

LUIS FELIPE TRINCAS ASSAD SALLUM

**EXPRESSÃO E VALOR PROGNÓSTICO DOS RECEPTORES DE
ESTRÓGENO E PROGESTERONA EM TUMORES *BORDERLINE*
E CARCINOMAS DE OVÁRIO**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN
CO-ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. LILIANA APARECIDA LUCCI DE ÂNGELO ANDRADE**

**Unicamp
2011**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

**EXPRESSÃO E VALOR PROGNÓSTICO DOS RECEPTORES DE
ESTRÓGENO E PROGESTERONA EM TUMORES *BORDERLINE*
E CARCINOMAS DE OVÁRIO**

LUIS FELIPE TRINCAS ASSAD SALLUM

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde, área de concentração em Oncologia Ginecológica e Mamária, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Sophie Françoise Mauricette Derchain e co-orientação da Prof^a. Dra. Líliana Aparecida Lucci de Ângelo Andrade.

Campinas, 2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROSANA EVANGELISTA PODEROSO – CRB8/6652
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

Sa34e Sallum, Luis Felipe Trincas Assad, 1976 -
Expressão e valor prognóstico dos receptores de
estrógeno e progesterona em tumores *borderline* e
carcinomas de ovário. / Luis Felipe Trincas Assad Sallum. --
Campinas, SP : [s.n.], 2011.

Orientador : Sophie Françoise Mauricette Derchain
Coorientador: Liliana Aparecida Lucci de Ângelo Andrade
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Neoplasias ovarianas. 2. Imunoistoquímica. 3. Receptores
de esteróides. I. Derchain, Sophie Françoise Mauricette.
II. Andrade, Liliana Aparecida Lucci de Ângelo. III. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Expression and prognostic value of estrogen and progesterone receptors status in borderline ovarian tumors and ovarian carcinomas

Palavra-chave em inglês:

Ovarian neoplasms
Imunoistochemistry
Steroids receptors

Área de concentração: Oncologia Ginecológica e Mamária

Titulação: Mestre em Ciências da Saúde

Banca examinadora:

Sophie Françoise Mauricette Derchain [Orientador]
Francisco José Candido dos Reis
André Almeida Schenka

Data da defesa: 30-09-2011

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia – Faculdade de Ciências Médicas

Diagramação e arte-final: Assessoria Técnica do CAISM (ASTEC)

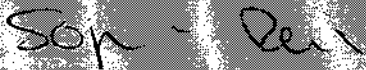
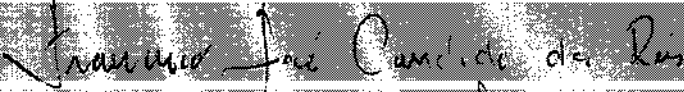
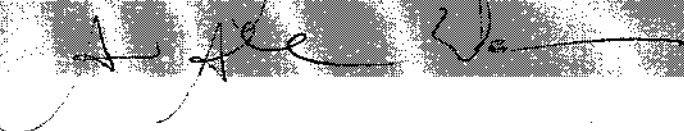
BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: LUIS FELIPE TRINCAS ASSAD SALLUM

Orientadora: Prof^a. Dr^a. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. LILIANA APARECIDA LUCCI DE ÂNGELO ANDRADE

Membros:

1. 
2. 
3. 

Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 30/09/2011

Dedico este trabalho...

***À minha mãe, Maria del Pilar,
incentivadora e exemplo de vida.***

***A memória de meu pai, Raul,
exemplo de dedicação e amor à medicina e à família.***

***Ao meu irmão Raul
por sua amizade e apoio incondicional.***

***À minha esposa Ana Paula,
pelo carinho, paciência e cumplicidade***

Agradecimentos

À minha orientadora, Profa. Dra. Sophie Françoise Mauricette Derchain, pelos seus ensinamentos, apoio e competente orientação deste trabalho.

À Profa. Dra. Liliana Aparecida Lucci de Ângelo Andrade pela colaboração como co-orientadora.

Ao Prof. Dr. Luis Otávio Sarian pela paciência e incentivo, contribuindo muito para a concretização desta dissertação.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr. André Almeida Schenka, Profa. Dra. Cristiane Pereira Gomes e Profa. Dra. Lucia Helena Simões da Costa Paiva, que muito contribuíram para a elaboração final desta dissertação.

Aos Professores Dra. Glauce Aparecida Pinto e Dr. José Vassallo, que contribuíram para a etapa de elaboração e análise da imunoistoquímica.

À aluna de iniciação científica, Patrícia Andréia Rodrigues Ferreira, pela sua ajuda no levantamento dos dados clínicos.

Ao pessoal dos laboratórios de Patologia Experimental (CAISM-Unicamp), do Departamento de Anatomia Patológica (HC-Unicamp) e do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital do Câncer A. C. Camargo pela disponibilidade e ajuda na execução da parte experimental do trabalho.

Ao pessoal do SAME do CAISM que, sempre solícito, viabilizou o levantamento dos dados clínicos.

A todas as mulheres que participaram deste estudo.

Agradecimentos Institucionais

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)
Processo nº. 2009/18306-3.

Este estudo teve a participação dos Departamentos de
Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas - Unicamp,
Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas - Unicamp,
Laboratório de Patologia Experimental do
Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti - Centro de Atenção
Integral à Saúde da Mulher (CAISM) – Unicamp,
Departamento de Anatomia Patológica do Hospital do Câncer A. C. Camargo.

*Os que se encantam com a prática sem a ciência,
são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola,
nunca tendo certeza do seu destino*

Leonardo da Vinci

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas.....	ix
Resumo.....	xii
Summary.....	xv
1. Introdução.....	18
1.1. Justificativa	29
2. Objetivos	31
2.1. Objetivo geral.....	31
2.2. Objetivos específicos	31
3. Publicação	32
4. Conclusões.....	56
5. Referências Bibliográficas	57
6. Anexos	63
6.1. Anexo 1– Apresentação de pôster	63
6.2. Anexo 2 –Termo de dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido	65
6.3. Anexo 3 – Parecer da CP e do CEP	66
6.4. Anexo 4 – Instrumento para coleta de dados	69
6.5. Anexo 5 – Estadiamento do Câncer de Ovário (FIGO)	72

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AINH – Antinflamatório não hormonal

BRCA1 – Gene do câncer de mama 1 (*breast cancer 1*)

BRCA2 – Gene do câncer de mama 2 (*breast cancer 2*)

CA – *California*

CAISM – Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti - Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CI/IC – Intervalo de confiança (*Confidence interval*)

CT – *Computer tomography*

DCC – Bioensaio de carvão vegetal com dextran revestido (*Dextran-coated charcoal bioassay*)

DFS – Tempo livre de doença (*disease-free survival*)

DNA – Ácido desoxirribonucleico

e.g. – Por exemplo

et al. – e colaboradores

ESO/OSE – Epitélio da superfície ovariana (*ovarian surface epithelium*)

- EUA/USA** – Estados Unidos da América (*United States of America*)
- FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
- FIGO** – Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
- FSH** – Hormônio folículo-estimulante
- H&E** – Coloração hematoxilina-eosina
- HR** – *Hazard ratio*
- i.e.** – Ou seja (*that is*)
- IHQ/IHC** – Imunoistoquímica (*immunohistochemistry*)
- INCA** – Instituto Nacional de Câncer
- LH** – Hormônio luteinizante
- microRNA** – Microácido ribonucleico
- n** – Número de casos
- OMS/WHO** – Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)
- OS** – Sobrevida geral (*overall survival*)
- p** – Nivel de significância
- p53** – Proteína p53
- PTEN** – Gene fosfatase e tensina homóloga
- R®** – *R environment for statistical computing*
- RAS** – Gene RAS
- RE/ER** – Receptor de estrógeno (*estrogen receptor*)
- RNA** – Ácido ribonucléico
- RP/PR** – Receptor de progesterona (*progesterone receptor*)

SOE/NOS – Sem outras especificações (*no other specificacions*)

SOP – Síndrome do ovário policístico

TBO/BOT – Tumores *borderline* de ovário (*borderline ovarian tumors*)

TMA – Microarranjo de tecidos (*tissue microarray*)

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

vs – *versus*

Resumo

Introdução: Evidências recentes sugerem que a estimulação hormonal dos esteróides pode estar envolvida no desenvolvimento e prognóstico das neoplasias de ovário. O estrogênio é um importante regulador do crescimento e diferenciação das células ovarianas, enquanto a progesterona pode oferecer proteção contra os efeitos mutagênicos do estrógeno, bloqueando o crescimento e induzindo a diferenciação e apoptose. No entanto, os dados atuais são limitados e os resultados conflitantes. **Objetivo:** Avaliar os padrões da expressão dos receptores de estrógeno (RE) e de progesterona (RP) em tumores *borderline* (TBO) e carcinomas de ovário. Foram avaliadas o tempo livre de doença (TLD) e a sobrevida total (ST) das mulheres com carcinoma em relação às expressões destes receptores esteróides. **Métodos:** Foi avaliada a expressão dos RE/RP em 172 carcinomas de ovário e 38 TBOs, em mulheres operadas de 1993 a 2008 na Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Brasil, e acompanhadas por até 60 meses. A expressão dos RE/RP foi avaliada por imunohistoquímica (IHQ) em microarranjo de tecidos (TMA). Para as análises estatísticas utilizamos os testes: Qui-quadrados (e exato de Fisher), modelo múltiplo linear generalizado (regressão logística), Cox de risco proporcional, representação de Kaplan-

Meyer e Mantel-Cox. Não foi possível calcular TLD e ST para os TBOs, pois não ocorreram mortes neste grupo. **Resultados:** Foram incluídos 28(73.7%) TOBs mucinosos e 10(26.3%) serosos. Os carcinomas de ovário foram compostos por 79(46%) serosos, 44(25.5%) mucinosos, 17(9.8%) endometrióides, 16(9.3%) mistos, 10(5.8%) de células claras, 4(2.4%) adenocarcinoma-SOE e 2(1.2%) de células transicionais. Entre os TBOs, 11(28.9%) foram positivos para a expressão do RE, em comparação com 61(35.5%) carcinomas ($p=0.55$). Dez (26.3%) dos TBOs e 47(27%) dos carcinomas foram positivos para RP ($p=0.90$). Nos TBOs, a expressão dos RE e RP foi maior nos serosos ao comparar com a dos mucinosos ($p<0.01$). Nos carcinomas, a expressão do RE foi maior nos serosos quando comparada com a dos mucinosos ($p<0.01$) e células claras ($p<0.01$), e endometrióides quando comparado com os mucinosos ($p<0.01$). A expressão do RP foi maior nos serosos quando comparada com a dos mucinosos ($p<0.01$), e endometrióides quando comparado com a dos mucinosos ($p<0.01$) e serosos ($p=0.03$). Considerando a expressão combinada dos receptores, a expressão do receptor foi maior nos serosos quando comparados com a dos mucinosos ($p<0.01$) e células claras ($p=0.02$), e nos endometrióides quando comparada com a dos mucinosos ($p<0.01$). Em geral, os tumores serosos e endometrióides foram preponderantemente RE/RP positivos, enquanto os tumores mucinosos e de células claras foram preponderantemente RE/RP negativos. Posteriormente, os tumores com padrões similares na expressão dos RE/RP foram agrupados e analisados: serosos com endometrióides e mucinosos com células claras e outros. A expressão dos RE/RP nos carcinomas de ovário não teve nenhuma associação com a idade, estágio do

tumor, grau, ascite e doença residual. TLD e ST não foram afetados pela expressão dos RE e RP. TLD não foi afetada por nenhuma das características clínico-epidemiológicas estudadas. ST foi significativamente maior ($p < 0.01$) apenas em mulheres com doenças estádios II-IV e para aqueles com doença residual após a cirurgia ($p = 0,01$). **Conclusões:** Em geral, os tumores serosos e endometrióides foram preponderantemente RE/RP, enquanto os tumores mucinosos e de células claras foram preponderantemente RE/RP negativos. TLD e ST não foram afetados pela expressão destes receptores.

Summary

Background: Recent lines of evidence suggest that steroid hormonal stimulation may be implicated in the development and prognosis of ovarian malignancies. Estrogen is an important regulator of growth and differentiation of ovarian cells, while progesterone may offer protection against the mutagenic effects of estrogens by blocking cell growth and inducing cell differentiation and apoptosis. However, current data are very limited, and study results are conflicting. **Objective:** Examine the patterns of estrogen (ER) and progesterone receptors (PR) in borderline tumors (BOTs) and ovarian carcinoma. The disease-free (DFS) and overall survivals (OS) of women with ovarian carcinoma were assessed as related to the expression of these steroid receptors. **Methods:** The expression of ER/PR was assessed in 172 ovarian carcinomas and 38 BOTs, treated from 1993 to 2008 at the State University of Campinas – UNICAMP, Brazil, and followed up for up to 60 months. ER/PR expression in carcinomas and BOTs was assessed with TMA-based immunohistochemistry. Statistical analysis comprised Chi-squares test (and Fisher's Exact), multivariate generalized linear model using the binomial distribution (logistic regression), Cox Proportional hazards, Kaplan-Meier method and Mantel-Cox log-rank. We did not calculate DFS or OS for women with

BOTS were not calculate because the number of events in that group was null.

Results: Twenty-eight(73.7%) mucinous and 10(26.3%) serous BOTS were included. Ovarian carcinomas comprised 79(46%) serous, 44(25.5%) mucinous, 17(9.8%) endometrioid, 16(9.3%) mixed, 10(5.8%) clear-cell, 4(2.4%) adenocarcinoma-NOS and 2(1.2%) transitional cell. Of the BOTS, 11(28.9%) were positive for ER, compared to 61(35.5%) of the carcinomas ($p=0.55$). Ten cases (26.3%) of the BOTS and 47(27%) of the carcinoma ($p=0.90$). The expressions of ER and PR were higher in serous BOTS when compared to mucinous tumors ($p<0.01$). In carcinomas, ER expression was higher in serous compared to mucinous ($p<0.01$) and clear cell tumors ($p<0.01$), and in endometrioid compared with mucinous tumors ($p<0.01$). PR expression was higher in serous compared to mucinous ($p<0.01$) and in endometrioid compared to mucinous ($p<0.01$) and serous tumors ($p=0.03$). Considering combined receptor status, receptor expression was higher in serous compared to mucinous ($p<0.01$) and clear cell tumors ($p=0.02$), and in endometrioid compared with mucinous tumors ($p<0.01$). Overall, serous and endometrioid tumors were predominantly ER/PR positive, whereas mucinous and clear-cell tumors were preponderantly ER/PR negative. Subsequently, tumors with similar patterns of ER/RP expression were gathered and analyzed: serous with endometrioid and mucinous with clear cell and others. ER/PR status of ovarian carcinomas bore no relation to the age, tumor stage, grade, ascites and residual disease. DSF and OS were not affected by the expression of ER and PR. DFS was not affected by any of the studied epidemiological and clinical features. OS was found to be significantly higher ($p<0.01$) only for women with disease stages II-IV and for those with residual disease after surgery ($p=0.01$).

Conclusion: Overall, serous and endometrioid tumors were predominantly ER/PR positive, whereas mucinous and clear-cell tumors were preponderantly ER/PR negative. The ER/PR status of ovarian carcinomas bore no relation to the age, tumor stage, grade, ascites and residual disease. DSF and OS were not affected by the expression of these receptors.

1. Introdução

Embora o câncer de ovário não seja o mais prevalente entre as mulheres, representa a principal causa de morte por câncer ginecológico. Globalmente são diagnosticadas meio milhão de casos em um período de cinco anos(1). Nos EUA, representa a segunda neoplasia ginecológica mais comum, responsável por 6% entre todos os cânceres em mulheres, sendo a quinta causa de morte(2, 3). No Brasil, a incidência supera a dos países industrializados em dois registros de câncer de base populacional: Porto Alegre e São Paulo (11/100.000)(1, 4). Na região de Campinas, São Paulo, constitui a sétima causa de câncer em mulheres, com incidência estimada em 5.98/100.000 no período entre 1991 e 1995(4).

Cerca de 90% dos cânceres de ovário são esporádicos, isto é, não apresentam fator de risco reconhecido. Acometem mulheres da população geral, principalmente as acima dos 50 anos. A média de idade ao diagnóstico é de 63 anos. Em Campinas, o pico de incidência está entre 75 e 79 anos. A mulher menopausada, nulípara e de nível socioeconômico mais elevado apresenta maior risco de câncer de ovário. Os 10% restantes apresentam componente genético ou familiar, na maioria

das vezes (65% a 75%) decorrentes de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2. Nestes casos, o diagnóstico costuma ocorrer em idade menos avançada(5).

Em apenas 25% das pacientes o diagnóstico é feito em estágio inicial, quando a sobrevida em cinco anos é de 80%. Devido à carência de sinais e sintomas específicos, os carcinomas de ovário são diagnosticados em estágios avançados (III e IV) na maioria das pacientes (70%), e a sobrevida média livre de doença não ultrapassa 18 meses. Menos da metade das mulheres (45%) sobrevive por mais de cinco anos após o diagnóstico(3-8).

Apesar dos avanços nos tratamentos cirúrgico e antitumoral, a taxa de cura para esta neoplasia não apresentou melhora nas últimas décadas. Nos últimos 20 anos, a sobrevida das mulheres com carcinoma do ovário aumentou em dois anos. Este aumento não se deveu ao diagnóstico mais precoce da doença, mas a esquemas de quimioterapia baseados em platina e taxóides. É importante ressaltar que a melhora se deu em mulheres sem possibilidades de cura, enquanto a erradicação completa da doença, no mesmo período, aumentou apenas de 12% para 14%(9). As estatísticas desfavoráveis das pacientes com carcinoma do ovário refletem o pouco conhecimento da origem e comportamento desta doença.

As neoplasias primárias ovarianas têm origem em diferentes tipos celulares e englobam uma variedade de grupos histológicos: epiteliais (85% a 90%), estroma ovariano (5% a 10%) e de células germinativas (10% a 15%). O grupo das neoplasias ovarianas de origem epitelial é o mais frequente, e de acordo com a diferenciação celular é classificado em tipos: serosos, mucinosos, endometrióides,

células claras, tumor de Brenner, carcinoma de células transicionais e carcinoma indiferenciado, além de tipos mistos. Os tipos histológicos mais frequentes são os serosos (50%) enquanto carcinomas endometrióides (15%), mucinosos (12%), células claras (6%) e indiferenciados (17%) são menos frequentes(10-12).

Os carcinomas serosos, na grande maioria das vezes, são diagnosticados em estádios avançados (95% – estádios III e IV), apresentam atipia celular acentuada e arquitetura papilífera. Áreas de arranjo glandular, cribriforme, microcístico, sólido ou trabecular podem ser observadas.

Os carcinomas mucinosos no ovário são menos frequentes e muitos destes são metástases ovarianas de neoplasias primárias de outros locais, mais comumente do trato gastrointestinal. Estudos recentes têm referido que a frequência de carcinoma mucinoso primário do ovário é bem menor do que se considerava anteriormente, sendo de cerca de 3% dos carcinomas ovarianos. O diagnóstico de carcinoma mucinoso primário do ovário é sempre um desafio e geralmente necessita de estudo imunoistoquímico e exploração propedêutica para descartar tumor primário de origem gastrointestinal. Quando primário do ovário, metade a dois terços dos carcinomas mucinosos são diagnosticados em estágio inicial (estádio I). Do ponto de vista histológico, é comum encontrar no carcinoma mucinoso um gradiente de aspectos variando de benigno para *borderline* e maligno.

O tipo endometrióide corresponde a 10% dos carcinomas do ovário e frequentemente é diagnosticado em estádios iniciais (50% no estágio I). Os

carcinomas de células claras, apesar de raros (5%), representam o quarto subtipo histológico mais comum, sendo a grande maioria diagnosticada em estádios iniciais (entre 20% e 50% em estádios I e II).

O tumor de Brenner é uma neoplasia fibro-epitelial, geralmente benigna, também constituída pelo epitélio transicional e pela proliferação do estroma fibroso do ovário. Por conceito, tumor de Brenner maligno é a neoplasia que apresenta área de Brenner benigna ao lado de outra nitidamente carcinomatosa. Por outro lado, o termo carcinoma de células transicionais se aplica para os casos em que não se encontram áreas típicas de tumor de Brenner benigno. E, finalmente, são classificadas como carcinoma indiferenciado as neoplasias muito anaplásicas, em arranjo sólido predominante, onde não se consegue caracterizar nenhuma diferenciação celular anteriormente descrita(13).

Apesar da heterogeneidade dos tipos histológicos dos tumores epiteliais do ovário, na maioria das vezes são tratados de forma similar, apresentando diferente prognóstico e respostas ao tratamento(14). Tradicionalmente, postulam-se duas hipóteses ou modelos teóricos para a carcinogênese ovariana: uma relacionada com os ciclos ovulatórios, outra associada à ação dos hormônios gonadotróficos (15).

A teoria da *ovulação incessante*, descrita por Fathalla em 1971, baseia-se na observação de que as mulheres com maior número de ciclos ovulatórios apresentam um risco maior de carcinoma de ovário(16). A cada ovulação, quando o folículo se rompe, as células do epitélio de superfície do ovário (ESO), danificadas pelas ovulações, ficam aprisionadas no córtex ovariano. Estas células

do ESO sofrem metaplasia de Müller, e, ao serem expostas a altas concentrações de estrogênio presentes no estroma ovariano ou no fluido folicular e a estímulos inflamatórios, que induzem a estresse replicativo e danos ao DNA, teriam um risco maior de desenvolver mutações definitivas. Normalmente, a concentração de estrogênio no estroma ovariano ou no fluido folicular é até 10 mil vezes maior do que na circulação sanguínea. Altos níveis de estrogênio são associados à ação genotóxica em células do câncer de mama(17). De acordo com esta teoria, a estimulação estrogênica no ESO seria responsável pelo desenvolvimento do carcinoma de ovário; e pode-se supor que a expressão do receptor deste hormônio deveria estar associada a um pior prognóstico(18, 19). No entanto, isto não foi observado por outros estudos, provavelmente porque o desenvolvimento do carcinoma de ovário e seu comportamento biológico também são influenciados por múltiplos outros fatores(17, 20-25). Ao mesmo tempo, estudos sugerem que a progesterona e seus receptores exercem efeito protetor por (a) diminuir a exposição a altos níveis de estrógeno e inibir a ovulação, como ocorre em mulheres grávidas e naquelas em uso de contraceptivos hormonais combinados: cada nova gestação diminui o risco em 10% a 16% e o uso de contraceptivos hormonais combinados diminui o risco em 30%, (b) induzir a diferenciação celular e apoptose do ESO(20, 21). No entanto, observou-se que contraceptivos hormonais só com progestágenos, que não inibem a ovulação, também reduzem o risco da mesma forma que contraceptivos hormonais combinados. Por outro lado, mulheres com síndrome do ovário policístico (SOP), que teoricamente apresentam um número menor de ciclos ovulatórios, apresentam risco maior de carcinoma de ovário(22).

A teoria das *gonadotrofinas*(23) baseia-se nas observações do maior risco para carcinoma em mulheres inférteis que utilizam medicamentos indutores da ovulação: o risco aumenta em 2.8 vezes para carcinoma e 4.0 vezes para os tumores *borderline* de ovário (TBOs)(24). Supõe-se que este aumento de risco ocorreria pela estimulação do ESO pelos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH). Como estudos posteriores foram inconsistentes na tentativa de demonstrar estas associações, sugere-se que a condição de infertilidade ou sua condição predisponente seria a responsável pelo maior risco(22).

Como os estudos epidemiológicos e experimentos biológicos desenvolvidos para testar essas e outras teorias não foram conclusivos, uma nova proposição de modelo de carcinogênese surgiu recentemente, dividindo as neoplasias epiteliais do ovário em dois grupos, tipo I e tipo II, com comportamentos biológicos distintos(23).

Os tumores do tipo I tendem a ser diagnosticados em estádios iniciais, são carcinomas bem diferenciados, desenvolvem-se provavelmente a partir de lesões precursoras benignas ou *borderline*, e comportam-se de maneira indolente. Estes incluem os carcinomas: serosos de baixo grau, mucinosos, endometrióides e de células claras. Os precursores benignos incluem os cistoadenomas/adenofibromas nos casos dos tumores serosos e mucinosos, e endometriose ou endometriomas nos casos de tumores endometrióides e células claras. São de crescimento lento e, por isso, frequentemente detectados como grandes tumores anexiais restritos ao ovário. São geneticamente estáveis e estão associados a alterações moleculares, tais como mutações no BRAF e KRAS

nos tumores serosos, mutações no KRAS nos mucinosos, mutações no PTEN e de β -catenina nos tumores endometrióides.

Em contraste, os do tipo II correspondem aos carcinomas mais agressivos e com acentuada atipia celular, de alto grau histológico, que surgiriam diretamente do ESO ou de cistos de inclusão epitelial superficial. São quase sempre diagnosticados em estádios avançados com metastatização precoce. Não são reconhecidas lesões precursoras e os tumores do tipo II são representados por carcinomas serosos de alto grau histológico (moderadamente e pouco diferenciados), carcinoma indiferenciado e carcinossarcoma ou tumor mesodérmico misto maligno. Esse grupo é caracterizado por mutações da p53 e por um alto nível de instabilidade genética(15, 23, 25).

Os TBOs têm sido identificados, desde 1929, como tipos especiais de tumores epiteliais de ovário, com características histopatológicas e comportamento intermediário entre os claramente benignos e os malignos(26). Em 1971, este grupo de tumores foi aceito pela Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) como carcinoma de baixo potencial de malignidade e, em 1973, a Organização Mundial da Saúde (OMS) o denominou como *borderline*(27). Os TBOs têm um comportamento mais indolente do que os carcinomas e são caracterizados pela apresentação em estádios precoces, longa sobrevida e recorrências tardias. Histologicamente apresentam maior proliferação celular, atipia leve a moderada e mitoses frequentes. Diferem dos carcinomas por não possuírem invasão destrutiva do estroma. Os TBOs mais comuns são dos tipos histológicos serosos e mucinosos, caracterizados por lesões císticas com crescimento papilífero,

que também podem comprometer a superfície externa ovariana. Cerca de 15% a 30% dos TBOs estão associados a implantes extraovarianos. Os implantes acometem as estruturas pélvicas, o omento e mais comumente o peritônio, e são classificados como invasivos e não invasivos de acordo com sua apresentação histopatológica. Os implantes peritoneais invasivos apresentam pior prognóstico (mortalidade de 34%) quando comparados com implantes não invasivos (mortalidade de 5%)(28).

A carcinogênese ovariana e seu comportamento biológico são influenciados por múltiplos fatores e diversos eventos devem ocorrer, principalmente através de mutações ou outras alterações genéticas, para que ocorra a malignização do epitélio ovariano. A ordem em que estas mutações ocorrem não está esclarecida, mas o momento e a proteína específica afetada podem ser significativos na produção de diferentes tipos histológicos e graus de diferenciação do carcinoma. Assim, se as mutações favorecendo o crescimento e a resistência a apoptose ocorrem precocemente, antes de atingir um potencial de invasão, um subtipo intermediário patológico seria observado com maior frequência, como as mutações do KRAS nos tumores *borderline*; uma instabilidade genética no P53, predispõe as células a outras mutações, levando à rápida progressão para um fenótipo metastático, como visto nos carcinomas serosos de alto grau(22).

Estrógeno e progesterona são importantes hormônios secretados pelo ovário, atuando através de receptores específicos, tendo valor preditivo de prognóstico em tumores malignos de múltiplos órgãos, principalmente nos cânceres endometriais e mamários, porém seu significado clínico nos carcinomas de ovário ainda não está

definido e é limitado a apenas alguns estudos(29, 30). Os efeitos destes hormônios são mediados por seus respectivos receptores: receptor de estrógeno (RE) e de progesterona (RP)(31). A ação direta dos esteróides gonadais na carcinogênese ovariana tem sido sugerida, baseada nos achados de transcrição do RNA mensageiro e nas expressões protéicas dos RE e RP nos carcinomas e tecidos ovarianos normais. A associação entre estes esteróides e o carcinoma é explicada pelas propriedades mutagênicas do estrogênio e seus derivados nas células epiteliais normais do ovário; bem como pela ação protetora da progesterona e seus receptores, como já citados anteriormente(20).

Vários estudos tentam correlacionar a expressão dos RE e RP com a carcinogênese ovariana ou como fator prognóstico, porém os dados na literatura são conflitantes. Existem diferentes métodos para detectar os receptores: *dextran-coated charcoal bioassay* (DCC) ou a imunistoquímica (IHQ), e varios critérios para avaliação dos achados histológicos(17-20, 29, 30, 32-41). Nos trabalhos mais antigos, a técnica mais usada era DCC; embora a sensibilidade do DCC seja muito alta a especificidade é baixa, gerando muitos resultados falso-positivos na detecção de receptores hormonais. Pela IHQ houve melhora da acurácia, pois o receptor é visualizado diretamente nas células tumorais. Assim, a IHQ é considerada o método de escolha, pois permite uma avaliação exata da expressão dos RE e RP(20, 29-31, 39-42).

O RE é codificado por dois genes distintos, RE α e RE β , localizados nos cromossomos 6q25.1 e 14q22-24 respectivamente(43). O subtipo RE α (Clone 1D5 Dako®) possui um papel dominante sobre o subtipo β no câncer de ovário,

sendo assim o mais utilizado. Para avaliação da ação da progesterona, apenas o subtipo PR-A (Clone PgR 636 Dako®) pode ser detectado por reação de IHQ. O subtipo PR-B é determinado por reação em cadeia da polimerase ou análise de *Western blotting*(44).

A literatura é concordante em relação à expressão dos RE e RP nos diferentes tipos histológicos dos tumores epiteliais de ovário, relatando que os serosos e endometrióides apresentam expressão de RE e RP isolados ou agrupados significativamente maior do que os mucinosos(20, 29, 30, 43).

Os estudos, baseados em DCC, são mais conflitantes na tentativa de correlacionar os RE e RP com a sobrevida do que os estudos mais recentes. Em relação à expressão dos RE, Bizzi et al.(32) observaram que a expressão RE pode ser associada a um melhor prognóstico em análise uni/multivariada. Por outro lado, Geisler et al.(33) relataram que a expressão do RP não esteve associado à sobrevida e a ausência na expressão do RE estaria associada ao melhor prognóstico. Outros estudos também baseados em DCC demonstraram que a expressão do ER e/ou PR não se associava à sobrevida e não encontraram relação dos receptores com outros fatores, como resposta à quimioterapia(34), idade, menopausa, paridade, raça, estágio cirúrgico(17, 35), tabagismo, tipo ou grau histológico(17).

As publicações mais recentes, baseadas em IHQ, tendem a apontar que a expressão do RP estaria associada ao melhor prognóstico nos carcinomas de ovário. Alguns estudos identificaram que a expressão do RP prediz melhor

sobrevida em análise univariada(30, 39, 41), o que nem sempre se confirmou pela análise multivariada(30, 41).

Tangjitgamol et al.(30), estudando 124 pacientes com carcinoma de ovário, observaram que a expressão do RE não mostrou nenhuma associação com a sobrevida, mas as expressões do RP, isolada ou combinada RE-/RP+, influenciaram significativamente de forma positiva na análise univariada; o que porém não se confirmou na análise multivariada. Os demais fatores associados à sobrevida foram o tipo histológico não células claras e resposta à primeira linha de quimioterapia. Münstedt et al.(40), ao avaliarem a expressão combinada RE/RP, observaram que tumores RE-/RP+ estiveram associados ao melhor prognóstico quando comparados com a expressão apenas do RP, e que esta expressão é inversamente correlacionada ao estágio e ao alto grau de diferenciação. Em outro estudo recente, Lee et al.(41) também observaram esta correlação; porém a expressão combinada dos RE/RP não esteve associada ao melhor prognóstico quando comparada apenas à expressão do RP; e a expressão do RE não influenciou na sobrevida. Kommoss et al.(39) observaram que a sobrevida foi significativamente maior em pacientes que apresentaram expressão do RP em análise univariada; na análise multivariada a quantidade de doença residual foi o único fator que permaneceu associado ao prognóstico. Diferente de todos os estudos mais recentes, na maior série já relatada, Høgdall et al.(29) observaram melhor sobrevida nos tumores que apresentaram expressão do RE e/ou RP.

Ao contrário de outros tumores endócrinos, que apresentam dados mais claros sobre o papel das expressões dos RE/RP e sua influência no prognóstico, a correlação clínica destes receptores no carcinoma de ovário não é bem compreendida e ainda baseada em dados imprecisos. A maioria destes estudos foi realizada por DCC e, assim, há poucos dados provenientes de reações IHQ.

1.1. Justificativa

A expressão dos RE e RP nos diferentes tipos histológicos de carcinomas de ovário e TBOs parece estar associada ao tipo e grau histológico, estágio e sobrevida. Porém, os achados na literatura são conflitantes.

No levantamento de casos deste serviço (Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti - Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher - CAISM), foi possível obter número suficiente de carcinomas de ovário e TBOs, de diferentes tipos histológicos, tanto em estádios iniciais da doença como avançados, para executar uma avaliação confiável.

O melhor conhecimento da expressão dos RE e RP nos TBOs e carcinomas de ovário e a determinação de sua correlação clínico-patológica serão úteis para a potencial aplicação no diagnóstico e tratamento destas pacientes. Neste estudo procurou-se definir um *imunofenótipo*, que complementaria a classificação morfológica e poderia levar a uma melhor compreensão das diferentes vias de carcinogênese, de tal sorte que os vários tipos histológicos

passariam a ser encarados como entidades distintas, com diferentes comportamentos biológicos e respostas aos tratamentos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a expressão dos RE e RP nos carcinomas de ovário e TBOs e sua relação com as características clínico-patológicas e sobrevida.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a expressão dos RE e RP nos carcinomas de ovário e TBOs segundo os critérios clínico-patológicos.
- Avaliar a expressão dos RE e RP nos carcinomas de ovário segundo o estágio da doença nos diferentes tipos histológicos.
- Avaliar a associação entre as sobrevidas livre de doença e total com a expressão dos RE e RP nos carcinomas de ovário.

3. Publicação

----- Mensagem encaminhada de Gynecologic Oncology <gyn@elsevier.com> -----

Data: 24 Aug 2011 20:01:00 +0100

De: Gynecologic Oncology <gyn@elsevier.com> Reponder para: Gynecologic Oncology <gyn@elsevier.com>

Assunto: Gynecologic Oncology Submission: Manuscript Number Assigned

Para: sophie.derchain@pq.cnpq.br

Ms. No.: GYN-11-951

Title: Equivocal prognostic significance of estrogen and progesterone receptors status in ovarian carcinomas and borderline ovarian tumors Corresponding Author: Profa. Dra.

Sophie F Derchain

Authors: Luis Felipe A Sallum, M.D.; Luis Otavio Sarian, M.D., PhD.; Liliana L de Angelo Andrade, M.D., PhD.; Jos Vassallo, M.D., PhD.; Glauce A Pinto, PhD.; Fernando A Soares, M.D., PhD.; Patricia A Rodrigues Ferreira;

Dear Profa. Dra. Derchain,

Your submission, referenced above, has been assigned the following manuscript number: GYN-11-951

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author:
<http://ees.elsevier.com/ygyno/>

Thank you for submitting your work to Gynecologic Oncology.

Kind regards,

Editorial Office
Gynecologic Oncology
Elsevier
525 B Street, Suite 1800
San Diego, CA 92101-4495
USA
Fax: (619) 699-6211
E-mail: gyn@elsevier.com

Equivocal prognostic significance of estrogen and progesterone receptors status in ovarian carcinomas and borderline ovarian tumors

Authors:

Luis Felipe Trincas Assad Sallum¹ M.D.

Luis Otavio Sarian¹ M.D., PhD.

Liliana Lucci de Angelo Andrade² M.D., PhD.

José Vassallo^{3,4,5} M.D., PhD.

Fernando Augusto Soares⁴ M.D., PhD.

Glauce Aparecida Pinto⁵ PhD.

Patrícia Andréia Rodrigues Ferreira⁶

Sophie FM Derchain¹ M.D., PhD.

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
2. Department of Pathology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
3. Department of Pathology, Laboratory of Investigative and Molecular Pathology, CIPED, State University of Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
4. Department of Pathology, Hospital do Câncer A C Camargo, Fundação Antonio Prudente de São Paulo, Brazil
5. Laboratory of Experimental Pathology, CAISM, State University of Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
6. Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas – UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

Address for correspondence:

Sophie F. M. Derchain

Department of Obstetrics and Gynecology Faculty of Medical Sciences, PO Box 6111 State University of Campinas – UNICAMP, Zip Code 13083-970, Campinas, SP, Brazil.

e-mail: sophie.derchain@pq.cnpq.br

Acknowledgements

This study was funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, grants 2009/18306-3

Conflicts of interest: The authors declare no conflict of interests.

Abstract

Aims: To examine the patterns of estrogen (ER) and progesterone receptor (PR) expression in borderline tumors (BOTs) and invasive ovarian carcinoma. We also assessed the disease-free (DFS) and overall survivals (OS) of women with ovarian carcinoma as related to the expression of these steroid receptors. **Methods:** We examined the expression of ER/PR in 172 ovarian carcinomas and 38 BOTs, treated at the State University of Campinas – UNICAMP, Brazil, from 1993 to 2008 and followed up for up to 60 months. ER/PR was assessed with Tissue microarray-based immunohistochemistry. **Results:** Twenty-eight (73.7%) mucinous and 10(26.3%) serous BOTs were included. Ovarian carcinomas comprised 79(46.0%) serous, 44(25.5%) mucinous, 17(9.8%) endometrioid, 10(5.8%) clear-cell, and 22(12.9%) other histological classifications. Of the BOTs, 11(28.9%) were positive for ER, compared to 61(35.5%) of the carcinomas ($p=0.55$). Ten(26.3%) BOTs were positive for PR, the same proportion found among carcinomas (47 cases(27%); $p=0.90$). ER/PR expression in BOTs was significantly higher in serous compared to mucinous tumors ($p<0.01$). In carcinomas, ER/PR was higher in serous compared to mucinous ($p<0.01$) and clear cell tumors ($p=0.02$), and in endometrioid compared with mucinous tumors ($p<0.01$). ER/PR status of ovarian carcinomas bore no relation to age, tumor stage, grade, ascites and residual disease. OS was found to be significantly worse ($p<0.01$) only for women with disease stages II-IV and with residual disease after surgery ($p=0.01$). **Conclusions:** Overall, serous and endometrioid tumors were predominantly ER/PR positive, whereas mucinous and clear-cell tumors were preponderantly ER/PR negative. DSF and OS were not affected by the expression of these receptors.

Key Words: ovary, borderline, cancer, carcinoma, estrogen, progesterone, steroids, receptors, tissue microarray, immunohistochemistry

Introduction

The effects of estrogen and progesterone are mediated by specific transmembrane receptors, the estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors. ER and PR are well known prognostic factors in cancers of endocrine organs and their clinical relevance has been clearly established for endometrial and breast cancers.⁽¹⁾ Currently, there is a large gamut of theories on ovarian carcinogenesis, but recent lines of evidence suggest that steroid hormonal stimulation may be implicated in the development and prognosis of ovarian malignancies, thus ascribing some importance to the study of steroid receptors also in the ovary.^(2,3)

Estrogen is an important regulator of growth and differentiation of ovarian cells, and recent laboratorial and preclinical data suggest that estrogen may exert a mutagenic effect in normal epithelial ovarian cells. By contrast, progesterone may offer protection against the mutagenic effects of estrogens by blocking cell growth and inducing cell differentiation and apoptosis. Studies addressing the potential carcinogenic or anticarcinogenic effects of these steroids generally examine the mRNA transcription and protein expression of ER and PR.^(4,5) However, the multiple technical dissimilarities between studies, aggravated by the small samples of many reports preclude conclusive analyses concerning the roles played by steroid receptors in the ovary.

Some authors advocate that the expression of ER or/and PR may predict survival of women with ovarian carcinomas,^(1-3, 6-16) whereas several other reports detected no association.⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ There are also attempts at defining typical steroid receptor profiles across

ovarian histological strata. Those attempts are flawed by low between-rater agreement on the histological diagnoses, dissimilar techniques used to determine steroid receptor expression and function, case selection and discrepant stage disease stage definitions.

Taking advantage of a large population of patients diagnosed with ovarian carcinomas, with long follow-up time, we decided to examine the patterns of ER/PR across different histological strata of epithelial ovarian neoplasms, borderline ovarian tumors (BOTs) and ovarian carcinomas. The disease-free (DFS) and overall survivals (OS) of women diagnosed with carcinomas as related to the expression of the steroid receptors were also studied.

Subjects and methods

Patient selection

For this retrospective cohort, we selected women who underwent surgical treatment for ovarian carcinoma or BOT at the State University of Campinas–UNICAMP, São Paulo, Brazil, between 1993 and 2008. Follow-up data were retrieved up until December 2010. We excluded from the analysis all women i) who underwent neoadjuvant chemotherapy, ii) whose paraffin blocks were unavailable or defective, and iii) with other synchronous or metastatic (to the ovaries) tumors. We assessed pathological and clinical (including follow-up) data from 172 ovarian carcinomas and 38 BOT cases, totaling 210 women. Clinical data were retrieved from the patients' clinical files. Patients' age, menopausal status, tumor histology, International Federation of Gynecologists and Obstetrics (FIGO)⁽²⁰⁾ stage, histological grade and surgical outcomes (if surgery was considered optimal or suboptimal) were recorded. The type of

surgery was classified as “surgical staging” for women with disease restricted to the ovaries and cytoreductive surgery for advanced cases. Cytoreduction was deemed “optimal” when residual foci no larger than 1cm were left. Ascites or peritoneal lavages were sent for cytology in all cases. The presence of ascites was evaluated by either ultrasound or computer tomography (CT) scans or intra operative evaluation. Stage and histology classification of tumors were performed according to the FIGO and WHO recommendations.^(20, 21) Patients underwent chemotherapy regimens with carboplatin and either taxol or cyclophosphamide according to the protocol of the service.

This study was approved by the Ethics committee of Campinas State University (protocol number 1086/2009).

Specimens

Tumor specimens were obtained at first laparotomy before any other treatment. Tissue samples were obtained from the original paraffin blocks and stained with hematoxylin and eosin (H&E). Two areas of interest (representatives of the tumor), avoiding areas with hemorrhage or necrosis, were selected by an experienced pathologist and marked in the slides with permanent ink. These markings guided the 1.0mm cylindrical sampling of the paraffin blocks, which was performed with the tissue microarray apparatus (TMA, Beecher Instruments Microarray Technology, Silver Spring, CA, USA). TMA processing and analysis was performed in accordance to standard protocols and has been fully validated in ovarian pathology⁽²²⁾.

Assay methods

Immunohistochemistry (IHC): Slide processing for IHC reactions was performed using validated protocols.⁽²²⁾ We assessed the α subtype of ER.^(2, 4) Only the PR-A subtype is amenable to IHC detection.^(2, 23) Internal and external, positive and negative controls were used in order to validate the reactions.

Image analysis

The IHC staining was assessed independently by a single observer, blinded to the clinical and pathological features of the disease. Two TMA sets of each tumor component were used for each marker, i.e. each tumor area was assessed twice. In *post-hoc* analysis, if scores differed in the two analyses, the stronger staining was considered. Nuclear IHC staining was considered for ER/PR. The ER and PR continuous percentage of IHC stained nuclei was further categorized in: (0) negative; (1) less than 1% of stained nuclei; (2) 1 < 10% of stained nuclei; (3) 10 < 35% of stained nuclei; (4) 35 < 75% of stained nuclei; (5) \geq 75% of stained nuclei. Epithelial cell intensity was categorized in: 0 negative, 1 weak, 2 moderate, or 3 strong. The final score was calculated by adding the score obtained with the staining intensity to that derived from the percentage of positive cells, achieving results ranging from 0 to 8 (except 1). For statistical purposes, the final IHC ER/PR status was deemed positive when the score was \geq 4 (Figure 1).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the R environment for statistical computing (R Environment).⁽²⁴⁾ Confidence levels were set to 5%. Chi-squares (and

Fisher's Exact test where necessary) were used to compare the clinical characteristics of women harboring ovarian carcinoma or BOT, and to evaluate the expression of the steroid hormones across the histological strata. A multivariate generalized linear model using the binomial distribution (logistic regression) was fit to evaluate the combined ER/PR status of ovarian carcinomas as related to the clinical and pathological features. We obtained a median follow-up period of 42 months (range, 17-60 months, 50% central-range). Sample size calculations for the survival models resulted in a necessary sample of 105 subjects with complete follow-up. We used multivariate Cox Proportional hazards to calculate the hazard ratios (HR) of DFS and OS (the time elapsed from the main surgical procedure to the time of recurrence or death from any cause) as related to the clinical and pathological features. OS was the time interval between the main surgical procedure and death from ovarian cancer. There were no significant events in women with BOTs. The Kaplan-Meier representation was used to assess the OS as related to the ER/PR expression patterns stratified by disease stage (stage I *versus* stages II-IV). The curves were then compared using Mantel-Cox log-rank.

Results

Mean patients age was 41.3 years in women with BOTs (standard deviation (SD)=13.7), and 54.7 years (SD=12.6) in those with ovarian carcinomas ($p<0.01$). Thirty-six percent of women BOTs were postmenopausal, compared to 72% of those with ovarian carcinomas. The BOT group consisted of 26.3% serous and 73.7% mucinous tumors. Most (46%) of the carcinomas were of serous histological type, followed by 25% of mucinous and approximately 10% were mixed or endometrioid.

The majority (58%) of ovarian carcinomas were diagnosed at an advanced stage (6% were already metastatic). Disease recurrence was detected in 4 (27%) women with stage I serous carcinomas and in 39 (59%) women with stage II-IV disease. The primary surgical procedure was considered suboptimal for 66 (38%) women with ovarian carcinomas. Platina-based chemotherapy regimens were used for 133 (76%) women (data not shown). Most carcinomas and BOTs were ER and/or PR negative, and 52.3% of carcinomas and 65.8% of BOTs were negative for both receptors. There was no significant imbalance between steroid receptor statuses comparing ovarian cancer and BOTs ($p=0.55$ for ER alone, 0.90 for PR and 0.12 for the combined status) (Table 1).

In BOTs, the expressions of ER and PR, in stand-alone and combined configurations, were significantly higher in serous compared to mucinous tumors ($p<0.01$). In carcinomas, ER expression was significantly higher in serous vs mucinous ($p<0.01$) and clear cell tumors ($p<0.01$), and in endometrioid vs mucinous type ($p<0.01$). PR expression was significantly higher in serous vs mucinous ($p<0.01$) and in endometrioid vs mucinous ($p<0.01$) and vs serous ($p=0.03$). Considering the combined receptor status, the receptor expression was significantly higher in serous vs mucinous ($p<0.01$) and clear cell ($p=0.02$) tumors. Other pairwise comparisons were nonsignificant (Table 2).

Stage-wise comparisons of combined steroid receptor statuses across histological strata of the ovarian carcinomas revealed no significant stage-related modification in steroid receptor expression. Most of the stage I (54%) and stages II-IV (64%) serous tumors were positive for at least one of the receptors, in stark contrast to the mucinous lesions, which were in their majority negative for both receptors in either stage I (96%) and stages II-IV (69%) presentations. The vast majority (>80%) of the endometrioid tumors were

positive for at least one of the steroid receptors, regardless of the stage. Seven (100%) stage I clear cell lesions were negative for both receptors; of the 3 cases FIGO stages II-IV clear cell tumors, two were positive for at least one of the receptors (data not shown).

Overall, serous and endometrioid tumors were predominantly ER and PR positive, whereas mucinous and clear-cell tumors were preponderantly ER and PR negative. In tables 3 and 4, tumors with similar patterns of ER/PR expression (serous with endometrioid and mucinous with clear cell and others) were grouped. There was a statistically significant difference in ER/PR status in serous/endometrioid versus mucinous, clear-cell and other tumors (OR=4.61; 95%CI 2.07 to 10.25; $p<0.01$). Tumor stage ($p=0.93$), grade ($p=0.16$), presence of ascites ($p=0.18$) and residual disease ($p=0.26$) were not related to ER/PR status as well (Table 3).

DFS was not affected by any of the studied epidemiological and clinical features, nor was it affected by the combined steroid receptor status (Table 4). The probability of death was found to be significantly higher (HR 4.0; 95%CI 1.6 to 10.3; $p<0.01$) for women with disease stages II-IV and for those with residual disease after surgery (suboptimal surgery) (HR = 2.12; 95%CI 1.15 to 3.9; $p=0.01$). The survival curves for women with ER and PR negative versus ER and/or PR positive tumors, stratified by disease stage and tumor type, revealed no significant survival differences (Figure 2).

Discussion

In our study, the ER or PR expression did not differ between ovarian carcinoma and BOT. However, we detected a significant imbalance in ER/PR expression across the histological strata of carcinomas: most serous and endometrioid carcinomas were ER

positive, which led us to group them together in the subsequent analyses. By contrast, mucinous and clear-cell carcinomas were in general ER and PR negative. The same tendencies were seen in BOTs, although we must acknowledge that our BOT sample is very limited in size. ER and PR statuses, in a stand alone or combined fashion, were not related to either the DFS or OS of women with ovarian carcinoma.

Our findings align well to those from previous reports on the ER/PR expression across the histological strata of epithelial ovarian tumors. Taken together, the previous findings indicate that serous and endometrioid tumors express ER and/or PR. Endometrioid tumors have been reported to express PR whereas mucinous tumors are most likely ER and PR negative⁽²⁻⁵⁾.

The clinical significance of the steroid receptor status in ovarian cancer, if any, is yet to be determined. Several reports have shown no significant difference in survival with increasing levels of PR expression,⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ while a few reports have indicated that a higher ER status correlates with increased survival.^(7, 11) Other authors report that a higher PR status is associated with increased survival.^(1-3, 5, 8-10, 12-14, 16) However, significant methodological dissimilarities exist between studies, and the discrepant reported findings may be ascribed to these methodological issues. For instance, earlier works were performed using the dextran-coated charcoal (DCC) method.^(7, 9, 11-14, 16-19) The DCC has been shown to give false positive results if the surrounding benign tissue expressed the receptor in stromal cells.⁽²⁾ IHC is the current standard for ER/PR detection, allowing for precise detection of the receptors in the tissues of interest.^(2, 22) However, given the low-prevalence of ovarian cancer, newer studies are being produced at a slow pace.

Restricting our literature search to IHC-based studies, we detected that the reported frequencies of ER and PR expression may vary, respectively, from 38% to 77% (mean, 59%) and from 26% to 43% (mean, 33%).^(1-3, 5, 8-10) In our series, using IHC, we found a somewhat lower prevalence of ER (35.5%) and PR (27%) positive ovarian carcinomas. In BOTs, the expression of ER (28.9%) and PR (26.3%) and of the combined ER-/PR- (65.8%) were fairly comparable to those reported in samples larger than ours, e.g. 16% for ER and 20% for PR in a multidisciplinary Danish study⁽³⁾ and ER+ 33.3%, RP+ 46.7, ER-/PR- 53.3% in another report.⁽⁵⁾

There was no significant imbalance between the proportions of steroid receptor statuses of BOTs and carcinomas. Most carcinomas and BOT tumors were ER and/or PR negative, and 52% of the carcinomas and 66% of BOTs were simultaneously negative for both receptors. Our study revealed significant findings of higher ER and PR expressions in serous and endometrioid histologic subtypes, respectively, with a low rate of expression in mucinous and clear cell carcinomas. As expected, the majority of serous and endometrioid cases were ER+ or/and PR+, and most of mucinous and clear cells carcinomas were ER- and PR-.

Another important common feature across studies is the proportion of the histological types of both carcinomas and BOTs in samples, which may in the near future, facilitate meta-analyses with significantly higher statistical power than that of the isolated studies (including ours). In our study, most (46%) of the carcinomas were of serous histological type, followed by 25% of mucinous and approximately 10% of mixed and endometrioid lesions, which is in full agreement with previous smaller reports.⁽²⁾ The BOT group consisted of 26% serous and 74% mucinous, which is also concordant with previous reports.^(3, 5)

A few studies suggested a positive impact of PR+ expression as an independent prognostic factor to survival in multivariable analysis. Other studies could not demonstrate or found only a trend towards the association between PR and favorable survival but not to a significant level, either by uni or multivariate analysis.⁽¹¹⁾ It is worth mentioning that DCC-based studies⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ also found no relationship between DFS and OS and the ER/PR status of ovarian carcinomas. Other important aspects were examined in those studies, e.g. the relationship between steroid receptor status and response to chemotherapy,⁽¹⁹⁾ surgical stage^(17, 19) and histological type and grade,⁽¹⁹⁾ but all those analysis yielded negative results.

In a study of 124 cases,⁽²⁾ the ER+ expression did not show any association with either DFS or OS, whereas the PR+ expression showed a significant positive influence in univariate analysis. Both medians of the DFS and OS of the patients whose tumors showed a PR+ expression had not been reached and were significantly longer than those of the patients with PR- tumors. Among the 4 alternative combinations of ER+/- and PR+/- expressions, they found that patients with ER-/PR+ expression had the best prognosis of DFS and OS compared with that of women with any of the other 3 combinations. However, the differences were not statistically significant. Effects of the PR status disappeared in the multivariate assessment, and the remaining factors associated with survival were the stage and response to the first line of chemotherapy. A recent report⁽¹⁰⁾ found that ER alone, in contrast to PR alone, had no prognostic value, but by examining the combined ER/PR expression, they found that in particular ER-/PR+ tumors were associated with an increased overall survival compared to that of women with PR+ tumors. Munstedt et al who used the IHC method found positive survival influence in patients with ER-/PR+ tumors in both uni- and multivariate

analyses⁽¹⁰⁾ and that PR is inversely correlated with stage and high degree of differentiation, findings in accordance with another study.⁽⁸⁾

Although Lee et al⁽⁸⁾ failed to demonstrate any prognostic value of the ER receptor, it reported that patients with PR expression >10% survived longer than patients with PR expression levels <10%. In the Cox proportional hazards analysis of all the factors influencing survival, only disease stage and PR remained significant. ER did not show an effect on survival. The combined expression of the two markers also did not show greater significance than did PR alone. In Kommos et al,⁽⁹⁾ ER was not shown to be of significant prognostic value. Survival was significantly better in patients with PR positive tumors (IHQ and DCC) on univariate analysis. According to that report, residual tumor after primary surgery was the only remaining significant prognostic factor after multivariate analysis. Contrary to all other IHC studies, the largest series to date⁽³⁾ detected more favorable outcomes for women featuring ER+ and/or PR+ carcinomas.

Our study does not support the positive influence of PR on prognosis, and corroborates previous findings indicating that ER is of no prognostic value. In our study, the only factors to retain a significant association with survival after multivariate scrutiny were advanced (II-IV) stage and residual disease after primary surgery, which are well-known predictors of a poor prognosis.

Our study, in association with the results from previous reports, clearly suggests that a more thorough review of the role of the steroid receptor status in ovarian cancer is required at this point in time. No definitive assumption can be made on the value of ascertaining the ER/PR status of either ovarian carcinomas or BOTs in the clinical practice.

References

1. Yang XY, Xi MR, Yang KX, Yu H. Prognostic value of estrogen receptor and progesterone receptor status in Chinese young ovarian carcinoma patients. *Gynecol Oncol.* 2009;113(1):99-104.
2. Tangjitgamol S, Manusirivithaya S, Khunnarong J, Jesadapatarakul S, Tanwanich S. Expressions of estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian cancer: a clinicopathologic study. *Int J Gynecol Cancer.* 2009;19(4):620-7.
3. Høgdall EV, Christensen L, Høgdall CK, Blaakaer J, Gayther S, Jacobs IJ, et al. Prognostic value of estrogen receptor and progesterone receptor tumor expression in Danish ovarian cancer patients: from the 'MALOVA' ovarian cancer study. *Oncol Rep.* 2007;18(5):1051-9.
4. Lindgren PR, Cajander S, Bäckström T, Gustafsson JA, Mäkelä S, Olofsson JI. Estrogen and progesterone receptors in ovarian epithelial tumors. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;221(1-2):97-104.
5. Arias-Pulido H, Smith HO, Joste NE, Bocklage T, Qualls CR, Chavez A, et al. Estrogen and progesterone receptor status and outcome in epithelial ovarian cancers and low malignant potential tumors. *Gynecol Oncol.* 2009;114(3):480-5.
6. Iversen OE, Skaarland E, Utaaker E. Steroid receptor content in human ovarian tumors: survival of patients with ovarian carcinoma related to steroid receptor content. *Gynecol Oncol.* 1986;23(1):65-76.

7. Geisler JP, Wiemann MC, Miller GA, Geisler HE. Estrogen and progesterone receptor status as prognostic indicators in patients with optimally cytoreduced stage IIIc serous cystadenocarcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol*. 1996;60(3):424-7.
8. Lee P, Rosen DG, Zhu C, Silva EG, Liu J. Expression of progesterone receptor is a favorable prognostic marker in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2005;96(3):671-7.
9. Kommoss F, Pfisterer J, Thome M, Schäfer W, Sauerbrei W, Pfliderer A. Steroid receptors in ovarian carcinoma: immunohistochemical determination may lead to new aspects. *Gynecol Oncol*. 1992;47(3):317-22.
10. Münstedt K, Steen J, Knauf AG, Buch T, von Georgi R, Franke FE. Steroid hormone receptors and long term survival in invasive ovarian cancer. *Cancer*. 2000;89(8):1783-91.
11. Bizzi A, Codegani AM, Landoni F, Marelli G, Marsoni S, Spina AM, et al. Steroid receptors in epithelial ovarian carcinoma: relation to clinical parameters and survival. *Cancer Res*. 1988;48(21):6222-6.
12. Slotman BJ, Nauta JJ, Rao BR. Survival of patients with ovarian cancer. Apart from stage and grade, tumor progesterone receptor content is a prognostic indicator. *Cancer*. 1990;66(4):740-4.
13. Harding M, Cowan S, Hole D, Cassidy L, Kitchener H, Davis J, et al. Estrogen and progesterone receptors in ovarian cancer. *Cancer*. 1990;65(3):486-91.
14. Sevelde P, Denison U, Schemper M, Spona J, Vavra N, Salzer H. Oestrogen and progesterone receptor content as a prognostic factor in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Br J Obstet Gynaecol*. 1990;97(8):706-12.

15. Hempling RE, Piver MS, Eltabbakh GH, Recio FO. Progesterone receptor status is a significant prognostic variable of progression-free survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Am J Clin Oncol*. 1998;21(5):447-51.
16. Schwartz PE, MacLusky N, Merino MJ, Livolsi VA, Kohorn EI, Eisenfeld A. Are cytosol estrogen and progesterone receptors of prognostic significance in the management of epithelial ovarian cancers? *Obstet Gynecol*. 1986;68(6):751-8.
17. Anderl P, Fuith LC, Daxenbichler G, Marth C, Dapunt O. Correlation between steroid hormone receptors, histological and clinical parameters in ovarian carcinoma. *Gynecol Obstet Invest*. 1988;25(2):135-40.
18. Rose PG, Reale FR, Longcope C, Hunter RE. Prognostic significance of estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol*. 1990;76(2):258-63.
19. Masood S, Heitmann J, Nuss RC, Benrubi GI. Clinical correlation of hormone receptor status in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 1989;34(1):57-60.
20. Benedet JL, Bender H, Jones H, 3rd, Ngan HY, Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. *Int J Gynaecol Obstet*. 2000;70(2):209-62.
21. Serov, SF, Scully RE, Sobin LH. International histological classification and staging of tumors. *Histologic Typing of Ovarian Tumors*. Geneva: World Health Organization; 1973.
22. Rosen DG, Huang X, Deavers MT, Malpica A, Silva EG, Liu J. Validation of tissue microarray technology in ovarian carcinoma. *Mod Pathol*. 2004;17(7):790-7

23. Akahira J, Suzuki T, Ito K, Kaneko C, Darnel AD, Moriya T, et al. Differential expression of progesterone receptor isoforms A and B in the normal ovary, and in benign, borderline, and malignant ovarian tumors. *Jpn J Cancer Res.* 2002;93(7):807-15.
24. R: Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2004. ISBN 3-900051-00-3. Available at: <http://R-project.org>. Accessed April 5, 2011.

Table 1. Key features of women with carcinomas and borderline ovarian tumors (BOT)

Clinical characteristic	Carcinomas		BOT		p***
	n	(%)	n	(%)	
<i>Total cases</i>	172	(82.0)	38	(18.0)	
<i>Age</i>					
<50	59	(34.3)	27	(72.2)	
>50	113	(65.7)	11	(27.8)	<0.01
mean	54.7		41.3		
sd	12.6		13.7		<0.01
<i>Menopausal status</i>					
Pre	48	(27.9)	24	(63.9)	
Post	124	(72.1)	14	(36.1)	<0.01
<i>Tumor histology</i>					
Type					
serous	79	(46.0)	10	(26.3)	
mucinous	44	(25.5)	28	(73.7)	
endometrioid	17	(9.8)	–	–	
mixed	16	(9.3)	–	–	
clear cell	10	(5.8)	–	–	
adenocarcinoma nos	4	(2.4)	–	–	NC
Transitional cells	2	(1.2)	–	–	
<i>Stage</i>					
I	61	(35.4)	35	(92.1)	
II	11	(6.4)	3	(7.9)	
III	90	(52.0)	–	–	NC
IV	10	(6.2)	–	–	
<i>Histological Grade</i>					
0	–	–	38	100	
I	45	(26.0)	–	–	
II	64	(37.6)	–	–	
III	63	(36.4)	–	–	0.12
<i>ER*</i>					
Negative	111	(64.5)	27	(71.1)	0.55
Positive	61	(35.5)	11	(28.9)	
<i>PR*</i>					
Negative	125	(73.0)	28	(73.7)	0.90
Positive	47	(27.0)	10	(26.3)	
<i>Combined receptor status**</i>					
ER - / PR -	90	(52.3)	25	(65.8)	
ER - / PR +	21	(12.1)	2	(5.3)	
ER + / PR -	35	(20.7)	3	(7.9)	0.12
ER + / PR +	26	(14.9)	8	(21.1)	
ER and/or PR +	82	(47.7)	13	(34.2)	

*ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER. ** Combined steroid receptor status: (-) = negative; (+) = positive; immunohistochemical evaluation. *** Univariate p values calculated with Qui-squares and Fisher's exact tests where appropriate; NC = non-calculable; SD = standart decretion

Table 2. Comparison of estrogen (ER), progesterone (PR) and combined steroid receptor statuses ovarian carcinomas and borderline ovarian tumors (BOT) histological types according to receptor status

	Serous		Mucinous		Endometrioid		Clear cell		Others ^F		p**
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Histology Ovarian Carcinomas											
ER*											
Negative	38	(48.1)	41	(93.2)	6	(35.3)	10	(100.0)	16	(73.0)	p ζ
Positive	41	(51.9)	3	(6.8)	11	(64.7)	0	0	6	(27.0)	
PR*											
Negative	55	(69.6)	40	(90.9)	7	(41.2)	8	(80.0)	15	(68.0)	p $\zeta\zeta$
Positive	24	(30.4)	4	(9.1)	10	(58.8)	2	(20.0)	7	(32.0)	
Combined receptor status*											
ER - / PR -	30	(38.0)	38	(86.4)	3	(17.6)	8	(80.0)	11	(50.0)	p $\zeta\zeta\zeta$
ER - / PR +	8	(10.1)	3	(6.8)	3	(17.6)	2	(20.0)	5	(23.0)	
ER + / PR -	25	(31.6)	2	(4.5)	4	(23.5)	0	0	4	(18.0)	
ER + / PR +	16	(20.6)	1	(2.3)	7	(41.2)	0	0	2	(9.0)	
ER and/or PR +	49	(62.0)	6	(13.6)	14	(82.4)	2	(20.0)	11	(50.0)	
Histology BOT											
ER*											
Negative	3	(30.0)	24	(86.0)	-	-	-	-	-	-	p ϕ
Positive	7	(70.0)	4	(14.0)	-	-	-	-	-	-	
PR*											
Negative	3	(30.0)	25	(89.3)	-	-	-	-	-	-	p $\phi\phi$
Positive	7	(70.0)	3	(10.7)	-	-	-	-	-	-	
Combined receptor status*											
ER - / PR -	2	(20.0)	23	(82.0)	-	-	-	-	-	-	p $\phi\phi\phi$
ER - / PR +	1	(10.0)	1	(3.6)	-	-	-	-	-	-	
ER + / PR -	1	(10.0)	2	(7.2)	-	-	-	-	-	-	
ER + / PR +	6	(60.0)	2	(7.2)	-	-	-	-	-	-	
ER and/or PR +	8	(80.0)	5	(18.0)	-	-	-	-	-	-	

*ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER. ** Combined steroid receptor status: (-) = negative; (+) = positive; immunohistochemical evaluation. ***Chi-squares and Fisher Exact tests (were appropriate).

^F The other group comprised 16 mixed, 4 adenocarcinomas no other specification (NOS) and 2 transitional cell tumors.

Significant pairwise comparisons of the steroid receptor statuses in ovarian carcinomas: ζ mucinous vs serous (p<0.01), serous vs clear cell (p<0.01) and mucinous vs endometrioid (p<0.01); ξ ξ mucinous vs serous (p=0.01), mucinous vs endometrioid (p<0.01) and serous vs endometrioid (p=0.03); ξ ξ ξ mucinous vs serous (p<0.01), serous vs clear cell (p=0.02) and mucinous vs endometrioid (p<0.01). The other pairwise comparisons were nonsignificant.

Significant pairwise comparisons of the steroid receptor statuses in BOTs: ϕ mucinous vs serous (p<0.01); ϕ ϕ mucinous vs serous (p<0.01); ϕ ϕ ϕ mucinous vs serous (p<0.01).

Table 3. Key epidemiological and clinical features as related to the combined estrogen (ER) and progesterone (PR) statuses

Clinical characteristic	ER and PR negative		ER and/or PR positive		OR*	(95%CI)	p adjusted
Age	n	%	n	%			
<50	31	(34.4)	28	(35)	Ref		
>=50 years	59	(5.6)	52	(65)	1.00	(0.45 to 2.21)	0.99
Histology							
Mucinous / clear cell / others	57	(63.3)	19	(23.2)	Ref		
Serous/endometrioid	33	(36.7)	63	(76.8)	4.61	(2.07 to 10.25)	<0.01
Stage							
I	44	(48.9)	17	(20.7)	Ref		
II-IV	46	(51.1)	65	(79.3)	1.05	(0.34 to 3.30)	0.93
Grade							
I	36	(40)	9	(11.1)	Ref		
II-III	54	(60)	72	(88.9)	2.16	(0.741 to 6.27)	0.16
Ascites							
No	55	(67.9)	35	(44.9)	Ref		
Yes	26	(32.1)	43	(55.1)	1.80	(0.76 to 4.30)	0.18
Residual disease							
No	64	(71.1)	37	(45.1)	Ref		
Yes	26	(28.9)	45	(54.9)	1.75	(0.66 to 4.63)	0.26

*ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER. **OR = odds ratio; 95%CI = 95% confidence intervals; Ref = referential variable level used for OR calculation. Odds ratios were calculated using a multivariate generalized linear model based on the binomial distribution.

Table 4. Clinical subset analyses of overall and disease-free survival of women with ovarian carcinoma

Clinical characteristic	Overall survival			Disease-free survival		
	HR**	(95% CI)	p***	HR**	(95% CI)	p***
Age						
<50	ref					
≥50 years	1.04	(0.60 to 1.78)	0.90	0.80	(0.47 to 1.36)	0.40
Histology						
Mucinous / clear cell / others	ref					
Serous/endometrioid	0.68	(0.39 to 1.22)	0.20	0.57	(0.31 to 1.05)	0.07
Stage						
I	ref					
II-IV	4.06	(1.60 to 10.3)	<0.01	1.36	(0.56 to 3.31)	0.49
Grade						
I	ref					
II-III	1.98	(0.83 to 4.76)	0.13	1.70	(0.74 to 3.90)	0.20
Ascites						
No	ref					
Yes	0.94	(0.54 to 1.62)	0.82	1.12	(0.66 to 1.93)	0.67
Residual disease						
No	ref					
Yes	2.12	(1.15 to 3.91)	<0.01	1.32	(0.74 to 2.34)	0.35
Combined receptor status*						
ER - / PR -	ref					
ER and/or PR +	0.69	(0.40 to 1.1)	0.17	0.83	(0.48 to 1.43)	0.51

*ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER; Combined steroid receptor status: (-) = negative; (+) = positive, immunohistochemical evaluation. **HR = hazard ratio; 95%CI = 95% confidence intervals for the HR. ***p values calculated using a multivariate Cox Proportional Hazards model

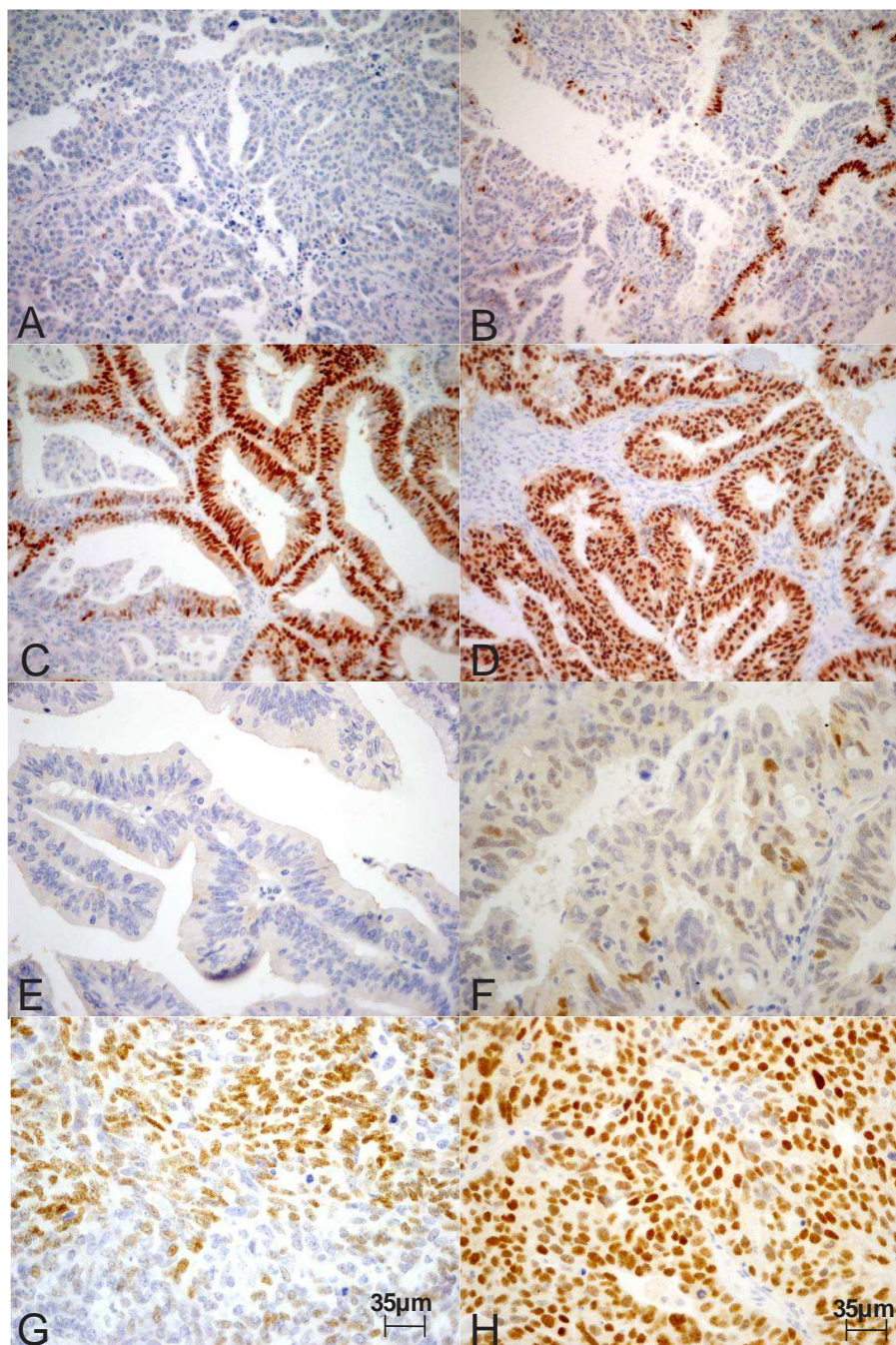


Figure 1. Representative immunohistochemical nuclear staining of Progesterone (PR) and Estrogen Receptors (ER). (Peroxidase; 400x in all images). A) PR: zero score (negative), B) PR: 1 < 10% of the cells stained / moderate intensity (final scoring 2+2= 4), C) PR: 35 < 75% of the cells stained / strong intensity (final scoring 4+3= 7), D) PR: $\geq 75\%$ of the cells stained / strong intensity (final scoring 5+3= 8); E) ER: zero score (negative), F) ER: 1 < 10% of the cells stained / moderate intensity (final scoring 2+2= 4), G) ER: 35 < 75% of the cells stained / strong intensity (final scoring 4+3= 7), H) ER: $\geq 75\%$ of the cells stained / strong intensity (final scoring 5+3= 8)

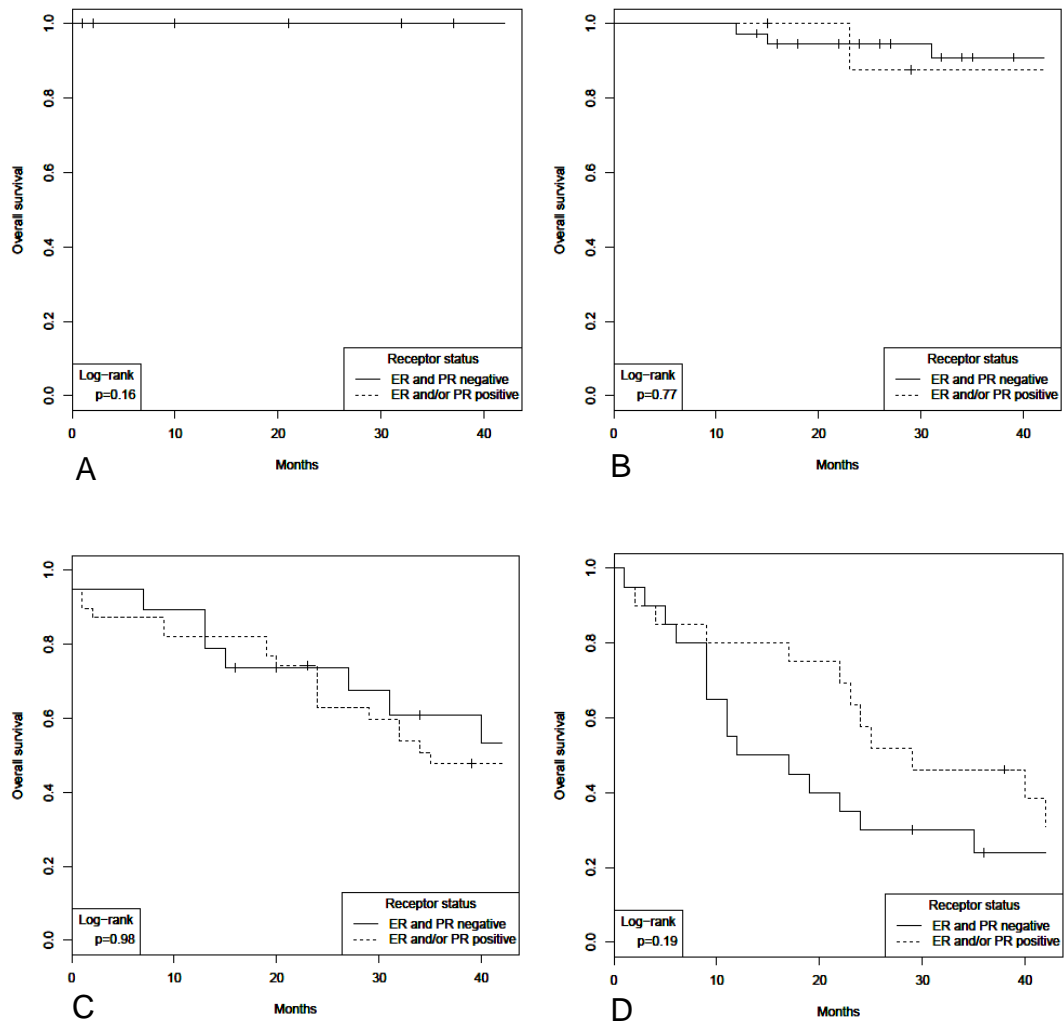


Figure 2. Kaplan-Meier depiction of overall survival probabilities of women with a) serous/endometrioid FIGO stage I, b) mucinous/clear cells/other FIGO stage I; c) serous/endometrioid stages II-IV and d) mucinous/clear cells/other FIGO stages II-IV epithelial ovarian cancer
ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER.

4. Conclusões

- A expressão dos RE e RP foi semelhante nos carcinomas de ovário e TBOs. TBOs serosos apresentaram expressões de RE e RP significativamente maiores do que nos mucinosos. Carcinomas serosos e endometrióides apresentaram expressões de RE e RP significativamente maiores do que nos mucinosos e de células claras. A idade, estágio, grau histológico, presença de ascite e doença residual não estiveram associados com a expressão dos receptores de estrógeno e progesterona.
- Não houve diferença de expressão dos RE e RP em relação ao estágio, nos diferentes tipos histológicos.
- Os RE e RP não estiveram relacionados com a sobrevida livre de doença e sobrevida total em mulheres com carcinoma de ovário. Apenas o estágio avançado e doença residual estiveram associados com pior prognóstico, independente das expressões dos RE e RP.

5. Referências Bibliográficas

1. Sankaranarayanan R, Ferlay J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2006;20(2):207-25.
2. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2008. Disponível em <<http://www.cancer.org/Research/CancerFactsFigures/cancer-facts-figures-2008>>. Acesso em: 03 de julho de 2011.
3. Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LA, Howe HL, Wingo PA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(17):1276-99.
4. Coordenação Nacional de Prevenção e Vigilância do Câncer. Câncer no Brasil - Dados dos Registros de Base Populacional. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/regpop/2003/index.asp?link=incidência.asp&sexo=F&ID=4>>. Acesso em: 03 de julho de 2011.
5. Permut-Wey J and Sellers TA.Sellers. Epidemiology of ovarian cancer. *Methods Mol Biol.* 2009;472:413-37.
6. Aletti GD, Gallenberg MM, Cliby WA, Jatoi A, Hartmann LC. Current management strategies for ovarian cancer. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(6):751-70.

7. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008;58(2):71-96.
8. Benedet JL, Bender H, Jones H, 3rd, Ngan HY, Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. *Int J Gynaecol Obstet.* 2000;70(2):209-62.
9. Huang L, Cronin KA, Johnson KA, Mariotto AB, Feuer EJ. Improved survival time: what can survival cure models tell us about population-based survival improvements in late-stage colorectal, ovarian, and testicular cancer? *Cancer.* 2008;12(10):2289-300.
10. Canevari S, Gariboldi M, Reid JF, Bongarzone I, Pierotti MA. Molecular predictors of response and outcome in ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2006; 60(1):19-37.
11. Bell DA. Origins and molecular pathology of ovarian cancer. *Mod Pathol.* 2005;18 Suppl 2:S19-32.
12. DiSaia PJ, Creasman WT. *Clinical gynecologic oncology.* 7th ed. St. Louis: Mosby; 2007.
13. Soslow, RA. Histologic subtypes of ovarian carcinoma: an overview. *Int J Gynecol Pathol.* 2008;27:161-74.
14. Farley J, Ozbun LL, Birrer MJ. Genomic analysis of epithelial ovarian cancer. *Cell Res.* 2008;18(5):538-48.
15. Coticchia CM, Yang J, Moses MA. Ovarian cancer biomarkers: current options and future promise. *J Natl Compr Canc Netw.* 2008; 6(8):795-802.

16. Fathalla, MF. Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet*. 1971;2(7716):163.
17. Masood S, Heitmann J, Nuss RC, Benrubi GI. Clinical correlation of hormone receptor status in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 1989;34(1):57-60.
18. Iversen OE, Skaarland E, Utaaker E. Steroid receptor content in human ovarian tumors: survival of patients with ovarian carcinoma related to steroid receptor content. *Gynecol Oncol*. 1986;23(1):65-76.
19. Schwartz PE, MacLusky N, Merino MJ, Livolsi VA, Kohorn EI, Eisenfeld A. Are cytosol estrogen and progesterin receptors of prognostic significance in the management of epithelial ovarian cancers? *Obstet Gynecol*. 1986;68(6):751-8.
20. Arias-Pulido H, Smith HO, Joste NE, Bocklage T, Qualls CR, Chavez A, et al. Estrogen and progesterone receptor status and outcome in epithelial ovarian cancers and low malignant potential tumors. *Gynecol Oncol*. 2009;114(3):480-5.
21. Choi JH, Wong AS, Huang HF, Leung PC. Gonadotropins and ovarian cancer. *Endocr Rev*. 2007;28(4):440-61.
22. Landen CN Jr, Birrer MJ, Sood AK. Early events in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(6):995-1005.
23. Kurman RJ and Shih IeM. Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications. *Int J Gynecol Pathol*. 2008;27(2):151-60.
24. Whittemore AS, Harris R, Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol*. 1992;136(10):1184-203.

25. McCluggage WG. My approach to and thoughts on the typing of ovarian carcinomas. *J Clin Pathol.* 2008;61(2):152-63.
26. Taylor HC. Malignant and semi-malignant tumors of the ovary. *Surg Gynecol Obstet.* 1929;48:204-30.
27. Serov, SF, Scully RE, Sobin LH. International histological classification and staging of tumors. *Histologic Typing of Ovarian Tumors.* Geneva: World Health Organization; 1973.
28. Seidman JD, Kurman RJ. Ovarian serous borderline tumors: a critical review of the literature with emphasis on prognostic indicators. *Hum Pathol.* 2000;31(5):539-57.
29. Høgdall EV, Christensen L, Høgdall CK, Blaakaer J, Gayther S, Jacobs IJ et al. Prognostic value of estrogen receptor and progesterone receptor tumor expression in Danish ovarian cancer patients: from the 'MALOVA' ovarian cancer study. *Oncol Rep.* 2007;18(5):1051-9.
30. Tangjitgamol S, Manusirivithaya S, Khunrarong J, Jesadapatarakul S, Tanwanich S. Expressions of estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian cancer: a clinicopathologic study. *Int J Gynecol Cancer.* 2009;19(4):620-7.
31. Yang XY, Xi MR, Yang KX, Yu H. Prognostic value of estrogen receptor and progesterone receptor status in Chinese young ovarian carcinoma patients. *Gynecol Oncol.* 2009;113(1):99-104.
32. Bizzi A, Codegani AM, Landoni F, Marelli G, Marsoni S, Spina AM et al. Steroid receptors in epithelial ovarian carcinoma: relation to clinical parameters and survival. *Cancer Res.* 1988;48(21):6222-6.

33. Geisler JP, Wiemann MC, Miller GA, Geisler HE. Estrogen and progesterone receptor status as prognostic indicators in patients with optimally cytoreduced stage IIIc serous cystadenocarcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol.* 1996;60(3):424-7.
34. Rose PG, Reale FR, Longcope C, Hunter RE. Prognostic significance of estrogen and progesterone receptors in epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol.* 1990;76(2):258-63.
35. Anderl P, Fuith LC, Daxenbichler G, Marth C, Dapunt O. Correlation between steroid hormone receptors, histological and clinical parameters in ovarian carcinoma. *Gynecol Obstet Invest.* 1988;25(2):135-40.
36. Harding M, Cowan S, Hole D, Cassidy L, Kitchener H, Davis J et al. Estrogen and progesterone receptors in ovarian cancer. *Cancer.* 1990;65(3):486-91.
37. Sevelde P, Denison U, Schemper M, Spona J, Vavra N, Salzer H. Oestrogen and progesterone receptor content as a prognostic factor in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990;97(8):706-12.
38. Slotman BJ, Nauta JJ, Rao BR. Survival of patients with ovarian cancer. Apart from stage and grade, tumor progesterone receptor content is a prognostic indicator. *Cancer.* 1990;66(4):740-4.
39. Kommos F, Pfisterer J, Thome M, Schäfer W, Sauerbrei W, Pflaiderer A. Steroid receptors in ovarian carcinoma: immunohistochemical determination may lead to new aspects. *Gynecol Oncol.* 1992;47(3):317-22.
40. Münstedt K, Steen J, Knauf AG, Buch T, von Georgi R, Franke FE. Steroid hormone receptors and long term survival in invasive ovarian cancer. *Cancer.* 2000;89(8):1783-91.

41. Lee P, Rosen DG, Zhu C, Silva EG, Liu J. Expression of progesterone receptor is a favorable prognostic marker in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2005;96(3):671-7.
42. Rosen DG, Huang X, Deavers MT, Malpica A, Silva EG, Liu J. Validation of tissue microarray technology in ovarian carcinoma. *Mod Pathol.* 2004;17(7):790-7.
43. Lindgren PR, Cajander S, Bäckström T, Gustafsson JA, Mäkelä S, Olofsson JI. Estrogen and progesterone receptors in ovarian epithelial tumors. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;221(1-2):97-104.
44. Akahira J, Suzuki T, Ito K, Kaneko C, Darnel AD, Moriya T et al. Differential expression of progesterone receptor isoforms A and B in the normal ovary, and in benign, borderline, and malignant ovarian tumors. *Jpn J Cancer Res.* 2002;93(7):807-15.

6. Anexos

6.1. Anexo 1– Apresentação de pôster

De: ESGO 2011 Abstract Team [esgo2011@abstractserver.com]
Enviado em: quarta-feira, 22 de junho de 2011 09:34
Para: fsallum@unicamp.br
Cc: felipesallum@uol.com.br
Assunto: ESGO 2011 - Poster Acceptance Notification A-373-0006-01177

Abstract Presentation Notification
17th International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology
Milan, Italy, September 11-14, 2011

Dear Luis Felipe Sallum,

On behalf of the Scientific Program Committee, we are pleased to inform you that your abstract A-373-0006-01177 entitled "**EQUIVOCAL PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PROGESTERONE RECEPTOR STATUS IN MALIGNANT OVARIAN TUMORS**" has been accepted for **POSTER PRESENTATION** at the *17th International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology*.

Scheduling details will be sent to you in due course.

In the meantime, please refer to the ESGO 2011 website on <http://www2.kenes.com/esgo17/pages/home.aspx> for more information including Instructions for Presenters <http://www2.kenes.com/esgo17/sci/Pages/InstructionsforPresenters.aspx> and the scientific program <http://www2.kenes.com/esgo17/sci/Pages/ScientificProgramme.aspx>.

REGISTRATION TO THE CONGRESS

The presenting author *Luis Felipe Sallum* must register for the Meeting.

1. If you have not already registered and paid your registration fees you are requested to do so online via this link <http://www2.kenes.com/esgo17/reg/Pages/Registration.aspx>. **Only abstracts of participants who have paid their fees by Tuesday, July 19, 2011 will be included in the program and abstract CD Rom.**

2. We encourage you to book your accommodation promptly, as availability may be limited in some hotels. For more information, please visit the following link:
<http://www2.kenes.com/esgo17/acc1/Pages/HotelAccommodation.aspx>.

3. Please visit the Congress website <http://www2.kenes.com/esgo17/pages/home.aspx> regularly for any updates or changes to the Scientific Program.

FURTHER INFORMATION

For technical questions regarding your abstract submission please contact esgo2011@abstractserver.com. For all other queries, please contact the secretariat at esgo17@esgo.org.

Yours sincerely,

ESGO 2011 Abstract Team on behalf of the Organising Committee



EQUIVOCAL PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS STATUS IN OVARIAN CARCINOMAS AND BORDERLINE OVARIAN TUMORS

Luis Felipe Trincas Assad Sallum¹ M.D.; Luis Otavio Sarian¹ M.D., PhD.; Liliãna Lucci de Angelo Andrade² M.D., PhD.; José Vassallo^{3,4,5} M.D., PhD.; Fernando Augusto Soares⁴ M.D., PhD.; Glauce Aparecida Pinto³ PhD.; Patrícia Andréia Rodrigues Ferreira⁶; Sophie FM Derchain¹ M.D., PhD.

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
²Department of Pathology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
³Department of Pathology, Laboratory of Investigative and Molecular Pathology, CIPED, State University of Campinas UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
⁴Department of Pathology, Hospital do Câncer A C Camargo, Fundação Antonio Prudente de São Paulo, Brazil
⁵Laboratory of Experimental Pathology, CAISM, State University of Campinas UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil
⁶Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

Address for correspondence:
 Sophie F.M. Derchain
 Department of Obstetrics and Gynecology - Faculty of Medical Sciences, PO Box 6111,
 State University of Campinas UNICAMP, Zip Code 13083-970, Campinas, SP, Brazil.
 e-mail: sophie.derchain@goa.unicamp.br

Faculty of Medical Sciences - University of Campinas - UNICAMP, Zip Code 13083-887, Campinas, SP, Brazil.

BACKGROUND

Recent lines of evidence suggest that steroid hormonal stimulation may be implicated in the development and prognosis of ovarian malignancies. Estrogen is an important regulator of growth and differentiation of ovarian cells, while progesterone may offer protection against the mutagenic effects of estrogens by blocking cell growth and inducing cell differentiation and apoptosis. However, current data is very limited, and study results are conflicting.

OBJECTIVES

The aim of this study was to examine the patterns of estrogen (ER) and progesterone receptors (PR) in borderline tumors (BOTs) and ovarian carcinoma. We assessed the disease-free (DFS) and overall survivals (OS) of women with ovarian carcinoma as related to the expression of these steroid receptors.

METHODS

We examined the expression of ER/PR in 172 ovarian carcinomas and 38 BOTs, treated from 1993 to 2008 at the State University of Campinas UNICAMP, Campinas, Brazil and followed up for up to 60 months. ER/PR expression was assessed with TMA-based immunohistochemistry.

RESULTS

Twenty-eight (73.7%) mucinous and 10 (26.3%) serous BOTs were included. Ovarian carcinomas comprised 79(46%) serous, 44(25.5%) mucinous, 17(9.8%) endometrioid, 16(9.3%) mixed 10(5.8%), clear-cell, and 6(3.6%) transitional cell or adenocarcinoma-NOS. Of the BOTs, 11(28.9%) were positive for ER, compared to 61(35.5%) of the carcinomas (p=0.55). Ten cases (26.3%) of the BOTs were positive for PR, fairly the same proportion found among carcinomas (47 cases (27%); p=0.90). The expressions of ER and PR in BOTs were higher in serous compared to mucinous (p<0.01). In carcinomas, ER expression was higher in serous compared to mucinous (p<0.01) and clear cell tumors (p<0.01), and in endometrioid compared with mucinous tumors (p<0.01). PR expression was higher in serous compared to mucinous (p<0.01) and in endometrioid compared to mucinous (p<0.01) and serous tumors (p=0.03). Considering combined receptor status, receptor expression was higher in serous compared to mucinous (p<0.01) and clear cell tumors (p=0.02), and in endometrioid compared with mucinous tumors (p<0.01). Overall, serous and endometrioid tumors were predominantly ER/PR positive, whereas mucinous and clear-cell tumors were preponderantly ER/PR negative. Subsequently, tumors with similar patterns of ER/PR expression were gathered and analyzed: serous with endometrioid and mucinous with clear cell and others. ER/PR status of ovarian carcinomas bore no relation to the age, tumor stage, grade, ascites and residual disease. DFS and OS were not affected by the expression of ER and PR. DFS was not affected by any of the studied epidemiological and clinical features. OS was found to be significantly higher (p<0.01) only for women with disease stages II-IV and for those with residual disease after surgery (p<0.01).

CONCLUSIONS

Overall, mucinous and clear-cell tumors were preponderantly ER/PR negative, whereas serous and endometrioid tumors were predominantly ER/PR positive. DFS and OS were not affected by the expression of these receptors.

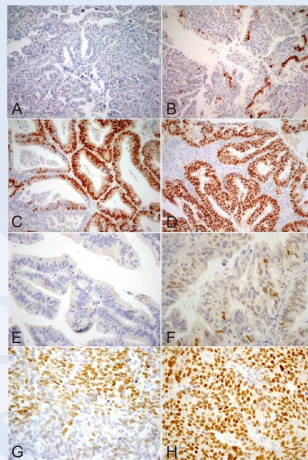


Figure 1. Representative immunohistochemical nuclear staining of Progesterone (PR) and Estrogen Receptors (ER). (Peroxidase; 400x in all images). A) PR: zero score (negative); B) PR: 1 < 10% of the cells stained / moderate intensity (final scoring 2+2= 4); C) PR: 35 < 75% of the cells stained / strong intensity (final scoring 4+3= 7); D) PR: ≥ 75% of the cells stained / strong intensity (final scoring 5+3= 8); E) ER: zero score (negative); F) ER: 1 < 10% of the cells stained / moderate intensity (final scoring 2+2= 4); G) ER: 35 < 75% of the cells stained / strong intensity (final scoring 4+3= 7); H) ER: ≥ 75% of the cells stained / strong intensity (final scoring 5+3= 8)

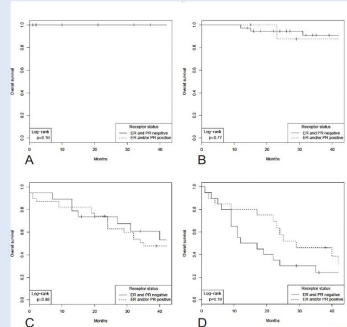


Figure 2. Kaplan-Meier depiction of overall survival probabilities of women with a) serous/endometrioid FIGO stage I, b) mucinous/clear cells/other FIGO stage I, c) serous/endometrioid stages II-IV and d) mucinous/clear cells/other FIGO stages II-IV epithelial ovarian cancer. ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER. OS = overall survival; 95%CI = 95% confidence intervals. Ref = reference variable used for OS calculation. Odds ratios were calculated using a multivariate generalized linear model based on the binomial distribution.

Table 1. Key features of women with carcinomas and borderline ovarian tumors (BOT)

Clinical characteristic	Carcinomas		BOT		p***
	n	%	n	%	
Total cases	172	(82.0)	38	(18.0)	
Age					
<50	59	(34.3)	27	(71.1)	
≥50 years	113	(65.7)	11	(28.9)	<0.01
Menopausal status					
Pre	41	(23.8)	28	(73.7)	<0.01
Post	124	(72.1)	10	(26.3)	
Tumor histology					
Type					
Serous	79	(46.0)	10	(26.3)	
Mucinous	44	(25.5)	28	(73.7)	
Endometrioid	17	(9.8)	-	-	
Mixed	16	(9.3)	-	-	
Clear cell	6	(3.6)	-	-	
Adenocarcinoma NOS	4	(2.4)	-	-	NC
Transitional cells	2	(1.2)	-	-	
Stage					
I	41	(23.8)	35	(92.1)	
II	11	(6.4)	3	(7.9)	
III	99	(57.6)	-	-	NC
IV	19	(11.2)	-	-	
FIGO Grade					
I	41	(23.8)	38	(100)	
II	64	(37.2)	-	-	<0.02
III	63	(36.6)	-	-	
ER**					
Negative	111	(64.5)	27	(71.1)	0.35
Positive	47	(27.3)	11	(28.9)	
PR**					
Negative	125	(72.8)	28	(73.7)	0.96
Positive	47	(27.2)	10	(26.3)	
Combined receptor status**					
ER - PR -	90	(52.3)	25	(65.8)	
ER + PR +	25	(14.5)	2	(5.3)	
ER + PR -	35	(20.3)	3	(7.9)	0.12
ER - PR +	26	(15.0)	4	(10.5)	
ER and/or PR +	82	(47.7)	13	(34.2)	

ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER. NC = non-calculable; 95%CI = 95% confidence intervals. Ref = reference variable used for OR calculation. Odds ratios were calculated using a multivariate generalized linear model based on the binomial distribution.

Table 2. Key epidemiological and clinical features as related to the combined estrogen (ER) and progesterone (PR) statuses

Clinical characteristic	ER and PR negative		ER and/or PR positive		OR**	95%CI†	p adjusted
	n	%	n	%			
Age							
<50	31	(34.4)	28	(57)			
≥50 years	59	(65.6)	52	(65)	1.00	(0.45 to 2.21)	0.99
Histology							
Mucinous / clear cell / others	27	(63.3)	19	(23.2)	Ref		
Serous/endometrioid	13	(28.7)	43	(76.8)	4.63	(2.07 to 10.25)	<0.01
Stage							
I	44	(48.9)	17	(20.7)	Ref		
II-IV	46	(51.1)	65	(79.3)	1.05	(0.34 to 3.30)	0.93
Grade							
I	36	(40)	9	(11.1)	Ref		
II-III	54	(60)	72	(88.9)	2.16	(0.74 to 6.27)	0.16
Ascites							
No	55	(67.9)	35	(44.9)	Ref		
Yes	26	(32.1)	43	(55.1)	1.80	(0.76 to 4.30)	0.18
Residual disease							
No	64	(71.1)	37	(45.1)	Ref		
Yes	26	(28.9)	45	(54.9)	1.75	(0.66 to 4.63)	0.26

ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER. OR = Odds ratio; 95%CI = 95% confidence intervals. Ref = reference variable used for OR calculation. Odds ratios were calculated using a multivariate generalized linear model based on the binomial distribution.

Table 3. Clinical subset analysis of overall and disease-free survival of women with ovarian carcinoma

Clinical characteristic	Overall survival		Disease-free survival		p***	
	HR**	(95%CI)	HR**	(95%CI)		
Age						
<50	ref		ref			
≥50 years	1.64	(0.60 to 4.76)	0.90	(0.47 to 1.70)	0.40	
Histology						
Mucinous / clear cell / others	ref		ref			
Serous/endometrioid	0.68	(0.39 to 1.22)	0.50	(0.31 to 0.85)	0.07	
Stage						
I	ref		ref			
II-IV	4.06	(1.60 to 10.3)	<0.01	1.36	(0.56 to 3.31)	0.49
Grade						
I	ref		ref			
II-III	1.98	(0.83 to 4.76)	0.13	1.70	(0.74 to 3.90)	0.20
Ascites						
No	ref		ref			
Yes	0.94	(0.54 to 1.62)	0.82	1.12	(0.66 to 1.93)	0.67
Residual disease						
No	ref		ref			
Yes	2.12	(1.15 to 3.93)	<0.01	1.32	(0.74 to 2.34)	0.35
Combined receptor status**						
ER - PR -	ref		ref			
ER and/or PR +	0.69	(0.40 to 1.1)	0.17	0.83	(0.48 to 1.47)	0.51

ER = estrogen receptor status according to the immunohistochemical evaluation; PR = progesterone receptor status, same as for ER. HR = hazard ratio; 95%CI = 95% confidence intervals. Ref = reference variable used for HR calculation. HR = hazard ratio; 95%CI = 95% confidence intervals for the HR. **p-values calculated using a multivariate Cox Proportional Hazards model.

6.2. Anexo 2 – Termo de dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido

Campinas, 20 de Junho de 2009

Ilma. Profa. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da FCM/UNICAMP

Venho, através desta, solicitar dispensa do termo de consentimento livre e esclarecido para o projeto *Correlação entre a expressão da p53, Ki67, WT1, β -catenina e receptores hormonais em relação aos aspectos morfológicos e clínicos dos tumores epiteliais borderline e invasivos de ovário.*

Para o estudo, serão respeitados os princípios enunciados na Declaração de Helsinque (WORLD MEDICAL ASSOCIATION, 1996) mantendo-se em sigilo a identidade das pacientes, cujos dados serão identificados apenas pelo número de registro no projeto. A princípio, as análises realizadas neste estudo não implicarão quaisquer modificações no tratamento da doença e em momento algum serão introduzidas coletas adicionais. Não foram previstos quaisquer riscos ou transtornos às pacientes, pois toda a pesquisa será realizada em material biológico que necessariamente havia sido retirado como parte do tratamento. Por ser um estudo retrospectivo e não havendo risco, foi considerado que a assinatura de um termo de consentimento não se aplica a este projeto. Entretanto, se ocorrer alguma descoberta que possa modificar positivamente o tratamento e o acompanhamento das pacientes, estas poderão ser localizadas e informadas a respeito nos casos em que o Comitê de Ética e Pesquisa da FCM / UNICAMP julgar procedentes.

Luis Felipe Trincas Assad Sallum
Pesquisador

Profa. Dra. Sophie Françoise Mauricette Derchain
Orientadora

6.3. Anexo 3 – Parecer da CP e do CEP



Comissão de Pesquisa do DTG / CAISM

Campinas, 28 de setembro de 2009.

Protocolo nº: 063/2009

O protocolo de pesquisa "*Correlação entre a expressão da p53, Ki67, WT1, β -catenina e receptores hormonais em relação aos aspectos morfológicos e clínicos dos tumores epiteliais borderline e invasivos de ovário*" do pesquisador Luis Felipe Trincas Assad Sallum sob a orientação da Profa. Dra. Sophie F. M. Derchain foi aprovado pela Comissão de Pesquisa do DTG/CAISM em 24/09/2009.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Maria Salete Costa Gurgel
Presidente da Comissão de Pesquisa do DTG/CAISM



CEP, 24/11/09.
(Grupo III)

PARECER CEP: N° 1086/2009 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0826.0.146.000-09

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO DA P53, KI67, WT1, B-CATENINA E RECEPTORES HORMONAIIS EM RELAÇÃO AOS ASPECTOS MORFOLÓGICOS E CLÍNICOS DOS TUMORES EPITELIAIS BORDERLINE E INVASIVOS DE OVÁRIO”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Luis Felipe Trincas Assad Sallum

INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 10/11/2009

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 24/11/10 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Avaliar a expressão dos marcadores moleculares imunoistoquímicos da p53, Ki67, WT1, β catenina e receptores hormonais nos diferentes tipos histológicos de tumores epiteliais borderlines e invasivos primários de ovário, segundo o estágio e grau de diferenciação e sua associação com tempo livre de doença e sobrevida.

III - SUMÁRIO

Este é um estudo observacional de coorte retrospectiva. Serão incluídos os blocos de parafina de 200 mulheres com tumores epiteliais malignos e borderlines primários de ovário, selecionados através dos prontuários no período de 1993 a 2008 no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil, que não tenham sido submetidas a quimioterapia e/ou radioterapia neoadjuvantes. A avaliação da expressão da p53, WT1, β catenina e receptores de estrogênio e progesterona será realizada por imunohistoquímica após construção de microarranjo dos tecidos (TMA) comparando estes resultados segundo o estágio e grau de diferenciação da doença e sua associação com tempo livre de doença e sobrevida.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Trata-se de projeto de validação de teste de diagnóstico realizado em blocos de parafina de tumores epiteliais malignos de ovário. Trata-se então de projeto retrospectivo bem desenhado do ponto de vista metodológico e com objetivos bem definidos. Cálculo do tamanho amostral adequado e análise estatística bem definida. Os aspectos éticos estão bem discutidos no corpo do projeto e solicita dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por se tratar de material já coletado. O orçamento está muito bem justificado.



V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, a dispensa do Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII – DATA DA REUNIÃO

Homologado na XI Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 24 de novembro de 2009.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
VICE-PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

6.4. Anexo 4 – Instrumento para coleta de dados

ANEXO 2 Instrumento para coleta de dados

CARCINOMA DE OVÁRIO

NOME	
HC	PREENCHE CRITÉRIOS DE INCLUSÃO? 1 SIM 2 NÃO

SEÇÃO 1: ESTADO DA PACIENTE

PRIMEIRA CONSULTA ___ / ___ / ___

NÚMERO

1.1 IDADE ___ ANOS COMPLETOS		
1.2 ÍNDICE DE MASSA CORPORAL	PESO	KG
	ALTURA	CM
1.3 DUM ___ / ___ / ___		

DESCREVA: _____

1.14 ANTECEDENTE FAMILIAR ONCOLÓGICO		1 SIM	2 NÃO
1 CA MAMA	2 CA TGI	3 OUTRO – Descreva	

DESCREVA: _____

SEÇÃO 2: CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA

2.1 MARCADORES

1. CA 125	2. CEA
3. α FETO PROTEÍNA	4. β HCG

SEÇÃO 3: TRATAMENTO

DATA DA CIRURGIA ___ / ___ / ___

3.1 CIRURGIA REALIZADA

1. OOFORRECTOMIA UNILATERAL	2. OOFORRECTOMIA BILATERAL	3. HTA + SB/U	4. HTA + SO UNILATERAL
5. HTA + SO BILATERAL	6. APENDICECTOMIA	7. OMENTECTOMIA	8. LINFONODECTOMIA PÉLVICA Número de linfonodos _____

9. LINFONODECTOMIA PARAÓRTICA Número de linfonodos _____	10. LINFONODECTOMIA PÉLVICA E PARAÓRTICA	11. RESSECÇÃO INTESTINAL	OUTRO – Descreva
---	--	--------------------------	------------------

DESCREVA: _____

3.2 CONGELAÇÃO SIM NÃO

biópsia número: _____

3.3 PARAFINA

biópsia número: _____

3.3.1. TIPO HISTOLÓGICO

1 SEROSO	2 MUCINOSO	3 ENDOMETRIOIDE	4 CELULAS CLARAS
5 CEL. TRANSCIONAIS	6 MISTOS	7 INDIFERENCIADO	8 TUMOR SEROSO BORDERLINE USUAL
9 TU SEROSO BORDERLINE MICROPAPILÍFERO	10 TUMOR MUCINOSO BORDERLINE TIPO INTESTINAL	11 TUMOR MUCINOSO BORDERLINE TIPO ENDOCERVICAL	
12 OUTRO:			

3.3.2. GRAU HISTOLÓGICO

1 GRAU I	2 GRAU II	3 GRAU III
----------	-----------	------------

3.4 ESTADIO CIRÚRGICO

1. IA	2. IB	3. IC	4. IIA	5. IIB
6. IIC	7. IIIA	8. IIIB	9. IIIC	10. IV

3.5 DOENÇA RESIDUAL? 1 SIM 2 NAO
 1 < 1CM 2 > 1 CM

DESCREVA: _____

DATA DA ALTA ___ / ___ / ___ INTERNAÇÃO ___ DIAS

3.6 RADIOTERAPIA

3.6.1 PLATINA	1 SIM	2 NÃO
3.6.2 OUTRA DROGA ASSOCIADA	1 SIM - DESCREVA	2 NAO
3.6.3 OUTRA DROGA (MONOQT)	1 SIM - DESCREVA	2 NAO

DESCREVA: _____

SEÇÃO 4: RECIDIVA

4.1 RECIDIVA

SIM DATA ____ / ____ / ____	NAO
--------------------------------	-----

4.1.1 TEMPO ENTRE CIRURGIA E RECIDIVA ____

4.1.2 LOCAL:

4.2 DATA DO ÚLTIMO RETORNO ____ / ____ / ____

4.3 ÓBITO

SIM DATA ____ / ____ / ____	NAO
--------------------------------	-----

OBSERVAÇÕES

SEÇÃO 5: IMUNOISTOQUÍMICA

5.1 p53	% de células coradas	inconclusivo
5.2 Ki67	% de células coradas	inconclusivo
5.3 WT1	% de células coradas	inconclusivo
5.4 β catenina	% de células coradas	inconclusivo
5.5 Receptor Estrógeno	% de células coradas	inconclusivo
5.6 Receptor Progesterona	% de células coradas	inconclusivo

6.5. Anexo 5 – Estadiamento do Câncer de Ovário (FIGO)

I - Limitado aos ovários		
IA - Tumor limitado a 1 ovário, cápsula íntegra, ausência de lesões na superfície da cápsula. Ausência de células malignas na ascite ou no lavado peritoneal.	IB - Tumor limitado a ambos os ovários, cápsula íntegra, ausência de lesões na superfície da cápsula. Ausência de células malignas na ascite ou no lavado peritoneal.*	IC - Tumor limitado a 1 ou ambos os ovários e/ou cápsula rota e/ou lesões na superfície da cápsula e/ou células malignas na ascite ou no lavado peritoneal.
II - Tumor envolvendo 1 ou ambos os ovários com extensão pélvica e/ou implantes.		
IIA - Extensão e/ou implantes no útero e/ou trompas. Ausência de células malignas na ascite ou no lavado peritoneal.	IIB - Extensão e/ou implantes em outros tecidos pélvicos. Ausência de células malignas na ascite ou no lavado peritoneal.	IIC - Extensão pélvica e/ou implantes (IIA ou IIB) com células malignas na ascite ou no lavado peritoneal.
III - Tumor envolvendo 1 ou ambos os ovários, com implantes microscópicos fora da pelve. Metástase hepática superficial (cápsula). Tumor limitado à pelve verdadeira, mas com extensão de doença histologicamente confirmada para intestino delgado ou omento.		
IIIA - Doença metastática peritoneal microscópica fora da pelve (ausência de doença macroscópica).	IIIB - Doença metastática peritoneal macroscópica fora da pelve com 2cm ou menos.	IIIC - Doença metastática peritoneal macroscópica fora da pelve com mais de 2cm e/ou metástase linfonodal regional.
IV - Tumor envolvendo 1 ou ambos os ovários com metástase a distância. Derrame pleural com células malignas. Metástase hepática parenquimatosa.		

Fonte: FIGO. Staging Classifications and Clinical Practice Guidelines for Gynaecological Cancers. 2006.