componente gastrointestinal endodérmico está presente, sendo variantes de teratomas chamados monodérmicos ^{5,10,11,12}. Scully *et al.* ⁵ descrevem que 3 a 5% dos tumores mucinosos ovarianos desenvolvem-se em associação com cisto dermóide, sugerindo que ocasionalmente uma pequena percentagem dos casos possam ser teratomas monodérmicos de origem germinativa, hipótese também sugerida por outros autores em relatos de casos ^{5,13,14,15}. A segunda teoria sustenta que os tumores mucinosos ovarianos originam-se do epitélio celomático de revestimento, como os demais tumores epiteliais ovarianos, originando-se através de processo metaplásico, sendo esta hipótese mais aceita pelos pesquisadores ^{16,17}.

Os efeitos dos diferentes padrões de diferenciação histológica e de fenótipo causados no comportamento biológico dos tumores mucinosos ovarianos tem sido intensivamente estudados, particularmente no subgrupo dos tumores *borderline*, onde o fenótipo intestinal demonstra um comportamento distinto quando comparado ao fenótipo mülleriano ^{18,19,20}. Características gerais freqüentemente presentes nos tumores mucinosos de fenótipo mülleriano, como bilateralidade, implantes peritoneais e associação com endometriose, são incomuns entre os tumores mucinosos de padrão intestinal ^{18,19,21}. Do outro lado, os tumores mucinosos de padrão intestinal são mais freqüentes entre os subgrupos *borderline* e malignos, apresentando-se com marcante heterogeneidade morfológica quanto ao potencial de malignidade, com presença de elementos benigno, *borderline* e maligno coexistindo em uma mesma neoplasia, e denominado fenômeno de maturação ^{3,9}. Essa característica sugere que a transformação maligna é seqüencial, progredindo do cistoadenoma e do tumor *borderline* para carcinoma intra-epitelial não invasivo, carcinoma microinvasivo e carcinoma francamente invasivo, como é demonstrado por estudos com técnicas de biologia molecular analisando mutações do gene *K-ras*, presentes freqüentemente nos tumores mucinosos ovarianos de padrão intestinal, sugerindo ser um evento precoce na sua carcinogênese, não sendo evidenciado nos tumores mucinosos de padrão mülleriano ou tumores serosos do ovário ^{22,23,24,25}.

Os tumores mucinosos primários do ovário apresentam, além da heterogeneidade intra-tumoral, difícil diferenciação histológica dos tumores mucinosos metastáticos, pois estes também apresentam áreas com morfologia benigna, simulando cistoadenoma ou tumor *borderline*, em meio ao carcinoma. requerendo sempre ampla representação histológica ^{26,27}. Entre outras características presentes nos tumores mucinosos, a presença de implantes na superfície capsular, tamanho menor que 10,0 cm, bilateralidade, pseudomixoma ovariano (PMO) extenso, padrão nodular de envolvimento do parênquima ovariano, padrão infiltrativo de invasão estromal e êmbolos vasculares neoplásicos nos casos de carcinoma, são descritos como indicativos de neoplasia metastática por vários autores ^{9,26,28,29}.

O pseudomixoma peritoneal (PMP) também é outro ponto de controvérsia presente entre os tumores mucinosos ovarianos, sendo uma entidade clínico-cirúrgica caracterizada pelo acúmulo localizado ou generalizado de abundante material gelatinoso dentro da cavidade abdominal ou em topografia pélvica, e que histologicamente é classificado como adenomucinosose peritoneal disseminada (DPAM) e carcinomatose mucinosa peritoneal (PMCA) ^{14,26,30,31,32,33}. Durante muitos anos a presença freqüente de PMP associado a tumor mucinoso ovariano em mulheres, gerou uma compreensão errônea quanto a sua etiologia, tendo sido designado como evento secundário a tumor mucinoso ovariano roto. Recentemente com novos estudos aplicando técnicas de imunoistoquímica e biologia molecular, foram corrigidos alguns conceitos em

relação ao PMP, reconhecendo-se que o trato gastrointestinal, principalmente o apêndice cecal é o sitio primário causador da doença, sendo o ovário acometido secundariamente ^{26,34}. Raramente tem sido descrito PMP originando-se em tumor mucinoso ovariano associado a teratoma maduro cístico, quando então apresenta fenótipo gastrointestinal que é originado no componente endodérmico do teratoma ^{13,14,15}.

Assim, mudanças substanciais foram produzidas em sua classificação ao longo dos últimos anos. Hart ³⁵ resumiu as mais importantes com relevância clínica: a separação do tumor mucinoso *borderline* do carcinoma mucinoso; o reconhecimento da microinvasão estromal e do carcinoma intra-epitelial nos tumores *borderline*; o reconhecimento do PMP como uma patologia primária do trato gastrointestinal, principalmente primário do apêndice cecal, com acometimento secundário no ovário; o reconhecimento de tumores metastáticos, predominantemente primários do trato gastrointestinal e pâncreas, simulando tumores ovarianos primários.

O uso de anticorpos para detectar antígenos específicos tumorais através de técnicas de estudo imunoistoquímico tem sido utilizado como uma importante ferramenta também no diagnóstico dos tumores ovarianos dando suporte aos achados morfológicos encontrados na rotina do exame histológico. Estudos comparando aspectos imunoistoquímicos dos tumores mucinosos ovarianos, em geral direcionados para a distinção entre a apresentação clinicopatológica dos tumores *borderline* e malignos tem sido descritos

36,37,38,39,40. As citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) estão entre os marcadores mais utilizados na identificação de tumores ovarianos primários e metastáticos, mas pouco específicos quando se refere aos tumores mucinosos ovarianos. Isso devido a freqüente diferenciação intestinal na maioria dos tumores mucinosos ovarianos *borderline* e malignos, resultando em considerável sobreposição de imunofenótipo com os tumores mucinosos metastáticos do trato gastrointestinal^{26,27,35,37}. Recentemente alguns autores sugeriram que o perfil de expressão coordenado de CK7/CK20 e seu padrão de distribuição podem distinguir a maioria dos tumores mucinosos ovarianos primários das neoplasias mucinosas secundárias do trato intestinal inferior, incluindo os adenocarcinomas mucinosos coloretais e do apêndice cecal, mas não podem distinguir com os tumores metastáticos do trato gastrointestinal superior, incluindo o pâncreas, o trato biliar e o estômago, ou do trato genital inferior (canal endocervical e endométrio)⁴⁰.

Novos marcadores têm surgido no propósito de diminuir essas discrepâncias, entre outros os produtos do gene de mucinas tem ganhado destaque, entre eles o MUC1, MUC2, MUC5AC e o MUC6, aparecem como potencialmente mais úteis que as citoqueratinas³⁸. Mucinas são glicoproteínas filamentosas presentes na interface das células e seu micro-ambiente extracelular, podendo ser secretadas para o lúmen de órgãos com cavidade luminal formando camadas de muco, ou participar de funções celulares como proteínas de membrana^{41,42}. O MUC1 tem ampla distribuição no corpo

humano, estando presente em glândulas mamárias, ductos pancreáticos, e superfície foveolar gástrica. O MUC2 é expresso em células calciformes e tumores do trato intestinal inferior. MUC5AC e o MUC6 são consideradas as principais mucinas gástricas ⁴¹. Embora ainda existam poucos estudos com estes marcadores, isoladamente eles também apresentam sobreposição de resultados com tumores mucinosos do trato gastrointestinal ^{43,44,45,46,47}.

Os estudos até o presente deixam muitas lacunas quanto ao significado dos diferentes fenótipos morfológico e imunoistoquímico entre os tumores mucinosos no ovário, visto que, em geral, tendem a avaliar indicadores para o diagnóstico diferencial entre carcinoma primário ou secundário. Estudos com perfis imunoistoquímicos mais amplos e voltados para a definição do significado dos diferentes fenótipos morfológicos independente do potencial de malignidade foram pouco explorados. Neste trabalho nos propusemos a detalhar a apresentação morfológica do tipo gastrointestinal nos subtipos pilórico e intestinal, comumente analisados em conjunto, comparando-os com o tipo mülleriano, e analisar a expressão de vários marcadores celulares nos vários subtipos e apresentações clinicopatológicas, como por exemplo, no PMP.

OBJETIVOS

2- OBJETIVOS

1. Descrever a apresentação dos tumores mucinosos primários de ovário quanto ao padrão de diferenciação fenotípica e potencial de malignidade, com sua distribuição quanto à idade, bilateralidade e tamanho tumoral.
2. Descrever a expressão dos genes produtores de mucina MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6 nos diferentes subtipos histológicos.
3. Descrever a expressão dos marcadores celulares CK7, CK20, CA125, CA19.9 e RE/RP nos diferentes subtipos histológicos.
4. Comparar o padrão pilórico puro com o padrão intestinal puro, comumente analisados em conjunto, quanto ao potencial de malignidade e perfil imunoistoquímico.
5. Analisar os tumores de tipo intestinal puro quanto à presença de PMP, potencial de malignidade e o perfil imunoistoquímico.

REVISÃO DE LITERATURA

3- REVISÃO DE LITERATURA

3.1- Definição e evolução histórica

O tumor mucinoso de ovário é classificado entre os tumores da superfície epitelial ovariana baseado na presença de células epiteliais contendo mucina intracitoplasmática, podendo ser semelhante ao epitélio endocervical, gástrico pilórico e intestinal, de acordo com a classificação de tumores da WHO em 2003 ².

Pfannenstiel (1898)* apud Pickel e Tamussino ¹, além da famosa incisão cirúrgica para acesso da cavidade pélvica em cirurgias ginecológicas e obstétricas, atuou também no campo da histologia, anatomia patológica e aspectos clínicos dos tumores de ovário. Ele foi provavelmente o primeiro a diferenciar os tumores derivados do “parênquima” ovariano daqueles derivados do estroma. Os tumores derivados do parênquima representavam neoplasias epiteliais originadas do epitélio da superfície e tumores originados do óvulo designados cisto dermóide e teratoma. Também diferenciou os tumores mucinosos dos serosos, no final do século XIX, baseado somente em características histológicas do epitélio. Pfannenstiel avançou em propor a histogênese dos tumores serosos nos cistos de inclusão epitelial presentes no parênquima ovariano e também descreveu os tumores hoje conhecidos como

* Pfannenstiel HJ. Die Erkrankungen des Eierstocks und Nebeneierstocks. In: Veilt J Handbuch der Gynakologie. Vol. 3, 1. Hälfte: Wiesbaden Bergmann, 1898:299-363.

borderline, embora não tenha feito uma clara distinção entre os tumores benignos e malignos.

Desde então a interpretação dos tumores mucinosos do ovário tem sido um desafio para os patologistas cirúrgicos e pesquisadores, produzindo mudanças substanciais em sua classificação ao longo dos últimos 50 anos através de observações alinhando estudos histopatológicos, clínico – cirúrgicos de estadiamento e definição de prognóstico.

Até meados de 1960 os tumores mucinosos ovarianos eram classificados como cistoadenoma pseudomucinoso, carcinoma pseudomucinoso e pseudomixoma *ovari et peritonei*, segundo Allan e Hertig ⁴⁸, e Cariker e Dockerty ⁴⁹, até então sem referência ao grupo de baixo potencial de malignidade, descrito anteriormente por Taylor IIC Jr em 1929 para o tipo histológico seroso.

Pfannestiel ¹ em 1898 e Abel ² em 1901, apud Hart ⁵⁰, descreveram cistoadenoma ovariano papilífero com características de malignidade *borderline* entre tumores benignos e malignos. Taylor ³ em 1929 apud Hart ⁵⁰, introduziu o termo tumor semi-maligno e com Munnell ⁴ delinearam a categoria *borderline* para os tumores serosos. As características de tumor mucinoso *borderline*

¹ Pfannenstiel HJ. Die Erkrankungen des Eierstocks und Nebeneier-stocks. In: Veilt J Handbuch der Gynakologie. Vol. 3, 1. Hälfte: Wiesbaden Bergmann, 1898:299-363.

² Abel C, Bandler SW. Gynecological Pathology. A Manual of Microscopic Technique and Diagnosis in Gynecological Practice For Students and Physicians. Willian Wood & Company: New York, 1901.

³ Taylor Jr HC. Malignant and semi-malignant tumors of the ovary. *Surg Gynecol Obstet* 1929; 48: 204-230.

⁴ Munnell EW, Taylor HC. Ovarian carcinoma: a review of 200 primary and 51 secondary cases. *Am J Obstet Gynecol* 1949; 58: 943-959.

foram provavelmente pela primeira vez documentados no estudo da Clínica Cleveland⁵ em 1955, apud Hart⁵⁰.

Apenas em 1971 a FIGO⁵¹ (*International Federation of Gynecology and Obstetrics*) e, em 1973, a WHO⁵² reconheceram em suas classificações de tumores epiteliais ovarianos uma categoria que identificava um tipo histológico intermediário entre o cistadenoma e o cistadenocarcinoma, o qual apresentava um prognóstico favorável e ausência de invasão estromal, que foi designado como tumor *borderline*, também chamado de neoplasia de baixo potencial de malignidade. A categoria *borderline* surgiu como resposta a questionamentos quanto à classificação histológica, estadiamento e prognóstico dos tumores mucinosos, sendo crucial para a compreensão do comportamento dos tumores mucinosos do ovário. Observou-se que quando o tumor *borderline* era considerado como maligno a frequência relativa dos carcinomas mucinosos era elevada com expectativa de vida desproporcionalmente favorável, motivando pesquisadores a designá-los separadamente dos carcinomas para estabelecimento de prognóstico e da eficácia terapêutica⁵³.

Hart e Norris⁵³ foram os pioneiros em definir critérios histológicos de malignidade para diagnóstico e classificação dos tumores mucinosos do ovário, e para determinar o comportamento clínico dos tumores *borderline* e dos carcinomas. Estudaram características clínicas e patológicas de 136 tumores de ovário estágio I com epitélio mucinoso proliferativo que anteriormente haviam

⁵ Fisher ER, Krieger JS, Skirpan PJ. Ovarian cystoma. Clinicopathological observations. *Cancer* 1955; 8: 437-445.

sido classificados com cistoadenocarcinoma. Baseados somente em critérios histológicos eles reclassificaram esses tumores entre as categorias *borderline* (97) e carcinoma (39). Diferente da classificação da FIGO ⁵¹, que utilizava apenas a presença de evidente invasão estromal como critério para o diagnóstico de carcinoma, eles também consideraram a presença de intensa atipia citológica e a estratificação maior que três camadas, além da invasão estromal, como critério para classificação do carcinoma. Ressaltaram ainda o freqüente espectro de diferenciação dentro de uma mesma neoplasia presente nos tumores mucinosos e a necessidade de uma ampla representação histológica. Na observação clínico-cirúrgica verificaram o prognóstico favorável dos tumores *borderline*, que apresentaram taxa de sobrevida em 5 anos e 10 anos de 98% e 96% respectivamente. Interessantemente, pela primeira vez relatou-se que dos casos que sofreram ruptura no ato cirúrgico nenhum desenvolveu PMP, e que este último, quando presente, coexistia com o tumor mucinoso ovariano no ato cirúrgico, bem como a presença de mucocele do apêndice cecal, mas não definiram a patogênese do PMP.

Apesar da introdução do conceito do tumor *borderline* ter sido de suma importância para compreensão do comportamento dos tumores mucinosos de ovário, ainda existiam pontos de controvérsia entre os pesquisadores, principalmente pela falta de critérios histológicos uniformes para estabelecer a invasão estromal, definido como crescimento infiltrativo e destrutivo estromal pela FIGO ⁵¹ e como invasão estromal evidente pela WHO ⁵², sendo uma

importante característica histológica que diferencia os tumores *borderline* dos carcinomas ovarianos. Assim Russell e Bannatyne ^{*}(1989) apud Powell ⁵⁴ descrevem e estabelecem critérios para o diagnóstico da microinvasão nas neoplasias mucinosas de ovário pela primeira vez. Através de estudos posteriores, como os de Nayar *et al.* ⁵⁵, Hoerl e Hart ⁵⁶, Riopel, Ronnett e Kurman ³, e Lee e Scully ⁹ foram firmados os conceitos de tumor *borderline* com microinvasão estromal e tumor *borderline* com carcinoma intra-epitelial, baseados no seguimento pós-cirúrgico das pacientes com estes diagnósticos, onde a recorrência do tumor e a mortalidade pela doença eram pouco freqüentes, indicando um prognóstico favorável ⁵⁵.

Riopel, Ronett e Kurman ³ estudaram 136 casos de tumor mucinoso ovariano, distribuídos entre tumor *borderline*, cistoadenocarcinoma primário e metastático. Avaliaram a invasão estromal, atipia citológica, estratificação epitelial e necrose. Demonstraram que o principal critério histológico com correlação prognóstica para diferenciar o tumor *borderline* do cistoadenocarcinoma mucinoso é a invasão estromal, definindo seus diferentes padrões e extensão. Assim distinguiram os padrões de invasão estromal em infiltrativo, confluência glandular e nodular. Também estabeleceram um ponto de corte para extensão da invasão, definindo tumor *borderline* com microinvasão se com foco menor que 5,0 mm em uma área contígua, e

^{*} Russell P, Bannatyne P: Surgical Pathology of the Ovaries. New York, Churchill Livengstone, 1989, pp 227-228.

francamente cistadenocarcinoma invasivo com foco de invasão maior que 5,0 mm.

Lee e Scully⁹ estudaram 196 casos de tumores *borderline* e carcinoma mucinosos de ovário também motivados pelas controvérsias no estabelecimento de critérios para distinguir as duas categorias. Utilizaram como critério histológico para definir o tumor *borderline* com carcinoma microinvasivo a presença de foco de microinvasão menor que 3,0 mm em duas medidas lineares ou 10mm².

Apesar das dificuldades em estabelecer as medidas limítrofes entre os diferentes estudos quanto à dimensão do foco de microinvasão, atualmente a WHO² define como tumor *borderline* com carcinoma microinvasivo quando o foco de microinvasão estromal apresenta medida menor que 3,0 mm em duas medidas lineares ou 10 mm². O tumor *borderline* com carcinoma intraepitelial é também definido pela WHO² como neoplasia com atipia celular intensa com ou sem estratificação epitelial maior que três camadas celulares.

O padrão confluyente ou expansivo de invasão estromal foi descrito por Riopel et al.³ ajudando no diagnóstico diferencial dos tumores *borderline* com carcinoma intra-epitelial e carcinomas mucinosos de difícil identificação de foco de invasão estromal evidente. É caracterizado por epitélio glandular mucinoso de contornos nítidos, com arranjo arquitetural por vezes complexo, com aspecto serpinginoso ou cribriforme, apresentando pouco estroma entre as glândulas, e ausência de reação estromal de desmoplasia³. O padrão confluyente de invasão

estromal está presente em cerca de 88% dos carcinomas mucinosos primários e em 18% dos carcinomas mucinosos metastáticos em ovário ²⁸. O reconhecimento do carcinoma mucinoso com padrão confluyente de invasão, assim como o tumor *borderline*, foi importante na classificação, compreensão do comportamento biológico e estabelecimento do prognóstico do tumor mucinoso do ovário.

3.2- Epidemiologia e distribuição

A incidência do câncer de ovário aumenta com a idade e é mais comum em mulheres com história de doença familiar. O risco de doença diminui com o aumento da paridade, uso de contraceptivo oral, histerectomia e esterilização por ligadura tubária ⁵⁷.

O grande número de subtipos histológicos e a falta de critério histológico uniforme entre as neoplasias epiteliais ovarianas representam um problema na investigação da freqüência, bem como do estudo etiológico. As controvérsias no estabelecimento de critérios histológicos e classificação particular aos tumores mucinosos causaram também dificuldades para levantamento de dados estatísticos, resultando em escassa informação na literatura sobre a sua freqüência. Segundo Scully, Young e Clement ⁵, 30% a 50% dos tumores epiteliais ovarianos são classificados como tumor *borderline* e 6% a 10% dos carcinomas ovarianos são do tipo mucinoso. Koonings *et al.* ⁵⁸, em 1989,

relataram um dos primeiros estudos estatísticos de neoplasia ovariana que incluía o tumor epitelial ovariano *borderline*, entre outros tumores como os originados de estroma e tumores germinativos. Em 861 casos de neoplasia ovariana observou que o cistadenoma mucinoso foi a terceira neoplasia benigna encontrada, correspondendo 12% dos casos, precedido pelo cistoadenoma seroso (52%) e pelo teratoma maduro cístico (58%). Entre os 31 casos de tumores ovarianos *borderline*, os tumores *borderline* serosos são os mais freqüentes (61%) seguidos pelos tumores *borderline* mucinosos com 36% dos casos. Os carcinomas mucinosos primários são poucos freqüentes quando afastada neoplasia mucinosa metastática, correspondendo a aproximadamente 9% das neoplasias ovarianas malignas.

Após os importantes avanços ocorridos nos últimos anos no diagnóstico do carcinoma da superfície epitelial ovariana que foram incorporados em sua classificação, bem como o reconhecimento de padrões histológicos e de perfil imunoinstiquímico para o diagnóstico diferencial com neoplasias metastática, Seidman *et al.*⁵⁹ relatam uma série de 220 casos de carcinomas da superfície epitelial ovariana, incluindo 31 casos de carcinomas serosos primários do peritônio, com ênfase a sua distribuição segundo o tipo histológico e estadiamento. Observaram que os carcinomas mucinosos representam menos de 3% dos carcinomas ovarianos, destes 83,3% eram de estágio I e 16,7% estavam entre os estádios II a IV. A alta prevalência de carcinoma mucinosos metastático em ovário, que anteriormente eram diagnosticados como

neoplasias primárias; o reconhecimento do tumor *borderline* com carcinoma intraepitelial ou carcinoma microinvasivo; e finalmente o reconhecimento do PMP como de origem em trato gastrointestinal são, segundo os autores, as principais razões para a baixa incidência dos carcinomas mucinosos primários de ovário quando comparados a frequências descritas anteriormente.

3.3- Etiologia

A história natural e a patogênese do carcinoma ovariano é pouco conhecida devido principalmente à topografia do órgão que não permite a observação direta, levando ao diagnóstico tardio já em estadiamento avançado em metade dos casos de carcinoma ovariano ⁶⁰.

O carcinoma precoce ovariano ou também designado carcinoma de novo é dificilmente documentado histologicamente, sendo definido como um tumor maligno ovariano que não foi detectado em exames pré-operatórios, no ato cirúrgico pelo cirurgião, ou pelo patologista durante o exame macroscópico, sendo observado apenas no exame microscópico. A designação precoce ou de novo indica que o tumor não se originou de uma lesão epitelial benigna ovariana, mas do epitélio da superfície ou da sua inclusão no estroma cortical ^{17, 61}.

Baseado no estudo de 14 casos de carcinoma precoce ovariano Scully ¹⁷ descreve algumas hipóteses para explicar a origem e o comportamento do

câncer ovariano. A origem do carcinoma no epitélio de superfície ovariana ou em cistos de inclusão epitelial no córtex ovariano é defendida devido a evidente localização de tumores precoces nesta topografia, bem como detecção de alterações displásicas neste epitélio. Embora a maioria dos carcinomas precoces não ser estadiada, usualmente apresentam alto grau histológico e por vezes prognóstico desfavorável com freqüente recorrência e óbito. Lesões epiteliais benignas pré-existentes também podem originar carcinomas ovarianos através da seqüência benigno-maligno, como presente na endometriose e carcinoma endometrióide ou carcinoma de células claras, observando-se uma diferença de idade de 10-15 anos entre pacientes entre os dois pólos com lesões benignas e carcinomas do ovário do mesmo tipo histológico. Também no achado de espectro celular maligno, *borderline* e benigno no epitélio de uma mesma neoplasia, chamado de fenômeno de maturação. Finalmente a documentação histológica rara de metaplasia mucinosa em cistos de inclusão epitelial e a ausência de relatos de carcinoma de novo mucinoso sugere que uma proporção dos tumores mucinosos ovarianos podem ser originados de célula germinativa.

Scully, Young e Clement ⁵ também relatam que raramente observa-se metaplasia mucinosa no epitélio de superfície mesotelial ovariano ou nos cistos de inclusão. Fato que sugere uma hipótese alternativa para a etiopatogênese da neoplasia mucinosa ovariana podendo ser originada em célula germinativa. Sustentando esta hipótese existem estudos como os do Becker e Latour ¹⁰, e

Russell ¹¹, que demonstram a presença comum de glândulas e cistos mucinosos em teratomas, e 3-5% dos tumores mucinosos apresentam associação com teratomas maduros císticos ⁵.

Feeley e Wells ¹⁶ em artigo de revisão comentam que embora ainda não tenha sido possível descrever a seqüência de eventos moleculares na carcinogênese da neoplasia epitelial ovariana, já está bem estabelecido sua origem no epitélio de revestimento ovariano ou da sua invaginação no estroma formando cistos de inclusão, que apresentam metaplasia mülleriana freqüentemente documentado na histologia.

Salazar *et al.* ⁶² observam que a origem embriológica comum, no epitélio celômico, tanto do revestimento mesotelial na superfície ovariana como dos ductos müllerianos, que são originados da invaginação do epitélio celomático lateralmente à prega gonadal, explica a freqüente presença de metaplasia tipo mülleriana no epitélio mesotelial que recobre o ovário, bem como a semelhança histológica em suas neoplasias.

Estudos epidemiológicos têm estabelecido a relação do número de ovulações durante a vida reprodutiva da mulher e a freqüência de neoplasia epitelial ovariana, como relatado por Banks, Beral e Reeves ⁵⁷.

Auersperg *et al.* ⁶³, Siemens e Auersperg ⁶⁴, e Kruk *et al.* ⁶⁵ demonstraram que as células mesoteliais da superfície ovariana desempenham um complexo papel na fisiologia ovariana, com funções reguladoras de crescimento celular e proteólise, sendo moduladas para uma morfologia epitelial

ou mesenquimal em resposta a estímulos desencadeados durante o processo de reparo e cicatrização da ovulação. Este processo fisiológico pode levar ao surgimento de fenótipo epitelial mülleriano, bem como aberrações nestas etapas podem contribuir com eventos moleculares para o desenvolvimento de malignidade.

O processo de tumorigênese através de cisto de inclusão epitelial ovariano é bem provável nas neoplasias serosas. Estudos de biologia molecular, como o descrito por Hutson *et al.*⁶⁶, demonstram a origem de novo dos carcinomas serosos com mutação do p53, perda de heterozigosidade (LOH) e instabilidade de microsátélites.

Considerando-se que aproximadamente 15% dos tumores *borderline* mucinosos são de tipo endocervical ou mülleriano, essa via de tumorigênese também pode ocorrer nos tumores mucinosos^{18,19}, originando-se de foco de metaplasia mülleriana de tipo endocervical da superfície do ovário ou de cistos de inclusão epitelial no córtex¹⁶. Sampson* , em 1925, apud Rutgers e Scully¹⁹, descreveu carcinoma ovariano originando-se em endometriose, ressaltando a presença de uma zona de transição entre o epitélio benigno da endometriose e o epitélio maligno da neoplasia. Rutgers e Scully¹⁹ observaram a presença de endometriose em 30% dos casos de tumor mucinoso *borderline* de padrão mülleriano, com presença de uma zona de transição entre o foco de endometriose e a neoplasia mucinosa em 6 casos (20%).

* Sampson JA. Endometrial carcinoma of the ovary arising in endometrial tissue in that organ. *Arch Surg* 1925; 10: 1-72.

Outra hipótese, já referida anteriormente, seria a origem em célula germinativa, principalmente nos tumores mucinosos de tipo gastrointestinal, onde apenas o folheto endodérmico estaria presente, sendo chamado por alguns autores como teratoma monodérmico ⁵.

Entretanto a freqüente evidência histológica de presença de ambos os epitélios de padrão gastrointestinal e mülleriano presentes em tumores *borderline*, denominados por alguns autores como de tipo misto ^{18,19,21}, levaram alguns autores a propor uma hipótese alternativa de neo-metaplasia do epitélio endocervical. Uma forte evidência dessa hipótese seria o relato de raros tumores que apresentam a transição de endometriose para epitélio mucinoso endocervical e epitélio mucinoso intestinal ¹⁹.

Embora existam poucos dados na literatura sobre as diferenças genéticas entre os tumores mucinosos de tipo gastrointestinal e mülleriano, é possível que a transformação maligna entre eles possa ser divergente ¹⁶.

3.4- Classificação

Atualmente os tumores mucinosos são classificados segundo a WHO ² em: tumores benignos, podendo ser cistoadenoma, cistoadenofibroma e adenofibroma mucinosos, estes dois últimos apresentando estroma fibromatoso; tumor *borderline* mucinoso, o qual ainda é subclassificado em tumor *borderline* com carcinoma intra-epitelial e tumor *borderline* com

carcinoma microinvasivo, de acordo com os critérios já relatados acima; adenocarcinoma mucinoso e por fim, tumor mucinoso com nódulo mural, o qual pode ser maligno, com carcinoma anaplásico, sarcoma ou carcinosarcoma, ou apresentar tecido pseudo-sarcomatoso benigno.

Além da classificação segundo o potencial de malignidade, os tumores mucinosos ovarianos apresentam uma diversidade quanto ao fenótipo celular, sendo classificados em padrão intestinal e endocervical ², com características patológicas e comportamento clínico distintos.

Fenoglio *et al.* ⁶⁷, em 1975, foram os pioneiros em classificar os tumores mucinosos de ovário segundo o fenótipo celular. Através do estudo de microscopia óptica e eletrônica de 8 casos de cistoadenomas mucinosos de ovário, eles classificaram os tumores em tipos endocervical, composto por epitélio monótono de células colunares com núcleo basal e citoplasma finamente granular, tipo intestinal, composto por epitélio intestinal com população de células heterogênea incluindo células caliciformes, absortivas e argentafins, e finalmente o tipo misto, quando apresentava ambos os tipos intestinal e endocervical em uma mesma lesão.

Posteriormente Lapertosa ⁶⁸ em 1989, Tenti *et al.* ⁶ em 1992, e Shiozawa *et al.* ⁶⁹ em 1992, demonstraram através de estudos histoquímicos e também de microscopia eletrônica, a homologia antigênica e morfológica entre os tumores mucinosos de ovário e a mucosa gástrica, principalmente na área

glandular pilórica, reforçando assim a presença de diferenciação gástrica entre os tumores mucinosos de ovário.

Assim os tumores mucinosos de padrão intestinal apresentam em geral epitélio semelhante ao epitélio colônico com células caliciformes, células neuroendócrinas, e mais raramente também células de Paneth. Podem apresentar ainda epitélio semelhante à mucosa gástrica foveolar com invaginação no estroma formando criptas semelhantes às glândulas pilóricas, sendo chamados por alguns autores de padrão gastrointestinal ^{7,8,35}. Cerca de 85-90% dos tumores mucinosos ovarianos de padrão intestinal são do tipo *borderline* ^{2,50}, com uma alta prevalência também entre os tumores malignos. Apresentam como uma característica particular freqüente heterogeneidade tumoral no que se refere ao potencial de malignidade, com presença de áreas benignas, *borderline* e/ou malignas coexistindo em uma mesma neoplasia, chamado de fenômeno de maturação ⁵⁰.

Os tumores mucinosos de padrão endocervical, ou também chamados de padrão mülleriano, apresentam revestimento semelhante ao epitélio endocervical normal ou reativo. Representam 10-15% dos tumores *borderline* mucinosos, apresentando projeções papilíferas com ramificações semelhantes aos tumores *borderline* serosos, com presença de células com citoplasma eosinofílico e estratificação epitelial nos ápices das papilas e freqüente infiltrado neutrofílico ^{2,8,19}.

Rugters e Scully ¹⁹, em 1988, descreveram pela primeira vez os tumores mucinosos de padrão endocervical ou mülleriano, que foi designado como “cistoadenomas müllerianos mucinosos papilíferos de malignidade *borderline*”, relatando 30 casos de tumor mucinoso *borderline* caracterizados por arquitetura papilífera remanescente dos tumores serosos, mas com epitélio mucinoso semelhante ao da endocérvice. Comparando com 18 casos de tumores mucinosos *borderline* de padrão intestinal, observaram que os que as pacientes com tumores mucinosos de padrão mülleriano apresentavam uma média de idade de 34 anos, inferior à média de idade apresentada pelas pacientes com tumores mucinosos de padrão intestinal (52 anos). Os tumores mucinosos müllerianos apresentaram-se ainda com alta freqüência de bilateralidade (40% x 10%), média de tamanho tumoral menor (8,0 cm x 19,0 cm), maior comprometimento da superfície capsular (13% x 6%), apresentando-se mais freqüentemente como tumores uniloculares (57% x 17%), com presença de papilas intra-císticas macroscopicamente (87% x 17%) e com associação com endometriose em 30% dos casos, quando comparados aos tumores mucinosos de padrão intestinal.

Concomitantemente, os mesmos autores descreveram 36 casos de tumores com aspectos clínicos e patológicos semelhantes a estes últimos, porém eram compostos por uma mistura de elementos epiteliais do tipo endocervical com mais de 10% de epitélio seroso ciliado, endometrióide, escamoso, e células eosinofílicas indiferenciadas, os quais designaram

“cistoadenomas müllerianos mistos-epiteliais papilíferos de malignidade *borderline*”¹⁸.

Embora os primeiros relatos de tumores mucinosos müllerianos fossem todos da categoria *borderline*, alguns poucos casos de tumores *borderline* com carcinoma intra-epitelial, carcinoma microinvasivo e carcinoma francamente invasivo foram relatados na literatura. Shappell *et al.*⁷⁰ descreveram como critério histológico para diagnóstico de tumores mucinosos *borderline* de padrão mülleriano a presença de arquitetura papilífera complexa com variável estratificação celular, atipia celular de leve a moderada e ausência de invasão estromal. O carcinoma intra-epitelial era reconhecido pela presença de padrão cribriforme de crescimento ou atipia citológica intensa, e diferente do critério que é utilizado nos tumores de padrão intestinal, a presença de estratificação celular maior que 3 camadas de células não foi considerada como critério diagnóstico devido a freqüente estratificação epitelial presente nos ápices das papilas nos tumores mucinosos de padrão mülleriano. O carcinoma microinvasivo era diagnosticado pela presença de foco de invasão estromal menor que 5 mm no seu maior eixo, e quando apresentava foco de invasão estromal maior que está medida era critério para o diagnóstico de carcinoma.

Dubé *et al.*²¹ relataram 17 casos de tumores mucinosos de padrão mülleriano, incluindo 12 tumores *borderline*, 2 tumores *borderline* com carcinoma intra-epitelial, 2 tumores *borderline* com carcinoma microinvasivo e 1 carcinoma, utilizando os mesmos critérios diagnósticos descritos por Shappell

*et al.*⁷⁰. Entretanto, eles consideraram ambos os tumores de padrão endocervical ou misto como um espectro dentro de um grupo de tumores referido como tumores mucinosos seromucinosos ou müllerianos. Observaram que a presença de carcinoma intra-epitelial ou de carcinoma microinvasivo não afetava o prognóstico nos casos estudados, sendo a maioria dos tumores de estágio I, com sobrevida de 94% em 5 anos. Entretanto os carcinomas mucinosos müllerianos francamente invasivos parecem apresentar um prognóstico pior, principalmente se forem de estágio avançado, mesmo com o pequeno número de casos na literatura^{21,70}.

Estes tumores são diferentes dos tumores mucinosos de padrão intestinal tanto morfológica como clinicamente, sendo que características comuns entre os tumores mucinosos de padrão mülleriano, como bilateralidade, implantes peritoneais e associação com endometriose, são pouco comuns entre os tumores mucinosos de padrão intestinal^{8,21}. Estas características são semelhantes aos dos tumores serosos de ovário, justificando a designação de tumores seromucinosos, e segundo Vang *et al.*⁸ este subgrupo de tumores talvez esteja mais intimamente relacionado aos tumores serosos quanto a sua patogênese, podendo até representar mais um subtipo de tumor seroso do que de tumor mucinoso ovariano.

3.5- Carcinogênese

O processo de carcinogênese das lesões pré-malignas e dos carcinomas ovarianos ainda continua desconhecido devido ao diagnóstico tardio da doença em estágio avançado, e ambas as vias de carcinogênese, de novo do epitélio da superfície e a da transformação dos cistoadenomas benignos continuam a ser sugeridos, sendo este último sugerido principalmente nos tumores mucinosos de ovário, onde o fenômeno de maturação é tão freqüente. Embora os tumores ovarianos apresentem 3 tipos histológicos distintos quando ao potencial de malignidade, cistoadenomas, tumores *borderline*, e carcinomas, a relação biológica entre eles ainda continua pouco conhecida^{22, 71,72}.

O tumor mucinoso *borderline* tem sido considerado por vários autores como estágio precoce na progressão tumoral do carcinoma mucinoso ovariano^{22,23,71,72}. Puls *et al.*⁷² identificaram epitélio mucinoso benigno adjacente a epitélio maligno em 90% dos carcinomas mucinosos ovarianos e foram capazes de definir uma área de transição do epitélio benigno para o epitélio francamente atípico em pelo menos 50% dos casos estudados.

Estudos utilizando técnicas de biologia molecular com a análise histológica dos tumores epiteliais do ovário tentam explicar suas diferentes vias de patogênese, e assim entre os tumores mucinosos observou-se uma alta prevalência de mutações do gene *K-ras*, podendo ser este o principal fator da patogênese do tumor mucinoso^{23,73}.

O gene da família *ras*, um proto-oncogene, consiste em três genes intimamente relacionados, o *Ha-ras*, o *K-ras* e *N-ras*. Estes genes codificam proteínas que estão localizadas na membrana interna celular, com atividade GTPase, envolvidas na via de transdução de sinais intracelular⁷⁴. Mutações no gene *ras* são comuns entre as alterações genéticas presentes nos carcinomas humanos, presentes em 90% dos carcinomas pancreáticos, 50% dos carcinomas colônicos e 30% dos carcinomas pulmonares não pequenas células. Na maioria dos adenocarcinomas, mais de 90% das mutações do gene *ras* ocorrem no gene *K-ras*, e aproximadamente 80% ocorre no codon 12^{24,74,75}.

Mandai *et al.*²², na expectativa de estabelecer correlação entre alterações genéticas e as diferentes áreas histológicas presentes em uma mesma neoplasia, estudaram 71 tumores epiteliais ovarianos, sendo 31 tumores mucinosos, através da técnica de microdissecção de tecido, para avaliar mutações do gene *K-ras* com ênfase à histologia. Os autores observaram não apenas uma frequência maior de mutações do gene *K-ras* entre os tumores mucinosos, mas entre os 9 tumores mucinosos com alterações genéticas evidentes, 7 casos apresentaram distribuição homogênea da mutação do gene *K-ras*, independente das características histológicas das áreas estudadas, e em 2 tumores observou-se distribuição heterogênea da alteração genética, em geral ausente nas áreas benignas estudadas, sugerindo que a transformação

maligna ocorre do cistoadenoma para tumor *borderline* e depois para carcinoma mucinoso, sendo assim um evento precoce nas etapas da sua carcinogênese.

Garrett *et al.* ²⁵ também realizaram estudo semelhante com 20 casos de tumores mucinosos de ovário utilizando técnica de biologia molecular pesquisando mutações do gene *K-ras* com referência a histologia. Demonstrando a presença da mutação do gene *K-ras* concomitante em áreas benignas adjacentes às áreas de tumor *borderline* e de carcinoma mucinoso, eles concluíram que está pode ser uma alteração genética precoce na carcinogênese do tumor mucinoso. Também levantam a possibilidade do tumor mucinoso *borderline* surgir de modo clonal de uma célula benigna contendo a mutação do gene *K-ras*, devido a presença da mesma mutação em ambos os epitélios benigno e *borderline* em um mesmo tumor, sugerindo uma evidência de uma seqüência adenoma-carcinoma para os carcinomas mucinosos ovarianos, semelhante ao modelo demonstrado por Fearon e Vogelstein ⁷⁵ para o cólon.

Cuatrecasas *et al.* ²⁴ verificaram que a mutação do *K-ras* é pouco freqüente nas neoplasias não mucinosas do ovário, e quando presente está principalmente relacionada com a progressão tumoral. Ao comparar com resultados de um estudo que havia realizado anteriormente ²³, os autores fizeram a hipótese que a mutação do *K-ras* seja o principal fator na patogênese da neoplasia epitelial mucinosa e talvez esteja relacionado com o desenvolvimento do fenótipo mucinoso em tumores ovarianos.

Mandai *et al.* ²², ressaltam no seu estudo que entre os 9 tumores mucinosos com mutação do gene *K-ras*, apenas um tumor *borderline* era de fenótipo mülleriano, os demais, do tipo intestinal. As diferentes frequências da presença da mutação do gene *K-ras* entre os tumores ovarianos mucinosos e não-mucinosos parecem estar relacionadas com a histogênese. A baixa frequência de mutações do gene *K-ras* nos tumores mucinosos de fenótipo mülleriano é também observado nos tumores epiteliais não-mucinosos ovarianos, ambos de padrão mülleriano de diferenciação. Assim, os tumores mucinosos de fenótipo mülleriano além de dividir características clínicas e patológicas semelhantes aos demais tumores epiteliais ovarianos, principalmente com os tumores serosos, pode ter uma via de carcinogênese também semelhante aos demais tumores epiteliais ovarianos de padrão mülleriano ^{8,16,22,24}.

Outros autores concluem que a análise de alterações genéticas como estudos de LOH podem prever o prognóstico e ajudar na decisão do tratamento ⁷⁷. Tumores mucinosos *borderline* de ovário com LOH nos cromossomos 5q14-21 e 17q11.2 são indicados como possíveis precursores de carcinomas. Estudo com seguimento clínico pode demonstrar que pacientes com tumores mucinosos *borderline* de ovário com LOH nos cromossomos 19q12 e Xq11-12 apresentam maior risco de progressão da doença ⁷⁷.

A análise de perfil gênico tem sido utilizada para identificar importantes genes que contribuem no processo da carcinogênese, bem como a

diferenciação entre os tumores ovarianos de diferentes tipos histológicos e estádios. Wamunyokoli *et al.* ⁷⁸ estudaram a expressão de perfil gênico com análise de cRNA *microarray* nos tumores mucinosos de ovário, comparando-os com tumores serosos e epitélio do revestimento capsular normal do ovário. Neste estudo os autores identificaram genes diferentemente expressos nos tumores mucinosos quando comparados ao epitélio da superfície ovariana, provavelmente indicando marcadores de fenótipo mucinoso. Observaram que os tumores *borderline* e carcinomas mucinosos estão mais relacionados geneticamente aos carcinomas serosos, o que pode sugerir um fenótipo mais agressivo associado aos tumores mucinosos. Os resultados também indicaram que o tumor *borderline* mucinoso seja uma lesão intermediária para o carcinoma, com presença de genes diferentemente mais expressos nos tumores *borderline* e carcinomas do que nos cistoadenomas mucinosos. A correlação dos genes expressos nos tumores mucinosos com a via de sinalização celular mostra alguns deles relacionados aos mecanismos de resistência a drogas, mesmo nos tumores *borderline* indicando que o mecanismo de resistência a drogas seja um evento precoce na carcinogênese do tumor mucinoso, podendo estas novas informações moleculares ser aplicadas no desenvolvimento de tratamento terapêutico no futuro.

3.6- Diagnóstico diferencial

Considerando-se que o ovário é sítio anatômico comum para tumor metastático ⁷⁹ e que o carcinoma mucinoso primário do ovário é pouco freqüente, representando menos de 3% dos carcinomas primários de ovário ⁵⁹, a possibilidade de neoplasia metastática deve ser sempre descartada quando um tumor mucinoso ovariano é examinado na prática da patologia cirúrgica para prevenir um diagnóstico errado ³⁵.

A distinção entre os tumores mucinosos primários de ovário e metastáticos tem sido um desafio na rotina diagnóstica. Muitas neoplasias metastáticas envolvendo o ovário simulam tumor ovariano primário, especialmente os tumores que exibem diferenciação mucinosa, os quais muitas vezes apresentam características morfológicas semelhantes às neoplasias mucinosas primárias de ovário ²⁶.

Segundo Young e Scully ⁸⁰ os tumores mucinosos metastáticos em ovário podem apresentar muitas características que são semelhantes aos dos tumores primários, como o aspecto macroscópico cístico, muitas vezes a ausência de necrose, bem como a coexistência de áreas com epitélio de aspecto benigno e *borderline* no exame microscópico, chamado fenômeno de maturação. Além do que os tumores mucinosos primários de ovário apresentam uma alta incidência do fenótipo intestinal entre as categorias *borderline* e carcinoma, fazendo ainda mais difícil o diagnóstico diferencial com carcinomas metastáticos do trato

gastrointestinal inferior ²⁶ e superior, entre eles do pâncreas ⁸¹, do trato biliar ⁸², do estômago ²⁸, e também com colo uterino quando apresentam fenótipo mülleriano ^{83,84}, podendo apresentar aparência histológica sem atipias que são facilmente confundidas com tumores ovarianos *borderline*.

As metástases de adenocarcinoma coloretal em ovário apresentam-se mais freqüentemente como neoplasia unilateral do que o esperado para tumores metastáticos, com apenas 25%-43% dos tumores sendo bilaterais. A média de tamanho varia entre 11-15 cm, com presença comum de hemorragia e necrose tumoral. O epitélio freqüentemente apresenta com aspecto endometrióide, também com freqüência variável de diferenciação mucinosa, podendo produzir abundante mucina extracelular e também apresentar células em anel de sinete. Exibem padrão de necrose tumoral característico com material necrótico eosinofílico e restos celulares circundados por epitélio tumoral, chamado de necrose suja (*dirty necrosis*). Alguns tumores podem apresentar padrão de crescimento com glândulas confluentes sem invasão estromal destrutiva simulando tumor *borderline* com carcinoma intra-epitelial ou carcinoma mucinoso bem diferenciado primário de ovário ^{26,27,85,86}.

Os tumores do apêndice cecal, tumor mucinoso de baixo potencial de malignidade ou carcinoma mucinoso, metastáticos em ovário são bilaterais em 88% e 80% respectivamente, e tumor unilateral acomete preferencialmente o ovário direito. Os tumores apresentam dimensões em geral menores que 10,0 cm, mas podem ter dimensões maiores, quando então observa-se massa

cística multiloculada na superfície de corte. No exame histológico esses tumores são caracterizados pela presença de abundante mucina extracelular dissecando o estroma ovariano, também chamado de PMO, com quantidade variável de epitélio adenomatoso que pode apresentar aspecto hipermucinoso, e freqüente acometimento da superfície capsular. Ocasionalmente o epitélio mucinoso é mais abundante podendo formar padrão semelhante aos tumores mucinosos *borderline* primários do ovário. Estes tumores são também freqüentemente acompanhados de PMP ^{27,31,32,87}.

Os adenocarcinomas pancreático-biliares metastáticos em ovário são bilaterais em 75%-100%, com tamanho tumoral variando de 7-13 cm. A maioria desses tumores apresenta-se como massa cística multiloculada, com ou sem comprometimento da superfície capsular. Embora apresentem crescimento tumoral infiltrativo com estroma desmoplásico, alguns casos podem apresentar glândulas cisticamente dilatadas ou estruturas papilíferas vilos-glandulares com mínima atipia nuclear em estroma fibrótico não desmoplásico simulando cistoadenomas ou tumores *borderline* primários de ovário ^{27,38,81,82}.

Os adenocarcinomas gástricos metastáticos em ovário são bilaterais em aproximadamente 80% dos casos, formando massas sólidas e bosseladas com superfície de corte amarelo-esbranquiçada, com componente cístico pouco freqüente, sendo em geral carcinoma com células em anel de sinete com estroma ovariano hiper celular, chamado de tumor de Krukenberg ^{27,28,88}.

Os adenocarcinomas endocervicais metastáticos em ovário são unilaterais em 80% dos casos, com tamanho tumoral variando de 0,4-30,0 cm. Apresentam em geral superfície capsular lisa e massa cística multiloculada. Embora esses tumores possam apresentar padrão de crescimento tumoral infiltrativo e nodular, freqüentemente apresenta-se com padrão confluyente ou expansivo, simulando tumor mucinoso *borderline* com carcinoma intra-epitelial primário de ovário. O epitélio glandular neoplásico pode apresentar padrão híbrido com aspectos endometrióide e mucinoso concomitantes, com presença típica de corpos apoptóticos basais e numerosas figuras de mitose^{27,83,84,89}.

A maioria dos carcinomas mucinosos primários de ovário são unilaterais e de estágio I^{28,59}. Lee e Young²⁸ estudaram 50 casos de carcinomas mucinosos, sendo 25 carcinomas mucinosos primários de estágio I e 25 carcinomas mucinosos metastáticos com sítios primários conhecidos, fazendo uma comparação direta de características presentes em achados macroscópicos e microscópicos ajudando a estabelecer parâmetros para diferenciar os tumores mucinosos primários dos metastáticos. Observaram em seu estudo que a presença de bilateralidade, dimensões menores que 10 cm, comprometimento da superfície capsular, invasão estromal de padrões infiltrativo e nodular, invasão de células isoladas, presença de células em anel de sinete, presença de embolização vascular e crescimento em região hilar são indicativos de carcinoma mucinoso metastático. Concluem ainda que a presença de invasão estromal de tipo expansivo, padrão arquitetural papilífero

complexo, dimensões maiores que 10,0 cm, ausência de implantes da superfície capsular, unilateralidade, presença de componente de teratoma maduro cístico, Tumor de Brenner, nódulo mural e fenótipo mülleriano favorecem carcinoma mucinoso primário de ovário.

É importante ressaltar que muitas neoplasias metastáticas não apresentam padrões característicos de doença metastática, e dividem padrões clínicos, macroscópicos e microscópicos com o carcinoma mucinoso primário de ovário, requerendo técnicas diagnósticas auxiliares como o estudo imunoistoquímico. O estudo imunoistoquímico tem sido utilizado como uma importante ferramenta no diagnóstico diferencial entre os tumores mucinosos primários e metastáticos do ovário, mas também apresenta sobreposição de resultados, principalmente devido à alta prevalência do fenótipo intestinal entre os tumores mucinosos primários de ovário ³⁷.

Considerando que nenhuma das características patológicas indicadoras de neoplasia mucinosa primária ou secundária em ovário é patognomônica, Vang e Ronnett ²⁷ propõem que seja utilizado um algoritmo sintetizando as combinações de achados macroscópicos, microscópicos e características do perfil imunoistoquímico que em conjunto sugerisse o provável sítio de origem do tumor mucinoso em ovário suspeito de ser metastático com sítio primário oculto.

3.7- Pseudomixoma peritoneal

PMP é uma síndrome clínico-cirúrgica caracterizado pelo acúmulo generalizado ou localizado de material gelatinoso na cavidade abdominal e/ou cavidade peritoneal pélvica, também chamada de ascite mucinosa ^{32,34} com fibrose associada, e história natural de evolução lenta e progressiva para morte secundária a obstrução abdominal e a caquexia ³⁰.

Historicamente a síndrome foi descrita pela primeira vez por Rokitansky*, em 1842, apud O'Connell *et al.* ⁴⁷. Poucos anos depois Werth* (1884) apud Ronnett *et al.* ³² descreveu a associação de ascite mucinosa com cistoadenoma roto de ovário. Frankel^o, em 1901, apud Ronnett *et al.* ³² descreveu a associação do PMP com mucocele rota do apêndice cecal.

Durante muitos anos a alta prevalência de PMP em mulheres, 2 a 3 vezes mais freqüente em mulheres que em homens ³⁴, associado a fatores como o comprometimento do ovário simulando tumor mucinoso primário, a não representação do apêndice cecal ou a presença de tumores sincrônicos, geraram durante muitos anos controvérsias na definição, etiologia e prognóstico do PMP, sendo muitas vezes erroneamente interpretado como uma patologia primária do ovário ³¹. Segundo Riopel *et al.* ³, isso também ocorreu devido a

* Weaver C. Mucocele of the appedix with pseudomucinous degeneration. *Am J Surg* 1937;36:523-6.

• Werth R. Klinische and anatomische untersucheungen zur lehre von den bauchgeschwuilsten und der laparotomie. *Arch Gynaekol* 1884;24:100-18.

^o Frankel E. Uber das sogenannte pseudomyxoma peritonei. *Med Wochenschr* 1901;48:965-70.

freqüente associação do PMP aos tumores mucinosos *borderline* de ovário de estágio avançado em até 86% dos casos e pela semelhança histológica da neoplasia mucinosa metastática simulando tumor mucinoso primário de ovário. Entretanto, avanços em estudos imunoistoquímicos e de biologia molecular revelaram que o trato gastrointestinal, principalmente o apêndice cecal é o principal sítio primário da doença na vasta maioria dos casos^{23,90}.

Ronnett *et al.*³¹ observaram que de 174 casos de PMP selecionados somente 68 (39,1%) pacientes eram mulheres, e destas, em apenas 30 (44,1%) havia envolvimento ovariano por neoplasia mucinosa. Em um estudo comparativo desta amostra selecionada com tumor mucinoso *borderline* ovariano com PMP, com outro grupo de pacientes com tumor mucinoso *borderline* ovariano sem evidências de PMP, demonstraram que a freqüente bilateralidade (80%) ou envolvimento preferencial do ovário direito quando apresentava tumor unilateral, tamanho tumoral menor que 10,0 cm (média- 7,0 cm), com implantes capsulares, envolvimento do estroma cortical e PMO (66,6%) nos casos de tumor *borderline* ovariano com PMP associado indicavam neoplasia metastática em ovário. Enquanto que a maioria dos tumores mucinosos *borderline* ovarianos sem evidências de PMP eram de estágio I, unilaterais (93,3%) e com uma média de tamanho tumoral de 18,0 cm. Observam ainda que os tumores que sofreram ruptura durante o ato cirúrgico não produziram PMP, concluindo que os tumores *borderline* mucinosos

ovarianos de estágio avançados são provavelmente neoplasias secundárias e geralmente estão associados a PMP e tumor de apêndice cecal.

No exame histológico os implantes mucinosos na cavidade peritoneal consistem de material gelatinoso amorfo, tecido fibroso e epitélio mucinoso com graus variados de transformação maligna, com impacto no prognóstico ^{30,32,34}. Assim o PMP pode representar entidades com aspectos clínicos, cirúrgicos e patológicos diferentes, que Ronett *et al.* ³² após o estudo de 109 casos de PMP, classificam como três padrões histopatológicos distintos: Carcinomatose mucinosa peritoneal (PMCA), que morfologicamente é um adenocarcinoma metastático do apêndice ou do cólon, com alta taxa de mortalidade, que apresenta disseminação peritoneal e infiltração do carcinoma com acúmulo de mucina; e adenomucinosose peritoneal disseminada (DPAM), que representa epitélio mucinoso adenomatoso com pouca atipia, derivado da ruptura de neoplasia mucinosa do apêndice cecal, tendo longa sobrevida. O epitélio mucinoso derivado do apêndice roto que implanta na superfície peritoneal tem pouca capacidade de invasão, mas produz grande quantidade de mucina, formando ascite mucinosa e induzindo fibrose e aderências, que podem levar a obstrução intestinal; e carcinomatose mucinosa peritoneal com características intermediárias ou discordantes (PMCA-I/D) que representa uma combinação de características histológicas de ambas as formas DPAM e PMCA, mas em geral tem comportamento semelhante ao PMCA. O grau de transformação do epitélio mucinoso é importante na determinação do comportamento da doença.

Posteriormente Ronnett *et al.*³³ relatam um novo estudo com seguimento clinico-cirúrgico prolongado com o mesmo grupo de 109 pacientes para avaliar as diferenças prognósticas entre os grupos de pacientes com DPAM e PMCA. Observaram que a taxa de sobrevida de 5 e 10 anos das pacientes com DPAM foi respectivamente de 75% e 68%, com morbidade e mortalidade representada principalmente pelo acúmulo de ascite mucinosa acompanhada de fibrose e complicada com obstrução intestinal. O comportamento do PMCA foi significativamente pior, com uma taxa de sobrevida de 5 e 10 anos de 14% e 3%, respectivamente, com morbidade e mortalidade devido a carcinomatose intra-abdominal. O grupo de pacientes com diagnóstico de PMCA-I/D apresentou também uma taxa de sobrevida de 5 e 10 pior quando comparada ao grupo com DPAM, sendo 50% e 21% respectivamente, sendo importante ressaltar que este grupo apresentou comportamento e prognóstico semelhante ao grupo com PMCA.

Recentemente Maheshwari *et al.*⁹¹ descreveram um novo esquema de classificação do PMP originados em tumores mucinosos do apêndice cecal baseada na LOH de genes supressores tumorais. Os autores ressaltam as limitações do sistema de classificação proposto por Ronnett *et al.*³², como a dificuldade dos patologistas em aplicar corretamente a terminologia apropriada e a limitação do sistema na predição prognóstica. Assim, baseado no estudo da LOH de 15 genes e mutações do gene *K-ras* em PMP, foi desenvolvido uma “taxa mutacional fracionada” (FMR), definida como o número de marcadores

mutados dividido pelo número total de marcadores informados. O $FMR < 0,25$ foi preditivo de tumor de baixo grau ou DPAM, FMR entre 0,25 e 0,50 correlacionou-se com tumores de grau intermediário, e $FMR > 0,50$ indicava tumor de alto grau ou PMCA. Houve uma forte correlação entre a FMR e a sobrevida desses pacientes estudados, demonstrando que o perfil mutacional de acúmulo de LOH e de dano mutacional pontual correlaciona-se fortemente com a definição histopatológica do PMP e ajuda na predição do prognóstico dos pacientes.

Apesar dos debates considerando a origem do PMP em mulheres indicarem que são derivados principalmente de tumores mucinosos do apêndice cecal, raramente o ovário pode ser o sítio primário da patologia. Alguns autores relatam a presença de PMP com tumor mucinoso primário de ovário, com apêndice cecal microscopicamente normal e sem evidências de neoplasias em outros sítios do trato gastrointestinal. Interessantemente, estes tumores mucinosos ovarianos estão associados a teratomas maduros císticos, levando alguns autores sugerirem que a origem do tumor mucinoso ovariano pode em pelo menos uma minoria dos casos representar uma forma de teratoma monodérmico. Estes raros casos de tumor mucinoso ovariano associado a teratoma maduro cístico são provavelmente os únicos casos de PMP originados em ovário ^{13,14,15}.

Estudos utilizando técnicas de biologia molecular têm desempenhado um papel relevante em demonstrar a relação e o sítio de origem entre tumores

mucinosos sincrônicos do apêndice cecal e ovário associados ao PMP. Cuatrecasas *et al.* ⁹² relatam um estudo clinico-patológico com uma análise comparativa de mutações do gene *K-ras* em 6 casos de tumores sincrônicos em ovário e apêndice cecal. Os aspectos clínico-patológicos encontrados foram de predominância de tumores ovarianos bilaterais ou unilaterais acometendo o ovário direito, aspecto histopatológico entre os tumores do ovário e do apêndice cecal semelhantes e presença de PMP, sugerindo neoplasia primária em apêndice cecal acometendo o ovário secundariamente. A pesquisa de mutações do gene *K-ras* nestes tumores revelou padrões de mutações semelhantes em ambos os sítios anatômicos, ovário e apêndice cecal, demonstrando que estes tumores representam uma única neoplasia clonal, que associado aos dados clinico-patológicos indicam provável origem em apêndice cecal.

Chuaqui *et al.* ⁹³ relataram um estudo analisando a LOH dos cromossomos 17q21.3-22, 3p25-26 e 5q21-22 em 12 casos de tumores sincrônicos do apêndice cecal e ovário, com PMP associado em 9 casos. Os autores não evidenciaram alterações em 6 casos, e nos demais 6 casos com alterações de LOH, encontraram alterações clonais em 3 casos e divergentes em 3 casos, concluindo que os tumores mucinosos sincrônicos do apêndice cecal e ovário podem ser tanto neoplasias primárias independentes como neoplasia primária única com disseminação metastática em determinadas circunstâncias.

Outros autores ressaltam que os resultados com estudos com LOH devem ser interpretados com precaução devido aos diferentes padrões de LOH demonstrados em diferentes subclones de uma mesma neoplasia como resultado de progressão tumoral, reforçando que as mutações do gene *K-ras* presentes de modo clonal em seus estudos são significativos para concluir que o apêndice cecal é o sítio primário de tumores mucinosos associados ao PMP e que o ovário é acometido secundariamente^{94,95}.

3.8- Estudo imunoistoquímico

O diagnóstico dos carcinomas metastáticos de sítio primário oculto pode ser muito difícil, bem como a determinação do sítio primário dessas neoplasias metastáticas tem sido um desafio para oncologistas e patologistas, com implicações clínicas e terapêuticas.

O estudo imunoistoquímico tem sido uma importante ferramenta no diagnóstico patológico de carcinomas, bem como dos tumores ovarianos, para confirmar e dar suporte aos achados morfológicos da rotina do exame histológico. Muitos marcadores tumorais foram desenvolvidos nas últimas décadas, alguns desses são órgão específicos como o antígeno prostático específico (PSA), e outros embora sejam muito utilizados carecem de especificidade para sítio anatômico, como o antígeno carcinoembrionário (CEA)

96.

As citoqueratinas representam proteínas de filamentos intermediários entre microfilamentos e microtúbulos, que constituem o citoesqueleto de células epiteliais eucarióticas, sendo marcadores amplamente utilizados. E embora sejam geralmente confinados aos epitélios e suas respectivas neoplasias, eles não são marcadores tumorais com especificidade. Entretanto, os diversos tipos de citoqueratinas se correlacionam com as diferentes vias de diferenciação epitelial e origem embriológica, permitindo uma classificação das células epiteliais em diferentes subtipos, conservado durante o processo de transformação tumoral ⁹⁷. As citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) são as duas mais comumente utilizadas na prática da patologia cirúrgica ^{39,96,98}.

Chu *et al.* ⁹⁶ estudaram o perfil coordenado das CK7 e CK20 em 435 casos de neoplasias epiteliais de diversos sítios anatômicos, demonstrando que as diversas expressões dessas citoqueratinas nos carcinomas são úteis no diagnóstico diferencial. Observaram que, na ausência de outros marcadores, a demonstração da positividade da CK7 tem um valor limitado no diagnóstico diferencial dos carcinomas metastáticos, devido a sua ampla expressão na maioria dos adenocarcinomas, sendo útil apenas em um número limitado de circunstâncias como no diagnóstico diferencial do carcinoma prostático e carcinoma urotelial, ou ainda entre o colangiocarcinoma e o carcinoma hepatocelular. A CK20 positiva foi evidenciada na maioria dos adenocarcinomas coloretais, cerca de 50% das adenocarcinomas gástricos, 62% dos adenocarcinomas pancreáticos, 43% dos colangiocarcinomas e 29% dos

carcinomas uroteliais. CK7 e CK20 são mais úteis quando avaliados em conjunto, mas algumas neoplasias apresentam o perfil CK7+/CK20+, quando o diagnóstico diferencial deve incluir adenocarcinoma pancreático, adenocarcinoma gástrico, colangiocarcinoma, carcinoma urotelial e carcinoma mucinoso de ovário.

Considerando a grande incidência de carcinomas metastáticos no ovário, principalmente os originados do trato gastrointestinal, Wauters *et al.*³⁹, avaliaram a expressão das CK7 e CK20 em carcinomas metastáticos em ovário e nas neoplasias primárias correspondentes do estômago, cólon, mama, endométrio, bem como em cistoadenocarcinomas seroso e mucinoso primários do ovário, e também poucos mesoteliomas. O principal achado do seu estudo foi que o padrão de CK-/CK20+ demonstrado pelos adenocarcinomas do cólon é distinto do padrão CK+/CK20- dos carcinomas primários de ovário, com exceção dos carcinomas mucinosos ovarianos que apresentam uma marcação variável da CK20. Destacam ainda que a CK7 pode ser ocasionalmente positiva em adenocarcinomas de cólon, em geral de padrão focal. Entretanto as diferenças entre os carcinomas mucinosos primários de ovário e carcinomas metastáticos de estômago são menos distintos, visto que ambas as citoqueratinas 7 e 20 podem ser expressos, bem como para os carcinomas metastáticos da mama e mesoteliomas *versus* carcinomas primários do ovário, que expressão o perfil CK7+/CK20-.

Assim vários autores demonstraram que os tumores mucinosos primários do ovário tipicamente exibem uma expressão difusa de CK7, com uma expressão de CK20 variável, desde negativa até positividade multifocal com áreas de epitélio negativo^{26,27,36,37,38,40}. Como única exceção a este padrão estão os tumores mucinosos ovarianos originados em teratomas maduros císticos, que expressam um perfil imunoistoquímico semelhante ao demonstrado pelos tumores do trato gastrointestinal inferior, com CK7 negativo e CK20 difusamente positivo^{13,14,15,27,35,36,37}.

Os adenocarcinomas coloretais metastáticos freqüentemente apresentam positividade forte e difusa para CK20 com CK7 negativo. Ocasionalmente, a expressão de CK7 é encontrada, com padrão focal ou multifocal. Os adenocarcinomas retais têm leve tendência de apresentarem uma expressão maior para CK7, sendo a expressão da CK7 em adenocarcinomas colônicos mais comuns em tumores do cólon direito, bem como nos adenocarcinomas pouco diferenciados^{26,27}.

Os adenocarcinomas pancreático-biliares metastáticos apresentam expressão difusa para CK7 com expressão variável de CK20, de negativo a positividade focal e multifocal, semelhante aos tumores mucinosos primários do ovário^{26,27}.

Os adenocarcinomas gástricos metastáticos apresentam expressão de CK7 e CK20 variável, sendo o CK7 mais freqüentemente expresso que o CK20^{26,27}.

Os tumores do apêndice cecal metastáticos apresentam expressão difusa para CK20, podendo apresentar expressão focal para CK7 em 10%-20% dos casos de tumores adenomatosos de baixo grau e em cerca de 30% dos carcinomas ^{26,27}. Ronnett *et al.* ⁹⁰ descrevem um padrão de expressão de citoqueratinas nos tumores mucinosos associados a PMP semelhante aos tumores adenomatosos do apêndice cecal, com CK20 positivo e usualmente CK7 negativo, diferente do padrão CK7+/CK20+ apresentado pelos tumores mucinosos primários do ovário.

Assim baseado na evidente sobreposição do perfil coordenado das citoqueratinas 7 e 20 em tumores mucinosos de ovário e em tumores mucinosos metastáticos de outros órgãos limitando o uso desses marcadores no diagnóstico diferencial de neoplasias mucinosas do ovário, Vang *et al.* ⁴⁰ analisaram o perfil coordenado e a distribuição da positividade desses marcadores em 179 casos de tumores mucinosos de ovário, incluindo 53 casos de tumores primários e 126 tumores secundários. O perfil CK7+/CK20+ foi comum nos tumores mucinosos primários do ovário (74%) e tumores do trato gastrointestinal superior (78%), apenas ocasional em tumores coloretais (11%) e em tumores adenomatosos (13%) e carcinomas (35%) do apêndice cecal. O perfil CK7-/CK20+ foi o mais comum entre os tumores do trato intestinal inferior (79%), sendo incomum no trato gastrointestinal superior (9%), raramente observado nos tumores mucinosos de ovário primário (4%) e não evidenciado nos tumores endocervicais. O perfil CK7+/CK20- foi observado em poucos

tumores mucinosos primários de ovário (23%) e do trato gastrointestinal superior (13%), mas não foi observado em nenhum caso do trato intestinal inferior. Os tumores mucinosos primários do ovário, do trato gastrointestinal superior e endocervicais apresentaram positividade difusa (> de 50% de células tumorais positivas) para CK7, enquanto os tumores coloretais e do apêndice cecal apresentaram em geral positividade focal para CK7. Quanto aos tumores positivos para CK20, a positividade foi variável, sendo em geral focal nos tumores mucinosos primários do ovário e do trato gastrointestinal superior, e com positividade difusa nos tumores do trato intestinal inferior. Os autores ressaltam que o padrão de positividade suplementa o perfil coordenado CK7/CK20 para distinguir os tumores primários do ovário dos tumores do trato intestinal inferior, mas nenhum destes pode ajudar a distinguir entre os tumores primários do ovário e os tumores do trato gastrointestinal superior quando existir sobreposição de resultados imunoistoquímicos.

Considerando o uso limitado das citoqueratinas 7 e 20, nos últimos anos outros marcadores imunoistoquímicos começaram a serem testados no diagnóstico do câncer e na diferenciação entre os tumores mucinosos primários e metastáticos do ovário. O CA125 é um anticorpo que foi desenvolvido para um antígeno de carcinoma ovariano, que apresenta níveis séricos elevados nas pacientes com câncer ovariano, especialmente nos tumores serosos. O CA125 apresenta expressão positiva forte e difusa principalmente nos carcinomas ovarianos serosos e endometrióides, com um padrão de marcação do tipo membrana, e com menos de 50% dos tumores mucinosos primários de ovário

positivos, e em geral com uma marcação menos intensa e mais focal. Embora o CA125 seja um marcador que ajude no diagnóstico do carcinoma ovariano, ele não é específico, sendo também positivo em 4% a 15% dos carcinomas coloretais, bem como nos carcinomas de pâncreas, mama, pulmão, mesotelioma e também carcinomas de origem mülleriana^{35,36,37,99}.

O CA19.9 é uma glicoproteína que contém o antígeno sialyl Lewis usualmente positiva nos carcinomas do pâncreas, vias biliares e coloretais metastáticos para o ovário. Mas apesar de apresentar expressão negativa na maioria dos carcinomas primários do ovário, os tumores mucinosos primários de ovário podem ter positividade focal para este anticorpo^{36,98}.

Os receptores hormonais de estrógeno (RE) e progesterona (RP), são comumente expressos em tumores do trato genital feminino, como carcinomas do endométrio e também do ovário, principalmente tumores de tipo seroso e endometrióide^{36,100}. Vang *et al.*¹⁰⁰ estudaram a expressão do RE e RP em 124 casos de tumores mucinosos de ovário, sendo 52 tumores mucinosos primários e 72 carcinomas mucinosos metastáticos de vários sítios anatômicos do trato gastrointestinal e da endocérvice. Entre os tumores mucinosos primários de ovário os RE e RP foram positivos apenas nos tumores *borderline* de padrão seromucinoso, também confirmado pelos mesmos autores em outro estudo avaliando as diferenças entre os tumores mucinosos de padrões gastrointestinal e seromucinoso⁸. Entre os carcinomas mucinosos metastáticos em ovário apenas os carcinomas de origem endocervical demonstraram uma expressão

fraca numa minoria dos casos, semelhante à frequência e padrão de expressão observada nos carcinomas primários da endocérvice. A expressão negativa de RE e RP em ambos os tumores mucinosos primários de padrão gastrointestinal e carcinomas mucinosos metastáticos do gastrointestinal em ovário demonstra que estes marcadores não são úteis no diagnóstico diferencial dos tumores mucinosos do ovário ¹⁰⁰.

Entre outros marcadores, os estudos preliminares com mucinas têm encontrado destaque. As mucinas são glicoproteínas largas, abundantes e filamentosas presentes na interface entre vários epitélios glandulares e seus ambientes extracelulares, com expressão relativamente específica por cada tecido. Algumas mucinas são conhecidas por formar camadas de muco ou o glicocálix dos enterócitos no trato gastrointestinal, mas tem como função principal a mediação de interações entre as células epiteliais e seu micro-ambiente, podendo estar no centro da patogênese de várias doenças inflamatórias, infecciosas e também de neoplasias e suas metástases ⁴². Na carcinogênese o processo metastático está associado a alterações da superfície celular e na expressão de glicoproteínas, especialmente as mucinas, que participam das várias etapas de transformação das células malignas como a dissociação do tumor primário, invasão local, invasão vascular e implante em sítio secundário, funcionando como moléculas de adesão celular, mediando a capacidade de adesão e migração ^{101,102,103}.

Atualmente 14 glicoproteínas do tipo mucina estão catalogadas na família do gene MUC (MUC1, 2, 3A, 3B, 4, 5AC, 5B, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 15) conforme o *Human Genome Organization Gene Nomenclature Committee* ¹⁰⁴. Originalmente o termo mucina era utilizado para glicoproteínas encontradas no muco secretado pelas células epiteliais. Posteriormente, evidenciou-se a produção de glicoproteínas como proteínas transmembrana nas células epiteliais, que também foram designadas de mucinas. Assim, atualmente as mucinas são classificadas como de membrana ou secretora, e incluídas na família do gene MUC de acordo com sua localização cromossômica. A primeira família de mucinas designadas MUC2, MUC5AC, MUC5B e MUC6 são agrupadas como secretoras, formadoras de muco, localizadas no cromossomo 11p15. As mucinas MUC3A, MUC3B, MUC11 e MUC12 são proteínas de membrana e estão localizadas no cromossomo 7q22. As mucinas MUC13 e MUC4, localizadas no cromossomo 3q13.3, e a mucina MUC1, localizada no cromossomo 1q21, também proteínas de membrana, e dividem suficiente homologia com as mucinas de localização 7q22 para serem consideradas como uma segunda família de mucinas. Ainda não se identificou homologia genética nas mucinas MUC7 e MUC8 ⁴².

O MUC 1 e depois o MUC2 foram as primeiras mucinas a serem clonadas, em 1990 ⁴², e embora o MUC 1 tenha sido isolado no tecido glandular mamário ⁴⁴, as pesquisas com as mucinas concentraram-se principalmente no trato gastrointestinal. Corfield *et al.* ¹⁰⁵ descrevem a distribuição das mucinas no

trato gastrointestinal normal. O MUC1 está presente nos ácinos de glândulas salivares, ductos das glândulas submucosas esofágicas, ductos pancreáticos, epitélio foveolar superficial gástrico, nas células caliciformes e enterócitos dos intestinos delgado e grosso. Os MUC2, MUC5AC e MUC6, todos são formadores de gel, responsáveis pela formação das camadas de muco no corpo. O MUC2 é expresso nas células caliciformes dos intestinos delgado e grosso. O MUC5AC é expresso no epitélio foveolar gástrico. O MUC6 é a principal mucina gástrica.

Lee *et al.*⁴¹ estudaram 486 casos de carcinomas de diversos sítios anatômicos do trato gastrointestinal, avaliando entre outros marcadores, as mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6. MUC1 foi expresso mais freqüentemente nos carcinomas do pâncreas (87%), do ânus (73%) e da vesícula biliar (70%). MUC2 foi positivo nos carcinomas de intestino delgado e colônicos, bem como em 100% dos carcinomas do apêndice cecal. MUC5AC foi positivo nos carcinomas do pâncreas (70%) e do apêndice cecal (67%). O MUC6 não foi expresso em nenhum dos casos estudados. Observaram ainda que o MUC1 distingue os carcinomas do cólon (34%) dos carcinomas do ânus (73%), e que o padrão de positividade do MUC1, MUC2 e CK20 são diferentes nos carcinomas do duodeno e nos carcinomas do resto do intestino delgado, sendo MUC1+/MUC2-/CK20- no duodeno e MUC1-/MUC2+/CK20+ no jejunó e íleo.

Gipson *et al.* ⁴⁴, avaliaram a expressão das mucinas MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5, MUC6 e MUC7 no epitélio não neoplásico do trato genital feminino através de estudos de biologia molecular e imunoistoquímico. O epitélio endocervical expressou MUC1, MUC4, MUC5AC, MUC5B e MUC6. O epitélio escamoso ectocervical e vaginal expressou MUC1 e MUC4. O MUC2 apresentou positividade rara e focal no epitélio endocervical e endometrial. O endométrio expressou MUC1 e MUC6, presente nas mucosas de padrão proliferativo na camada basal. A única mucina demonstrada na tuba uterina foi o MUC1.

Zhao *et al.* ¹⁰⁶ realizaram um estudo comparativo da expressão das mucinas MUC1, MUC2 e MUC5AC entre o epitélio normal endocervical e adenocarcinomas endocervicais, de tipos mucinoso, usual e intestinal, e endometrióide. O MUC2 não foi detectado em nenhum caso de mucosa endocervical normal, com presença de expressão difusa do MUC1 e do MUC5AC. Interessantemente, observaram a expressão de MUC2 em 72% dos adenocarcinomas mucinosos endocervicais usuais, 100% dos adenocarcinomas mucinosos de tipo intestinal, e 33,3% dos adenocarcinomas endocervicais de tipo endometrióide. MUC1 e MUC5AC apresentaram uma diminuição da expressão nos adenocarcinomas endocervicais quando comparado ao epitélio endocervical normal. A expressão de MUC2 nos adenocarcinomas pode ser resultado de metaplasia intestinal segundo os autores.

Tashiro *et al.* ¹⁰⁷ avaliaram a expressão do MUC1 e do MUC2 em 123 tumores epiteliais do ovário, entre tumores mucinosos e serosos, correlacionando com o potencial de malignidade. A expressão do MUC1 foi mais freqüente nos tumores serosos do que nos mucinosos, sendo positivo em 18% dos cistoadenomas mucinosos, 75% dos tumores *borderline* mucinosos e 100% dos carcinomas mucinosos, versus 67% dos cistoadenomas serosos, 100% dos tumores *borderline* serosos e 100% dos carcinomas serosos. MUC2 foi expresso apenas nos tumores mucinosos, sendo positivo em 15% dos cistoadenomas, 44% dos tumores *borderline* e 55% dos carcinomas. O estudo demonstrou o evidente aumento da expressão do MUC1, associado com aumento da expressão citoplasmática, e do MUC2 na transição dos adenomas para carcinomas nos tumores mucinosos, e apenas do MUC1 nos tumores serosos do ovário, o que provavelmente esteja correlacionado com a transformação tumoral.

Giuntoli *et al.* ¹⁰⁸ avaliaram através de técnica de biologia molecular a expressão de RNA mensageiro das mucinas MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC e MUC5B em 31 casos de carcinomas ovarianos, entre adenocarcinomas serosos, mucinosos, endometrióide, de células claras e carcinomas pouco diferenciados, correlacionando com grau histológico, estadiamento tumoral e a sobrevida das pacientes. Observaram a expressão dessas mucinas também em de células ovarianas não malignas cultivadas em meio de cultura. As mucinas MUC1, MUC2, MUC4 e MUC5AC foram expressas

nos carcinomas serosos, mucinosos e endometrióides, enquanto as células ovarianas não malignas expressaram apenas MUC1 e MUC5AC, sugerindo que a capacidade de produção de diferentes mucinas está associado a transformação maligna das células epiteliais ovarianas. A expressão das mucinas MUC3 e MUC4 estavam diminuídos nos tumores de estadiamento avançado, com uma tendência de aumento da sobrevida quando o MUC4 estava expresso, indicando a importância da expressão específica de mucinas durante o processo metastático.

Feng *et al.*⁴³ estudando 59 casos de tumores benignos e carcinomas de ovário, entre tumores serosos e mucinosos, também observaram a correlação das mucinas com o processo de transformação e progressão tumoral. Evidenciaram uma expressão imunohistoquímica aumentada do MUC1 nos tumores malignos e com estádios avançados. A maioria dos tumores de alto grau histológico e em estádios avançados apresentou expressão difusa do MUC1 em mais de 50% das células, mesmo em focos de células infiltrando o estroma.

Considerando-se as dificuldades presentes no diagnóstico diferencial entre os tumores mucinosos primários e secundários do ovário, tanto morfológicos como imunohistoquímicos com o uso das citoqueratinas 7 e 20, alguns autores estudaram as mucinas para o aprimoramento do diagnóstico patológico. Entre os poucos estudos de imunohistoquímica avaliando a expressão das mucinas relacionados aos tumores ovarianos, Albarracin *et al.*⁴⁶

estudaram a expressão das mucinas MUC2 e MUC5AC em 32 tumores mucinosos primários, 4 carcinomas endometrióides primários e 6 secundários, e em 10 carcinomas colônicos metastáticos em ovário. Observaram a expressão positiva do MUC2 nos carcinomas colônicos metastáticos para ovário, principalmente nos tumores de padrão mucinoso que os de padrão pseudo-endometrióide, e expressão negativa do MUC5AC nos mesmos. Entre os tumores mucinosos primários de ovário, os cistoadenomas apresentaram expressão positiva para MUC5AC e negativa para MUC2 em todos os casos. Nos tumores *borderline* mucinosos primários de padrão gastrointestinal observou-se expressão positiva de ambas as mucinas MUC5AC e MUC2, mas apenas o MUC5AC estava expresso positivamente nos tumores *borderline* de padrão endocervical. Nos carcinomas mucinosos primários observou-se também expressão positiva de ambas as mucinas. Entre os carcinomas endometrióides houve positividade focal do MUC5AC em apenas dois casos. Concluem que as mucinas MUC2 e MUC5AC são úteis no diagnóstico diferencial entre tumores mucinosos primários e metastáticos do cólon em ovário, sendo que os carcinomas colônicos metastáticos não expressam MUC5AC.

Ji *et al.*³⁸ estudaram a expressão do MUC5AC, entre outros marcadores, em tumores *borderline* e carcinomas mucinosos primários de ovário e carcinomas mucinosos metastáticos de diversos sítios anatômicos. Observaram positividade difusa do MUC5AC em 100% dos casos de tumores mucinosos

primários de ovário, 100% dos carcinomas mucinosos pancreáticos metastáticos, 86% dos carcinomas mucinosos metastáticos do apêndice cecal e em 33% dos carcinomas mucinosos coloretais metastáticos. Concluem que o MUC5AC ajuda no diagnóstico diferencial entre os tumores mucinosos primários e colônicos metastáticos em ovário.

O'Connell *et al.*⁴⁷ através de técnicas de biologia molecular e estudo imunohistoquímico, avaliaram a expressão do MUC2 e MUC5AC, mucinas formadoras de gel, em 25 casos de PMP originados no apêndice cecal ou de origem desconhecida, 5 tumores de apêndice cecal e 25 tumores mucinosos primários de ovário sem PMP associado. Observaram a expressão positiva dos marcadores MUC2 e MUC5AC nos casos de PMP, bem como nos tumores de apêndice cecal e nos tumores ovarianos com PMP associado, e negatividade do MUC2 nos casos de tumores mucinosos ovarianos primários, dando suporte para hipótese de origem intestinal e não ovariana do PMP. O MUC2 é expresso pelas células caliciformes normais presentes no epitélio intestinal, e o mecanismo pelo qual ocorre o acúmulo dessa mucina no PMP deve-se principalmente pelo aumento do número das células produtoras e não por alteração genéticas, como rearranjo ou amplificação do gene, sugerindo que o PMP é uma doença neoplásica de células caliciformes produtoras de MUC2. Embora o MUC5AC seja positivo tanto nos tumores do apêndice cecal como nos casos com PMP associado e também nos tumores mucinosos primários de ovário, apenas o MUC2 está expresso positivamente nos tumores do apêndice

cecal e nos casos de PMP associado, sugerindo que o MUC2, e não o MUC5AC, seja o responsável pelos depósitos de ascite gelatinosa do PMP. A positividade do MUC5AC em células mesoteliais e células da superfície ovariana sugerem que elas possam ser as células de origem dos tumores mucinosos do ovário.

Assim o estudo imunohistoquímico, bem como outras técnicas de biologia molecular, tem auxiliado não somente no diagnóstico diferencial dos tumores mucinosos primários e secundários do ovário, mas também acrescentado uma nova visão na patogênese da doença revelando possíveis marcadores que sejam alvos de tratamento terapêutico no futuro.

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1- Seleção de casos

Este estudo retrospectivo começou através da seleção manual de todos os prováveis diagnósticos de tumores mucinosos de ovário, diagnosticados como cistoadenoma, tumor *borderline* e carcinoma, nos arquivos da Divisão de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, no período de 1996 a 2005. Inicialmente foram selecionados 83 tumores mucinosos de ovário. Todos os casos foram previamente fixados em solução de formol tamponado a 10% e incluídos em blocos de parafina, sendo revisados por dois patologistas (CRF e FMC) através do exame microscópico das lâminas coradas pela coloração de hematoxilina-eosina (HE), e classificados de acordo com os critérios da WHO ². Após a revisão três casos foram excluídos, sendo dois casos reclassificados respectivamente para cistoadenoma e tumor *borderline* seroso de ovário, e um caso de cistoadenoma mucinoso que estava escassamente representado com poucos cortes histológicos em relação ao tamanho da neoplasia. Dois casos diagnosticados como carcinomas mucinosos primários de ovário foram reclassificados como de provável origem secundária, devido à presença de características histológicas de tumor metastático, como extensa necrose tumoral e êmbolos neoplásicos

em hilo ovariano. Então, ficamos com 72 tumores mucinosos ovarianos de 63 pacientes.

4.2- Tabulação dos dados

Baseado em informações do laudo anatomopatológico e do histórico prévio foi criado um banco de dados utilizando o software Microsoft® Access 2002, cadastrando as seguintes informações: RG/HC da paciente, número do AP, idade, procedimento cirúrgico, tamanho do tumor, número de cortes, lateralidade, diagnóstico anatomopatológico, fenótipo, grau histológico, atipia nuclear, estadiamento, padrão de infiltração, presença de cisto de inclusão epitelial, apendicectomia, pseudomixoma peritoneal, pseudomixoma ovariano, endometriose e associação com outros tumores, bem como os resultados do estudo imunoistoquímico. Após a montagem do banco de dados toda forma de identificação das pacientes foi excluída, como número de registro e número de exame anatomopatológico (anexo A e apêndice).

4.3- Estudo anatomo-patológico

Os tumores foram divididos em três principais categorias, a saber: cistoadenoma, tumor *borderline* e carcinoma mucinoso, e outras subcategorias, baseadas em características cito-arquiteturais do epitélio de revestimento.

Tumor mucinoso não invasivo sem evidências de atividade proliferativa ou atipia nuclear do epitélio intracístico foi classificado como cistoadenoma mucinoso (figura 1). Tumor mucinoso não invasivo com estratificação menor que três camadas celulares e atipia nuclear de leve a moderada no epitélio de revestimento intracístico foi classificado como tumor mucinoso *borderline* (figura 2). A presença de atipia nuclear intensa, caracterizada por evidente aumento do volume nuclear, maior que três vezes o tamanho do núcleo de uma célula estromal, com hiper cromasia e nucléolo proeminente, e estratificação epitelial maior que 3 camadas de células, excluindo-se as áreas de cortes tangenciais, foram critérios para o diagnóstico tumor *borderline* com carcinoma intra-epitelial (figura 3). A presença de microinvasão estromal menor que 3,0 mm em duas medidas lineares ou 10mm², foi critério diagnóstico para tumor mucinoso *borderline* com microinvasão. Presença de área de invasão estromal maior que as medidas citadas acima foi critério para o diagnóstico de carcinoma mucinoso. O padrão de invasão estromal também foi avaliado, considerando-se basicamente três tipos: padrão infiltrativo quando glândulas mucinosas ou células tumorais isoladas ou agrupadas invadem de maneira desordenada o estroma ovariano, em geral com aspecto desmoplásico; padrão confluyente quando as glândulas formam um arranjo arquitetural complexo, incluindo aspecto serpiginoso, cribriforme e com agrupamentos glandulares sem estroma ovariano; e finalmente, o padrão nodular que apresenta agrupamentos glandulares desordenados em arranjo nodular entremeados a parênquima

ovariano preservado contendo células germinativas, folículos e corpo lúteo. Os tumores também foram agrupados em subcategorias segundo o fenótipo celular nos padrões gástrico foveolar ou pilórico, intestinal, gastrointestinal, mülleriano, e misto quando apresentavam padrão gástrico e/ou intestinal associado ao tipo mülleriano. O padrão intestinal apresenta células colunares altas de padrão colônico, geralmente com presença de células caliciformes e ocasionalmente células de Paneth (figura 4). O padrão gástrico foveolar ou pilórico apresenta células colunares com abundante mucina intra-citoplasmática e núcleo basal semelhante as células gástricas da superfície foveolar, freqüentemente com presença de pequenas criptas como as glândulas pilóricas (figura 5). O padrão mülleriano ou também designado endocervical é composto por células colunares semelhantes com as células normais ou reativas da mucosa do canal endocervical, usualmente associado à formação de arquitetura papilífera (figura 6).

Os tumores *borderline* e os carcinomas foram estadiados segundo os critérios da FIGO ¹⁰⁹. Na revisão microscópica foram selecionadas pelo menos cinco áreas representativas de cada tumor para construção dos blocos de *tissue microarray* (TMA) e posterior estudo imunoistoquímico. Foram analisados os seguintes marcadores imunoistoquímicos: CK7, CK20, MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6, CA125, CA19.9, RE e RP.

4.4- Certificações institucionais

Este estudo foi aprovado pelo Comitê Científico do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.5- Construção do *Tissue Microarray*

Para construção do TMA áreas representativas do tumor foram identificadas nas lâminas de HE, e o mínimo de cinco cilindros com um diâmetro de 1,5 mm foram retirados das áreas selecionadas no bloco de parafina com o tecido tumoral, designado bloco doador. Estes cilindros foram enxertados em um bloco de parafina receptor com um intervalo de 1,0 mm entre cada cilindro, formando um sistema grade com referências coordenadas nos eixos x e y. Foi utilizado um instrumento de precisão para construção de TMA do fabricante *Beecher Instruments, Silver Spring, MD*. Depois que os cilindros foram todos inseridos no bloco receptor, este foi aquecido por 10 minutos na temperatura de 60°C, e após foram cortados fitas de 5µm do bloco em micrótomo convencional para confecção de lâminas, utilizando lâminas apropriadas da marca *Starfrost® slides*, com técnica padronizada. Suficiente

tecido tumoral foi representado, com um ponto de corte de três cilindros representativos por tumor. Foram confeccionados quatro blocos de TMA, sendo que os blocos designados 2 e 4 foram representados em duplicata para todas as reações de imunistoquímica, e os blocos designados 1 e 3 foram representados em triplicata, após avaliação das lâminas de TMA coradas em HE. Um caso foi convertido para corte direto do bloco doador, devido à escassa representatividade do tumor.

4.6- Estudo imunistoquímico

As lâminas de TMA embebidas em parafina foram encubadas a temperatura de 60°C durante o período noturno, desparafinizadas com solução de xileno e re-hidratadas. Na recuperação antigênica foi utilizada panela de pressão, usando tempo de 2 minutos para todos os anticorpos, exceto para os anticorpos RE e RP, utilizando-se então 3,5 minutos, todos imersos em tampão de ácido cítrico a 10 mM (pH=6). Os anticorpos primários usados foram MUC1 (clone Ma 695, Novocastra, Newcastle, UK, diluição 1:200), MUC2 (clone ccp58, Novocastra, Newcastle, UK, diluição 1:100), MUC5AC (clone CLH2, Novocastra, Newcastle, UK, diluição 1:200), MUC6 (clone CLH5, Novocastra, Newcastle, UK, diluição 1:100), CK7 (clone OV.TL-12/30, Dako, Carpinteria, CA, diluição 1:15000), CK20 (clone Ks20.8, Dako, Carpinteria, CA, diluição 1:2000), CA 19.9 (clone NS-19.9, Dako, Carpinteria, CA, diluição 1:50), CA125 (clone OC125, Dako, Carpinteria, CA, diluição 1:500), RE (clone 1D5, Dako,

Carpinteria, CA, diluição 1:1000) e RP (clone 16, Dako, Carpinteria, CA, diluição 1:800). Depois do pré-tratamento, os anticorpos primários foram aplicados nas respectivas lâminas e encubados na temperatura de 4°C durante o período 18 horas. A revelação do anticorpo primário foi amplificada pela encubação das lâminas durante o tempo de 30 minutos em temperatura de 37°C com o sistema de detecção designado Complexo Estreptavidina-Biotina-Peroxidase (Dako, K-0492, diluição 1:300) para todos os anticorpos, exceto para RE e RP utilizando-se LSAB+ (Dako, K-0690, pronto uso). Então as lâminas foram encubadas durante o tempo de 5 minutos na temperatura de 37°C em solução contendo 3% de peróxido de hidrogênio e 3,3'-diaminobenzidino, depois lavadas com água corrente e água destilada, coradas com hematoxilina, desidratadas com álcool, passadas em xilol e finalmente montadas com entelan e lamínula.

4.7- Interpretação e tabulação dos resultados imunoistoquímicos

As reações foram interpretadas como positivas baseadas na presença de coloração citoplasmática para os marcadores MUC2, MUC5AC, MUC6, CK7 e CK20; coloração citoplasmática e membranosa para os marcadores MUC1, CA125 e CA19.9; e coloração nuclear para os marcadores RE e RP . A intensidade da coloração não foi tabulada, entretanto somente os casos com intensidade de coloração pelo menos moderada foram considerados como positivos. A coloração foi quantificada baseada na percentagem de células positivas, como: 1- negativo; 2- menor que 10% de células positivas; 3- de 10 a

50% de células positivas; 4- maior que 50% de células positivas. Para análise estatística os graus 2, 3 e 4 foram agrupados como positivo. (Anexo B).

4.8- Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando tabela de contingência 2 x 2 aplicando teste qui-quadrado e teste exato de Fisher para cada marcador imunistoquímico, e comparação entre as médias de duas amostras independentes utilizando o teste da hipótese nula. O nível de significância usado foi $p < 0,05$ para todos os casos.

RESULTADOS

5- RESULTADOS

Foram estudados 72 tumores procedentes de 63 pacientes.

Vinte e oito (44,4%) pacientes tinham tumores benignos, todos unilaterais, 10 (35,7%) localizados em ovário direito, 16 (57,1%) em ovário esquerdo e 2 (7,1%) casos não informados quanto à lateralidade. A idade variou entre 13 e 80 anos (média- $40 \pm 20,08$ anos e mediana- 30,5 anos). O tamanho do tumor variou entre 2,0 e 33,0 cm (média- $15,1 \pm 8,53$ cm e mediana- 13,0 cm). Quanto ao fenótipo, 8 (28,6%) eram de tipo pilórico, 13 (46,4%) do tipo intestinal, 5 (17,8%) tipo gastrointestinal e 2 (7,1%) tipo misto. Quatro casos apresentaram outros tumores associados: teratoma maduro cístico em 01 caso, tumor de Brenner em 2 casos e adenocarcinoma de retossigmóide em 01 caso.

Vinte e oito (44,4%) pacientes tinham tumores *borderline* ou de baixo potencial de malignidade, 7 (25%) deles bilaterais, e os demais, assim distribuídos: 7 (25%) em ovário direito, 8 (28,6%) em ovário esquerdo e 6 (21,4%) não informados quanto à lateralidade, perfazendo 35 tumores. A idade das pacientes variou entre 18 e 81 anos (média- $52,35 \pm 19,84$ anos e mediana- 56,5 anos). O tamanho do tumor variou entre 4,0 e 39,0 cm (média- $17,81 \pm 8,90$ cm e mediana- 18,0 cm). Quanto ao fenótipo, 13 (37,1%) eram de tipo intestinal, 3 (8,6%) de tipo pilórico, 14 (40%) tipo gastrointestinal, 1 (2,8%) de tipo mülleriano e 4 (11,4%) de tipo misto. Seis (21,4%) pacientes apresentavam PMP associado, todos apresentavam fenótipo intestinal (figura 7). Destas, duas

tinham tumores bilaterais e duas pacientes apresentavam tumores unilaterais com tumor no apêndice cecal associado, um deles tumor de baixo potencial de malignidade e outro, carcinoma mucinoso. Apenas 4 (14,3%) pacientes tinham representação do apêndice cecal. As demais pacientes não tiveram o apêndice removido por estar macroscopicamente inalterado e na época do estudo a apendicectomia ainda não era rotina. Duas pacientes apresentaram outros tumores associados: uma com tumor bilateral, apresentava tumor de Brenner em ovário direito, e a outra apresentava carcinoma ductal com diferenciação mucinosa em mama de lateralidade não designada.

Sete pacientes (11,1%) apresentaram carcinoma mucinoso, 2 (28,6%) delas com tumores bilaterais, e as demais, assim distribuídas: 3 (42,8%) com tumores localizados em ovário direito, 1 (14,3%) em ovário esquerdo e 1 (14,3%) sem informação quanto à lateralidade, totalizando 9 tumores. A idade variou entre 41 e 74 anos (média- $54,28 \pm 10,70$ anos e mediana- 53 anos). O tamanho dos tumores variou entre 8,0 e 22,0 cm (média- $14,44 \pm 5,54$ cm e mediana- 12,0 cm). Quanto ao fenótipo 4 (44,4%) tumores eram de tipo intestinal, 1 (11,1%) de tipo gastrointestinal, 3 (33,3%) tipo mülleriano e 1 (11,1%) tipo misto. Uma paciente com carcinoma de fenótipo mülleriano apresentava endometriose associada. Uma paciente com carcinoma de fenótipo gastrointestinal apresentava nódulo mural com carcinoma anaplásico medindo 2,0 cm. Nenhum caso apresentou PMP. Duas pacientes apresentaram outros

tumores associados: Carcinoma de células claras localizado em peritônio e adenocarcinoma mucinoso de endométrio.

Nove pacientes (14,3%) apresentaram tumores bilaterais (tabela 1).

Tabela 1- Descrição dos casos bilaterais.

BILATERALIDADE			
Nº DA PACIENTE	DIAGNÓSTICO	FENÓTIPO	ESTADIAMENTO
2	BORDERLINE	GASTROINTESTINAL	IB
21	BORDERLINE	PILÓRICO	IIIA
25	BORDERLINE	MISTO	IB
32	BORDERLINE	GASTROINTESTINAL	IB
39	CARCINOMA	INTESTINAL	IIIC
40	BORDERLINE	GASTROINTESTINAL	IB
41	BORDERLINE	INTESTINAL	IIIC
52	BORDERLINE	INTESTINAL	IIIC
62	CARCINOMA	MÜLLERIANO	IIIB

Todas as pacientes com tumores bilaterais apresentaram o mesmo potencial de malignidade e fenótipo em ambos tumores. A idade das pacientes com tumor bilateral variou entre 18 e 73 anos (média- $49,44 \pm 19,67$ anos e mediana- 53 anos). O tamanho do tumor variou entre 4,0 e 33,0 cm (média- $13,77 \pm 8,51$ cm e mediana- 10,0 cm). Houve a retirada do apêndice cecal em uma paciente (nº 32), sem evidência de neoplasia. Dois casos apresentaram PMP (nº 41 e nº 52), ambos sem retirada do apêndice cecal. Dois casos

apresentaram outros tumores associados: um tumor *borderline* com tumor de Brenner (nº 40), e um adenocarcinoma mucinoso em endométrio (nº 62).

Não houve diferença estatística na análise da média da idade das pacientes e do tamanho do tumor entre os casos bilaterais e unilaterais (tabela 2).

Tabela 2- Análise da idade das pacientes e do tamanho dos tumores entre os casos unilaterais e bilaterais.

ANÁLISE DAS MÉDIAS DA IDADE E TAMANHO ENTRE OS CASOS UNILATERAIS E BILATERAIS (teste da hipótese nula)			
Categorias	UNILATERAIS	BILATERAIS	p*
IDADE (média ± desvio-padrão)	46,68 ± 20,18 anos	49,44 ± 19,67 anos	0,70
TAMANHO (média ± desvio-padrão)	16,96 ± 8,21 cm	13,77 ± 8,51 cm	0,17

* Teste de Chi-quadrado de Pearson

A análise das médias das idades das pacientes nos diferentes potenciais de malignidade mostrou diferença estatística entre os grupos benigno vs. *borderline* (p= 0,02) e benigno vs. maligno (p= 0,01). Não houve diferença estatística entre o tamanho dos tumores nos diferentes potenciais de malignidade (tabela 3).

Tabela 3- Distribuição da idade das pacientes e do tamanho tumoral segundo o potencial de malignidade.

DISTRIBUIÇÃO DA IDADE E DO TAMANHO QUANTO AO POTENCIAL DE MALIGNIDADE			
CATEGORIAS	BENIGNO	<i>BORDERLINE</i>	CARCINOMA
IDADE- média (±DP)	40,0 (±20,08) anos	52,35 (±19,84) anos	54,28 (±10,7) anos
IDADE- mediana	30,5 anos	56,5 anos	53 anos
TAMANHO- média (±DP)	15,0 (±8,53) cm	17,81 (±8,9) cm	14,44 (±5,54) cm
TAMANHO- mediana	13,0 cm	18,0 cm	12,0 cm

Comparando-se a distribuição das pacientes por faixa etária entre os diferentes potenciais de malignidade observou-se uma tendência das pacientes com tumores benignos apresentarem idade menor que 45 anos (60,7%), e as demais pacientes com tumores *borderline* e malignos apresentarem idade maior que 45 anos (60,7% e 71,4%, respectivamente) (tabela 4). Não observamos diferença estatística na análise da distribuição da idade das pacientes nos diferentes fenótipos (tabela 5).

Tabela 4- Distribuição dos tumores mucinosos segundo o potencial de malignidade e a faixa etária das pacientes.

FAIXA ETÁRIA E POTENCIAL DE MALIGNIDADE				
CATEGORIAS	≤ 25 anos	25-45 anos	> 45 anos	Total
BENIGNO	8 (28,6%)	9 (32,1%)	11 (39,3%)	28
<i>BORDERLINE</i>	3 (10,7%)	8 (28,6%)	17 (60,7%)	28
CARCINOMA	0	2 (28,6%)	5 (71,4%)	7
Total	11	19	33	63

Tabela 5- Distribuição dos tumores mucinosos segundo o fenótipo e a faixa etária da paciente.

DISTRIBUIÇÃO DO FENÓTIPO SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA				
FENÓTIPO	≤ 25 anos	25-45 anos	> 45 anos	Total
Pilórico	2 (20%)	3 (30%)	5 (50%)	10
Intestinal	5 (18,5%)	7 (25,9%)	15 (55,5%)	27
Gastrointestinal	3 (17,6%)	4 (23,5%)	10 (58,8%)	17
Mülleriano	0	1 (33,3%)	2 (66,6%)	3
Misto	1 (16,6%)	4 (66,6%)	1 (16,6%)	6
Total	11	19	33	63

Tabela 6- Distribuição dos tumores mucinosos segundo o fenótipo e o potencial de malignidade.

DISTRIBUIÇÃO DOS FENÓTIPOS SEGUNDO AO POTENCIAL DE MALIGNIDADE				
FENÓTIPO	BENIGNO	BORDERLINE	CARCINOMA	Total
Pilórico	8 (72,7%)	3 (27,3%)	0	11
Intestinal	13 (43,3%)	13 (43,3%)	4 (13,3%)	30
Gastrointestinal	5 (25%)	14 (70%)	1 (5%)	20
Mülleriano	0	1 (25%)	3 (75%)	4
Misto	2 (28,6%)	4 (57,1%)	1 (14,3%)	7
Total	28	35	9	72

Quanto à distribuição dos fenótipos pilórico e intestinal puros segundo o potencial de malignidade observa-se uma tendência dos tumores pilóricos a serem benignos (72,7%) quando comparado aos tumores de fenótipo intestinal (43,3%) (tabela 6).

Observamos apenas um tumor *borderline* com carcinoma intra-epitelial, de fenótipo intestinal, localizado em ovário direito, medindo 21,0 cm e com estadiamento IC.

Entre as 28 pacientes com tumores *borderline*, 20 (71,4%) apresentavam-se no estágio I, 2 (7,1%) no estágio II, e 4 (14,3%) no estágio III. Duas pacientes com PMP associado não foram estadiadas, devido à presença de neoplasia em apêndice cecal associado. Entre as 7 pacientes com carcinomas, 4 (57,1%) apresentavam-se no estágio I, e 3 (42,8%) no estágio III (tabela 7).

Tabela 7- Estadiamento cirúrgico dos tumores *borderline* e carcinomas mucinosos.

DISTRIBUIÇÃO DOS ESTADIAMENTOS CIRÚRGICOS (FIGO)									
CATEGORIAS	IA	IB	IC	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	Total
<i>BORDERLINE</i>	15	4	1	1	1	2	0	2	26
CARCINOMA	2	0	2	0	0	0	1	2	7
Total	17	4	3	1	1	2	1	4	33

A apendicectomia foi realizada em 5 casos e destes, 2 (40%) mostravam tumor mucinoso associado, sendo um caso com tumor mucinoso de baixo potencial de malignidade e o outro caso com carcinoma mucinoso, ambos associados a PMP comprometendo o ovário unilateralmente.

Endometriose foi identificada em 3 casos, dois deles com tumor de fenótipo intestinal e um com fenótipo mülleriano.

O estudo imunoistoquímico foi realizado em 67 tumores (tabelas 8 e 9).

Comparando-se os fenótipos pilórico e intestinal puros quanto ao perfil de expressão de mucinas, citoqueratinas, CA19.9 e CA125, foi observado que apenas os marcadores MUC2 ($p= 0,003$) e CA19.9 ($p= 0,04$) diferenciam os dois grupos.

A expressão de CA125 foi identificada em 35 (52,2%) casos. Todos os tumores müllerianos apresentaram expressão positiva significativa (figura 8). O grupo de tumores de fenótipo intestinal puro foi o que apresentou a menor proporção de casos positivos (39,3%).

A expressão de CA19.9 foi identificada em 57 (85,1%) casos. Todos os tumores apresentaram positividade em mais de 10% das células (figura 9). O grupo de tumores de fenótipo pilórico puro foi o que apresentou menor fração de casos positivos (60%).

A expressão de CK7 foi positiva em 51 (76,1%) casos. Todos os tumores müllerianos e mistos expressaram CK7. Os tumores com fenótipo gastrointestinal (figura 10) e os pilóricos puros apresentaram maior proporção de casos positivos (respectivamente 80% e 90%), comparado com 57,1% dos casos positivos no grupo intestinal puro.

A expressão de CK20 foi observada em 28 (41,8%) casos. Nenhum dos tumores müllerianos expressou CK20. Entre os demais tipos, os fenótipos pilórico e misto apresentaram a menor fração de neoplasias positivas para o marcador (respectivamente 30% e 16,6%) comparado com 46,4% e 55% respectivamente nos grupos intestinal e gastrointestinal. Apesar de agruparmos a imuno-expressão focal (10-50% de positividade) e difusa (maior que 50%),

ressaltamos que o padrão de positividade da CK20 variou de esparsa e focal até difusa, e com intensa marcação de células calciformes. A presença de imuno-expressão de CK20 em apenas três casos (apenas um caso com positividade maior que 10%) no fenótipo pilórico puro (figura 11) demonstra que apesar desta ser um marcador de diferenciação intestinal, principalmente de sítio coloretal, não é estatisticamente diferente nos tumores mucinosos primários de ovário ($p= 0,3$). Mas considerando-se o potencial de malignidade observou-se que o CK20 é mais expresso entre os tumores *borderline* (62,5%) comparado aos tumores benignos (17,8%) e malignos (42,8%) ($p= 0,002$).

Tabela 8- Distribuição do perfil imunoistoquímico segundo o fenótipo.

PERFIL IMUNOISTOQUÍMICO SEGUNDO O FENÓTIPO						
Marcadores	Pilórico	Intestinal	Gastrointestinal	Misto	Mülleriano	Total
CA125	5 (50%)	11 (39,28%)	13 (65%)	3 (50%)	3 (100%)	35 (52,2%)
CA19.9	6 (60%)	25 (89,28%)	17 (85%)	6 (100%)	3 (100%)	57 (85,1%)
CK7	8 (80%)	16 (57,14%)	18 (90%)	6 (100%)	3 (100%)	51 (76,1%)
CK20	3 (30%)	13 (46,42%)	11 (55%)	1 (16,66%)	0	28 (41,8%)
RE/RP	0	0	0	2 (33,33%)	3 (100%)	5 (7,5%)
MUC1	5 (50%)	12 (42,85%)	18 (90%)	6 (100%)	3 (100%)	44 (65,7%)
MUC2	1 (10%)	18 (64,28%)	9 (45%)	3 (50%)	1 (33,33%)	32 (47,8%)
MUC5AC	10 (100%)	25 (89,28%)	20 (100%)	6 (100%)	1 (33,33%)	62 (92,5%)
MUC6	5 (50%)	11 (39,28 %)	14 (70%)	4 (66,66%)	2 (66,66%)	36 (53,7%)
Total	10	28	20	6	3	67

Tabela 9- Distribuição do perfil imunistoquímico segundo o potencial de malignidade.

PERFIL IMUNOISTOQUÍMICO SEGUNDO O POTENCIAL DE MALIGNIDADE				
Marcadores	Benigno	<i>Borderline</i>	Maligno	Total
CA125	13 (46,4%)	17 (53,1%)	5 (71,4%)	35 (52,2%)
CA19.9	24 (85,7%)	27 (84,4%)	6 (85,7%)	57 (85,0%)
CK7	20 (71,4%)	26 (81,2%)	5 (71,4%)	51 (76,1%)
CK20	5 (17,8%)	20 (62,5%)	3 (42,8%)	28 (41,8%)
RE/RP	0	2 (3,1%)	2 (28,6%)	4 (5,9%)
MUC1	18 (64,3%)	21 (65,6%)	5 (71,4%)	44 (65,7%)
MUC2	5 (17,8%)	21 (65,6%)	6 (85,7%)	32 (47,7%)
MUC5AC	28 (100%)	30 (93,7%)	4 (57,1%)	62 (92,5%)
MUC6	16 (57,1%)	16 (50%)	4 (57,1%)	36 (53,7%)
Total	28	32	7	67

Os três tumores de padrão mülleriano apresentaram forte e difusa expressão de receptores de estrogênio e/ou progesterona (figura 12). Dois dos seis tumores mistos expressaram receptor de progesterona, porém em menos de 10% das células neoplásicas. Nenhum dos tumores de fenótipos pilórico e/ou intestinal mostrou expressão de receptores hormonais.

A imuno-expressão de MUC1 foi observada em 44 (65,7%) tumores. Todos os tumores müllerianos e mistos expressaram MUC1 (figura 13). Entre os tumores de fenótipo gastrointestinal, os subgrupos pilórico e intestinal puros apresentaram a menor fração de tumores positivos, respectivamente 50% e 42,8%. Comparando-se o grupo de neoplasias com componente mülleriano (mülleriano puro e misto) com os demais tumores (pilórico puro, intestinal puro e gastrointestinal) o MUC1 foi mais freqüente nos primeiros (9 casos, 100% vs. 35

casos, 60%) ($p= 0,02$). Quanto ao potencial de malignidade observamos que o MUC1 foi mais expresso entre os carcinomas (71,4%) quando comparado aos tumores benignos (64,3%) e *borderline* (65,6%), embora não seja estatisticamente diferente ($p= 0,9$).

O MUC2 foi positivo em 32 (47,8%) casos. O fenótipo intestinal puro apresentou maior fração de tumores positivos (64,3%) (figura 14), comparado com 1 (33,3%) caso de fenótipo mülleriano, e 1 (10%) caso com positividade em raras células (menor que 10%) no fenótipo pilórico. O MUC2 demonstrou ser um marcador de diferenciação intestinal ($p= 0,003$).

O MUC5AC foi positivo em 62 (92,5%) tumores, todos com exceção de um caso de fenótipo intestinal puro, em mais de 10% das células neoplásicas. Todos os tumores com fenótipo pilórico puro (figura 15), gastrointestinal e misto, expressaram MUC5AC. O fenótipo intestinal puro apresentou 89,3% de casos positivos. O fenótipo mülleriano foi o que apresentou menor fração de positividade (33,3%).

MUC6 foi positivo em 36 (53,7%) casos. No grupo dos tumores müllerianos 2 (66,6%) tumores mostraram positividade. Os tumores de fenótipo pilórico apresentaram 5 (50%) casos positivos (figura 16). O grupo de tumores de fenótipo intestinal puro foi o que apresentou menor expressão entre as neoplasias com fenótipo gastrointestinal (39,3%).

O único caso de tumor *borderline* com carcinoma intra-epitelial era de tipo intestinal puro e expressou positividade para MUC1, MUC2, MUC5AC, CA19.9, CK7 e CK20. A neoplasia foi negativa para CA125 e receptores hormonais.

Comparando-se os fenótipos puros (pilórico, intestinal e müllerianos) quanto ao perfil coordenado de citoqueratinas, o padrão CK+/CK20- foi o mais comum (tabela10). Apesar dos fenótipos pilórico e intestinal puros co-expressarem CK7+/CK20+, nenhum caso de padrão mülleriano apresentou este padrão. O perfil imunoistoquímico classicamente descrito para o sítio intestinal, CK7-/CK20+, não foi observado no fenótipo pilórico nem no fenótipo mülleriano, mas esteve presente em 7 (17,1%) casos de padrão intestinal, 4 deles associados com PMP, 1 caso era tumor *borderline* sem PMP associado em estágio IA, e 2 casos eram carcinomas mucinosos de estágio IC e IIIC.

Tabela 10- Distribuição da expressão coordenada das citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) nos fenótipos puros.

Perfis de citoqueratinas nos subgrupos pilórico, intestinal e mülleriano puros				
Citoqueratinas	Pilórico	Intestinal	Mülleriano	Total
CK7+/CK20-	5 (50%)	10 (35,7%)	3 (100%)	18 (43,9%)
CK7+/CK20+	3 (30%)	6 (21,4%)	0	9 (21,9%)
CK7-/CK20+	0	7 (25%)	0	7 (17,1%)
CK7-/CK20-	2 (20%)	5 (17,8%)	0	7 (17,1%)
Total	10	28	3	41

PMP foi identificado em 6 (9,5%) pacientes, todas com tumor *borderline* e com fenótipo intestinal puro, duas pacientes apresentavam tumor bilateral. Em todos os casos a lesão foi do tipo adenomucinosose disseminada. Em duas destas pacientes havia tumor mucinoso de apêndice, um tumor de baixo potencial de malignidade e um carcinoma mucinoso. Foi realizado estudo imunoistoquímico em 7 tumores associados a PMP.

A idade das pacientes com tumores *borderline* de fenótipo intestinal variou entre 19 e 81 anos (média- 59,8 ± 19,7 anos e mediana- 58 anos), no subgrupo com tumor *borderline* associado a PMP variou entre 56 e 81 anos (média- 69,8 ± 9,4 anos e mediana- 72 anos), e no subgrupo de pacientes com tumor *borderline* não associado a PMP variou entre 19 e 72 anos (média- 45,8 ± 22,7 anos e mediana- 49,5 anos) (p= 0,03).

Os tumores de fenótipo intestinal com PMP associado apresentaram expressão imunoistoquímica significativamente diferente em relação aos marcadores CK20 (p= 0,01) e MUC2 (p= 0,02) (figuras 17 e 18) quando comparada aos tumores de fenótipo intestinal sem PMP (tabela 11).

Tabela 11- Distribuição do perfil imunoistoquímico presente nos tumores de fenótipo intestinal com e sem pseudomixoma peritoneal.

Perfil imunoistoquímico encontrado no fenótipo intestinal com e sem pseudomixoma peritoneal			
Marcadores	Com PMP	Sem PMP	p*
CA125	1 (14,3%)	10 (47,6%)	0,11
CA19.9	7 (100%)	18 (80,7%)	0,28
CK7	3 (42,8%)	13 (61,9%)	0,37
CK20	6 (85,7%)	7 (33,3%)	0,01
MUC1	2 (28,6%)	10 (47,6%)	0,37
MUC2	7 (100%)	11 (52,4%)	0,02
MUC5AC	7 (100%)	18 (85,7%)	0,28
MUC6	2 (28,6%)	9 (42,8%)	0,5
Total	7	21	

* Teste de Chi-quadrado de Pearson

Considerando-se que todos os casos de fenótipo intestinal associado a PMP eram tumores *borderline*, e analisando este subgrupo mais detalhadamente, observamos que este grupo não difere entre os subgrupos com PMP e sem PMP associado quanto ao perfil imunoistoquímico (tabela 12).

Quando analisamos os tumores de fenótipo intestinal separando os casos de tumores *borderline*, independente da presença de PMP, e comparando aos demais tumores, observamos expressão imunoistoquímica significativamente diferente em relação aos marcadores CK20 ($p= 0,0006$) e MUC2 ($p= 0,0005$) que são mais expressos nos tumores *borderline* (tabela 13).

Tabela 12- Distribuição do perfil imunoistoquímico presente nos tumores *borderline* de fenótipo intestinal com e sem pseudomixoma peritoneal.

Perfil imunoistoquímico encontrado nos tumores de baixo potencial de malignidade (<i>borderline</i>) de padrão intestinal			
Marcadores	Com PMP	Sem PMP	p*
CA125	1 (14,3%)	2 (40%)	NS
CA19.9	7 (100%)	4 (80%)	NS
CK7	3 (42,8%)	4 (80%)	NS
CK20	6 (85,7%)	4 (80%)	NS
MUC1	2 (28,6%)	3 (60%)	NS
MUC2	7 (100%)	5 (100%)	NS
MUC5AC	7 (100%)	4 (80%)	NS
MUC6	2 (28,6%)	1 (20%)	NS
Total	7	5	

* Teste de Chi-quadrado de Pearson

Tabela 13- Distribuição do perfil imunistoquímico presente nos tumores de fenótipo intestinal segundo o potencial de malignidade.

Perfil imunistoquímico encontrado nos tumores de baixo potencial de malignidade (<i>borderline</i>) vs. demais tumores de fenótipos intestinais			
Marcadores	<i>borderline</i>	outros	p*
CA125	3 (25%)	8 (50%)	NS
CA19.9	11 (91,6%)	14 (87,5%)	NS
CK7	7 (58,3%)	9 (56,2%)	NS
CK20	10 (83,3%)	3 (18,7%)	0,0006
MUC1	5 (41,6%)	7 (43,7%)	NS
MUC2	12 (100%)	6 (37,5%)	0,0005
MUC5AC	11 (91,6%)	14 (87,5%)	NS
MUC6	3 (25%)	8 (50%)	NS
Total	12	16	

* Teste de Chi-quadrado de Pearson

Comparando-se os tumores *borderline* sem PMP com os demais tumores de fenótipo intestinal, observamos que os tumores *borderline*, mesmo na ausência de PMP associado, são diferentes dos demais tumores benignos e malignos de fenótipo intestinal, também sem PMP associado, quanto aos marcadores CK20 (p= 0,01) e MUC2 (p= 0,01) (tabela 14).

Tabela 14- Distribuição do perfil imunoistoquímico presente nos tumores *borderline* sem pseudomixoma peritoneal vs. demais tumores de fenótipo intestinal.

Perfil imunoistoquímico encontrado nos tumores <i>borderline</i> sem PMP vs. demais tumores não-<i>borderline</i> de fenótipos intestinais sem PMP			
Marcadores	<i>Borderline</i> sem PMP	Outros (benignos e malignos)	p*
CA125	2 (40%)	8 (50%)	NS
CA19.9	4 (80%)	14 (87,5%)	NS
CK7	4 (80%)	9 (56,2%)	NS
CK20	4 (80%)	3 (18,7%)	0,01
MUC1	3 (60%)	7 (43,7%)	NS
MUC2	5 (100%)	6 (37,5%)	0,01
MUC5AC	4 (80%)	14 (87,5%)	NS
MUC6	1 (20%)	8 (50%)	NS
Total	5	16	

* Teste de Chi-quadrado de Pearson

Comparando-se o perfil imunoistoquímico coordenado de citoqueratinas, CK7 e CK20, entre os tumores *borderline* com e sem PMP observamos que o perfil CK7-/CK20+ foi o mais freqüente entre os tumores *borderline* com PMP (57,1%), o qual esteve presente em apenas 1 (20%) tumor *borderline* sem PMP, localizado em ovário direito e apresentando estágio I (tabela 15).

Tabela 15- Distribuição do perfil imunistoquímico coordenado das citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) nos tumores *borderline* de fenótipo intestinal com e sem pseudomixoma peritoneal.

Perfil de citoqueratinas nos tumores intestinais de baixo potencial de malignidade (<i>borderline</i>) com e sem pseudomixoma peritoneal			
Citoqueratinas	Com PMP	Sem PMP	Total
CK7+/CK20-	1 (14,3%)	1 (20%)	2 (16,6%)
CK7+/CK20+	2 (28,6%)	3 (60%)	5 (41,6%)
CK7-/CK20+	4 (57,1%)	1 (20%)	5 (41,6%)
CK7-/CK20-	0	0	0
Total	7	5	12

Comparando-se o perfil imunistoquímico coordenado de CK7/CK20 entre os tumores de fenótipo intestinal segundo o potencial de malignidade, independente da presença de PMP, observa-se que o perfil CK7-/CK20+ é mais expresso entre os tumores *borderline* (41,6%) que nos demais tumores benignos e malignos (12,5%) (tabela 16).

Tabela 16- Distribuição do perfil imunistoquímico coordenado de citoqueratinas 7(CK7) e 20 (CK20) no fenótipo intestinal segundo o potencial de malignidade.

Perfil de citoqueratinas nos tumores intestinais de baixo potencial de malignidade (<i>borderline</i>) vs. benignos e malignos			
Citoqueratinas	<i>Borderline</i>	Benignos/malignos	Total
CK7+/CK20-	2 (16,7%) (1 com PMP)	8 (50%)	10 (35,7%)
CK7+/CK20+	5 (41,7%) (2 com PMP)	1 (6,2%)	6 (21,4%)
CK7-/CK20+	5 (41,7%) (4 com PMP)	2 (12,5%)	7 (25%)
CK7-/CK20-	0	5 (31,2%)	5 (17,8%)
Total	12	16	28

(p= 0,006)

Os dois casos associados a tumor de apêndice cecal mostraram negatividade para MUC1, CK7, CA125, e positividade forte e difusa para o MUC2, MUC5AC, CA19.9 e CK20 em mais de 50% das células. MUC6 foi positivo em um dos tumores, com positividade maior que 10% das células neoplásicas. O perfil imunoistoquímico realizado em um dos tumores de apêndice cecal concomitante (paciente 61) era idêntico ao do tumor de ovário, exibindo negatividade para MUC1, MUC6, CK7, receptores hormonais e CA125, e positividade forte e difusa em mais de 50% das células para MUC2, MUC5AC, CK20 e CA19.9.

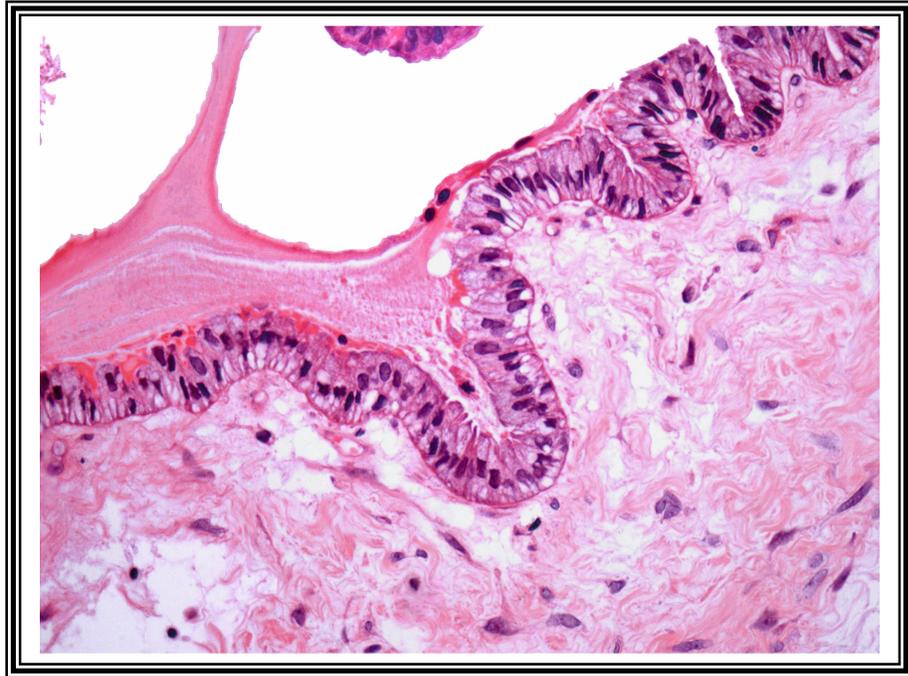


Figura 1- Cistoadenoma mucinoso.



Figura 2- Tumor mucinoso *borderline*.

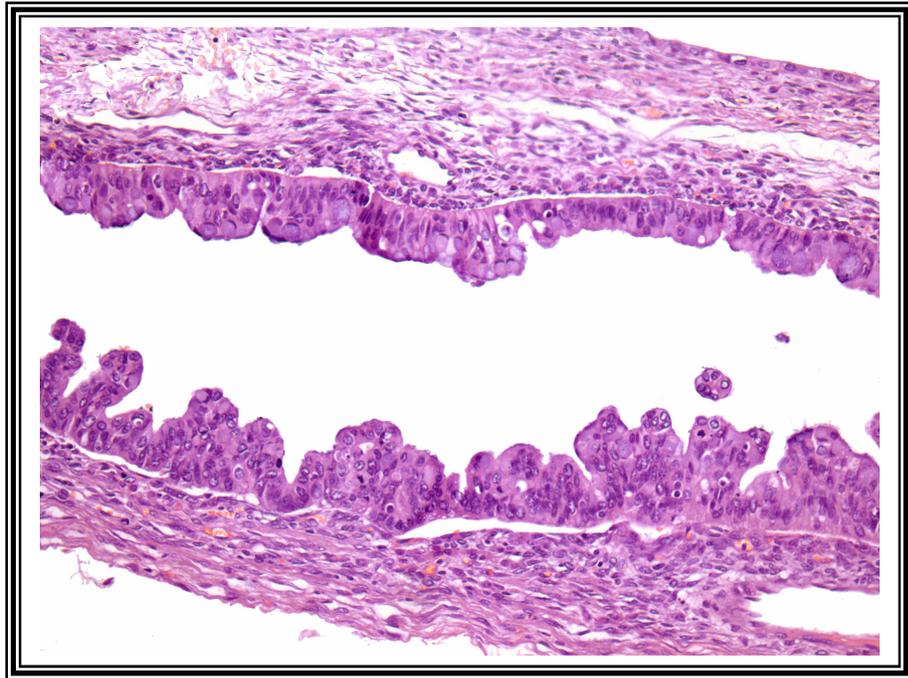


Figura 3- Tumor mucinoso *borderline* com carcinoma intra-epitelial.

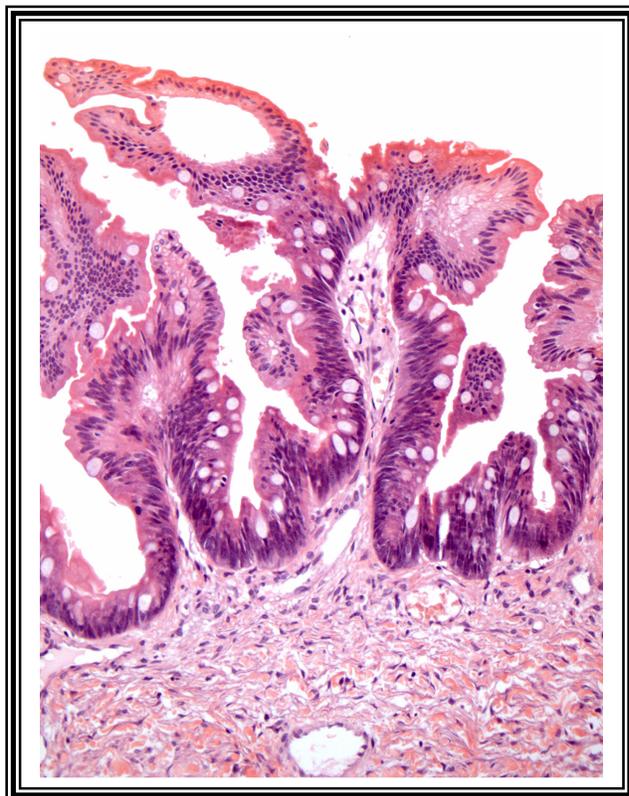


Figura 4- Tumor mucinoso *borderline* com fenótipo intestinal.

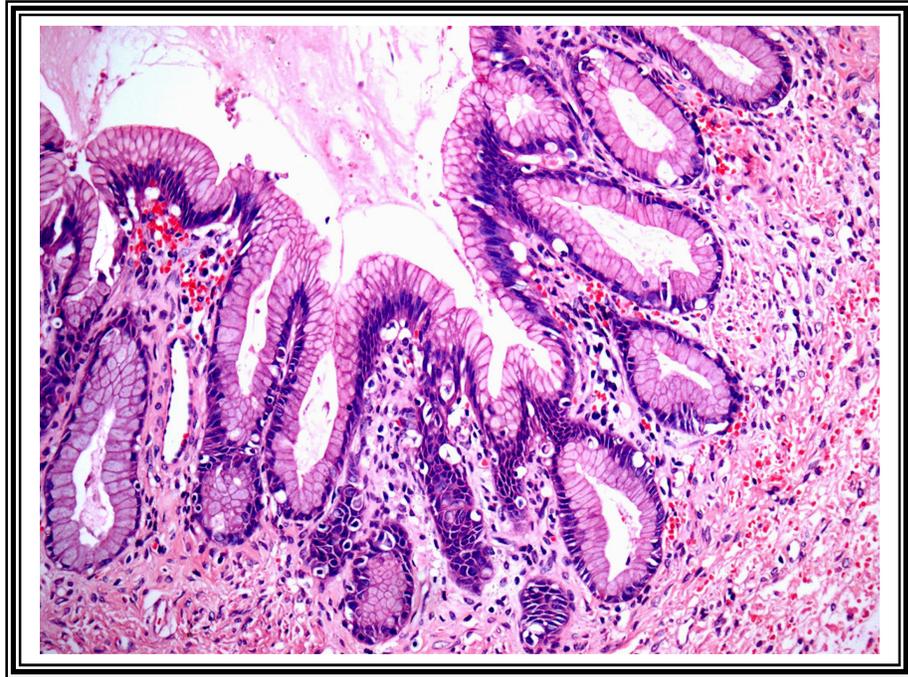


Figura 5- Cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.

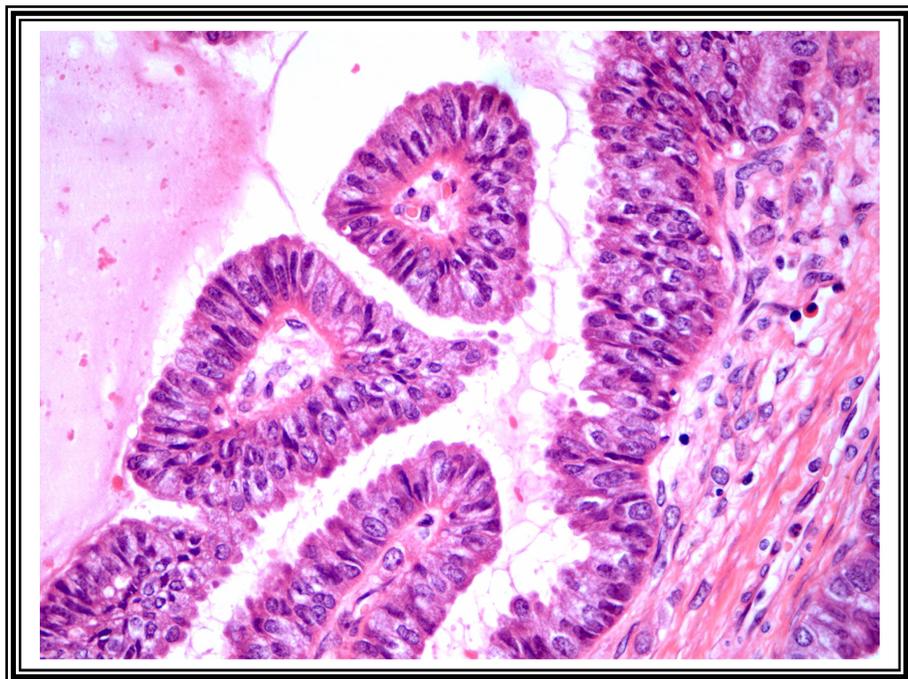


Figura 6- Tumor mucinoso *borderline* com fenótipo mülleriano.

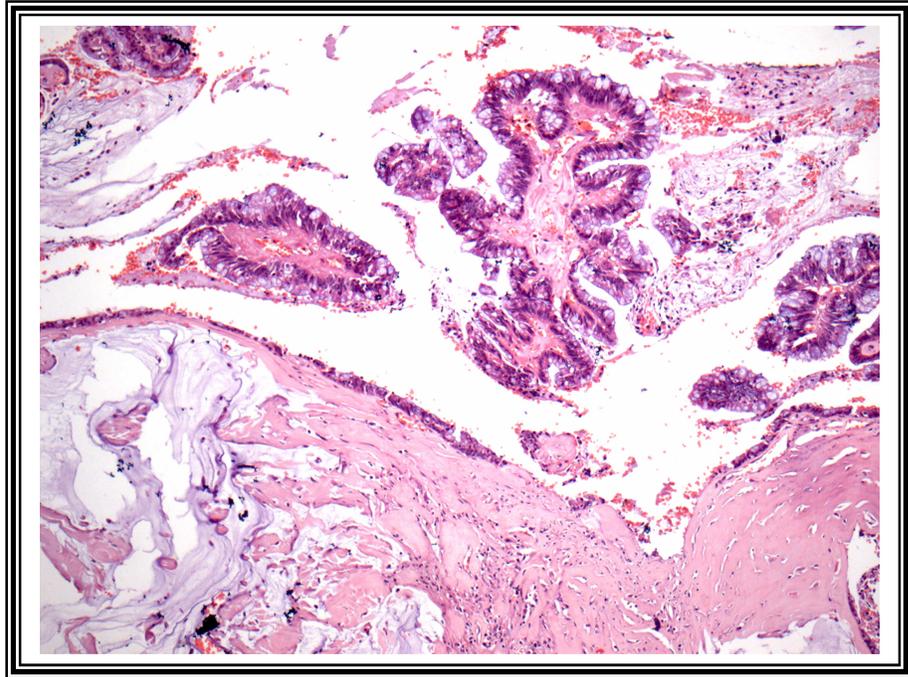


Figura 7- Pseudomixoma peritoneal do tipo adenomucinosse disseminada.

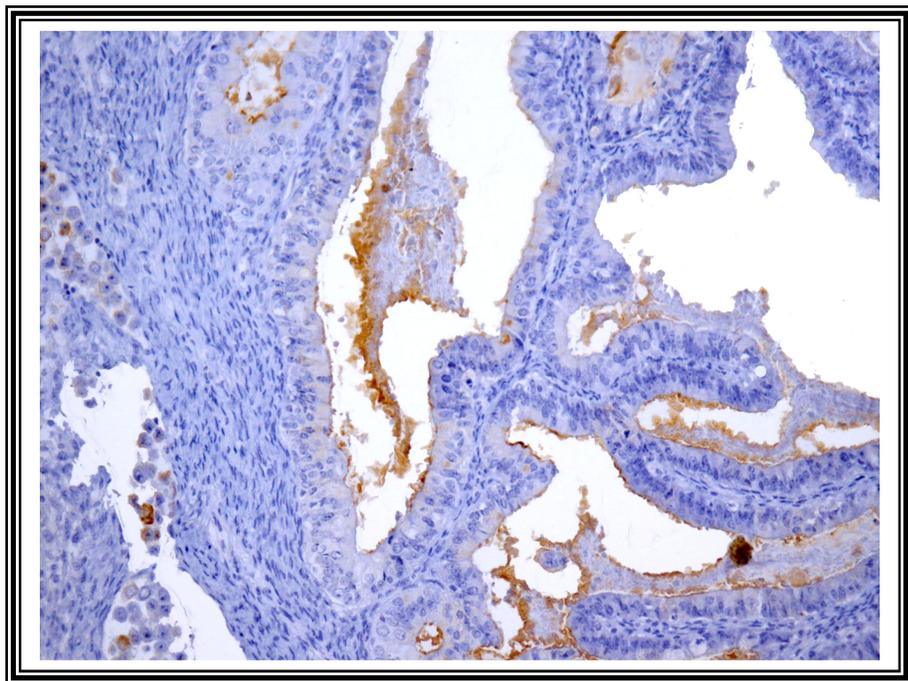


Figura 8- CA125 – marcação imunoistoquímica de padrão membrana em tumor mucinoso com fenótipo misto.

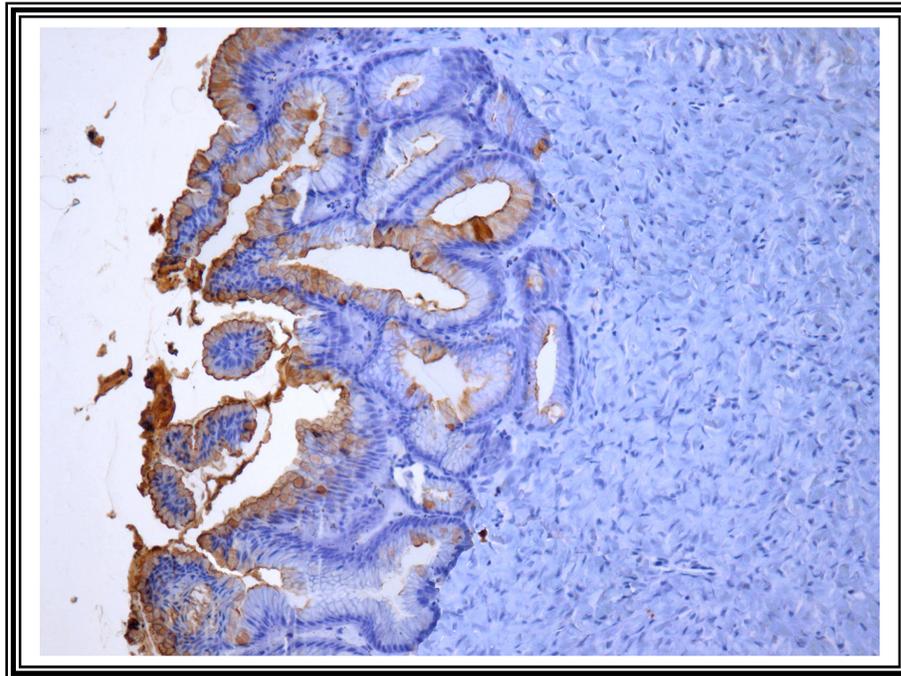


Figura 9- CA19.9 – marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático em tumor mucinoso com fenótipo gastrointestinal.

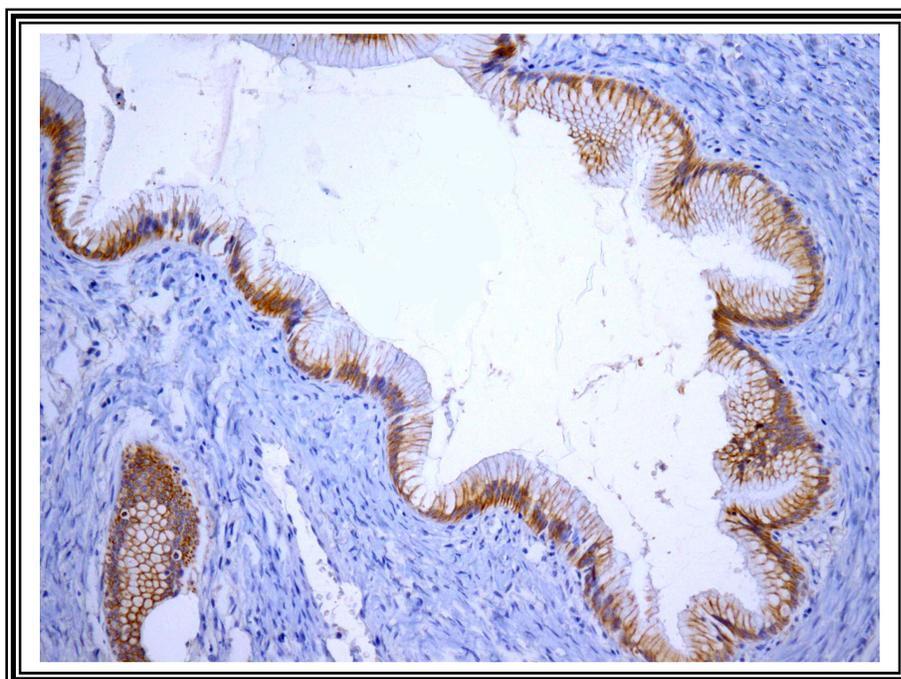


Figura 10- CK7- marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático em cistoadenoma mucinoso.

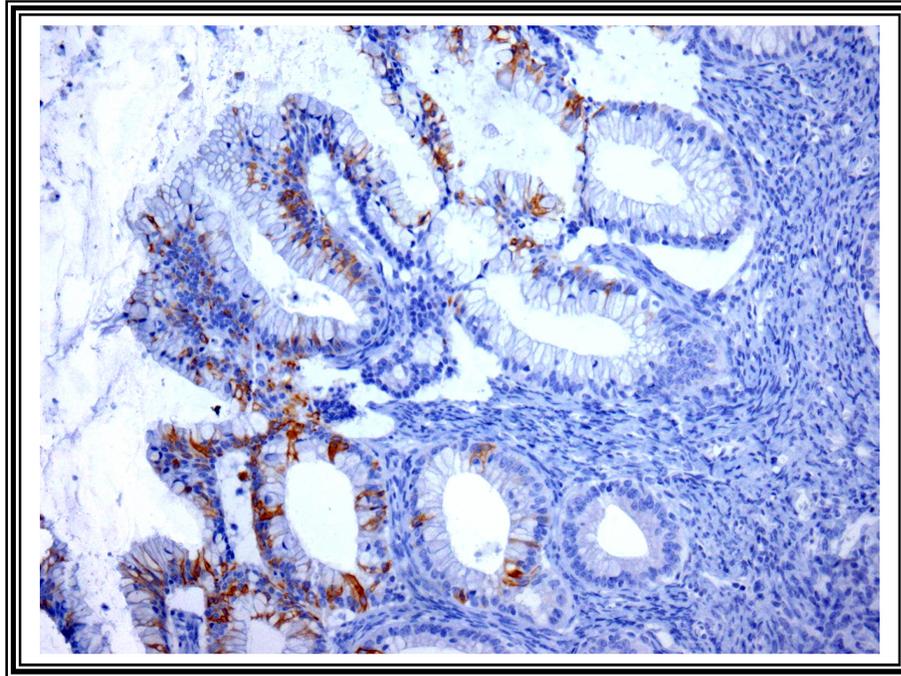


Figura 11- CK20 – marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático focal em cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.

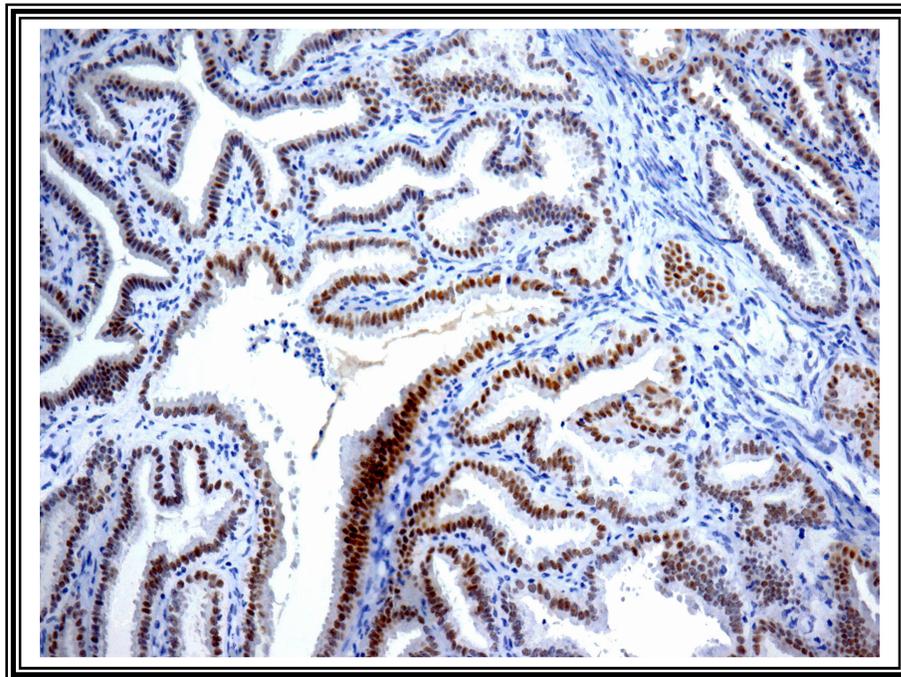


Figura 12- RP – marcação imunoistoquímica de padrão nuclear em tumor *borderline* mucinoso com fenótipo mülleriano.

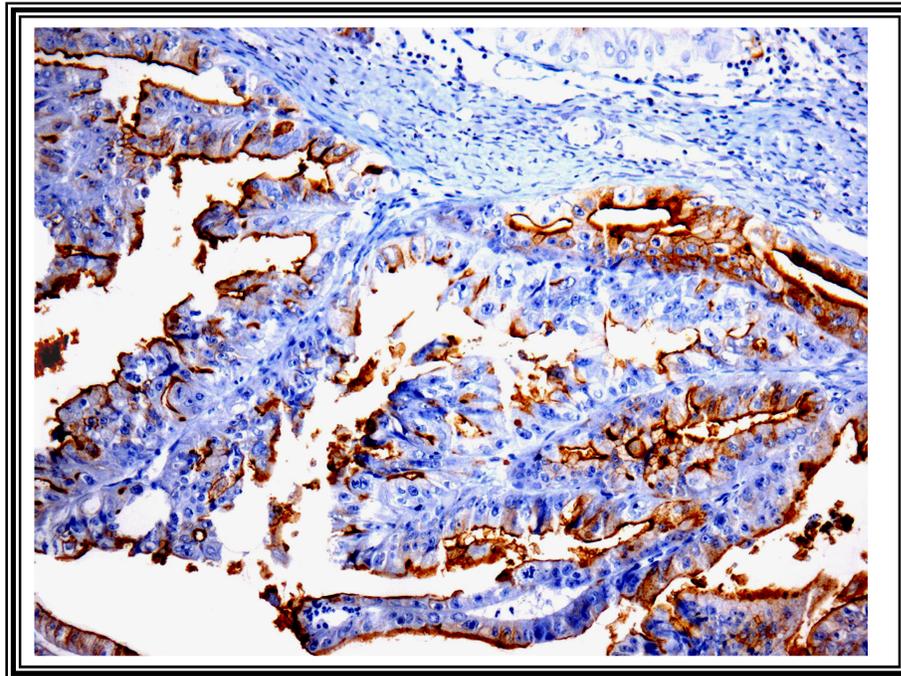


Figura 13- MUC1 – marcação imunoistoquímica de padrão membrana em tumor mucinoso *borderline* com fenótipo misto.

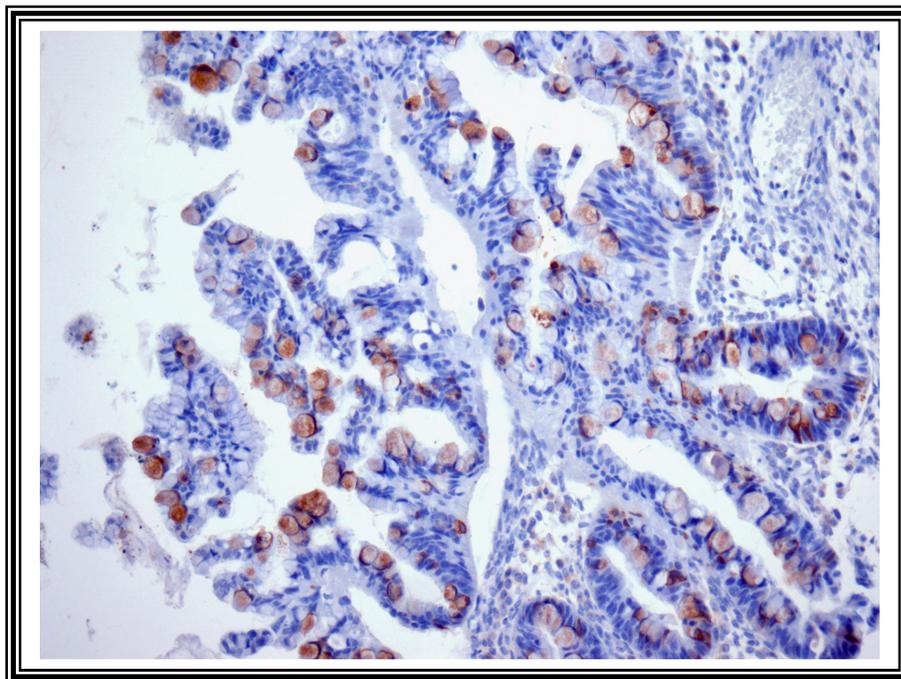


Figura 14- MUC2 - marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático em tumor mucinoso *borderline* com fenótipo intestinal.

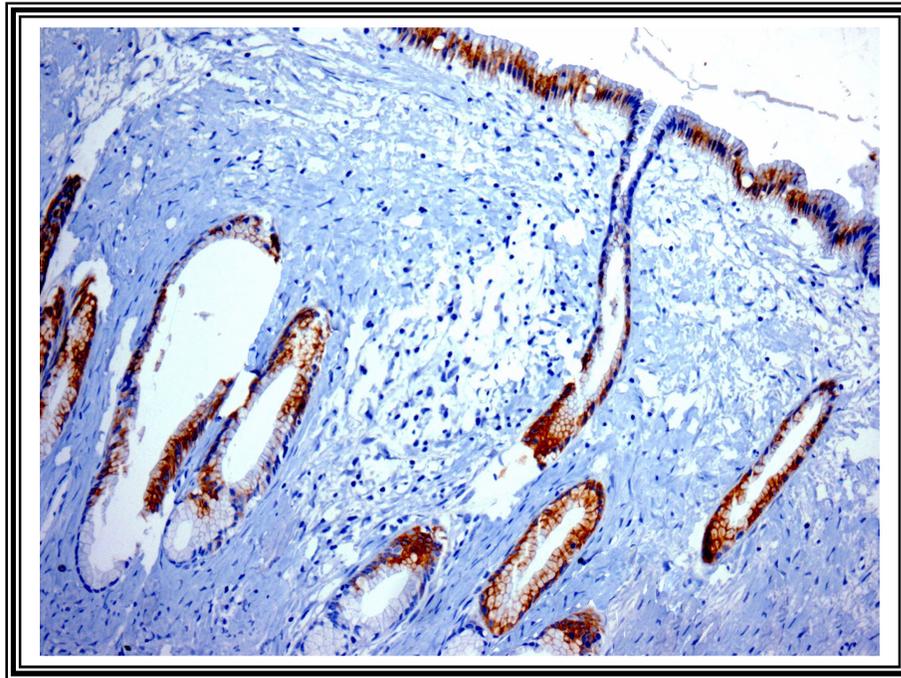


Figura 15- MUC5AC - marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático em cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.

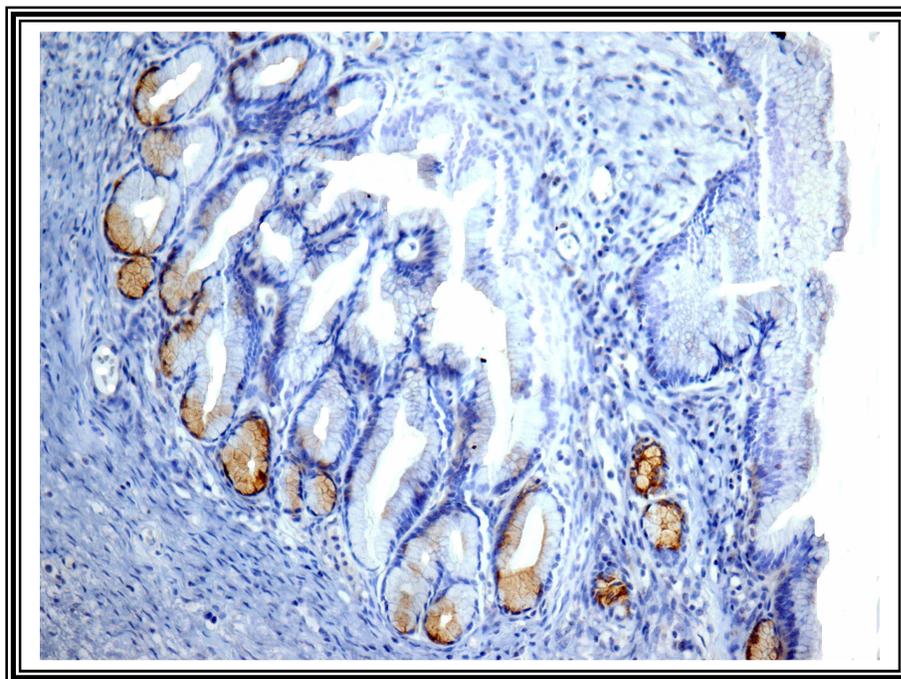


Figura 16- MUC6 - marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático em cistoadenoma mucinoso com fenótipo pilórico.

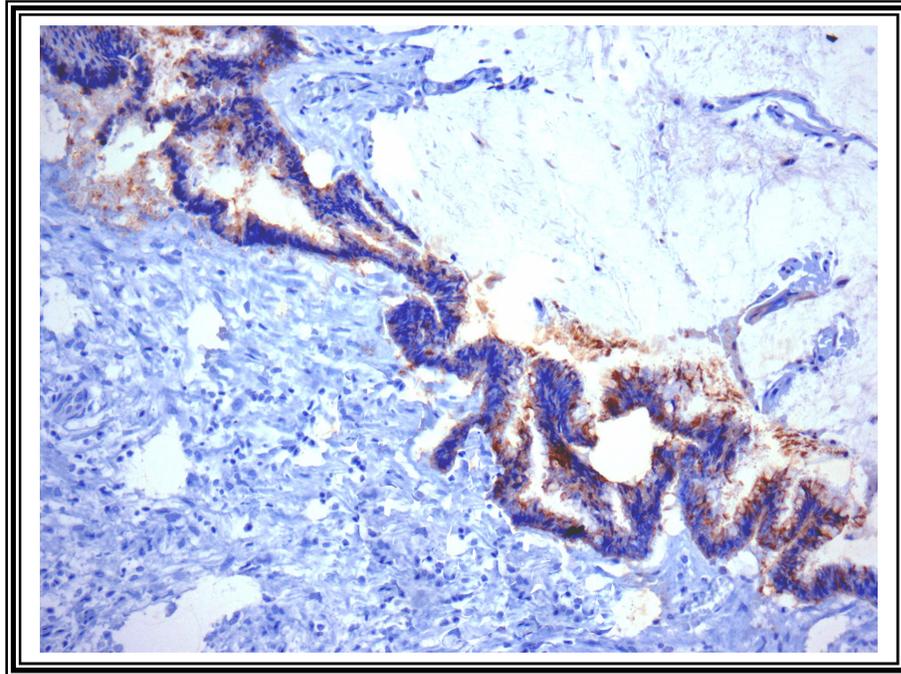


Figura 17- MUC2 – marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático difuso em pseudomixoma peritoneal.



Figura 18- MUC2 – marcação imunoistoquímica de padrão citoplasmático difuso em tumor mucinoso *borderline* associado a pseudomixoma peritoneal.

DISCUSSÃO

6- DISCUSSÃO

Foi um desafio desbravar o universo dos tumores mucinosos do ovário neste estudo, rompendo as barreiras dos conceitos morfológicos pré-estabelecidos e trazendo uma nova visão da diferenciação fenotípica e do seu comportamento biológico. Os tumores mucinosos do ovário são caracterizados pela presença de abundante epitélio mucinoso, com células tumorais que sintetizam e secretam mucina, produzindo fluido cístico com aparência gelatinosa ⁶⁹. Existem algumas controvérsias quanto ao padrão de diferenciação e classificação dos tumores mucinosos do ovário, sendo neoplasias de difícil interpretação e diagnóstico patológico. Como os demais tumores da superfície epitelial ovariana, eles também são classificados como neoplasias benignas, *borderline* ou malignas ^{2,3,9}, mas ainda apresentam uma diversidade morfológica quanto ao fenótipo celular, os quais refletem nos estudos imunoistoquímicos e moleculares.

Atualmente os tumores mucinosos são classificados em basicamente dois fenótipos, de padrão gastrointestinal e seromucinoso ⁸. Embora o fenótipo gastrointestinal apresente alta prevalência entre os tumores mucinosos *borderline* e malignos, podendo combinar áreas benignas, *borderline* e malignas em uma mesma neoplasia ^{2,3,9,35,110}, acreditamos que também seja altamente prevalente entre os cistoadenomas mucinosos, presentes como fenótipo gástrico tipo pilórico. Apesar de relatos da existência de homologia morfológica

e antigênica entre os tumores mucinosos de ovário e as células da mucosa gástrica, principalmente da área pilórica do estômago ^{6,68,69}, os fenótipos gástrico e intestinal são em geral considerados em conjunto, e ainda existe pouca informação da freqüência e do comportamento da diferenciação gástrica nos tumores mucinosos do ovário.

Nosso estudo sugere que os padrões gástrico-pilórico e intestinal de diferenciação fenotípica nos tumores mucinosos ovarianos refletem a presença de perfil imunistoquímico distinto, bem como o padrão pilórico apresenta-se mais freqüentemente como tumores benignos quando comparados ao padrão intestinal puro (72,7% x 43,3%), sendo possível que essas diferenças possam implicar em comportamentos distintos. Entre os tumores benignos obtivemos apenas 2 (7,1%) casos de padrão misto com nenhum caso de padrão endocervical puro, mas observamos o padrão pilórico puro em 8 (28,6%) casos.

Talvez o não reconhecimento do padrão gástrico-pilórico entre os tumores benignos do ovário, e a possível percepção errônea do fenótipo endocervical ou mülleriano, possam refletir as controvérsias da histogênese dos tumores mucinosos, como o relato de freqüente co-existência de elementos mesodérmicos, com epitélio de tipo endocervical, e endodérmicos, com epitélio de tipo intestinal, muitas vezes em uma mesma neoplasia ⁶⁷. Duas teorias principais discutem sobre sua histogênese, uma defende a origem em célula germinativa representando um teratoma monodérmico ^{5,10,16,67} e a outra

defende a origem via metaplasia dos cistos de inclusão epitelial, do epitélio que reveste a superfície capsular ovariana de origem celomática ^{16,67,111}.

Fenoglio *et al.* ⁶⁷ foram os pioneiros em classificar os tumores mucinosos de ovário em três grupos baseados no reconhecimento dos diferentes fenótipos apresentados pelo epitélio tumoral. O padrão endocervical apresentava epitélio composto por células colunares mucinosas com núcleo basal. O padrão intestinal apresentava uma mistura de células absortivas, caliciformes e argirófilas. E finalmente, o padrão misto que apresentava células de padrão intestinal e endocervical. Mas as semelhanças morfológicas entre as células do epitélio endocervical normal e da mucosa gástrica foveolar e pilórica não foram consideradas.

A caracterização da mucina tem fornecido informações que ajudam a esclarecer a histogênese dos tumores mucinosos do ovário. Estudos histoquímicos com tumores mucinosos classificados como de padrão endocervical indicam que as células tumorais freqüentemente apresentam mucinas gástricas ^{6,68,69}. As células da superfície da mucosa gástrica normal apresentam apenas mucina neutra, enquanto que as células caliciformes dos tratos gastrointestinal e respiratório, e as células colunares do trato pancreático-biliar e endocervical apresentam mucina ácida que freqüentemente coram para sialomucina e sulfomucina ⁶⁹. As células mucinosas de ovário usualmente classificadas como de padrão endocervical, principalmente em cistoadenomas, apresentam marcação positiva para *Galactose oxidase-Schiff* (GOS),

Concanavalin A (PCS-mucin III) e *Periodic acid-sodium borohydride-potassium hydroxide-PAS*, colorações reconhecidas como específicas para mucinas da mucosa gástrica, bem como a presença de células endócrinas positivas pela coloração de Grimelius ^{6,68,69}.

Estudos imunoistoquímicos com produção de anticorpos purificados demonstram a presença de epítomos antigênicos comuns entre os tecidos da mucosa gástrica e de cistoadenomas de ovário ¹¹² classificados como de fenótipo endocervical, com a positividade para marcadores que são frequentemente expressos na mucosa gástrica tipo pilórico, como a Catepsina E e o Pepsinogênio II ⁶.

Entretanto, estes marcadores gástricos não são expressos na mucosa endocervical normal ⁶, e também é demonstrado que marcadores comumente positivos na mucosa endocervical normal não são expressos nos cistoadenomas mucinosos de ovário, ressaltando uma evidente diferença de imunofenótipo presente entre os epitélios da mucosa endocervical normal e de cistoadenomas mucinosos de padrão endocervical ¹⁰⁷. Interessantemente, o marcador Pepsinogênio II, específico para mucosa gástrica tipo pilórico, é significativamente mais comum em tumores benignos e borderline que em tumores malignos, enquanto que marcadores de diferenciação intestinal, como o CAR-5, um antígeno semelhante à mucina expresso pelo epitélio coloretal, e o M3SI, uma mucina expressa principalmente por células caliciformes do

intestino delgado, são mais expressos em tumores malignos⁶. Assim como em nosso estudo, indiretamente estes achados também indicam que os tumores mucinosos de padrão pilórico apresentam tendência a serem mais benignos que os tumores de fenótipo intestinal puro.

Concordamos com os poucos autores que levantam a possibilidade de uma classificação errônea entre o padrão pilórico e endocervical no exame histológico convencional^{8,35,69}, visto que os tumores mucinosos ovarianos benignos e borderline apresentam células colunares contendo abundante mucina citoplasmática, ocasionalmente formando estruturas glandulares, porém estas células apresentam citoplasma mais claro que as células endocervicais normais do colo uterino, as quais apresentam um citoplasma menos abundante e mais eosinófilico⁶⁹. Estudos de microscopia eletrônica também revelam padrões ultra-estruturais de diferenciação gástrica pilórico e foveolar em áreas previamente caracterizado na microscopia óptica como de padrão morfológico de tipo endocervical, bem como suas semelhanças e diferenças com o epitélio endocervical normal^{6,67,113}.

Assim parece claro que os tumores mucinosos definidos como de padrão endocervical puro apresentam na realidade uma heterogeneidade de diferenciação gástrica foveolar e pilórica, que não tem sido reconhecido no exame histológico convencional. Ressaltamos a importância do diagnóstico diferencial dos diferentes padrões gástrico, intestinal e endocervical

(seromucinoso) puros, visto que os tumores mucinosos de padrão gastrointestinal e seromucinosos apresentam características clinico-patológicas distintas, sendo que os tumores seromucinosos dividem características semelhantes aos tumores serosos ovarianos ⁸, tendo assim implicações prognósticas distintas.

Outro importante obstáculo encontrado no estudo dos tumores mucinosos do ovário foi quanto à classificação dos diferentes potenciais de malignidade presentes nos tumores de padrão gastrointestinal, por vezes evidenciando um amplo espectro de alterações proliferativas em uma mesma neoplasia, principalmente nas categorias *borderline* e maligno, não desconsiderando também o difícil diagnóstico diferencial de possíveis tumores metastáticos. Observamos que os tumores *borderline* apresentam-se preferencialmente com fenótipo gastrointestinal (85,7%) e com estágio I em 71,4% dos casos. O tumor mucinoso *borderline* é considerado como uma categoria intermediária na carcinogênese dos tumores mucinosos, que progridem do cistoadenoma e tumor *borderline* para tumor *borderline* com carcinoma intra-epitelial e carcinoma microinvasivo, e finalmente carcinoma invasivo, representando assim etapas seqüenciais de transformação maligna ^{3,9,110}. Esta hipótese é sustentada também por estudos com biologia molecular avaliando mutações do gene *K-ras*, comuns nos tumores mucinosos do ovário, sendo provavelmente um evento precoce na sua carcinogênese, mas ausentes nos tumores

mucinosos de padrão mülleriano e nos demais tumores não mucinosos da superfície epitelial ovariana ^{22,23,24,25}.

A análise da média das idades das pacientes nos diferentes potenciais de malignidade em nosso estudo mostra que as pacientes com tumores mucinosos benignos são mais jovens que pacientes com tumores mucinosos *borderline* ($p=0,02$) e malignos ($p=0,01$), com uma tendência de apresentarem idade menor que 45 anos. Assim, as diferenças de idade entre os diferentes grupos de potenciais de malignidade presentes nos tumores mucinosos favorecem a hipótese de progressão tumoral com a evolução de neoplasia benigna até neoplasia maligna, como também observada em casos de lesões benignas pré-existentes como a seqüência benigno-maligno observada na endometriose e no carcinoma endometrióide, com uma diferença de idade entre os dois pólos de 10-15 anos ^{9,16,17}. A descrição de dados cumulativos da literatura demonstrou que a média de idade em 795 mulheres com tumores mucinosos benignos foi de 42,6 anos, de 417 mulheres com tumores mucinosos *borderline* foi de 46,8 anos, e de 690 mulheres com carcinomas mucinosos foi de 52,8 anos ^{9,114}.

Antes da introdução do tumor *borderline* como categoria diagnóstica entre os tumores mucinosos, cerca de 50% a 72% dos tumores eram erroneamente considerados como carcinomas mucinosos bem diferenciados ^{53,115}. E mesmo com os avanços na compreensão da patogênese dos tumores mucinosos alcançados pela introdução do tumor *borderline* permanecem ainda muitas

dificuldades no seu diagnóstico diferencial com neoplasias metastáticas. Observamos claramente que os tumores mucinosos *borderline* de ovário se dicotomizam em dois grupos com comportamentos biológicos distintos. O primeiro grupo seria composto pelos tumores mucinosos *borderline* de estágio I (71,4%) e unilaterais, representando neoplasias de comportamento benigno. O segundo grupo seria representado pelos demais tumores mucinosos *borderline* de estágio avançado, freqüentemente bilaterais ou associados a PMP, sendo neoplasias de comportamento mais agressivo e provavelmente metastáticas do trato gastrointestinal. Assim considerando outros aspectos morfológicos como a freqüente diferenciação intestinal, a presença do carcinoma intra-epitelial e do carcinoma microinvasivo, bem como o reconhecimento do padrão de infiltração confluyente ou expansivo como uma etapa inicial da transformação maligna entre os tumores mucinosos *borderline* do ovário ³, afirmamos não somente que o seu diagnóstico diferencial com os tumores mucinosos metastáticos no ovário seja difícil, mas também avançamos em supor que muito provavelmente os tumores mucinosos *borderline* freqüentemente representam neoplasias secundárias com padrão de infiltração confluyente de difícil reconhecimento, principalmente quando a atipia citológica está presente ¹¹⁶.

Cerca de 7% a 17% dos tumores malignos envolvendo o ovário são metastáticos ³⁷, entre os principais sítios primários identificados destacam-se os tumores coloretais, da mama, do endométrio, do estômago, do colo uterino, do pâncreas, do apêndice cecal, e do trato biliar ^{26,27,37,39,40}. Os tumores

mucinosos metastáticos em ovário principalmente os procedentes do trato gastrointestinal podem apresentar características morfológicas que simulam tumor primário, como a co-existência de áreas de aspecto benigno, *borderline* e maligno em uma mesma neoplasia, e padrão de infiltração expansivo^{9,28,35}. Considerando que os tumores mucinosos primários são unilaterais em mais de 95% dos casos, a presença de bilateralidade favorece fortemente o diagnóstico de neoplasia metastática^{3,9,28,35}. Os tumores mucinosos *borderline* e malignos primários de ovário apresentam estágio I em cerca de 80% a 90% dos casos^{3,9,28,35}, portanto o estágio avançado além de definir um prognóstico pior também é indicativo de carcinoma metastático. Alguns estudos afirmam que os tumores mucinosos *borderline* primários de ovário são de estágio I em praticamente 100% dos casos, e os tumores *borderline* de estágio avançado, na ausência de PMP, o qual está presente em 86% dos tumores mucinosos *borderline* de estágio avançado, representam provavelmente carcinoma mucinoso metastático com sítio primário oculto. Considerando ainda o prognóstico favorável com sobrevida de cerca 98% em 5 anos nos tumores mucinosos *borderline* de estágio I, alguns autores sugerem que o tumor mucinoso *borderline* represente mais provavelmente uma neoplasia mucinosa benigna, devendo-se reconsiderar o conceito de tumor *borderline* primário de ovário^{3,31}.

Muitas outras características ajudam no diagnóstico diferencial com tumores mucinosos metastáticos no ovário. Características como tamanho

maior que 10,0 cm, padrão de invasão expansivo, padrão papilífero complexo, a co-existência de Tumor de Brenner, teratoma e nódulo mural, entre outros, favorecem tumor mucinoso primário de ovário. Por outro lado, a presença de envolvimento da superfície capsular ou do estroma cortical, o padrão de invasão infiltrativo ou nodular, envolvimento do hilo ovariano, embolia vascular, presença de células em anel de sinete e extenso PMO resultante de PMP concomitante favorecem carcinoma metastático^{3,9,28,35}. A média de idade das pacientes com carcinoma mucinoso primário é de 46 anos e das pacientes com carcinoma mucinoso metastático é de 54 anos²⁸.

Estudando características indicativas de tumor mucinoso metastático, observamos em nosso estudo 6 (9,5%) pacientes com PMP, todas com tumor mucinoso *borderline* com fenótipo intestinal, duas pacientes apresentavam tumor bilateral, as demais apresentavam tumor em ovário esquerdo e todas apresentavam estágio III. Em todos os casos o PMP era do tipo DPAM, com duas pacientes apresentando tumor mucinoso de apêndice cecal concomitante, sendo um tumor mucinoso de baixo potencial de malignidade e um carcinoma mucinoso. A média do tamanho dos tumores *borderline* associados a PMP foi de $14,85 \pm 7,8$ cm. A média de idade das 27 pacientes com tumores de fenótipo intestinal foi de $49,2 \pm 20,9$ anos, destas 11 pacientes apresentavam tumores mucinosos de tipo *borderline* com média de idade de $59,8 \pm 19,7$ anos. Analisando o subgrupo de pacientes com tumores *borderline*, as pacientes com PMP associado apresentavam média de idade ($69,8 \pm 9,4$ anos)

significativamente maior que a média das idades ($45,8 \pm 22,7$ anos) das pacientes sem PMP associado ($p=0,03$).

Assim através da observação da estreita relação entre o tumor mucinoso *borderline* de fenótipo intestinal e o PMP, concluímos que muito provavelmente os tumores *borderline*, não somente os de estágio avançado, possam representar não simplesmente neoplasias secundárias, mas que também sejam uma forma indolente de pseudomixoma localizado, onde o tumor ovariano desenvolve-se secundariamente após a incorporação do epitélio neoplásico e da mucina peritoneal no parênquima ovariano depositados na superfície cortical^{116,117}. Talvez outros fatores contribuam para a evolução da doença, desde que a média de idade das pacientes com tumores *borderline* com PMP associado é maior do que a média de idade das pacientes com tumores *borderline* sem PMP (69,8 vs. 45,8 anos), indicando que possivelmente a doença necessite de tempo para progredir e se expressar¹¹⁶.

O PMP é basicamente um termo clínico ou cirúrgico utilizado para designar a presença de depósito de abundante mucina extracelular localizada ou generalizado na cavidade peritoneal associado à fibrose e causado pela ruptura de uma neoplasia mucinosa procedente de um órgão intra-abdominal^{34,35}. O PMP é classificado histologicamente em três tipos, apresentando comportamento clínico e prognóstico diferentes, sendo o DPAM caracterizado por epitélio mucinoso adenomatoso de baixo grau apresentando pouco atipia celular, o PMCA caracterizado por epitélio atípico carcinomatoso, e o PMCA-I/D

que apresenta características intermediárias entre os dois primeiros, mas em geral tem prognóstico semelhante ao PMCA ^{32,33}. Embora o PMP seja uma condição relativamente rara, historicamente a alta prevalência de PMP e tumores ovarianos associados em mulheres fez com que durante muitos anos acreditasse na hipótese de que os tumores mucinosos de ovário fossem o sítio causador da patologia ^{31,35}. Entretanto observações clínicas posteriores indicaram que o trato gastrointestinal, principalmente o apêndice cecal, é o sítio primário da doença ^{31,34,35,117}. Estudos de biologia molecular analisando mutações do gene *K-ras* e LOH também confirmam que o apêndice cecal é o principal sítio primário da doença ^{92,93,94,95}.

A média de idade dos pacientes com PMP é de cerca de 48 anos ³², e apenas 39,1% dos pacientes com diagnóstico de PMP são mulheres, apresentando ovário comprometido em 44,1% dos casos ³¹. O seguimento de tumores mucinosos *borderline* primários de ovário, de estágio I, rotos durante o ato cirúrgico, não demonstraram o desenvolvimento de PMP em intervalos de 3 a 19 anos ^{9,53}. Os tumores mucinosos ovarianos associados a PMP são freqüentemente bilaterais ou unilaterais acometendo o ovário direito, formando neoplasia multiloculadas, medindo em média 7,0 cm, geralmente de tipo *borderline*, acompanhados de PMO extenso e com estágio avançado ^{31,35,117}. Existem raros relatos de tumores mucinosos primários de ovário associados a teratoma maduro cístico desenvolvendo PMP, sendo estes possivelmente a única exceção de PMP em mulheres com sítio primário em ovário ^{13,14,15,30,31}.

Embora a microscopia óptica seja em geral suficiente para a distinção entre os diferentes subtipos histológicos presentes nos tumores ovarianos, o principal desafio continua sendo a distinção entre os tumores primários e metastáticos de ovário, em especial entre os tumores mucinosos de ovário. Assim com o objetivo de delinear melhor as impressões obtidas com o exame microscópico utilizamos o estudo imunoistoquímico, que é uma importante ferramenta no diagnóstico diferencial de carcinoma metastático de sitio primário oculto, também nos tumores ovarianos, dando suporte aos achados morfológicos e acrescentando dados que esclarecem a patogênese da doença.

O uso de um painel imunoistoquímico adequado revela um padrão de imunofenótipo que ajuda na identificação correta do sitio primário da neoplasia, entre muitos anticorpos desenvolvidos nas últimas décadas, o padrão de expressão das citoqueratinas 7 e 20 nos carcinomas exemplificam bem a utilidade do estudo imunoistoquímico no diagnóstico diferencial dos tumores epiteliais de diferentes sítios anatômicos⁹⁶. Observamos a expressão positiva do CK7 em 76,1% dos casos, com positividade difusa em todos os tumores de fenótipo mülleriano (100%) e misto (100%). Mas também os tumores de fenótipo gastrointestinal apresentaram uma expressão positiva significativa em 80% dos casos, e mesmo entre os casos de fenótipo intestinal puro observou-se uma proporção significativa de positividade (57,1%). O CK20 apresentou expressão positiva em 41,8% dos casos, ressaltando que o padrão de positividade variou de focal a difusa, entremeada a áreas de expressão

negativa, com intensa marcação de células calciformes. E apesar do CK20 ser considerado um marcador de diferenciação intestinal, principalmente de sítio coloretal, este não demonstrou ser estatisticamente diferente entre os tumores mucinosos ovarianos de padrão pilórico e intestinal puros ($p=0,3$), o padrão pilórico apresentou expressão positiva em 3 casos (30%), com apenas 1 caso demonstrando positividade maior que 10%. O grupo de tumores de padrão intestinal puro apresentou positividade em 13 (46,4%) casos. Nenhum dos casos de fenótipo mülleriano puro apresentou expressão positiva para o CK20. Considerando o potencial de malignidade observamos que o CK20 foi mais expresso entre os tumores *borderline* (62,5%) quando comparado aos tumores benignos (17,8%) e malignos (42,8%) ($p= 0,002$).

As citoqueratinas 7 e 20 são úteis no diagnóstico diferencial entre os adenocarcinomas metastáticos do cólon e os primários de ovário, sendo que os adenocarcinomas do cólon são em sua maioria CK7-negativo e CK20-positivo, enquanto que os tumores primários de ovário não-mucinosos são CK7-positivos e CK20-negativos. Mas os tumores mucinosos primários do ovário apresentam o perfil CK7-positivo e CK20-positivo, com uma sobreposição variável da expressão desses anticorpos, limitando o uso desses marcadores para distinção entre as neoplasias metastáticas, e assim ressaltando-se as exceções presentes nos diversos sítios anatômicos ^{26,38,40}. A expressão da CK7 nos tumores mucinosos primários de ovário é em geral difusamente positiva, já a expressão da CK20 é variável, sendo negativa ou positiva, em geral com

positividade multifocal entremeado a áreas negativas ⁴⁰. A única exceção a este padrão está presente no tumor mucinoso originado em teratoma maduro cístico, quando exibe o padrão típico do trato gastrointestinal inferior, CK7-negativo e CK20-positivo ^{13,14,15,38,40}. Observamos este padrão em um caso de tumor mucinoso *borderline* de estágio IA. Embora este caso não tivesse documentação histológica de associação com teratoma maduro cístico, levantamos a rara possibilidade de origem em célula germinativa, também chamado de teratoma monodérmico. Obtivemos ainda um caso documentado de cistoadenoma mucinoso de fenótipo intestinal associado com teratoma maduro cístico localizado em ovário esquerdo, apresentando a expressão de CK7-positivo com positividade de CK20 rara em menos de 10% das células.

A avaliação do perfil das citoqueratinas 7 e 20 deve sempre ser considerada com critérios rigorosos no diagnóstico diferencial dos tumores mucinosos primários e metastáticos no ovário, visto que o perfil CK7-positivo e CK20-positivo é também expresso em grande percentagem dos tumores mucinosos primários do trato gastrointestinal superior, como o estômago, o pâncreas e de vias biliares ^{27,38,40}. Lembrando-se ainda que o perfil imunistoquímico CK7-positivo e CK-20-negativo, típico dos tumores primários de ovário, também é relatado nos tumores primários do pâncreas, das vias biliares, do estômago, bem como nos adenocarcinomas do trato genital feminino ²⁶. Por outro lado, os tumores do trato gastrointestinal inferior também podem apresentar menos freqüentemente a co-expressão CK7-positivo e

CK20-positivo, principalmente nos adenocarcinomas pouco diferenciados, do reto e do apêndice cecal^{26,37,40}.

Foi baseado nas discrepâncias e sobreposições presentes na expressão imunohistoquímica das citoqueratinas 7 e 20 que avaliamos o seu perfil coordenado entre os fenótipos puros (pilórico, intestinal e mülleriano), observamos que o padrão CK7+/CK20- foi o mais comum nos três grupos (43,9%). A co-expressão CK7+/CK20+ foi observada em 3 (30%) casos de padrão pilórico, sendo ausente no padrão mülleriano. Não observamos nenhum caso entre os padrões pilórico ou mülleriano com expressão CK7-/CK20+, o qual esteve presente em 7 (25%) casos do padrão intestinal. Analisando estes 7 casos de padrão intestinal com expressão CK7-/CK20+, 4 eram tumores *borderline* associados a PMP, 2 eram carcinomas mucinosos, e 1 caso era tumor *borderline* de estágio IA, o qual foi discutido acima.

Outros autores⁴⁰ também propuseram a avaliação do perfil coordenado desses marcadores considerando-se ainda a distribuição da marcação, embora a ênfase não fosse a avaliação fenotípica dos tumores mucinosos de ovário. O perfil coordenado de citoqueratinas 7 e 20 pode distinguir a maioria dos tumores mucinosos do ovário dos tumores metastáticos, principalmente os originados do trato gastrointestinal inferior, incluindo os adenocarcinomas coloretais e do apêndice cecal, e também os tumores mucinosos de baixo grau do apêndice cecal associados ao PMP. Para os tumores CK7-positivos observa-se uma distribuição difusamente positiva (>50% das células tumorais positivas) nos

tumores primários do ovário, do trato gastrointestinal superior e tumores endocervicais, e distribuição focal (<50% das células tumorais positivas) quando presente nos tumores coloretais e do apêndice cecal. Para os tumores CK20-positivos a distribuição varia de positividade focal nos tumores primários de ovário e do trato gastrointestinal superior, e com positividade sempre difusa nos tumores do trato gastrointestinal inferior. Entretanto havendo sobreposição de resultados nem o perfil coordenado ou a distribuição da positividade podem ajudar a distinguir os tumores mucinosos primários do ovário das metástases do trato gastrointestinal superior ⁴⁰.

Avaliamos ainda outros anticorpos que são considerados marcadores müllerianos, como o CA125, RE e RP, freqüentemente utilizados no diagnóstico diferencial de tumores primários e secundários de ovário ⁸. Em nosso estudo o CA125 foi identificado em 52,2% dos casos, sendo que todos os tumores de fenótipo mülleriano apresentaram expressão difusa, mas não obteve especificidade fenotípica, pois o grupo de tumores de padrão intestinal apresentou uma pequena proporção de casos positivos (39,3%). O CA125 é uma glicoproteína do tipo mucina, comumente apresenta níveis séricos elevados em pacientes com câncer de ovário. Em geral adenocarcinomas ovarianos de tipo seroso, endometrióide e de células claras exibem expressão positiva difusa para o CA125. Os tumores mucinosos primários de ovário são em geral negativos para o CA125, podendo apresentar positividade fraca e focal em menos da metade dos casos, assim como os adenocarcinomas do

trato gastrointestinal inferior, com relatos de positividade esparsa em 4% a 15% dos adenocarcinomas coloretais. Assim a reatividade do CA125 não é específica para tumores de ovário, podendo também ser positiva em outros sítios anatômicos como em tumores da mama, pulmão, útero, pâncreas e vias biliares^{27,35,36,37}.

Os receptores hormonais, RE e RP, foram positivos somente nos casos de fenótipo mülleriano e em 2 casos (33,3%) de padrão misto com expressão positiva rara em menos de 10% das células, sendo negativos em todos os tumores de fenótipo gastrointestinal, independente do potencial de malignidade, podendo ser indicados como possíveis marcadores de diferenciação entre o fenótipo pilórico e endocervical nos cistoadenomas mucinosos. O tecido normal e tumores originados no trato genital feminino em geral exibem reatividade imunistoquímica positiva para os anticorpos RE e RP, tendo estes marcadores valor diagnóstico, sendo úteis em diversas situações como no diagnóstico diferencial com tumores primários e metastáticos do ovário. Apesar dos tumores epiteliais ovarianos de tipo seroso, endometrióide e de células claras, serem positivos para RE e RP, estes são em geral negativos entre os tumores mucinosos primários de ovário, assim como também são negativos entre os tumores mucinosos metastáticos do trato gastrointestinal¹⁰⁰. Considerando-se a diferenciação fenotípica dos tumores mucinosos primários de ovário, os RE e RP são positivos exclusivamente entre os tumores de padrão mülleriano (seromucinoso), sendo os tumores mucinosos de padrão gastrointestinal

negativos para estes marcadores hormonais, demonstrando que estes tumores são distintos entre si, sendo os tumores mucinosos seromucinosos mais relacionados biologicamente com os tumores serosos^{8,100}.

O CA19.9, que é um marcador imunohistoquímico usualmente reativo nos adenocarcinomas pancreáticos, de vias biliares e coloretais metastáticos no ovário, sendo positivo em 85,1% dos casos estudados, apesar de não ser um marcador imunohistoquímico com especificidade, observamos que ele foi diferentemente mais expresso entre os tumores de fenótipo intestinal puro (positivo em 25 casos - 89,3%) quando comparado com os tumores de fenótipo pilórico puro (positivo em 6 casos- 60%) ($p= 0,04$). Embora os carcinomas primários de ovário sejam usualmente negativos para este marcador, os tumores mucinosos primários de ovário podem apresentar positividade focal³⁶.

Devido ao uso limitado das citoqueratinas 7 e 20, bem como pela não expressão ou a baixa especificidade dos marcadores citados anteriormente, estudamos novos anticorpos que surgiram nos últimos anos como potenciais marcadores a serem utilizados no diagnóstico diferencial dos tumores mucinosos ovarianos primários e secundários. Entre outros, escolhemos as mucinas MUC1, MUC2, MUC5AC e MUC6, que ganharam destaque na literatura, principalmente na patologia do trato gastrointestinal e também do trato genital feminino, especialmente nos tumores de ovário.

Estando catalogadas no *Human Genome Organization Gene Nomenclature Committee* desde 1990⁴², as mucinas são glicoproteínas

filamentosas e de alto peso molecular sintetizadas por tecidos epiteliais como proteínas de membrana ou proteínas que são secretadas para o ambiente extracelular, estando presentes na interface de órgãos luminares como os do trato digestivo, respiratório e urogenital, formando camadas de muco ^{42,105,118}. As mucinas apresentam como função principal à mediação de interações entre as células e seus micro-ambientes extracelulares, fazendo parte do mecanismo de patogênese de doenças inflamatórias, infecciosas, bem como no câncer e sua metástase ⁴². As mucinas podem estar envolvidas em muitos estágios da carcinogênese e dos processos de metástase, incluindo o crescimento celular, motilidade durante a invasão, interações com o sistema imunológico mascarando epítomos antigênicos, inibindo a ação de linfócitos e leucócitos, além da aderência celular ao endotélio e matriz extracelular ¹⁰³.

Observamos a expressão do MUC1 em 65,7% dos casos estudados, e comparando-se o grupo de tumores com componente mülleriano (mülleriano puro e misto) com os demais tumores (pilórico puro, intestinal puro e gastrointestinal) o MUC1 foi mais freqüente nos primeiros (9 casos, 100% vs. 35 casos, 60%) ($p= 0,02$). Comparando a expressão do MUC1 nos diferentes potenciais de malignidade percebemos uma tendência dos tumores malignos a terem a maior proporção de casos positivos (71,4%) quando comparado aos tumores benignos (64,3%) e *borderline* (65,6%), sugerindo que esta mucina tenha um papel ativo na carcinogênese dos tumores mucinosos de ovário, estando mais expresso nos estágios avançados da progressão tumoral.

O MUC1 foi a primeira mucina humana descrita, isolada no tecido glandular mamário, sendo provavelmente a mucina mais amplamente distribuída nos tecidos humanos, estando presente no epitélio brônquico, pancreático, prostático, endocervical, endometrial, gástrico, de vias biliares e também no epitélio intestinal ^{44,118}. Este marcador também tem sido descrito entre os tumores epiteliais de ovário, de tipo histológico seroso, de células claras, endometrióide e também nos tumores mucinosos ⁴³. O MUC1 está freqüentemente associado a carcinomas ovarianos quando comparado aos tumores benignos, com uma expressão positiva significativamente maior entre os carcinomas de alto grau histológico e de estágio avançado, sugerindo que esta mucina tem um potencial papel prognóstico entre os carcinomas ovarianos ^{43,107,108}. Sendo uma proteína de membrana o MUC1 participa de várias funções celulares, podendo ser fosforilada nos resíduos de serina ou treonina e como conseqüência ligar-se a mensageiros secundários intracitoplasmáticos, como o Grb2, participando assim da via de transdução de sinais celular, no processo de oncogênese, e influenciando na habilidade metastática da célula tumoral ^{43,119,120}.

Em nosso estudo o MUC2 foi positivo em 47,8% dos casos, sendo positivo em apenas 1 (10%) caso entre tumores de padrão pilórico e com os tumores de padrão intestinal puro apresentando a maior proporção de casos positivos (64,3%), assim o MUC2 demonstrou ser um marcador de diferenciação intestinal ($p=0,003$), separando fenotipicamente os tumores mucinosos

ovarianos de padrão pilórico dos tumores de padrão intestinal. O MUC2 está predominantemente expresso no epitélio dos intestinos delgado e grosso, principalmente nas células caliciformes, também expresso nos tumores do trato gastrointestinal, principalmente de sítio coloretal, sendo considerada uma mucina de diferenciação intestinal^{43,105,118}.

Comparando a expressão do MUC2 nos diferentes potenciais de malignidade observamos que os tumores *borderline* (65,6%) e malignos (85,7%) tiveram a maior proporção de casos positivos. Analisando os marcadores imunoistoquímicos estudados no grupo de tumores de padrão intestinal puro, observamos que os marcadores CK20 ($p=0,01$) e MUC2 ($p=0,02$) foram diferentemente mais expressos nos tumores associados com PMP. Considerando que todos os casos de tumores mucinosos de padrão intestinal que apresentavam PMP associado eram de tipo *borderline*, a análise desse subgrupo demonstrou que o CK20 ($p=0,0006$) e o MUC2 ($p=0,0005$) está intimamente relacionado aos tumores *borderline* comparado aos demais tumores benignos e malignos também de fenótipo intestinal. Esta diferença de expressão desses marcadores imunoistoquímicos, CK20 ($p=0,01$) e MUC2 ($p=0,01$), permanece mesmo quando comparamos somente os tumores *borderline* sem PMP com os demais tumores benignos e malignos também de fenótipo intestinal. Embora o MUC5AC e o CA19.9 tenham apresentado uma expressão positiva em 100% dos casos com PMP, também apresentaram uma expressão significativa entre os demais tumores de padrão intestinal sem PMP (ambos-

85,7%). Analisando o perfil coordenado CK7/CK20 nos tumores *borderline* e nos tumores nos outros potenciais de malignidade, observamos que o perfil coordenado CK7-/CK20+ (p=0,006) são mais expressos nos tumores *borderline*.

O MUC2 e o MUC5AC são as mucinas mais relatadas no diagnóstico diferencial entre os estudos de tumores mucinosos ovarianos primários e metastáticos. O MUC5AC é expresso na mucosa gástrica foveolar, como também no epitélio glandular endocervical e traqueobrônquico, e nos tumores do apêndice cecal e pancreáticos, sendo usualmente negativo nos tumores do cólon, reto e ânus ^{105,106}. O MUC6 é expresso principalmente no epitélio glandular gástrico, estando também presente no epitélio glandular basal do endométrio e na vesícula biliar ^{43,44,105}. O MUC2, MUC5AC e o MUC6 são mucinas de secreção com propriedade fisicoquímica de formar gel, sendo que o MUC5AC e o MUC6 são consideradas como as principais mucinas gástricas ¹⁰⁵.

O MUC2 apresenta positividade variável em cerca de 70% dos carcinomas mucinosos primários do ovário e em todos os tumores mucinosos *borderline* de padrão intestinal, mas é em geral negativo nos tumores mucinosos de padrão mülleriano, bem como nos demais tumores epiteliais ovarianos, como os tumores serosos, endometrióides e de células claras ^{35,43,46,107,108}. O MUC5AC está presente nos tumores mucinosos de ovário, tanto os de padrão gastrointestinal como nos de padrão mülleriano, mas é

tipicamente ausente nos carcinomas coloretais, sendo um marcador imunohistoquímico útil no diagnóstico diferencial dos tumores mucinosos coloretais metastáticos em ovário, mas não ajuda a distinguir os carcinomas metastáticos da endocérvice, do pâncreas e do apêndice cecal^{37,38,46}.

Entretanto, o MUC2 não é simplesmente uma mucina de diferenciação intestinal, mas apresenta um papel exclusivo na patogênese do PMP, que é uma doença de origem intestinal, principalmente uma doença de células calciformes que expressam o MUC2. O mecanismo de expressão do MUC2 no PMP é mais provavelmente epigenético estando relacionado ao aumento do número de células calciformes expressando e secretando esta mucina, e não pelo mecanismo genético de rearranjo ou amplificação gênica. A expressão do MUC2 como também do MUC5AC, através de técnica de hibridização *in situ*, também é independente do grau de transformação maligna presente nas diferentes subcategorias da classificação histológica do PMP. Assim o MUC2 não é somente um marcador molecular diagnóstico de PMP, mas também um marcador real que pode ser alvo de tratamento terapêutico através do desenvolvimento de agentes inibidores da transcrição do gene do MUC2⁴⁷.

Assim em nosso estudo observamos que os tumores mucinosos de ovário formam um grupo heterogêneo com patogênese pouco compreendida, principalmente pela percepção errônea dos padrões fenotípicos, especialmente entre os fenótipos pilórico e endocervical, bem como também pelo diferentes potenciais de malignidade, destacando-se aqui os tumores *borderline*. Os

tumores *borderline* apresentam preferencialmente diferenciação gastrointestinal (85,7%), e dicotomizam em dois grupos prognósticos diferentes, o primeiro de comportamento benigno e de estágio I (71,4%), e o segundo de comportamento agressivo e estágio avançado, que podem estar freqüentemente associados com PMP. Os tumores mucinosos *borderline* apresentam expressão imunohistoquímica diferente dos demais tumores mucinosos de padrão intestinal, quanto aos marcadores CK20, MUC2 e o perfil coordenado CK7-/CK20+, e provavelmente representem mais freqüentemente um tumor secundário ou uma variante menos agressiva de PMP, como sugerido por outros autores na literatura^{31,116}.

CONCLUSÕES

7- CONCLUSÕES

1. Os tumores mucinosos do ovário se apresentam mais freqüentemente com fenótipo gástrico e/ou intestinal (84,6%), seguido do fenótipo misto (gastrointestinal e mülleriano) (9,7%) e, mais raramente, do fenótipo mülleriano puro (5,5%).
2. As formas malignas são mais raras (12,5%) do que os tumores *borderline* (48,6%) e benignos (38,9%).
3. As pacientes com tumores benignos são mais jovens do que as pacientes com tumores *borderline* e malignos, observando-se uma tendência das pacientes com tumores benignos apresentarem idade menor que 45 anos (60,7%), e as pacientes com tumores *borderline* e malignos apresentarem idade superior a 45 anos (60,7% e 71,4%, respectivamente).
4. Os tumores de padrão pilórico são mais freqüentemente benignos (72,7%) quando comparados com os tumores de padrão intestinal (43,3%), embora entre os tumores benignos, a maioria é de fenótipo intestinal ou gastrointestinal.
5. Todos os tumores benignos foram unilaterais. A bilateralidade foi rara entre todos os tumores (14,3%), a maioria dos casos correspondentes a tumores *borderline* (7 dos 9 casos) e dois terços deles com fenótipos intestinal puro ou gastrointestinal.

6. A média do tamanho de todos os tumores foi de $16,16 \pm 8,34$ cm e não houve diferença estatística entre o tamanho dos tumores nos diferentes potenciais de malignidade ou quanto à lateralidade
7. Entre os genes produtores de mucina, MUC2 demonstrou ser um marcador de diferenciação intestinal, enquanto que o MUC1 foi um marcador de diferenciação mülleriana. O MUC5AC foi o marcador mais freqüentemente expresso em todos os tumores (92,5%), sem diferenças significativas entre os tipos e potencial de malignidade.
8. A expressão isolada de CK7 ou CK20 não foi estatisticamente diferente entre os diferentes fenótipos ou potenciais de malignidade. Na análise do perfil coordenado CK7/CK20 nos tumores com fenótipos puro, pilórico, intestinal ou mulleriano a expressão CK7+/CK20- foi a mais comum (43,9%).
9. O marcador CA125 não se mostrou específico na diferenciação dos subtipos histológicos. O CA19.9 foi o segundo marcador mais freqüentemente expresso entre todos os tumores (85,1%) e teve a menor expressão entre os tumores de fenótipo pilórico puro (60%)
10. Os receptores de estrogênio e progesterona foram expressos apenas nos tumores de fenótipo mülleriano.
11. Os tumores com fenótipo pilórico puro comparados aos intestinais puros se apresentam mais freqüentemente na forma benigna e diferem quanto ao

perfil imunohistoquímico, sobretudo em relação ao MUC2 (p= 0,003) e CA19.9 (p= 0,04).

12. Todos os tumores ovarianos associados a PMP foram de fenótipo intestinal com morfologia *borderline*, e diferem dos demais tumores de padrão intestinal quanto à expressão de MUC2 (p= 0,02) e CK20 (p= 0,01).

13. Todos os tumores *borderline* de tipo intestinal mostram perfil imunohistoquímico indicativo de PMP, independente da presença deste, com a diferença que o PMP ocorre em faixa etária mais tardia. As diferenças do perfil indicativo de PMP entre os tumores de tipo intestinal puros (MUC2 e CK20) se mantêm comparando-se os tumores *borderline* sem PMP com demais tumores intestinais puros sem PMP, sugerindo que os tumores *borderline* possam representar uma variante menos agressiva ou inicial de PMP.

ANEXOS

ANEXO A - Cadastro com dados anatomo-patológicos

nº do caso	nº da paciente	Idade	Ovário	Tamanho (cm)	Diagnóstico	Estadiamento patológico	Fenótipo	Apendicectomia	Diagnóstico da apendicectomia	Pseudomixoma	Endometriose	Outros tumores associados
1	1	33	NI	20	2	IA	1	NR		não	I	não
2	2	27	E	7	2	IB	3	NR		não	I	não
3	2	29	D	18	2	IB	3	NR		não	I	não
4	3	60	E	8	4	IA	5	NR		não	I	não
5	4	48	E	22	2	IA	3	NR		não	I	não
8	6	21	D	11	1	NA	2	NR		não	I	não
9	7	70	E	8	1	NA	3	NR		não	I	sim (Tumor de Brenner)
10	8	37	D	11	1	NA	2	NR		não	I	não
11	9	41	NI	19	5	IIIC	4	NR		não	sim	sim (ca de cels. Claras-peritonio)
12	10	54	D	21	4	IC	3	NR		não	I	sim (nódulo mural c/ carcinoma anaplásico)
13	11	49	E	4	1	NA	1	NR		não	I	não
14	12	28	D	15	2	IA	3	NR		não	I	não
15	13	30	E	33	1	NA	2	NR		não	I	sim (teratoma maduro cístico)
16	14	29	E	26	1	NA	1	NR		não	I	não
17	15	38	D	27	2	IA	3	NR		não	I	Não

Vide legenda em apêndice

Cadastro com dados anatomo-patológicos

nº do caso	nº da paciente	Idade	Ovário	Tamanho (cm)	Diagnóstico	Estadiamento patológico	Fenótipo	Apendicectomia	Diagnóstico da apendicectomia	Pseudomixoma	Endometriose	Outros tumores associados
18	16	58	D	9	1	NA	2	NR		não	I	não
19	17	81	E	14	2	IIB	2	NR		sim	I	não
20	18	19	D	10	2	IA	2	NR		não	I	não
21	19	13	E	13	1	NA	2	NR		não	I	não
22	20	29	E	6	1	NA	1	NR		não	sim	não
23	21	70	D	25	2	IIIA	1	NR		não	I	não
24	21	70	E	22	2	IIIA	1	NR		não	I	não
25	22	20	E	12	1	NA	2	NR		não	I	não
26	23	31	NI	21	1	NA	2	NR		não	I	não
27	24	72	D	18	2	IA	2	NR		não	I	não
28	25	35	D	8	2	IB	5	NR		não	I	não
29	25	35	E	8	2	IB	5	NR		não	I	não
30	26	35	E	30	2	IA	5	NR		não	I	não
31	27	66	D	24	2	IA	3	NR		não	I	não
32	28	14	E	25	1	NA	3	NR		não	I	não
33	29	30	D	6	1	NA	5	NR		não	I	não
34	30	25	E	28	2	IA	2	NR		não	I	não
35	31	58	E	16	2	IIIA	2	NR		sim	I	não
36	32	18	E	9	2	IB	3	livre	ausência de neoplasia	não	I	não
37	32	18	D	33	2	IB	3	livre	ausência de neoplasia	não	I	não
38	33	80	E	2	1	NA	1	NR		não	I	sim (adenocarcinoma de retossigmóide)

Cadastro com dados anatomo-patológicos

nº do caso	nº da paciente	Idade	Ovário	Tamanho (cm)	Diagnóstico	Estadiamento patológico	Fenótipo	Apendicectomia	Diagnóstico da apendicectomia	Pseudomixoma	Endometriose	Outros tumores associados
39	34	74	D	13	1	NA	3	NR		não	I	não
40	35	63	NI	39	2	IIA	3	NR		não	I	não
41	36	74	NI	15	2	IA	3	NR		não	I	não
43	38	20	E	17	1	NA	3	NR		não	I	não
44	39	45	D	12	4	IIIC	2	NR		não	I	não
45	39	45	E	12	4	IIIC	2	NR		não	I	não
46	40	68	D	27	2	IB	3	NR		não	I	sim (tu de Brenner a direita)
47	40	68	E	4	2	IB	3	NR		não	I	sim (tu de Brenner a direita)
48	41	73	D	10	2	IIIC	2	NR		sim	I	não
49	41	73	E	6	2	IIIC	2	NR		sim	I	não
50	42	36	NI	13	2	IA	5	livre	ausência de neoplasia	não	I	não
51	43	42	E	20	2	IA	3	NR		não	I	não
52	44	67	D	19	1	NA	1	NR		não	I	não
53	45	56	D	21	3	IC	2	NR		não	I	não
54	46	53	D	9	4	IC	2	NR		não	I	não
55	47	74	D	18	4	IA	2	NR		não	I	não
56	48	35	D	32	1	NA	2	NR		não	I	não
57	49	50	E	22	1	NA	3	NR		não	I	não
58	50	51	D	16	1	NA	1	NR		não	I	não
59	51	25	E	18	1	NA	1	NR		não	I	não

Cadastro com dados anatomo-patológicos

n° do caso	n° da paciente	Idade	Ovário	Tamanho (cm)	Diagnóstico	Estadiamento patológico	Fenótipo	Apendicectomia	Diagnóstico da apendicectomia	Pseudomixoma	Endometriose	Outros tumores associados
60	52	56	D	6	2	IIIC	2	NR		sim	I	não
61	52	56	E	10	2	IIIC	2	NR		sim	I	não
62	53	79	NI	21	2	IA	3	NR		não	I	não
63	54	30	D	22	1	NA	2	NR		não	I	não
64	55	22	E	8	1	NA	5	NR		não	I	não
65	56	72	E	18	1	NA	2	NR		não	I	sim (Tumor de Brenner)
66	57	51	D	10	1	NA	2	NR		não	I	não
67	58	62	E	6	1	NA	2	NR		não	sim	não
68	59	29	E	8	1	NA	2	NR		não	I	não
69	60	57	D	26	2	IA	2	NR		não	I	não
70	61	71	E	9	2	NA	2	com tumor	tumor mucinoso borderline	sim	I	sim (carcinoma ductal com diferenciação mucinosa)
71	62	53	D	9	4	IIIB	4	NR		não	I	sim (adenocarcinoma mucinoso GI em endométrio)
72	62	53	E	22	4	IIIB	4	NR		não	I	
73	63	77	NI	7	2	NA	2	com tumor	Cistoadenocarcinoma mucinoso papífero	sim	I	não
74	64	21	NI	28	1	NA	1	NR		não	I	não
75	65	61	E	22	2	IA	4	NR		não	I	não

ANEXO B - Cadastro com resultados do estudo imunoistoquímico

n° do caso	n° da paciente	Diagnóstico	Fenótipo	MUC1	MUC2	MUC5AC	MUC6	CK7	CK20	RE	RP	CA125	CA19-9
1	1	2	1	1	1	4	1	4	2	1	1	1	4
2	2	2	3	3	1	4	2	4	1	1	1	1	4
3	2	2	3	4	2	4	1	4	1	1	1	1	4
4	3	4	5	4	2	4	2	4	1	1	1	1	4
5	4	2	3	2	1	4	2	2	1	1	1	1	1
8	6	1	2	4	3	4	1	2	1	1	1	1	4
9	7	1	3	2	1	4	1	3	3	1	1	1	4
10	8	1	2	1	1	4	4	4	1	1	1	1	4
11	9	5	4	4	3	4	2	4	1	1	4	4	4
12	10	4	3	4	4	4	1	4	4	1	1	3	4
13	11	1	1	1	2	4	4	4	1	1	1	1	4
14	12	2	3	4	1	4	3	1	1	1	1	4	2
15	13	1	2	3	2	4	4	4	2	1	1	4	4
16	14	1	1	1	1	4	1	3	1	1	1	1	1
17	15	2	3	4	3	4	3	4	4	1	1	4	4
18	16	1	2	2	1	4	3	4	1	1	1	1	4
19	17	2	2	1	4	4	1	1	4	1	1	1	4

Vide legenda em apêndice

Cadastro com resultados do estudo imunoistoquímico

nº do caso	nº da paciente	Diagnóstico	Fenótipo	MUC1	MUC2	MUC5AC	MUC6	CK7	CK20	RE	RP	CA125	CA19-9
20	18	2	2	1	2	4	1	3	1	1	1	1	4
21	19	1	2	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1
22	20	1	1	4	1	4	3	4	3	1	1	4	4
23	21	2	1	1	1	4	4	4	1	1	1	4	1
24	21	2	1										
25	22	1	2	4	1	4	1	2	1	1	1	1	3
26	23	1	2	4	2	3	4	1	1	1	1	3	4
27	24	2	2	1	2	1	1	1	4	1	1	1	1
28	25	2	5	3	1	4	2	3	1	1	1	1	4
29	25	2	5										
30	26	2	5	3	2	4	2	4	3	1	1	2	3
31	27	2	3	3	1	4	3	4	2	1	1	3	4
32	28	1	3	2	1	4	3	3	1	1	1	1	4
33	29	1	5	4	1	3	1	4	1	1	1	2	4
34	30	2	2	2	3	4	1	4	2	1	1	3	3
35	31	2	2	1	4	4	1	1	4	1	1	1	4
36	32	2	3	1	1	4	1	3	1	1	1	4	1
37	32	2	3	4	1	4	1	4	3	1	1	4	4
38	33	1	1	4	1	4	1	1	1	1	1	4	1

Cadastro com resultados do estudo imunoistoquímico

nº do caso	nº da paciente	Diagnóstico	Fenótipo	MUC1	MUC2	MUC5AC	MUC6	CK7	CK20	RE	RP	CA125	CA19-9
39	34	1	3	3	2	4	2	4	2	1	1	4	4
40	35	2	3	4	2	4	4	4	3	1	1	4	4
41	36	2	3	3	2	4	3	4	1	1	1	4	3
43	38	1	3	3	1	4	4	4	1	1	1	3	4
44	39	4	2	1	4	1	1	1	4	1	1	1	3
45	39	4	2										
46	40	2	3	1	2	4	3	3	3	1	1	4	3
47	40	2	3	3	3	4	2	4	4	1	1	4	3
48	41	2	2	1	4	4	2	1	4	1	1	4	3
49	41	2	2	1	4	3	1	3	3	1	1	1	4
50	42	2	5	4	2	4	1	4	1	1	2	4	4
51	43	2	3	3	1	4	1	2	3	1	1	1	4
52	44	1	1	3	1	4	1	1	1	1	1	4	1
53	45	3	2	4	3	4	1	3	2	1	1	1	3
54	46	4	2	1	3	1	1	1	4	1	1	2	1
55	47	4	2	4	2	4	4	4	1	1	1	4	4
56	48	1	2	1	1	3	2	1	1	1	1	1	4
57	49	1	3	3	1	3	3	1	1	1	1	1	4
58	50	1	1	1	1	4	1	3	1	1	1	1	4

Cadastro com resultados do estudo imunoistoquímico

nº do caso	nº da paciente	Diagnóstico	Fenótipo	MUC1	MUC2	MUC5AC	MUC6	CK7	CK20	RE	RP	CA125	CA19-9
59	51	1	1	4	1	4	2	3	1	1	1	4	4
60	52	2	2	4	4	4	1	3	1	1	1	1	4
61	52	2	2										
62	53	2	3	3	3	4	3	4	3	1	1	4	1
63	54	1	2	3	1	4	3	1	1	1	1	3	4
64	55	1	5	4	1	4	3	3	1	1	2	1	3
65	56	1	2	1	1	2	4	1	1	1	1	1	2
66	57	1	2	1	1	4	1	4	1	1	1	4	3
67	58	1	2	1	1	4	1	3	1	1	1	3	4
68	59	1	2	1	1	3	1	3	1	1	1	4	4
69	60	2	2	4	2	4	2	4	3	1	1	4	4
70	61	2	2	1	4	4	1	1	4	1	1	1	4
71	62	4	4	4	1	1	3	3	1	4	4	4	4
72	62	4	4										
73	63	2	2	2	4	4	3	2	3	1	1	1	3
74	64	1	1	3	1	4	4	3	2	1	1	1	4
75	65	2	4	4	1	1	1	4	1	4	4	4	2

REFERÊNCIAS

11- REFERÊNCIAS

- 1- Pickel H, Tamussino K. History of Gynecological Pathology. XIV. Hermann Johannes Pfannenstiel. *Int J Gynecol Pathol.* 2003;22:310-4.
- 2- Tavassoli FA, Devilee P. eds. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press, 2003.
- 3- Riopel MA, Ronnett BM, Kurman RJ. Evaluation of diagnostic criteria and behavior of ovarian intestinal-type mucinous tumors: atypical proliferative (borderline) tumors and intraepithelial, microinvasive, invasive, and metastatic carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 1999;23(6):617-35.
- 4- Seidman JD, Russell P, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, ed. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract* 2002. New York: Springer-Verlag, 2002:844.
- 5- Scully RE, Young RH, Clement PB. Tumours of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube, and broad ligament. In: Rosai J. ed. *Atlas of Tumors Pathology.* Third Series, Fascicle 23. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1998.
- 6- Tenti P, Aguzzi A, Riva C, Usellini L, Zappatore R, Bara J, Samloff IM, Solcia E. Ovarian mucinous tumors frequently express markers of gastric, intestinal, and pancreaticobiliary epithelial cells. *Cancer.* 1992;69:2131-42.
- 7- Aguirre P, Scully RE, Dayal Y, DeLellis RA. Mucinous tumors of the ovary with argyrophil cells. *Am J Surg Pathol.* 1984;8:345-56.

- 8- Vang R, Gown AM, Barry TS, Wheeler DT, Ronnett BM. Ovarian Atypical Proliferative (borderline) Mucinous Tumors: Gastrointestinal and Seromucinous (endocervical-like) Types are Immunophenotypically Distinctive. *Int J Gynecol Pathol.* 2006;25(1):83-9.
- 9- Lee KR, Scully RE. Mucinous tumors of ovary: a clinicopathologic study of 196 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas, including an evaluation of 11 cases with "pseudomyxoma peritonei". *Am J Surg Pathol.* 2000;24:1447-64.
- 10- Beck RP, Latour JP. A review of 1019 benign ovarian neoplasms. *Obstet Gynecol.* 1960;16:479-82.
- 11- Russel P. The pathological assessment of ovarian neoplasms. 1: Introduction to the common epithelial tumours and analysis of benign epithelial tumours. *Pathology.* 1979;11:5-26.
- 12- Linder D, McCaw BK, Hecht F. Parthenogenic origin of benign ovarian teratomas. *N Engl J Med.* 1975;292:63-66.
- 13- Ronnett BM, Seidman JD. Mucinous tumors arising in ovarian mature cystic teratomas: Relationship to the clinical syndrome of pseudomyxoma peritonei. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:650-7.
- 14- Pranesh N, Menasce LP, Wilson MS, O'Dwyer ST. Pseudomyxoma peritonei: Unusual origin from an ovarian mature cystic teratoma. *J Clin Pathol.* 2005;58:1115-7.

- 15- Marquette S, Amant F, Vergote I, Moerman P. Pseudomyxoma peritonei associated with a mucinous ovarian tumor arising from a mature cystic teratoma. A case report. *Int J Gynecol Pathol.* 2006;25:340-3.
- 16- Feeley KM, Wells M. Precursor lesions of ovarian epithelial malignancy. *Histopathology.* 2001;38:87-95.
- 17- Scully RE. Early de novo ovarian cancer developing in benign ovarian lesions. *Int J Gynecol Obstet.* 1995;49:S9-S15.
- 18- Rutgers JL, Scully RE. Ovarian mixed-epithelial papillary cystadenomas of borderline malignancy of mullerian type: A clinical analysis. *Cancer.* 1988;61:546-54.
- 19- Rutgers JL, Scully RE. Ovarian mullerian mucinous papillary cystadenomas of borderline malignancy: A clinicopathologic analysis. *Cancer.* 1988;61:340-8.
- 20- Russell P, Farnsworth A. Mucinous tumours. In: *Surgical Pathology of the Ovaries.* New York: Churchill Livingstone. 1997:273.
- 21- Dubé V, Roy M, Plante M, Renaud MC, Tetu B. Mucinous ovarian tumors of mullerian-type: An análisis of 17 cases including bordeling tumors and intraepithelial, microinvasive, and invasive carcinomas. *Int J Gynecol Pathol.* 2005;24:138-46.
- 22- Mandai M, Konishi I, Kuroda H, Komatsu T, Yamamoto S, Nanbu K, Matsushita K, Fukumoto M, Yamabe H, Mori T. Heterogeneous distribution of K-ras mutated epithelia in mucinous ovarian tumors with special reference to histopathology. *Hum Pathol.* 1998;29:34-40.

- 23- Cuatrecasas M, Villanueva A, Matias-Guiu X, Prat J. K-ras mutations in mucinous ovarian tumors: A clinicopathologic and molecular study of 95 cases. *Cancer*. 1997;79(8):1581-6.
- 24- Cuatrecasas M, Erill N, Musulen E, Costa I, Matias-Guiu X, Prat J. K-ras mutations in nonmucinous ovarian epithelial tumors: A molecular analysis and clinicopathologic study of 144 patients. *Cancer*. 1998;82(6):1088-95.
- 25- Garrett AP, Lee KR, Colitti CR, Muto MG, Berkowitz RS, Mok SC. K-ras mutation may be an early event in mucinous ovarian tumorigenesis. *Int J Gynecol Pathol*. 2001;20:244-51.
- 26- McCluggage WG, Wilkinson N. Metastatic neoplasms involving the ovary: a review with an emphasis on morphological and immunohistochemical features. *Histopathology*. 2005;47:231-47.
- 27- Vang R, Ronnett BM. Distinction of primary ovarian mucinous tumors and mucinous tumors metastatic to the ovary: A practical approach with guidelines for prediction of primary site for metastases of uncertain origin. *Pathol Case Reviews*. 2006;11:18-30.
- 28- Lee KR, Young RH. The distinction between primary and metastatic mucinous carcinomas in the ovary. Gross and histologic findings in 50 cases. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:281-92.
- 29- Seidman JD, Kurman RJ, Ronnett BM. Primary and metastatic mucinous adenocarcinomas in the ovaries: incident in routine practice with a new approach to improve intraoperative diagnosis. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:985-93.

- 30- Hopkins ML, Depetrillo AD, Le T, Fung MF. Pseudomyxoma peritonei: a case series and review of the literature. *Int J Gynecol Cancer*. 2005;15:32-6.
- 31- Ronnett BM, Kurman RJ, Zahn CM, Shmookler BM, Jablonski KA, Kass ME, Sugarbaker PH. Pseudomyxoma peritonei in women: a clinicopathologic analysis of 30 cases with emphasis on site of origin, prognosis, and relationship to ovarian mucinous tumors of low malignant potential. *Hum Pathol*. 1995;26(5):509-24.
- 32- Ronnett BM, Zahn CM, Kurman RJ, Kass ME, Sugarbaker PH, Shmookler BM. Disseminated Peritoneal adenomucinosis and peritoneal mucinous carcinomatosis: A clinicopathologic analysis of 109 cases with emphasis on distinguishing pathologic features, site of origin, prognosis, and relationship to "Pseudomyxoma peritonei". *Am J Surg Pathol*. 1995;19(12):1390-408.
- 33- Ronnett BM, Yan H, Kurman RJ, Shmookler BM, Wu L, Sugarbaker PH. Patients with pseudomyxoma peritonei associated with disseminated peritoneal adenomucinosis have a significantly more favorable prognosis than patients with peritoneal mucinous carcinomatosis. *Cancer*. 2001;92:85-91.
- 34- Pai RK, Longacre TA. Appendiceal mucinous tumors and pseudomyxoma peritonei: histologic features, diagnostic problems, and proposed classification. *Adv Anat Pathol*. 2005;12(6):291-311.
- 35- Hart WR. Mucinous tumors of the ovary: A review. *Int J Gynecol Pathol*. 2005;24:4-25.
- 36- McCuggage WG. Immunohistochemical and functional biomarkers of value in female genital tract lesions. *Int J Gynecol Pathol*. 2006;25:101-20.

- 37- Baker PM, Oliva E. Immunohistochemistry as a tool in the differential diagnosis of ovarian tumors: An update. *Int J Gynecol Pathol.* 2005;24(1):39-55.
- 38- Ji H, Isacson C, Seidman JD, Kurman RJ, Ronnett BM. Cytokeratins 7 and 20, Dpc4, and MUC5AC in the distinction of metastatic mucinous carcinomas in the ovary from primary ovarian mucinous tumors: Dpc4 assists in identifying metastatic pancreatic carcinomas. *Int J Gynecol Pathol.* 2002;21(4):391-400.
- 39- Wauters CC, Smedts F, Gerrits LG, Bosman FT, Ramaekers FC. Keratins 7 and 20 as diagnostic markers of carcinomas metastatic to the ovary. *Hum Pathol.* 1995;26:852-5.
- 40- Vang R, Gown AM, Barry TS, Wheeler DT, Yemelyanova A, Seidman JD, Ronnett BM. Cytokeratins 7 and 20 in primary and secondary mucinous tumors of the ovary: Analysis of coordinate immunohistochemical expression profiles and staining distribution in 179 cases. *Am J Surg Pathol.* 2006;30(9):1130-9.
- 41- Lee MJ, Lee SH, Kim WH, Choi Y, Yang M. Expression of mucins and cytokeratins in primary carcinomas of the digestive system. *Mod Pathol.* 2003;16(5):403-10.
- 42- Dekker J, Rossen JW, Büller HA, Einerhand AW. The MUC family: an obituary. *Trends Biochem Sci.* 2002;27(3):126-31.
- 43- Feng H, Ghazizadeh M, Konishi H, Araki T. Expression of MUC1 and MUC2 mucin gene products in human ovarian carcinomas. *Jpn J Clin Oncol.* 2002;32:525-9.

- 44- Gipson IK, Ho SB, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Zhan Q, Torlakovic E, Pudney J, Anderson DJ, Toriba NW, Hill JA 3rd.. Mucin Genes Expressed by Human Female Reproductive Tract Epithelia. *Biol Reprod.* 1997;56:999-1011.
- 45- Lau SK, Weiss LM, Chu PG. Differential expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in carcinomas of various sites: an immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 2004;122:61-9.
- 46- Albarracin CT, Jafri J, Montag AG, Hart J, Kuan SF. Differential expression of MUC2 and MUC5AC mucin genes in primary ovarian and metastatic colon carcinoma. *Hum Pathol.* 2000;31:672-7.
- 47- O'Connell JT, Hacker C, Barsky SH. MUC2 is a molecular marker for pseudomyxoma peritonei. *Mod Pathol.* 2002;15:958-72.
- 48- Allan MS, Herting AT. Carcinoma of the ovary. *Am J Obstet Gynecol.* 1949;58:640-53.
- 49- Cariker M, Dockerty M. Mucinous cystadenomas and mucinous cystadenocarcinomas of the ovary. A clinical and pathological study of 335 cases. *Cancer.* 1954;7(2):302-10.
- 50- Hart WR. Borderline epithelial tumors of the ovary. *Mod Pathol.* 2005;18,S33-50. Review.
- 51- International Federation of Gynecology and Obstetrics. Classification and staging of malignant tumors in the female pelvis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1971;50:1-7.

- 52- Serov SF, Scully RE, Sobin LH. Histologic typing of ovarian tumors. In: International histological classification and staging of tumors, 9. World Health Organization, Geneva.
- 53- Hart WR, Norris HJ. Borderline and malignant mucinous tumors of the ovary: Histologic criteria and clinical behavior. *Cancer*. 1973;31(5):1031-45.
- 54- Powell DE. Low malignant potential tumors of the ovary: Does microinvasion matter? *Hum Pathol*. 1996;27(6):517-8.
- 55- Nayar R, Siriaunkgul S, Robbins KM, McGowan L, Ginzan S, Silverberg SG. Microinvasion in low malignant potential tumors of the ovary. *Hum Pathol*. 1996;27(6):521-7.
- 56- Hoerl H, Hart WR. Primary ovarian mucinous cystadenocarcinomas. A clinicopathologic study of 49 cases with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol*. 1998;22(12):1449-62.
- 57- Banks E, Beral V, Reeves G. The epidemiology of epithelial ovarian cancer: a review. *Int J Gynecol Cancer*. 1997;7(6):425-38.
- 58- Koonings PP, Campbell K, Mishell DR Jr, Grimes DA. Relative frequency of primary ovarian neoplasms: A 10-year review. *Obstet Gynecol*. 1989;74(6):921-6.
- 59- Seidman JD, Horkayne-Szakaly I, Haiba M, Boice CR, Kurman RJ, Ronnett BM. The histologic type and stage distribution of ovarian carcinomas of surface epithelial origin. *Int J Gynecol Pathol*. 2004;23(1):41-4.
- 60- National Institute of Health. Ovarian cancer: Screening, treatment, and follow up. *NIH Consensus Statement*. 1994;12(3):1-30.

- 61- Bell DA, Scully RE. Early de novo ovarian carcinoma. A study of fourteen cases. *Cancer*. 1994;73(7):1859-64.
- 62- Salazar H, Godwin AK, Getts LA, et al. Spontaneous transformation of the ovarian surface epithelium and the biology of ovarian cancer. In: Sharp F, Mason P, Blackett T, Berek J. eds. *Ovarian Cancer 3*. London: Chapman & Hall Medical, 1995:145-56.
- 63- Auersperg N, Maines-Bandiera SL, Dyck HG, Kruk PA. Characterization of cultured human ovarian surface epithelial cells: Phenotypic, plasticity and premalignant changes. *Lab Invest*. 1994;71(4):510-8.
- 64- Siemens CH, Auersperg N. Serial propagation of human ovarian surface epithelium in tissue culture. *J Cell Physiol*. 1988;134:347-56.
- 65- Kruk PA, Uitto VJ, Firth JD, Dedhar S, Auersperg N. Reciprocal interactions between human ovarian surface epithelial cells and adjacent extracellular matrix. *Exp Cell Res*. 1994;215(1):97-108.
- 66- Hutson R, Ramsdale J, Wells M. p53 protein expression in putative precursor lesions of epithelial ovarian cancer. *Histopathology*. 1995;27(4):367-71.
- 67- Fenoglio CM, Ferenczy A, Richart RM. Mucinous tumors of the ovary. Ultrastructural studies of mucinous cystadenomas with histogenetic considerations. *Cancer*. 1975;36:1709-22.
- 68- Lapertosa G. Histogenetic considerations on mucinous cystomas of the ovary based on histochemical and immunohistochemical findings. *Pathologica*. 1989;81:381-401.

- 69- Shiozawa T, Tsukahara Y, Ishii K, Ota H, Nakayama J, Katsuyama T. Histochemical demonstration of gastrointestinal mucins in ovarian mucinous cystadenoma. *Acta Pathol Jpn.* 1992;42(2):104-10.
- 70- Shappell HW, Riopel MA, Smith Sehdev AE, Ronnett BM, Kurman RJ. Diagnostic criteria and behavior of ovarian seromucinous (endocervical-type mucinous and mixed cell-type) tumors: atypical proliferative (borderline) tumors, intraepithelial, microinvasive, and invasive carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(12):1529-41.
- 71- Powell DE, Puls L, van Nagell J Jr. Current concepts in epithelial ovarian tumors: Does benign to malignant transformation occur? *Hum Pathol.* 1992;23:846-7.
- 72- Puls LE, Powell DE, DePriest PD, Gallion HH, Hunter JE, Kryscio RJ, van Nagell JR Jr. Transition from benign to malignant epithelium in mucinous and serous ovarian cystadenocarcinoma. *Gynecol Oncol.* 1992;47:53-7.
- 73- Bell DA. Origins and molecular pathology of ovarian cancer. *Modern Pathol.* 2005;18:S19-S32.
- 74- Bos JL. *ras* oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res.* 1989;49(17):4682-9.
- 75- Kumar R, Sukumar S, Barbacid M. Activation of *ras* oncogenes preceding the onset of neoplasia. *Science.* 1990;248:1101-4.
- 76- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990;61:759-67.

- 77- Fukumoto M, Nakayama K. Ovarian epithelial tumors of low malignant potential: Are they precursors of ovarian carcinoma? *Pathol Int.* 2006;56:233-9.
- 78- Wamunyokoli FW, Bonome T, Lee JY, Feltmate CM, Welch WR, Radonovich M, Pise-Masison C, Brady J, Hao K, Berkowitz RS, Mok S, Birrer MJ. Expression profiling of mucinous tumors of the ovary identifies genes of clinicopathologic importance. *Clin Cancer Res.* 2006;12(3):690-700.
- 79- Young RH, Scully RE. Metastatic tumors in the ovary: a problem-oriented approach and review of the recent literature. *Semin Diagn Pathol.* 1991;8:250-76.
- 80- Young RH, Scully RE. Metastatic tumors of the ovary. In: Kurman RJ, *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract.* 5th ed. New York: Springer-Verlag, 2002.
- 81- Young RH, Hart WR. Metastases from carcinomas of the pancreas simulating primary mucinous tumors of the ovary: a report of seven cases. *Am J Surg Pathol.* 1989;13:748-56.
- 82- Young RH, Scully RE. Ovarian metastases from carcinoma of the gallbladder and extrahepatic bile ducts simulating primary tumors of the ovary: a report of six cases. *Int J Gynecol Pathol.* 1990;9:60-72.
- 83- LiVolsi VA, Merino MJ, Schwartz PE. Coexistent endocervical adenocarcinoma and mucinous adenocarcinoma of ovary: A clinicopathologic study of four cases. *Int J Gynecol Pathol.* 1983;1:391-402.

- 84- Young RH, Scully RE. Mucinous ovarian tumors associated with mucinous adenocarcinomas of the cervix. *Int J Gynecol Pathol.* 1988;7:99-111.
- 85- Daya D, Nazerali L, Frank GL. Metastatic ovarian carcinoma of large intestinal origin simulating primary ovarian carcinoma: a clinicopathologic study of 25 cases. *Am J Clin Pathol.* 1992;97:751-8.
- 86- Lash RH, Hart WR. Intestinal adenocarcinoma metastatic to the ovaries: a clinicopathologic evaluation of 22 cases. *Am J Surg Pathol.* 1987;11:114-21.
- 87- Ronnett BM, Kurman Rj, Shmookler BM, Sugarbaker PH, Young RH. The morphologic spectrum of ovarian metastases of appendiceal adenocarcinomas: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of tumors often misinterpreted as primary ovarian tumors or metastatic tumors from other gastrointestinal sites. *Am J Surg Pathol.* 1997;21:1144-55.
- 88- Chu PG, Weiss LM. Immunohistochemical characterization of signet-ring cell carcinomas of the stomach, breast, and colon. *Am J Clin Pathol.* 2004;121:884-92.
- 89- Elishaev E, Gilks CB, Miller D, Srodon M, Kurman RJ, Ronnett BM. Synchronous and metachronous endocervical and ovarian neoplasms: evidence supporting interpretation of the ovarian neoplasms as metastatic endocervical adenocarcinomas simulating primary ovarian surface epithelial neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2005;29:281-94.
- 90- Ronnett BM, Shmookler BM, Diener-West M, Sugarbaker PH, Kurman RJ. Immunohistochemical evidence supporting the appendiceal origin of pseudomyxoma peritonei in women. *Int J Gynecol Pathol.* 1997;16:1-9.

- 91- Maheshwari V, Tsung A, Lin Y, Zeh HJ 3rd, Finkelstein SD, Bartlett DL. Analysis of loss of heterozygosity for tumor-suppressor genes can accurately classify and predict the clinical behavior of mucinous tumors arising from the appendix. *Ann Surg Oncol*. 2006;13(12):1610-6.
- 92- Cuatrecasas M, Matias-Guiu X, Prat J. Synchronous mucinous tumors of the appendix and the ovary associated with pseudomyxoma peritonei: A clinicopathologic study of six cases with comparative analysis of c-Ki-ras mutations. *Am J Surg Pathol*. 1996;20(6):739-46.
- 93- Chuaqui RF, Zhuang Z, Emmert-Buck MR, Bryant BR, Nogales F, Tavassoli FA, Merino MJ. Genetic analysis of synchronous mucinous tumors of the ovary and appendix. *Hum Pathol*. 1996;27(2):165-71.
- 94- Matias-Guiu X, Lagarda H, Catusus L, Bussaglia E, Gallardo A, Gras E, Prat J. Clonality analysis in synchronous or metachronous tumors of the female genital tract. *Int J Gynecol Pathol*. 2002;21(3):205-11.
- 95- Szych C, Staebler A, Connolly DC, Wu R, Cho KR, Ronnett BM. Molecular genetic evidence supporting the clonality and appendiceal origin of pseudomyxoma peritonei in women. *Am J Pathol*. 1999;154(6):1849-55.
- 96- Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: A survey of 435 cases. *Mod Pathol*. 2000;13(9):962-72.
- 97- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: pattern of expression in normal epithelia, tumor and culture cells. *Cell*. 1982;31:11-24.

- 98- Lagendijk JH, Mullink H, van Diest PJ, Meijer GA, Meijer CJ. Tracing the origin of adenocarcinomas with unknown primary using immunohistochemistry: differential diagnosis between colonic and ovarian carcinomas as primary sites. *Hum Pathol.* 1998;29:491-7.
- 99- Loy TS, Quesenberry JT, Sharp SC. Distribution of CA125 in adenocarcinomas: An immunohistochemical study of 481 cases. *Am J Clin Pathol.* 1992;98:175-9.
- 100- Vang R, Gown AM, Barry TS, Wheeler DT, Ronnett BM. Immunohistochemistry for estrogen and progesterone receptors in the distinction of primary and metastatic mucinous tumors in the ovary: an analysis of 124 cases. *Mod Pathol.* 2006;19:97-105.
- 101- Hilkens J, Ligtenberg MJ, Vos HL, et al. Cell membrane-associated mucins and their adhesion-modulating property. *Trends Biochem Sci.* 1992;17:359-63.
- 102- Bhabanandan VP. Cancer-associated mucins and mucin-type glycoproteins. *Glycobiology.* 1991;1:493-503.
- 103- Niv Y. Mucin and colorectal cancer metastasis. *Am J Gastroenterol.* 1994;89:665-9.
- 104- *Human Genome Organization Gene Nomenclature Committee.* HUGO/GNC. Available from: <http://www.hugo-international.org/hugo/>.
- 105- Corfield AP, Myerscough N, Longman R, Sylvester P, Arul S, Pignatelli M. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: New prospects for mucins in pathology of gastrointestinal disease. *Gut.* 2000;47(4):589-94.

- 106- Zhao S, Hayasaka T, Osakabe M, Kato N, Nakahara K, Kurachi H, Fukase M, Katayama Y, Yaegashi N, Motoyama T. Mucin expression in nonneoplastic and neoplastic glandular epithelia of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol.* 2003;22:393-7.
- 107- Tashiro Y, Yonezawa S, Kim YS, Sato E. Immunohistochemical study of mucin carbohydrates and core proteins in human ovarian tumors. *Hum Pathol.* 1994;25(4):364-72.
- 108- Giuntoli RL 2nd, Rodriguez GC, Whitaker RS, Dodge R, Voynow JA. Mucin gene expression in ovarian cancers. *Cancer Res.* 1998;58:5546-50.
- 109- Pecorelli S, Odicino F, Maisonneuve P, et al. Carcinoma of the ovary. In: Annual reports on the results of treatment in gynecological cancer. *J Epidemiol Biostat* 1998;3:75-102.
- 110- Ronnett BM, Kajdacsy-Balla A, Gilks CB, Merino MJ, Silva E, Werness BA, Young RH. Mucinous borderline ovarian tumors: points of general agreement and persistent controversies regarding nomenclature, diagnostic criteria, and behavior. *Hum Pathol.* 2004;35(8):949-60.
- 111- Azzopardi JG and Hou LT. Intestinal metaplasia with argentafin cells in cervical adenocarcinoma. *J Pathol Bacteriol.* 1965;90:686-90.
- 112- Bara J, Malarewicz A, Loisillier F, Burtin P. Antigens common to human ovarian mucinous cyst fluid and gastric mucosa. *Br J Cancer.* 1977;36(1):49-56.
- 113- Moriya T, Mikami Y, Sakamoto K, Endoh M, Takeyama J, Suzuki T, Mochizuki S, Watanabe M, Monobe Y, Sasano H. Endocervical-like mucinous

- borderline tumors of the ovary: clinicopathological features and electron microscopic findings. *Med Electron Microsc.* 2003;36:240-6.
- 114- Scully RE. In: Henson ED, Albores-Saavedra J, eds. *Pathology of Incipient Neoplasia*, 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1993:289-90.
- 115- Leitao MM Jr, Boyd J, Hummer A, Olvera N, Arroyo CD, Venkatraman E, Baergen RN, Dizon DS, Barakat RR, Soslow RA. Clinicopathologic analysis of early-stage sporadic ovarian carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2004;28:147-59.
- 116- Ferreira CR, Carvalho JP, Soares FA, Siqueira AS, Carvalho FM. Mucinous ovarian tumors associated with pseudomyxoma peritonei of adenomucinosis type: immunohistochemical evidence that they are secondary tumors. *Int J Gynecol Cancer.* 2007 May 19; [Epub ahead of print].
- 117- Young RH, Gilks CB, Scully RE. Mucinous tumors of the appendix associated with mucinous tumors of the ovary and pseudomyxoma peritonei. A clinicopathological analysis of 22 cases supporting an origin in the appendix. *Am J Surg Pathol.* 1991;15(5):415-29.
- 118- Ho SB, Niehans GA, Lyftogt C, Yan PS, Cherwitz DL, Gum ET. Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissue. *Cancer res.* 1993;53:641-51.
- 119- Zrihan-Licht S, Baruch A, Elroy-Stein O, Keydar I, Wreschner DH. Tyrosine phosphorylation of the MUC1 breast cancer membrane proteins. Cytokine receptor-like molecules. *FEBS Lett.* 1994;356(1):130-6.

120- Baruch A, Hartmann M, Zrihan-Licht S, Greenstein S, Burstein M, Keydar I, Weiss M, Smorodinsky N, Wreschner DH. Preferential expression of novel MUC1 tumor antigen isoforms in human epithelial tumors and their tumor-potentiating function. *Int J Cancer*. 1997;71(5):741-9.

APÊNDICE

Legenda do cadastro com dados anatomo-patológicos e resultados do estudo imunoistoquímico

nº do caso

nº do paciente

Idade

Ovário (lateralidade do ovário): **D**-direito, **E**- esquerdo, **NI**- não Informado

Tamanho (cm)- maior medida do tumor

Diagnóstico – **1**- cistoadenoma, **2**- tumor borderline, **3**- tumor borderline com carcinoma intra-epitelial, **4**- carcinoma mucinoso, **5**- carcinoma seromucinoso

Estadiamento patológico- **NA** (não se aplica), **Ia, Ib, Ic, Ila, Ilb, Ilc, IIIa, IIIb, IIIc**.

Fenótipo-1= **1**-pilórico, **2**-intestinal, **3**- intestinal e pilórico, **4**-mulleriano, **5**- misto.

Apendicectomia- **1**-com tumor, **2**- livre, **NR**(não retirado).

Diag da apendicectomia-

Pseudomixoma peritoneal- **sim, não**

Endometriose- **I**- ignorado, **sim**.

Outros tumores associados- **não** e **sim** (qual).

Estudo imunoistoquímico- tabulação da positividade (vide material e métodos).

FORMULÁRIO DE TUMORES MUCINOSOS – CASO N^o: _____

- N^o AP: _____ RG: _____ IDADE: _____

- Procedimento:
- cistectomia.
 - ooforectomia unilateral.
 - ooforectomia bilateral.
 - anexectomia unilateral.
 - anexectomia bilateral.
 - HT + anexectomia bilateral.
 - HT + anexectomia bilateral + omentectomia.
 - HT + anexectomia.
- Lateralidade:
- direita.
 - esquerda.
 - direita/esquerda.
 - nenhuma das anteriores.

- Tamanho: _____ - Número de cortes: _____

- Diagnóstico:
- borderline mucinoso, clássico.
 - borderline seromucinoso.
 - borderline mucinoso com carcinoma intraepitelial.
 - cistoadenoma mucinoso.
 - carcinoma mucino.
 - cistoadenoma seromucinoso.
 - carcinoma seromucinoso.

- Grau histológico: _____

- Fenótipo:
- mülleriano.
 - intestinal.
 - pilórico.
 - indeterminado.
 - misto, mulleriano + intestinal.
 - misto, mülleriano + pilórico.
- Cisto de inclusão: _____
- Apendicectomia: _____
- Diagnóstico AP: _____

- PMO: _____ - PMP: _____

- Endometriose:

- Outros tumores:

- Observações: